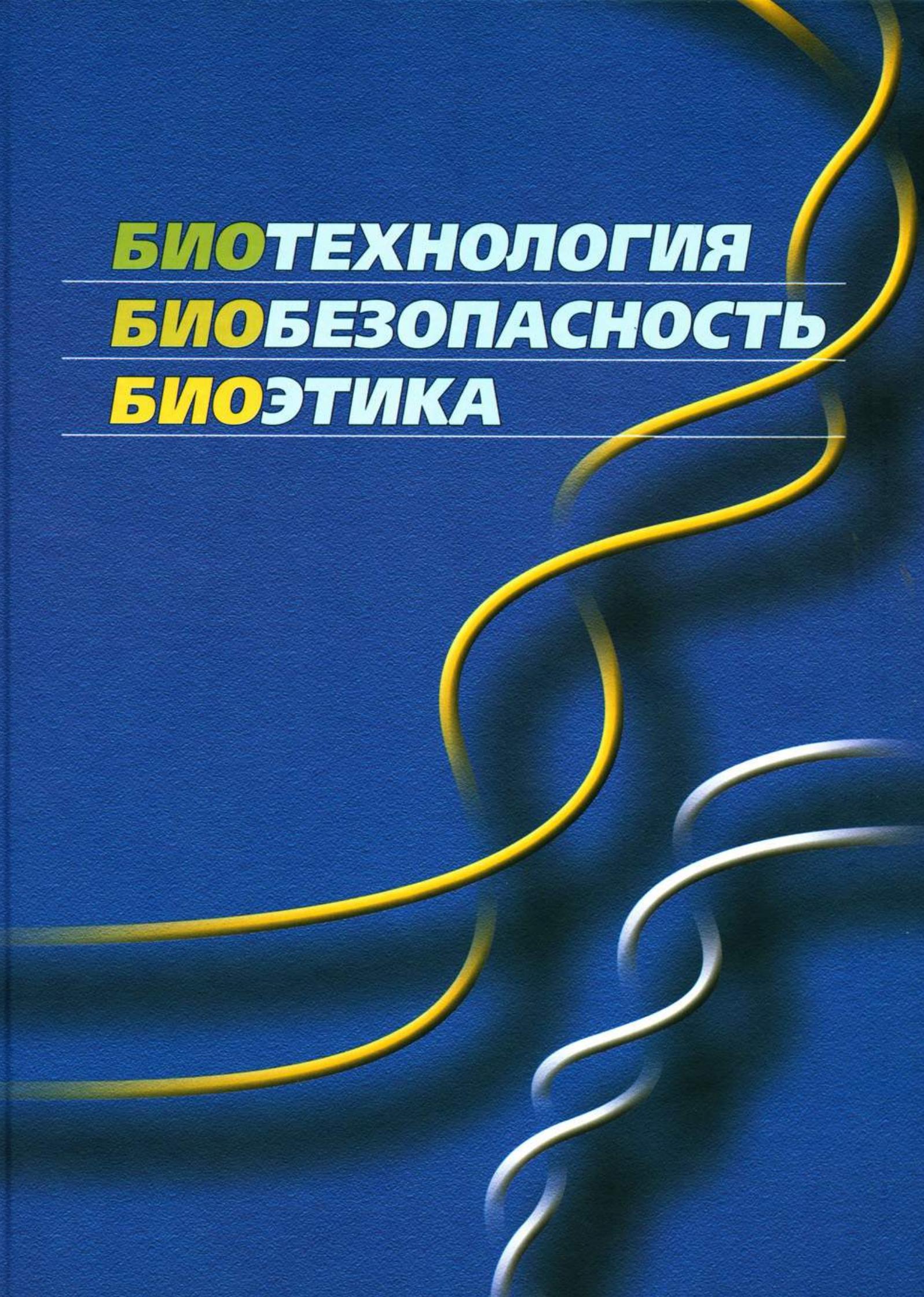


БИОТЕХНОЛОГИЯ

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

БИОЭТИКА



Ермишин Александр Петрович,
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией Института
генетики и цитологии НАН Беларуси,
руководитель Национального
координационного центра
биобезопасности.
Автор более 100 научных работ,
в том числе двух монографий.



Подлиских Валерий Евгеньевич,
кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Института генетики и цитологии
НАН Беларуси.
Автор 34 научных работ.



Воронкова Елена Васильевна,
кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Института генетики и цитологии
НАН Беларуси.
Автор 37 научных работ.



Аношенко Борис Юрьевич,
кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Института генетики и цитологии
НАН Беларуси.
Автор 45 научных работ.



Зарьков Виктор Михайлович,
ученый секретарь Института
социологии НАН Беларуси,
специалист в области земельного
и экологического права.
Автор 40 научных работ.



ISBN 985-458-118-7



9 789854 581187

ПРОГРАММА ООН ПО ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт генетики и цитологии

БИОТЕХНОЛОГИЯ.
БИОБЕЗОПАСНОСТЬ.
БИОЭТИКА

Под редакцией
доктора биологических наук А.П. Ермишина

Минск
«Тэхналогія»
2005

Электронная версия с изменениями и дополнениями от 20-12-2006



United Nations Environment Programme

Disclaimer

Information contained in this document is provided by the Institute of Genetics and Cytology of National Academy of Sciences of the Republic of Belarus and the views presented in the document are those of the Institute of Genetics and Cytology. The United Nations Environment Programme (UNEP) is not responsible for the information provided in this document. UNEP does not make any warranty of any kind, either express or implied, including, but not limited to, warranties of the accuracy, reliability, completeness or content of such information in this document. Under no circumstances shall UNEP be liable for any loss, damage, liability or expense incurred or suffered which is claimed to have resulted from the use of or reliance upon the information contained in this document, including, but not limited to, any fault, error, mistake, omission or defect. Under no circumstances shall UNEP be liable for any direct, indirect, incidental, special, punitive or consequential damages.

УДК 573.6

Ермишин А.П. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика / А.П. Ермишин и др.; под ред. АЛ. Ермишина. — Мн.: Тэхналогія, 2005. — 430 с. — ISBN 985-458-118-7.

В монографии авторы делают попытку познакомить читателя с достижениями современной биотехнологии, рассказать, как получают генно-инженерные организмы и чем они отличаются от созданных с помощью традиционной селекции, в чем заключаются основные различия между «старой» и «новой» селекцией. Подробно рассматриваются потенциальные риски для здоровья человека и окружающей среды, связанные с использованием генно-инженерных организмов, и меры, применяемые для того, чтобы избежать этих рисков. Особое внимание уделено вопросам восприятия достижений генетической инженерии общественностью, морально-этическим аспектам генно-инженерной деятельности.

Для биологов, специалистов сельского хозяйства, медицинских работников, юристов, государственных служащих, студентов вузов соответствующего профиля.

Табл. 30. Ил.47. Библиогр. 447 назв.

Рекомендовано к изданию

Редакционно-издательской комиссией НАН Беларуси и Ученым советом
Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Авторы:

*А.П. Ермишин, В.Е. Подлиских, Е.В.Воронкова,
Б.Ю. Аношенко, В.М. Зарьков*

Рецензенты:

*Л.В. Хотылева, академик НАН Беларуси
Н.А. Картель, академик НАН Беларуси
А.В. Кильчевский, член-корреспондент НАН Беларуси*

Книга издана при поддержке
Глобального экологического фонда

ISBN 985-458-118-7

© Оформление. «Тэхналогія», 2005

© Оформление электронной версии «Национальный координационный центр биобезопасности», 2006

Содержание

Введение	5
Глава 1. Элементарные сведения по биологии и генетике	11
1.1. Что такое клетки	11
1.2. Что такое хромосомы, ДНК, генетический код, гены	13
1.3. Каким образом используется информация, записанная в молекулах ДНК	16
1.4. Каким образом клетка узнает, когда и какой белок синтезировать и в каком количестве	18
1.5. Что такое традиционная селекция	19
Глава 2. Как получают генно-инженерные организмы	21
2.1. Что такое генетическая инженерия	21
2.2. Методы создания рекомбинантных молекул ДНК	22
2.3. Клонирование генов	26
2.4. Выделение генов	29
2.4.1. Искусственный синтез генов	29
2.4.2. Выделение генов из смеси рестрикционных фрагментов геномной ДНК	31
2.4.3. Выделение генов из клонотеки	32
2.4.4. Создание зондов	33
2.5. Методы переноса генов в живые клетки	34
2.5.1. Перенос генов в клетки бактерий	34
2.5.2. Перенос генов в клетки животных	36
2.5.3. Перенос генов в клетки растений	37
2.5.3.1. Агробактериальная трансформация	38
2.6. Экспрессия трансгенов	44
2.7. Отбор трансформированных клеток	46
2.8. От единичной трансформированной клетки к многоклеточному генно-инженерному организму	48
2.8.1. Культура клеток и тканей растений <i>in vitro</i>	49
2.8.2. Индукция морфогенеза и органогенеза в культуре клеток и получение растений-регенератов	51
2.8.3. Клеточная селекция	53
2.8.4. Получение генно-инженерных животных	54
2.9. Трансформация органелл	54
Литература к главе 2	55
Глава 3. Что нам дает и может дать в будущем генетическая инженерия	57
3.1. Генно-инженерные организмы на службе у медицины	57
3.2. Использование генно-инженерных организмов в сельском хозяйстве	59
3.2.1. Что уже имеется	60
3.2.2. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, толерантные к гербицидам	64
3.2.3. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, устойчивые к насекомым-вредителям	66

3.2.4.	Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, устойчивые к вирусным болезням	68
3.2.5.	Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений с улучшенными качественными характеристиками	69
3.2.6.	Получение трансгенных гетерозисных гибридов сельскохозяйственных растений на основе системы мужской стерильности/восстановления фертильности	70
3.2.7.	Что нас ждет в ближайшем будущем	71
3.2.8.	Достижения генетической инженерии животных	74
	Литература к главе 3	75
Глава 4. Базовые принципы и методология риска неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности		77
4.1.	Биобезопасность генно-инженерной деятельности	77
4.2.	Понятия «риск» и «оценка риска»	77
4.3.	Что подразумевается под риском генно-инженерной деятельности	79
4.4.	Принцип принятия мер предосторожности	80
4.5.	Понятие «научная неопределенность» в приложении к оценке риска генно-инженерной деятельности	82
4.6.	Принципы построения процедуры оценки риска генно-инженерной деятельности	83
4.7.	Идеальная система оценки риска генно-инженерной деятельности (схема и комментарии)	86
4.8.	Идентификация факторов риска генно-инженерной деятельности на практике.	88
4.9.	Оценка риска генно-инженерной деятельности	92
4.10.	Информация, необходимая для оценки риска генно-инженерной деятельности	96
	Литература к главе 4	99
Глава 5. Оценка риска возможных неблагоприятных эффектов генно-инженерных организмов на здоровье человека		103
5.1.	Основные факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека	103
5.1.1.	Факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека в замкнутых системах	103
5.1.2.	Факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека связанной с высвобождением ГИО в окружающую среду или их использованием в хозяйственной деятельности	103
5.2.	Оценка риска патогенности ГИО для человека	104
5.2.1.	Определение масштабов потенциального неблагоприятного воздействия генно-инженерных микроорганизмов на здоровье человека	105
5.2.2.	Определение вероятности неблагоприятного воздействия генно-инженерных микроорганизмов на здоровье человека	108
5.2.3.	Определение необходимых мер защиты в зависимости от уровня патогенности генно-инженерных организмов	109
5.3.	Оценка риска потенциальных вредных воздействий на здоровье человека пищевого сырья и традиционных продуктов питания	110
5.4.	Подходы к исследованию пищевой безопасности генно-инженерных организмов	114

5.5.	Применение концепции существенной эквивалентности для оценки безопасности генно-инженерных организмов и новых продуктов питания	116
5.6.	Процедура оценки риска ГМ продовольственного сырья и продуктов питания	120
5.7.	Оценка риска непреднамеренных эффектов генетической модификации	122
5.8.	Оценка потенциальной токсичности новых для организма-хозяина молекулярных продуктов трансгенов	126
5.9.	Оценка риска потенциальной аллергенности генно-инженерных организмов и ГМ продуктов	130
5.9.1.	Природа аллергической реакции организма человека на продукты питания	130
5.9.2.	Биологические механизмы пищевой аллергии	132
5.9.3.	Особенности пищевой аллергии и пищевых аллергенов	134
5.9.4.	Может ли генно-инженерная деятельность увеличить потребление аллергенных продуктов	136
5.9.5.	Оценка риска увеличения исходного аллергенного потенциала организмов вследствие их генетической модификации	138
5.10.	Насколько велик для здоровья человека риск, обусловленный возможностью горизонтального переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам	145
	Литература к главе 5	153
Глава 6. Оценка риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО для окружающей среды		157
6.1.	Каким образом могут воздействовать на экологические системы различные типы генно-инженерных организмов	158
6.2.	В чем отличие генно-инженерных организмов от организмов, полученных путем традиционной селекции, с точки зрения экологической безопасности	161
6.3.	Как проводится оценка экологического риска использования генно-инженерных организмов	164
6.4.	Какие экологические риски могут быть связаны с высвобождением и распространением ГИО	168
6.5.	Появление новых, более агрессивных сорняков в результате генетической модификации или переноса трансгенов, способствующих повышению агрессивности вида, диким родственным видам	170
6.5.1.	Каким образом генетическая модификация может стать причиной появления новых сорняков	170
6.5.2.	Существует ли проблема инвазивности и агрессивности по отношению к другим биологическим видам трансгенных животных и микроорганизмов	175
6.6.	Как проводится оценка агрессивности растений в качестве сорняков (оценка выживаемости и инвазивности)	177
6.7.	Миграция и последующая интрогрессия трансгена в дикие популяции в результате вертикального или горизонтального переноса генов	181
6.7.1.	Вертикальный перенос генов	181
6.7.2.	Горизонтальный перенос генов	191

6.8.	Оценка вероятности вертикальной и горизонтальной миграции генов и последствий такой миграции	194
6.9.	Воздействие продуктов трансгенов на организмы, не являющиеся мишенью их запланированного действия	198
6.10.	Оценка вероятности прямого или опосредованного действия продуктов трансгена на организмы-немишени	202
6.11.	Появление живых организмов, резистентных или толерантных к продуктам трансгенов	207
6.11.1.	Живые организмы, резистентные и толерантные к продуктам трансгенов	207
6.11.2.	Трансгенные вирусные ДНК (РНК)	213
6.12.	Сокращение биологического разнообразия в результате изменения естественных биоценозов	216
	Литература к главе 6	225
Глава 7.	Правовое регулирование биобезопасности	231
7.1.	Международно-правовой режим биобезопасности	231
7.1.1.	Основные положения Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии	233
7.1.2.	Орхусская конвенция и Международная конвенция по охране новых сортов растений	238
7.2.	Опыт правового регулирования безопасности генно-инженерной деятельности на национальном уровне	240
7.2.1.	Государственное регулирование биобезопасности в США	240
7.2.2.	Государственное регулирование биобезопасности в странах Европейского Союза	250
7.2.3.	Государственное регулирование биобезопасности в Российской Федерации	259
7.3.	Проект национальной системы биобезопасности для Республики Беларусь	268
7.3.1.	Законодательство Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности в замкнутых системах	271
7.3.2.	Законодательство Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний	274
7.3.3.	Законодательство Республики Беларусь в области биобезопасности при использовании генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности	277
7.3.4.	Законодательство Республики Беларусь в области безопасности и качества продовольственного сырья и продуктов питания	281
7.3.5.	Законодательство Республики Беларусь, регулирующее ввоз, вывоз и транзит генно-инженерных организмов	287
7.3.5.	Система органов государственного управления Республики Беларусь в области биобезопасности	292
7.3.6.	Система государственной экспертизы безопасности генно-инженерной деятельности	295
7.3.7.	Система контроля и мониторинга в области биобезопасности	297
7.3.8.	Механизм информирования и участия общественности в принятии решений в области безопасности генно-инженерной деятельности	300
7.3.9.	Альтернативный вариант концепции государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь	301

Литература к главе 8	304
Глава 8. Проблемы восприятия генетической инженерии общественностью	312
8.1. С чего все начиналось	312
8.2. Во имя дешевой славы	313
8.3. Кризис недоверия к генетической инженерии в Западной Европе	314
8.4. «Трансгенные ужасы», или «Что они никогда не расскажут о генной инженерии»	315
8.4.1. Они хотят нас отравить	316
8.4.2. Нас замучают аллергии	317
8.4.3. Навешивание ярлыков	318
8.4.4. За кого нас принимают?	319
8.4.5. Воспитываем в себе устойчивость к антибиотикам?	320
8.4.6. Разве ученым можно доверять?	321
8.5. Последствия кризиса недоверия общественности к генетической инженерии в Европе и перспективы его преодоления	322
8.6. Что нам дает маркировка ГМ-продуктов	324
8.7. Отношение населения Беларуси к генно-инженерным организмам	328
8.8. Информирование и участие общественности в принятии решений, касающихся безопасности генно-инженерной деятельности	331
Литература к главе 8	333
Глава 9. Медицина, биотехнология и биоэтика	335
9.1. Эмбриональные стволовые клетки	336
9.2. Клонирование	341
9.3. Клонирование человека и предрассудки	343
9.4. Этические аспекты клонирования	344
9.5. Статус человеческого эмбриона	348
Литература к главе 8	353
Терминологический словарь	355

Введение

Человек в своей деятельности издревле использовал живые организмы. При этом речь идет не только о непосредственном производстве сельскохозяйственной продукции путем выращивания растений и животных. Люди, сами того не подозревая, использовали и микроорганизмы. Хлебопечение, пивоварение, производство кисломолочной продукции, квашение овощей, виноделие, производство спирта и др. — все это примеры традиционных микробиологических биотехнологий.

В широком понимании термином «биотехнология» обозначают использование живых организмов для производства различных продуктов и энергии. Тем не менее, долгое время под биотехнологией понимали прежде всего именно микробиологические процессы. Это и понятно. Все перечисленные выше традиционные биотехнологии ассоциируются с промышленным производством. Более того, во второй половине двадцатого века сложилась крупная отрасль промышленности — микробиологическая. На микробиологических предприятиях с помощью специально отобраных штаммов бактерий, дрожжей производят различные фармацевтические препараты, средства защиты растений, биоудобрения, всевозможные пищевые продукты и сырье.

В это же время были разработаны эффективные методы культивирования изолированных клеток и тканей растений на специальных питательных средах. В результате появилась возможность использовать к растениям методы селекции и технологии, применяемые к микроорганизмам. Среди них можно назвать такие, как производство в промышленных масштабах различных фармацевтических препаратов клетками растений, методы быстрого размножения в условиях *in vitro* ценных генотипов растений, свободных от патогенов, для нужд семеноводства (микрклональное размножение), новые методы селекции: получение гаплоидов в культуре генеративных клеток, соматическая гибридизация путем слияния протопластов, клеточная селекция и др. Многие из этих методов явились необходимой методической основой для успешного начала следующего этапа развития биотехнологии.

Последние годы XX века характеризовались бурным развитием биотехнологий, основанных на достижениях молекулярной биологии и генетики. Благодаря разработке методов выделения наследственного материала (ДНК), его изучению (идентификации последовательностей, кодирующих определенные гены), созданию его новых комбинаций с помощью манипуляций, осуществляемых вне клетки, и перенесению этих новых генетических конструкций в живые организмы, появилась возможность создавать новые сорта растений, породы животных, штаммы микроорганизмов, обладающие полезными признаками, которые невозможно отобрать с помощью традиционной селекции. Созданы новые, более эффективные лекарственные препараты, способные лечить ранее неизлечимые болезни. В настоящее время трансгенные сорта сельскохозяйственных культур, устойчивые к гербицидам, вирусам, насекомым-вредителям, неблагоприятным факторам среды (холод, жара, засуха, засоление почв), с улучшенными качественными характеристиками (улучшенный состав белков, углеводов, растительного масла) занимают посевные площади, превышающие 60 млн. гектаров. Продукты питания, изготовленные из таких сортов, теперь уже не редкость на прилавках магазинов многих стран мира.

В Беларуси сложилась мощная микробиологическая промышленность. В частности, налажено производство лекарственных препаратов антимикробного, противовирусного, противовоспалительного, противоопухолевого, противолейкозного действия, аминокислот, витаминов, ферментов, гормонов, нуклеиновых компонентов, вакцин, кровезаменителей, диагностикумов и др. (всего более 300 наименований). Для нужд сельского хозяйства производятся различные кормовые добавки, средства ветеринар-

ной защиты животных, регуляторы роста растений и животных, инсектицидные, противобактериальные, противогрибные и противовирусные биопрепараты широкого спектра действия.

Начинается использование новых биотехнологий и применительно к растениям и животным. Освоены и усовершенствованы методы получения и микроклонального размножения чистого от патогенов посадочного материала сельскохозяйственных и декоративных культур. Новые методы, основанные на культивировании изолированных клеток и тканей растений, в том числе соматическая гибридизация путем слияния протопластов, культура пыльников и микроспор, находят применение в селекции сельскохозяйственных растений. В селекции животных применяются такие биотехнологические методы, как оплодотворение *in vitro*, трансплантация, деление и криоконсервирование эмбрионов.

Развитию новых биотехнологий уделяется большое внимание на государственном уровне. На 2001–2005 годы приняты две крупные государственные научно-технические программы: «Инфекции и медицинские биотехнологии» и «Промышленная биотехнология», а также государственная программа фундаментальных исследований «Разработка научных основ биотехнологических процессов: селекция и создание коллекции непатогенных микроорганизмов как биотехнологических объектов; генетическая и клеточная инженерия растений и микроорганизмов; микробный синтез биологически активных соединений и использование микроорганизмов в промышленности, сельском хозяйстве и охране окружающей среды («Биотехнология»).

В рамках Союза Беларуси и России принята научная программа «Создание высокоэффективных биологически безопасных лекарственных препаратов нового поколения на основе белков человека, полученных из молока трансгенных животных («Белро-странген»)). Государственная программа «Разработка и использование генно-инженерных биотехнологий в интересах сельского хозяйства и медицины («Генетическая инженерия») на 2002–2006 годы» помимо проведения научных исследований включает комплекс организационных и кадровых мероприятий, призванных дать толчок ускоренному развитию этого перспективного научного направления. Тем не менее, видно заметное отставание нашей страны в развитии именно генно-инженерных биотехнологий, которые требуют вложения значительных финансовых средств. Поэтому ожидать быстрого прорыва в этой области не приходится. В связи с этим целесообразно расширять международное сотрудничество в современной биотехнологии, чтобы ускоренно внедрять и использовать достижения других стран.

Несмотря на значительные достижения и блестящие перспективы, восприятие населением первых генетически модифицированных продуктов было, прямо скажем, неоднозначным. Демонстрации, пикеты, шумная пропагандистская кампания в прессе, уничтожение «приверженцами традиционного земледелия» посадок трансгенных культур, национальные референдумы о запрете генетической инженерии стали обычным делом во многих странах. Такая реакция, в общем, вполне объяснима: опыт показывает, что внедрение новых, революционных технологий может быть сопряжено с неблагоприятными, даже трагическими последствиями для здоровья человека и окружающей среды (примеров этого в истории достаточно). Однако это не означает, что надо отказываться от новых технологий. Важно своевременно определить возможные риски, связанные с их использованием, разработать и применять, если это необходимо, соответствующие меры предосторожности.

Среди потенциальных рисков для здоровья человека, связанных с использованием генно-инженерных биотехнологий, рассматриваются, например, изменение активности отдельных генов живых организмов под влиянием вставки чужеродной ДНК, в результате которого может произойти ухудшение потребительских свойств продуктов

питания, получаемых из этих организмов. В продуктах питания, полученных из генно-инженерных организмов, может быть повышенный по сравнению с реципиентными организмами уровень каких-либо токсичных, аллергенных веществ, который превышает установленные пределы безопасности. Опасения экологов вызывает высвобождение в окружающую среду трансгенных организмов, прежде всего сельскохозяйственных растений и животных, в геном которых привнесены чужеродные, не характерные для них гены микроорганизмов, вирусов, что может приводить к изменению естественных биоценозов в результате переноса трансгенов диким видам, появлению новых, более агрессивных патогенов, сорняков, поражению организмов, не являющихся мишенями трансгенных признаков, и др.

Первые генно-инженерные сорта сельскохозяйственных растений появились в производстве в 1992 году. За прошедший период они показали свою высокую эффективность, преимущество перед сортами, созданными с помощью традиционной селекции. Площади под ними стремительно расширяются. Большинство опасений относительно их возможной угрозы здоровью человека и окружающей среде не подтвердилось. Однако мы имеем еще очень короткую историю безопасного использования генно-инженерных организмов. Руководствуясь принципом предосторожности, в течение достаточно длительного времени необходимо принимать меры безопасности, включая государственное регулирование в области генно-инженерной деятельности. Задача эффективного государственного регулирования состоит в том, чтобы обеспечить, с одной стороны, максимально благоприятные условия для развития генетической инженерии как одного из приоритетных научных направлений, а с другой — гарантировать безопасность при осуществлении и использовании результатов и продуктов генно-инженерной деятельности.

Вторая часть этой задачи достигается благодаря применению системы мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности, которая получила название «биобезопасность». Биобезопасность (безопасность генно-инженерной деятельности) как новую область человеческих знаний можно разделить на два основных направления. Первое из них связано с разработкой и применением различных методов оценки и предупреждения риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО, второе — с системой государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности.

К настоящему времени разработана эффективная система оценки безопасности ГИО для здоровья человека и окружающей среды. Она содержит целый ряд подходов и методов, применяемых, начиная с этапа планирования предполагаемой генетической модификации и заканчивая получением свидетельства о государственной регистрации трансгенного сорта, дающего право использовать ГИО в хозяйственной деятельности. В большинстве развитых стран мира принято и эффективно функционирует специальное законодательство, касающееся биобезопасности, а также созданы соответствующие компетентные органы, которые претворяют его в жизнь.

В системе международных отношений вопросы биобезопасности вышли в последнее время на первый план. В 2000 году странами — Сторонами Конвенции о биологическом разнообразии (Беларусь является Стороной этой Конвенции) принят Картахенский протокол по биобезопасности, основная цель которого — «содействие обеспечению надлежащего уровня защиты в области безопасной передачи, обращения и использования живых измененных организмов, являющихся результатом современной биотехнологии, способных оказывать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия, с учетом также рисков для

здоровья человека и с уделением особого внимания трансграничному перемещению» (Картахенский протокол, статья 1). Протокол вступил в силу 11 сентября 2003 года.

Каждая Сторона Конвенции должна принять необходимые правовые, административные и иные меры для выполнения своих обязательств, предусмотренных в рамках Протокола. Речь, в частности, идет о разработке и принятии соответствующего законодательства, регулирующего безопасность генно-инженерной деятельности, создании административных структур (или наделении соответствующими полномочиями уже существующих), ответственных за реализацию этого законодательства, формировании системы обоснованного принятия решений по вопросам генно-инженерной деятельности, которая включает оценку и предупреждение риска возможных неблагоприятных ее последствий, разработку и внедрение механизма информирования и участия общественности в принятии решений по вопросам генно-инженерной деятельности.

В Беларуси предприняты важные шаги в области безопасного использования генно-инженерных биотехнологий, однако многое предстоит еще сделать. Среди того, что уже сделано, следует отметить прежде всего создание Национального координационного центра биобезопасности, в функции которого входят сбор, анализ и систематизация информации о законодательстве, научных исследованиях, полевых испытаниях, ввозе/вывозе, использовании генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности; предоставление этой информации заинтересованным министерствам и другим органам государственного управления, средствам массовой информации; обмен информацией с координационными центрами других стран, международными организациями; обеспечение проведения научной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов; оказание консультативных услуг в разработке законодательных актов и руководств по биобезопасности, в подготовке предложений по заключению двусторонних и региональных соглашений. Сотрудниками Центра совместно с юристами предложена концепция государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь, подготовлен проект Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» и пакет проектов соответствующих нормативных документов.

В мае 2002 года Беларусь присоединилась к Картахенскому протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. В связи с этим Совет Министров принял постановление от 5 июня 2002 года «О мерах по реализации положений Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии», в котором определены республиканские органы государственного управления, ответственные за выполнение Протокола: Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды – в части функций, связанных с высвобождением ГИО в окружающую среду, Министерство сельского хозяйства и продовольствия и Министерство здравоохранения – в части функций, связанных с использованием ГИО в хозяйственной деятельности. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, выполняющий функции Национального координационного центра биобезопасности, назначен ответственным за связь с Секретариатом Конвенции о биологическом разнообразии по вопросам биобезопасности.

Как известно, в ноябре 2000 года Совет Глобального экологического фонда (GEF – Global Environment Facility) принял «Первоначальную стратегию помощи странам в подготовке к вступлению в силу Картахенского протокола по биобезопасности» и утвердил совместный с Программой ООН по окружающей среде (UNEP) глобальный проект «Разработка национальных систем биобезопасности», имеющий целью оказание финансовой и технической помощи 100 странам в разработке и создании их национальных систем биобезопасности, содействие региональному и субрегиональному

сотрудничеству и обмену опытом по этим проблемам, что в целом должно помочь странам при вступлении в силу Картахенского протокола. Беларусь вошла в список этих стран, и с января 2003 года начата реализация совместного проекта правительства нашей страны и UNEP «Разработка национальной системы биобезопасности для Республики Беларусь».

В предлагаемой монографии отражены важнейшие результаты, достигнутые в ходе выполнения данного проекта. В частности, при написании книги использованы материалы обзоров, подготовленных Институтом генетики и цитологии, Институтом микробиологии, Институтом животноводства и Институтом защиты растений НАН Беларуси, Институтом микробиологии и эпидемиологии и Республиканским научно-практическим центром гигиены Минздрава Республики Беларусь, Общественным объединением «Экоправо», материалы, собранные Национальным координационным центром биобезопасности при создании информационной страницы этого центра в сети Интернет, а также результаты социологического исследования, проведенного Институтом социологии НАН Беларуси. В книгу вошли также материалы, содержащиеся в докладах, сделанных авторами на семинарах, проведенных в соответствии с программой проекта.

Авторы сочли возможным представить читателям результаты проекта в более широком контексте. С одной стороны, это позволит лучше оценить их значимость и то место, которое они занимают в формировании системы биобезопасности нашей страны. С другой стороны, в русскоязычной научной литературе существует большой пробел в той области, которая касается безопасности генно-инженерной деятельности, восприятия ее общественностью, этических проблем применения новых биотехнологий. Все это создает предпосылки для неадекватного восприятия населением достижений современной биотехнологии, рождает всевозможные мифы, страхи и, в результате, активное неприятие ГИО и недоверие к правительству. В такой ситуации резко активизируется деятельность всевозможных темных личностей и «экологических» общественных объединений, пытающихся сколотить политический и реальный финансовый капитал на раздувании психоза вокруг ГИО и генетической инженерии. Последствия такой деятельности предсказать несложно. Прежде всего это научное и технологическое отставание страны в одном из приоритетных научных направлений, значительные финансовые затраты для целей убеждения потребителей в безопасности новых технологий.

Предлагаемая книга может привлечь внимание разных групп населения, интересующихся достижениями генетической инженерии и вопросами безопасности генно-инженерной деятельности: биологов, специалистов сельского хозяйства и медицины, юристов, государственных служащих, студентов, учащихся средних школ и др. Естественно, уровень знаний в области биологии, в частности молекулярной генетики, у них будет сильно различаться. Поэтому авторы сочли необходимым в первой главе книги в простой форме представить базовые сведения по биологии и генетике. Это поможет читателям понять, каким образом получают генно-инженерные организмы и чем они отличаются от обычных, «немодифицированных» форм (глава 2). В главе 3 рассмотрены важнейшие достижения генетической инженерии и перспективы ее дальнейшего развития; особое внимание уделено успехам генетической инженерии растений, поскольку они в наибольшей степени затрагивают интересы потребителей.

Заметим, что представленные во второй и третьей главах материалы не претендуют на полноту отражения современного состояния вопроса. С одной стороны, события в области генетической инженерии развиваются столь стремительно, что угнаться за ними достаточно сложно. С другой стороны, авторы и не стремились к этому из-за ограниченного объема издания. Содержащиеся в первых главах сведения призваны

помочь читателю лучше разобраться в содержании глав 4, 5 и 6, посвященных вопросам биобезопасности. У читателей появляется возможность сформировать собственное представление о природе рисков возможных неблагоприятных эффектов генно-инженерных организмов для здоровья человека и окружающей среды, способах их оценки и предупреждения.

Глава 7 посвящена вопросам регулирования безопасности генно-инженерной деятельности на национальном и международном уровне. И наконец, не оставлены без внимания вопросы восприятия генетической инженерии и ГИО общественностью, включая ряд этических проблем, связанных с возможностью клонирования человека, а точнее, отдельных его клеток (главы 8 и 9). Монография содержит также краткий словарь биологических терминов, использованных при ее написании.

Глава 1

ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКЕ

Чтобы лучше понять, что такое генетическая инженерия, генно-инженерные организмы и генетически модифицированные продукты, чем они отличаются от обычных организмов и продуктов, желательно иметь представление о том, как их получают. Однако, прежде чем объяснить, что такое генетическая инженерия, есть смысл остановиться на основных биологических понятиях.

1.1. Что такое клетки

Клетка — основная структурная и функциональная единица всех живых существ, будь то растение, животное или микроб. Некоторые организмы, например бактерии, отдельные водоросли и грибы, являются одноклеточными: весь организм целиком заключен в одну клетку. Человек как представитель многоклеточных организмов содержит приблизительно 3 тысячи миллиардов клеток. Клетки, соединенные между собой, формируют у многоклеточных организмов различные ткани, органы или структуры (у животных — мозг, печень, кости, кожу; у растений — листья, корни, плоды и т.п.).

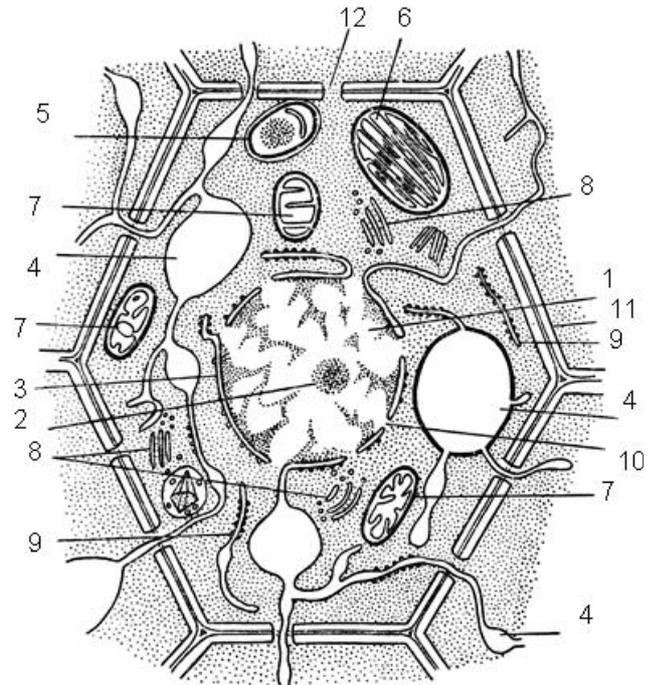
Как правило, клетки очень малы. Они имеют диаметр чаще всего намного меньше 1 мм. Практически их невозможно различить невооруженным глазом. Впервые их удалось разглядеть более 300 лет назад, вскоре после того, как были сконструированы первые микроскопы. Строение клеток высших организмов (растений и животных) изображено на рисунке 1.1. Клетки окружены мембраной, состоящей из липидов. Мембрана проницаема только для определенных молекул питательных веществ и ионов. Благодаря этому содержимое клетки удерживается внутри и не вытекает в окружающую среду. Растительные клетки имеют дополнительную клеточную стенку, состоящую из целлюлозы, которая придает растительным тканям структурную жесткость. Во всех клетках, кроме бактериальных, внутреннее клеточное пространство разграничено на окруженное мембраной сферическое тельце, называемое ядром, и цитоплазму. Ядро — это командный центр клетки. В нем находится ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), в которой закодирована почти вся необходимая для жизни клетки, а также всего организма наследственная информация: инструкции, управляющие ростом, делением и специфическими особенностями клеток. ДНК в ядре находится в виде извитых тяжей, известных под названием хромосом. Клетки, имеющие ядро, называются эукариотическими, лишенные ядра клетки бактерий и сине-зеленых водорослей называются прокариотическими.

Цитоплазма содержит различные органеллы, которые выполняют функции, аналогичные функциям отдельных органов многоклеточного организма (пищеварение, накопление и сохранение питательных веществ и энергии, выделение). В хлоропластах (место, где происходит фотосинтез), а также митохондриях (они ответственны за запасание энергии) содержится небольшое по сравнению с ядром количество ДНК (а следовательно, и генетической информации).

В бактериальных клетках основная масса ДНК содержится в одной большой кольцевой молекуле, которую называют бактериальной хромосомой (рис. 1.2). Помимо нее

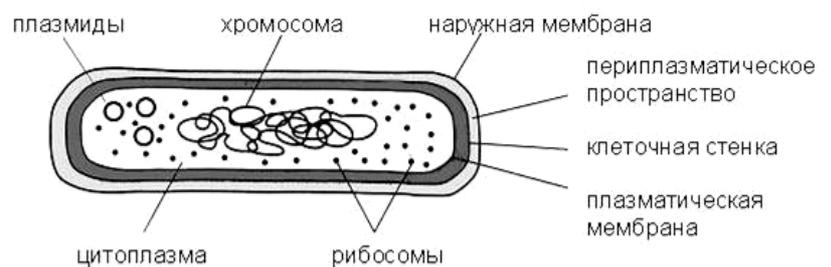
у многих бактерий есть большое количество очень маленьких кольцевых молекул ДНК, называемых плазмидами. Плазмиды способны размножаться и передаваться другим бактериальным клеткам независимо от главной хромосомы. Они были впервые идентифицированы как генетические элементы, несущие гены устойчивости к антибиотикам. Впрочем, они могут содержать и многие другие гены.

Рис. 1.1. Схема строения клетки растений (Биология, под ред. Б.А.Кузнецова, 1975). 1 - ядро; 2 - ядрышко; 3 - ядерная оболочка; 4 - вакуоля; 5 - лейкопласт с образующимся в нем крахмальным зерном; 6 - хлоропласт; 7 - митохондрия; 8 - аппарат Гольджи; 9 - эндоплазматическая сеть; 10 - ядерная пора; 11 - оболочка клетки; 12 - пора в оболочке клетки



Главное свойство клеток — способность расти и делиться с образованием дочерних клеток. Чтобы выполнять эти функции, клетки должны быть устроены очень сложно. И действительно, даже простейшие из них содержат молекулы почти 1000 разных веществ. Клетки можно сравнить с крошечными фабриками, которые, используя в качестве сырья, строительных блоков относительно простые молекулы, превращают их в многочисленные необходимые для роста и развития клетки сложные молекулы. В процессе роста и деления клетки нуждаются в энергии. В большинстве случаев они получают ее при расщеплении молекул, поступивших с пищей. Клетки растений, способные к фотосинтезу, используют энергию солнечного света.

Рис. 1.2. Схема строения клетки бактерий

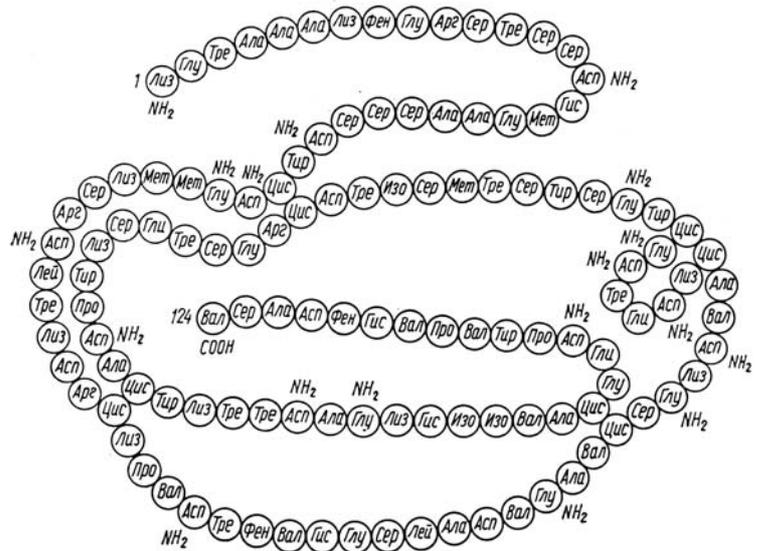


Все молекулы веществ в клетке можно разделить в соответствии с их размерами на два основных класса. Первый класс — так называемые малые молекулы: простейшие сахара, аминокислоты и жирные кислоты. Второй класс клеточных молекул составляют макромолекулы, которые являются полимерами, образующимися в результате соединения определенных малых молекул (например, аминокислот) в длинные цепи (например, белки). Малые молекулы обычно состоят из 10–50 атомов, связанных строго упорядоченным образом. Полимерные молекулы содержат большое количество мономерных звеньев из малых молекул и в сотни-тысячи раз превышают их по своим размерам. В каждой клетке можно обнаружить приблизительно 750 типов малых молекул и до 2000 разных видов макромолекул.

Каждая из многих тысяч различных молекул, содержащихся в клетке, потенциально способна вступать в очень большое число химических реакций с другими клеточными

молекулами. Однако при температурах существования живых организмов подавляющее большинство этих реакций не может происходить со скоростями, достаточными для поддержания жизни. В живых клетках нужные скорости реакций обеспечивают специальные катализаторы — так называемые ферменты. Как и все катализаторы, ферменты в ходе химических реакций не расходуются, и данная молекула может срабатывать тысячи раз за одну секунду. Большинство ферментов высокоспецифичны, и каждый из них катализирует строго определенную химическую реакцию.

Рис. 1.3. Структура макромолекулы белка (фермента нуклеазы) (по Уотсон и др., 1986). Лиз, Глу, Тре и т.д. - сокращенные названия аминокислот лизина, глутамина, треонина и т.д. Отдельные молекулы аминокислот соединены между собой водородными связями в цепочку-полипептид. Молекула белка может включать помимо аминокислот и другие молекулы и атомы, например металлов (железа, магния, серы и др.)



Как выяснилось сравнительно недавно (к 1935 году), все ферменты живых организмов по своей природе являются белками. В связи с этим изучение структуры и функций этого типа макромолекул привлекало (и продолжает привлекать) наибольшее внимание ученых. Было установлено, что белки — это полимерные молекулы, построенные из аминокислот. Известно 20 аминокислот, которые в разных белковых молекулах соединены в цепи в строго определенном порядке и соотношении (рис. 1.3). Это означает, что любая молекула белка характеризуется уникальной, характерной только для этого белка последовательностью аминокислот. Нарушение этого порядка может привести к нарушению каталитической способности фермента. Хотя белки в организме могут выполнять самые разнообразные, в том числе структурные функции (например, мышечные ткани построены из белков), основная их роль — катализ химических реакций. Можно сказать, что ферменты — один из важнейших, ключевых элементов живой клетки, непосредственно связанных со всеми ее жизненными функциями.

1.2. Что такое хромосомы, ДНК, генетический код, гены

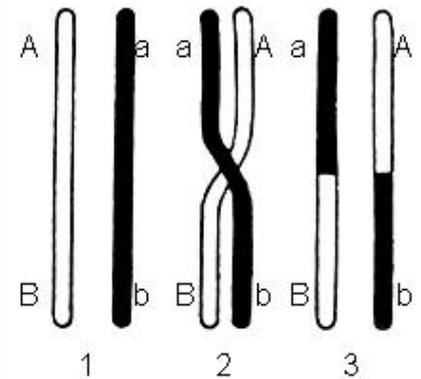
Информация о составе и строении всех белков клетки, порядке их образования в ходе развития организма, т.е. вся наследственная информация организма, закодирована в молекулах ДНК. У эукариотических организмов ДНК содержится в хромосомах, в каждой хромосоме по одной молекуле ДНК. Количество хромосом для каждого вида высших организмов является строго определенной постоянной величиной. Например, у человека 46 хромосом, пшеницы — 42. Появление дополнительных хромосом или отсутствие какой-либо хромосомы может приводить к серьезным нарушениям в организме.

Важнейшее свойство клеток — способность делиться таким образом, что каждая из образовавшихся дочерних клеток ничем не отличается по хромосомному составу одна

от другой и от материнской клетки. Это достигается благодаря тому, что накануне деления каждая из хромосом удваивается: в них образуется вторая молекула ДНК, абсолютно идентичная уже существующей. Этот процесс называется «репликация ДНК».

У высших организмов, которые размножаются половым путем, количество хромосом, как правило, четное. Более того, каждая из хромосом представлена в двух экземплярах: одна от «папы», вторая — от «мамы». Такие пары хромосом, которые кодируют одни и те же гены, называются гомологичными. В процессе образования половых клеток (яйцеклеток и сперматозоидов) гомологичные хромосомы сближаются и обмениваются отдельными участками: происходит рекомбинация генов (рис. 1.4). В результате половые клетки в своих хромосомах содержат новые комбинации родительских генов. Процесс деления при образовании половых клеток несколько отличается от обычного клеточного деления. Каждая половая клетка получает только по одной из каждой пары гомологичных хромосом. Таким образом, сперматозоиды и яйцеклетки человека, например, содержат 23 хромосомы. Однако после оплодотворения яйцеклетки сперматозоидом нормальное число хромосом восстанавливается.

Рис. 1.4. Упрощенная схема кроссинговера (по Петров.1976): 1 - исходные гомологичные хромосомы; 2 - две гомологичные хромосомы при конъюгации разрываются в точке контакта, и участки их воссоединяются в ином сочетании, в результате образуются две хромосомы 3 - каждая из которых содержит участки обеих исходных хромосом



Молекула ДНК по своей химической структуре представляет полимер, состоящий из двух спирально закрученных друг вокруг друга цепей, соединенных водородными связями (всем известная «двойная спираль»). Каждая из цепей содержит многие тысячи сочлененных между собой в определенном порядке так называемых нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит в свою очередь из трех более простых молекул: азотистого основания, сахара дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты. Нуклеотиды различаются между собой только азотистыми основаниями: имеется два пуриновых (аденин и гуанин) и два пиримидиновых (тимин и цитозин) основания. Генетики обозначают разные нуклеотиды по содержащемуся в нем основанию: А — адениновый нуклеотид или аденин, Г — гуаниновый (гуанин), Ц — цитозиновый (цитозин), Т — тимин (тимин).

Отдельные нуклеотиды соединяются между собой в цепи фосфодиэфирными связями: фосфатная группа 5'-углеродного (дезоксирибозы) атома одного нуклеотида связана с 3'-гидроксильной группой дезоксирибозы соседнего нуклеотида. На одном конце полинуклеотидной цепи находится 3'-гидроксильная группа (3'-конец), а на другом — 5'-фосфатная группа.

Две цепи ДНК являются строго комплементарными друг другу: адениновый нуклеотид одной цепи соединен водородными связями с тиминным нуклеотидом другой цепи, соответственно цитозиновый нуклеотид соединен с гуаниновым (рис. 1.5). Цепи молекулы ДНК антипараллельны: одна из них имеет направление 5'→3' а другая — 3'→5'. При удвоении ДНК (репликации ДНК), предшествующем делению клеток, происходит синтез новой молекулы ДНК, цепи которой комплементарны двум цепям исходной молекулы. Именно благодаря принципу комплементарности новая и старая молекулы ДНК абсолютно идентичны.

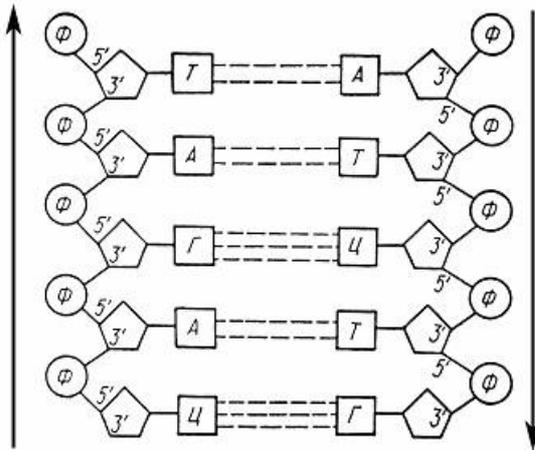


Рис. 1.5. Схема отрезка двунитевой молекулы ДНК (по Гершензон, 1979). Азотистые основания аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и тимин (Т) соединены водородной связью с сахаром дезоксирибозой. Атомы 3'- и 5'- дезоксирибозы соединены фосфатными связями (Ф) и образуют цепочки нуклеотидов - отдельные нити молекулы ДНК. Нити соединяются между собой водородными связями, которые устанавливаются между отдельными азотистыми основаниями нитей. При этом А всегда соединяется с Т (двойной водородной связью), а Г - с Ц (тройной связью). Таким образом, сочетание нуклеотидов в нитях комплементарно друг другу

Порядок расположения четырех разных нуклеотидов в молекуле ДНК определяет последовательность аминокислот во всех белках, образующихся в клетке. То есть наследственная информация организма записана в молекулах ДНК с помощью всего четырех «букв». Возникает вопрос: как же можно записать информацию о всех сложнейших процессах, протекающих в организме, четырьмя буквами? Оказалось, можно. Просто для этого надо использовать кодированную запись. Причем применяемый в природе код также оказался несложным: каждой из двадцати аминокислот, из которых построены белковые молекулы, соответствует определенное «слово», состоящее из трех «букв» – нуклеотидов. Например, аминокислоте лизин соответствует триплет нуклеотидов ААГ (аденин - аденин - гуанин), а аминокислоте аргинин – ЦГА (цитозин - гуанин - аденин). Эти триплеты получили название «кодоны». Не сложно заметить, что такой код – «вырожденный»: возможных сочетаний из трех «букв» намного больше, чем аминокислот. Поэтому отдельные аминокислоты могут быть закодированы разными «словами-синонимами». Например, тот же аргинин может быть закодирован и кодонами ЦГЦ, ЦГГ, АГА, АГГ. Из всех аминокислот только метионин и триптофан не имеют «синонимов». Тем не менее, код является «неперекрывающимся»: кодоны, кодирующие какую-либо аминокислоту, не могут служить кодом для другой аминокислоты. Благодаря этому запись последовательности кодонов в ДНК полностью соответствует последовательности аминокислот в соответствующем белке (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Генетический код: аминокислоты и кодоны (триплеты нуклеотидов мРНК), которые им соответствуют (по Глик, Пастернак, 2002)

Аминокислоты	Кодоны
Глицин	ГГГ, ГГА, ГГУ, ГГЦ
Глютаминовая кислота	ГАГ, ГАА, ГАУ, ГАЦ
Валин	ГУГ, ГУА, ГУУ, ГУЦ
Аланин	ГЦГ, ГЦА, ГЦУ, ГЦЦ
Лизин	ААГ, ААА
Аспарагин	ААУ, ААЦ
Метионин, старт	АУГ
Изолейцин	АУА, АУУ
Треонин	АЦГ, АЦА, АЦУ, АЦЦ
Триптофан	УГГ
Цистеин	УГУ, УГЦ
Тирозин	УАУ, УАЦ
Фенилаланин	УУУ, УУЦ
Серии	УЦГ, УЦА, УЦУ, УЦЦ, АГУ, АГЦ
Аргинин	ЦГГ, ЦГА, ЦГУ, ЦГЦ, АГГ, АГА
Глютамин	ЦАГ, ЦАА
Гистидин	ЦАУ, ЦАЦ
Лейцин	ЦУГ, ЦУА, ЦУУ, ЦУЦ, УУГ, УУА
Пролин	ЦЦГ, ЦЦА, ЦЦУ, ЦЦЦ
	Стоп-кодоны: УГА, УАГ, УАА

Участок ДНК, на котором закодирована информация о каком-то одном белке, называется геном. Средняя длина ДНК, кодирующая один ген, соответствует приблизительно 1000 пар нуклеотидов. На одной молекуле ДНК обычно располагается большое количество генов, а также последовательности, оказывающие влияние на их актив-

ность, и некодирующие последовательности, роль которых пока неясна. Растения имеют 25 – 35 тысяч генов, у человека их около 70 тысяч. Можно себе представить, какой объем информации записан на ДНК. Длина ДНК одной клетки человека – 2 метра, а общая длина ДНК человека поистине астрономическая: приблизительно 60 тысяч миллиардов километров, что соответствует расстоянию от Земли до Луны и обратно, умноженному на 800! Несмотря на это, механизм использования наследственной информации работает исключительно четко и практически без сбоев. Как это достигается?

1.3. Каким образом используется информация, записанная в молекулах ДНК

ДНК не может непосредственно участвовать в синтезе белков. Она является только местом, где записана информация о них, подобно жесткому диску компьютера. Синтез белков происходит в специализированных рибонуклеопротеидных частицах (т.е. состоящих из рибонуклеиновой кислоты и белка), называемых рибосомами. Для того чтобы доставить информацию из «жесткого диска компьютера» (ядра клетки с хромосомами) к месту сборки белков, используется «дискета», в качестве которой выступает так называемая информационная, или матричная, рибонуклеиновая кислота (мРНК). РНК по своей природе очень близка к ДНК. Это тоже полимер, правда, имеющий только одну нить, а вместо сахара дезоксирибозы нуклеотиды содержат рибозу. Нуклеотиды, составляющие молекулу РНК, аналогичны тем, что содержатся в молекулах ДНК: А, Г, Ц, а также У – урациловый, который близок по структуре Т – тиминovому нуклеотиду ДНК и который так же, как и Т, комплементарен А. «Списывание» информации с «жесткого диска» (ДНК) на «дискету» происходит путем образования молекулы мРНК, комплементарной одной из нитей ДНК. Таким образом, последовательность нуклеотидов в ней полностью идентична таковой другой нити ДНК (рис. 1.6). Разумеется, этой информации вполне достаточно для синтеза белка со строго определенной последовательностью аминокислот в соответствии с последовательностью нуклеотидов в ДНК. Процесс считывания информации с ДНК на мРНК называется транскрипцией, синтез белка в рибосомах в соответствии с информацией, записанной на мРНК, – трансляцией (рис. 1.7).

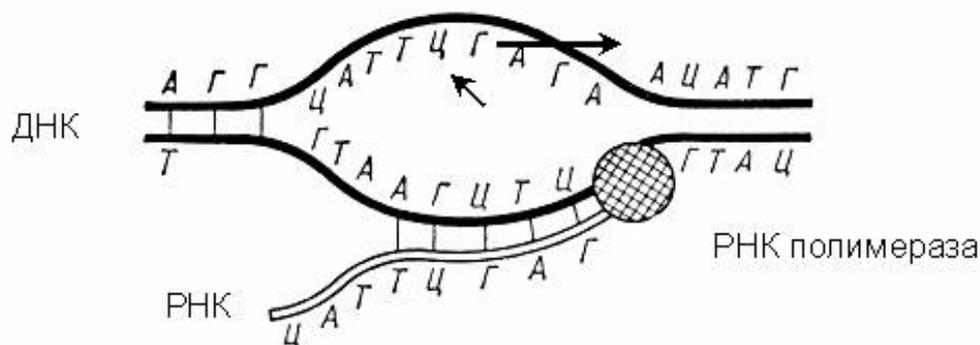


Рис. 1.6. Схема, иллюстрирующая механизм транскрипции (по Гершензон, 1979). А - аденин, Г - гуанин, Ц - цитозин, Т - тимин, У - урацил. Фермент РНК-полимераза прикрепляется к ДНК в области промотора, «расплетает» двойную спираль ДНК и, перемещаясь вдоль одной из нитей, последовательно строит рядом с ней комплементарную ей нить молекулы мРНК. По мере передвижения РНК-полимеразы растущая нить мРНК отходит от матрицы и двойная спираль ДНК позади фермента восстанавливается. Когда РНК-полимераза достигнет терминальной последовательности гена, мРНК отделяется от ДНК

Большинство генов имеет следующее строение (рис. 1.8). Впереди каждого гена на молекуле ДНК расположена последовательность нуклеотидов (она может быть по длине даже больше самого гена), которая регулирует его активность: «включение-выключение», интенсивность, место (например, в листьях растения на свету) и время работы (например, в период цветения). Эта регуляторная последовательность называется промотором. Кодированная область гена начинается с триплета нуклеотидов АТГ, который указывает место начала считывания информации с мРНК при ее трансляции в рибосомах, и заканчивается так называемым стоп-кодоном (ТАГ, или ТАА, или ТГА), указывающим место окончания трансляции. У высших организмов, а также у многих прокариот кодирующая область гена может прерываться одним или несколькими интронами – участками ДНК, которые не несут генетической информации о последовательности аминокислот закодированного белка (кодирующие участки называют экзонами). Участки мРНК, соответствующие интронам, удаляются в процессе «созревания» (посттранскрипционного преобразования) мРНК (сплайсинг мРНК).

Следом за участком ДНК, кодирующим последовательность аминокислот в белке (собственно ген), располагается последовательность АА-ТААА, обеспечивающая присоединение к мРНК так называемого «полиаденилового хвоста» (поли-А), который предохраняет мРНК от разрушающего действия внутриклеточных ферментов при перемещении ее из ядра к рибосомам, и последовательность нуклеотидов, указывающая место окончания транскрипции.

Транскрипция осуществляется следующим образом. В области промотора находится специальная последовательность, к которой присоединяется молекула фермента, катализирующего образование мРНК. Нити ДНК временно расплетаются

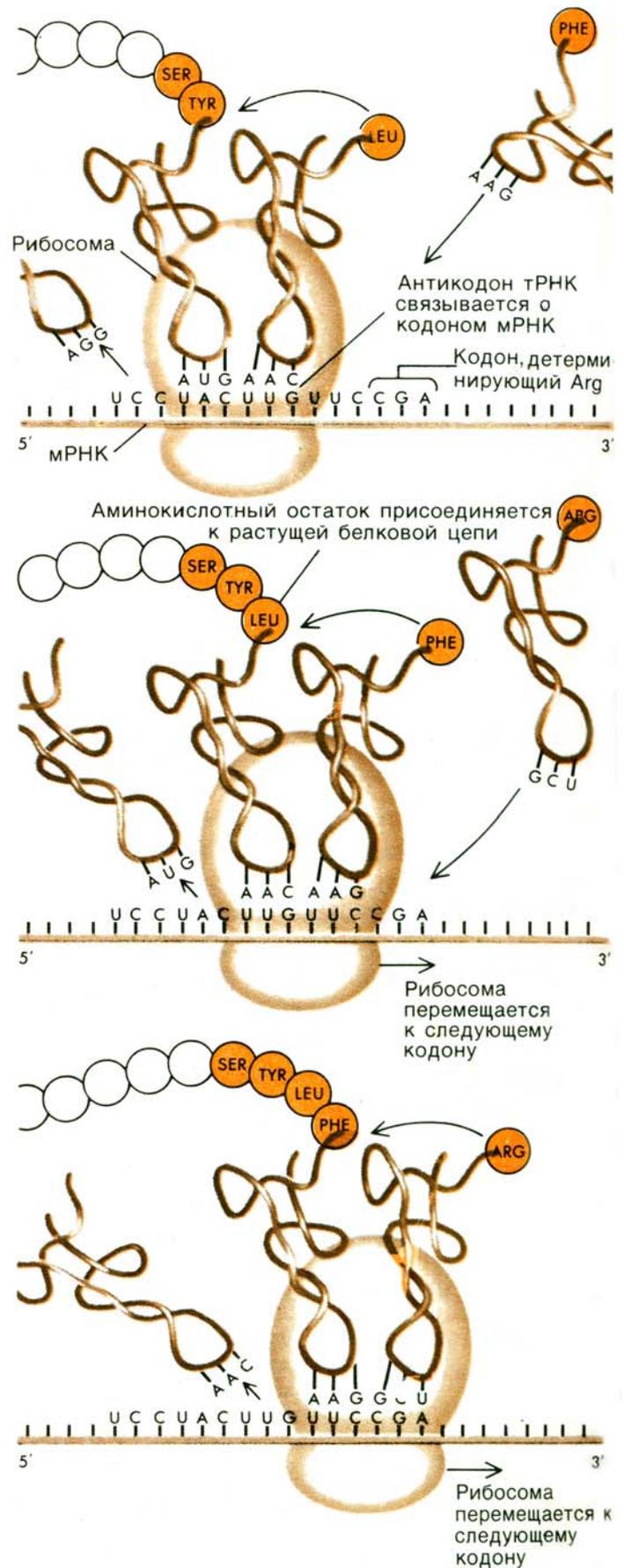


Рис. 1.7. Схема механизма трансляции (по Уотсон и др., 1986). Пояснения в тексте и на рисунке

ются, и фермент, «проходя» вдоль кодирующей области одной из нитей ДНК и используя ее в качестве матрицы, обеспечивает синтез мРНК (см. рис. 1.6).



Рис. 1.8. Схема гена эукариот. Промотор, эхансер, сайлэнсер - регуляторные последовательности. Кодирующая последовательность гена включает экзоны и интроны. Информация, записанная на мРНК с интронов, удаляется в ходе «созревания» (посттранскрипционного преобразования) молекулы мРНК. Терминальные последовательности гена включают кодоны, кодирующие место отсоединения РНК-полимеразы от молекулы ДНК и место присоединения так называемого поли-А хвоста молекулы мРНК (состоящего из остатков аденина)

Полученная мРНК из ядра переходит в цитоплазму, где на рибосомах происходит синтез белка (трансляция) (см. рис 1.7). При этом мРНК выступает в качестве матрицы, на которой происходит сборка цепи аминокислот. В этом процессе участвуют также молекулы РНК другого типа – транспортные РНК (тРНК), которые связываются с аминокислотами перед включением их в белок. Фактически они доставляют их к месту синтеза белка. Причем каждой аминокислоте отвечает определенная тРНК, которая умеет узнавать соответствующий своей аминокислоте кодон на молекуле мРНК. Это оказалось возможным благодаря уже известному нам принципу комплементарности нуклеиновых кислот. Транспортная РНК имеет последовательность из трех нуклеотидов, комплементарных кодам соответствующих аминокислот. Данные последовательности получили название антикодонов. В ходе трансляции мРНК протягивается через рибосому таким образом, что последовательные кодоны оказываются в положениях, при которых возможно присоединение определенной аминокислоты. Соответствующие антикодоны тРНК узнают готовый к сборке кодон мРНК и к собираемой цепи белка добавляется очередная аминокислота, которая должна быть именно в этом месте цепи.

1.4. Каким образом клетка узнает, когда и какой белок синтезировать и в каком количестве

Ни одна клетка никогда не использует всю информацию, закодированную в ДНК ее хромосом. Клетки в организме разделяют свои обязанности – они специализированы. Клетки мозга не образуют инсулин, клетки печени – слюну, а клетки кожи – кости. Это же относится и к растениям: клетки корня не синтезируют зеленый пигмент хлорофилл, а клетки листа не образуют пыльцу или нектар. Работа генов, ответственных за производство каких-либо веществ, зависит от возраста организма. Молодые растения не образуют веществ, связанных с процессом созревания плодов, у пожилых людей, как правило, не могут расти новые зубы. В придачу ко всему, регуляция активности генов тесно связана с условиями окружающей среды. Например, осенью при недостатке тепла и сокращении светового дня в листьях деревьев прекращается синтез хлорофилла, и они приобретают желтую или красную окраску за счет сохранения других пигментов – ксантофиллов.

Рассмотрим для примера, как функционирует ген, кодирующий образование инсулина (гормона, регулирующего содержание сахара в крови). Специальная молекула «посыльный», несущая сигнал о недостатке инсулина в крови, находит промотор гена, кодирующего инсулин, и присоединяется в определенном месте промотора, которое она может распознать. Это служит сигналом к включению механизма работы (экспрес-

сии) гена. Когда инсулина в крови становится достаточно, поступает сигнал о «выключении» гена.

Селекционер, занимающийся выведением новых сортов растений или пород животных, может с помощью подбора родительских форм получить гибридное потомство, у которого активность отдельных генов выше или ниже по сравнению с обычным уровнем, характерным для какого-либо растения или животного, например получить сорта картофеля с повышенным содержанием крахмала или сорта рапса, не содержащие в масле токсичные вещества типа эруковой кислоты. Но селекционер не может заставить листья того же рапса образовывать масло, которое обычно синтезируется в семенах, хотя в хромосомах клеток листа содержится вся необходимая для этого информация. Конечно, можно попытаться «обмануть» растение, заставив его листья образовывать масло. Для этого необходимо у гена, кодирующего образование масла, поменять промотор, поставив его под промотор того гена, который функционирует в листьях. Однако здесь кончается традиционная селекция и начинается генетическая инженерия.

1.5. Что такое традиционная селекция

В основе традиционной селекции лежит прежде всего поиск оптимального сочетания в одном организме генов, полученных от разных родительских форм. Для этого проводят гибридизацию различных сортов или селекционных линий одного вида, обладающих какими-либо ценными признаками (высокая продуктивность, устойчивость к болезням и вредителям и т.п.). Чем выше генетическая изменчивость внутри вида (широкий выбор селекционно-ценных генов), тем, как правило, выше эффективность селекции. Но есть виды сельскохозяйственных растений, для которых естественная внутривидовая изменчивость невысока (например, свекла). Многие ценные гены у видов культурных растений могут отсутствовать совсем (например, гены устойчивости к некоторым болезням, вредителям). Поэтому в селекции широкое распространение получили методы, направленные на расширение генетического разнообразия вида с помощью экспериментального мутагенеза или отдаленной гибридизации. В первом случае организм подвергается действию факторов, вызывающих различные нарушения в структуре ДНК: радиации, обработке химическими веществами, обладающими мутагенной активностью. Большинство индуцированных таким образом нарушений имеет неблагоприятные последствия для организма. Однако отдельные мутации могут быть весьма полезны с селекционной точки зрения.

Отдаленная гибридизация между культурными растениями и родственными дикими видами позволяет не только расширить генетическую изменчивость культурного вида, но, что наиболее важно, и привнести отдельные ценные гены от дикого вида, отсутствующие у культурного вида. Подобные скрещивания обычно являются весьма сложным делом, поскольку между видами существуют жесткие репродуктивные барьеры. Чаще всего пыльца чужого вида не может расти на пестике и оплодотворить яйцеклетку. Если оплодотворение все же произошло, то семена получаются нежизнеспособными из-за недоразвитого эндосперма (питающего элемента семени) или из семени развиваются стерильные, не способные формировать жизнеспособные половые клетки гибриды. Между видами существуют также жесткие барьеры, затрудняющие естественную рекомбинацию. Это означает, что хромосомы межвидового гибрида, полученные от разных видов, могут отличаться по количеству и гомологии (сходству). Отсутствие гомологии между хромосомами приводит к тому, что они не способны сближаться и обмениваться отдельными участками (а следовательно, и отдельными генами) в процессе образования половых клеток. В результате становится невозможным перенос нужных генов от дикого вида в генетический материал культурного вида. Поэтому от-

даленная гибридизация может быть эффективна только в том случае, когда скрещиваются относительно близкие в эволюционном отношении виды.

Проблема отсутствия рекомбинации у отдаленных гибридов может быть решена посредством удвоения у них количества хромосом. В этом случае каждая хромосома будет иметь себе пару, и процесс образования половых клеток будет протекать нормально. Такие гибриды, объединяющие в своем геноме полные (т.е. двойные) наборы хромосом разных видов (их называют амфидиплоидами), весьма широко распространены в природе. Наиболее известные из них — пшеница, слива. Но если селекционер попытается получить амфидиплоид с участием культурного и дикого вида, то он должен иметь в виду, что у этого гибрида помимо селекционно-ценных генов дикого вида будет присутствовать и полный набор нежелательных «дикарских» генов. Избавиться от них можно только путем возвратных скрещиваний с культурным видом, в ходе которых геном дикого вида замещается культурным и лишь отдельные ценные гены дикого вида сохраняются благодаря селекции. Однако эта процедура может быть эффективной только в случае относительно высокой гомологии хромосом скрещиваемых видов (т.е. они должны быть относительно близкородственными). Круг замкнулся. Не случайно поэтому, единственным амфидиплоидом, представляющим селекционную ценность из числа полученных искусственно, остается тритикале — гибрид между двумя культурными видами: пшеницей и рожью.

Как видим, традиционная селекция имеет целый ряд ограничений, не позволяющих эффективно использовать все многообразие генов, существующее в природе. Генетическая инженерия дает возможность в значительной мере обойти все естественные межвидовые репродуктивные и рекомбинационные барьеры. Она дает возможность оперировать (комбинировать, переносить от одного вида к другому) любыми генами, принадлежащими совершенно не родственным организмам или даже синтезированными искусственно. Все это стало возможным благодаря выдающимся достижениям в изучении законов наследственности, среди которых на первом месте стоит открытие универсальности построения и функционирования генетического материала живых организмов на планете Земля.

Глава 2

КАК ПОЛУЧАЮТ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ОРГАНИЗМЫ

2.1. Что такое генетическая инженерия

Существует много определений генетической инженерии. По мнению авторов, суть новой технологии можно выразить следующим образом. Генетическая инженерия – это технология получения новых комбинаций генетического материала путем проводимых вне клетки манипуляций с молекулами нуклеиновых кислот и переноса созданных конструкций генов в живой организм, в результате которого достигается их включение и активность в данном организме и у его потомства.

Как видно из этого определения, процесс создания ГИО можно разделить на несколько этапов. Первый этап включает выделение и идентификацию отдельных генов (соответствующих фрагментов ДНК или РНК), которые собираются перенести другим организмам, а также соответствующих регуляторных элементов (без них никакой ген функционировать не будет!). Иногда гены или их части синтезируют искусственно.

Затем эти гены и регуляторные элементы соединяют между собой в определенном порядке с помощью чисто химических методов (технология рекомбинантных ДНК, или генная инженерия). То есть все названные манипуляции проводят вне организма, *in vitro* (в пробирке). В результате получается генетическая конструкция, которая содержит один или несколько генов (точнее, фрагментов ДНК, кодирующих последовательность аминокислот протеинов – продуктов генов), а также все необходимые регуляторные элементы, обеспечивающие активность этих генов (трансгенов) после их переноса в организмы. Такие генетические конструкции далее соединяют с ДНК так называемого вектора для клонирования. В качестве вектора чаще всего используют плазмиды – небольшие кольцевые молекулы ДНК, имеющиеся у большинства бактерий. Создание конструкции «клонировующий вектор – встроена ДНК» необходимо для эффективного переноса и активности трансгенов (репликации и трансляции) в живых организмах.

Следующий этап – перенос трансгенов в отдельные живые клетки (процесс трансформации, или, как принято его называть в последнее время, «генетической модификации»), где они могут реплицироваться и передаваться дочерним клеткам, образовавшимся при делении трансформированных клеток. В случае, если все описанные процедуры прошли нормально, из одной трансформированной клетки при культивировании возникает множество клеток, которые содержат привнесенную искусственную генетическую конструкцию, и при этом образуются протеины – продукты трансгенов. Биосинтез новых для организма протеинов является основой для проявления у него нового селекционного признака, например толерантности к гербицидам, антибиотикам, устойчивости к насекомым-вредителям и т.д.

Для одноклеточных организмов процесс генетической модификации заканчивается, как правило, внедрением в них рекомбинантной плазмиды и последующим отбором трансформированных клеток. Лишь в отдельных случаях для более высокой стабильности трансформантов добиваются включения трансгенов в бактериальную хромосому. В случае же высших многоклеточных организмов встраивание трансгенов в

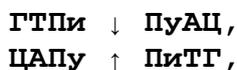
генетический материал клетки (ДНК хромосом или клеточных органелл — хлоропластов, митохондрий) является обязательным. Более того, необходимо из одной или нескольких трансформированных клеток восстановить целый организм. А это весьма непростая задача, которая была решена (правда, не для всех видов организмов в полной мере) сравнительно недавно. В частности, первые растения, регенерированные из отдельных клеток, были получены в начале 60-х годов прошлого века, что стало возможным благодаря разработке эффективных методов культивирования изолированных растительных клеток на специальных питательных средах. Добавка в питательные среды определенных регуляторов роста (фитогормонов) позволяет управлять процессами деления клеток в культуре *in vitro*, а также, что самое главное, индуцировать у них морфогенез, т.е. «заставлять» их образовывать отдельные органы (стебли, корни) или даже целые зародыши (процесс эмбриогенеза), из которых в дальнейшем можно получить целое растение.

Рассмотрим подробнее, каким образом осуществляют перечисленные манипуляции.

2.2. Методы создания рекомбинантных молекул ДНК

Технологию рекомбинантных ДНК можно использовать для манипуляций с фрагментами ДНК, выделенными из живых организмов или синтезированными искусственно. Эта технология позволяет также вносить определенные изменения в структуру естественных генов и их регуляторных элементов, комбинировать их в произвольной последовательности. Для того чтобы проводить названные манипуляции, необходимо иметь возможность разрезать молекулы ДНК на отдельные определенные фрагменты, а затем сшивать их в нужном сочетании. Для реализации первой из названных задач используют наборы ферментов — рестриктаз.

Первые рестриктазы, пригодные для генно-инженерных целей, были выделены в 1970 году Г. Смитом (США), обнаружившим, что бактерия *Haemophilus influenzae* быстро расщепляет ДНК фагов. В результате проведенных исследований Г. Смит установил, что нуклеазная активность (способность разрезать молекулы нуклеиновых кислот ДНК и РНК), характерная для живых бактерий, сохраняется и в бесклеточном экстракте, полученном из них. Выяснилось, что нуклеазная активность обусловлена присутствием в экстракте фермента — рестриктазы, получившего название *HindIII*. Было установлено, что выделенный и очищенный фермент способен узнавать последовательности нуклеотидов:



где Пи — любое пиримидиновое основание, а Пу — пуриновое основание, и проводить расщепление молекулы ДНК (место расщепления указано стрелками). Интересно, что рестриктаза *HindIII* способна разрезать ДНК из различных источников, в том числе хорошо нам известной бактерии *Escherichia coli* (*E.coli*), не повреждая при этом ДНК бактерии, из которой она выделена.

В дальнейшем было выделено несколько сотен рестриктаз из разных бактерий, способных узнавать и расщеплять специфические последовательности нуклеотидов (сайты узнавания) в молекуле ДНК. Некоторые из этих ферментов узнают группы из четырех нуклеотидов, другие — из шести и даже более нуклеотидов. Понятно, что рестриктазы, распознающие группы из четырех нуклеотидов, вносят в молекулу ДНК, выделенную из какого-либо организма, больше разрывов, чем те, которые узнают шесть и более нуклеотидов.

Для целей генной инженерии наибольшее значение имело выделение рестриктаз, которые дают фрагменты с так называемыми «липкими» (комплементарными) конца-

ми. В случае их использования разрывы ДНК происходят в местах, расположенных наискось: на концах каждого из полученных фрагментов остаются короткие одноцепочечные «хвосты» из нескольких нуклеотидов (табл. 2.1). Если объединить в одной пробирке фрагменты ДНК любого происхождения, полученные с помощью одной и той же рестриктазы, дающей «липкие» концы, то эти фрагменты соединятся между собой. Однако водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями недостаточно прочны, чтобы стабильно удерживать два объединенных фрагмента ДНК. Для воссоединения фосфодиэфирных связей между концами сшиваемых фрагментов ДНК необходим фермент ДНК-лигаза. Этот фермент впервые выделен в 1967 году из культуры *E. coli*, инфицированной бактериофагом Т4, при изучении энзимологии процесса репликации ДНК (то есть еще до того, как научились «разрезать» ДНК).

Таблица 2.1.
Нуклеотидные последовательности, распознаваемые некоторыми ферментами рестрикции, и характер получаемых концов ДНК (по Глик, Пастернак, 2002)

Рестриктаза	Сайт узнавания	Характер получаемых концов ДНК
<i>EcoRI</i>	Г ↓ А-А-Т-Т-Ц Ц-Т-Т-А-А ↑ Г	«Липкие» концы с 5'-фосфатной группой
<i>BamHI</i>	Г ↓ Г-А-Т-Ц-Ц Ц-Ц-Т-А-Г ↑ Г-	То же
<i>PstI</i>	Ц-Т-Г-Ц-А ↓ Г Г ↑ А-Ц-Г-Т-Ц	»
<i>Sau3AI</i>	↓ Г-А-Т-Ц Ц-Т-А-Г ↑	»
<i>NotI</i>	Г ↓ Ц-Г-Г-Ц-Ц-Г-Ц Ц-Г-Ц-Ц-Г-Г-Ц ↑ Г	»
<i>PvuII</i>	Ц-А-Г ↓ Ц-Т-Г Г-Т-Ц ↑ Г-А-Ц	«Тупые» концы
<i>HpaI</i>	Г-Т-Т ↓ А-А-Ц Ц-А-А ↑ Т-Т-Г	То же
<i>HaeIII</i>	Г-Г ↓ Ц-Ц Ц-Ц ↑ Г-Г	»

Для целей генной инженерии большое значение имеет использование еще одного фермента — концевой трансферазы из тимуса теленка, который катализирует присоединение нуклеотидов к 3'-концам цепей ДНК. Благодаря этому «тупой» конец ДНК несложно превратить в «липкий». Если к обоим 3'-концам двухцепочечного фрагмента присоединить несколько расположенных друг за другом адениновых нуклеотидов (поли-А), а к другому фрагменту ДНК присоединить поли-Т, то при смешивании этих двух фрагментов они соединятся между собой, поскольку их концы комплементарны друг другу (рис. 2.1).

В современных генно-инженерных работах часто используют еще один метод произвольного сшивания фрагментов ДНК, основанный на применении так называемых линкеров — искусственных сайтов рестрикции. Линкеры представляют собой короткие фрагменты ДНК (олигонуклеотиды), состоящие из 8–10 нуклеотидных пар. Их синтезируют искусственно. При этом состав и последовательность нуклеотидов в них соответствует сайту рестрикции одной из рестриктаз, образующей «липкие» концы и использованной при выделении фрагмента ДНК, который предполагается «пришить» к какому-то определенному фрагменту ДНК. Линкеры «пришивают» к последнему фрагменту ДНК с помощью ДНК-лигазы, а затем расщепляют их рестриктазой. В ре-

зультате данный фрагмент приобретает «липкий» конец нужной нам конфигурации (рис. 2.2).

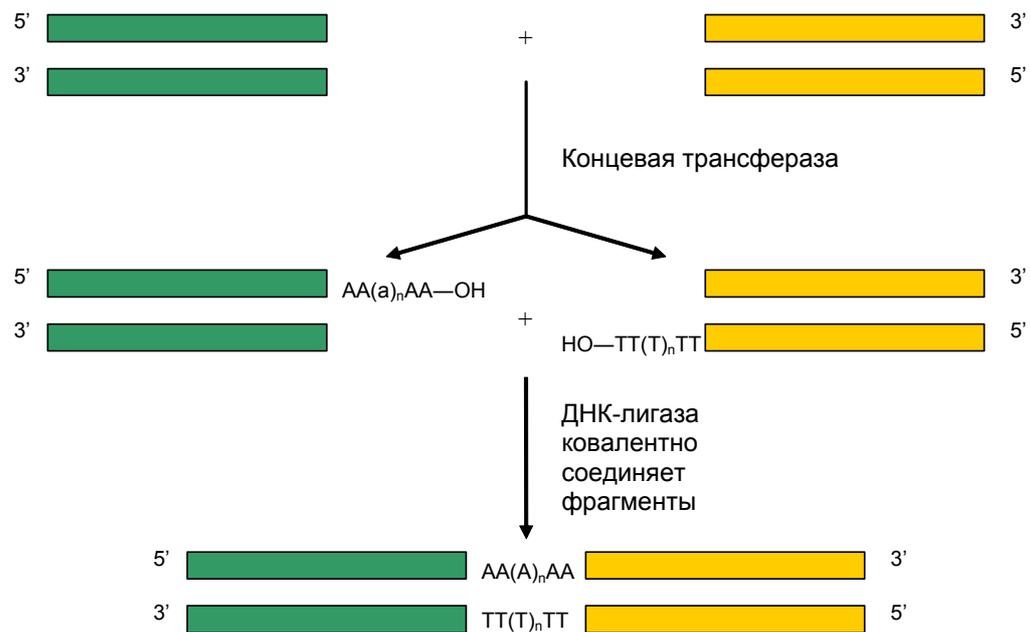


Рис. 2.1. Лигирование двух концов ДНК с «тупыми» концами путем присоединения к ним poly-dA или poly-dT (по Уотсон и др., 1986)

Одна какая-либо рестриктаза вносит строго определенное количество разрывов в определенных местах молекулы ДНК какого-либо анализируемого организма. В этом можно убедиться, если образовавшиеся после обработки ферментом фрагменты ДНК разделить с помощью гель-электрофореза.

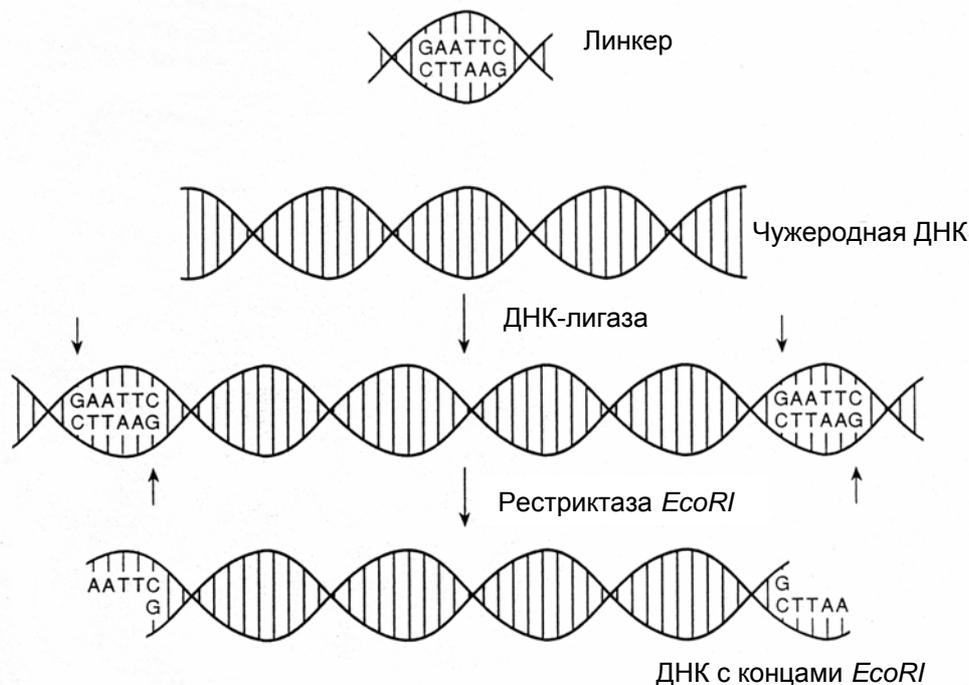


Рис.2.2. Линкеры: олигонуклеотиды, содержащие сайт рестрикции. Их можно добавить с помощью ДНК-лигазы к «тупым» концам фрагмента ДНК. После обработки соответствующей рестриктазой фрагмент ДНК будет иметь «липкие» концы, совместимые с концами ДНК, разрезанной той же самой рестриктазой.

Принцип этого распространенного аналитического метода, используемого для исследования белков и нуклеиновых кислот, заключается в следующем. Компоненты смеси разделяют путем пропускания ее через гель — полужидкую среду с сетчатой пространственной структурой, которую получают методом полимеризации агара, агарозы, сополимеризации акриламида и бисакриламида и др. Обычно гели готовят в виде тонких пластинок, имеющих у одного края лунки для нанесения препарата. Находящиеся в буферном растворе макромолекулы обладают электрическим зарядом. Когда через гель с нанесенным раствором пропускают электрический ток, то компоненты смеси начинают перемещаться в электрическом поле. Фрагменты ДНК или отдельные протеины, содержащиеся в анализируемой смеси, имеют разную длину, а следовательно, и размеры. Скорость миграции компонентов смеси в геле пропорциональна их размерам: более мелкие фрагменты перемещаются быстрее. В результате по окончании электрофореза наиболее «быстрые» компоненты смеси достигнут противоположного края гелевой пластинки, а остальные равномерно распределятся по ее длине в соответствии со своими размерами. После их окрашивания специальными красителями можно наблюдать на геле спектр четко различимых полос, расположенных одна за другой, каждая из которых соответствует отдельному компоненту смеси (рис. 2.3).



Рис. 2.3. Электрофоретический спектр рестрикционных фрагментов ДНК (по Уотсон и др., 1986)

Электрофоретические спектры рестрикционных фрагментов для какой-либо рестриктазы и для ДНК какого-либо организма строго специфичны. Сколько бы раз мы ни выделяли ДНК, например, вируса SV40, сколько бы раз ни обрабатывали ее рестриктазой, например Hind II, в любом случае при электрофорезе мы получим один и тот же спектр, состоящий из 11 специфических полос. На основании этого правила строят так называемые рестрикционные карты молекул ДНК, на которые наносят в установленной последовательности сайты рестрикции различных рестриктаз. Такие карты используют в молекулярной генетике для характеристики отдельных ДНК и в генной инженерии для подбора рестриктаз при выделении отдельных генов.

Исключительно важной особенностью электрофоретического разделения рестрикционных фрагментов ДНК является то, что при электрофорезе эти фрагменты не разрушаются и их можно выделить (элюировать) из геля в виде биологически активных двухцепочечных молекул. Понятно, что фрагменты ДНК, выделенные из одной какой-либо полосы, будут строго идентичны друг другу. Далее их можно анализировать на предмет определения последовательности нуклеотидов, использовать в качестве материала для построения генетических конструкций и т.д.

Технологию получения рекомбинантных молекул ДНК по праву считают центральным звеном генетической инженерии. Поэтому можно сказать, что годом рождения генетической инженерии является 1972-й, когда появились первые публикации сотрудников лаборатории П. Берга (США). В них сообщалось о получении кольцевой молекулы ДНК вируса SV40 путем последовательного ее разрезания рестриктазой RI и сшивания ДНК-лигазой [Mertz, Davis, 1972], а также о возможности с помощью этих ферментов встраивать в такую молекулу гены других организмов, например фага-λ (фаги — это вирусы бактерий), и галактозный оперон (набор генов, ответственных за расщепление молочного сахара лактозы) бактерии *E.coli* [Jackson, Symons, Berg, 1972]

2.3. Клонирование: генов

По большому счету объединение разных молекул ДНК с помощью методов, описанных в предыдущем параграфе, само по себе бесполезно, если полученные рекомбинантные ДНК не внести в живую клетку, не заставить их там реплицироваться. Но самое важное — заставить привнесенные гены работать: синтезировать мРНК, транслировать ее в рибосомах с образованием протеина — продукта трансгена.

Первая функционально активная молекула рекомбинантной ДНК была получена в 1973 году. Г. Бойер и С. Коэн (США) сумели «пришить» к плазмиде *E.coli* фрагмент ДНК плазмиды другой бактерии и обнаружили, что такая химерная плазида могла успешно функционировать в клетках *E.coli*, размножаться и передаваться другим клеткам как естественным путем, так и с помощью человека [Cohen et al., 1973]. Это означало, что таким образом можно получать многочисленные копии любых генов, т.е. клонировать гены, набирать достаточные объемы генетического материала для последующего изучения и возможных манипуляций с ними.

Выбор плазмиды американскими учеными в качестве вектора для клонирования оказался весьма удачным. Именно плазмидные векторы в настоящее время используют в генетической инженерии чаще всего. То же относится к бактерии *E.coli*, которую обычно используют в качестве «места» клонирования. Попытаемся разобраться, что лежит в основе их успеха.

Оказывается, для того чтобы рекомбинантная ДНК имела возможность реплицироваться в живой клетке, она должна содержать ту часть естественной молекулы ДНК, которая «ответственна» за начало, инициацию этого процесса. Вероятность того, что она окажется в случайных рестрикционных фрагментах ДНК, ничтожна. В то же время сайт начала репликации имеется в любой бактериальной плазмиде (его обозначают как *ori*). Поэтому, если в плазмиду встроить нужный нам фрагмент ДНК, она обеспечит репликацию как своей собственной ДНК, так и встроенного фрагмента ДНК.

Плазмиды — это внехромосомные автономно реплицирующиеся двухцепочечные кольцевые молекулы ДНК. Они присутствуют в клетках практически всех бактерий. Размеры плазмид от менее 1 до более 500 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.). Они могут быть представлены в клетке одной, несколькими или многими (10–100) копиями. На их долю приходится до 5% суммарной клеточной ДНК. Малокопийные плазмиды реплицируются с той же скоростью, что и бактериальная хромосома, многокопийные плазмиды способны реплицироваться независимо.

Функции плазмид весьма разнообразны. Есть плазмиды, так называемые F-факторы (F-плазмиды), «ответчающие» за прохождение полового процесса у бактерий (конъюгацию), при котором осуществляется перенос плазмид из одной бактериальной клетки в другую, а также части генетической информации, находящейся на бактериальной хромосоме. Имеются плазмиды, которые определяют устойчивость бактерий к антибиотикам (R-плазмиды) или их способность утилизировать, перерабатывать необычные вещества, например нефтепродукты, пестициды и другие загрязнители окружающей среды (плазмиды деградации). Расположение таких генов именно на плазмидах, а не на хромосоме неслучайно. Высокая копияность плазмид обеспечивает клетке возможность синтеза большого количества ферментов, способных нейтрализовать антибиотики или расщеплять пестициды.

Некоторые плазмиды, называемые эписомами, могут обратимо включаться в бактериальную хромосому (к ним относятся упомянутые выше F-факторы). Если две плазмиды не могут сосуществовать в одной клетке, то их относят к одной группе несовместимости. Плазмиды из разных групп несовместимости могут находиться в одной клетке независимо от числа копий. Отмечены случаи, когда у бактерий обнаруживали

до 8–10 разных групп плазмид, выполняющих свои функции и представленных характерным для каждой группы числом копий.

Плазмиды могут передаваться от одной бактериальной клетки к другой, в том числе и неродственной. Чтобы интенсифицировать процесс внедрения плазмид в бактериальные клетки, в экспериментах используют специальные приемы, например, подвергают клетки высокотемпературному воздействию и обрабатывают их хлористым кальцием (CaCl₂).

Каждая плазида обязательно содержит сайт инициации репликации (*ori*). Однако у одних он строго специфичен, т.е. плазмиды с таким сайтом способны реплицироваться только в клетках одного вида бактерий. У других плазмид этот сайт менее специфичен, и они способны реплицироваться в самых разных бактериальных клетках. Соответственно различают плазмиды с узким и широким спектром хозяев. Существование последней группы плазмид имеет, можно сказать, зловещее значение, поскольку лежит в основе быстрой передачи генов устойчивости к антибиотикам к ранее чувствительным к ним болезнетворным микроорганизмам.

В качестве векторов клонирования используют специально отобранные и генетически модифицированные плазмиды. Основные требования к вектору следующие: 1) небольшой размер, поскольку эффективность клонирования чужеродной ДНК в *E. coli* значительно снижается при общей длине привнесенной рекомбинантной плазмиды более 15 т.п.н.; 2) наличие уникального сайта рестрикции, в который может быть осуществлена вставка; 3) наличие одного или нескольких селективных генетических маркеров для идентификации трансформированных клеток (т.е. включивших привнесенные гены). В качестве последних чаще всего используют гены устойчивости к антибиотикам или гербицидам.

Процедура клонирования фрагментов ДНК осуществляется следующим образом. Первый этап включает разрезание кольцевой молекулы ДНК плазмиды, которую используют в качестве вектора клонирования. Плазида, как правило, содержит два маркерных гена, например гены устойчивости к двум разным антибиотикам. Обычно место расщепления плазмидной ДНК находится в пределах структурной последовательности одного из ее маркерных генов. Такой же самой рестриктазой (желательно образующей «липкие» концы) разрезают ДНК, фрагменты которой предполагается клонировать (донорной ДНК), и смешивают с «разрезанной» плазмидной ДНК. Поскольку «липкие» концы этих двух ДНК взаимно комплементарны, они соединяются с образованием гибридных молекул. Процесс сшивки «закрепляют» путем добавления в раствор фермента ДНК-лигазы фага T4. В результате образуется смесь разных комбинаций плазмидной и донорной ДНК, а также такие нежелательные продукты, как слившиеся фрагменты только донорной ДНК или восстановленные кольцевые молекулы плазмидной ДНК. Их количество уменьшают с помощью специальных химических методов (рис. 2.4).

Рекомбинантные плазмиды, содержащие встроенные фрагменты донорной ДНК, далее вводят в клетку-хозяина, обычно *E. coli*. Для этого бактерии смешивают с раствором плазмид, в который добавляют хлористый кальций, подвергают клетки нагреванию. Тем не менее, эффективность трансформации (внедрения чужеродной ДНК в клетку) остается невысокой: порядка одной клетки на тысячу. Что получается в результате? Большинство бактериальных клеток остаются интактными. Небольшое количество клеток содержит различные рекомбинантные плазмиды. Могут также быть клетки, содержащие те самые нежелательные продукты из предыдущего этапа: интактные векторные плазмиды или фрагменты донорной ДНК. Судьба последних очевидна. Бактерии быстро избавляются от чужеродной ДНК. Чужеродная ДНК, не имеющая

сайта инициации репликации, не может реплицироваться в бактериальной клетке и разрушается под действием эндонуклеаз.

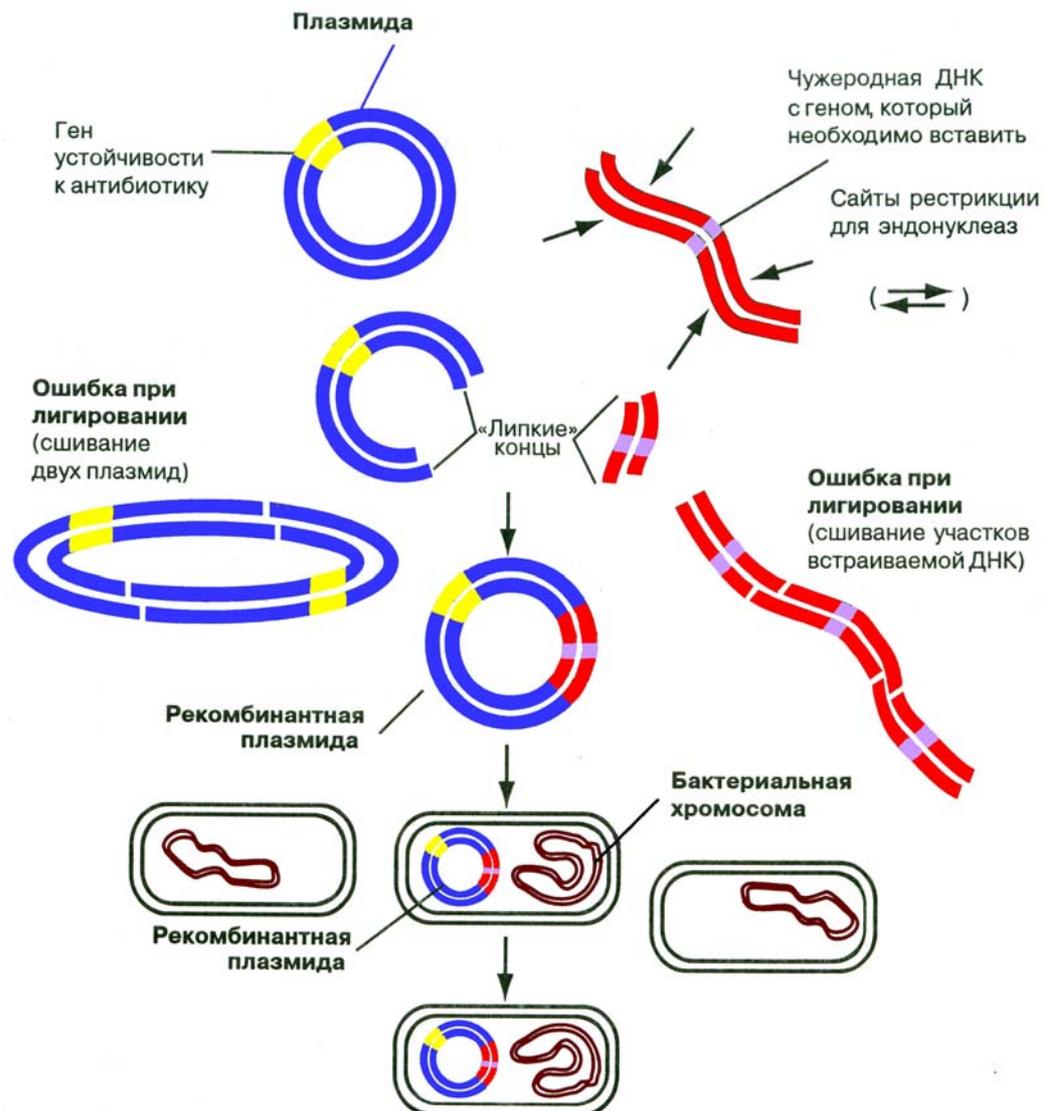


Рис.2.4 Создание рекомбинантной плазмиды

Таким образом, задача сводится к тому, чтобы разделить первые три типа бактериальных клеток. Для этого их последовательно высевают на питательные среды, содержащие антибиотики, являющиеся селективными агентами в нашем эксперименте. Нетрансформированные клетки чувствительны к обоим антибиотикам, клетки с интактными плазмидами, напротив, устойчивы к обоим антибиотикам, а клетки с рекомбинантными плазмидами устойчивы только к тому антибиотику, ген устойчивости к которому не поврежден в результате рестрикции и вставки фрагмента донорной ДНК. Поскольку рекомбинантная плазмида содержит все необходимое для инициации репликации, то она может реплицироваться в бактериальных клетках, т.е. осуществлять клонирование своей, а также встроенной в нее донорной ДНК.

Помимо бактериальных плазмид для целей клонирования генов применяют и другие векторные системы: фаги (в них можно клонировать более длинные, нежели в плазмидах, фрагменты донорной ДНК: до 20 т.п.н), плазмиды-космиды, содержащие *cos*-участок генома фага, участвующий в упаковке ДНК в фаговую головку (в них можно клонировать фрагменты ДНК до 40 т.п.н), а также так называемые искусственные

хромосомы на основе фага P1 (можно клонировать фрагменты ДНК длиной 100–300 т.п.н.), на основе F-плазмиды *E.coli* (ВАС – бактериальная искусственная хромосома, емкость 150–300 т.п.н.), дрожжей (УАС – дрожжевая искусственная хромосома, в ней можно клонировать фрагменты эукариотической ДНК длиной порядка 800 т.п.н и более). В качестве клеток-хозяев для клонирования генов кроме *E.coli* используют также *Bacillus subtilis*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и др.

2.4. Выделение генов

С помощью набора разных рестриктаз получают многие тысячи фрагментов ДНК, содержащих самые разнообразные гены. Каким образом в этой смеси найти и выделить один-единственный фрагмент, который кодирует нужный нам ген, а также регуляторные последовательности, необходимые для его функционирования в клетке? Это один из наиболее сложных и дорогостоящих этапов генетической инженерии. Для решения проблемы идентификации генов разработаны и успешно применяются многие методы, без которых эта задача оставалась бы практически неразрешимой. Так, ученые научились определять последовательность аминокислот в белковых молекулах и последовательность нуклеотидов в нуклеиновых кислотах ДНК и РНК. Разработаны методы получения молекул ДНК, комплементарных определенным молекулам мРНК. Более того, в настоящее время вполне рутинной процедурой стал химический синтез отдельных генов! Большинство названных методов, а также радиоавтография, хемилюминесцентное маркирование, различные варианты гель-электрофореза, полимеразная цепная реакция и т.д. в полной мере используются для выделения и идентификации отдельных генов. В основе же самой процедуры идентификации генов лежит хорошо известный нам принцип комплементарности нуклеотидов ДНК. Рассмотрим подробнее, каким образом все это используется на практике.

Возможны два основных подхода в выделении гена: либо его синтезируют, либо выбирают среди рестрикционных фрагментов геномной ДНК тот из них, который содержит нужный нам ген. Чаще всего эти подходы используют в различных сочетаниях с учетом конкретной ситуации. А ситуации могут быть самые разнообразные. Есть гены и протеины – продукты генов, которые изучены очень хорошо, а есть такие, о которых практически ничего не известно. Прокариотические гены выделять в общем проще, чем эукариотические, особенно в тех случаях, когда они расположены на плазмидах: поле поиска намного уже. Большое значение при выделении генов имеют степень и характер их экспрессии: проще выделять те из них, которые активно транскрибируются в каких-то определенных тканях, благодаря чему в клетках этих тканей преобладает мРНК искомого гена. В любом случае выделение генов – сложный творческий процесс, требующий от исследователя глубоких знаний и владения широким арсеналом современных методов.

2.4.1. Искусственный синтез генов. Чтобы синтезировать ген искусственно, необходимо знать его последовательность нуклеотидов. Понятно, что эта последовательность должна соответствовать последовательности аминокислот в протеине, который кодирует этот ген (продукте гена). Белки – продукты многих генов хорошо известны и изучены, в том числе на предмет последовательности аминокислот в их молекулах. Зная эту последовательность и имея под рукой таблицу генетического кода (см. табл. 1.1), можно определить последовательность нуклеотидов в мРНК и в ДНК, которая должна при трансляции обеспечить синтез белковой молекулы именно с такой последовательностью аминокислот. Безусловно, искусственный ген не будет идентичен натуральному по той простой причине, что генетический код вырожденный: одной аминокислоте может соответствовать несколько сочетаний из трех нуклеотидов. Следует также иметь в виду, что гены высших организмов содержат некодирующие участки –

интроны. Тем не менее важен результат: наш искусственный ген, если его заставить работать, будет образовывать мРНК, с которой при трансляции будет синтезирован протеин, идентичный натуральному.

Замечу, что все написанное выше не из области научной фантастики, а вполне объективная реальность. Современные «автоматы-геносинтезаторы» способны при-

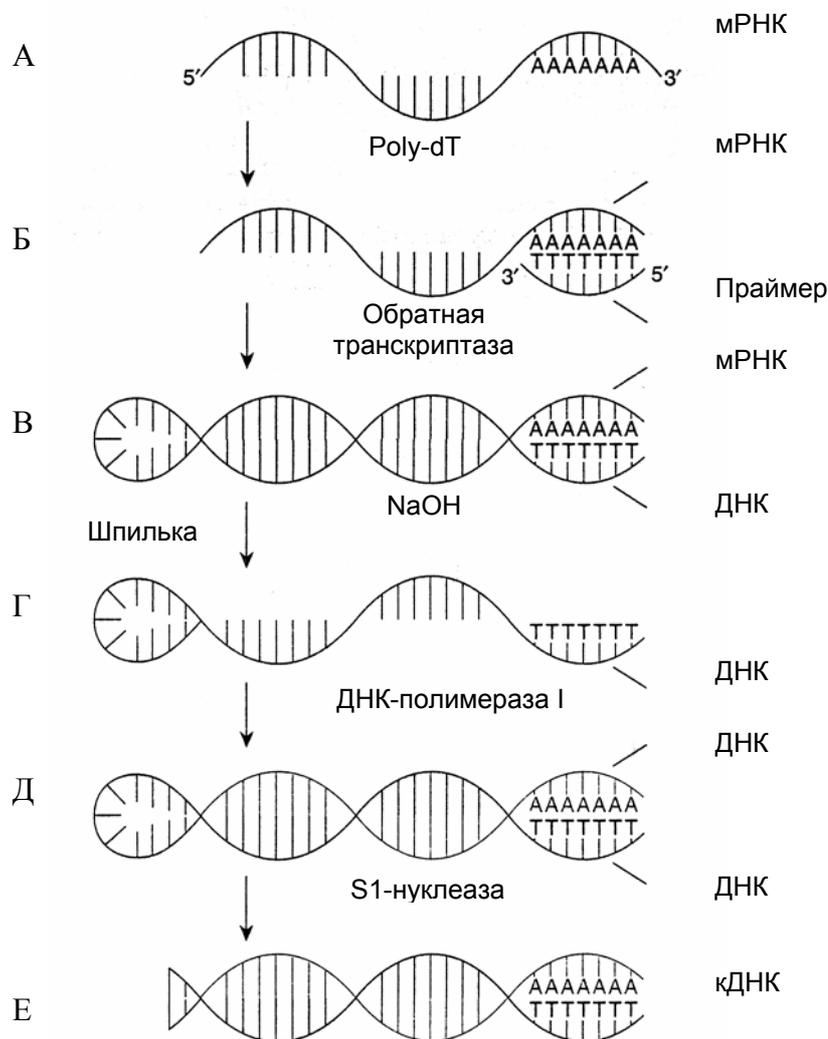


Рис.2.5. Получение кДНК с РНК-матрицы с помощью фермента обратной транскриптазы (по Уотсон и др., 1986). А - к эукариотической мРНК, содержащей поли-А хвост, добавляют праймер поли-Т (Poly-dT), комплементарный поли-А; Б - праймер соединяется с поли-А; В - в присутствии фермента обратной транскриптазы происходит синтез молекулы ДНК, комплементарной мРНК; Г - РНК удаляют с помощью раствора щелочи; Д - шпилька служит праймером для синтеза комплементарной нити ДНК в присутствии фермента ДНК полимеразы I; Е - шпильку удаляют с помощью фермента S1-нуклеазы: получают кДНК.

с помощью фермента обратной транскриптазы, или ревертазы. Этот фермент был выделен из РНК-содержащих онкогенных вирусов. Для начала полимеразной цепной реакции ферменту нужна «затравка» (праймер) в виде небольшого отрезка двухцепочечной молекулы. Эукариотические мРНК содержат, как правило, на своем 3'-конце так называемый поли-А хвост, последовательность, состоящую из остатков аденина (см. главу 1). Если к мРНК добавить искусственно синтезированные короткие олигонуклеотиды, состоящие из остатков тимина (поли-Т), они будут в силу комплементарности соединяться (гибридизоваться) с поли-А, образуя двойную цепочку, которая и необходима для инициации ферментативной реакции полимеризации ДНК нуклеотидов. В

соединять один нуклеотид к синтезируемой цепочке ДНК в течение 10-минутного цикла, синтезируя фрагменты ДНК длиной более ста пар нуклеотидов. Таким методом был синтезирован, в частности, хорошо известный ген проинсулина человека, а также ряда других протеинов – продуктов современной биотехнологии.

Второй способ искусственного синтеза гена основан на использовании в качестве матрицы его мРНК. В отдельных случаях мРНК некоторых генов можно выделить непосредственно из клеток, в которых они могут быть в большом количестве. Так, например, в эритроцитах млекопитающих содержится большое количество мРНК α - и β -глобинов.

Соответствующие мРНК выделяют, тщательно очищают и используют для синтеза комплементарной ДНК

результате образуется гибридная двухцепочечная РНК-ДНК молекула. Далее мРНК отщепляют от указанной молекулы с помощью NaOH (причем нить ДНК не повреждается). После этого остается одноцепочечная молекула ДНК, на конце которой имеется так называемая «шпилька» (короткий отрезок двухцепочечной ДНК), служащая «затравкой» для синтеза второй цепи ДНК под действием фермента ДНК-полимеразы I. «Шпильку» удаляют с помощью фермента S1-нуклеазы, деградирующей одноцепочечные ДНК. В конце концов, получается двухцепочечная молекула ДНК. Одна из нитей ее комплементарна исходной мРНК. Такую ДНК называют кДНК (комплементарная ДНК), и она, в общем, соответствует структурному гену, с которого транскрибировалась мРНК. Разумеется, она не будет содержать интроны, которые могли быть у натурального гена (рис. 2.5).

Полученную кДНК с помощью технологии рекомбинантных ДНК можно соединить с соответствующими регуляторными элементами, встроить в векторную плазмиду и перенести в клетки бактерий, где они будут реплицироваться и экспрессироваться. По их продукту можно будет окончательно убедиться, ту ли, нужную нам, мРНК мы выделили. Гены, синтезированные описанным способом, были использованы при создании генно-инженерных промышленных микроорганизмов, вырабатывающих инсулин, соматотропин (гормон роста), интерфероны, иммуноглобулины и другие протеины, необходимые для производства различных фармацевтических препаратов.

2.4.2. Выделение генов из смеси рестрикционных фрагментов геномной ДНК. Для выделения нужного гена из смеси рестрикционных фрагментов используют меченые зонды — фрагменты ДНК, комплементарные искомым генам или отдельным их частям. Зонды метят с помощью радиоактивного фосфора или хемилюминесцентных меток. В основе метода лежит свойство одноцепочечных молекул ДНК соединяться (гибридизоваться) в случае их комплементарности.

Чтобы перевести молекулу ДНК в одноцепочечную форму, ее подвергают тепловому воздействию или обработке щелочью. В этих условиях водородные связи между основаниями разрываются и цепи расходятся (процесс денатурации ДНК). Если теперь медленно снизить температуру, то произойдет их восстановление (ренатурация). Однако если при этом в растворе присутствует одноцепочечный ДНК-зонд, он тоже будет ренатурировать с ДНК, специфически связываясь с комплементарными участками.

Нужный ген может быть выделен до процедуры клонирования смеси рестрикционных фрагментов геномной ДНК или после нее. В первом случае фрагменты ДНК, полученные после обработки рестриктазами, разделяют в соответствии с их размерами с помощью электрофореза в агарозном геле (см. выше). Поскольку проводить описанные выше процедуры гибридизации ДНК с зондами в геле невозможно, ДНК после электрофореза переносят на более подходящие для этих целей носители: нитроцеллюлозную или нейлоновую мембрану. Фрагменты ДНК прочно связываются с ней и не могут изменять свое положение, например, из-за диффузии. Процедуру переноса фрагментов ДНК с агарозного геля на нитроцеллюлозные мембраны и проведения гибридизации с зондами разработал Э. Саузерн [Southern, 1975]. Благодаря простоте и высокой эффективности этот метод нашел исключительно широкое применение в генно-инженерных исследованиях. Его название — Саузерн-блоттинг, можно сказать, стало нарицательным. Два других аналогичных метода, в которых используются РНК и белки, получили названия соответственно нозерн-блоттинг (северный блоттинг) и вестерн-блоттинг (западный блоттинг), что является игрой слов (Саузерн (southern) — южный).

Саузерн-блоттинг проводят следующим образом (рис. 2.6). Двунитчатую ДНК на агарозном геле денатурируют, чтобы образовались одонитчатые молекулы, с помо-

щью NaOH. Затем агарозный гель помещают на влажную губку, расположенную в кювете с раствором щелочи, сверху кладут нитроцеллюлозный фильтр, потом несколько слоев сухой фильтровальной бумаги и весь этот сэндвич прижимают грузом. Сухая фильтровальная бумага начинает «втягивать» влагу из расположенных ниже слоев. Создается поток щелочи снизу вверх из губки через гель, нитроцеллюлозную мембрану к фильтровальной бумаге. Этим потоком фрагменты ДНК вымываются из геля и закрепляются на нитроцеллюлозе именно в той последовательности, как они расположились после электрофореза. Однонитчатые фрагменты ДНК фиксируют на нитроцеллюлозной мембране с помощью нагревания. На ней и проводят гибридизацию с меченым ДНК-зондом.

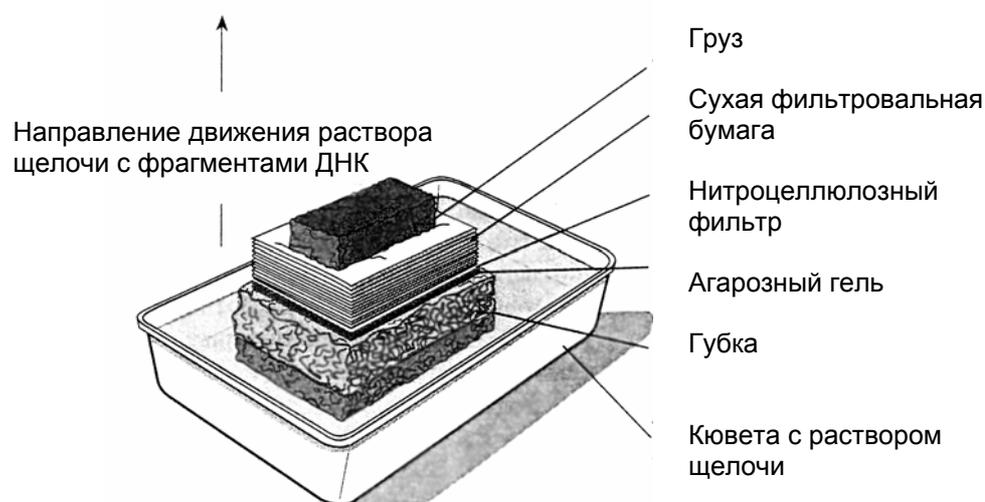


Рис.2.6. Блоттинг ДНК по Саузерну.

В случае, если зонд «находит» комплементарный ему фрагмент ДНК, происходит их связывание. Местоположение связавшегося зонда определяют, приложив к нитроцеллюлозной мембране рентгеновскую пленку, в которой под действием радиоактивного излучения из бромида серебра образуется металлическое серебро. Засвеченные участки, соответствующие радиоактивным зонам, наблюдаются визуально после проявления пленки. При использовании хемилюминесцентных меток их местоположение определяют в ультрафиолетовом или лазерном свете.

Теперь, чтобы выделить нужный нам фрагмент ДНК, повторно проводят электрофорез рестриционных фрагментов ДНК или берут второй гель, если электрофорез проводился одновременно в двух гелях. Этот гель, который не подвергался ДНК-ДНК гибридизации, имеет интересующий нас сегмент в том же месте, что и в проанализированном с помощью ДНК-зонда геле. Сегмент вырезают из геля и извлекают из него ДНК, которую можно далее клонировать, как описано выше.

2.4.3. Выделение генов из клонотеки. ДНК-ДНК гибридизацию применяют и для выделения искомым фрагментов ДНК после того, как они были клонированы. Этот подход получил название «дробовик» (shortgun), его суть состоит в создании и изучении так называемой геномной библиотеки, или клонотеки генов. Библиотека представляет собой чашки Петри с большим количеством колоний бактерий, клетки которых содержат рекомбинантные плазмиды со встроенными в них разными рестриционными фрагментами ДНК. В данном случае электрофорез и Саузерн-блоттинг не требуются, поскольку фрагменты ДНК разделены пространственно по разным колониям бактерий-хозяев. Эти колонии переносят непосредственно на нитроцеллюлозный фильтр, размещая их в определенном порядке. При подготовке проб к анализу

проводят лизис бактериальных клеток и денатурацию содержащейся в них ДНК. Затем осуществляют гибридизацию с меченым зондом и определяют, таким образом, в какой колонии клонирован интересующий нас фрагмент ДНК. Описанный метод получил название дот-блоттинга (dot – точка, пятнышко).

При выделении генов как из клонотек, так и из смеси разделенных с помощью электрофореза рестрикционных фрагментов ДНК следует иметь в виду, что положительный гибридизационный сигнал может быть получен для нескольких клонов (или полос электрофоретического спектра). Объяснить это несложно: рестриктаза могла внести несколько разрезов по длине гена, или в результате частичного гидролиза образовались фрагменты ДНК, содержащие искомым ген, разной длины. В связи с этим необходимо определить, какой именно клон или фрагмент ДНК содержит ген целиком.

С помощью гель-электрофореза и картирования каждого выделившегося фрагмента ДНК (вставки) идентифицируют аналогичные фрагменты или фрагменты с перекрывающимися последовательностями. Проводят сшивку отдельных коротких фрагментов и клонирование полученных последовательностей с тем, чтобы составить полный ген. Если вставка анализируемой ДНК в каком-либо из клонов достаточно велика и вполне может содержать весь ген, осуществляют ее секвенирование (т.е. определяют последовательность нуклеотидов), чтобы найти старт- и стоп-кодоны и убедиться в наличии полноразмерной нуклеотидной последовательности, кодирующей искомым белок. Результаты этого анализа позволяют также наметить план дальнейшей модификации выделенного фрагмента ДНК. Ведь для целей генетической инженерии важно иметь фрагмент ДНК, не содержащий «лишних» последовательностей, которые не имеют отношения к нужному нам гену.

2.4.4. Создание зондов. При создании зондов наибольшую трудность представляет подбор нужного фрагмента ДНК или РНК. Наиболее простой метод состоит в использовании ранее клонированных и идентифицированных генов, можно даже близкородственных видов (гетерологичный зонд). В последнем случае условия гибридизации нужно подбирать таким образом, чтобы она могла происходить при существенном расхождении в последовательности искомой ДНК и зонда.

Зонд можно получить с помощью химического синтеза, основываясь на известной аминокислотной последовательности протеина – продукта искомого гена. Выбирают небольшую часть белковой молекулы длиной 5–6 аминокислот. В соответствии с последовательностью этих аминокислот определяют все возможные последовательности нуклеотидов в том участке мРНК, который кодирует данную область белковой молекулы. Затем из радиоактивно меченных нуклеотидов синтезируют соответствующие олигонуклеотиды длиной не менее 16 звеньев, один из которых будет полностью комплементарен участку искомого гена.

Для зонда можно также использовать препараты мРНК или кДНК, полученные описанным выше способом. Вообще получение большого количества разнообразных кДНК, создание клонотек кДНК, их изучение имеет в генетической инженерии большое значение. По сравнению с клонотеками рестрикционных фрагментов, большинство из которых может и не содержать отдельных генов или содержать только их части, библиотеки кДНК имеют несомненное преимущество. Ведь в случае с кДНК речь, по сути, идет о последовательностях, кодирующих, образно говоря, гены в чистом виде, без посторонних нежелательных примесей.

Главная задача – идентифицировать эти гены. Наиболее надежный способ решения задачи – добиться экспрессии (т.е. транскрипции и образования протеина – продукта гена) клонированной кДНК в клетке-хозяине. Для этих целей используют специальные клонирующие векторные плазмиды (экспрессирующие векторы), у которых место встраивания клонируемой ДНК расположено непосредственно за промото-

ром, захватывая лишь несколько нуклеотидов прокариотического гена. Как указывалось выше, бактерии в природе не могут экспрессировать эукариотические гены. Но в случае с данными плазмидами эукариотический ген становится как бы частью прокариотического гена со своим промотором. В результате активности такого гибридного гена в бактерии образуется рекомбинантный эукариотический белок, имеющий лишь несколько аминокислот, кодируемых прокариотическим геном.

Для идентификации же эукариотического протеина используют метод, аналогичный дот-блоттингу, в котором в качестве зонда применяют меченые антитела определенных известных белков (метод получил название вестерн-блоттинг).

2.5. Методы переноса генов в живые клетки

Выше в общих чертах описана методика введения рекомбинантных плазмид в клетки бактерий *E.coli* для клонирования генов. Однако клетки животных и особенно растений существенно отличаются от бактериальных по своей способности поглощать чужеродную ДНК. Так, растительные клетки имеют жесткие целлюлозные оболочки, преодолеть которые весьма непросто. В связи с этим вопросы разработки методов переноса генов в живые клетки всегда были и остаются в центре внимания специалистов в области генетической инженерии. Несмотря на весьма впечатляющие достижения в их решении, остается много проблем, касающихся, например, сайт-специфического встраивания трансгенов в ДНК высших организмов, повышения эффективности переноса трансгенов для многих видов и т.д. Ниже описаны основные методы переноса генов в живые клетки, которые в настоящее время применяют в генно-инженерных работах.

2.5.1. Перенос генов в клетки бактерий. Чтобы обеспечить проникновение в клетки бактерий рекомбинантных ДНК, бактерии обрабатывают ледяным раствором CaCl_2 , а затем выдерживают 1,5 минуты при 42°C . В результате, происходит локальное разрушение клеточной стенки и чужеродная ДНК получает возможность попасть внутрь клетки. Максимальная частота трансформации при использовании этого метода около 10^{-3} , т.е. 1 клетка на 1000, что соответствует образованию $10^7 - 10^8$ трансформантов на 1 мкг добавленной ДНК. Клетки, способные поглощать чужеродную ДНК, называют компетентными. Долю компетентных клеток можно повысить, используя специальные питательные среды или варьируя условия культивирования бактерий. Впрочем, существуют некоторые виды бактерий, которые обладают этим свойством изначально. Но есть и такие, которые не реагируют на химические индукторы компетентности. Поэтому приходится использовать другие методы повышения компетентности. Один из них — электропорация.

Электропорация — воздействие на клетки бактерий электрическим током, в результате которого в клеточной стенке образуются временные поры, через которые ДНК может проникать внутрь клетки. Условия ее различаются для разных видов бактерий. При работе с *E.coli* клеточную суспензию и ДНК помещают в сосуд с погруженными в него электродами и дают единичный импульс постоянного тока длительностью 4,5 мс. После такой обработки эффективность трансформации *E.coli* повышается до 10^9 трансформантов для мелких плазмид (около 3 т.п.н.) и до 10^6 — для больших, например ВАСs (около 135 т.п.н.).

Для трансформации низкокомпетентных видов бактерий иногда используют естественные механизмы переноса генов, в частности конъюгацию — «половой» процесс, сопровождающийся переносом генов от одной бактерии к другой при их физическом контакте. Для этого в клетки бактерий, несущие нужные нам рекомбинантные плазмиды, вводят плазмиду, повышающую их конъюгативную способность.

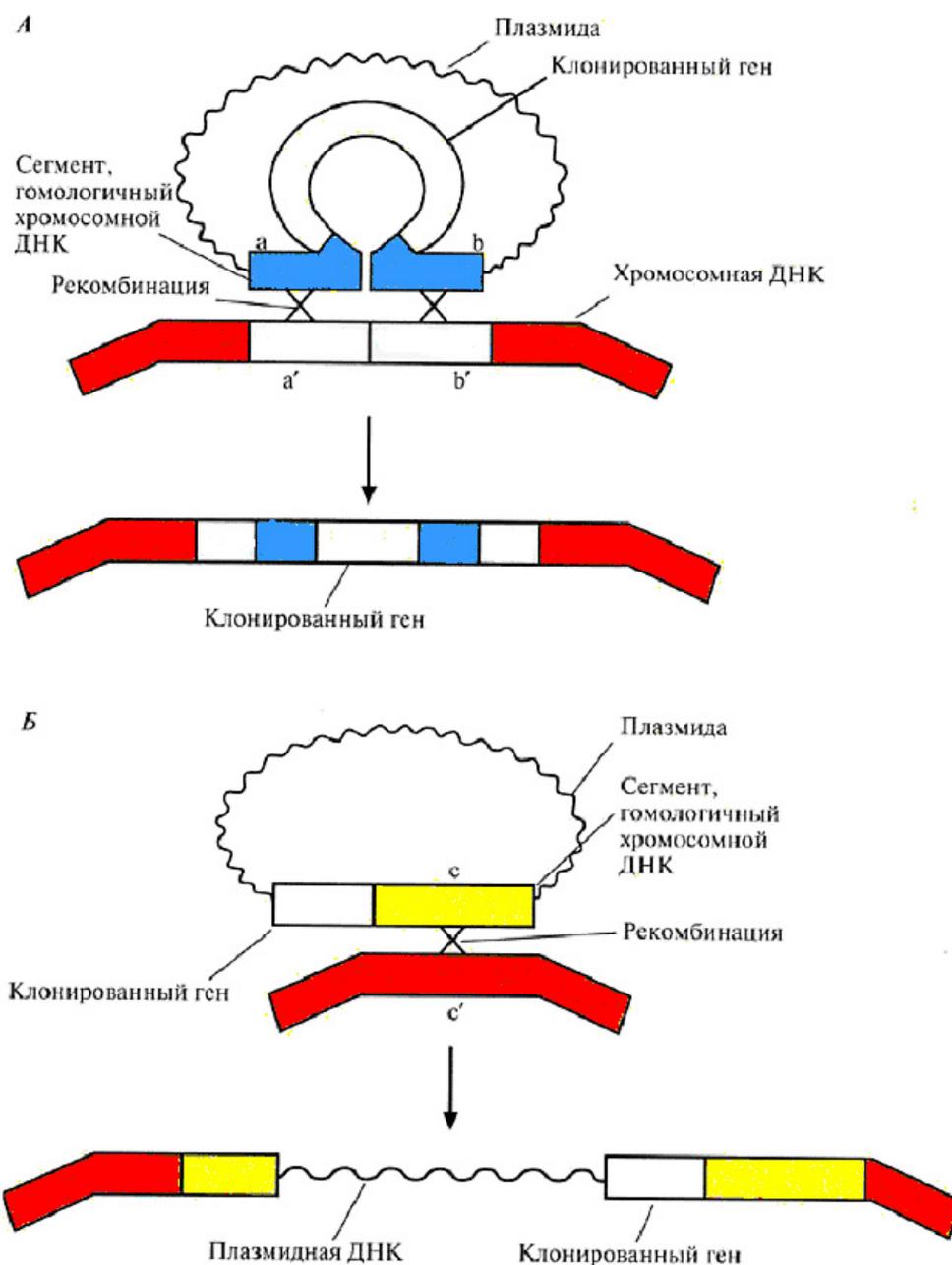


Рис. 2.7. Два способа интеграции клонированного в плазмиде гена в бактериальную хромосому (по Глик, Пастернак, 2002). А – ген встроен в середину клонированного в плазмиде сегмента ab , гомологичного сегменту $a'b'$ хромосомной ДНК. В результате двойного кроссинговера клонированный ген оказывается в составе хромосомы. Б – ген встроен вблизи клонированного в плазмиде сегмента c , гомологичного сегменту c' хромосомной ДНК. В результате одиночного кроссинговера (x) происходит интеграция в хромосому всей плазмиды вместе с включенным в нее геном

При получении промышленных генно-инженерных микроорганизмов трансгены обычно вводят в составе клонирующих векторных плазмид, способных самостоятельно реплицироваться в бактериальной клетке. Число копий таких плазмид на клетку может достигать 100 и более. Это обеспечивает суперпродукцию протеина – продукта введенного гена. Однако надо иметь в виду, что такие многокопийные плазмиды требуют много энергии, что не выгодно клетке-хозяину. В результате часть клеток в процессе роста популяции может «терять» рекомбинантные плазмиды. Клетки, лишившиеся плазмид, обычно растут быстрее тех, у которых они сохранились, и в конечном итоге их доля в популяции становится преобладающей. Понятно, что все эти процессы неблагоприятно сказываются на эффективности производства продукта трансгена.

Кардинально решить эту проблему можно путем встраивания трансгена в хромосому бактериальной клетки с помощью методов генетической инженерии. Для этого в хромосоме бактерии выбирают последовательность, которая может быть повреждена без ущерба для жизненно важных функций клетки. В нее и встраивают нужный нам ген со всеми необходимыми для его работы регуляторными элементами. Чтобы осуществить встраивание трансгена именно в это место, будущий сайт интеграции выделяют из хромосомной ДНК и клонируют (для интеграции в нужный сайт вводимый ген должен содержать не менее 50 нуклеотидов хромосомной ДНК). Затем фрагменты указанной ДНК этого сайта переносят в векторную плазмиду, которую конструируют для переноса нужного нам трансгена таким образом, чтобы она располагалась впереди и сзади трансгена, как говорят генетики, фланкировала его. Векторная плазида в данном случае несколько отличается от тех, которые используются для клонирования генов. Она не должна обладать способностью самостоятельно реплицироваться в клетке-хозяине.

После трансформации бактерии такой рекомбинантной плазмидой, несущей нужный нам трансген, фланкированный последовательностями ДНК хромосомного сайта интеграции, происходит спаривание этих последовательностей с гомологичными последовательностями бактериальной хромосомы. Далее благодаря естественному процессу генетической рекомбинации (процесс кроссинговера) под действием соответствующих ферментов клетки-хозяина происходит включение фрагмента ДНК, содержащего трансген, в бактериальную хромосому (рис. 2.7).

Число копий встроенного в хромосому бактерии трансгена можно увеличить с помощью методов традиционной селекции микроорганизмов. Как показали эксперименты, десяток копий трансгена, встроенного в бактериальную хромосому, мог обеспечивать более высокую выработку протеина — продукта трансгена, чем 20–40 копий этого гена в составе многокопийной плазмиды.

2.5.2. Перенос генов в клетки животных. Ученые уже достаточно длительное время используют в своих исследованиях культивируемые *in vitro* дифференцированные клетки (полученные из разных тканей) человека и животных. Введение в них чужеродной ДНК ненамного сложнее, чем в клетки бактерий. Но поскольку в настоящей книге речь идет прежде всего о методах создания генно-инженерных организмов, то методы введения генов в культивируемые клетки животных рассматриваться не будут, так как получить из них живой трансгенный организм невозможно в принципе.

Первый успех в трансформации животных относится к 1980 году [Gordon et al., 1980], когда была продемонстрирована возможность введения и интеграции чужеродной ДНК в геном мышей. Важно, что интеграция была стабильной и трансгены сохранялись у потомства, правда, не экспрессировались. Уже через два года были получены трансгенные мыши с активным чужеродным геном гормона роста [Palmitier et al., 1982]. В этих первых экспериментах и во многих последующих использовался метод микроинъекции ДНК в пронуклеус (ядро) эмбриона на стадии одной клетки (зиготы). Метод весьма сложный и деликатный. Он требует наличия сложнейшей микроскопической техники и микроманипуляторов. Эмбриональную клетку закрепляют в микрокапилляре, чей внешний диаметр немного меньше диаметра клетки. Затем с помощью другого микрокапилляра протыкают оболочку клетки и ядра и впрыскивают в него трансгенную ДНК (рис. 2.8). Эмбриональную клетку имплантируют в матку суррогатной матери, где происходит развитие эмбриона.

С помощью описанного метода получены генно-инженерные крысы, кролики, овцы, свиньи, козы, телята и другие млекопитающие. Однако этот метод не только очень сложный, но и дорогостоящий. Его эффективность для всех перечисленных жи-

вотных, особенно жвачных, намного ниже, чем для мышей. Использовать его для массового производства трансгенных животных экономически невыгодно.

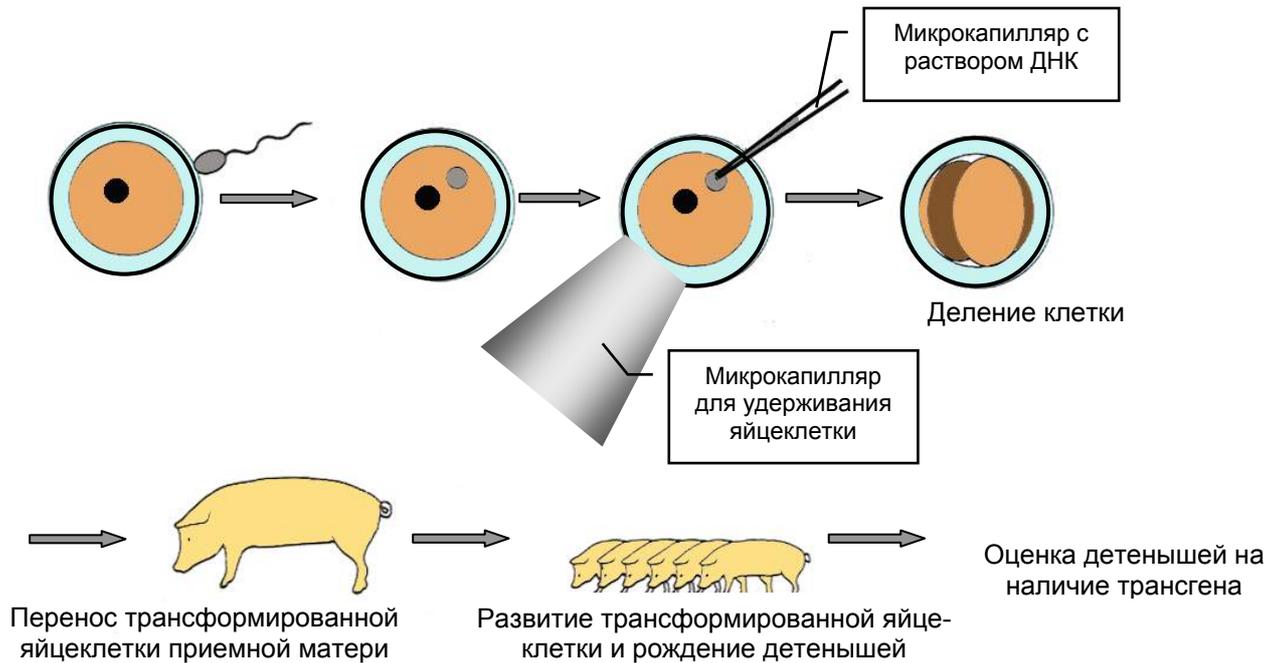


Рис.2.8 Схема трансгеноза животных с помощью микроинъекций ДНК

Микроинъекции чужеродной ДНК в пронуклеусы птиц сильно затруднены из-за их непрозрачности. То же касается и большинства низших позвоночных, например рыб. Поэтому для этих видов проводят инъекцию ДНК в цитоплазму эмбриональных клеток, что резко снижает эффективность метода из-за разрушающего действия эндонуклеаз на введенные гены. Тем не менее, с помощью данной разновидности метода микроинъекций ДНК удалось получить трансгенные генотипы у кур, нескольких видов рыб, некоторых морских беспозвоночных.

Несколько лет назад получены первые обнадеживающие результаты в применении альтернативного подхода в трансформации животных, основанного на использовании не одноклеточных эмбрионов, а половых клеток (гамет). Инкубация изолированных сперматозоидов в растворе чужеродной ДНК с последующим использованием их для оплодотворения *in vivo* или *in vitro* позволила получить генно-инженерные организмы у нескольких видов животных [см. Houdebine, 2001]. Однако результативность этого метода оказалась очень низкой. Более того, отмечены случаи модификации или дезактивации вводимых трансгенов под действием эндонуклеаз.

Для повышения эффективности этого метода предлагается использовать обработку сперматозоидов детергентами, которые повреждают их мембраны. В результате ДНК легко проникает в сперматозоиды, что позволяет повысить степень ее включения в геном. Правда, сперматозоиды после такой обработки теряют способность оплодотворять яйцеклетки, поэтому приходится применять их инъекцию в цитоплазму ооцитов. В целом подход недостаточно эффективен для многих видов.

2.5.3. Перенос генов в клетки растений. Характерной особенностью растительных клеток является наличие вокруг них жесткой целлюлозной оболочки, которую не проткнешь никакими микрокапиллярами. Поэтому для их трансформации используют специфические методы. И все же с целью обеспечения возможности применения обычных для микробов и животных клеток методов трансформации разработаны эф-

фективные способы ферментативного растворения целлюлозных оболочек. В результате получают так называемые протопласты, способные при определенных воздействиях (химических и электрических) сливаться между собой, а также интегрировать чужеродную ДНК.

Для трансформации растительных протопластов применяют хорошо известные по бактериям методы стимуляции этого процесса с помощью CaCl_2 , а также полиэтиленгликоля. Очень эффективным методом оказалась и электропорация. Весьма перспективной рассматривается методика введения чужеродной ДНК в протопласты с помощью микроинъекций. Созданы даже компьютерные системы, соединенные с микроскопом, обеспечивающие достаточно легкое обнаружение, прикрепление и перемещение отдельных протопластов и микрокапилляров, через которые вводят ДНК в клетку.

Однако основная проблема в трансформации протопластов растений — возможность использовать ее лишь для ограниченного числа видов растений, для которых разработаны эффективные методы выделения, культивирования протопластов и получения из них растений-регенератов (подробнее об этом ниже).

Среди методов прямого переноса генов в растительные клетки наибольшее распространение получил метод биологической баллистики (биолистики), или, как его еще называют, бомбардировки частицами (particle bombardment), генного дробовика (gene gun technique). Суть метода заключается в том, что на мельчайшие частицы (диаметром 0,4–1,7 мкм) из вольфрама или золота напыляют рекомбинантные ДНК, содержащие предназначенные для переноса гены с необходимыми регуляторными элементами. Эти частицы разгоняют до огромной скорости (300–600 м/с) в специальном пневматическом аппарате («генной пушке») и помещают на их пути растительные ткани (меристемы, незрелые зародыши, колеоптилы, протокормы, пыльцу) либо культуры клеток (каллюс или суспензию клеток). В результате частицы проникают в клетки, а чужеродная ДНК встраивается в ДНК хромосом или органелл (рис. 2.9). Несмотря на ряд недостатков (нежелательная для трансформации растений многокопийность вставок, разрушение части вносимых генных конструкций и др.), метод биолистики является основным для получения трансгенных однодольных растений, среди которых все злаковые культуры, а также многих двудольных растений, являющихся некомпетентными или слабо компетентными для основного метода введения генов в растительные клетки — агробактериальной трансформации.

Агробактериальная трансформация. Раскрытие природы агробактериальной трансформации по праву считается одним из величайших открытий XX века. Оно дало возможность использовать в генетической инженерии уникальный природный механизм горизонтального переноса генов (т.е. переноса генов между отдаленными в систематическом отношении видами организмов). Учитывая большое значение агробактериальной трансформации при получении генно-инженерных растений, авторы настоящей книги сочли необходимым подробно изложить современные представления о механизме этого процесса (по Mlynarova, Nap, 1997; Zupan et al., 2000). Это также должно способствовать лучшему пониманию генетических особенностей ГИО, полученных с помощью данного метода, их отличий от исходных форм.

Онкологическое заболевание растений — корончатый галл — издревле известно людям (его упоминание имеется еще в трудах Аристотеля). Этой болезни, имеющей серьезные агрономические последствия из-за нарушения нормального роста растений, подвержены многие двудольные растения: виноград, косточковые фруктовые деревья, розы и др.



Рис. 2.9. Метод введения ДНК в клетки растений с помощью биолистики (по Helenius et al., 2000). А - внешний вид «генной пушки» Helios™ Gene Gun фирмы BioRad. Б - «обстрел» листьев из «генной пушки». В - результаты «обстрела»: пятна на листьях - экспрессия репортерного гена *gus* в трансформированных клетках. Г - регенерация растений из каллуса, полученного из обработанных листьев.

В начале прошлого века установлен возбудитель заболевания — почвенные бактерии из рода *Agrobacterium*: *A.tumefaciens* (вызывает у растений образование опухоли — корончатого галла), *A.rhizogenes* (вызывает образование на стебле растений многочисленных корней — hairy root), *A.rubi* (возбудитель галлов у тростника). Однако только в 1970-х годах удалось раскрыть механизм патогенеза. В 1974 году Van Lareke с сотр. и Zaenen с сотр. установили, что у вирулентных штаммов почвенных бактерий в отличие от невирулентных имеется большая плаزمиды, получившая название *Ti* (tumor inducing — индуцирующая опухолообразование) у *A. tumefaciens* и *Ri* (root inducing — индуцирующая образование корней) — у *A.rhizogenes*.

В ходе дальнейшего изучения этих плазмид выяснилось, что опухоль возникает в результате необратимого переноса и включения определенного фрагмента (Т-ДНК, т.е. переносимой ДНК) плазмиды в хромосомную ДНК растительной клетки [Chilton et al., 1977]. Причем гены, расположенные на Т-фрагменте ДНК бактериальной плазмиды, активно экспрессируются в растительной клетке, что выражается в синтезе большого количества специфических соединений опинов — октопинов и нопалинов при заражении *A. tumefaciens* или агропинов при заражении *A. rhizogenes*. Помимо этих соединений в клетках образуются в повышенных концентрациях различные фитогормоны, резко стимулирующие ростовые процессы, что приводит к образованию опухоли. Опины, секретируемые инфицированными клетками, служат источником азота, углерода и энергии для возбудителей заболевания — агробактерий, поскольку у них на

Ti-плазмиде имеются гены, кодирующие ферменты, необходимые для катаболизма этих соединений. Как видим, агробактерии создали для себя весьма уютную экологическую нишу, в которой у них практически нет конкурентов.

Процесс агробактериальной трансформации инициируется прежде всего повреждением растения, например, механическим путем при вспашке, прополке и т.п. Пораненные клетки выделяют в окружающую среду различные химические соединения, которые привлекают агробактерий (положительный хемотаксис). Бактерии прикрепляются к растениям в местах поранения с помощью целлюлозных фибрилл, что предохраняет их от смывания, например, при дожде. В генетическом контроле описанных начальных этапов агробактериальной трансформации в основном задействованы гены, расположенные на хромосоме бактерии. Их активность определяет все многообразие взаимодействий между бактерией и растением, включая распознавание растения-хозяина (определенные штаммы агробактерий могут трансформировать определенные виды растений) (рис. 2.10).

Однако в генетическом контроле собственно переноса Т-ДНК главными являются гены, расположенные в *vir*-области *Ti*-плазмиды (*vir*-гены плазмиды). Правда, некоторые хромосомные гены могут влиять на активность плазмидных *vir*-генов. Она индуцируется сигнальными молекулами химических соединений, выделяемых растениями при поранении: фенольными соединениями типа ацетосирингона и альфа-гидроксиацетосирингона (у табака), предшественниками лигнина, синапиновой кислотой, кониферилалкоголем или некоторыми флавоноидами. Для индукции *vir*-генов существенным является также наличие таких факторов, как кислая среда, легко катаболизируемые источники углерода, например сахара или моносахариды, температура ниже 30°C.

Плазмидные *vir*-гены расположены на одном регулоне размером около 40 т.п.н., который занимает место отдельно от Т-области. У октопиновых штаммов агробактерий *vir*-регулон содержит не менее 10 идентифицированных *vir*-локусов, которые состоят из нескольких генов, обозначаемых *virA*, *virB* и т.д. до *virJ*. У нопалиновых штаммов агробактерий в аналогичном регулоне обнаружено семь локусов.

Индукцирующий сигнал соединений, выделяемых растениями при поранении, воспринимается протеинами – продуктами генов *virA* и *virG*. Протеин *VirA* является трансмембранным и имеет короткий периплазматический связывающий домен (место прикрепления определенных молекул) – N-терминал, который воспринимает сигналы от растительных фенольных соединений, и длинный цитоплазматический район – так называемый C-терминал. C-терминал обладает автофосфорилирующей активностью и способен активировать путем фосфорилирования протеин *VirG*. Активированный *VirG* является протеином, способным связываться с ДНК. Он распознает соответствующие регуляторные последовательности других плазмидных *vir*-генов и способен активировать их транскрипцию.

Активация экспрессии *vir*-генов под действием *VirG* приводит к запуску ряда последовательных взаимосвязанных событий, которые обеспечивают подготовку Т-ДНК к переносу в растительную клетку. Первый этап включает сайт-специфическое вырезание кодирующей нити Т-ДНК протеинами – продуктами генов *virD*. Полипептид *VirD2* в присутствии протеина *VirD1* распознает специфические последовательности Т-ДНК, состоящие из 25 п.н., расположенные в начале и конце Т-области, и производит вырезание кодирующей нити ДНК. Эти последовательности получили название соответственно левый (LB) и правый (RB) края Т-области. Они играют исключительно важную роль в процессе переноса Т-ДНК из бактериальной клетки в растительную.

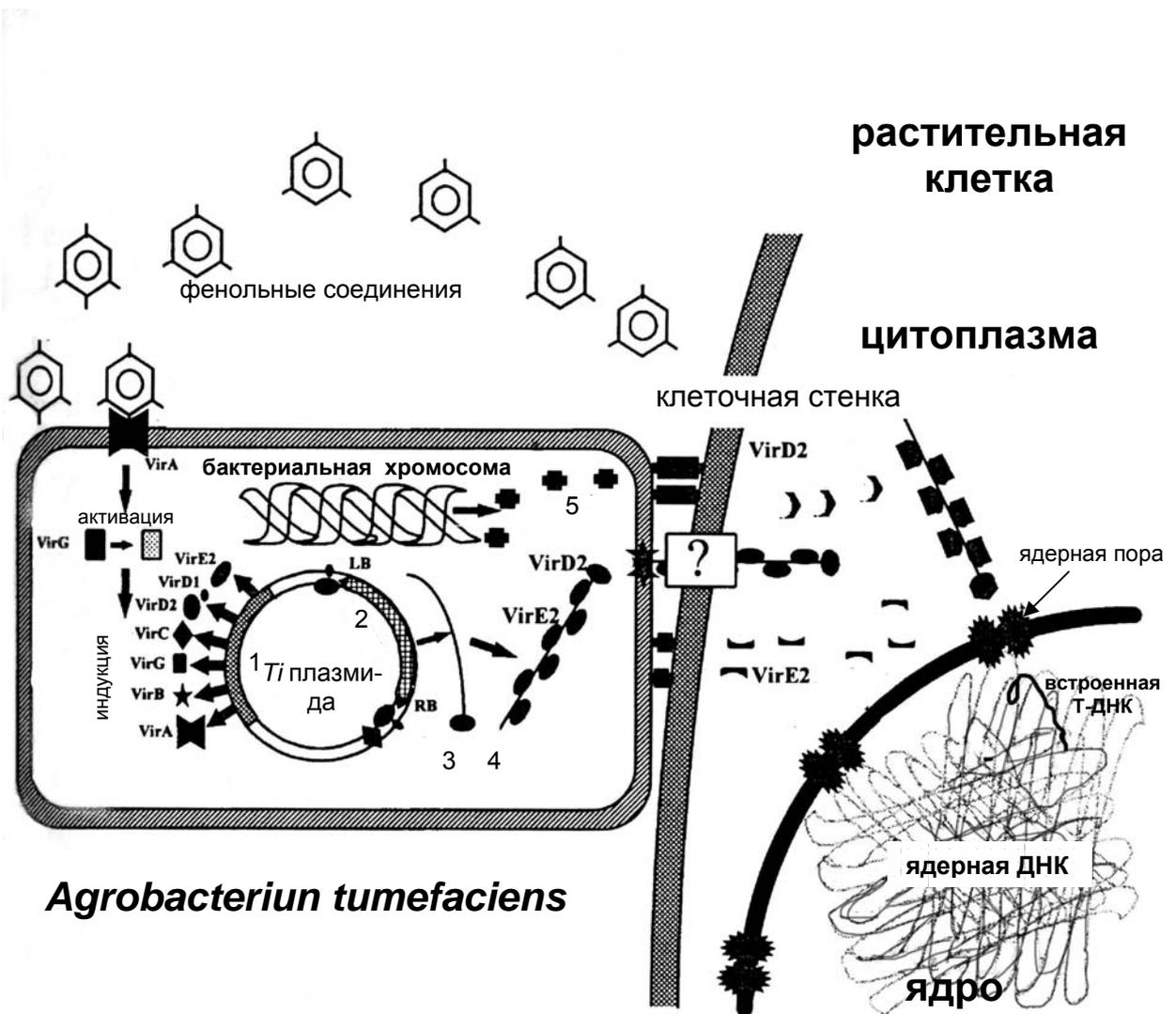


Рис. 2.10. Агробактериальная трансформация (по Млынарова, Нар, 1997) (пояснения в тексте):
 1 - *vir*-область *Ti*-плазмиды; 2 - *T*-область *Ti*-плазмиды (*T*-ДНК); 3 - *T*-нить; 4 - *T*-комплекс;
 5 - продукты *vir*-генов бактериальной хромосомы

Вырезанная кодирующая нить *T*-ДНК реплицируется, в результате чего образуется однонитчатая ДНК (ssDNA), названная *T*-нитью. Точно известно, что именно такая однонитчатая *T*-ДНК переносится в растительную клетку. После вырезания *T*-ДНК *VirD2* остается ковалентно связанным с 5'-концом *T*-нити и действует как направляющий протеин при движении образовавшегося комплекса из бактериальной клетки в растительную, а также предохраняет 5'-конец от действия эндонуклеаз. Этот комплекс включает также *VirE2*, который плотно покрывает *T*-нить по всей длине, предохраняя ее от деградации.

Перенос *T*-комплекса через мембраны бактериальной и растительной клеток происходит, как полагают, при участии протеинов – продуктов генов *virB*. Протеины *VirB* формируют так называемый трансмембранный поровый комплекс, который устанавливает связь между наружной и внутренней мембранами бактериальной клетки и через который происходит перемещение *T*-комплекса. Протеины *VirB4* и *VirB11* являются связанными с мембранами АТФазами, что говорит об активности процесса переноса *T*-комплекса, который осуществляется с затратой энергии. Перемещение *T*-комплекса в цитоплазме растительной клетки к ядру также является активным процессом. Предполагается, что протеины *VirD2*, а также, возможно, и *VirE2* «узнаются» в цитоплазме растительной клетки специальными эндогенными протеинами, обеспечивающими доставку *T*-комплекса к ядру.

Интеграция Т-ДНК в геном растения завершает процесс ее переноса. Анализ последовательностей ДНК вокруг места вставки показал, что этот процесс не является сайт-специфичным и не требует высокой степени гомологии. То есть встраивание Т-ДНК происходит не в строго определенные места (сайты) растительного генома, а в значительной степени случайно. Тем не менее, отмечено, что «вставки» чаще оказываются в области транскрипционно активного хроматина, в частности вблизи теломер хромосом растений. Обычно встраивается одна или несколько копий Т-ДНК в одном или нескольких местах растительного генома. Нередко встраивание Т-ДНК не происходит вообще.

Интеграция Т-ДНК в геном растения сопровождается делецией небольшого участка растительной ДНК (10–100 п.н.). Это говорит о том, что 5'- и 3'-концы Т-ДНК располагаются в процессе встраивания недалеко друг от друга и данный процесс предполагает участие ферментов эксцизионной репарации. Механизмы встраивания разных концов Т-ДНК в растительный геном различаются. Вставка 5'-конца обеспечивается протеином VirD2. По-видимому, этот протеин создает благоприятный субстрат для лигаз клеток растений. Интеграция же 3'-конца в значительной степени аналогична процессу незаконной рекомбинации. После встраивания концов Т-ДНК в одну из нитей ДНК растения происходит дупликация комплементарной нити Т-ДНК.

В случае если встраивание Т-ДНК прошло без осложнений, гены, расположенные на ней, стабильно экспрессируются. Так называемые *onc*-гены (онкогенные) определяют сверхпродукцию фитогормонов индолилуксусной кислоты (ауксина) и цитокининов, что вызывает неконтролируемый рост и деление трансформированных клеток. В результате образуется корончатый галл. Интересно, что клетки корончатого галла способны расти в культуре *in vitro* на питательной среде без фитогормонов, поскольку они способны обеспечить ими себя самостоятельно. Активность другой группы генов, расположенных на Т-ДНК, связана с образованием опухолеспецифичных метаболитов — опинов (октопинов, нопалинов, агропинов).

Как видно из представленного описания агробактериальной трансформации, ни онкогены, ни гены, кодирующие образование опинов, в самом процессе переноса Т-ДНК из агробактерии в клетку растений активной роли не выполняют. В этом процессе существенную роль играет лишь крайне незначительная часть Т-ДНК, представленная левым и правым краями из 25 п.н. Если удалить ту часть Т-ДНК, которая расположена между ее краями, и встроить туда нужные нам гены с соответствующими регуляторными элементами, то они могут быть перенесены и встроены в геном растения с помощью агробактерии точно так же, как она делает это со своими собственными генами. Именно на этом принципе построено использование агробактериальной трансформации в генетической инженерии растений.

Существует два основных типа векторных систем на основе агробактерии. Первая система основана на применении так называемых *cis*- или коинтегративных векторов. Их создают путем вставки нужных нам генов в Т-область *Ti*-плазмиды *Agrobacterium* с помощью гомологичной рекомбинации. Вторая система основана на использовании так называемых *trans*- или бинарных векторов. Эти векторы не имеют гомологии с Т-ДНК. Они обязательно содержат сайт начала репликации (*ori*) от плазмиды с широким кругом хозяев либо *ori*-сайты как *Agrobacterium*, так и *E.coli*, благодаря чему способны автономно реплицироваться в обоих этих микроорганизмах (рис. 2.11).

При создании современных трансгенных сортов растений в основном используют бинарные векторные системы. Сам вектор представляет собой плазмиду, которая содержит сайт начала репликации (*ori*), а также по 25 п.н. левого и правого краев Т-ДНК, между которыми расположены нужные нам гены с соответствующими регуляторными элементами. Конструируют их исключительно методами технологии рекомбинантных

ДНК, описанными выше (встраивание нужных фрагментов ДНК между левым и правым краями осуществляют с помощью полилинкеров). Методы традиционной селекции микроорганизмов, основанные на гомологичной рекомбинации, практически не используются. Такие плазмиды можно клонировать в *E. coli*, где они способны автономно реплицироваться.

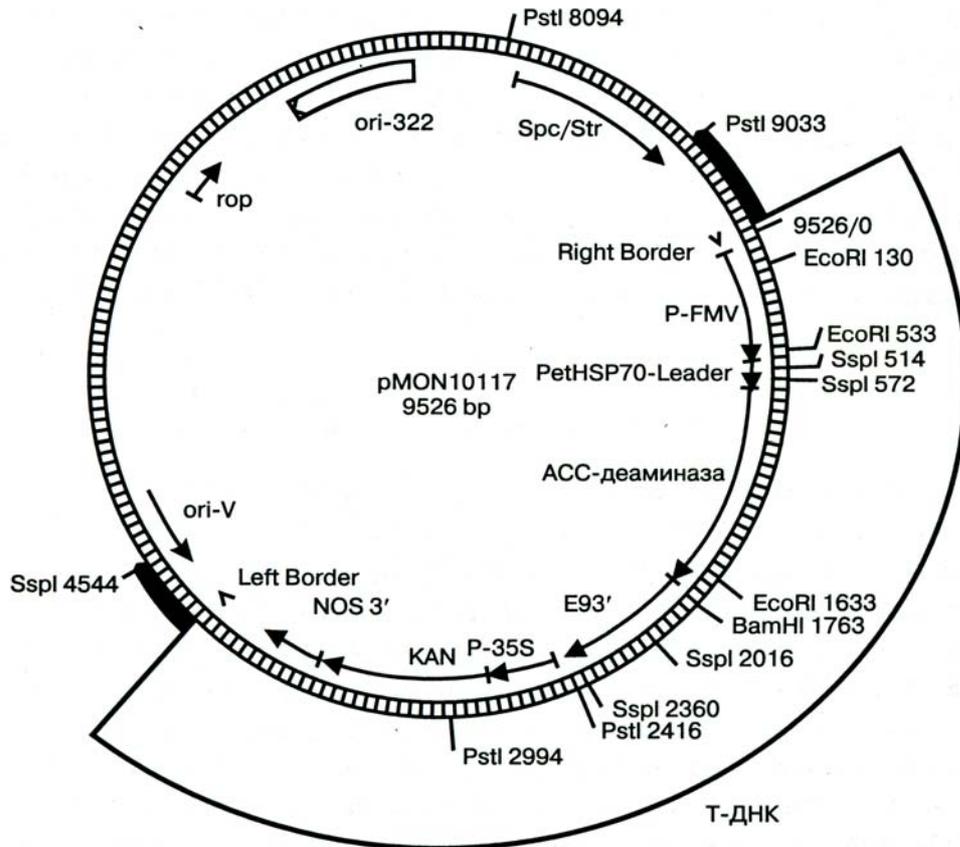


Рис. 2.11. Пример плазмидного бинарного вектора (по APHIS-USDA, 1994). Вектор pMON10117 использован при создании томатов с удлинённым сроком созревания благодаря пониженному уровню этилена – фитогормона, регулирующего процесс созревания плодов (встраивание гена, кодирующего фермент ACC-деаминазу; этот фермент играет важную роль в биосинтезе этилена). По внешнему периметру плазмиды отмечены сайты рестрикции соответствующих рестриктаз, а также номера последовательностей нуклеотидов, начиная с правого края (Right border). По внутреннему периметру – последовательность генетических элементов, содержащихся на плазмиде. В ДНК трансгенных растений включена часть плазмиды, ограниченная левым и правым краями (Left and Right borders), – Т-ДНК. Ori-322 и ori-V-сайты начала репликации плазмиды соответственно в *E. coli* и *A. tumefaciens*

После клонирования, изучения и отбора нужных нам конструкций генов отобранные бинарные векторы переносят в специальные штаммы, созданные на основе высоковирулентных штаммов *Agrobacterium* (как правило, *A. tumefaciens*). Характерной особенностью этих штаммов является то, что они имеют так называемую разоружённую *vir*-плазмиду. Последняя представляет собой *Ti*-плазмиду, которая содержит интактную *vir*-область, но у которой полностью отсутствует Т-область.

Привнесённый в *Agrobacterium* бинарный вектор способен в ней автономно реплицироваться благодаря наличию *ori*-сайта от плазмиды с широким кругом хозяев. Вследствие же наличия разоружённой *vir*-плазмиды он может успешно переноситься и встраиваться в геном клеток растений.

Как видим, при разработке бинарных векторных систем использована такая важная особенность механизма агробактериальной трансформации, согласно которой *vir*-область *Ti*-плазмиды лишь обеспечивает перенос Т-области из бактерий в растения, но сама при этом в растения не попадает. С другой стороны, в процессе переноса Т-

области существенным является присутствие очень небольшой части Т-ДНК: по 25 п.н. ее левого и правого краев. Остальная часть Т-ДНК, в том числе все онкогены и гены, кодирующие образование опинов, для процесса переноса Т-ДНК несущественны. Они выполняют в нем пассивную роль и могут быть безболезненно заменены любыми другими генами.

В бинарных векторных системах в отличие от естественных штаммов *Agrobacterium* основные «участники» процесса агробактериальной трансформации — *vir*- и *chv*-гены, которые обеспечивают перенос Т-ДНК, и переносимая Т-ДНК (точнее говоря, ее левый и правый края со вставленными между ними нужными генами) — разделены физически. *Chv*-гены расположены на бактериальной хромосоме, а *vir*-гены и Т-ДНК — на разных плаزمидах. Это очень удобно для целей генетических манипуляций с бинарным вектором, поскольку существенно увеличивает емкость вектора.

Безусловно, агробактериальная трансформация — наиболее эффективная технология введения трансгенов в клетки растений. Однако она имеет ограничения, связанные с кругом хозяев агробактерий. Специально отобранные штаммы *Agrobacterium* с широким кругом хозяев могут инфицировать приблизительно половину двудольных видов растений, а также некоторые из голосеменных. Многие двудольные и голосеменные и практически все однодольные растения устойчивы к агробактериям и никогда не образуют опухолей. Тем не менее, совершенствование этого метода продолжается. В результате разработаны протоколы для агробактериальной трансформации риса [Hiei et al., 1994], кукурузы [Ishida et al., 1996], пшеницы [Cheng et al., 1997]. Выделены симбиотичные с растениями микроорганизмы, отличные от агробактерий (*Rhizobium*, *Sinirhizobium*, *Mesorhizobium*), которые после соответствующей генетической модификации способны к горизонтальному переносу генов [Broothers et al., 2005].

2.6. Экспрессия трансгенов

Как отмечалось выше, каждый ген имеет сложную систему регуляции своей активности, в отсутствие которой он просто не будет функционировать. Только для транскрипции гена (образования мРНК) обязательно наличие, помимо кодирующей области, также промотора, последовательности, обеспечивающей присоединение к мРНК поли-А хвоста, и последовательности, указывающей место окончания транскрипции. В придачу к этим обязательным элементам генетические конструкции могут содержать также регуляторные элементы, определяющие, например, место и время активности переносимого гена (трансгена), другие гены (с соответствующими генетическими элементами), например так называемые селективные гены, с помощью которых выделяют трансформированные клетки реципиентного организма среди преобладающей массы нетрансформированных клеток.

Такие генетические конструкции «собирают» из фрагментов ДНК, которые могут принадлежать совершенно разным организмам, относящимся к весьма отдаленным систематическим группам, и даже с участием фрагментов ДНК, синтезированных искусственно. Например, в плазмиду почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* (*A. tumefaciens*) встраивают ген, выделенный из ДНК рыбы (ген холодоустойчивости от камбалы), промотор у этого гена от вируса мозаики цветной капусты, последовательности присоединения поли-А хвоста и окончания транскрипции (терминальные последовательности) от *A. tumefaciens*, селективный ген устойчивости к канамицину из транспозона (подвижный генетический элемент) *E.coli*, промотор и терминальные последовательности у этого гена те же, что и у гена холодоустойчивости. И вся эта генетическая конструкция предназначена для переноса в растительный организм.

Выбор промотора при создании трансгенных конструкций имеет особое значение. Существует общая закономерность: прокариотические промоторы могут обеспе-

чить активность любого гена, в том числе и эукариотического, только в прокариотическом организме (у бактерий, синезеленых водорослей). В эукариотическом организме может функционировать только ген, имеющий эукариотический промотор. Поэтому при переносе генов от одного вида растений к другому можно использовать гены с их собственными промоторами. Но если в растение переносится бактериальный ген, то промотор у него должен быть заменен на растительный.

В последнем случае часто используют промоторы от растительных вирусов, в частности промотор вируса мозаики цветной капусты CaMV35S. Вирусы по своей природе — существа исключительно активные. Ничто или практически ничто не может их остановить после того, как они нашли свою жертву (хозяина). Попав в клетку хозяина, вирусная ДНК интенсивно размножается и, используя «строительный материал и технику» (рибосомы и молекулы, необходимые для трансляции) клетки хозяина, активно воспроизводит себе подобных. Это происходит в силу того, что в процессе эволюции вирусы получили очень сильные промоторы, способные функционировать в любом генетическом окружении. Для генетической инженерии такое свойство вирусных промоторов очень ценно, поскольку обеспечивает активную работу привнесенного в организм трансгена. Чтобы усилить активность трансгена, иногда перед ним помещают сразу два промотора (генно-инженерные томаты с удлинённым сроком созревания). Правда, с другой стороны, регулировать активность такого гена очень сложно: он работает постоянно и с одинаковой интенсивностью. Во многих случаях это как раз то, что и требуется.

Если исследователь ставит более сложные задачи в плане регулирования активности трансгенов, то в его распоряжении имеется в настоящее время достаточно широкий выбор промоторов и других регуляторных элементов, комбинирование которых позволяет достичь более тонкой регуляции активности трансгенов в пространстве (в определенных тканях растения) и времени (в определенный период развития). В качестве примеров тканеспецифических промоторов можно назвать промотор PSsuAra из *Arabidopsis thaliana*, который обеспечивает экспрессию находящихся под ним трансгенов исключительно в зеленых тканях (листьях, стебле); промотор PTA29 из табака *Nicotiana tabacum*, который обеспечивает экспрессию находящихся под ним трансгенов в пыльниках. Промотор *rbsS* гена малой субъединицы рибулозобифосфаткарбоксилазы-оксигеназы *A. thaliana* — светочувствительный: экспрессия расположенных под ним трансгенов на свету (например, в листьях) в сто и более раз выше, чем в темноте (например, в корнях, клубнях).

Для того чтобы сделать возможным эффективное включение протеинов — продуктов трансгенов в метаболизм клетки, трансгенные конструкции могут содержать, например, такие генетические элементы, которые кодируют образование транзитного пептида, обеспечивающего доставку трансгенного фермента EPSPS к хлоропластам — месту синтеза ароматических аминокислот (генно-инженерная соя, устойчивая к гербициду глифосату).

Как указывалось выше, добиться эффективной экспрессии трансгенов у бактерий намного проще, чем у высших организмов. Трансформация бактерий чаще всего ограничивается включением в их клетки рекомбинантных плазмид, способных самостоятельно в них реплицироваться. Чем больше копий таких плазмид образуется в клетке, тем больше протеина — продукта привнесенного гена в ней вырабатывается. В случае с растениями ситуация намного сложнее. Трансгены встраиваются в генетический материал клетки и их наследование в поколениях ГИО происходит в соответствии с законами классической генетики. Поэтому важно, чтобы характер наследования трансгенов был предельно простым и предсказуемым (желательно, чтобы они наследовались

как моногенные, доминантные признаки). Это необходимо для гарантированного получения потомства с определенной степенью выраженности трансгенного признака.

С другой стороны, многокопийность трансгена у высших организмов часто сопровождается не увеличением выработки протеина — продукта трансгена, а, напротив, ослаблением его активности вплоть до полного «замолкания» (это явление так и называют — *gene silencing*). Явление «замолкания» генов нашло широкое использование в генетической инженерии для регулирования активности отдельных генов растения или животного. Введение дополнительной копии гена в виде «смысловой» или «антисмысловой» (перевернутой концом по отношению к промотору, в результате чего образуется мРНК, комплементарная нормальной мРНК гена) кодирующей последовательности гена, активность которого хотят ослабить, позволяет получать сорта с улучшенными качественными характеристиками (улучшенный состав масла, крахмала, удлиненный срок созревания и хранения плодов и др.).

Следующая важная особенность трансгенных высших организмов, которая может существенно влиять на активность привнесенных генов, связана со случайным характером вставки трансгенов в геном. В зависимости от места встраивания активность трансгенов может различаться в тысячи раз: от полного молчания до активной стабильной экспрессии. Это явление получило название «эффект положения трансгена» (*gene position effect*). Чтобы его нивелировать, обычно получают большое количество (до тысячи) первичных трансформантов, среди которых в дальнейшем отбирают генотипы с требуемым уровнем экспрессии трансгенов. Также обращают внимание, чтобы отобранные растения были без заметных изъянов, индуцированных вставкой трансгена. Нивелировать эффект положения можно и с помощью чисто генно-инженерных подходов: путем введения в трансгенные конструкции так называемых MARs (*matrix attached regions*) — специальных последовательностей, которые предположительно обеспечивают повышенную экспрессию расположенных рядом с ними генов за счет изменения конфигурации петель ДНК относительно ядерных структур — матрикса.

Недавно появилось сообщение о разработке системы сайт-специфического встраивания чужеродной ДНК в геном растений.

2.7. Отбор трансформированных клеток

Поскольку процесс трансформации затрагивает лишь небольшое количество компетентных клеток, то для их отбора используют селективные маркерные гены, которые, как правило, присутствуют в переносимых в растительные клетки генетических конструкциях наряду с генами целевых признаков. При высевах клеток, подвергнутых трансформации, на питательную среду, содержащую селективный агент, способностью делиться будут обладать только те клетки, в геном которых произошла вставка рекомбинантной ДНК. В генетической инженерии растений чаще всего используют в качестве маркерных гены устойчивости к антибиотикам (например, канамицину, ампицилину) или гены устойчивости к гербицидам (например, гены *bar* или *pat* устойчивости к гербициду глюфофозинату аммония). Если целью генетической модификации является получение гербицидоустойчивых форм, то сам целевой ген может выступать в качестве селективного гена.

Имеется еще одна специфическая группа маркерных генов, широко используемая в генетической инженерии растений. Речь идет о так называемых репортерных генах, которые применяют для изучения регуляторных элементов генов: промоторов, энхансеров, сайлэнсеров, терминальных последовательностей. В частности, при исследовании промоторов можно определить их области, связанные с тканеспецифической экспрессией генов, или выделить у них светочувствительные участки и т.д.

Таблица 2.2

Состав трансгенной конструкции при создании ГИО – рапса с системой получения гибридных семян на основе мужской стерильности/восстановления фертильности и толерантности к гербициду глюфофозинату аммония (Aventis CropScience, 2000)

Аббревиатура	Генетический элемент	Происхождение	Размер, п.н.	Функция
RB	Правый край	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	25	Встраивание ДНК
PLS	Полилинкер	Синтетический	72	Соединение фрагментов
3'g7	Сигнал терминации транскрипции от гена 7' TL-ДНК	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	212	Терминация транскрипции, присоединение поли-А
PLS	Полилинкер	Синтетический	21	Соединение фрагментов ДНК
Bar	Ген толерантности к глюфофозинату	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	552	Селективный маркер
PSsuAra	Промотор	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1726	Конститутивный промотор, экспрессия гена в зеленых тканях
PLS	Полилинкер	Синтетический	50	Соединение фрагментов
3'nos	Последовательность полиаденилирования от гена <i>nos</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	261	ДНК Присоединение поли-А
3'UTR	Сигнал терминации транскрипции от гена <i>barnase</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	112	Терминация транскрипции
<i>Barnase*</i>	Ген РНКазы	То же	336	Мужская стерильность
PTA 29	Промотор	<i>Nicotiana tabacum</i>	1510	Конститутивный промотор, экспрессия гена в пыльниках
PLS	Полилинкер	Синтетический	44	Соединение фрагментов ДНК
LB	Левый край	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	25	Встраивание ДНК

* У восстановителя фертильности на этом месте ген *barstar* (273 п.н.) – ингибитор РНКаз со своей собственной терминальной последовательностью (40 п.н.).

Репортерные гены помещают в генетических конструкциях вслед за промотором на месте белок-кодирующей последовательности. Особенностью этих генов является кодирование образования какого-либо фермента, не характерного для изучаемых живых организмов. Важно, чтобы активность этого фермента можно было измерить количественно, с высокой воспроизводимостью и достаточно просто.

Чаще всего в качестве репортерного гена используют ген *gus* (или *uidA*) из *E.coli*, кодирующий образование фермента β-глюкуронидазы. Экспрессию этого гена оценивают с помощью спектрометрических, флюорометрических или гистохимических методов. Сам анализ простой, дешевый и высокочувствительный. У интактных (нетрансформированных) растений продукт этого гена практически не выявляется. Среди его недостатков – необходимость разрушения растительных тканей трансформантов для проведения анализа. Поэтому в тех случаях, когда требуется проследить динамику экспрессии трансгена в онтогенезе растения, рекомендуют использовать такие гены, как ген люциферазы (*luc*) из светлячков *Photinus pyralis* или ген флюоресцирующего зеленого протеина (GFP – green fluorescent protein) из медузы *Aequorea victoria*.

Таким образом, для успешного переноса и стабильной, адресной экспрессии в организме-хозяине трансгенные конструкции должны иметь определенный набор кодирующих повторностей и соответствующих регуляторных генетических элементов. В

качестве примера типичной трансгенной конструкции можно привести конструкцию, использованную при получении сортов рапса с системой мужской стерильности/восстановления фертильности, позволяющей получать гетерозисные гибридные семена (табл. 2.2). Между левым и правым краями от *A.tumefaciens* (которые, как известно, играют ключевую роль в переносе T-области из агробактерии в растительную клетку) в этой конструкции расположены два гена со своими собственными регуляторными элементами: ген целевого признака — мужской стерильности *bar* и селективный маркерный ген *bar* толерантности к гербициду глюфофозинату аммония (фосфинотрицину). Отдельные фрагменты ДНК соединены между собой с помощью синтетических полилинкеров.

Интересно, что ген *bar* толерантности к гербициду глюфофозинату аммония играет в этой конструкции тройную роль. Во-первых, он обеспечивает эффективную селекцию трансформированных клеток. Во-вторых, толерантность к гербициду — важный агрономический признак. В-третьих, этот ген необходим в системе производства гибридных семян для целей размножения родительских линий.

2.8. От единичной трансформированной клетки к многоклеточному генно-инженерному организму

Надо иметь в виду, что есть организмы одноклеточные и многоклеточные. В первом случае все просто: имеются хорошо отработанные методы введения рекомбинантных плазмид в клетки микроорганизмов. Если сконструированная плазида способна к самовоспроизведению, то она будет размножаться внутри клетки. В свою очередь сами клетки реципиентного организма быстро делятся вместе с привнесенными в них плазидами. Так осуществляется клонирование генов, таким же образом получают генно-инженерные микроорганизмы — суперпродуценты каких-либо веществ. Иногда добиваются, чтобы привнесенная в клетку генетическая конструкция включилась (устойчиво интегрировалась) в хромосому реципиентного микроорганизма.

Для получения генно-инженерных многоклеточных организмов поначалу трансформируют (т.е. вводят) нужный ген лишь в отдельные клетки, из которых затем восстанавливают целый организм. Понятно, что восстановить организм из отдельной клетки — не простая задача. Однако ученые научились делать это. Так, для получения трансгенных животных (например, млекопитающих: мышей, кроликов, овец, коров и т.д.) чаще всего используют оплодотворенные яйцеклетки, в которые с помощью микроманипуляторов впрыскивают препараты ДНК, а затем имплантируют эти яйцеклетки в матки суррогатных матерей, где из таких яйцеклеток развивается плод и далее рождаются мышата, крольчата, ягнята, телята и т.д., часть из которых может содержать в своем генетическом материале привнесенные гены.

С растениями ситуация, с одной стороны, сложнее, с другой — проще. Сложнее — потому что каждая растительная клетка окружена плотной целлюлозной оболочкой, что создает проблемы с введением в клетку чужеродной ДНК. Проще — потому что в отличие от животных большинство растительных клеток тотипотентны, т.е. из них можно восстановить целое растение (у животных этим свойством обладают только оплодотворенные яйцеклетки и клетки зародыша на самых ранних стадиях развития). В придачу ко всему для растительных клеток разработаны эффективные методы их культивирования вне организма на специальных питательных средах и методы индукции у них процессов морфогенеза (с помощью фитогормонов, изменения условий культивирования), в результате чего достигается регенерация из клеток целых растений. Поскольку вопросы культуры *in vitro* растительных клеток имеют для генетической инженерии растений первостепенное значение, рассмотрим их подробнее.

2.8.1. Культура клеток и тканей растений *in vitro*. Культивирование клеток и тканей растений производят на специальных питательных средах, которые содержат все необходимые для их роста макро- и микроэлементы, углеводы, витамины и фитогормоны. Питательная среда является прекрасным субстратом для микроорганизмов. Поэтому для того, чтобы на ней можно было культивировать клетки растений, ее необходимо стерилизовать. Среды стерилизуют путем автоклавирования в течение 20–30 мин при давлении 0,7–0,8 кг/см². Термолабильные элементы (некоторые фитогормоны: зеатин, кинетин, индолилуксусную кислоту, гиббереллин и др.) стерилизуют с помощью фильтрации через бактериальные фильтры и добавляют в уже проавтоклавируемые и охлажденные до 40–50°C питательные среды.

Культуру клеток получают из так называемого первичного эксплантата: изолированного зародыша семени, верхушки или средней части стебля, сегмента листа и т.д. Поверхность первичных эксплантатов стерилизуют, помещая их по определенной схеме в стерилизующие растворы. Например, применяется такая схема: 30 с в 70%-ном растворе этилового спирта, потом 7–10 мин в 0,1%-ном растворе диацида (ртутьсодержащее соединение) или 15–20 мин в 5–9%-ном растворе гипохлорита натрия. Затем эксплантаты промывают в 3–5 сменах автоклавированной дистиллированной воды, после чего они готовы для введения в культуру.

Манипуляции с изолированными тканями – введение эксплантатов в культуру, пересадку культур на свежую питательную среду – производят в условиях асептики. Это означает, что все работы выполняют на столе ламинар-бокса (в ламинарном потоке пропущенного через бактериальные фильтры воздуха), используя стерильные инструменты и посуду. Культивирование клеток осуществляют в пробирках или колбах, закупоренных ватными пробками или специальными крышками, обеспечивающими защиту внутреннего объема этих сосудов от проникновения посторонней микрофлоры.

В целом культура клеток растений аналогична культуре бактерий. Применяются два основных способа культивирования: на твердых (агаризованных) и жидких питательных средах. В первом случае после помещения первичного эксплантата на питательную среду образуется так называемый каллус: неорганизованная, активно пролиферирующая ткань, состоящая из недифференцированных клеток (рис. 2.12). Обязательным условием процесса дедифференциации (т.е. утраты свойств, характерных для определенных тканей: листовой, корневой и т.д.) клеток первичного эксплантата для большинства видов растений является присутствие в питательной среде двух групп фитогормонов: ауксинов и цитокининов. Ауксины (индолилуксусная кислота, нафтилуксусная кислота и др.) инициируют процесс дедифференциации клеток, а цитокинины (кинетин, 6-бензиламинопурин, зеатин и др.) вызывают деление дедифференцированных клеток. В отдельных случаях, например при получении каллусной культуры из зародышей семян злаковых растений, достаточно присутствия в питательной среде только ауксина (чаще всего это 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота – 2,4-Д).

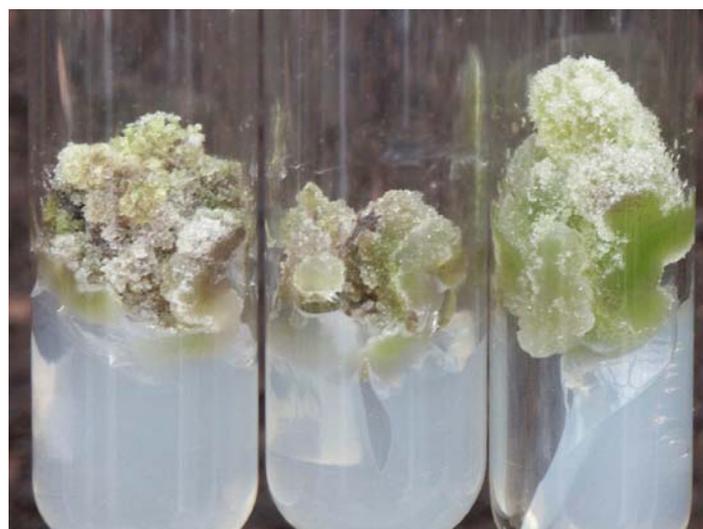


Рис. 2.12. Каллусная культура картофеля (эксплантаты – пыльники)

Дедифференцировка растительных клеток является важнейшим элементом получения активно делящихся культур. Дело в том, что глубоко специализированные (дифференцированные) клетки растений утрачивают способность к делению. Для того чтобы они вновь ее приобрели, необходимо как бы вернуть их в меристематическое состояние, т.е. дедифференцировать.

Если каллюсную культуру поместить в жидкую питательную среду и обеспечить автоматическое ее перемешивание, то мы получим так называемую суспензию клеток растений. Перемешивание или встряхивание суспензии необходимо не только для аэрации клеток, но и для предотвращения образования крупных агрегатов клеток. Состав питательной среды для культивирования суспензии клеток растений аналогичен тому, который применяют для каллюсных культур, за исключением агар-агара. Из суспензии клеток можно вновь получить каллюсную культуру. Для этого ее фильтруют через марлевые, нейлоновые или металлические фильтры, после чего клетки и клеточные агрегаты с фильтра переносят на агаризованную питательную среду. Можно также использовать для этих целей клетки и клеточные агрегаты, осевшие на дно сосуда при прекращении перемешивания суспензии. Если объем суспензии небольшой (несколько миллилитров), ее можно просто «высеять» на поверхность агаризованной среды. Как каллюсную, так и суспензионную культуру периодически пересаживают на свежую питательную среду, благодаря чему деление клеток в культуре можно поддерживать длительное время (есть культуры, которые выращивают в течение многих десятилетий).

Следует также упомянуть о такой важной разновидности культивирования клеток растений на жидких питательных средах, как культура протопластов (рис. 2.13). Протопласты получают из клеток паренхимы листа, из каллюсных и суспензионных



Рис. 2.13. Культура протопластов из мезофилла листа табака (с любезного разрешения Г.Г. Бричковой, Институт генетики и цитологии НАН Беларуси)

культур. Характерной особенностью растительной клетки, как указывалось выше, является наличие у нее жесткой целлюлозной оболочки. С помощью специальных ферментов, выделенных из микроорганизмов (целлюлаз), эти оболочки можно растворить. При получении протопластов используют также ферменты пектиназы, которые разрушают пектин, находящийся в межклеточном пространстве, благодаря чему происходит дезагрегация эксплантатов, клетки становятся доступными действию целлюлаз. Чтобы не повредить внутреннее содержимое растительной клетки (протопласт) в ходе и после удаления целлюлозных оболочек, в питательную среду обязательно добавляют осмотики (обычно сахара в повышенных концентрациях). Под действием осмотиков протопласт сжимается, отстает от клеточных стенок, принимая шарообразную форму.

Вновь полученные протопласты через определенное время восстанавливают клеточную стенку, начинают делиться, образуя суспензию клеток, из которой в дальнейшем можно получить каллюсную культуру. Однако в тот промежуток времени, когда они не имеют клеточной стенки, протопласты представляют собой очень ценный объект для проведения генетических манипуляций. В них можно инъецировать рекомбинантную ДНК, эффективно проводить агробактериальную трансформацию (понятно, что в отсутствие клеточных стенок проникновение Т-ДНК намного облегчается). Можно сливать протопласты разных видов растений с целью получения так называемых соматических гибридов, многие из которых невозможно получить с помощью традиционных методов селекции.

Как видим, культивирование клеток растений во многом аналогично культивированию микроорганизмов. Каллюсные культуры — это те же «колонии» клеток, образовавшиеся на агаризованной питательной среде. Их используют в основном для генетических исследований. Суспензия растительных клеток аналогична промышленному культивированию микроорганизмов для производства каких-либо ценных веществ. Так, с помощью промышленного культивирования суспензий растительных клеток производят некоторые ценные лекарственные препараты (например, сердечные гликозиды), продуцентами которых являются клетки соответствующих видов растений.

Тем не менее, культура клеток растений в отличие от культуры микроорганизмов имеет ряд особенностей. Если при высеве суспензии микроорганизмов на агаризованную питательную среду практически из каждой отдельной клетки образуется своя колония клеток, то заставить делиться отдельные единичные клетки растений весьма сложно. Растительные клетки, как правило, хорошо делятся только тогда, когда их содержание в каком-то объеме среды достаточно велико. Это связывают с присутствием так называемого кондиционирующего фактора, который выделяется в среду делящимися клетками. Природа его до конца не выяснена. Специальные методы культивирования единичных клеток растений как раз и основаны на использовании эффекта кондиционирования. Для этого одиночные клетки культивируют в присутствии «няньки», которая может представлять собой интенсивно делящуюся каллюсную или суспензионную культуру, отделенную от клетки фильтром, или «кормящий слой», «подложку», полученные из инактивированных, но не убитых радиацией клеток суспензии.

Другой метод основан на использовании очень малых объемов питательной среды и представляет собой культивирование клеток в подвешенных микрокаплях объемом около 1 мкл. Если в микрокапле такого объема находится лишь одна клетка, соотношение объема клетки и объема питательной среды будет таким же, как в обычной культуре с плотностью 10^3 клеток на 1 мл среды. Предварительное культивирование клеток в течение 1–3 дней в суспензиях с высокой плотностью и активностью клеточных делений значительно увеличивает эффективность этого приема. Описанный метод оказался весьма эффективным и нашел широкое применение для культивирования единичных протопластов, представляющих собой гетерокариоциты, образовавшиеся при соматической межвидовой гибридизации.

Разработка методов получения клонов из единичных клеток при их культивировании *in vitro* имеет исключительно важное значение для генетической инженерии растений, поскольку делает возможным создание трансгенных растений из единичных трансформированных клеток. Реализация этой возможности связана со следующей важной особенностью культивирования растительных клеток. Суть ее заключается в том, что с помощью специальных методов (изменения состава питательной среды и условий культивирования) можно индуцировать у них процесс вторичной дифференциации, в результате которого удастся регенерировать из каллюса или суспензии целое растение.

2.8.2. Индукция морфогенеза и органогенеза в культуре клеток и получение растений-регенератов. Растения обладают уникальным свойством восстанавливать целый организм из отдельных фрагментов (например, черенков), органов, почек, клеток. В основе его лежит способность отдельной соматической клетки реализовать программу развития, заложенную в зиготе, и дать начало целому организму (тотипотентность растительных клеток). Любая соматическая клетка растения имеет такой же набор генов, что и та единственная клетка — зигота, которая образовалась при оплодотворении и из которой далее развился зародыш семени и само растение. В ходе развития растения клетки отдельных органов приобретают свойства, характерные для соответствующей

щих тканей. Однако, несмотря на это, многие из них все-таки способны при определенных условиях редифференцироваться и давать начало новым органам или целым организмам.

При культивировании клеток растений *in vitro* появляется возможность в значительно большей степени реализовать их тотипотентность, чем в составе целого растения.



Рис. 2.14. Регенерация растений из эмбрионидов, развивающихся из каллюса тритикале (эксплантаты -пыльники) (с любезного разрешения Н.М. Ермишиной, Институт генетики и цитологии НАН Беларуси)

Это связано с тем, что в культуре *in vitro* по сравнению с целым растением не действует жесткая программа развития организма, отсутствует тесная взаимосвязь и взаимозависимость клеток отдельных органов и тканей. Можно целенаправленно управлять процессами дифференциации клеток.

Регенерация растений в культуре *in vitro* происходит двумя основными способами: путем эмбриогенеза или органогенеза. При соматическом эмбриогенезе формируется биполярное образование, аналогичное зародышу семени. Оно представляет собой рудиментарное растение с зачатками стеблевых и корневых меристем, которое берет начало от одной из каллюсных клеток и которое не имеет сосудистых соединений с остальными каллюсными клетками (рис. 2.14). При стеблевом органогенезе образуется однополярная структура — зачаток стеблевой почки, из которой далее

развивается облиственный побег, соединенный с массой каллюсных клеток (рис. 2.15). Полученный стебель можно укоренить и получить, таким образом, целое растение. Процессы морфогенеза в культуре *in vitro* могут происходить и в виде корневого (образуются корни) или флорального (образуются цветы) органогенеза. Однако эти типы морфогенеза не представляют интереса для целей получения растений-регенератов.

Впервые стеблевой органогенез из каллюса, полученного из стебля растений табака, наблюдал в 1939 году П. Уайт. Позднее, в 1944 году, Ф. Скуг показал, что ауксины могут стимулировать корневой органогенез и ингибировать стеблевой. При этом ингибирующее действие ауксинов можно минимизировать путем повышения концентрации в среде других компонентов: сахарозы, неорганического фосфата, аденина. Дальнейшие исследования многих авторов в данном направлении увенчались в 1957 году классической работой Ф. Скуга и С. Миллера. В ней была высказана идея, согласно которой разные количественные соотношения между регуляторами роста растений, особенно между ауксинами и цитокининами, а также другими компонентами питательной среды, могут служить в качестве универсального механизма регуляции всех возможных типов морфогенеза в культуре клеток растений. Преобладание в питательной среде ауксинов над цитоки-

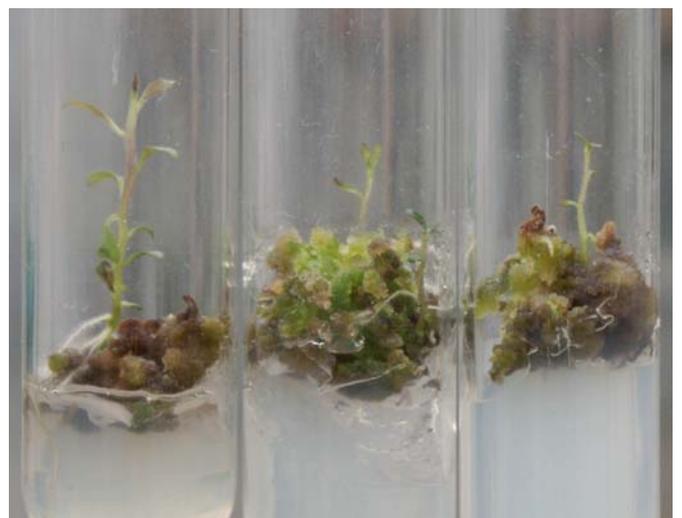


Рис. 2.15. Стеблевой органогенез из каллюса, полученного в культуре пыльников картофеля

нинами, как правило, стимулирует образование корней, преобладание цитокининов над ауксинами — стеблей, а промежуточное соотношение оказывает благоприятное влияние на пролиферацию каллюса. Хотя в дальнейшем это правило не нашло подтверждения применительно ко всем видам растений, однако сама концепция определила стратегию оптимизации питательных сред с целью получения растений-регенератов.

Если органогенез в культуре многих видов растений можно индуцировать, варьируя соотношение ауксинов и цитокининов в питательной среде, то соматический эмбриогенез зависит в основном от уровня и соотношения эндогенных фитогормонов каллюсных клеток. Обычно соматические эмбриониды образуются из компетентных клеток при пересадке культур на питательную среду, не содержащую дедифференцирующего фактора.

Способность изолированных клеток растений к морфогенезу определяется многими факторами. Есть виды растений, у которых очень сложно получить каллюсную культуру и заставить ее перейти к морфогенезу (большинство злаковых растений, многие древесные культуры, особенно хвойные). А есть виды, легко образующие каллюс и растения-регенераты (некоторые пасленовые, в частности табак). Морфогенетические потенции культур могут сильно различаться в зависимости от генотипа в пределах одного вида и даже сорта. Показано, что названные процессы находятся под генетическим контролем определенных ядерных генов. На них могут оказывать влияние и цитоплазматические факторы. Для получения способных к морфогенезу культур большое значение имеет и выбор эксплантата, условий выращивания растений — источников эксплантатов, а также состав питательной среды, условия культивирования каллюсных клеток (температура, освещение) и др. В генно-инженерных исследованиях принято работать с культурами клеток растений, для которых все названные параметры успеха определены и оптимизированы.

2.8.3. Клеточная селекция. Выше отмечалось, что культура клеток растений имеет много общего с культурой микроорганизмов. Одно из таких общих свойств, имеющих большое значение для генетической инженерии, — возможность использовать селективные среды для отбора клеток с определенным фенотипом. Если высеять суспензию бактерий или растительных клеток на питательную среду, в которую добавлен какой-либо антибиотик, то на ней будут расти только бактерии или растительные клетки, обладающие устойчивостью к этому антибиотику. Более того, растения-регенераты, полученные из отобранных таким образом клеток, тоже будут устойчивы к антибиотику.

Клеточная селекция растений является самостоятельным и достаточно эффективным направлением сельскохозяйственной биотехнологии. Речь идет, по сути, об использовании методов селекции микроорганизмов в селекции растений. Манипулируя большим количеством генотипов (миллионы клеток, многие из которых способны дать начало целому растению, в пределах одной чашки Петри), можно эффективно отбирать отдельные редкие мутанты, представляющие селекционный интерес.

Для селекции мутантов важно прежде всего индуцировать генетическую изменчивость в популяции, в которой проводят отбор. Условия культивирования изолированных клеток сами по себе являются мощным мутагенным фактором. Изменчивость каллюсных клеток можно усилить и с помощью традиционных мутагенных факторов: радиации, ультрафиолетового облучения, химических мутагенов.

Клеточную селекцию используют для отбора мутантов, устойчивых к гербицидам, стрессовым воздействиям (к засолению, повышенной и пониженной температуре), к аналогам аминокислот (получают растения-регенераты, продуцирующие в десятки-

сотни раз больше определенных незаменимых аминокислот, чем обычные, неизменные формы).

Мутантные гены устойчивости к гербицидам, выделенные из генотипов растений, отобранных с помощью клеточной селекции, находят применение и в генетической инженерии. Так, мутантные гены *csr1-1*, *csr1-2*, *csr1-4* из *Arabidopsis thaliana*, а также *SuRB-Hra* из табака, кодирующие фермент ацетолактатсинтетазу с измененным сайтом связывания с гербицидом, широко используются для создания растений сельскохозяйственных культур, толерантных к гербицидам типа сульфонилмочевины, имидазолинона, триазопиримидиновой группы.

Клеточная селекция является одним из важных этапов создания генно-инженерных растительных организмов (см. раздел 2.7).

2.8.4. Получение генно-инженерных животных. В отличие от растений дифференцировка соматических клеток у животных более глубокая и тотипотентностью обладают лишь клетки зародыша на самых ранних стадиях развития. В связи с этим для получения генно-инженерного многоклеточного организма обычно трансформируют эмбриональные клетки на ранних стадиях развития эмбриона. При этом нередко случается, что развившееся из такого зародыша животное будет иметь лишь отдельные сектора, состоящие из клеток, содержащих рекомбинантные ДНК. Если в число этих секторов попадут и генеративные органы, то можно рассчитывать, что потомство таких мозаичных организмов окажется генно-инженерно-модифицированным. Чтобы отобрать родительские формы, дающие нерасщепляющееся потомство со стабильно выраженными трансгенными признаками, обычно требуется от двух до четырех поколений.

Второй подход к получению многоклеточных генно-инженерных животных основан на трансформации половых клеток. Процесс оплодотворения с участием трансформированных половых клеток позволяет получать зиготы, дающие начало генно-инженерным организмам. Однако, как отмечалось (см. 2.5.2), в целом эффективность этого подхода остается очень низкой.

2.9. Трансформация органелл

В живой клетке высших организмов ДНК содержится не только в ядре, но и в органеллах: пластидах (хлоропластах, хромопластах, лейкопластах и др.) и митохондриях. Изучение организации геномов пластид и митохондрий выявило их большое сходство с бактериальными геномами. Оно касается структуры кольцевых молекул ДНК, порядка генов и особенностей их организации в полицистроны, параметров белоксинтезирующей системы, чувствительности органелл к антибиотикам и др. Эти данные подтверждают симбиотическую гипотезу возникновения эукариотических клеток, согласно которой предшественниками органелл являются прокариотические организмы.

Метод биолистики позволяет вводить чужеродную ДНК в клетки, в результате чего достигается, с определенной вероятностью, ее включение в ДНК хромосом. Однако с тем же успехом можно рассчитывать и на трансформацию ДНК органелл. Именно разработка метода биолистики позволила получить первые транспластомные растения (т.е. растения, которые в отличие от трансгенных имеют «генетически модифицированные хлоропласты»). В настоящее время получены транспластомные растения с привнесенными генами устойчивости к антибиотикам (канамицину, стрептомицину, спектиномицину), гербициду глифосату, с генами токсинов бактерий *Bacillus thuringiensis* (*cry 1A*, *cry 2Aa2*), а также репортерным геном β -глюкуронидазы. Среди трансформированных видов растений пока преобладают в основном модельные объекты: табак, арабидопсис, а также томаты и картофель.

Количество копий молекул пластидных ДНК может достигать десяти тысяч (одна клетка может содержать до 100 хлоропластов, в каждом из которых имеется до 100 молекул ДНК). Естественно, добиться одновременного встраивания чужеродных генов во все эти молекулы невозможно. Поэтому одной из основных проблем получения транспластомных форм является достижение гомоплазии трансформированных клеток, т.е. полное исключение у них нетрансформированных пластидных ДНК. В первичных транспластомных клетках последние преобладают: у них имеются лишь единичные молекулы со вставкой привнесенных генов. Для достижения гомоплазии применяется селективная процедура: культивирование «обработанных» рекомбинантными плазмидами тканей на питательной среде с антибиотиком. Делиться на такой среде способны только клетки, в которых имеются трансформированные пластиды. Из каллюсных клеток, полученных на среде с антибиотиком, далее регенерируют растения. Для полного избавления от нетрансформированных пластов проводят повторные циклы получения каллюса — регенерации растений на среде с высоким содержанием антибиотика.

Трансформация пластид рассматривается как одно из перспективных направлений генетической инженерии растений, поскольку имеет по сравнению с трансформацией ядерной ДНК ряд преимуществ. В силу прокариотической природы ДНК пластид возможно использование механизма гомологичной рекомбинации для сайт-специфического встраивания чужеродной ДНК в их геном подобно тому, как это делают при трансформации прокариот (см. 2.5.1). Благодаря многокопийности ДНК пластид удастся достичь очень высокого уровня экспрессии белка — продукта привнесенного гена у транспластомных растений (от 1—5 до 40% транспластомного протеина ко всему клеточному белку). Это делает рассматриваемую модель весьма привлекательной для создания растений — супер продуцентов ценных веществ. Транспластомные растения по сравнению с трансгенными являются менее потенциально опасными для окружающей среды, поскольку не способны передавать привнесенные гены путем рассеивания пыльцы — наследование пластомных генов происходит в основном по материнской линии (вопросы биобезопасности подробно рассматриваются в главах 4—6 настоящей книги).

Литература к главе 2

- Биология / Под ред. Б.А. Кузнецова. М.: Высш. школа, 1975. — 295 с.
- Биотехнология растений: культура клеток: Пер. с англ. / Под ред. Р.А. Диксона. М.: Агропромиздат, 1989. — 280 с.
- Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. пособие. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. — 160 с.
- Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: Наукова думка, 1979. — 508 с.
- Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений. Киев: Наукова думка, 1984. — 160 с.
- Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология: принципы и применение. М.: Мир, 2002. — 589 с.
- Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. Мн.: Тэхналогія, 2003. — 494 с.
- Картель Н.А. Биоинженерия: методы и возможности. Мн.: Ураджай, 1989. — 143 с.
- Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. М.: Наука, 1988. — 304 с.
- Петров Д. Ф. Генетика с основами селекции. М.: Высш. школа, 1976. — 416 с.
- Сельскохозяйственная биотехнология / Под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высш. школа, 1998. — 416с.
- Сидоров В.А. Биотехнология растений: клеточная селекция. Киев: Наукова думка, 1990. — 280с.
- Уотсон Дж., Туз Дж., Курц Д. Рекомбинантные ДНК: Краткий курс. М.: Мир, 1986. — 285 с.

- Aventis CropScience. Application for consent to release genetically modified winter oilseed rape. Document SCI/10726. Essex. UK, 2000. – 55 p.
- Animal and Plant Health Inspection Service - United States Department of Agriculture (APHIS-USDA). Availability of determination of non regulated status for genetically engineered tomato line. Federal Register. 60, 15. P. 4588–4589.
- Brothers W., Mitchell H.J., Weir B. et al. Gene transfer to plants by diverse species of bacteria // Nature. 2005. Vol. 433. P. 629–633.
- Cheng M., Fry J.E., Pang S. et al. Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Physiol. 1997. Vol. 115. P. 971–980.
- Chilton M.-D., Drummond M.H., Merle D.J. et al. Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis // Cell. 1977. Vol. 11. P. 263–271.
- Cohen S., Chang A., Boyer H., Helling R. Construction of biologically functional bacterial plasmids *in vitro* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1973. Vol. 70. P. 3240–3244.
- Gordon J.W., Scangos G.A., Plotkin D.J., Barbosa J.A., Ruddle F.H. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. Vol. 77. P. 7380–7384.
- Helenius E., Boije M., Niklander-Teeri V. et al. Gene delivery into intact plant using the Helios gene gun // Plant Molec. Reporter. 2000. Vol. 18. P. 287a–2871.
- Hiei Y., Ohta S., Komari T., Kumashiro T. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa*) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the bound-areas of the T-DNA // Plant J. 1994. Vol. 6. P. 271–282.
- Ishida Y., Saito H., Ohta S., Hiei Y., Komari T., Kumashiro T. High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens* // Nature Biotechnology. 1996. Vol. 14. P. 745–750.
- Houdebine L.M. From animal transgenesis to molecular farming // Molecular Farming / Eds. J.P. Toutant, E. Balazs. Paris: INRA, 2001. P. 13–27.
- Jackson D., Symons R., Berg P. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and galactose operon of *Escherichia coli* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1972. Vol. 69. P. 2904–2909.
- Mertz J.E., Davis R.W. Cleavage of DNA by R1 restriction endonuclease generates cohesive ends // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1972. Vol. 69. P. 3370–3374.
- Mlynarova L., Nap J.-P. Gene transfer and expression in plants. Bratislava: VEDA, 1997. – 127 p.
- Molecular Farming / Eds. J.P. Toutant, E. Balazs. Paris: INRA, 2001. – 323 p.
- Palmitier R.D., Brinster R.L., Hammer R.E. et al. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes // Nature. 1982. Vol. 300. P. 611–615.
- Zupan J., Muth T.R., Draper O., Zambryski P. The transfer of DNA from *Agrobacterium tumefaciens* into plants: a feast of fundamental insights // Plant J. 2000. Vol. 23. P. 11–28.

Глава 3

ЧТО НАМ ДАЕТ И МОЖЕТ ДАТЬ В БУДУЩЕМ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Как видно из приведенного выше, технология получения генно-инженерных организмов позволяет значительно расширить возможности традиционной селекции. Более того, благодаря ей можно получать такие организмы, которые в принципе невозможно получить с помощью обычной селекции. Она делает реальным решение проблем борьбы с болезнями, голодом, которые считались ранее практически неразрешимыми.

Исторически ситуация сложилась так, что первые генно-инженерные работы были проведены на микроорганизмах. Это вполне объяснимо: микроорганизмы, как правило, одноклеточные существа, имеющие относительно простую организацию аппарата наследственности. Генетические манипуляции, в том числе с помощью технологии рекомбинантных ДНК, на них производить значительно проще, чем на многоклеточных организмах. Поэтому именно с генно-инженерными микроорганизмами связаны первые выдающиеся достижения современной биотехнологии и прежде всего получение жизненно важных для людей веществ с помощью специальным образом генетически модифицированных микроорганизмов. То есть люди «научили» микробов производить совершенно несвойственные для них соединения, которые намного качественнее и дешевле «натуральных» аналогов. Наибольшее значение среди таких соединений имеют те, недостаток или отсутствие которых в человеческом организме приводит к серьезным заболеваниям: диабету, гемофилии, карликовости, анемии и др.

3.1. Генно-инженерные организмы на службе у медицины

В настоящее время в мире, по данным ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения), насчитывается около 110 млн. людей, страдающих диабетом. И эта цифра в ближайшие 25 лет может удвоиться. Диабет – страшное заболевание, которое вызывается нарушением работы поджелудочной железы, вырабатывающей гормон инсулин, необходимый для нормальной утилизации содержащихся в пище углеводов. На начальных стадиях развития болезни достаточно использовать меры профилактики, регулярно следить за уровнем сахара в крови, просто потреблять меньше сладкого. Однако для приблизительно 10 млн. пациентов показана инсулиновая терапия: они вынуждены ежедневно вводить в кровь препараты этого гормона. Начиная с двадцатых годов прошлого века для этих целей использовали инсулин, выделенный из поджелудочных желез свиней и телят. Животный инсулин в значительной степени аналогичен человеческому, однако между ними имеются и определенные отличия. Так, в молекуле инсулина свиньи в противовес человеческому в одной из цепей аминокислота треонин замещена аланином. Считается, что эти небольшие различия могут вызывать у отдельных пациентов серьезные осложнения (нарушение работы почек, расстройство зрения, аллергию). Кроме того, несмотря на высокую степень очистки, не исключена вероятность переноса вирусов от животных к людям. И, наконец, число больных диабетом растет так быстро, что обеспечить всех нуждающихся животным инсулином уже не представляется возможным. Заметим также, что это весьма дорогое лекарство.

Разработка технологии производства искусственного инсулина является поистине триумфом генетики. Сначала Ф. Сэнгер в 1955 году с помощью специальных методов определил строение молекулы этого гормона, состав и последовательность аминокислот в ней. В 1963 году молекулу инсулина синтезировали с помощью биохимических методов. Однако осуществить в промышленном масштабе столь дорогостоящий и сложный синтез, включающий 170 химических реакций, оказалось сложно.

Поэтому упор в дальнейших исследованиях был сделан на разработку технологии биологического синтеза гормона в клетках микроорганизмов, для чего использовали весь арсенал методов генетической инженерии. Зная последовательность аминокислот в молекуле инсулина, ученые рассчитали, какой должна быть последовательность нуклеотидов в гене, кодирующем этот белок, чтобы получилась нужная последовательность аминокислот. «Собрали» молекулу ДНК из отдельных нуклеотидов в соответствии с определенной последовательностью, «добавили» к ней регуляторные элементы, необходимые для экспрессии гена в прокариотическом организме *E.coli*, и встроили данную конструкцию в генетический материал этого микроба. В результате бактерия смогла вырабатывать две цепи молекулы инсулина, которые можно было в дальнейшем соединить с помощью химической реакции и получить полную молекулу инсулина.

Наконец, ученым удалось осуществить в клетках *E.coli* биосинтез молекулы проинсулина, а не только ее отдельных цепей. Молекула проинсулина после биосинтеза способна соответствующим образом преобразовываться (формируются дисульфидные связи между цепями А и В), превращаясь в молекулу инсулина. Эта технология имеет серьезные преимущества, поскольку различные этапы экстракции и выделения гормона сведены к минимуму. При разработке такой технологии была выделена информационная РНК проинсулина. Затем, используя ее в качестве матрицы, с помощью фермента обратной транскриптазы синтезировали комплементарную ей молекулу ДНК, которая представляла собой практически точную копию натурального гена инсулина. После пришивания к гену необходимых регуляторных элементов и переноса конструкции в генетический материал *E.coli* стало возможным производить инсулин на микробиологической фабрике, по сути, в неограниченных количествах. Его испытания показали практически полную идентичность натуральному инсулину человека. Он намного дешевле препаратов животного инсулина, не вызывает осложнений.

Другая, не менее трагическая проблема здоровья человека, связанная с нарушением работы желез внутренней секреции, – выраженное замедление роста детей, приводящее к появлению так называемых лилипутов, карликов. Это заболевание вызвано недостаточной секрецией гормона роста – соматотропина, который вырабатывается гипофизом (железой, расположенной в нижней части мозга). До середины 1980-х годов эту болезнь пытались лечить путем введения в кровь пациентов препаратов гормона роста, выделенных из гипофиза умерших людей. Нет смысла объяснять, насколько сложно получить необходимое для терапии количество такого гормона. Помимо чисто технических (в гипофизе содержится очень небольшое количество гормона), финансовых (препарат получается невыносимо дорогим), этических и прочих проблем, имеется риск переноса пациентам опаснейших заболеваний, например, хорошо известного синдрома Кройцфельда–Якоби – коровьего бешенства. Для достижения положительного результата лечения соматотропин вводят внутримышечно три раза в неделю в дозах порядка 6–10 мг на килограмм веса пациента с возраста 4–5 лет до половой зрелости и даже далее. Из одного трупа можно получить лишь 4–6 мг препарата. Поэтому даже разработанные на государственном уровне специальные программы по производству соматотропина в таких странах, как США, Великобритания, Франция, не могли полностью удовлетворить спрос на этот препарат. Так, в США в 70–80-е годы прошлого века

ежегодно выделяли гипофиз у 60 000 трупов. Полученного соматотропина хватало для адекватного лечения лишь 1500 детей в год.

Ген, кодирующий образование гормона роста человека, был синтезирован искусственно и встроен в генетический материал *E.coli* подобно гену инсулина. В настоящее время проблема производства высококачественного, безопасного для здоровья пациентов соматотропина в необходимых количествах и при минимальных затратах полностью решена. Более того, с помощью технологии рекомбинантных ДНК получены штаммы микроорганизмов, способные синтезировать и другие факторы роста человеческого организма. Для целей сельского хозяйства большое значение имела организация производства гормона роста крупного рогатого скота (впервые – американской фирмой Монсанто). Его применение позволяет значительно (до 15% и более) повысить удои коров. Сам ген, кодирующий образование соматотропина, пытаются использовать в генетической инженерии животных для выведения пород, способных ускоренно расти. Так, получены обнадеживающие результаты на рыбах. Лососи со встроеным геном гормона роста способны достигать потребительских размеров за один год вместо двух в отличие от обычных рыб.

Для производства «трансгенных» медицинских препаратов в настоящее время используют не только специальным образом модифицированные микроорганизмы, но и культуры животных клеток. Так, биосинтез рекомбинантного фактора VIII человеческой крови позволяет эффективно решать проблему лечения больных гемофилией (пониженная свертываемость крови). До этого фактор VIII выделяли из крови доноров, что связано с риском заражения пациентов вирусными инфекциями типа гепатита. Производство трансгенного эритропоэтина (гормона, стимулирующего образование красных кровяных клеток человека) помогает бороться с различными анемиями. Ранее наиболее эффективным методом лечения анемии считалось частое переливание донорской крови, обходившееся очень дорого и также связанное с рисками, названными выше.

Эти примеры можно продолжить. Следует добавить, что в настоящее время технология рекомбинантных ДНК позволяет получать более дешевые и безопасные вакцины для лечения опаснейших инфекционных заболеваний (гепатита, полиомиелита и др.). Во многих случаях получение подобных вакцин традиционными методами попросту невозможно. На основе генно-инженерных биотехнологий созданы более совершенные методы диагностики и лечения болезней человека. Именно с генетической инженерией человечество связывает свои надежды на решение проблемы лечения практически неизлечимых пока болезней: рака, СПИДа, шизофрении, болезни Альцгеймера; наследственных болезней: талассемии, болезни Хантингтона, фиброзного цистита и др.

3.2. Использование генно-инженерных организмов в сельском хозяйстве

Несмотря на впечатляющие достижения генетической инженерии в области медицины, наибольший резонанс в обществе вызвало применение ГМО для производства сельскохозяйственной продукции. Это и понятно. Проблемы медицины касаются в основном небольшой части населения, страдающего серьезными заболеваниями. Больной человек готов использовать любые средства для того, чтобы поправить свое здоровье. Поэтому он особо не задумывается над тем, каким образом получено лекарство. Важно, чтобы оно помогало лечить болезни, не вызывая осложнений. Созданная в цивилизованном мире система апробации новых лекарственных препаратов, предполагающая, среди прочего, многочисленные испытания на безопасность, в целом себя оп-

равдала и пользуется доверием потребителей, даже невзирая на отдельные, очень редкие трагические инциденты, связанные с использованием новых лекарств.

Иная ситуация с сельскохозяйственной продукцией. Ее проблемы затрагивают каждого из нас. Да и психология у здорового человека совсем другая, чем у больного, особенно если это касается его диеты. Любой новый, незнакомый для него продукт питания воспринимается с подозрением, возрастающим в случаях, когда распространяются слухи об опасности его для здоровья. Сейчас смешными кажутся нешуточные баталии, которые в свое время бушевали вокруг новых для европейцев продуктов – картофеля, кофе, кукурузы.

Тем не менее, люди вправе знать, какие преимущества по сравнению с традиционной селекцией растений имеет генетическая инженерия, какими новыми свойствами обладают продукты питания, полученные из трансгенных сортов, какие риски для здоровья человека и окружающей среды с ними связаны. Это необходимо для того, чтобы сделать осознанный выбор: есть или не есть. А в основе выбора всегда лежит оценка соотношения между пользой и вредом, преимуществами и недостатками технологии, продукта. Ведь абсолютно безвредных продуктов питания в природе не существует!

В связи с вышесказанным в настоящей книге основное внимание уделено именно генно-инженерным растениям и связанным с ними проблемам.

3.2.1. Что уже имеется. В таблице 3.1 представлен исчерпывающий перечень (по состоянию на март 2004 года) всех трансгенных сельскохозяйственных и декоративных культур, официально разрешенных к хозяйственному использованию.

В таблице 3.2 перечислены привнесенные признаки, продукты трансгенов (т.е. протеины, ферменты, образующиеся в результате функционирования добавленных в растения генов), а также источники, откуда соответствующие гены были выделены. Как видим, к использованию допущены сорта растений, относящиеся к 16 видам, обладающие 10 новыми признаками или их комбинацией. Заметим, что отдельные признаки, например толерантность к гербицидам, можно конкретизировать в зависимости от гербицида: толерантность к глифосату, глюфозинату, циклогексану, сульфониломочевине и т.д. Устойчивость к насекомым: колорадскому жуку, повреждающему картофель, личинкам мотыльков (европейский точильщик кукурузы, хлопковый коробочный червь, розовый коробочный червь хлопка и другие), корневым червецам на кукурузе и т.д.

На рисунке 3.1 показана динамика роста посевных площадей, занятых под трансгенными культурами в мире. Несложно заметить, что имеет место постоянный и весьма существенный ежегодный прирост. Если брать за точку отсчета 1996 год, первый год действительно значимого коммерческого использования ГИО, то речь идет об 1,7 млн. гектаров. Уже в 1997 году эта площадь увеличилась более чем в 6 раз (11 млн. гектаров). Быстро расширялся и ассортимент выращиваемых культур. К гербицидоустойчивым сое и кукурузе добавились хлопок, рапс, картофель и др. В пределах каждой из названных культур фигурируют формы, толерантные к разным гербицидам, а также устойчивые к насекомым, вирусам, с улучшенными качественными характеристиками. В 2003 году общая площадь «трансгенного клина» составила внушительную цифру – 67,7 млн. гектаров (для сравнения: все посевные площади Беларуси занимают около 5 млн. гектаров). То есть за 8 лет она увеличилась почти в сорок раз!

Где выращивают генно-инженерные сорта? В 2003 году 42,8 млн. гектаров (63% общей площади) было занято под трансгенными культурами в США. Далее следуют Аргентина – 13,9 млн. гектаров (21%), Канада – 4,4 млн. (6%), Бразилия – 3 млн. (4%), Китай – 2,8 млн. (около 4%) и Южная Африка – 0,4 млн. гектаров (около 1%). На эти 6 стран приходится 99% всех посевных площадей трансгенных культур. ГИО также вы-

ращивают в Индии, Австралии, Испании, Румынии, Болгарии, Германии, Мексике, Уругвае, Колумбии, Гондурасе, на Филиппинах и в Индонезии, всего в 18 странах, значительную долю среди которых составляют развивающиеся страны. Практически во всех перечисленных странах в 2003 году имел место значительный рост площадей под трансгенными культурами по сравнению с 2002 годом: в Китае и Южной Африке – 33%, в Канаде – 26, в США – 10, в Индии – 100, в Испании – 33%. Заметим, что Бразилия начала выращивать ГМО (сою, толерантную к гербицидам) именно в 2003 году и сразу на 3 млн. гектаров. И в дальнейшем эта страна планирует расширять площади под трансгенными культурами максимально возможными темпами [Crop Biotech Update Special Edition. 14 January 2004. Global Status of Commercialized transgenic Crops: 2003].

Таблица 3.1

Перечень допущенных к использованию в хозяйственной деятельности трансгенных сортов сельскохозяйственных растений (по AGBIOS)

Название культуры	Количество трансгенных «событий»	Фенотипический признак
Рапс аргентинский	3	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	1	Модифицировано содержание жирных кислот в семенах, особенно высокие уровни лаурата и образования миристиновой кислоты
	2	Модифицировано содержание жирных кислот в семенах, особенно высокое содержание олеиновой кислоты и низкое – линоленовой
	1	Устойчивость к оксиниловым гербицидам, включая бромоксинил и иоксинил
	5	Система контроля опыления: мужская стерильность/ восстановление фертильности; устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	2	Устойчивость к гербициду глифосату
Гвоздика	1	Увеличенный срок хранения благодаря снижению накоплению этилена путем введения усеченного гена аминокциклопропанциклазы синтазы; устойчивость к сульфонилмочевинным гербицидам (триасульфурону и метсульфуронметилу)
	2	Модификация окраски цветка; устойчивость к сульфонилмочевинным гербицидам (триасульфурону и метсульфуронметилу)
Цикорий	1	Мужская стерильность; устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
Хлопчатник	2	Устойчивость к чешуекрылым насекомым (мотылькам), включая (но не только) хлопковую совку, розового коробочного червя хлопчатника, совку <i>Heliothis virescens (tobacco budworm)</i> .
	1	Устойчивость к сульфонилмочевинным гербицидам (триасульфурону и метсульфуронметилу)
	1	Устойчивость к оксиниловым гербицидам, включая бромоксинил и иоксинил
	1	Устойчивость к чешуекрылым насекомым (мотылькам); устойчивость к оксиниловым гербицидам, включая бромоксинил
	1	Устойчивость к гербициду глифосату
	1	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
Лен	1	Устойчивость к сульфонилмочевинным гербицидам (триасульфурону и метсульфуронметилу)
Кукуруза	3	Устойчивость к гербициду глифосату
	1	Устойчивость к кукурузному корневному червю (чешуекрылые, виды <i>Diabrotica sp.</i>)
	2	Устойчивость к имидазолиновым гербицидам
	2	Устойчивость к европейскому кукурузному точильщику (мотыльку <i>Ostrinia nubilalis</i>); устойчивость к глифосатным гербицидам
	3	Устойчивость к имидазолиновым гербицидам (имазетапиру)

Название культуры	Количество трансгенных «событий»	Фенотипический признак
	1	Мужская стерильность; устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	3	Устойчивость к европейскому кукурузному точильщику (мотыльку <i>Ostrinia nubilalis</i>); устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	5	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	2	Устойчивость к европейскому кукурузному точильщику (мотыльку <i>Ostrinia nubilalis</i>) и гербициду глифосату
	2	Устойчивость к циклогексановым гербицидам (сетоксидину)
Дыня	1	Удлинение сроков созревания благодаря встраиванию гена, который приводит к деградации предшественника растительного гормона этилена
Папайя	1	Устойчивость к вирусной инфекции, к вирусу кольцевой пятнистости папайи (PRSV)
Рапс польский (турнепс)	1	Устойчивость к гербициду глифосату
	1	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
Картофель	1	Устойчивость к колорадскому жуку (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> , Say)
	1	Устойчивость к колорадскому жуку (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> , Say); устойчивость к (лютео) вирусу скручивания листьев картофеля (PLRV)
	1	Устойчивость к колорадскому жуку (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> , Say); устойчивость к Y вирусу картофеля (PVY)
Рис	1	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	1	Устойчивость к имидазолиновым гербицидам
Соя	1	Устойчивость к гербициду глифосату
	1	Модификация содержания жирных кислот в семенах, особенно высокая экспрессия олеиновой кислоты
	4	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	1	Модификация содержания жирных кислот в семенах (низкое содержание линоленовой кислоты)
Кабачки	1	Устойчивость к вирусной инфекции; вирусу 2 мозаики арбуза (WMV), вирусу желтой мозаики цуккини (ZYMV)
	1	Устойчивость к вирусной инфекции; вирусу мозаики огурцов (CMV), вирусу 2 мозаики арбуза (WMV), вирусу желтой мозаики цуккини (ZYMV)
Сахарная свекла	1	Устойчивость к фосфинотрициновым гербицидам (глюфозинату аммония)
	1	Устойчивость к гербициду глифосату
Табак	1	Устойчивость к оксиниловым гербицидам, включая бромоксинил и иоксинил
Томаты	1	Удлинение сроков созревания благодаря интродукции гена, который приводит к деградации предшественника растительного гормона этилена
	2	Удлиненный период хранения: плоды дольше сохраняют упругость благодаря подавлению активности фермента, расщепляющего пектин, – полигалактуроназы
	1	Удлинение сроков созревания благодаря интродукции гена, который приводит к деградации предшественника растительного гормона этилена
	1	Устойчивость к чешуекрылым насекомым (мотылькам), включая (но не только) хлопковую совку, розового коробочного червя хлопчатника, совку <i>Heliothis virescens</i> (tobacco budworm)
	1	Удлинение сроков созревания благодаря пониженному накоплению этилена из-за введения усеченного гена аминоциклопропанциклазы синтетазы

О перспективах выращивания генно-инженерных сортов красноречиво свидетельствуют цифры, характеризующие их долю в общей площади под конкретной культурой, занятой в мире в 2003 году. Для сои эта доля составляет 55%, для хлопка – 21, рапса – 16 и для кукурузы – 11 %. В целом для этих основных культур доля площади, занятой под трансгенными сортами, составляет четвертую часть (25%).

Таблица 3.2.

Генетические элементы (признаки), привнесенные в допущенные к использованию трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, и их происхождение (от каких организмов они взяты) (по AGBIOS)

Признак	Генетический элемент	Источник
1. Удлинение сроков хранения плодов	Полигалактуроназа	Томаты <i>Lycopersicon esculentum</i>
2. Задержка созревания	S-аденозилметионин гидролаза	Бактериофаг T3 <i>E. coli</i>
3. Задержка созревания	Синтаза 1-амино-циклопропан-1-углекислой кислоты	Гвоздика <i>Dianthus caryophyllus L.</i>
4. Задержка созревания	Синтаза аминоциклопропан циклазы	Томаты <i>Lycopersicon esculentum</i>
5. Задержка созревания	Деаминаза 1-амино-циклопропан-1-углекислой кислоты	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
6. Мужская стерильность	ДНК аденин метилаза	<i>E. coli</i>
7. Мужская стерильность	Рибонуклеаза барназы	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
8. Восстановление фертильности	“barstar” - ингибитор рибонуклеазы барназы	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
9. Устойчивость к гербицидам	5-энолпирувилшкимат-3-фосфат синтаза	<i>Agrobacterium sp.</i> CP4
10. Устойчивость к гербицидам	5-энолпирувилшкимат-3-фосфат синтаза	Кукуруза <i>Zea mays</i>
11. Устойчивость к гербицидам	Глифосфат оксидоредуктаза	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
12. Устойчивость к гербицидам	Фосфинотрицин N-ацетитрансфераза (<i>bar</i>)	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
13. Устойчивость к гербицидам	Фосфинотрицин N-ацетитрансфераза (<i>pat</i>)	<i>Streptomyces. viridochromogenes</i>
14. Устойчивость к гербицидам	Ацетолактат синтаза	Линия арабидопсиса <i>Arabidopsis thaliana</i> , устойчивая к хлорсульфурону
15. Устойчивость к гербицидам	Ацетолактат синтаза	Линия табака <i>Nicotiana tabacum</i> , устойчивая к сульфурону
16. Устойчивость к гербицидам	Ацетолактат синтаза	Химера 2 устойчивых генов AHAS (S4-Hr4)
17. Устойчивость к гербицидам	Нитрилаза	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozanae</i>
18. Устойчивость к насекомым	cry1F дельта-эндотоксин	<i>Bacillus thuringiensis var. aizawai</i>
19. Устойчивость к насекомым	cry9C дельта-эндотоксин	<i>Bacillus thuringiensis subsp. tolworthi</i>
20. Устойчивость к насекомым	cry1Ac дельта-эндотоксин	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki (Btk)</i>
21. Устойчивость к насекомым	cry3Bb1 дельта-эндотоксин	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kumamotoensis</i>
22. Устойчивость к насекомым	cry3A дельта-эндотоксин	<i>Bacillus thuringiensis subsp. Tenebrionis</i>
23. Устойчивость к насекомым	cry1Ab дельта-эндотоксин (<i>Btk</i> HD-1)	<i>Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki (Btk)</i>
24. Устойчивость к насекомым	Ингибитор протеазы	Картофель <i>Solanum tuberosum</i>
25. Измененный цвет	Дигидрофлавонол редуктаза	Петуния <i>Petunia hybrida</i>
26. Измененный цвет	Флавоноид 3p, 5p гидролаза	Петуния <i>Petunia hybrida</i>
27. Измененный цвет	Флавоноид 3p, 5p гидролаза	Фиалка <i>Viola sp.</i>
28. Измененный состав масла (жирных кислот)	Дельта-12 десатураза	Соя <i>Glycine max</i>
29. Измененный состав масла (жирных кислот)	Тиоэстераза	Калифорнийское лавровое дерево <i>Umbellularia californica</i>
30. Устойчивость к вирусу	Протеин оболочки вируса PRSV	вирус кольцевой пятнистости папайи (PRSV)
31. Устойчивость к вирусу	Протеин оболочки вируса ZYMV	(потти)вирус желтой мозаики цуккини (ZYMV).
32. Устойчивость к вирусу	Протеин оболочки (кукумо) вируса мозаики огурцов	Кукумовирус мозаики огурцов
33. Устойчивость к вирусу	Протеин оболочки (потти) вируса арбуза	(Потти) вирус арбуза
34. Устойчивость к вирусу	Протеин оболочки вируса PVY	штамм O (обычный штамм) Y вируса картофеля (PVY)
35. Устойчивость к вирусу	Геликаза	(Лютео) вирус скручивания листьев картофеля (PLRV).
36. Устойчивость к вирусу	Репликаза (РНК зависимая РНК полимераз)	(Лютео) вирус скручивания листьев картофеля (PLRV)

Что же заставляет 7 млн. фермеров на всех континентах стремиться выращивать именно генно-инженерные сорта растений. Прежде всего, конечно же, рост доходов за счет снижения издержек производства и увеличения продуктивности растений. Так, в 2002 году трансгенные сорта дали сельскохозяйственной продукции на 1,8 млрд. тонн больше, чем обычные сорта на тех же площадях. При этом пестицидов использовано на 21 тыс. тонн меньше, а доходы увеличились на 1,5 млрд. долларов США [Crop Biotech Update Special Edition. 14 January 2004. Global Status of Commercialized transgenic Crops: 2003].

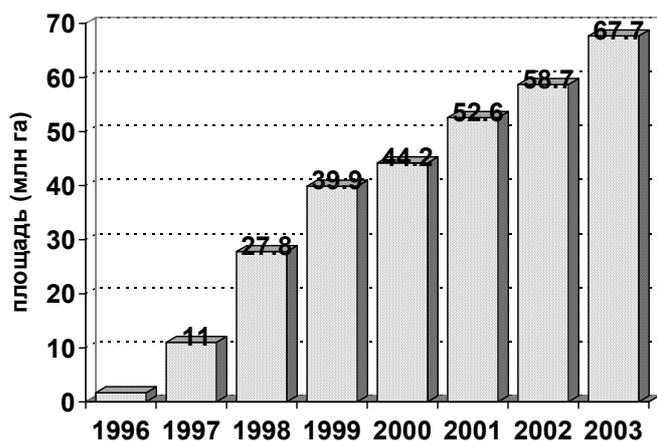


Рис. 3.1. Динамика роста посевных площадей, занятых под трансгенными культурами в мире.

гербицидам, позволяет перейти на щадящий беспашотный метод обработки почвы. Это, а также использование сортов с избирательной устойчивостью к насекомым-вредителям в условиях снижения интенсивности применения инсектицидов увеличивает биоразнообразие. На полях, занятых трансгенными сортами, отмечено увеличение численности популяций птиц, полезных насекомых.

Это все реальность. Можно сказать, что значительная часть населения мира «приняла» ГИО в качестве важного источника улучшения своего благосостояния. Приведенная выше информация убедительно подтверждает это заключение, а за общими цифрами стоят конкретные факты. Рассмотрим их.

3.2.2. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, толерантные к гербицидам. Одной из основных проблем сельскохозяйственного производства является борьба с сорняками. В индустриально развитых странах наряду с агротехническими мероприятиями (обработка почвы) для этих целей широко применяются гербициды, т.е. химические препараты, способные тотально или избирательно подавлять рост растений. Разработаны два способа использования гербицидов. Их применяют перед посадкой или севом растений, внося в почву или опрыскивая тронувшиеся в рост сорняки. Однако этот способ не может в полной мере решить проблему, поскольку сорняки могут появляться и после всходов основной культуры, и в ходе всего периода вегетации. Кроме того, вносимые в почву гербициды, как правило, длительное время разлагаются, загрязняя окружающую среду. Другой способ – обработка гербицидами вегетирующих растений. Он более эффективен, так как позволяет защищать посевы в течение всего сезона. Однако при использовании гербицидов тотального действия возникают серьезные проблемы защиты культурных растений, не устойчивых к этим гербицидам. Для этого созданы специальные приспособления, позволяющие смачивать гербицидом более высокие сорные растения, не затрагивая культурные. Эта процедура значительно упрощается, если в распоряжении растениевода имеются сорта растений,

Кроме финансовой прибыли выращивание ГИО несет ощутимые социальные и экологические выгоды. Сокращение обработки полей пестицидами и отказ от вспашки уменьшает интенсивность эксплуатации сельскохозяйственной техники и соответственно расход топлива и выбросы углекислого газа в атмосферу. Благодаря использованию менее вредных для окружающей среды гербицидов снижается химическая загрязненность воды и почвы. Предотвращается эрозия почвы, поскольку использование ГМ растений, устойчивых к

устойчивые к используемому гербициду. С помощью традиционной селекции вывести такие сорта весьма сложно. В частности, нет сортов сельскохозяйственных растений, толерантных к наиболее широко используемым гербицидам тотального действия: глифосату и глюфозинату.

Генетическая инженерия эту проблему решает довольно просто. Достаточно перенести в генетический материал растения нужный ген от устойчивых к гербицидам микроорганизмов. Ученые, изучая механизм действия гербицидов, выяснили, что чаще всего они воздействуют на один какой-либо важный для метаболизма растений фермент, связываясь с ним и таким образом ослабляя его активность. Это приводит к серьезным нарушениям роста и развития обработанных гербицидом растений, и они погибают. Среди бактерий легко можно обнаружить устойчивые генотипы, высеивая их на питательную среду, в которую добавляют гербицид.

Было показано, что толерантность к гербицидам обусловлена, как правило, мутацией одного определенного гена. Известно два основных механизма устойчивости. Первый из них, получивший название «мутация мишени» (мишень – фермент, на который действует гербицид), связан с изменением последовательности аминокислот в той области молекулы фермента, в которой происходит его связывание с гербицидом. В результате гербицид «не узнает» свою мишень, фермент сохраняет активность, а организм становится толерантным к действию гербицида. Описанный механизм характерен для устойчивости к таким гербицидам, как глифосат (хорошо известный Раундап), сульфонилмочевина, имидазолинон и др. Второй механизм связан с выработкой у устойчивых организмов ферментов, способных дезактивировать гербицид, например, путем присоединения к нему какого-либо химического радикала (ацетильной группы, нитрата и т.д.). Этот механизм действует у организмов, устойчивых к гербициду глюфозинату аммония (фирменные названия препарата: Либерти, Баста, Финал).

Среди всех трансгенных культур гербицидоустойчивые формы составляют подавляющее большинство. Так, в 2003 году в мире под ними было занято 73% площади, засеянной генно-инженерными сортами, или 49,7 млн. гектаров. Еще 8% общей площади было занято трансгенными сортами, обладающими устойчивостью к гербицидам в сочетании с устойчивостью к насекомым-вредителям. Эта ситуация объясняется следующими факторами. Во-первых, устойчивость к гербицидам – очень важный для сельскохозяйственной культуры признак, позволяющий существенно снизить издержки производства за счет более эффективного контроля над сорными растениями. Во-вторых, благодаря относительно простому характеру генетического контроля этого признака, хорошей изученности соответствующих генов получать гербицидоустойчивые ГИО намного проще, чем, скажем, устойчивые к засухе или засолению. И наконец, не следует забывать, что первые генно-инженерные исследования в основном финансировались крупнейшими транснациональными компаниями, специализирующимися на производстве названных выше пестицидов. Естественно, они были заинтересованы прежде всего в создании сортов растений, устойчивых к их продукции.

Рассмотрим подробнее, что из себя представляют некоторые из трансгенных культур, толерантных к гербицидам.

Безусловным лидером среди всех трансгенных культур является соя, устойчивая к гербициду глифосату. Появление генетически модифицированных сортов, можно сказать, произвело настоящую революцию в технологии возделывания сои. Дело в том, что культурная соя развивается на ранних этапах вегетации весьма медленно. Да и конкурентоспособность взрослых растений тоже невысока. Это означает, что без применения гербицидов получить приемлемый урожай этой важнейшей сельскохозяйственной культуры практически невозможно.

Гербицид глифосат (Раундап) относится к гербицидам тотального действия. Его «мишенью» в растении является фермент 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтетаза (EPSPS), который играет важную роль в синтезе ароматических аминокислот (тирозина, фенилаланина и триптофана). Под действием гербицида у неустойчивых к нему растений наблюдаются симптомы азотного голодания (из-за недостатка названных аминокислот – «строительного материала» для синтеза белков), и они погибают в течение двух недель. Заметим, что глифосат относится к гербицидам нового поколения, относительно безопасным для здоровья человека и окружающей среды. Ведь его «мишень» есть только у растений, грибов и бактерий и отсутствует у животных. Поэтому его токсичность для человека даже ниже, чем поваренной соли. Кроме того, глифосат относительно быстро (приблизительно в течение недели) разрушается после попадания на растения или почву.

У некоторых бактерий обнаружены гены, кодирующие EPSPS, которые несут точковую мутацию (очень незначительное изменение в молекуле ДНК). Результатом мутации является замена одной аминокислоты в области фермента, в которой происходит его связывание с гербицидом глифосатом. Поэтому гербицид теряет способность дезактивировать такой мутантный фермент, и бактерия приобретает устойчивость к его действию. Выделено и клонировано несколько генов EPSPS с «мутацией мишени»: *aro A* от бактерий рода *Aerobacter*; *sml* от *Salmonella*; *cp4* от *Agrobacterium*.

В выращиваемых во всем мире трансгенных коммерческих сортах сои встроены именно последний из названных мутантных генов (т.е. ген *cp4* от почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* CP4). Генетическая конструкция, созданная с помощью технологии рекомбинантных ДНК для переноса этого гена в растения, содержит также промотор CaMV35S от вируса мозаики цветной капусты, терминальную последовательность от гена *nos* нопалинсинтетазы *A. tumefaciens* и небольшую последовательность от петунии, кодирующую хлоропластный транзитный пептид, необходимый для доставки мутантного EPSPS к хлоропластам – месту синтеза ароматических аминокислот в клетке (молекула пептида в отличие от белков-полипептидов представляет собой короткую цепочку аминокислот). Для переноса этой конструкции в генетический материал сои использован метод «бомбардировки» клеток с помощью «генной пушки». Как видим, в полученной трансгенной сое отсутствуют селективные гены устойчивости к антибиотикам, поскольку сам ген устойчивости к глифосату можно использовать в качестве селективного. Около тысячи различных сортов устойчивой к глифосату сои, выращиваемой на разных континентах, получены с помощью традиционной селекции, в которой использовано в качестве источника мутантного EPSPS гена одно-единственное генно-инженерное растение с описанной выше генно-инженерной модификацией.

Таким образом, ГМ сорта сои отличаются от обычных только тем, что у них образуются два типа одного и того же фермента EPSPS. Первый – свой собственный, который может связываться с гербицидом, и второй – привнесенный от бактерии, который не связывается с гербицидом. Именно наличие последнего делает эти сорта устойчивыми к действию глифосата, поскольку он сохраняет им жизнь после обработки посевов гербицидом. Уже тот факт, что бактериальный EPSPS способен выполнять функции растительного аналога, говорит об их значительном сходстве, в том числе и в смысле безопасности для здоровья человека. Второй новый элемент – хлоропластный транзитный пептид, который доставляет трансгенный EPSPS к хлоропластам и который представляет собой короткую цепочку аминокислот, быстро разрушающуюся в процессе переваривания пищи.

3.2.3. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, устойчивые к насекомым-вредителям. Второй ключевой проблемой растениеводства является повышение эффективности контроля численности насекомых-вредителей (и других паразитов,

например клещей) сельскохозяйственных культур. Для этих целей чаще всего используют пестициды – химические либо биологические (препараты, полученные на основе микроорганизмов, вырабатывающих токсичные для насекомых вещества). Использование последних предпочтительнее с точки зрения безопасности для здоровья человека и окружающей среды. Однако эффективность химических средств защиты растений остается намного выше, чем биологических.

Из биопестицидов широко используется так называемый Vt-токсин (синонимы: Vt-протеин, кристаллический протеин, дельта-эндотоксин), который получают на микробиологических предприятиях путем культивирования почвенных бактерий – *Bacillus thuringiensis*. Названные бациллы были описаны в начале прошлого века, а в тридцатые годы установлено, что они способны вырабатывать токсичные для насекомых продукты, обладающие, что очень важно, высокой избирательностью действия. Это означает, что Vt-протеин, выделенный от одного определенного штамма бациллы, способен убивать какой-либо конкретный вид насекомых, например жуков, и не действует на других насекомых, например бабочек, пчел и т.д. Избирательность обусловлена специфическим механизмом токсичности Vt-протеина. При попадании препарата в пищеварительный тракт чувствительного к нему насекомого он претерпевает изменения: под действием определенного протеолитического фермента в щелочной среде (рН 7,5–8,0) от исходной молекулы протеина отделяется небольшая часть (приблизительно равная одной трети молекулы), представляющая собой активную форму этого белка. Только она способна прикрепляться к специфическим рецепторам в средней части пищеварительного тракта насекомого и вызывать лизис (растворение) клеток, который приводит к образованию пор. Насекомое перестает питаться, происходит обезвоживание организма и, в конце концов, наступает смерть. У нечувствительных к определенным препаратам Vt-протеина насекомых описанные процессы не происходят, и Vt-протеин у них просто переваривается.

Естественно, Vt-протеин не представляет угрозы для теплокровных животных и человека, поскольку пищеварительный тракт у них устроен иначе, чем у насекомых, у них другие протеолитические ферменты. Более того, Vt-протеин – весьма нестойкий белок, который легко денатурирует при нагревании, в кислой среде желудка, быстро переваривается желудочным соком (лишь разбавление желудочного сока в тысячу раз позволило построить кривую его деградации во времени: уже через десять минут от него не оставалось и следов). В остром эксперименте на мышах (15 дней скармливания Vt-протеина в дозах до 5 г на 1 кг веса) не установлено никаких отклонений в здоровье опытных особей. За почти сорокалетнюю историю использования препаратов на основе Vt-протеина не отмечено ни одного случая аллергий или его токсичности для людей, в том числе сотрудников предприятий, на которых его производят.

Начиная с 1960-х годов биопрепараты на основе Vt-протеина весьма широко используются в сельском и лесном хозяйстве для борьбы с насекомыми-вредителями. Их можно купить в хозяйственном магазине для применения на дачном участке (препараты Битоксибациллин, Лепидоцид, Колептерин, Дендролин, Бацитурин и др.). К несомненным достоинствам этих препаратов следует отнести прежде всего полную безопасность для здоровья человека (не токсичен, не вызывает аллергии), а также для окружающей среды (высокая избирательность действия, легко смывается с листьев, быстро разрушается под действием ультрафиолетовых лучей, не способен накапливаться в растении и почве). Обладая отмеченными достоинствами, биопрепараты одновременно имеют существенный недостаток, снижающий их эффективность: они способны защитить растение только на очень короткое время.

Решение этой проблемы стало возможным благодаря использованию генетической инженерии. Бактериальный ген, ответственный за выработку Vt-протеина, был

выделен из ДНК бактерий, клонирован, в некоторых случаях существенно модифицирован, вплоть до искусственного синтеза отдельных его активных фрагментов, соединен с необходимыми регуляторными элементами и встроен в различные виды сельскохозяйственных растений. Чаще всего используют такие варианты Vt-генов, как *cryIA(b)* от *B.thuringiensis v.kurstaki* (для кукурузы), *cryIA(c)* от *B.thuringiensis v.kurstaki* (для хлопка), *cryIIIa* от *B.thuringiensis v.Tenebrionis* (для картофеля).

Особенно высокая эффективность трансгенного Vt-протеина отмечена на кукурузе и хлопке. Дело в том, что вредители этих культур – личинки мотыльков европейского точильщика кукурузы, хлопкового коробочного и розового коробочного червеца – обитают на поверхности растения совсем короткое время. Затем они внедряются в ткани растения и прогрызают там ходы, нанося, таким образом, существенный урон здоровью растений и урожаю. Поскольку у трансгенных сортов Vt-протеин образуется во всех зеленых тканях растения и присутствует там постоянно, то это позволяет растению защищать себя от вредителей на протяжении всего периода вегетации. При этом трансгенный Vt-протеин высокоэффективен в исключительно низких концентрациях. Так, если скосить всю зеленую массу кукурузы в период цветения с площади в 1 гектар и выделить из нее Vt-протеин, то получим его только 8–16 г. В конце сезона эта цифра еще меньше – 0,8 г. В зрелом зерне и в силосной массе Vt-протеина нет вообще: его невозможно обнаружить даже с помощью самых чувствительных аналитических методов.

Говоря о ГМ сортах, устойчивых к насекомым-вредителям, следует отметить одну важную деталь. Все они являются более совершенными продуктами генетической инженерии по сравнению с первыми гербицидоустойчивыми формами. При их создании, в частности, использованы более точные механизмы регулирования активности трансгенов за счет применения не вирусных промоторов, а растительных. Так, в Vt-кукурузе использован промотор гена фосфоенолпируваткарбоксилазы самой же кукурузы, который обеспечивает экспрессию (активность) Vt-генов исключительно в зеленых тканях растения (листьях, стебле). Именно благодаря этому нет Vt-протеина в зрелом зерне и силосе. Для создания Vt-картофеля использован другой промотор – *ats 1A* малой субъединицы рибулозо-1,5-бифосфаткарбоксилазы любимого генетиками модельного растения *Arabidopsis thaliana* (мелкий сорняк из семейства крестоцветных). Vt-ген, регулируемый фоточувствительным промотором, экспрессируется на свету в 100 раз сильнее, чем в темноте. Соответственно в клубнях Vt-протеина образуется в 100 раз меньше, чем в листьях. Если быть точным, речь идет о 0,09–0,053 мкг Vt-протеина на 1 г сырого веса клубней. Таким образом, чтобы потребить суточную дозу Vt-протеина, которую скармливали мышам в остром эксперименте (без каких-либо отрицательных последствий для их здоровья), о котором говорилось выше, человеку весом 70 кг необходимо съесть за сутки как минимум 700 тонн клубней!

Как свидетельствуют эти красноречивые данные, ни трансгенный картофель, ни трансгенная кукуруза не содержат в своем урожае продукта привнесенного им бактериального гена. То есть они полностью идентичны по своим потребительским свойствам сортам, полученным методами традиционной селекции.

3.2.4. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений, устойчивые к вирусным болезням. Вирусные болезни являются причиной весьма значительных потерь урожая для целого ряда культур, в первую очередь тех, которые размножаются вегетативно (клубнями, черенками, луковичками, прививкой), а также тыквенных, томатов и некоторых других. В связи с этим разработка принципиально новых подходов в борьбе с вирусными болезнями представляет большой практический интерес. Современные генно-инженерные технологии создания устойчивых к вирусам сортов растений основаны на использовании известного с незапамятных времен метода, получившего название перекрестной защиты (*cross protection*). Он основан на явлении повышенной

устойчивости растений к агрессивным формам какого-либо вируса при условии, что оно было ранее заражено менее вредоносной формой того же самого вида вирусов. Механизм этого явления точно не выяснен, однако его достаточно широко используют в Японии для защиты томатов от поражения вирусами томатной и огуречной мозаики, в Бразилии для защиты цитрусовых (*citrus tristera closterovirus*), папайи (*ringspot potyvirus*), кабачков цуккини и т.д.

В 1986 году Р. Powell-Abel с сотр. впервые получили устойчивые к мозаичному тобамовирусу растения табака в результате переноса в их генетический материал гена этого вируса, кодирующего образование белка оболочки (coat protein – CP). С тех пор этот подход был успешно апробирован на более чем 30 видах растений с более чем 50 вирусными CP. Позднее оказалось, что аналогичный и даже иногда лучший результат достигается при использовании не CP-трансгенов, а генов, кодирующих другие протеины вирусов (гены ферментов репликазы, РНКазы и др.).

Для генетической инженерии вирусоустойчивых форм в целях безопасности используют CP-гены, которые предварительно модифицируют таким образом, чтобы они не могли переноситься от растения к растению, либо выделяют CP-гены из таких естественных «нетрансмиссибельных» штаммов. Также оперируют генами от штаммов, не способных инфицировать растения в естественных условиях, либо манипулируют укороченными CP-генами, которые кодируют образование дефектных, нефункционирующих CP-протеинов. Оказалось возможным обеспечение защиты от вирусов даже в тех случаях, когда встроен настолько дефектный CP-ген, что образовавшаяся при его считывании информационная РНК не способна к трансляции, т.е. к синтезу соответствующего CP-протеина.

Из всего разнообразия полученных вирусоустойчивых форм для коммерческого использования допущено сравнительно немного: папайя, устойчивая к вирусу пятнистости, две формы цуккини, устойчивые к нескольким вирусам, и сорта картофеля с комплексной устойчивостью к колорадскому жуку (Vt-ген) и к одному из вирусов картофеля: игрек вирусу (PVY) или вирусу скручивания листьев (PLRV).

Заметим, что описанная генно-инженерная технология защиты растений от вирусов позволяет получать сорта, в значительной мере идентичные по своим потребительским качествам сортам традиционной селекции. Мы, можно сказать, имеем уже длительную историю безопасного потребления продуктов трансгенов CP-протеинов, поскольку названные вирусные протеины постоянно присутствуют в пище из картофеля, кабачков и пр. Более того, в обычных сортах концентрация этих белков может быть в десятки, а то и сотни раз выше, чем у трансгенных форм: ведь они-то не устойчивы к вирусам и поэтому накапливают их в своих тканях.

3.2.5. Трансгенные сорта сельскохозяйственных растений с улучшенными качественными характеристиками. Это группа исключительно ценных для потребителя форм, при получении которых не используются чужеродные гены. Добавляя в генетический материал растения дополнительные копии определенных генов, выделенных из собственной ДНК растения, можно добиться существенного ослабления активности этих генов. В свою очередь это может привести к изменению качественных характеристик того продукта, в генетическом контроле биосинтеза которого задействованы данные гены.

Так, для качества растительного масла исключительно важное значение имеет соотношение в нем различных жирных кислот. В ассортименте допущенных к использованию трансгенных сортов имеется ряд форм масличных культур с улучшенным составом масла. Среди них следует назвать, например, сою, которой добавили дополнительную копию гена фермента десатуразы, в результате чего ее собственный ген десатуразы «замолчал». Это привело к снижению в соевом масле уровня полиненасыщен-

ных жирных кислот (линолевой и линоленовой) и компенсационному увеличению уровня мононенасыщенной жирной кислоты (олеиновой) до 80% – больше, чем в оливковом масле; в немодифицированной сое ее уровень был всего 23%. Полученное масло заметно превосходит по потребительским свойствам масло сои традиционных сортов, в частности, оно более стабильно при нагревании, сохраняет привлекательный для потребителя жидкий вид (не загустевает).

Второй интересный пример использования явления «замолкания генов» – создание сортов трансгенного картофеля с улучшенным качеством крахмала. Крахмал, выделенный из обычных сортов картофеля, содержит две основные формы этого полисахарида: ветвистый – амилопектин и неветвистый – амилоза. Чем больше амилопектина и меньше амилозы, тем выше качество крахмала. Генно-инженерный сорт картофеля с повышенным качеством крахмала был создан путем добавки дополнительной копии гена амилозы (в перевернутом по отношению к промотору виде – в форме так называемой антисмысловой конструкции). В результате уровень менее ценной амилозы в крахмале трансгенного сорта снизился практически до нуля.

Аналогичную «антисмысловую» генетическую конструкцию использовали и при создании трансгенного сорта томатов FLAVR SAVR с удлинённым периодом хранения плодов. Обычно в процессе созревания плоды томатов вскоре после покраснения постепенно теряют упругость, становятся мягкими и загнивают. Причиной этого является образование фермента полигалактуроназы, который деградирует пектин, находящийся в межклеточном пространстве плода. При создании трансгенного сорта была использована антисмысловая конструкция названного гена. В результате у полученного сорта образуется меньше полигалактуроназы, благодаря чему спелые помидоры в течение продолжительного времени сохраняют товарный вид.

При создании трансгенного рапса с улучшенным составом масла был использован более традиционный для генетической инженерии подход горизонтального переноса генов от неродственных видов. В генетический материал рапса был «подсажен» ген тиоэстеразы от калифорнийского лаврового дерева. В результате трансгенный сорт приобрел способность образовывать масло, в котором появились не свойственные для рапса лавровая и миристиновая жирные кислоты. Такое масло по качеству приблизилось к наиболее ценным растительным маслам: пальмовому и кокосовому.

3.2.6. Получение трансгенных гетерозисных гибридов сельскохозяйственных растений на основе системы мужской стерильности/восстановления фертильности. Гетерозисные гибриды, полученные в результате скрещивания специально подобранных родительских форм, прочно вошли в нашу жизнь. Такие гибриды превосходят родителей по урожайности, устойчивости к болезням и неблагоприятным факторам среды, выравненности всходов. Любой огородник вполне осознанно предпочитает покупать именно гибридные семена томатов, перца, огурцов, капусты. Несмотря на то что делать это приходится каждый год (семена собственного производства резко снижают свои потребительские показатели), все равно затраты окупают себя с лихвой.

Но мало кто знает, как сложно получать такие гибридные семена. Ведь для этого необходимо полностью исключить попадание пыльцы материнских форм на пестик собственного цветка. Иначе получатся не гибридные, а самоопыленные семена, которые могут дать в два и более раз менее продуктивное потомство. Чтобы упростить процедуру получения гибридных семян, применяют специальные генетические подходы для селекции мужски стерильных линий, которые можно спокойно использовать в скрещиваниях в качестве материнских форм, не беспокоясь, что произойдет самоопыление. С середины 30-х годов прошлого века для этих целей стали использовать цитоплазматическую мужскую стерильность (ЦМС), возникновение которой обусловлено специфическим взаимодействием генов ядра и цужеродной цитоплазмы клетки.

Однако не для всех культур удалось создать адекватные системы ЦМС, да и сама система размножения таких линий оставалась весьма сложной и не всегда эффективной.

Генетическая инженерия внесла весомый вклад в решение этой проблемы. Для создания мужски стерильных трансгенных линий растений было предложено использовать ген *barnase* от бактерии *Bacillus amyloliquefaciens*, который кодирует образование фермента РНКазы, участвующего в расщеплении молекул РНК. Благодаря тканеспецифическому промотору РТА29 от табака этот фермент образуется у трансгенного растения только в одном месте (в пыльнике) и только в одно время (во время цветения). Результат предсказать несложно: деградация РНК в тканях пыльника означает отсутствие синтеза белка и в конечном итоге – образование нежизнеспособной пыльцы. Для облегчения процедуры размножения таких линий ген *barnase* был скооперирован в одной генетической конструкции с геном устойчивости к гербициду глюфофизинату, который к тому же выступал в качестве селективного гена при осуществлении генетической трансформации.

Если опылять растения такой мужски стерильной линии пыльцой специально подобранной линии традиционной селекции, дающей при скрещивании гетерозисное потомство, то действительно можно без проблем получить гибридные семена, поскольку самоопыление материнских форм исключено. Однако само гетерозисное потомство получится мужски стерильным, что совсем нежелательно. Поэтому в качестве опылителя используют такую же линию, но несущую трансген *barstar* от той же бактерии *Bacillus amyloliquefaciens*. Этот ген кодирует образование фермента-ингибитора РНКаз, благодаря чему у гибридов восстанавливается фертильность пыльцы.

Именно используя систему трансгенных линий с этими двумя бактериальными генами, удалось создать целый ряд коммерческих сортов рапса, которые представляют собой гетерозисные гибриды F₁

Что привлекает в этой интересной разработке? Прежде всего, высокое качество конструирования трансгенных плазмид. Особенно поражает высочайшая точность регулирования активности работы трансгенов: строго в определенном месте и в определенное время. В результате в растении после цветения вовсе не остается продуктов трансгенов (цветы со своими пыльниками отцвели и осыпались), а полученная продукция (рапсовое семя, рапсовое масло, зеленая масса) полностью идентична по потребительским свойствам продукции, полученной от аналогичных сортов традиционной селекции.

3.2.7. Что нас ждет в ближайшем будущем. Выше приведены примеры только коммерческих сортов трансгенных растений, т.е. сортов, получивших официальное разрешение на использование в хозяйственной деятельности. В то же время научные исследования в этой области ведутся по целому ряду перспективных направлений. Уже получены интересные результаты, следовательно, в ближайшем будущем можно ожидать появления новых, невиданных сортов с новыми возможностями. Прежде всего, большое внимание уделяется повышению эффективности борьбы с болезнями растений. Упор при этом делается на создание устойчивых к болезням сортов сельскохозяйственных растений. Используются два подхода. Во-первых, выделены, клонированы и перенесены в генетический материал растений многочисленные гены, связанные со стимуляцией неспецифического (т.е. не направленного против определенного патогена) иммунитета растения. Для этого применяют гены ферментов амилаз, хитиназ, полифенолоксидаз, пероксидаз, а также фитоалексинов и лизозимов, лектинов и др. Второй подход основан на выделении и клонировании мощных генов устойчивости к болезням от диких видов. Так, недавно американским ученым удалось перенести ген устойчивости к самому опасному заболеванию картофеля – фитофторозу от дикого вида картофеля *Solanum bulbocastanum* к широко используемому, но не устойчивому к этому

патогену сорту Катадин. Благодаря этой технологии появилась возможность существенно повысить фитотроустойчивость многих проверенных сортов картофеля. В принципе ценные гены от диких видов можно использовать и с помощью методов традиционной селекции. Но лишь генетическая инженерия позволяет улучшать отдельные сорта целенаправленно, добавляя отдельные гены и не изменяя остальных характеристик сорта. Это особо актуально для таких высокогетерозиготных культур, как картофель, для которого любое скрещивание в ходе традиционной селекции сопровождается полным изменением исходного генотипа.

Следующее важное направление генетической инженерии – селекция сортов, устойчивых к стрессовым факторам среды: засухе, жаре, холоду, повышенному засолению почвы. Поскольку все эти стрессы относятся к разряду осмотических, то и подходы по всем этим направлениям общие. Идет работа над выделением, клонированием и переносом в растения трансгенов, кодирующих образование различных осмопротекторов (ионов, протеинов, аминокислот, сахаров, полиаминов), регулирующих содержание ненасыщенных жирных кислот в мембранах клеток и т.д.

Оказывается, с помощью генетической инженерии можно повышать урожайность сельскохозяйственных растений, несмотря на то, что этот признак является полигенным, т.е. определяется активностью очень большого количества генов. Тем не менее, можно найти и применять отдельные гены, продукты которых позволяют существенно усилить процессы роста и в итоге повысить продуктивность растения. Так, встраивание в геном картофеля гена фитохрома В от арабидопсиса приводило к повышению интенсивности фотосинтеза и увеличению урожая клубней. По данным российских ученых из Иркутского университета, перенос в геном картофеля гена, кодирующего образование фермента УДФГ трансферазы созревающего зерна кукурузы, сопровождался усилением биосинтеза ростовых фитогормонов, что позволяло повысить урожай клубней в два раза, уровень сухих веществ в клубнях до 27% (у обычных менее 20%), аскорбиновой кислоты до 9%. Разрезанные клубни не темнели на воздухе. Всходы от таких клубней появлялись на 7–10 дней раньше, чем у обычных сортов. Применение этого же гена для генетической модификации томатов позволило достичь урожая плодов в теплице до 32 кг, а в сочетании с другими генами – даже 46 кг с квадратного метра (у немодифицированных растений урожай составил 20,7 кг с квадратного метра).

Интенсивное использование традиционных генно-инженерных подходов характерно для повышения качественных и потребительских свойств сельскохозяйственной продукции. Ведутся работы и получены обнадеживающие результаты, связанные с созданием кофе без кофеина, табака без никотина (когда рукопись готовилась к печати, первый сорт табака с пониженным содержанием никотина был официально допущен к использованию в хозяйственной деятельности), арахиса, не содержащего характерных для него аллергенов. Большой резонанс в обществе вызвала разработка швейцарских ученых, посвященная созданию так называемого «золотого» риса. Им удалось создать и перенести в растения риса генетическую конструкцию, содержащую сразу три гена от разных организмов, необходимых для биосинтеза каротина (провитамина А). Это гены фитоендесауразы и ликопин β -циклазы от нарцисса и ген каротиндесауразы от бактерий. В результате растения риса приобрели способность синтезировать каротин, концентрация которого в зерне достигала 1,6–2 мкг на 1 г сырой массы. Конечно, этого недостаточно, чтобы в полной мере решить проблему ослабленного зрения детей Юго-Восточной Азии, вызванную дефицитом витамина А в продуктах питания. Для этого детям 4–6 лет необходимо ежедневно съедать порядка 1,2 кг «золотого риса», что нереально. Тем не менее, первый шаг в этом направлении сделан, и полученные результаты действительно открывают широкие перспективы в решении названной проблемы.

Идея использования трансгенных растений в качестве «биореакторов» для производства различных ценных для фармакопии соединений, так называемых рекомбинантных протеинов, постоянно привлекает внимание ученых. Японским исследователям удалось получить растения картофеля и табака с встроенным геном человеческого интерферона альфа, который применяют для лечения человека от гепатита С и некоторых форм рака. Созданы растения табака с человеческим интерлейкином 10 (стимулятор иммунитета), растения арабидопсиса, синтезирующие витамин Е, и т.д. Преимущества таких «биофабрик» очевидны. Можно производить ранее очень редкие и дорогие вещества в практически неограниченных количествах. При этом не стоит проблема их тщательной очистки, как в случае с ГМ микроорганизмами. Да и возможности растений по сравнению с микроорганизмами для биосинтеза специфических для высших организмов веществ намного шире, поскольку растения намного ближе к ним в эволюционном плане. Отсутствуют риски переноса скрытых инфекций, характерные для традиционных методов производства некоторых препаратов путем выделения из трупного материала, из органов животных или донорской крови.

Значительный интерес представляет использование трансгенных растений в целях получения съедобных вакцин для повышения устойчивости людей к опасным заболеваниям. Для этого предлагается достаточно простая схема. В генетический материал растения переносят небольшой фрагмент ДНК какого-либо патогена (чаще всего вируса). В результате в плодах такого трансгенного растения образуется определенный протеин, характерный для патогена (сам по себе он не может вызвать заболевание). При поедании этот протеин может достигать тонкого кишечника, где происходит его всасывание в кровь. Здесь он выступает в качестве чужеродного агента – антигена, к которому организм благодаря естественному механизму иммунитета вырабатывает соответствующие антитела. Теперь в случае попадания в организм активных вирусных частиц их ждет уже созданная система обороны, которая способна их обезвреживать. Используя описанную стратегию, удалось, например, получить растения бананов, поедание плодов которых индуцирует образование антител к вирусам папилломы, которые могут вызывать у людей некоторые формы рака.

Направления использования трансгенных растений могут быть совершенно неожиданными. Так, предлагается применять их для очистки почвы от загрязнений нефтью и тяжелыми металлами. Для этого в них встраивают соответствующие гены от микроорганизмов, способных утилизировать и деградировать эти вещества. В царстве микробов такие формы – не редкость. Самое удивительное, что растения табака с подобными свойствами уже получены. На очереди – создание ГМ растений, которые можно использовать непосредственно в практической деятельности, например различных древесных пород.

Как указывалось выше, растения – удобная система для производства съедобных вакцин. Оказалось, что аналогичный подход можно использовать для получения вакцин, обладающих контрацептивным (противозачаточным) действием! Для этого в их геном достаточно встроить гены, кодирующие антигены половых клеток (сперматозоидов) или половых гормонов. Поле применения таких оральных контрацептивов очень широко. Например, предлагается использовать их для относительно дешевого и гуманного регулирования численности популяций некоторых диких животных.

Большой резонанс в обществе вызвало сообщение о выдаче патента США на технологию создания трансгенных сортов, образующих стерильные семена (март 1998 года, обладатель патента – хлопковая компания D&PL). Семена таких сортов можно использовать для посева только один раз. На следующий год они не прорастают из-за включения специального механизма, действующего губительно на зародыш семени. Другая разновидность технологии защиты прав семеноводческих компаний предло-

жена фирмой Novartis. Суть ее заключается в том, чтобы «выключить» трансген, кодирующий какой-либо ценный привнесенный качественный признак в последующих поколениях. Все это делается для того, чтобы вынудить производителей сельскохозяйственной продукции покупать семена ежегодно, а не использовать в течение нескольких лет семена собственного производства. Многие так и поступают, понимая, что урожай и его качество в значительной степени зависят от качества семян. Однако у некоторых фермеров описанные терминальные технологии вызывают почему-то чувство негодования. Вместе с тем идея защиты прав семеноводов не является новой. Фактически производство и использование семян гибридов F_1 служат тем же целям (в последующих поколениях урожай и качество продукции резко снижаются).

3.2.8. Достижения генетической инженерии животных. Несмотря на то, что первые трансгенные животные были получены более 20 лет назад [Palmiter et al., 1982], до сих пор на рынке нет ни одного генетически модифицированного животного для использования в хозяйственной деятельности. Это связано с определенными техническими (сложности получения и размножения), финансовыми, а иногда и этическими проблемами. Тем не менее, успехи в генетической инженерии животных очевидны. Разработаны различные методы переноса генов в генетический материал животных и получены трансгенные особи у млекопитающих, низших позвоночных и у беспозвоночных животных. Созданы эффективные технологии клонирования, основанные на замене ядер у оплодотворенных яйцеклеток. Ученые научились не только переносить в генетический материал животных отдельные гены, но и «выключать» или заменять некоторые конкретные гены.

Безусловно, основным направлением исследований в области генетической инженерии животных является выведение пород с повышенной продуктивностью, устойчивостью к болезням, из которых можно получать продукцию с новыми, привлекательными для потребителя качественными характеристиками. В этом направлении уже получены трансгенные формы разных видов рыб, в геном которых добавлен ген, кодирующий биосинтез гормона роста. Благодаря этому рыбы быстрее растут, эффективнее используют корма. Трансгенные свиньи с добавленным геном гормона роста более мускулистые и менее жирные. То есть из туши трансгенного кабана можно получить больше мяса, чем из обычного, и меньше сала.

Свиньи с добавленным геном фитазы (один из ферментов переваривания пищи) лучше усваивают корма за счет лучшей усвояемости фосфора, что выражается в усилении их роста. К тому же это снижает загрязнение окружающей среды фосфатами. Трансгенные свиноматки с добавленным им геном α -лактальбумина более эффективно вскармливают своих поросят.

Ряд проектов имеет целью улучшение потребительских свойств продуктов, вырабатываемых животными или из животных. Речь, в частности, идет об улучшении качества шерсти овец, о выведении с помощью генетической инженерии пород крупного рогатого скота, в молоке которого снижена концентрация α -лактоглобулина, основного его аллергена, или изменено соотношение отдельных его белков (казеинов и сывороточных протеинов). Другой подход состоит в модификации отдельных генов для изменения физико-химических свойств соответствующих протеинов молока с целью повышения содержания в нем кальция, изменения соотношения отдельных аминокислот, получения молока, сыр из которого созревает в более короткие сроки. Все это должно существенно улучшить потребительские и технологические свойства коровьего молока. Выиграют от этого и сами животные, поскольку улучшенное молоко – немаловажный фактор здоровья вскармливаемых им телят. Многие из этих подходов уже реализованы на модельных объектах (лабораторных мышках).

Улучшение здоровья домашних животных, повышение их устойчивости к болезням с помощью методов генетической инженерии имеет большое практическое и социальное значение. Это не только позволит повысить продуктивность животных, уменьшить затраты на их лечение (на что уходит до 10–20% от общей суммы затрат), но и снизит уровень употребления антибиотиков для их лечения, вероятность переноса инфекций от животных к человеку. Для решения названной проблемы используется три основных генно-инженерных подхода: (1) добавка генов, повышающих устойчивость к болезням, (2) «удаление» генов восприимчивости к болезням (knockout) и (3) замена отдельных генов животного на аналогичные гены, но в большей мере способствующие активному противостоянию болезни (knockin). В целом исследования по этим направлениям с переменным успехом пока проводятся на лабораторных животных. До обнадеживающих результатов на сельскохозяйственных животных дело не дошло.

В то же время конкретного практического выхода следует ожидать уже в ближайшее время в таком важном направлении генетической инженерии, как использование животных в качестве «биореакторов» для производства фармацевтических препаратов. Перспективы этого направления генетической инженерии применительно к растениям обсуждались выше. Несмотря на то, что и растения, и животные в отличие от микроорганизмов относятся к царству эукариот, биология растительной и животной клеток все-таки существенно различается. Поэтому для производства некоторых животных рекомбинантных протеинов более целесообразно использовать животные организмы, нежели растительные. В настоящее время убедительно доказано, что с помощью молочных желез трансгенные животные способны производить всевозможные протеины, такие, как разные факторы крови, ферменты, моноклональные антитела, коллаген, фибриноген, шелк пауков и т.д. Разрабатываются и другие системы производства рекомбинантных белков, в частности, большие перспективы связывают с системой яичного белка кур.

Что может дать человечеству использование животных-биореакторов, можно проиллюстрировать на следующем примере. Совместным проектом российских и белорусских ученых предусмотрено создание системы производства двух лекарственных протеинов: проурокиназы и лактоферрина человека в молоке трансгенных коз. Проурокиназа – мощный тромболитический фермент, использование которого в первые часы после наступления инфаркта миокарда в 5 раз снижает смертность от этого заболевания. Стоимость одного курса лечения проурокиназой составляет в настоящее время около 1000 долларов США, что делает этот препарат малодоступным для большинства граждан. Между тем в таком лечении в России и Беларуси нуждаются более 400 тысяч кардиологических больных. Лактоферрин – белок женского молока стоимостью 2000–2600 долларов США за 1 грамм, препараты которого обладают сильным детоксицирующим, антибактериальным и противовоспалительным действием. Применение лактоферрина как пищевой добавки позволяет снизить в 10 раз заболеваемость гастроэнтеритами у грудных детей-искусственников. Годовая потребность в проурокиназе и лактоферрине в мире оценивается в 6,5 млрд. долларов США. Использование трансгенных животных снизит стоимость этих и большинства других подобных препаратов в 10–20 раз, что позволит перевести многие лекарства из разряда элитных в число общедоступных.

Литература к главе 3

- Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология: Принципы и применение. М.: Мир, 2002. – 589 с.
- Сельскохозяйственная биотехнология / Под ред. В.С. Шевелухи. М.: Высшая школа, 1998. – 416с.

Молекулярные механизмы генетических процессов и биотехнология // Материалы междунар. симпоз. М.; Мн., 2001.- 448 с.

Molecular Farming / Ed. J.P. Toutant, E. Balazs. Paris: INRA, 2001. - 323 p.

Essential Biosafety. The latest scientific and regulatory information for genetically modified and other novel crops and foods. AGBIOS. Canada (www.agbios.com).

Crop Biotech Update. A weekly summary of world developments agry-biotech for developing countries, produced by the Global Knowledge Center on Crop Biotechnology, International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications SEAsiaCenter (ISAAA) and AgBiotechNet (www.isaaa.org).

Crop Biotech Update Special Edition. 14 January 2004. Global Status of Commercialized transgenic Crops: 2003. (www.isaaa.org).

Глава 4

БАЗОВЫЕ ПРИНЦИПЫ И МЕТОДОЛОГИЯ

оценки риска неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности

4.1. Биобезопасность генно-инженерной деятельности

Проблема использования в научной, производственной и иной деятельности человека генно-инженерных организмов (ГИО) имеет два важных аспекта. Во-первых, очевидно, что неконтролируемое создание и высвобождение ГИО в окружающую среду может привести к нежелательным последствиям для здоровья человека и неблагоприятным экологическим последствиям. Во-вторых, также очевидно, что современная биотехнология может в значительной мере содействовать решению мировых проблем благосостояния людей, касающихся в первую очередь насущных потребностей в продуктах питания, эффективного ведения сельского хозяйства и поддержания системы здравоохранения [SCBD, 2000]. Таким образом, одним из главных международных требований, связанных с развитием и применением биотехнологии в науке и производстве, является биобезопасность проведения исследований, полевых и других испытаний ГИО, а также биобезопасность высвобождения ГИО, обладающих новыми желательными признаками, на товарный рынок. Под биобезопасностью в данном контексте понимается система мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГИО на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности (ГИД).

Международная структура биобезопасности и структура биобезопасности отдельных государств включают в себя ряд основных компонентов. Во-первых, к ним относится законодательная база, регулирующая ГИД. Во-вторых — административная система, исполняющая, контролирующая законный порядок осуществления ГИД. В-третьих — система обоснованного принятия решений, которая включает оценку и предупреждение соответствующего риска ГИД (управление риском ГИД). И, наконец, механизм информирования общественности и участия общественности в принятии решений о разрешении ГИД и контроле над их исполнением. Каждый компонент структуры биобезопасности существенен и функционирует в органической связи с другими. При этом в главах 4–6 рассматриваются исключительно вопросы, связанные с оценкой риска ГИД. Ниже будут представлены: определение риска ГИД; общие принципы и основные этапы процедуры оценки риска ГИД с точки зрения возможных неблагоприятных эффектов ГИД на здоровье человека и окружающую среду (среду осуществления ГИД).

4.2. Понятия «риск» и «оценка риска»

В научной и популярной литературе, касающейся проблемы оценки риска ГИД, широко используется целый ряд сходных по смыслу терминов: неблагоприятное воздействие, неблагоприятный эффект, ущерб, вред, фактор риска, риск, опасность (*undesirable impact, harm, hazard* в англоязычной литературе), а также подверженность воздействию, масштаб воздействия и др. Такая ситуация требует определения того, ка-

кие именно термины и в каком смысле будут употребляться нами при дальнейшем изложении материала.

Из числа сходных по смыслу терминов (фактор риска, опасность, неблагоприятное воздействие, неблагоприятный эффект) далее чаще других нами будет использоваться термин «фактор риска» как наиболее подходящий, по нашему мнению, для описания принятой процедуры оценки риска ГИД. Фактор риска (hazard) — это свойственная веществу или какой-либо деятельности (процессу) потенциальная способность причинять вред (вызывать нежелательное событие) [Wachbroit, 1991, цит. по Peterson, 2002; Kinderlerer, 1997]. Фактор риска — функция неблагоприятных свойств объекта (деятельности, процесса) и условий их проявления. Каждое вещество и деятельность являются потенциальными факторами риска. Одни вещества и виды деятельности способны вызывать сразу ряд неблагоприятных событий различного рода, в то время как другие могут вызывать единичные или немногочисленные виды таких событий. При этом следует подчеркнуть, что идентификация фактора риска сама по себе неравнозначна его оценке. В понятие «риск» люди вкладывают различный смысл в зависимости от своего социального, культурного, финансового положения и значимости в обществе [Kaplan, Garric, 1981, цит. по Conner et al., 2003]. По наиболее общему определению, риск — это вероятность нежелательного события. Принимая во внимание также величину потенциального ущерба в случае, если данное событие будет реализовано, риск можно определить математическим выражением:

$$\begin{aligned} \text{риск} &= \text{вероятность} \times \text{последствие, или} \\ \text{риск} &= \text{вероятность негативного воздействия фактора риска} \times \text{величина последствий} \\ &\quad \text{воздействия [Conner et al., 2003].} \end{aligned} \quad (1)$$

Часто риск определяют через взаимодействие фактора риска и экспозиции (exposure), т.е. степени, продолжительности воздействия на «мишень» (здоровье человека, окружающую среду) данного фактора риска [Kinderlerer, 1997; Levin, 1997]. Степень подверженности «мишени» тому или иному фактору риска выражается как частота и продолжительность контакта человека с вредным веществом определенной концентрации. Следовательно, подверженность фактору риска является вероятностью и (или) величиной (значимостью) воздействия фактора риска на существо (объект) этого воздействия. А риск определяется как

$$\text{риск} = \text{фактор риска} \times \text{подверженность «мишени» фактору риска (экспозиция)}. \quad (2)$$

Если понятие «фактор риска» обозначает, таким образом, лишь причину (сущность) потенциального неблагоприятного события, то понятие «риск» обозначает расчетную вероятность реализации этого события с теми или иными масштабами его последствий. Концепция риска часто трактуется как возможность вредного воздействия, а не его вероятность. Но между данными понятиями есть небольшое, но существенное различие. «Возможность ущерба» — только часть значимых вопросов, на которые следует ответить при оценке риска. Так как все в природе является в принципе тем или иным фактором риска, то все представляет и некоторый уровень риска. Но риск разительно изменяется в зависимости от «жесткости» фактора риска и от степени воздействия этого фактора риска на «мишень». Короче говоря, риск — это «насколько плохо», помноженное на «как много» [Peterson, 2002].

Процедура оценки риска в данном контексте должна дать ответы на следующие три вопроса. Что может выйти из строя? (возможность вредного воздействия — фактор риска). Насколько вероятно, что это произойдет? (вероятность, что воздействие осуще-

ствится). Какова будет величина последствий, если данное событие случится? (масштаб последствия этого вредного воздействия) [Conner et al., 2003]. Концептуально научное определение риска и процедуры оценки риска в категории вероятности является, следовательно, достаточно простым и весьма определенным. На практике, однако, оценка риска может быть чрезвычайно сложной. Для этого требуется понимание и оперирование концепциями «воздействие фактора риска» и «следствие» в терминах статистики и вероятности, что проблематично по отношению к живым организмам вообще и к генно-инженерной деятельности в частности.

4.3. Что подразумевается под риском генно-инженерной деятельности

Для получения экономической выгоды от внедрения биотехнологии в производство в настоящем и будущем в каждом государстве должен функционировать регуляторный механизм, который обеспечит безопасное и устойчивое развитие. Обязательным компонентом такого механизма является идентификация и минимизация любых потенциальных рисков для здоровья человека и окружающей среды, возникающих вследствие генно-инженерной деятельности. При этом оценка риска производится на всех уровнях манипуляций с ГИО: от лабораторных исследований до широкого внедрения ГИО или продуктов, содержащих ГИО, на товарный рынок [Doyle, Persley, 1996]. Оценка риска при использовании генетически модифицированных микроорганизмов, растений и животных в ходе научно-исследовательских работ и производства — это определение следующих параметров: факторов риска ГИД; вероятности их неблагоприятного воздействия на здоровье человека и окружающую среду и масштабов этого воздействия. При этом оценка риска должна быть сфокусирована скорее на конечном продукте биотехнологии, чем на процессе его производства как таковом.

Для оценки риска ГИД в полной мере применимы приведенные выше формулы (1) и (2). В отношении генно-инженерной деятельности термином «фактор риска» мы будем определять потенциально возможные прямые и опосредованные неблагоприятные воздействия ГИО или продуктов, изготовленных из ГИО (включающих ГИО), на здоровье человека и (или) окружающую среду, обусловленные эффектом вставки рекомбинантной ДНК, функционирования трансгенов и передачей трансгенов от ГИО другим организмам. Вероятность осуществления таких воздействий и размеры соответствующего ущерба в совокупности определяют риск генно-инженерной деятельности [Kinderlerer, 1997; Levin, 1997]. Фактор риска ГИД — функция неблагоприятных для здоровья человека и окружающей среды признаков ГИО или действий (процессов), обусловленных генетической модификацией, а также условий их проявления (осуществления).

В соответствии с действующими международными правовыми документами (в частности, с директивными документами Европейского Союза [EU, 1990, 2001]) целью процедуры оценки риска ГИД является идентификация всех возможных вредных для здоровья человека и окружающей среды прямых и непрямых, немедленных и отдаленных воздействий ГИО; оценка вероятности осуществления данных воздействий в рамках рассматриваемой ГИД и размера ущерба здоровью человека и окружающей среде при допущении, что они осуществляются.

Под прямым воздействием понимается первичное воздействие ГИО как такового на здоровье человека и среду, не требующее цепи взаимосвязанных событий. Под непрямым воздействием понимают опосредованное воздействие ГИО на здоровье человека и окружающую среду, которое осуществляется через цепь взаимозависимых событий. В частности, оно может проявляться вследствие взаимодействия ГИО с другими

организмами; вследствие переноса генетического материала от ГИО другим организмам; в результате изменений порядка эксплуатации объектов хозяйственной деятельности и управления ими, обусловленных высвобождением ГИО, и т.д. Немедленное воздействие ГИО на здоровье человека и окружающую среду наблюдается непосредственно в период осуществления ГИД. Оно также может быть прямым и косвенным. Отдаленное воздействие становится очевидным в виде прямого или косвенного после окончания данной ГИД.

В конечном итоге процедура оценки риска должна дать ответ на следующие вопросы.

- Является ли потенциальный риск ГИД приемлемым в сопоставлении с выгодами, получаемыми в результате ее осуществления?
- Имеются ли регуляторные механизмы, адекватные для безопасного осуществления ГИД [Doyle, Persley, 1996]?

4.4. Принцип принятия мер предосторожности

Источники появления и применения принципа принятия мер предосторожности проистекают из экологического общественного движения 70-х годов прошлого века, когда он был сформулирован как реакция на скептицизм относительно возможности научной оценки риска и предотвращения вредных последствий применения сложных технологий [McIntyre, Mosedale, 1997, цит. по The Royal Society of Canada, 2001]. По сути, принцип определяет, что перед лицом научной неопределенности или отсутствия необходимых знаний лучше ошибиться в сторону избыточности мер безопасности по отношению к здоровью человека и окружающей среде, чем ошибиться в оценке риска [Barrett, 1999].

Принцип принятия мер предосторожности впервые сформулирован в международном соглашении в рамках «Мировой природной хартии» (World Charter for Nature), принятой Генеральной Ассамблеей ООН в 1982 году. С этого времени он присутствует во многих международных документах и договорах, касающихся охраны окружающей среды. В отношении биологического разнообразия принцип принятия мер предосторожности записан в преамбуле Конвенции о биологическом разнообразии, которая гласит: «Когда имеется угроза существенного уменьшения либо исчезновения биологического разнообразия, отсутствие полной научной определенности не должно являться причиной для непринятия мер к исключению или минимизации такой угрозы» [CBD, 1992]. Сегодня данный принцип содержат более 20 интернациональных законов, договоров, протоколов и конвенций [Barrett, 1999]. В недавно вступившем в действие Картахенском протоколе по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии [SCBD, 2000] данный принцип вновь подтверждается в отношении проблемы безопасности ГИД: «Отсутствие научной достоверности ввиду недостаточности научной информации и знаний, касающихся масштабов возможного неблагоприятного воздействия живого измененного организма на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия в Стране импорта, с учетом также рисков для здоровья человека, не должно помешать этой Стране в принятии соответствующего решения относительно импорта живого измененного организма ... в целях предотвращения или максимального ограничения такого возможного неблагоприятного воздействия».

Принцип принятия мер предосторожности является по существу политической аксиомой. Существуют значительные противоречия в отношении его трактовки и применения к биотехнологии и, в частности, к оценке риска ГИД. Его сторонники рассматривают принцип принятия мер предосторожности как предупреждающий подход

к применению новых технологий, направленный на защиту людей, животных и окружающей среды от потенциально неблагоприятных последствий, которые не всегда может предвидеть наука [Gullett, 1997; Barrett, 1999]. Оппоненты этого принципа рассматривают его как ненаучную позицию, серьезно сдерживающую экономическое и технологическое развитие из-за необоснованных страхов [Miller, Conko, 2000, цит. по The Royal Society of Canada, 2001]. Принцип принятия мер предосторожности подвергается наибольшей критике с точки зрения того, что он изолирует ученых, предполагает ослабление стандартов доказательной базы, препятствует развитию доказательной методологии и может применяться необоснованным образом [Mahoney, 2000]. Кроме того, в литературе встречается мнение, что он выступает как завуалированный барьер для торговли, например, в случаях, когда нет ни надежных теоретических, ни эмпирических доказательств, устанавливающих вероятность ущерба [Adler, 2000; Foster et al., 2000].

Наиболее жесткая интерпретация принципа (никаких неприемлемых рисков) возлагает груз получения доказательств о безопасности технологии на тех, кто ее внедряет, и требует высоких стандартов доказательств того, что такие риски исключаются. Требование исключения всякого риска в данном смысле представляется трудной, если вообще выполнимой научной задачей. Практически это требование можно интерпретировать словами: «не предпринимай никаких действий, пока ты не уверен, что они не нанесут вреда». Наиболее «слабая» трактовка принципа предосторожности – отсутствие полной уверенности не является оправданием для препятствия действиям, которые могут в принципе нанести вред. Она возлагает груз получения доказательств о биобезопасности ГИД на тех, кто указывает на сомнительные, необоснованные с научной точки зрения риски ГИД [Conner et al., 2003].

Между этими крайними суждениями лежит формулировка принципа принятия мер предосторожности, которая в действительности не требует доказательства абсолютной безопасности технологии, но скорее предполагает ее ограничение в случае, если уровень научной неопределенности относительно потенциального риска является значительным, а возможности управления риском – недостаточными. При наличии обоснованных научных предположений о том, что новый процесс или продукт может быть опасным, он не должен внедряться до тех пор, пока не будут получены доказательства того, что риск невелик, управляем и преимущества технологии его «перевешивают». В промежуток времени до внедрения технологии должны осуществляться исследования по улучшению оценки риска. Такое понимание принципа предосторожности, по-видимому, является наиболее взвешенным в отношении ГИД и способствует устойчивому мировому экономическому развитию.

Очевидно, что решение о том, является ли определенный риск ГИД приемлемым или неприемлемым в конкретных условиях, не является задачей процедуры оценки риска. Оценка риска должна, в том числе объективно, показать уровень научной неопределенности в прогнозе безопасности предлагаемой ГИД или продукта ГИД. Применение принципа предосторожности в этом смысле должно продемонстрировать, не абсолютным образом, но выше уровня обоснованных сомнений, что предлагаемая заявителем ГИД является безопасной. С целью прояснить порядок применения данного принципа в рамках Евросоюза Комиссия ЕС выработала определенные правила для использования принципа принятия мер предосторожности в процедурах оценки и управления риском ГИД политически прозрачным образом. Данные требования определяют следующее:

- *Адекватность.* Меры по управлению риском ГИД не должны быть диспропорциональны желаемому уровню защиты и не должны иметь целью снизить риск до нуля.
- *Отсутствие дискриминации.* Сходные ситуации при оценке и управлении риском ГИД не должны рассматриваться различным образом и различные ситуации не должны рассматриваться сходным образом без объективных оснований делать таким образом.
- *Пропорциональность соответствия.* Меры по управлению риском ГИД в условиях недостаточности научных данных не должны быть сравнимы по природе и масштабу с мерами, уже принимавшимися в подобных случаях, когда все необходимые научные данные могли быть получены.
- *Изучение выгоды и стоимости действия или отсутствия действия.* Такое изучение должно включать экономический анализ (расчет соотношения цены и выгоды), когда он возможен и выполним.
- *Изучение научного развития.* Меры по управлению риском должны носить предварительный (временный) характер в ожидании возможности получить более существенные научные данные. ... Научные исследования должны продолжаться до получения более полных данных [ЕС, 2000].

4.5. Понятие «научная неопределенность» в приложении к оценке риска генно-инженерной деятельности

Как отмечалось выше, принцип принятия мер предосторожности в контексте проблемы биобезопасности проистекает от скептицизма относительно возможностей современной науки или любых систем знаний для полного понимания и предсказания особенностей функционирования сложных биологических и экологических систем. Он констатирует, что велика вероятность ошибки в оценке риска ГИД и она тем более вероятна, чем больше степень научной неопределенности в понимании оцениваемых процессов и объектов.

Неопределенность является присущим и неизбежным аспектом науки в приложении к оценке риска ГИД и проявляется на всех уровнях оценки риска [The Royal Society of Canada, 2001; Hayes, 2002]. К. Hayes [2002] приводит в своем докладе несколько возможных источников неопределенности на различных уровнях оценки безопасности генетически модифицированного организма. Например, на уровне внедрения целевого гена в геном реципиента может быть нарушена структура генов или регуляторных последовательностей генов реципиента с не всегда предсказуемым результатом их последующей транскрипции. Не все изменения транскрипции гена обязательно трансформируются в виде предсказуемых изменений в структуре синтезируемого белка. Характер фенотипического (экологического) проявления ГИО не является исключительно генотип-специфическим, но в большой степени зависит от среды высвобождения ГИО и поэтому может непредсказуемо варьировать. На уровне экосистемы в целом источником неопределенности является возникновение новых или изменение существовавших связей между объектами и процессами экосистемы в результате внедрения в нее ГИО. Как наиболее сложные для анализа, представляющие значительный уровень неопределенности, выступают именно экологические риски масштабного высвобождения ГИО. Многие авторы отмечают, что проведенные к настоящему времени исследования не позволяют оценить с требуемой точностью вероятность не прямых и отдаленных неблагоприятных экологических последствий такого высвобождения [Clark, Lehman, 2001; Zakri, 2001; Weber, 2002 и др.].

В общем случае источником научной неопределенности среди прочих могут быть: несовершенство и ошибочность научных моделей, которые используются для предсказания событий и взаимодействий в сложных системах; недостаточность и противоречивость получаемых научных данных и присутствие неизбежных научных допущений [Brunk et al., 1992; Funtowicz, Ravetz, 1994, лит. по The Royal Society of Canada, 2001]. В идеале результатом оценки риска должен быть минимум неопределенности относительно возможного ущерба ГИО для здоровья человека и окружающей среды. Сам факт выявления значимых пробелов в научных знаниях относительно природы ГИО и предполагаемых последствий его использования стимулирует интенсивный поиск более совершенных подходов, методов оценки риска. Чем более значительным представляется риск ГИД, тем меньший уровень неопределенности может быть приемлемым и тем более строгие доказательства требуются для его исключения.

Рациональное применение принципа принятия мер предосторожности в оценке риска ГИД с учетом неизбежности того или иного уровня научной неопределенности представляется следующим.

- Оцениваемые риски ГИД должны быть научно обоснованными.
- Научно необоснованные риски не должны препятствовать внедрению новых технологий и продуктов, представляющих неоспоримые преимущества для общества.
- Пропорционально природе того или иного фактора риска и масштабу потенциального ущерба в процессе оценки риска должны прилагаться соответствующие усилия для уменьшения уровня неопределенности и научного доказательства его несущественности.
- Если риски обоснованы, то новые технологии не могут осуществляться или могут осуществляться с «избыточным» уровнем управления риском, пока не будет доказано, что риски невелики, а преимущества, напротив, значительны. Ошибка в избыточности мер управления риском в данном случае должна быть более приемлемой, чем ошибка недооценки риска.
- Неприемлемый уровень неопределенности в оценке того или иного риска должен стимулировать интенсивный поиск новых научных подходов, снижающий этот уровень до приемлемых масштабов.

4.6. Принципы построения процедуры оценки риска генно-инженерной деятельности

Научная информация, необходимая для ответов на поставленные в процессе оценки риска ГИД вопросы, анализируется в соответствии с рядом принципов (концепций). Они закреплены в различных международных правовых документах и проверены практикой. Базовыми концепциями оценки риска ГИД являются концепции *осведомленности (familiarity)* и *существенной эквивалентности*. При этом концепцию осведомленности можно рассматривать как экологический аналог (дополнение) концепции существенной эквивалентности. Данные подходы к оценке риска предусматривают, что любой (нетрансгенный) организм, традиционные продукты или технологии не являются сами по себе абсолютно безопасными. Поэтому оценки риска генно-инженерной деятельности должны осуществляться в сравнении с соответствующей традиционной деятельностью.

Сравнительный подход к анализу информации способствует адекватной оценке риска ГИД и уменьшению масштабов неопределенности. В рамках процедуры оценки риска в сравнительном контексте рассматривается информация о ГИО, организме-реципиенте (хозяине), доноре, использованном для переноса трансгена молекулярном векторе. Выводы о степени безопасности ГИО производятся на основании уже имею-

щегося и обобщенного опыта использования ГИО (в лабораторных экспериментах, при мелкомасштабных испытаниях в окружающей среде, при крупномасштабном высвобождении). Начиная с середины 80-х годов накоплен значительный багаж знаний относительно использования человеком «новых» пищевых продуктов, ГИО и характера взаимодействия ГИО со средой высвобождения (данные лабораторных и полевых испытаний). Принимая решение о выдаче разрешения на ГИД, можно, таким образом, опираться на уже существующий опыт. При этом подразумевается, что поведение определенных типов ГИО будет предсказуемым и не потребует избыточных усилий в отношении управления рисками.

Упомянутые концепции оценки риска предусматривают обязательный сравнительный анализ факторов риска (потенциала опасности), присущих ГИО (продуктам, включающим ГИО и состоящим из ГИО) и их традиционным аналогам, для здоровья человека и окружающей среды [NRC, 1989; OECD, 1993a,b; FAO/WHO, 1996, 2000a]. Такой сравнительный анализ является стартовой точкой для процедуры оценки риска ГИД. Он определяет исходный, присущий аналогу уровень риска, относительно которого в дальнейшем оцениваются эффекты генетической модификации [Kuiper et al., 2001; The Royal Society of Canada, 2001; Conner et al., 2003].

В рамках концепции осведомленности биологические особенности генно-инженерных организмов, признаки, определяемые трансгенами, технология коммерческого производства ГИО, особенности среды высвобождения и порядок использования ГИО анализируются в сравнении с традиционными аналогами. Цель сравнения — обоснование того, является ли фенотип ГИО или процесс коммерческого производства ГИО новым для исследуемых экосистем. Это позволяет в дальнейшем сосредоточить внимание на оценке выявленных, не характерных для аналога экологических факторов риска и установить определенный уровень безопасности при использовании ГИО. Чем уже формулируется концепция осведомленности, тем она представляется более эффективной для оценки экологических рисков [Conner et al., 2003].

В рамках концепции существенной эквивалентности исследуется прежде всего качественный и количественный состав ключевых компонентов ГИО и подходящего аналога (немодифицированного организма или традиционных продуктов питания). Цель такого сравнения — установить, отличается ли ГИО от аналога по признакам, важным для здоровья человека (потенциалу токсичности, аллергенности, питательной ценности и др.) [Kuiper et al., 2001]. Подробно концепция существенной эквивалентности рассматривается нами в разделе 5.5.

Кроме приведенных выше базовых концепций процедуры оценки риска, ее методология основана также на следующих научных принципах [EU, 2001].

- Оценка риска должна проводиться на научной основе, ясным, адекватным способом, базирующимся на подходящих предмету рассмотрения научных и технических данных.

- Оценку риска необходимо проводить на основе индивидуального подхода (case by case), последовательно, шаг за шагом (step by step), подразумевая, что требуемая информация варьирует в зависимости от типа рассматриваемого ГИО, способа его предполагаемого использования и потенциальной среды высвобождения.

- Риски, связанные с ГИО или содержащими их продуктами, должны рассматриваться в контексте рисков, существующих при использовании интактных (немодифицированных) реципиентных организмов в потенциальной принимающей среде.

- В случае поступления новой информация о ГИО и его эффектах на здоровье человека и окружающую среду результаты оценки риска могут быть пересмотрены, что-

бы определить, изменилась ли степень риска и есть ли необходимость в изменении системы управления риском.

В применении к практике оценки риска ГИД данные принципы определяют следующее. При ответе на оценочные вопросы информация о потенциальном риске ГИО анализируется в контексте рисков, которые уже существуют как следствие использования в практической деятельности людей традиционных организмов и технологий. Например, риск выращивания трансгенных растений, вырабатывающих токсичный для насекомых-вредителей Bt-протеин, должен рассматриваться в контексте рисков традиционных технологий защиты растений (насколько он более значительный или качественно иной). Необходимую для оценки риска информацию следует анализировать на основании индивидуального подхода к каждому конкретному случаю генно-инженерной деятельности.

Потенциальная опасность отдельных факторов риска варьирует в зависимости от биологических особенностей оцениваемого ГИО, рассматриваемого трансгена, предполагаемого порядка использования ГИО и предполагаемой среды осуществления ГИД. Например, процесс высвобождения генетически модифицированного масличного рапса повышает вероятность переноса трансгенов к его диким сородичам на территории Европы (фактор риска), поскольку доказана его спонтанная гибридизация с рядом диких родственных видов [Eastham, Sweet, 2002]. В то же время перенос трансгенов от генно-инженерного картофеля на европейской территории маловероятен в связи с отсутствием диких родственных видов. Последствия переноса трансгенов в свою очередь зависят от того, какие именно признаки данный ген определяет. Так, с точки зрения приобретения экологических преимуществ растениями природных популяций (фактор риска) последствия вертикального переноса трансгенов устойчивости к насекомым-вредителям диким сородичам генно-инженерных растений будут более значимыми, чем таковые в случае генов устойчивости к гербицидам [Seidler et al., 1998; Levidow, 2003]. Вероятность того, что оцениваемый фактор риска окажет неблагоприятное воздействие, и величина его воздействия во многом зависят и от параметров осуществления ГИД (степень изоляции, масштаб высвобождения). Совершенно очевидно, к примеру, что вероятность поражения персонала предприятия патогенной генетически модифицированной микрофлорой (фактор риска) напрямую определяется степенью «замкнутости» используемой для ГИД системы.

Информация и данные, на основе которых проводится оценка риска, должны быть строго научными, а методы получения данных — адекватными поставленным задачам анализа. В принципе при оценке риска ГИД для получения и анализа данных должны применяться методы, максимально снижающие уровень научной неопределенности. Они, естественно, совершенствуются с течением времени и все более соответствуют решению поставленных задач. Например, целевой композиционный анализ, использовавшийся до настоящего времени для определения существенной эквивалентности, позволял определять качественный и количественный состав ключевых химических компонентов ГИО (продуктов питания) и аналогов. Предмет анализа ограничивался важными для здоровья человека веществами (главными и минорными питательными веществами, известными антагонистами питательных веществ, известными токсинами). Недавно предложен нецелевой, профильный подход к композиционному анализу, позволяющий оценивать экспрессию генома в целом на уровне ДНК, мРНК, белков, метаболитов и обнаруживать с гораздо большей степенью надежности проявление так называемых непредусмотренных эффектов генетической модификации (см. раздел 7 главы 5) [Kuiper, 1998; Kuiper et al., 2001].

Научные методы оценки риска ГИО совершенствуются постоянно и на всех уровнях — начиная от молекулярного уровня и заканчивая уровнем биогеоценоза. Но даже при использовании самых совершенных современных методов анализа в процессе оценки риска неминуемо возникают вопросы, на которые пока трудно дать научно обоснованные ответы. Ведь и сами выдвигаемые вопросы в процедуре оценки риска постоянно уточняются и «усложняются» вместе с новым уровнем знаний и умений.

Чтобы эффективно учитывать неизбежный объективный уровень научной неопределенности в оценке риска ГИД (с применением принципа принятия мер предосторожности, но без утраты возможных преимуществ ГИД), используют ряд подходов, которые выходят за рамки собственно оценки риска [DEFRA, UK, 2000]:

- При оценке риска принимают наихудший сценарий вероятного воздействия, полагая, что оно обязательно осуществится (вероятность — 1), и проводят расчет величины последствий.
- Запрашивают или получают дополнительную информацию, адресованную рассматриваемым факторам риска, чтобы улучшить результат оценки риска.
- Устанавливают более высокие требования управления риском ГИД, пока не станет доступной новая информация, снижающая уровень неопределенности.
- Осуществляют непрерывный мониторинг ГИД.

4.7. Идеальная система оценки риска генно-инженерной деятельности

Как отмечалось выше, риск ГИД — это функция двух параметров:

- вероятности осуществления неблагоприятного воздействия ГИО на здоровье человека или окружающую среду (вероятности неблагоприятного воздействия фактора риска);
- величины последствий данного воздействия.

Оценка риска ГИД — средство определения данных параметров. Идеальная система оценки риска ГИД должна предусматривать идентификацию всех возможных факторов риска, количественно определять вероятность их воздействия и величину неблагоприятных последствий воздействия для здоровья человека и окружающей среды. Идеальная система оценки риска должна также включать компоненты «обратной связи», когда постоянное слежение за оцениваемой деятельностью или ГИО позволяет уточнять параметры ее опасности и, как следствие, расчетные параметры для оценки риска. Схема такой идеальной системы оценки риска представлена в докладе К. Науес [2002] и приводится нами с некоторыми изменениями (рис. 4.1).

Оценка риска, связанного с ГИО, прежде всего, требует определения точных рамок рассмотрения самой проблемы. Следует четко обозначить конечную цель оценки риска, масштабы оцениваемой деятельности, присущие оцениваемой системе ограничения. Действительно, процедура оценки риска будет существенным образом зависеть от формулировки ее целей, например, требуется оценка абсолютного риска ГИД или в сравнении с рисками, присущими традиционной деятельности (аналогам).

Существенность факторов экологического риска (к примеру, переноса трансгенов диким сородичам ГИО) возрастет при увеличении масштаба высвобождения ГИО. Более того, оценки риска, полученные в ходе анализа «мелкомасштабного» процесса высвобождения, далеко не всегда будут характеризовать широкомасштабное высвобождение ГИО. Приемлемость полученных оценок риска зависит от возможности управления риском в каждой рассматриваемой системе.

Оценка риска, связанного с ГИО, прежде всего требует определения *точных рамок рассмотрения самой проблемы*. Следует четко обозначить конечную цель оценки риска,

масштабы оцениваемой деятельности, присущие оцениваемой системе ограничения. Действительно, процедура оценки риска будет существенным образом зависеть от формулировки ее целей, например, требуется оценка абсолютного риска ГИД или в сравнении с рисками, присущими традиционной деятельности (аналогам).

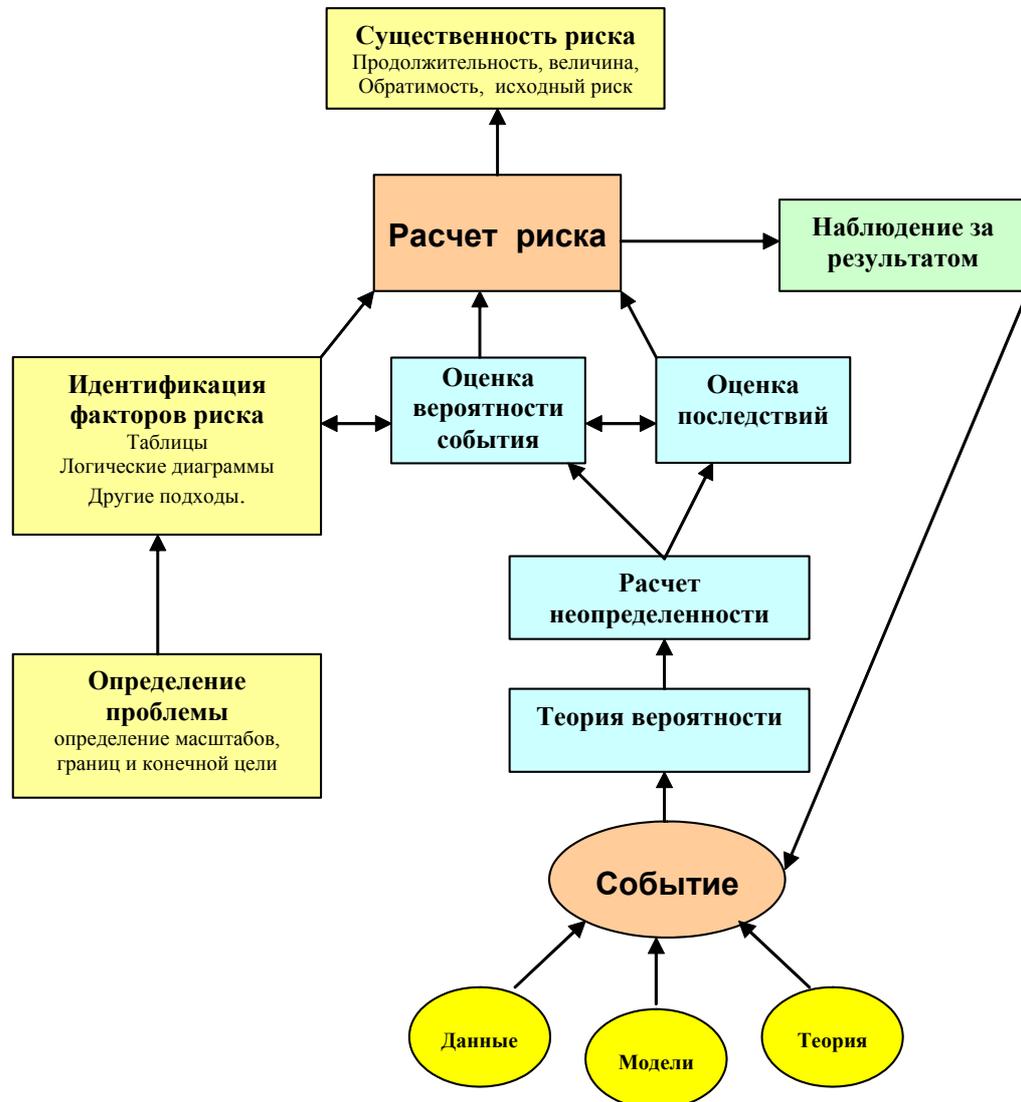


Рис. 4.1. Компоненты идеальной системы оценки риска (по К. Hayes, 2002)

Существенность факторов экологического риска (к примеру, переноса трансгенов диким сородичам ГИО) возрастет при увеличении масштаба высвобождения ГИО. Более того, оценки риска, полученные в ходе анализа «мелкомасштабного» процесса высвобождения, далеко не всегда будут характеризовать широкомасштабное высвобождение ГИО. Приемлемость полученных оценок риска зависит от возможности управления риском в каждой рассматриваемой системе.

Комплексность, «многоуровневость» потенциальных опасностей ГИД для здоровья человека и окружающей среды предполагает использование разных методологических подходов к *идентификации факторов риска* ГИД [Segal et al., 1997; Hayes, 2002].

Простейший подход — «жди и увидишь». Он не является универсальным в случае оценки риска ГИД. В частности, он не может применяться в случаях существенного уровня научной неопределенности.

Для идентификации факторов риска ГИД наиболее часто применяют *неструктурированный (дедуктивный) подход*: составление так называемых контрольных таблиц

факторов риска, простой «мозговой штурм». В данном случае на основании имеющейся информации об «опасных» признаках биологического объекта (дедуктивные научно обоснованные посылки или аксиомы) составляется (в виде таблицы) перечень всех возможных потенциальных неблагоприятных воздействий (следствия данных посылок). В таблицу заносятся все факторы риска независимо от вероятности их проявления и размеров последствий этого проявления в процессе ГИД (что является предметом дальнейшей оценки риска).

Относительно реже в этих целях используется более сложный *структурированный (индуктивный) подход*. В этом случае факторы риска определяются «от частного — к общему», т.е. путем анализа и сравнения отдельных экспериментальных данных выявляются закономерности, характеризующие потенциальную опасность объекта оценки. Индуктивный подход к идентификации факторов риска реализуется путем составления логических и экспериментальных диаграмм взаимозависимости неблагоприятных событий и вызвавших их факторов; анализа моделей неблагоприятных событий (математических, иных) и определения соответствующих неблагоприятных эффектов; разработки и анализа иерархических моделей зависимости между признаками объекта (системы) и проявлением неблагоприятных эффектов. Всеми известными методами факторы риска идентифицируются с учетом заранее определенных ограничений существа проблемы оценки риска.

Оценка каждого присущего ГИД фактора риска строится на основании как можно более полной научной информации. Научная информация включает в себя экспериментальные данные наблюдения и исследования события, показатели анализа практических и теоретических модельных экспериментов. Например, оценка потенциальной возможности горизонтального переноса трансгенов устойчивости к антибиотикам от употребляемого в пищу ГИО микрофлоре желудочно-кишечного тракта человека оценивалась при всестороннем исследовании этого явления. Исследовались теоретически возможные механизмы горизонтального переноса трансгенов в оптимальных лабораторных условиях [Nielsen et al., 1997; Smalla et al., 2000; Doerfler, 2000]. Анализировались также данные экспериментов *in vitro*, моделирующих условия желудочно-кишечного тракта человека и процесс трансформации бактерий кишечника (с использованием маркерных, хорошо идентифицируемых генов) [Van der Vossen et al., 1998].

Полученная в рамках оценки риска информация обрабатывается с помощью математического аппарата теории вероятности с учетом того или иного уровня неопределенности (полного знания о веществе или явлении добиться невозможно). В итоге рассчитываются количественные оценки вероятности неблагоприятного воздействия анализируемого фактора и его последствий. Комбинация указанных параметров дает, собственно, количественную оценку риска. На основании полученной величины и с учетом ограничений выбранного подхода к проблеме принимается решение о существенности оцененного риска и порядка управления им. Результаты слежения (мониторинга) за реальным процессом осуществления оцененного события дают возможность уточнить известную о нем научную информацию, снизить уровень неопределенности и скорректировать оценку риска.

4.8. Идентификация факторов риска генно-инженерной деятельности на практике

Очевидно, что оценка риска вообще и идентификация факторов риска ГИД в частности должны базироваться на научном рассмотрении доказательств возможности тех или иных неблагоприятных эффектов ГИО на здоровье человека и окружающую среду. Международное одобрение такого подхода отражено в статье 15 Картахенского

протокола по биобезопасности [SCBD, 2000]. Другие, «ненаучные» основания (например, общественное восприятие той или иной ГИД) могут браться в расчет при принятии решения на разрешение ГИД и при выборе технологии управления ГИД. Но они не должны оказывать влияние на процедуру оценки риска ГИД как таковую [McLean et al., 2002]. Процедура оценки риска и ее результаты предназначены исключительно для экспертов компетентных, ответственных за разрешение ГИД государственных институтов и не включают в себя оценку связанных с генно-инженерной деятельностью этических, социально-экономических воздействий.

Оценка риска ГИД начинается с идентификации факторов риска. Идентификация факторов риска заключается (в простом приближении) в анализе того, является ли ГИО сам по себе вредоносным или патогенным для человека и окружающей среды; способен ли он содействовать появлению новых вредителей либо патогенных организмов в среде высвобождения или увеличить вредный эффект уже имеющихся.

Потенциальная опасность, присущая тому или иному организму, основана, прежде всего, на его биологии (возбудитель полиомиелита очевидно весьма опасен для здоровья человека, пекарские дрожжи в обычном применении – нет). Соответственно потенциальная опасность ГИД основана на природе ГИО и его взаимодействиях с окружающей средой. При этом она может быть обусловлена биологическими особенностями исходных для генетической модификации организмов (реципиентов, доноров); экспрессией продуктов, определяемых встроенными генами; непреднамеренным изменением исходного уровня патогенности, токсичности, аллергенности организмов-хозяев в результате их генетической модификации; возможностью последующего переноса трансгенов другим организмам и т.д. Из этого следует, что идентификация факторов риска производится на основании тщательного изучения всей возможной научной информации, касающейся исходных организмов, способа создания ГИО и биологии самого ГИО, а также среды осуществления ГИД. Такая полная информация собирается и представляется заявителем ГИД в компетентные разрешительные организации (содержание необходимой информации рассматривается в разделе 4.10).

Многие потенциальные источники опасности ГИО могут быть предсказаны заранее, до проведения аналитических исследований. Например, на основании ранее полученных научных данных обычно известно, является ли бактерия-хозяин для производства генно-инженерного микроорганизма патогенной; продуцируют ли исходные для трансформации организмы токсические, вызывающие аллергию вещества. Тогда каждый присущий исходным организмам фактор риска должен быть рассмотрен в последующей процедуре оценки риска в ракурсе его возможных изменений, связанных с генетической модификацией. Точно так же известная заранее информация об источниках трансгенов, о природе молекулярных продуктов трансгенов прямо указывает на возможные факторы риска (например, высокий аллергенный потенциал организма – донора трансгенов указывает на возможность того, что и продукты трансгена в ГИО будут вызывать аллергическую реакцию у чувствительных к ним людей). К сожалению, факт обязательного наличия того или иного уровня неопределенности (отсутствие полной адекватной научной информации) при рассмотрении каждого конкретного случая ГИД затрудняет процесс идентификации возможных факторов риска.

Из числа возможных подходов к идентификации факторов риска (см. раздел 4.7) на практике применяются далеко не все. Простейший подход «жди и увидишь» используется редко. В условиях недостаточности научных знаний он может применяться только в рамках ГИД в замкнутых системах или в мелкомасштабных, контролируемых в экспериментах по высвобождению ГИО (т.е. при «жестком» подходе к управлению риском ГИД). Чаще других, как уже было отмечено, для идентификации факторов

риска ГИО используется неструктурированный (дедуктивный) подход, заключающийся в составлении контрольных таблиц. В таблицу в результате «мозгового штурма» заносятся все возможные, потенциально опасные особенности ГИО и признаки, способствующие их проявлению. В таблице 4.1 дан пример такого подхода к оценке риска генно-инженерных линий масличного рапса. Примером индуктивного подхода к идентификации факторов риска, по-видимому, является фактор неблагоприятного воздействия Vt-токсина генно-инженерной кукурузы на не целевых (не являющихся сельскохозяйственными вредителями) насекомых. Потенциальная возможность такого воздействия (прямого и не прямого) вначале была установлена экспериментально, а затем в качестве фактора риска дополнительно оценена компанией – производителем генетически модифицированной кукурузы Levidow, 2003].

Идентификация факторов риска – основание всей процедуры оценки риска. Чем более точно поставлены вопросы о потенциальной опасности ГИД (чем более точно определены факторы риска), тем более достоверны (и убедительны для компетентных проверяющих организаций и общественности) результаты оценки риска. Оценка риска должна быть сфокусирована на постановке вопросов о возможном риске ГИД, опирающихся на научные данные. Следует избегать оценки умозрительных факторов риска, которые не подлежат научной экспериментальной оценке. Это означает, что риск скорее должен быть чем-то проверяемым опытным путем, а не чем-то, опирающимся на необоснованные логические возможности [Conner et al., 2003].

Таблица 4.1

Результаты оценки риска для здоровья человека и окружающей среды генно-инженерных (ГИ) линий масличного рапса¹

Факторы риска	Оценка риска ²	Результаты анализа, на которых основана итоговая величина (оценка) риска	Необходимость управления риском
Токсичность	Очень низкий	<p>Токсикологические исследования свидетельствуют, что токсичность ГИ линии рапса не превышает токсичность линий, полученных методами традиционной селекции.</p> <p>Аминокислотная последовательность белков – продуктов трансгенов (РАТ, Barnase, Barstar и NРТII) не имеет сходства с аминокислотной последовательностью каких-либо известных токсинов.</p> <p>Анализ химического (биохимического) состава линий ГИ рапса не выявил его существенных отличий, возникших вследствие генетической модификации, от традиционных аналогов. Испытания токсичности РАТ и NРТII белков показали, что они не токсичны даже в высоких дозах.</p> <p>Испытания по скармливанию рапса как цельного продукта различным животным не выявили токсических или антипитательных эффектов, которые являлись бы следствием генетической модификации.</p> <p>Уровень естественных токсических веществ – эруковой кислоты и глюкозинолатов – не различался существенно у линий ГИ рапса и традиционного аналога.</p> <p>Основные метаболиты гербицида глюфофината аммония нетоксичны.</p>	Нет
Аллергенность	То же	Аллергенность ГИ рапса маловероятна, так как люди постоянно сталкиваются (контактируют) со всеми новыми белками – продуктами трансгенов. Данные белки продуцируются повсеместно	Нет

продолжение таблицы 4.1

Факторы риска	Оценка риска ²	Результаты анализа, на которых основана итоговая величина (оценка) риска	Необходимость управления риском
		<p>встречающимися в окружающей среде бактериями.</p> <p>Все новые белки ГИ рапса экспрессируются на низком и крайне низком уровне. Их аминокислотная последовательность не имеет сходства с аминокислотной последовательностью каких-либо известных аллергенов.</p> <p>Новые белки быстро разрушаются в желудочно-кишечном тракте человека. В пыльце ГИ рапса трансгены не экспрессируются.</p>	
Опасность превратиться в сорняк	»	<p>Традиционный рапс не является инвазивным растением и считается растением с низкой конкурентоспособностью. ГИ рапс не отличается от традиционного аналога в отношении признаков, обеспечивающих инвазивность: периода цветения; уровня продукции пыльцы и ее жизнеспособности (за исключением мужских стерильных линий); уровня продукции семян, их размера и процента прорастания.</p> <p>ГИ рапс не отличается от традиционного в отношении периода покоя семян, уровня устойчивости к заболеваниям и чувствительности к гербицидам, за исключением чувствительности к глюфофизинату аммония. Потенциал распространения семян ГИ рапса не отличается от такового у традиционных сортов.</p>	Нет
Перенос генов от ГИ рапса близкородственным растениям	Низкий	<p>Рапс – обычно самоопыляющееся растение, но возможно и перекрестное опыление. Наибольший уровень перекрестного опыления наблюдается между близко растущими растениями (на расстоянии ближе 5 м). Он существенно снижается на расстоянии между растениями 5 – 10 м. Перекрестное опыление можно обнаружить и на больших расстояниях (до 2,6 км), но с очень низкой частотой.</p> <p>Если произойдет вертикальный перенос генов от ГИ рапса его традиционным аналогам, риск будет такой же, как в случае линий ГИ рапса. Такие гибриды не будут иметь никаких селекционных преимуществ в отсутствие глюфофизината аммония. Их рост может эффективно контролироваться обычными средствами агротехники, как в случае с традиционными образцами.</p>	Нет

¹ В таблице представлена часть данных оценки риска генетически модифицированных линий рапса (канолы), устойчивых к гербициду глюфофизинату аммония. Оценка риска ГИ линий проведена агрофирмой-производителем Bayer CropScience Pty Ltd (Bayer) с целью их промышленного высвобождения [Bayer, 2003].

² Произведение вероятности неблагоприятного воздействия и величины его последствий.

Например, риск возможного превращения культурного растения в сорняк в результате генетической модификации является фактором риска, который можно оценить измерением опытным путем ряда специальных признаков генно-инженерного растения в сравнении с признаками известных сорных растений (периода покоя семян, всхожести семян, уровня распространения семян, сроков созревания, конкурентоспособности и др.).

Наиболее сложной является, по-видимому, идентификация экологических факторов риска в случае широкомасштабного высвобождения ГИО в коммерческих целях. Уровень управления риском в данном случае наименее жесткий, а экспериментальный

анализ возможных последствий ГИД в условиях сложных иерархических взаимодействий ГИО с компонентами биогеоценоза наиболее труден (опыты по мелкомасштабному высвобождению ГИО далеко не всегда позволяют идентифицировать возможные факторы риска). В процессе оценки экологического риска ГИД относительно велик уровень неопределенности, который зависит как от неполноты научных знаний, так и от правильности выбора причинно-следственной модели ГИД, определяющей постановку научных вопросов о риске. Тогда от формы постановки научно обоснованных вопросов (идентификации факторов риска) зависит, вскрывается ли имеющийся уровень неопределенности в оценке риска ГИД или он игнорируется [Levidow, 2003]. Не проверяемые опытным путем на момент рассмотрения заявки на ГИД факторы риска не должны исключаться из оценки по принципу «нет доказательств — нет риска». Напротив, должны быть разработаны и применены новые методы анализа, устраняющие ту или иную неопределенность. От вскрытого уровня научной неопределенности зависят «объем» применения принципа предосторожности в оценке риска ГИД и соответствующие предварительные меры по управлению риском.

Все факторы риска ГИД обычно классифицируют на те, что несут потенциальную угрозу здоровью человека и сельскохозяйственным животным, и те, которые несут угрозу окружающей среде (родовые системообразующие понятия классификации). Далее факторы риска разделяют по отношению к конкретному виду ГИД: факторы риска ГИД в замкнутых системах либо факторы риска ГИД, связанной с высвобождением ГИО в окружающую среду. Факторы риска классифицируют также в зависимости от природы самих ГИО: обусловленные неблагоприятным воздействием ГИ микроорганизмов, ГИ высших растений либо животных. Кроме того, факторы риска подразделяют в зависимости от порядка взаимодействия ГИО с компонентами окружающей среды в условиях предлагаемой ГИД. Они могут воздействовать на здоровье человека и окружающую среду прямо и опосредованно, через механизмы, включающие: распространение ГИО в окружающей среде; перенос трансгенов от ГИО другим организмам; фенотипическую и генетическую нестабильность; взаимодействие ГИО с другими организмами; изменение порядка хозяйственной деятельности [EU, 2001]. При этом окружающая среда определяется в целом как «земля, воздух или вода» и населяющие их сообщества живых организмов (биогеоценозы). Основные факторы риска ГИД для здоровья человека и окружающей среды, а также подходы к оценке соответствующих рисков будут рассмотрены в главах 5 и 6.

4.9. Сценка риска генно-инженерной деятельности

Оценка риска ГИД не может рассматриваться абстрактно. Деятельность заявителей ГИД, лиц и организаций, осуществляющих оценку и управление риском ГИД, прямо зависит от действующего законодательства, касающегося биобезопасности отдельно взятого государства. М. Levin (1997) сравнивает процедуру оценки риска ГИД с процессом фильтрации. Каждый слой фильтрующего материала увеличивает чистоту продукта, но уменьшает его выход. Малый слой фильтрующего материала приводит к нежелательному сохранению загрязняющих агентов в очищенном продукте; избыточный слой — к низкой скорости фильтрации и экономической невыгодности процесса. Должен быть найден приемлемый баланс между чистотой конечного продукта и объемом его производства. По аналогии, роль оценки риска ГИД заключается в определении необходимого баланса между приемлемым уровнем безопасности ГИД и масштабами внедрения биотехнологии в производство. Роль законодательства по биобезопасности среди прочего — установить правила определения и критерии вышеуказанного баланса.

Принципы построения регуляторной административной системы биобезопасности различны в разных странах и, в частности, существенно различаются в США и странах Европейского Союза. В США нет специфической системы, регулирующей вопросы безопасности ГИД и ответственной непосредственно за оценку риска ГИД. Оценка риска специфичных ГИО осуществляют те же государственные службы, которые оценивают безопасность иных, не генно-инженерных организмов, а также химических, физических и прочих потенциально опасных агентов. К ним относятся: Служба инспекции здоровья животных и растений Министерства сельского хозяйства (Animal and Plant Health Inspection Service – APHIS); Агентство по защите окружающей среды (Environmental Protection Agency – EPA); Агентство по продуктам питания и лекарственным препаратам (Food and Drug Agency – FDA). Оценка риска ГИД (экспертизу заявок) осуществляют специалисты этих государственных учреждений. Такая организация системы оценки риска ГИД свидетельствует, что она направлена прежде всего на сами характеристики оцениваемого объекта, а не на технологию его создания. Данный подход в организации оценки риска отличен от организации оценки риска ГИД, принятой в странах Европейского Союза.

Законодательная система биобезопасности стран ЕС включает ряд директив, правил, поправок к ним, которые регулируют осуществление процедуры оценки риска ГИД и регламентируют при этом взаимодействие на различных административных уровнях (на уровне Европейской комиссии, Европейского парламента, Совета Министров государств – членов ЕС). Законодательная база биобезопасности отдельных государств – членов ЕС должна соответствовать в главных чертах законодательным документам ЕС. Процедура оценки риска различных видов ГИД юридически закреплена в Директивах ЕС: 90/219/ЕЕС; 2001/18/ЕС, Постановлениях 258/97 (ЕС) и 1829/2003 (ЕС) [EU, 1990; 1997; 2001; 2003]. Главным подходом, обозначенным в указанных документах, является то, что ГИО рассматриваются при оценке риска как нечто новое и специальное, для оценки которых существующей законодательной системы недостаточно. В странах ЕС экспертизу заявок на осуществление ГИД проводят специальные научные комиссии, решения же (на основании выводов данных комиссий) принимают компетентные государственные органы. Все это свидетельствует о том, что в отличие от США в странах Европы оценка риска исходит прежде всего из самого процесса создания ГИО [Nap et al., 2003].

Базовые принципы, методика и стандарты оценки риска ГИД разрабатывались и постоянно корректируются соответствующими международными организациями (см. раздел 4.2.1) и представлены в международных документах по биобезопасности [SCBD, 2000] и региональных законах [ЕС, 1990; 2001]. Принципы, критерии и стандарты оценки риска ГИД, установленные международными организациями (FAO, WHO, WTO и др.) и прописанные в Картахенском протоколе по биобезопасности, прямо или косвенно влияют на разработку соответствующей процедуры в отдельных странах. Поэтому, несмотря на различие подходов к организации оценки риска ГИД в разных странах, ее сущность (методология) похожа в своих главных чертах.

Методологические подходы к процедуре оценки риска и ее цели определяются вышеуказанными (см. разделы 4.4 и 4.6) основополагающими принципами и концепциями (принципом принятия мер предосторожности, концепциями осведомленности и существенной эквивалентности). При этом принцип принятия мер предосторожности в законодательных документах европейских стран, регулирующих оценку риска ГИД, является руководящим по отношению к другим принципам, чего требует, в частности, Картахенский протокол по биобезопасности. Оценка риска, кроме того, производится строго на научной основе, индивидуально для каждой конкретной ГИД. Существен-

ность и приемлемость риска определяются с учетом возможных мер по управлению риском и масштаба ГИД. В тех случаях, когда нет ясности относительно уровня риска, ситуация может быть разрешена путем получения дополнительной научной информации по конкретным вопросам или за счет реализации соответствующих стратегий регулирования рисков и/или мониторинга ГИО в среде осуществления ГИД.

Применяемая в разных странах методика оценки риска ГИД в большей или меньшей степени соответствует приведенной выше (см. раздел 4.7) идеальной системе оценки риска. В настоящем разделе мы рассматриваем процедуру оценки риска ГИД, характерную для стран ЕС. Требования к процедуре оценки риска ГИД приведены в директивных документах Европейского Союза [EU, 1990; 2001], являющихся базовыми документами, на основании которых разработаны соответствующие процедуры многих европейских стран, в том числе Республики Беларусь. Оценка риска возможных неблагоприятных последствий использования ГИО включает следующие этапы.

- Выявление любых генотипических и фенотипических характеристик ГИО, связанных с генетической модификацией, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и окружающую среду (выявление факторов риска ГИД). При этом сравнительный анализ ГИО и традиционного аналога в предполагаемых условиях осуществления ГИД будет способствовать идентификации неблагоприятных эффектов, обусловленных именно генетической модификацией исходного организма.

- Оценка возможных последствий каждого неблагоприятного воздействия ГИД, если оно осуществится.

- Оценка вероятности неблагоприятного воздействия каждого идентифицированного фактора риска с учетом характера среды осуществления ГИД и особенностей самой ГИД.

- Оценка риска, обусловленного каждым идентифицированным фактором риска.

- Оценка совокупного риска использования ГИО на основании оценки вероятности воздействия и масштаба последствий выявленных факторов риска.

- Вынесение рекомендаций относительно того, являются ли риски приемлемыми или регулируемы, включая, если это необходимо, определение стратегий для регулирования таких рисков.

Подходы и порядок выявления генотипических и фенотипических характеристик ГИО, несущих потенциальную угрозу здоровью человека и окружающей среде (факторов риска ГИД), рассмотрены в разделе 4.2.7. Несмотря на кажущуюся простоту и ясность дальнейших этапов оценки риска (определения параметров вероятности и последствий неблагоприятного воздействия идентифицированных факторов риска), расчет данных параметров в процентном (численном) выражении весьма сложен, если вообще возможен. Особенно это касается оценки экологических рисков высвобождения ГИО, где высокий уровень научной неопределенности не позволяет пока судить о вероятности не прямых и отдаленных неблагоприятных последствий для окружающей среды [Clark, Lehman, 2001; Zakri, 2001; Weber, 2002; Conner et al., 2003 и др.].

Объективные трудности определения количественных параметров риска, разумеется, не указывают на то, что для оценки риска ГИД не применяются количественные методы анализа. Напротив, процедура оценки риска каждой конкретной ГИД включает в себя множество (сотни) экспериментальных количественных оценок. При этом, однако, измерению чаще подвергаются лишь отдельные показатели ГИО или среды осуществления ГИД, касающиеся оцениваемого риска. Данные показатели (например, концентрация гликоалкалоидов в съедобных частях генно-инженерных растений, индекс токсичности LD₅₀ в экспериментах по принудительному скармливанию оцениваемого агента, время деградации белка в желудочно-кишечном тракте, расстояние

переноса пыльцы генно-инженерного растения ветром и пр.) являются необходимыми для вынесения итогового заключения (на них строится доказательная база уровня риска). При этом только отдельные из них могут с определенной степенью точности дать количественную оценку вероятности осуществления неблагоприятного воздействия. Например, в модельных экспериментах частота трансформации бактерий микрофлоры кишечника плазмидой широкого круга хозяев pGKV21 (которая оказалась ниже порогового уровня детекции 10^{-9}) может быть использована (с некоторыми допущениями) для количественной оценки вероятности горизонтального переноса трансгенов устойчивости к антибиотикам (один из факторов риска ГИД) [Van der Vossen et al., 1998]. Определенные в тестах *in vitro* показатели связывания иммуноглобулинов сыворотки крови чувствительных к пищевой аллергии людей с белковыми аллергенами могут количественно характеризовать аллергенный потенциал ГИО и (в совокупности с данными о вкладе ГИО в пищевой рацион) риск его аллергенности.

Наибольшие затруднения вызывает оценка риска ГИД, если оцениваемый риск обусловлен множественными процессами в их взаимодействии (комплексные риски, которые составляют основную часть из числа оцениваемых). При этом даже с учетом измерения отдельных характеристик ГИО, существенных для оцениваемого воздействия, рассчитать его вероятность и величину последствий практически невозможно (тем более при высоком уровне научной неопределенности). В таком случае на основании измеренных в эксперименте (или уже известных) количественных характеристик существенных признаков или процессов формулируется качественная по форме оценка риска. Для примера приведем один из подходов (концепция ботанических файлов) к оценке риска комплексного экологического фактора риска – переноса транс генов от ГМ высших культурных растений к их диким сородичам в среде высвобождения. Ботанический файл включает количественные данные измерения многих признаков, определяющих возможность вертикального переноса трансгенов. Признаки, включенные в файл, характеризуют оцениваемый вид генетически модифицированных растений в регионе высвобождения. На основании количественных данных рассчитываются индексы вероятности для следующих показателей: 1) распространение пыльцы; 2) распространение репродуктивных частей растений – семян, плодов; 3) масштаб распространения диких родственных видов растений. Каждый индекс подразделяется на 7 уровней потенциального риска, что дает количественное выражение качественным по сути оценкам: 0 – нет вероятности воздействия; 1–5 – градации от низкой до высокой вероятности воздействия; N – неизвестная вероятность воздействия, означающая, что необходимы дальнейшие исследования. Три указанных индекса объединяются и формируют интегральную оценку, которая, собственно, и определяет вероятность и масштаб вертикального переноса трансгенов. Если хоть один из индексов равен 0, риск комплексного фактора оценивается как низкий или практически равный нулю [Conner et al., 2003]. Сложность количественной оценки и большой уровень научной неопределенности при рассмотрении рисков ГИД означает на практике, что оценка риска в большинстве случаев является скорее качественным, нежели количественным анализом [Kinderlerer, 1997].

Тем не менее, согласно идеальной системе и общепринятой методике оценки риска ГИД, качественные оценки риска получают, принимая во внимание комбинацию оценок вероятности неблагоприятного воздействия идентифицированных факторов риска ГИД и масштаба соответствующих последствий. На качественном уровне оценка вероятности воздействия идентифицированных факторов риска может иметь следующую градацию: «высокая», «средняя», «низкая» и «незначительная». Сходным образом последствия неблагоприятных воздействий оценивают как «тяжелые», «сред-

ней тяжести», «малой тяжести» и «незначительные». Оценки риска в такой интерпретации могут оказаться следующими: «высокий», «средний», «низкий» и «практически равный нулю» [ACGM, UK, 2000 (part 2,2d)]. При оценке риска обязательно учитывается комбинация вышеуказанных качественных оценок. Например, если оценка потенциальных последствий воздействия определена как «незначительная», то, даже несмотря на возможную высокую вероятность осуществления данного воздействия, риск будет оценен как «низкий». Результаты проведения оценки риска могут быть выражены в следующей форме (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Оценки риска генно-инженерной деятельности
(риск = масштаб последствий × вероятность неблагоприятного воздействия)

Последствия неблагоприятного воздействия	Вероятность неблагоприятного воздействия факторов риска			
	высокая	средняя	низкая	незначительная
Тяжелые	Высокий риск	Высокий риск	Средний риск	Риск практически равен нулю
Средней тяжести	То же	Средний риск	Средний/малый риск	То же
Малой тяжести	Средний/низкий риск	Низкий риск	Низкий риск	»
Незначительные	Риск практически равен нулю	Риск практически равен нулю	Риск практически равен нулю	»

Исходя из общего подхода к оценке риска ГИД, после оценки отдельных идентифицированных факторов риска определяется кумулятивный эффект согласованного воздействия ГИО на флору и фауну, плодородие почвы, деградацию органических компонентов почвы, пищевые (кормовые) цепи, биологическое разнообразие, здоровье человека и животных, устойчивость живых организмов к антибиотикам и т.д. [EU, 2001]. Оценка такого согласованного воздействия не может быть подчинена каким-либо жестким схемам или правилам, она является творческим процессом (state of the art) [Hayes, 2002]. В итоге оценка риска должна не только вскрывать объективный уровень опасности каждого заявляемого вида ГИД, но и, что не менее важно, определять необходимые меры по управлению риском в период осуществления ГИД. В качестве примера в таблице 4.1 представлены результаты оценки риска генетически модифицированных линий масличного рапса с указанием на необходимость мер по управлению риском ГИД.

4.10. Информация, необходимая для оценки риска генно-инженерной деятельности

В рамках процедуры оценки риска вероятность неблагоприятных воздействий ГИО и масштаб неблагоприятных последствий ГИД (и собственно оценки риска ГИД) определяются путем ответа на множество специальных вопросов, касающихся идентифицированных факторов риска, природы ГИО, среды осуществления ГИД, взаимодействия ГИО со средой осуществления ГИД. Для ответа на эти вопросы заявитель должен получить, проанализировать и предоставить компетентным разрешительным органам соответствующую информацию, которая принципиально идентична по содержанию при оценке риска в различных странах и регламентирована рядом международных документов (например, Директивой 2001/18/ЕС). Организацией по экономическому сотрудничеству и развитию ООН разработаны так называемые согласительные документы (consensus documents), в которых указано, какая именно информа-

ция необходима для оценки риска живых организмов, наиболее часто являющихся объектом генетической модификации [ОЕСД, 2001a].

В каждом конкретном случае при проведении оценки риска учитываются соответствующие научные данные, касающиеся ГИО, реципиентного и донорного организмов, потенциальной принимающей среды и их взаимодействия. Рассмотрим суть регламентированной информации с точки зрения ее существенности для процедуры оценки риска.

Прежде всего анализируется информация *о биологических особенностях организмов, которые были использованы для получения ГИО* (организм-хозяин, реципиент, донор, родительский организм). Информация об исходных для проведения модификации организмах является базовой для сравнения с трансгенными организмами и определяет исходный уровень риска. Например, в случае осуществления ГИД в замкнутых системах весьма существенна информация, касающаяся патогенности исходных организмов, в первую очередь характер репродуктивных циклов исходных организмов; природа их неблагоприятного воздействия на здоровье человека; уровень инфекционности; присутствие генов устойчивости к медпрепаратам; возможное взаимодействие с другими организмами в окружающей среде; способность к формированию структур для выживания (спор, склероций) и ряд других сведений. На основании этой информации определяется необходимый уровень защиты в замкнутых системах, предотвращающий риск заболевания персонала и непредусмотренного высвобождения ГИО.

В случае оценки ГИД, связанной с высвобождением ГИО в окружающую среду, для оценки исходного уровня риска и установления факторов риска ГИО необходимы сведения, касающиеся особенностей размножения и распространения исходных организмов, характеристики их выживания в природной среде, данные о различных формах их токсичности и аллергенности для людей и животных. К примеру, особенности биологии размножения растений-реципиентов определяют стартовую точку для оценки вероятности переноса трансгенов от ГИО другим организмам. Если исходные организмы несут гены, определяющие синтез токсичных, аллергенных компонентов, этот факт при оценке риска ГИД вызовет вопрос о возможности непреднамеренного изменения уровня продукции данных компонентов у ГИО (см. раздел 5.4).

Далее, для оценки риска ГИД весьма подробно рассматривается информация *о природе самой генетической модификации*, включающая среди прочего: метод получения трансгенного организма; особенности и источник вектора; точное описание встроеного в геном реципиента фрагмента ДНК; определение сайтов встраивания и стабильности инкорпорации вставки, а также ряд других сведений. Такого рода информация позволяет проследить, какие именно гены перенесены исходному организму (есть ли среди них те, которые обуславливают повышенный риск, например маркерные гены устойчивости к антибиотикам, гены, определяющие синтез антинутриентов, и пр.). Она также позволяет снизить уровень научной неопределенности, касающейся возможных непреднамеренных эффектов модификации. Так, данные о сайтах встраивания, стабильности трансгенов используют для оценки вероятности возможного изменения активности генов организма-реципиента, плейотропных эффектов модификации. Информация о регуляторных элементах переносимой молекулярной конструкции позволяет судить об ожидаемом уровне экспрессии целевого гена и ее тканеспецифичности.

Следующий блок необходимой для оценки риска информации включает сведения *о биологических особенностях самого модифицированного организма*. Сюда относится подробное описание генотипа и фенотипа ГИО с акцентом на признаках и характеристиках, которые появились либо утратились по сравнению с исходным организмом.

Кроме того, рассматриваются данные о генетической стабильности и уровне экспрессии всех трансгенов (включая маркерные) в геноме ГИО, синтезе кодируемых трансгенами продуктов и тканеспецифичности этого синтеза. Такого рода информация позволяет с определенной степенью надежности сравнивать риск от использования ГИО с уже существующими рисками от использования «традиционных организмов» (аналогов). Например, исходя из уровня продукции кодируемых трансгенами токсинов, антипитательных веществ, аллергенов в съедобных и несъедобных частях генно-инженерного растения, можно обнаружить изменения потенциала токсичности, аллергенности ГИО по сравнению с исходными аналогами. При оценке экологического риска переноса трансгенов растениям популяций диких сородичей ГИО весьма существенна, как уже отмечалось выше, информация о способности модифицированных растений к скрещиванию (фертильность, стерильность, совместимость). Характеристики кодируемых трансгенами белков (биологическая активность; скорость распада в почве после отмирания растений; скорость деградации в желудочно-кишечном тракте; сходство последовательности аминокислот с известными токсичными белками и др.) позволяют оценить их потенциальную опасность для здоровья человека, а также для иных, нецелевых (на являющихся «мишенью» трансгенных признаков) наземных и почвенных организмов.

Наконец, для оценки риска существенна информация *о среде проведения ГИД и о взаимодействии ГИО с принимающей окружающей средой*. Так, информация о степени «замкнутости» системы осуществления ГИД, масштабах высвобождения ГИО определяет возможность управления риском ГИД и, как результат, уровень приемлемости выявленных рисков. Сведения о характере контроля ГИД в замкнутых системах позволяют судить о вероятности непредусмотренного высвобождения ГИО (или пыльцы, семян, плодов ГИО) и тем самым оценить истинную возможность неблагоприятного воздействия ГИО на окружающую среду. Для оценки экологических рисков, возникающих при высвобождении генно-инженерных высших растений (таких, как уменьшение биоразнообразия, угроза появления новых сорных растений и др.), очень важны, к примеру, сведения о биологических особенностях ГИО, которые могут повлиять на его выживаемость, конкурентоспособность в среде высвобождения. Наличие либо отсутствие в регионе высвобождения диких сородичей ГИО также существенно влияет на оценку риска. Наиболее значим риск вертикального переноса трансгенов в регионах – центрах происхождения культурных растений, где наблюдается наибольшее представительство и плотность произрастания диких сородичей ГИО. С точки зрения оценки рисков генно-инженерных микроорганизмов для окружающей среды важна информация о факторах среды, способствующих их размножению, распространению, о возможных организмах-носителях, о наличии в окружающей среде организмов, которые могут быть инфицированы и поражены и т.д. Данная информация наряду с иными сведениями позволяет принять решение, например, о возможности использования генно-инженерных микроорганизмов в производстве продуктов питания, лекарственных препаратов и мерах защиты персонала.

Информация о порядке взаимодействия ГИО с компонентами среды: уровне токсичности продуктов трансгена для других организмов; участии ГИО в пищевых цепях – позволяет судить об угрозе ГИД для нецелевых организмов, о возможности резкого изменения динамики численности природных популяций. Так, сведения о насекомых, подверженных действию трансгенного Vt-протеина, дают возможность рассматривать угрозу уничтожения полезных насекомых наряду с вредителями при культивировании устойчивых модифицированных растений. Информация о действии трансгенного гормона роста и цепях питания морских организмов позволяет оценить возможность

неконтролируемого увеличения численности трансгенных рыб за счет быстрого роста их малька и снижения масштабов его «поедания» другими рыбами. Данные о порядке взаимодействия трансгенных растений и инфицирующих их вирусов помогают оценить риск так называемой транскспидации (см. раздел 11.2 главы 6).

Как и предусматривает идеальная система оценки риска, информация, необходимая для оценки риска ГИД, носит строго научный характер и собирается из различных источников. Основным источником — результаты экспериментальных (исследовательских) работ, проведенных специально в процессе оценки риска ГИД, или известные заранее. К примеру, оценка риска высвобождения генетически модифицированных растений может потребовать более 1000 разнообразных экспериментальных проверок, учета знаний о представителях флоры и фауны региона высвобождения, о принятых в конкретной стране приемах земледелия и основах землепользования, характерных климатических условиях и т.д. [AgBios (MON 810, GTS 40-3-2); Bayer, 2003]. Кроме данных непосредственного анализа ГИО и его взаимодействия со средой осуществления ГИД, источником информации являются данные моделирования ГИД (математического, компьютерного и т.д.). Анализ результатов модельных экспериментов важен для оценки экологических рисков масштабного высвобождения ГИО, когда речь идет об оценке отдаленных во времени последствий воздействия ГИО. При этом не всегда корректно оперировать сведениями, полученными путем прямых измерений процесса мелкомасштабного, контролируемого высвобождения [Watkinson et al., 2000; Eastham, Sweet, 2002]. Оценка риска базируется, конечно, и на теоретических научных знаниях и, прежде всего, на теоретических основах наследственности и изменчивости организмов (законах Менделя, законе гомологических рядов Вавилова, законах популяционной генетики и пр.).

Литература к главе 4

- Adler J.* More sorry than safe: assessing the precautionary principle and the proposed international biosafety protocol // *Tex. Int. Law J.* 2000. Vol. 35. P. 173–205.
- AgBios, Principles and Practice of Environmental Safety Assessment of Transgenic Plants. Part No. AGBESAM-01-099B Agriculture and Biotechnology Strategies (Canada) Inc.(MON 810 Case Study), 2001. — 147 p. (см. также AgBios Date Base. MON 810 Environmental Risk Assessment Case Study. http://www.agbios.com/static/books/esa_mon810_preface.html).
- AgBios Date Base. GTS 40-3-2 Food Safety Assessment Case Study. <http://www.agbios.com/>
- Barrett K.J.* Canadian Agricultural Biotechnology: Risk Assessment and the Precautionary Principle. Ph.D. Thesis. Vancouver: University of British Columbia, 1999.
- Bayer (Bayer CropSciences Pty Ltd.). Commercial release of genetically modified canola. Risk Assessment and Risk Management Plan. Consultation Version. Application for license for dealings involving an intentional release into the environment. DIR 021/2002, 2003. P. 1–128.
- CBD (Convention on Biological Diversity). 1992. Montreal, Canada: United Nations Environmental Program (UNEP), Secretariat on Biological Diversity (<http://www.biodiv.org/doc/legal/cbd-en.pdf>).
- Clark E.A., Lehman H.* Assessment of the GM crops in commercial agriculture // *J. of Agricultural and Environmental Ethics.* 2001. Vol. 14. P. 3–28.
- Conner A. J., Glare T.R., Nap J.P.* The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment // *The Plant J.* 2003. Vol. 33. P. 19–46.

- DEFRA UK (Department for Environment, Food and Rural Affairs, UK) Risk assessment for release and marketing of GMOs in the European Union. Paper by UK Joint Regulatory Authority and Secretariat to ACRE. 2000. P. 1–5. <http://www.defra.gov.uk/environment/gm/index.htm>.
- Doerfler W.* Foreign DNA in mammalian systems. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000.
- Doyle J.J., Persley G.J.* Enabling the safe use of biotechnology. Principles and practice // Environ. Sustainable Develop. Studies and Monographs Series. 1996. No. 10. P. 1–73.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization). Biotechnology and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 30 September – 4 October 1996. FAO Food and Nutritional Paper 61. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1996 (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- FAO/WHO. Report of the first session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology (ALINORM 01/34). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000 (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- Eastham K., Sweet J.* Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. A review and interpretation of published literature and recent/current research from the ESF 'Assessing the Impact of GM Plants'(AIGM) programme for the European Science Foundation and the European Environment Agency. Environmental issue report No. 28. EEA. Copenhagen, 2002. – 75 p.
- EC. Communication from the Commission on the Precautionary Principle. Commission of the European Communities, Brussels, 26 January 2000. COM.
- EU Council Directive of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms (90/ 219/EEC). 1990.
- EU Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients // Off. J. Eur. Commun. 1997. L43. P. 1–7.
- EU Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/ 220/EEC // Off. J. Eur. Commun. 2001. L106. P. 1–23.
- EU Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed // Off. J. Eur. Union. 2003. L268. P. 1–23.
- Foster K.R., Vecchia P., Repacholi M.* Science and the precautionary principle // Science. 2000. Vol. 288. P. 979–981.
- Gullet W.* Environmental protection and the "precautionary principle": a response to scientific uncertainty in environmental management // Environ. Plann. Law J. 1997. Vol. 14. P. 52–69.
- Hayes K.* Environmental Risk Assessment for GMO's. CSIRO Biodiversity sector – GMO risk assessment initiative. 2002. P. 1–35. (<http://www.agbiotech.net>).
- Kinderlerer J.* Tools of Regulation. An Initiative of the United Nations Environment Program (UNEP) Guide to Risk Assessment and Biosafety in Biotechnology, GRABB, 1997.
- Kuiper H. A.* Safety evaluation of genetically modified foods and animal feed as a basis for market introduction // Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction / Ed. M. Horning. The Hague: Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 7–19.
- Kuiper H. A., Kleter G. A., Noteborn H. P. J. M., Kok E.J.* Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods // The Plant J. 2001. Vol. 27, No. 6. P. 503–528.
- Levidow L.* Precautionary risk assessment of Bt maize: what uncertainties? // J. of Invertebrate Pathology. 2003. Vol. 83 P. 113–117 (<http://www.elsevier.com/locate/yjipa>).

- Levin M.* Ecological Issues Related to Release of Microorganisms. An Initiative of the United Nations Environment Program (UNEP) Guide to Risk Assessment and Biosafety in Biotechnology, GRABB, 1997.
- Mahoney R.* Opportunity for agricultural biotechnology // *Science*. 2000. Vol. 288. P. 615.
- McLean M.A., Frederick R.J., Traynor P.L. et al.* A conceptual framework for implementing biosafety: linking policy, capacity and regulation. Briefing Paper 47. The Hague, the Netherlands: International Service for National Agricultural Research. 2002. P. 11 (<http://ftp.cgiar.org/isnar/publicat/bp-47.pdf>).
- Nap J.P., Metz P.L.J., Escaler M., Conner A.J.* The release of genetically modified crops into the environment. Part I. Overview of current status and regulations // *The Plant J*. 2003. Vol. 33. P. 1 – 18.
- Nielsen K. M., Gebhard F., Smalla K. et al.* Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413 // *Theor. Appl. Genet*. 1997. Vol. 95. P. 815 – 821.
- NRC (US National Research Council) (1989). Field Testing Genetically Modified Organisms: Framework for Decision. Washington DC: National Academy Press.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology: Concepts and Principles. OECD, Paris, 1993. P. 1 – 74.
- OECD. Safety Considerations for Biotechnology: Scale-up of Crop Plants, OECD, Paris, 1993.
- OECD. Expert Group on The Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, Consensus documents, 1998-99. OECD, Paris: 2001, Inter-Agency Network for Safety in Biotechnology (<http://www.oecd.org/ehs/cd.htm>).
- Peterson R.K.D.* Risk as a science // *Agricultural and Biological Risk Assessment. Biotechnology Risk Assessment date: Facts and Conclusions*. USDA and University of Florida, 2002 (<http://www.riskassess.org/index.cfm>).
- SCBD (Secretariat of the Convention on Biological Diversity) Cartagena protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity: Text and Annexes. Montreal: Secretariat on Biological Diversity. 2000 (<http://www.biodiv.org/doc/legal/cartagena-protocol-en.pdf>).
- Segal M., Kinderlerer J., Howe G., Levin M.* Current Procedures for Applying Risk Assessment. An Initiative of the United Nations Environment Program (UNEP) Guide to Risk Assessment and Biosafety in Biotechnology, GRABB, 1997.
- Seidler R.J., Wartrud L.S., George S.E.* Assessing risks to ecosystems and human health from genetically modified organisms // *Handbook of environmental risk assessment and management* / Ed. P. Calow Publisher: Blackwell Science Ltd. Oxford, UK, 1998. P.1 10 – 146.
- Smalla K., Borin S., Heuer H. et al.* Horizontal transfer of antibiotic resistance genes from transgenic plants to bacteria – are there new to fuel the debate? // *Proc. of the 6th International Simp. on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, July 2000 (Saskatoon, Canada). P. 146 – 154.
- The Royal Society of Canada. Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada. An Expert Panel Report on the Future of Food Biotechnology prepared by The Royal Society of Canada at the request of Health Canada Canadian Food Inspection Agency and Environment Canada, 2001. P. 1 – 242 (<http://www.rsc.ca>).
- Van der Vossen J.M.B.M., Havekes W.A.L.M., Koster D.S. et al.* Development and application of in vitro intestinal tract model for safety evaluation of genetically modified foods // *Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction* / Ed. M. Horning. The Hague: Ministry of Economic Affairs. P. 81 – 96.
- Watkinson A.R., Frickleton R.P., Robinson RA., Sutherland W.J.* Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops // *Science*. 2000. Vol. 289. P. 1554 – 1557.

Weber B. How can we feel sure about the safety of transgenic plants? Risk assessment dialogue. 2002 (<http://www.agbiotech.net>).

Zakri A.H. International standards for risk assessment and risk management of biotechnology. ICTSD Workshop on Biotechnology, Biosafety and Trade: Issues for Developing countries, Bellevue, Switzerland 18– 20 July 2001. – 4 p.

Глава 5

ОЦЕНКА РИСКА ВОЗМОЖНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

5.1. Основные факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека

5.1.1. Факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека в замкнутых системах. При оценке риска ГИД в замкнутых системах в первую очередь оцениваются факторы риска для здоровья человека и животных, так как высвобождения ГИО в окружающую среду не предусматривается. К их числу можно отнести следующие потенциально опасные эффекты ГИО [EU, 1990]:

- Возможные токсичные (включая канцерогенные, мутагенные) и (или) аллергенные эффекты ГИО или продуктов их метаболизма.
- Вероятные вредные воздействия целевых продуктов ГИД (возможных токсинов, цитокинов, аллергенов, гормонов и других биологически активных веществ, которые могут вызвать неблагоприятные последствия при попадании в чувствительные органы, ткани организма человека и животных).
- Сравнительная патогенность генно-инженерных микроорганизмов по сравнению с донором, реципиентом (исходным родительским организмом).
- Способность к микробному обсеменению (колонизации).
- Если ГИО является патогенным по отношению к иммунокомпетентным людям, кроме прочих рассматриваются следующие факторы его патогенности: тип вызываемого заболевания; механизм патогенности, включающий способ проникновения патогенного организма и вирулентность; инфекционная доза; спектр возможных носителей и возможность его изменения; возможность выживания ГИО вне организма человека; биологическая стабильность ГИО и способ его распространения.

5.1.2. Факторы риска генно-инженерной деятельности для здоровья человека, связанной с высвобождением ГИО в окружающую среду или их использованием в хозяйственной деятельности. Высвобождение патогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду не предусматривается. Поэтому основными факторами риска для здоровья человека высвобожденных или поступивших на товарный рынок ГИО являются их вероятная токсичность и аллергенность. В целом к факторам риска в данном контексте можно отнести:

- токсичность ГИО (продуктов, изготовленных из ГИО, включающих ГИО) и снижение питательной ценности продуктов питания и кормов;
- аллергенность ГИО (продуктов, изготовленных из ГИО, включающих ГИО);
- перенос трансгенов микроорганизмам, обуславливающий их устойчивость к лекарственным препаратам, применяемым для лечения человека и животных (на пример, маркерных трансгенов устойчивости к антибиотикам);
- непреднамеренная экспрессия генов реципиентного организма или нестабильность трансгенов.

Таким образом, основными факторами риска, которые могут вызвать неблагоприятные последствия для здоровья человека, являются: 1) потенциальная патогенность ГИО; 2) потенциальная токсичность ГИО и новых продуктов питания; 3) потенциальная аллергенность ГИО и новых продуктов питания; 4) возможность горизонтального переноса генов устойчивости к антибиотикам от ГИО патогенной микрофлоре желудочно-кишечного тракта человека.

5.2. Оценка риска патогенности ГИО для человека

Оценка риска генно-инженерной деятельности исходит из того, что патогенные для человека и животных организмы не должны высвободиться в окружающую среду ни при каких обстоятельствах. Поэтому, если в рамках генно-инженерной деятельности предполагается работа с известными патогенными организмами (будь то организмы-реципиенты, доноры, итоговые ГИО) или с недостаточно исследованными организмами, которые могут оказаться патогенными, она обязательно должна осуществляться в замкнутых системах. При этом все выполняемые в процессе ГИД операции, касающиеся генетической модификации, хранения, культивирования, транспортирования или уничтожения патогенных организмов, осуществляются при условии обязательного соблюдения специальных защитных мер (физических, химических, биологических), эффективно ограждающих персонал и окружающую среду от контакта с патогенными организмами и от неблагоприятного воздействия патогенных организмов. Проведение ГИД в замкнутых системах должно обеспечить охрану здоровья и безопасность следующих категорий людей: предполагаемых пользователей продуктов ГИД; персонала лабораторий или предприятий, занимающихся ГИД; других людей, которые так или иначе могут контактировать с ГИО; населения региона осуществления ГИД в случае случайного высвобождения ГИО.

Основы принятой в настоящее время процедуры оценки риска патогенности в рамках ГИД изложены, в частности, в Директиве Европейского Союза 90/219/ЕЕС от 23 апреля 1990 года, регулирующей меры биобезопасности ГИД в замкнутых системах [EU, 1990]. Директива регулирует использование в замкнутых системах в исследовательских и промышленных целях исключительно генно-инженерных микроорганизмов (ГИМ). Деятельность, связанная с генно-инженерными животными и растениями, данным документом не рассматривается. Однако при разработке законодательства по биобезопасности во многих европейских странах Директива 90/219/ЕЕС служила базовым документом, и ее положения распространены также на ГИД с участием эукариотических организмов. Более того, само свойство патогенности для человека присуще именно микроорганизмам, а содержание в замкнутой системе животных и растений может быть продиктовано иными рисками – их токсичностью, аллергенностью, возможностью неблагоприятных экологических воздействий.

Процедура оценки риска патогенности ГИО, представленная ранее в Директиве 90/219/ЕЕС и модифицированная с учетом современных знаний, включает следующие этапы [ACGM, Part 2A, 2000]:

- Рассмотрение биологических свойств ГИМ для установления предполагаемой патогенности их для человека и величины последствий их неблагоприятного воздействия.
- Оценка вероятности того, что в случае контакта ГИМ с человеком данные организмы действительно окажут неблагоприятное воздействие на его здоровье (включая рассмотрение уровня научной неопределенности).
- Определение необходимого уровня защиты, «замкнутости» (level of containment) системы ГИД. Вынесение предварительного заключения о достаточности предлагае-

мых мер защиты здоровья человека при сравнении ГИМ с биологическими объектами разных групп патогенности.

- Рассмотрение сущности предполагаемой деятельности и детальный обзор необходимых мер контроля для защиты здоровья человека.
- Определение любых потенциальных рисков для окружающей среды и дополнительных мер изоляции на случай непреднамеренного высвобождения патогенных организмов в окружающую среду.
- Определение класса ГИД в замкнутых системах (1, 2, 3 или 4-й класс «замкнутости»).

5.2.1. Определение масштабов потенциального неблагоприятного воздействия генно-инженерных микроорганизмов на здоровье человека. Патогенность итогового ГИМ определяется следующими объективными параметрами: биологическими особенностями организма-хозяина (реципиента) и донора; природой используемого вектора; природой трансгенов и генетической модификации в целом. При этом существенно, что в результате генетической модификации в организм-хозяин привносится только небольшая (по сравнению с имеющейся) часть новой генетической информации. Причем привносимый ген или гены являются хорошо известными в отношении их структуры и кодируемых ими признаков. Таким образом, патогенность итогового ГИМ чаще всего определяется уровнем патогенности организма-хозяина, хотя несомненно, что вследствие генетической модификации данный уровень может быть так или иначе изменен. Следовательно, стартовой точкой оценки риска патогенности ГИМ является заключение о том, насколько уровень риска патогенности, обусловленный ГИМ, сравним с таковым исходного для модификации организма-хозяина (реципиента).

Патогенность микроорганизмов является комплексным признаком и определяется активностью и взаимодействием многих генов. Процедура оценки патогенности в связи с этим начинается с рассмотрения соответствующих признаков организма-хозяина, которые могут вызывать заболевания человека. Внимание должно быть сфокусировано на рассмотрении уровня вирулентности, инфекционности и продукции токсинов, способности микроорганизмов к колонизации, уровня их патогенности для иммунокомпетентных людей, механизма переноса инфекции и др. [Kinderlerer, 1997]. В международной практике принято выделять четыре группы организмов в соответствии с величиной их патогенности [ACGM, 2000]:

- Группа риска 1. Организмы, которые не способны вызывать болезни человека.
- Группа риска 2. Организмы, способные вызвать заболевания человека, которые могут быть опасны для лабораторного персонала, но их распространение среди населения маловероятно. Контакт с ними в лабораторных условиях редко приводит к инфицированию. Хорошо определены меры профилактики соответствующего заболевания или существуют эффективные методы лечения.
- Группа риска 3. Организмы, способные вызвать тяжелые заболевания человека, которые представляют серьезную опасность для персонала лаборатории. Они опасны с точки зрения распространения среди населения, но определены меры эффективной профилактики соответствующего заболевания или существуют эффективные методы лечения.
- Группа риска 4. Организмы, способные вызвать тяжелые заболевания человека, которые представляют серьезную опасность для персонала лаборатории. Риск распространения их среди населения значительный, эффективные меры профилактики и лечения соответствующих заболеваний не известны.

Следует отметить, что в некоторых странах бывшего Советского Союза, например Российской Федерации, Беларуси, принята классификация, согласно которой непато-

генные микроорганизмы относятся к 4-му уровню риска, а наиболее опасные – к 1-му уровню риска.

Группа риска организма-хозяина во многом определяет уровень патогенности конечного ГИМ и соответствующие меры защиты в замкнутой системе. Например, штамм К-12 кишечной бактерии *E. coli*, который часто используется как организм-хозяин для создания ГИМ, был специально получен на основе кишечной палочки дикого типа. В нем не проявляются некоторые характерные для *E. coli* признаки, обуславливающие ее патогенность (штамм К-12 стал после модификации авирулентным для человека). Дикий тип *E. coli* относился к группе риска 2, модифицированный – к группе риска 1 [Kinderlerer, 1997]. Оценка риска ГИМ, полученного вследствие переноса трансгенов в *E. coli* К-12, должна вскрыть те особенности ГИМ, которые уменьшают или увеличивают уровень риска, характерного для исходного организма-хозяина, и установить соответствующие меры защиты (обычно в случае генно-инженерной *E. coli* К-12 используют замкнутые системы второго уровня защиты из четырех возможных). К бактериям третьей группы риска относятся, в частности, *Bacillus anthracis*, *Chlamidia psittaci*, бактерии родов *Brucella* и *Mycobacterium*. К микроорганизмам четвертой группы риска относятся только ряд опасных вирусов (например, вирусы геморрагической лихорадки).

Генетическая модификация способна увеличить исходный уровень патогенности организма-хозяина в том случае, если сами трансгены обуславливают признаки, способствующие патогенности ГИМ, или же в результате непреднамеренных эффектов модификации. В первом случае оценка риска направлена на исследование природы привносимого в геном хозяина генетического материала и продуктов его экспрессии. При этом необходимо выяснить, имеют ли продукты трансгенов биологическую активность, способную оказать неблагоприятное воздействие на здоровье человека (являются ли они токсическими веществами, факторами вирулентности, цитокинами, гормонами, аллергенами и пр.). Важно также оценить степень их экспрессии в ГИМ. Если для трансформации использованы последовательности ДНК организма-донора, экспрессия которых может существенно повысить патогенность ГИМ, он должен быть отнесен в группу более высокого риска, чем та, к которой относился организм-хозяин (реципиент).

Большинство производимых модификаций не включает использование генов, продукты которых могут повысить исходный уровень патогенности организма-хозяина. Однако исходные показатели патогенности могут быть изменены за счет непреднамеренных эффектов модификации. Оценка риска проявления непреднамеренных эффектов генетической модификации подразумевает ответ на следующие вопросы [ACGM, Part 2A, 2000]:

- Наблюдается ли увеличение уровня инфекционности и патогенности у ГИМ по сравнению с исходным организмом?
- Может ли вставка трансгенов вернуть активность «удаленных», нежелательных мутаций организма-хозяина?
- Кодировать ли трансгены детерминанты патогенности, характерные для близкородственных организмов? Примерами детерминант патогенности являются бактериальные токсины, бактериальные пилы, капсулы и др.
- Если привносимые последовательности ДНК кодируют детерминанты патогенности, возможно ли то, что они повысят патогенность ГИМ?
- Если вызываемые организмом-хозяином заболевания поддаются лечению, возможно ли, что его эффективность (при случайном инфицировании людей) понизится вследствие генетической модификации?

Чтобы оценить риск патогенности ГИМ, обусловленный уровнем патогенности исходных организмов и генетической модификацией, заявитель ГИД и разрешающие ГИД государственные органы собирают и анализируют обширную научную информацию. Характер необходимой информации представлен, в частности, в Приложении III Директивы 90/219/ЕЕС [EU, 1990]. В соответствии с требованиями Директивы на первом этапе оценки риска патогенности ГИМ заявителем определяется следующее.

А. Характеристики доноров, реципиентов или родительских организмов, главными из которых являются: источники выделения организмов, информация об их репродуктивных циклах, сведения о предшествующих генетических манипуляциях с ними, природа патогенности и вирулентности; уровень заразности, токсичность и наличие векторов, переносящих заболевания; присутствие генов, которые определяют устойчивость к медицинским препаратам; возможное взаимодействие с другими организмами в окружающей среде; способность к формированию структур для выживания (спор, склероций) и ряд других.

Б. Характеристики ГИМ, главными из которых являются: описание природы модификации, включая методологию проведения модификации; функции новой конструкции; природу и источник вектора; частоту мобилизации введенных векторов и способность к генетической трансформации; уровень экспрессии нового генетического материала; активность продуцируемого белка и ряд других.

В. Характеристики ГИМ, представляющие вероятную угрозу здоровью человека, в частности токсический и аллергенный эффект ГИМ и продуктов их метаболизма; биологические особенности ГИМ по сравнению с донором и реципиентом относительно патогенности; способность к колонизации, вероятность патогенности для иммунокомпетентных людей, механизм переноса заболевания, возможность эффективной терапии, наличие носителей устойчивости к антибиотикам и прочее.

Г. Характеристики, связанные с окружающей средой, в частности факторы, влияющие на размножение и распространение ГИМ в окружающей среде; методы идентификации ГИМ и вероятных случаев передачи новой генетической информации от ГИМ другим организмам; предполагаемые природные организмы – носители ГИМ; вероятное воздействие ГИМ на растения и животные (патогенность, вирулентность, токсичность, аллергенность); возможность и методы обеззараживания среды в случае высвобождения ГИМ и ряд других.

Информация, рассматриваемая заявителем на первом этапе оценки риска ГИМ, включает в себе, таким образом, весьма подробную характеристику биологических особенностей исходных организмов и ГИМ и определяет масштаб вероятных вредных последствий контакта ГИМ с человеком и окружающей средой. В итоге первого этапа процедуры оценки риска генетически модифицированный организм относят к одной из четырех выше указанных групп риска. Биологические характеристики ГИМ (критерии), которые позволяют отнести их в ту либо иную группу риска, представлены, в частности, в Директиве 90/219/ЕЕС. Например, совокупность критериев, определяющая принадлежность ГИМ к первой группе риска (непатогенные организмы), следующая [EU, 1990]:

- Ни родительские, ни реципиентные организмы при производстве ГИМ не должны быть патогенными для человека и животных. К моменту осуществления ГИД накоплен значительный опыт безопасной работы с ними; они имеют ограниченную жизнеспособность в окружающей среде, вне реакторов и ферментеров.

- Векторы (молекулярные вставки) должны быть тщательно охарактеризованы и не нести известных последовательностей, кодирующих вредные для здоровья человека признаки. Векторы должны иметь ограниченные размеры, удовлетворяющие строго намеченным целям ГИД, и не должны увеличивать стабильность ГИМ в окружающей

среде. Векторы не должны передавать микроорганизмам никакие отсутствующие в природных условиях генетические маркеры устойчивости к лекарственным препаратам.

- ГИМ должны быть непатогенными и такими же безопасными при работе с ними в производственных и лабораторных условиях, как исходные организмы, но с ограниченной способностью к размножению в окружающей среде и без вредных последствий такого размножения.

Если итоговый ГИМ не удовлетворяет отдельным выше перечисленным критериям или их совокупности, его относят в одну из групп риска, характеризующую патогенные организмы.

5.2.2. Определение вероятности неблагоприятного воздействия генно-инженерных микроорганизмов на здоровье человека. Выявленный на первых этапах процедуры оценки риска потенциал патогенности ГИМ может реализоваться в виде того или иного неблагоприятного воздействия на здоровье человека с определенной вероятностью. Если данная вероятность близка к нулю, итоговый риск ГИМ вряд ли стоит рассматривать как существенный (см. раздел 4.2.8).

Выше мы уже отмечали, что патогенность ГИМ как таковая определяется целым комплексом признаков. Точно так же сама вероятность неблагоприятного воздействия фактора патогенности для человека зависит от проявления ряда биологических особенностей ГИМ в их взаимодействии. Прежде всего, она определяется возможностью осуществления редких событий (таких, как горизонтальный перенос генов) и признаками приспособленности ГИМ к условиям внешней среды (их потенциалом к выживанию и распространению во внешней среде) [ACGM, Part 2A, 2000]. Точность оценки вероятности воздействия патогенных ГИМ (даже на качественном уровне) существенно зависит при этом от полноты и качества полученной на предыдущем этапе оценки риска соответствующей информации. В случае, когда нет достаточных научно обоснованных доказательств низкой вероятности воздействия патогенных ГИМ на здоровье человека (когда уровень неопределенности высокий), вероятность такого воздействия не может быть проигнорирована. Тогда, согласно принципу принятия мер предосторожности, до получения дополнительных сведений уровень «замкнутости» системы осуществления ГИД должен соответствовать выявленным характеристикам патогенности при допущении, что вероятность ее реализации существенна.

Концепция приспособленности (fitness) трудна для точного определения. Ее характеризует совокупность признаков, определяющих потенциал ГИМ к распространению в окружающей среде (способность ГИМ проникать в организм человека и других носителей, выживать в них и размножаться). К таким признакам относятся, например, способность ГИМ к колонизации в организме человека, способность плазмид ГИМ (автономно реплицирующихся, экстрахромосомных фрагментов ДНК бактерии) к мобилизации хромосомы и др. Если генетическая модификация, повышая патогенность, одновременно существенно снижает жизнеспособность ГИМ вне оптимизированных лабораторных условий культивирования, то маловероятно, что такой ГИМ будет распространяться и вызывать инфекцию, если произойдет его случайное высвобождение.

В отдельных случаях представляется возможным точно или в известном приближении рассчитать вероятность относительно редких событий, определяющих возможность неблагоприятного воздействия фактора патогенности. Хорошим примером при этом является вероятность горизонтального переноса плазмид (от одной бактериальной клетки другой), несущих гены, существенные для проявления патогенности. Данные о частоте горизонтального переноса плазмид разного типа (конъюгативных и неконъюгативных) для различных видов микроорганизмов хорошо известны. Сходным образом можно измерить частоту редких рекомбинационных событий, определяющих возможность встраивания генов патогенности в ДНК бактериальной хромосомы (плаз-

миды) [Kinderlerer, 1997; ACGM, 2000]. С учетом этих показателей можно с достаточной степенью точности оценить, например, вероятность горизонтального переноса генов, обуславливающих патогенность ГИМ, непатогенным микроорганизмам в случае непреднамеренного высвобождения ГИМ в окружающую среду. В итоге полученные на данном этапе показатели отдельных признаков, характеризующие потенциал размножения, распространения, выживания ГИМ вне оптимальных лабораторных условий, в совокупности определяют качественную оценку вероятности неблагоприятного воздействия ГИМ (вероятность инфекции).

5.2.3. Определение необходимых мер защиты в зависимости от уровня патогенности генно-инженерных микроорганизмов. Конечная оценка риска патогенности ГИМ для человека определяется по результатам исследований, проведенных на двух предварительных этапах. Качественные оценки риска (высокий, средний, малый, близкий к нулю) основаны на вероятности неблагоприятного воздействия на человека генно-инженерных микроорганизмов, относящихся к определенной группе риска (имеющих определенный уровень патогенности). При этом группа риска ГИМ фактически указывает на природу факторов риска и масштаб последствий их воздействия. Кумулятивная оценка риска ГИД учитывает также не рассмотренные нами в настоящем разделе возможности воздействия ГИМ на окружающую среду в случае их непредвиденного высвобождения и характер самой генно-инженерной деятельности. Исходя из полученной кумулятивной оценки риска ГИД для здоровья человека, заявитель и разрешающие ГИД компетентные органы должны определить параметры используемой замкнутой системы и меры безопасности при работе с ГИМ (фактически меры управления выявленным риском). Принято выделять четыре класса замкнутых лабораторных систем для работы с патогенными организмами (не обязательно ГИМ) [Kinderlerer, 1997; EU, 1990].

Уровень 1 является наименее «замкнутым». На этом уровне при работе с ГИМ достаточно соблюдать обычные меры безопасности и гигиены, характерные для «хорошей микробиологической практики» [OECD, 1992]. При работе с ГИМ остальных групп риска (патогенные) кроме обычных приемов работы, характерных для «хорошей микробиологической практики», следует соблюдать дополнительные меры безопасности. В этом случае требуются специальные условия осуществления ГИД, предусматривающие физические, биологические, химические приемы изоляции ГИМ от окружающей среды (в том числе изоляцию от ГИМ персонала, осуществляющего ГИД). Необходимые технические параметры замкнутых систем уровней защиты 2–4, порядок работы и личной гигиены персонала при осуществлении ГИД с патогенными микроорганизмами изложены, в частности, в приложении IV к Директиве 90/219/ЕЕС [EU, 1990]. В таблице 5.1 представлены основные требования к замкнутым системам различного уровня защиты.

Кроме потенциальной патогенности другие существенные для здоровья человека риски ГИД обусловлены прежде всего потенциальной токсичностью, аллергенностью генно-инженерных организмов, которые непосредственно являются продуктами питания или представляют исходное сырье для изготовления новых продуктов питания. Поэтому особенности данных рисков для здоровья человека мы рассмотрим ниже в рамках принятой процедуры оценки биобезопасности новых продуктов питания (являющихся ГИО, изготовленных из ГИО, включающих ГИО).

Таблица 5.1

Основные требования безопасности к лабораторным замкнутым системам различного уровня, используемым для осуществления ГИД (EU, 1990)

Необходимые требования	Уровень 1	Уровень 2	Уровень 3	Уровень 4
Изоляция лабораторных помещений	Нет	Нет	Частичная	Да
Возможность дезинфекции горячим паром	Нет	Нет	Да	Да
Поверхности, устойчивые к воздействию воды, кислот, растворителей, дезинфицирующих агентов и моющих средств	Обязательны для рабочих столов	Обязательны для рабочих столов	Обязательны для рабочих столов и пола	Обязательны для рабочих столов и пола
Вход в лабораторное помещение через «воздушный шлюз»	Нет	Нет	Желательно	Да
Наличие отрицательного атмосферного давления в помещениях по сравнению с внешней средой	Нет	Нет	Да	Да
Принудительная вентиляция через фильтры HEPA с высокой степенью защиты	Нет	Нет	Да, в случае выведения воздуха из лаборатории	Да, в случае забора и выведения воздуха
Ламинар-боксы с принудительным потоком воздуха	Нет	Желательно	Да	Да
Специальные микробиологические помещения (изолирующие боксы) для безопасной работы	Нет	Желательно (первого класса безопасности)	Да (1–3-го классов безопасности)	Да (третьего класса безопасности)
Автоклавы	В лабораторном комплексе	В лабораторном помещении	В лабораторном помещении	В лабораторном помещении, отделенном двойными дверями от других помещений
Наличие душа	Нет	Нет	Желательно	Да

5.3. Сценка риска потенциальных вредных воздействий на здоровье человека традиционного пищевого сырья продуктов питания

Оценка качества традиционных продуктов питания, длительное время присутствующих на товарном рынке, и оценка безопасности новых продуктов питания (изготовленных по новым технологиям, с применением новых пищевых добавок и пр.) до поступления их на товарный рынок является обычной практикой. В большинстве случаев такая оценка безопасности заключается в анализе возможных неблагоприятных воздействий на здоровье человека пищевых добавок (красителей, эмульгаторов, консервантов и пр.), применяемых для изготовления продуктов питания, и пищевых загрязнителей (остатков пестицидов, лекарственных ветеринарных средств, гормональных препаратов, микотоксинов и пр.). Фактически речь идет об оценке потенциальной токсичности пищевых ксенобиотиков (чужеродных компонентов продуктов питания) химической и биологической природы [Козубова, 1990]. Риск в этом случае представляется как вероятность того, что ксенобиотик, присутствующий в продуктах питания,

окажет неблагоприятное воздействие на здоровье человека с определенной величиной последствий этого воздействия, и выражается как

$$\text{риск} = \text{токсичный агент} \times \text{подверженность человека данному агенту [Kuiper et al., 2001]}.$$

Таким образом, при оценке риска вредного воздействия на здоровье человека продуктов питания речь идет в основном об оценке риска их отдельных, хорошо известных компонентов. Соответствующие факторы риска определяют как биологические, химические или физические агенты, содержащиеся в продуктах питания, либо состояние продуктов питания, которые потенциально могут причинить ущерб здоровью человека [FAO/WHO, 2000a]. Целью оценки биобезопасности является предоставление необходимой информации организациям, принимающим решение о поступлении продуктов на товарный рынок, для адекватной защиты населения от неприемлемых рисков. К настоящему времени накоплен значительный опыт токсикологической оценки пищевых продуктов, основанный как на лабораторных исследованиях с животными, так и на анализе случаев неблагоприятного воздействия на человека токсичных агентов различной природы.

Стратегия оценки безопасности отдельных пищевых компонентов разработана рядом международных организаций и, прежде всего, Всемирной организацией здравоохранения [WHO, 1987, 1990]. Процедура оценки включает этапы: 1) идентификация потенциально токсичных, антипитательных, аллергенных компонентов (факторов риска) и их предварительная токсикологическая оценка; 2) токсикологические лабораторные исследования идентифицированных загрязнителей; оценка зависимости доза-эффект; оценка подверженности людей токсичному воздействию (уровня потребления загрязнителя); 3) собственно оценка риска токсичности, определение основных, характеризующих токсичность параметров.

На первом (подготовительном) этапе проводится предварительная оценка потенциала токсичности загрязнителей. Оцениваемые потенциально опасные пищевые загрязнители идентифицируются аналитическими лабораторными методами; исследуются их физико-химические свойства. Главной составляющей этого этапа оценки риска является первичная токсикологическая оценка исследуемых агентов в остром эксперименте на модельных животных (в основном на грызунах). При изучении острой токсичности экспериментатор получает информацию о наличии токсических свойств у испытуемого вещества, степени их выраженности, параметрах токсичности и клинической картине острого отравления. Острая токсичность определяется неблагоприятными эффектами, регистрируемыми у лабораторных животных после однократного принудительного скармливания им исследуемых загрязнителей. Для скармливания используют химически чистые оцениваемые вещества в различных дозировках (максимальные дозы могут быть 2000–5000 мг/кг) [Лойт, 1992; OECD, 2001b]. По результатам острого эксперимента определяются показатель токсичности загрязнителя («средне-смертельная» доза LD₅₀) и его доверительные статистические границы. Показатель LD₅₀ является статистически рассчитанной дозой вещества, которая при однократном скармливании может вызвать гибель 50% животных. Он выражается в единицах массы оцениваемого вещества в пересчете на массу тела животного (мг/кг) и определяет, способен ли оцениваемый пищевой компонент вызывать острую токсическую реакцию организма. В ходе острого эксперимента устанавливается ориентировочная пороговая (подпороговая) доза загрязнителя для последующего хронического испытания токсичности. Кроме того, в тесте на острую токсичность вещества проводят обязательные наблюдения над животными (обычно в течение 48 ч после скармливания оцениваемого вещества). Оценивают изменения веса тела, кожных покровов, шерсти, слизистых обо-

лочек, состояния кровеносной, респираторной и центральной нервной систем, поведенческих реакций и соматомоторных реакций. Эти и целый ряд других наблюдений позволяют уточнить механизм действия токсического вещества и определить характер его неблагоприятного воздействия.

На втором (основном) этапе оценки безопасности традиционных продуктов питания устанавливается токсикологический профиль испытуемых веществ. При этом в серии хорошо зарекомендовавших себя испытаний определяется характер токсикокинетики идентифицированных агентов (биологический механизм токсического воздействия) и их токсикокинетика (характер химического, биохимического превращения в организме) [OECD, 2001a]. Экспериментально установленная на втором этапе исследований зависимость доза–эффект определяет вероятность неблагоприятного воздействия исследуемого загрязнителя при обычном для данной популяции людей уровне его потребления (т.е. токсикологический потенциал исследуемого агента). Оценка принятого уровня потребления продукта включает в себя измерение среднесуточного объема потребления, частоты потребления и продолжительности потребления. Учитывая все вышеназванные параметры, оценивают риск неблагоприятного воздействия токсичного агента.

Оценка риска токсичности на данном этапе осуществляется в ходе субхронического (хронического) эксперимента на лабораторных животных. Он предоставляет исследователю обширную информацию о точках приложения токсикантов (биологических «мишенях»), характере их неблагоприятного воздействия. Хронический эксперимент моделирует реальную ситуацию потребления оцениваемого агента человеком и потому имеет наибольшее значение среди других тестов. При необходимости исследуются также специфические неблагоприятные эффекты загрязнителей: их генотоксичность, канцерогенность и мутагенность, репродуктивная, онтогенетическая токсичность и иммунотоксичность. В субхроническом испытании принудительное скормливание вещества проводят ежедневно в течение 28–90 дней. Используют ряд доз; каждая группа животных получает только одну определенную дозу испытуемого вещества. Уровень доз выбирают по имеющимся предварительным данным его токсичности. Наивысшая дозировка должна вызывать явный токсический эффект, но не приводить к массовой гибели животных. Понижая дозировку, в тесте определяют пороговую дозу вещества, которая не вызывает регистрируемого неблагоприятного воздействия, – так называемый показатель NOAEL (no adverse effect level), или Дмн (максимально не действующая доза). Токсический эффект вещества определяют с помощью измерения (ежедневного и периодического) целого ряда показателей, таких как изменение веса тела животного; уровень потребления пищи и воды; характер токсической реакции в зависимости от дозы вещества; данные анализа крови и гистологических исследований; уровень смертности и др. [Кузубова, 1990; Савченков, 1992; OECD, 2001b].

Результаты испытания токсичности пищевых компонентов в острых и хронических тестах на животных экстраполируются далее на человека (условно третий этап оценки). Оценка токсичности в итоге сфокусирована на определении уровня дневного потребления исследуемого агента человеком (с учетом веса тела), которое не оказывает вредного воздействия на здоровье (так называемая приемлемая доза дневного потребления, ADI; или, в русскоязычной литературе – допустимая суточная доза, ДСД). Показатель ADI рассчитывают исходя из установленной в эксперименте величины NOAEL с учетом коэффициента безопасности. В большинстве случаев в применении к человеку для определения ADI используется коэффициент $\times 100$ ($ADI = NOAEL \times 100$), чтобы учесть различия в чувствительности к токсичным агентам человека и животных [Kuiper et al., 2001]. Схема стандартной процедуры оценки токсичности пищевых ксенобиотиков представлена на рисунке 5.1.

Следует отметить, что риск, связанный с потреблением продуктов питания, не определяется исключительно их загрязнением токсическими веществами или утратой ими качества (например, вследствие неправильного хранения). Абсолютно безопасных продуктов питания не существует. Даже традиционные продукты с продолжительной историей употребления в пищу могут содержать те или иные естественные для них компоненты, оказывающие неблагоприятные эффекты на здоровье человека (природные токсины, аллергены, антагонисты питательных веществ (антинутриенты), вещества с потенциальным мутагенным и канцерогенным действием и пр.). Вероятность их неблагоприятного воздействия на человека определяется многими факторами: их содержанием в продуктах питания, взаимодействием с другими компонентами продукта, состоянием защитных систем индивида, экзогенными средовыми факторами, объемом продукта в пищевом рационе и многими другими. К настоящему времени идентифицированы и достаточно полно исследованы как экзогенные, так и многие естественные компоненты пищевых продуктов, которые оказывают вредный или положительный эффекты на здоровье человека. Естественные для продуктов питания потенциально опасные для здоровья человека вещества также не могут игнорироваться при оценке пищевой безопасности, как и эффекты различного рода контаминантов [Kuiper et al., 2001].

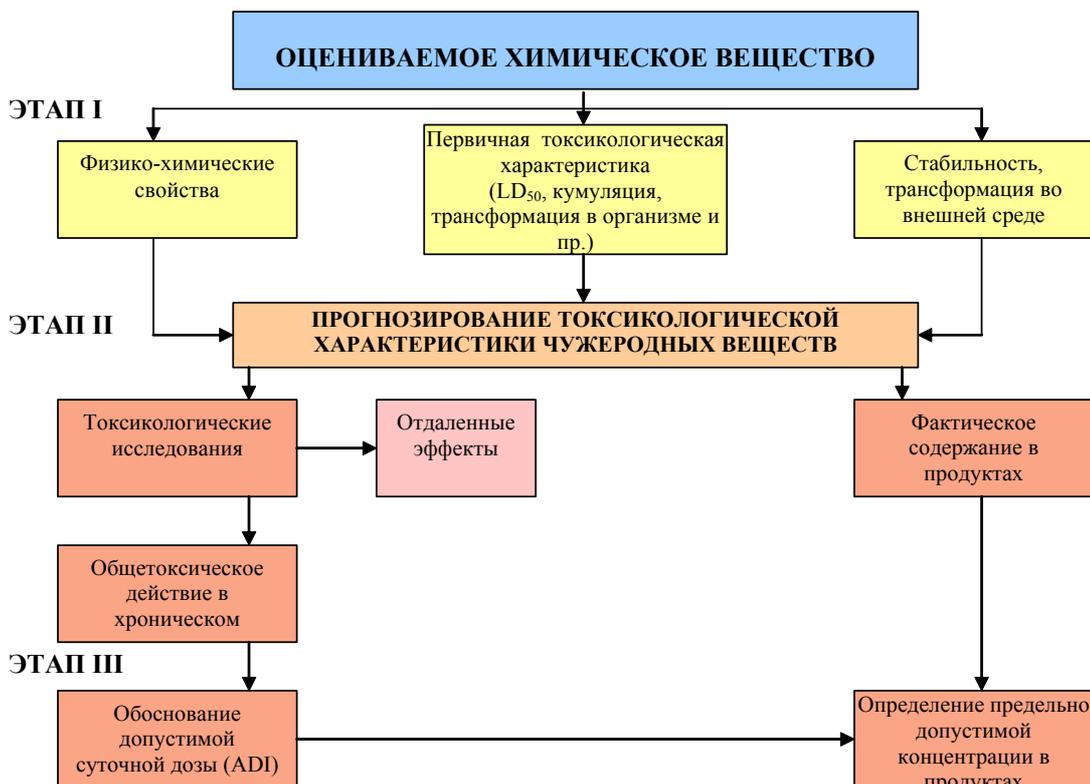


Рис. 5.1. Схема процедуры оценки риска потенциальной токсичности чужеродных веществ, содержащихся в традиционных продуктах питания (модифицированная схема, представленная в работе Л.И. Козубовой [1990])

Несмотря на это, продукты и пищевое сырье, которые получены с использованием традиционных технологий, имеющих длительную историю применения, не являются объектами скрупулезного и исчерпывающего исследования их безопасности и питательной ценности. Например, сорта растений, созданные методами традиционной селекции, не являются объектом испытаний острой и хронической токсичности в тестах на лабораторных животных. Исключением служат продукты, предназначенные для кормления грудных и малолетних детей. Относительная безопасность традиционных продуктов питания гарантируется длительной историей их безопасного использо-

вания человеком. Риски, обусловленные природными эндогенными компонентами продуктов и их взаимодействием, могут быть адекватно оценены только при испытании продуктов питания как единого целого. Однако осуществление таких испытаний и анализ полученных результатов связаны с определенными трудностями, указанными нами в следующем разделе.

5.4. Подходы к исследованию пищевой безопасности генно-инженерных организмов

Генетическая модификация организмов, используемых для изготовления пищевых продуктов или непосредственно употребляемых в пищу, не обуславливает обязательного привнесения в продукты питания экзогенных, вредных для здоровья человека агентов. По сравнению с исходными, считающимися безопасными организмами ГИО содержит лишь несколько (2–3) новых генов наряду с 25–35 тысячами уже существующих, и соответственно в ГИО осуществляется синтез нескольких хорошо охарактеризованных с точки зрения безопасности молекулярных продуктов трансгенов. Тем не менее генетическая модификация может так или иначе изменить уровень безопасности исходных организмов и традиционных продуктов.

Токсический (аллергенный) потенциал исходного организма-хозяина может возрасти по ряду причин. Во-первых, в результате встраивания трансгена возможно увеличение уровня продуцируемых естественных токсических веществ и антагонистов питательных веществ (эффект сверхпродукции), что в свою очередь может привести к росту уровня их потребления и к возрастанию вероятности неблагоприятного воздействия на здоровье людей. Во-вторых, токсический потенциал исходного организма-хозяина может вырасти вследствие изменения метаболизма и аккумуляции токсичных метаболитов. В-третьих, токсичным (аллергенным) для человека может все-таки оказаться сам продукт трансгена (например, если он принадлежит к белкам, не являющимся компонентами традиционных продовольственных организмов и не имеющим истории безопасного потребления).

Таким образом, оценка риска ГИО и ГМ продуктов питания необходима. Ее цели хорошо сформулированы в законодательстве государств ЕС, регулирующем поступление на рынок новых пищевых продуктов. В частности, в постановлении Европейской комиссии (ЕС) 1829/2003 регламентируется поступление на рынок ГИО для пищевых целей: продуктов питания, состоящих или включающих ГИО; продуктов питания, изготовленных из ГИО или содержащих ингредиенты, произведенные из ГИО. В соответствии с этим документом ГИО, предназначенные для потребления в пищу, не должны представлять риска для здоровья человека и окружающей среды и не отличаться в худшую сторону от ранее производимых продуктов по питательной ценности [EU, 2003].

Успешное применение указанной выше процедуры оценки риска в приложении к ГИО и новым продуктам питания зависит во многом от возможности точно идентифицировать фактор риска. Если установлено, что в результате генетической модификации произошли изменения лишь отдельных компонентов пищевого сырья (добавились отдельные белки, изменилось содержание некоторых метаболитов), то традиционные подходы к исследованию токсичности полностью применимы для исследования ГИО. Напротив, если выяснится, что генетическая модификация имела следствием плейотропные эффекты, множественные изменения состава пищевых компонентов (так называемые непреднамеренные эффекты модификации), то идентифицировать отдельные потенциально токсичные, аллергенные агенты затруднительно. Следовательно, речь в данном случае должна идти не только об оценке риска отдельных хими-

ческих (биологических) агентов, но об оценке риска целого продукта как комплекса важных для здоровья человека веществ.

Однако при оценке цельных пищевых продуктов традиционные подходы к оценке пищевой безопасности не всегда приемлемы. Во-первых, продукт является, как правило, сложным комплексом макро- и микропитательных веществ (макро- и микронутриентов), антагонистов питательных веществ, природных токсинов, характеризующихся значительной вариацией состава и питательной ценности. При этом в тестах по принудительному скармливанию цельного продукта животным невозможно оценить количественные параметры токсичности, относящиеся к каждому отдельному его компоненту. Во-вторых, пищевые продукты могут характеризоваться небольшими различиями между безопасным и очевидно опасным уровнем содержания природных токсических веществ (например, гликоалкалоидов), что усложняет расчет параметров NOAEL в опытах на животных и применение коэффициента « $\times 100$ » для определения ADI. Для отдельных микропитательных веществ (например, витамина А) различие между полезными для здоровья и токсичными дозами потребления также чрезвычайно мало [Kuiper, 2001].

Таблица 5.2

Различия между оценкой риска отдельных химических веществ и цельных продуктов питания в тестах на лабораторных животных¹

Оценка отдельных веществ	Оценка цельных продуктов
Обычно это отдельные, химически идентифицированные соединения	Сложная смесь многих соединений, большей частью не идентифицируемых
Наибольшая дозировка должна вызывать неблагоприятный эффект, относящийся исключительно к оцениваемому агенту	Наибольшая дозировка, не нарушающая пищевой рацион животных и не вызывающая питательного дисбаланса, маловероятно приведет к проявлению неблагоприятного эффекта
Низкие дозы обычно составляют менее 1% пищевого рациона	Высокие дозы обычно составляют более 10% пищевого рациона
Легко применять дозировки, достаточные для гарантированной безопасности ($>100 \times$ уровень потребления человеком)	Трудно или невозможно применять дозировки, превышающие более чем в несколько раз обычный уровень потребления. Поэтому нет коэффициента безопасности « $\times 100$ »
Острый токсический эффект очевиден	Острый эффект, иной, нежели вследствие несбалансированности питания, обычно отсутствует
Эффекты «питательности» обычно отсутствуют	Эффекты «питательности» обычно присутствуют
Специфический порядок метаболизма обычно может быть определен и оценен	Сложный метаболизм многих ингредиентов с обычно не идентифицируемым характером
Причины эффектов обычно ясны	Эффект обычно отсутствует; если он проявляется, то может быть обусловлен рядом причин, выделить из которых одну практически невозможно

¹ Данные представлены в отчете Института по пищевым технологиям (IFG, 2000).

Более того, оценка продуктов питания как единого целого в тестах на животных проблематична сама по себе с точки зрения методики ее проведения. Необходимую минимальную дозу исследуемого продукта, сравнимую с дневным потреблением его человеком, очевидно, далеко не всегда возможно использовать в длительных опытах по скармливанию лабораторным животным (требуемая продолжительность субхронического теста на токсичность ГИО – 90 дней [FAO/WHO, 2000b]). В данном случае неблагоприятные эффекты у лабораторных животных могут возникнуть не за счет воздействия потенциально вредных компонентов, а за счет нарушения баланса их пищевого рациона (продолжительного кормления фактически одним и тем же продуктом). Биологическое усвоение отдельных компонентов продукта животными также зависит от состава пищевого рациона в целом и может быть неестественным вследствие нарушения его баланса. Кроме того, у человека и животных различна чувствительность к ряду специфических токсинов [Kuiper, 2001]. В таблице 5.2 представлены основные разли-

чия тестов на токсичность при оценке отдельных веществ с хорошо известной химической структурой и цельных продуктов питания.

Таким образом, эффективная система оценки пищевой безопасности ГИО и новых продуктов должна строиться с учетом следующих фактов [FAO/WHO, 2003].

- Традиционное исходное сырье и традиционные продукты питания не являются объектами систематического химического, токсикологического анализа или анализа питательных свойств. Их безопасность основана на длительной истории безопасного использования человеком.

- Традиционные исследования на животных достаточно эффективны, если касаются известных токсических веществ, выделенных в чистом виде. Но они не могут быть столь же просто применимы к исследованию продукта питания как единого целого.

- Из-за трудностей традиционного токсикологического исследования и анализа риска в приложении к цельным пищевым продуктам для оценки пищевой безопасности требуется мультидисциплинарный подход, основанный на концепции существенной эквивалентности и принимающий во внимание как преднамеренные, так и непреднамеренные изменения, которые могут проявиться в ГИО или новых продуктах питания в результате генетической модификации.

5.5. Применение концепции существенной эквивалентности для оценки безопасности генно-инженерных организмов и новых продуктов питания

Как уже указывалось выше, полученные путем традиционной селекции организмы не являются объектом скрупулезного анализа потенциальной токсичности, аллергенности, хотя известно, что они могут содержать ряд вредных соединений. При этом на основании длительного исторического опыта допускается, что новая комбинация генов, созданная в процессе традиционной селекции продовольственных организмов и определяющая ряд новых для них признаков, не будет представлять угрозы для здоровья человека (например, каждый новый сорт ячменя будет именно ячменем и уровень риска от употребления соответствующих продуктов не увеличится). Принимая во внимание данное допущение, а также методические проблемы, возникающие при исследовании цельных новых продуктов питания (ГИО как целого), в основу оценки их безопасности положена концепция существенной эквивалентности, разработанная OECD и дополненная FAO/WHO [OECD, 1993a; FAO/WHO, 2000b]. Согласно определению OECD, концепция существенной эквивалентности предусматривает, что традиционные продукты или пищевое сырье могут служить базой для сравнения при оценке безопасности или питательной ценности новых продуктов. Данный сравнительный подход предусматривает, что: 1) традиционные продукты не являются абсолютно безопасными; 2) в случае, если новые продукты питания или их компоненты эквивалентны по существенным характеристикам традиционным продуктам или пищевым компонентам, их можно использовать таким же образом, не ожидая вредных дополнительных эффектов для здоровья человека.

Следовательно, безопасность нового продукта должна рассматриваться не вообще, а по отношению к традиционному аналогу. Определение «традиционный аналог» в приложении к ГИО или новым продуктам означает близкородственный организм, его компонент или сходные продукты, для которых имеется значительный опыт безопасного употребления в качестве пищи. Главная цель оценки риска, построенной на концепции существенной эквивалентности, – скорее не попытка идентифицировать любой источник опасности, ассоциированный с продуктами питания, но идентифицировать новые или измененные «старые» опасности по сравнению с традиционным аналогом. Оценка сфокусирована, во-первых, на идентификации сходства и различия

между новой пищей (сырьем) и традиционным аналогом; во-вторых, на оценке безопасности идентифицированных различий. Выбор аналога для сравнения весьма важен. Лучшим аналогом для определения существенной эквивалентности является исходный для генетической модификации организм (родительская, практически изогенная линия). Однако такой аналог не всегда доступен. В этом случае OECD рекомендует использование нескольких генетически близких контрольных образцов (других сортов того же вида растений, близких штаммов микроорганизмов, пород животных) или сходных продуктов, уже присутствующих на товарном рынке, чтобы определить, являются ли выявленные различия следствием естественной вариации либо следствием генетической модификации [OECD, 1993 a].

Существенная эквивалентность ГИО и аналога устанавливается путем демонстрации того, что значимые для оценки пищевой безопасности характеристики ГИО и новых продуктов сходны с таковыми у традиционных аналогов [Kuiper, 1998]. При этом эквивалентность устанавливается по фенотипическим (морфологическим) признакам, по химическому составу ключевых соединений, характеру метаболизма, составу метаболитов и по питательной ценности [Schauzu, 2000; Kuiper, 1998; Kuiper et al., 2001]. Понятие существенной эквивалентности законодательно закреплено в специальном постановлении ЕС [EU, 1997; Regulation EC 258/97, 1997], где указано, что помещаемые на товарный рынок новые продукты питания должны быть эквивалентны существующим традиционным продуктам в отношении их состава, питательной ценности, метаболизма, характера употребления и уровня нежелательных веществ.

Таким образом, анализ существенной эквивалентности предполагает прежде всего композиционный анализ ГИО (нового продукта) и его аналогов. При этом исследуются ключевые компоненты сравниваемых организмов (продуктов), которые наиболее важны для здоровья человека: питательные вещества и их антагонисты; токсичные вещества, аллергены и др. [FAO/WHO, 2003]. Среди питательных ключевых веществ выделяют главные (жиры, белки, углеводы) и минорные (минералы, витамины); к антагонистам питательных веществ относятся в основном ингибиторы определенных ферментов. Под ключевыми токсинами подразумевают известные природные соединения и вещества, присутствующие в оцениваемом сырье или продуктах, обладающие существенной для здоровья человека токсической потенциальностью (например, соланин в картофеле).

Характер композиционного анализа при оценке пищевой безопасности (его масштабы, приемлемая точность) является предметом обсуждения, и единых критериев пока не выработано. Организация по экономическому сотрудничеству и развитию (OECD) в рамках своей деятельности разработала специальные Согласительные документы (Consensus Documents) по отношению к организмам, наиболее часто используемым для генетической модификации, где регламентированы обязательные для анализа существенной эквивалентности группы соединений [OECD, 2001]. Дополнительные исследования проводятся при необходимости, в зависимости от каждого рассматриваемого случая ГИД. При любых обстоятельствах композиционный анализ предполагает сотни отдельных биохимических исследований и является весьма дорогостоящим. В таблице 5.3 представлен, например, список некоторых ключевых компонентов генно-инженерного масличного рапса, проанализированных для определения его существенной эквивалентности аналогам в рамках процедуры оценки риска при его высвобождении на товарный рынок в странах ЕС

В предусмотренной процедуре определения существенной эквивалентности могут быть три варианта результатов: 1) ГИО (новый продукт) эквивалентен традиционному аналогу по существенным признакам; 2) ГИО (новый продукт) эквивалентен традиционному аналогу по существенным признакам, за исключением целевых (привне

Таблица 5.3

Ключевые компоненты масла и семян генно-инженерного масличного рапса, проанализированные в рамках процедуры установления его существенной эквивалентности традиционным аналогам

Фирма – заявитель ГИ рапса, осуществляющая оценку риска	Исследованные питательные и антипитательные ключевые компоненты
Plant Genetic Systems	Общее содержание масла Уровень глюкозинолата Состав жирных кислот в масле Содержание эруковой кислоты (антипитательный компонент)
Monsanto	Общее содержание белка Общее содержание жиров Общее содержание углеводов Содержание волокон Профиль аминокислот Профиль жирных кислот Содержание эруковой кислоты Уровень глюкозинолата Уровень синапина

¹ Представленные в таблице данные взяты из работы M.Y. Noordametal. (1998).

рузы, картофеля, томатов). При этом молекулярные продукты трансгенов подвергаются интенсивному исследованию с точки зрения их вероятной токсичности, аллергенности. Анализируются вероятные непредвиденные эффекты вставки гена, изменения метаболических путей и содержания метаболитов. В случае не эквивалентности сравниваемых организмов (продуктов питания) проводятся наиболее полные исследования безопасности отличительных признаков ГИО (новых продуктов питания). Объем и характер исследований зависят тогда от каждого конкретного случая оценки риска и диктуются выявленными особенностями исследуемого генно-инженерного организма или продукта питания, а также характером ГИД [Kuiper, 1998; Kuiper et al., 2001]. Принципиальная схема процедуры оценки пищевой безопасности ГИО, основанная на концепции существенной эквивалентности, представлена на рисунке 5.2.

Анализ существенной эквивалентности является ключевым шагом в процессе оценки безопасности ГИО и новых продуктов питания. Но это не оценка их безопасности сама по себе. Скорее это ее стартовая точка, которая заключается в биохимическом профильном анализе ГИО и новых продуктов по сравнению с аналогами и которая определяет наиболее оптимальную линию дальнейшей оценки безопасности выявленных отличительных признаков. Так как, за редким исключением, целью генетической модификации является привнесение в организм нового признака, результатом обязательно будет различие ГИО и аналога, как минимум, по составу трансгенов и экспрессии соответствующих молекулярных продуктов трансгенов. Тогда собственно оценка риска выявленных существенных различий (единичных или множественных) проводится с целью установить, насколько уровень безопасности для здоровья человека ГИО и новых продуктов отличается от такового, присущего их аналогам [Schauzu, 2000].

сенных) признаков модификации; 3) ГИО (новый продукт) не эквивалентен традиционному аналогу по существенным признакам. В первом случае (например, крахмал, полученный из генетически модифицированного картофеля) дальнейших тестов для определения безопасности не требуется (крахмал идентичен тому, который употреблялся многие годы ранее и не вызывал неблагоприятных эффектов).

Во втором случае существенная эквивалентность установлена по важнейшим признакам, за исключением тех, которые определяются трансгенами. Поэтому дальнейшие исследования должны быть сфокусированы на безопасности проявления именно этих признаков (например, на безопасности эндогенного Vt-протеина в генно-инженерных растениях куку-



Рис. 5.2. Стратегия оценки безопасности новых продуктов питания, построенная на принципе «существенной эквивалентности» (модифицированная схема Н.А. Kuiper [1998])

Концепция существенной эквивалентности неоднозначно принимается научными кругами и общественностью. Она подвергалась критике как псевдонаучная и неприемлемая для оценки риска ГИД. Противники данного подхода прежде всего подчеркивают, что сам термин «существенная эквивалентность» не определяет специфику нужных исследований и вызывает разночтения. Например, Н.И. Miller (1999) указывает, что «существенная эквивалентность не претендует на научную формулировку; это концептуальное средство для производителей новых продуктов и правительственных, регулирующих безопасность организаций; она не определяет, не ограничивает специфичность и количество тестов, необходимых для оценки пищевой безопасности». Подчеркивается, что существенная эквивалентность – это не более чем утверждение, указывающее на аналогию. В то же время, чтобы научно доказать или опровергнуть данное утверждение, нужны основанные на статистике результаты масштабных анализов, которые подтверждают либо отвергают нулевую гипотезу. Критики концепции аргументируют, что в отношении многих высвобожденных генно-инженерных образцов растений в США и Канаде их существенная эквивалентность аналогам была подтверждена лишь композиционным анализом ограниченного числа соединений и более их безопасность никогда не оценивалась. Демонстрация их существенной эквивалентности аналогам в отношении потенциальной токсичности и аллергенности ограничивалась анализом исключительно целевых продуктов трансгенов [Clark, Lehman, 2001]. Кроме того, высказывалось мнение, что современное состояние знаний в генетике не позволяет с достаточной степенью определенности судить о взаимоотношениях между генами, химическим составом и потенциальной токсичностью пищевых компонентов. Поэтому невозможно отделить существенные признаки для анализа эквивалентности от признаков несущественных [Millstone et al., 1999]. Ряд исследователей придерживаются мнения, что оценка риска для новых продуктов питания должна проводиться в рамках традиционной процедуры токсикологических исследований с определением показателя ADI (без анализа существенной эквивалентности) [Millstone et al., 1999; Clark, Lehman, 2001 и др.]. Однако, как уже было указано выше, такой подход применим только к отдельным веществам (например, к хорошо известным белкам с определенной структурой, которые могут быть синтезированы в микробиологических системах и скармливаться лабораторным животным в нужных дозах без ущерба для общей

питательной ценности пищевого рациона). С точки зрения ГИО и новых продуктов питания процедура, основанная на концепции существенной эквивалентности, является на сегодняшний день, по коллегиальному мнению экспертов ряда компетентных международных организаций, наиболее удачной и подходящей стратегией оценки риска [FAO/WHO, 2000b, 2003]. В то же время они отмечают, что данный подход должен развиваться и изменяться с учетом новых научных знаний и аналитических возможностей.

5.6. Процедура оценки риска ГМ продовольственного сырья и продуктов питания

Как уже отмечалось в главе 4, принятая в мировой практике методика оценки риска генно-инженерной деятельности предусматривает идентификацию всех возможных ее неблагоприятных эффектов (прямых и опосредованных, проявляющихся сразу и отдаленных) и анализ вероятных последствий их проявления. С точки зрения новых пищевых продуктов оценка риска включает в себя следующие этапы: идентификацию факторов риска для здоровья человека, обусловленных генетической модификацией живых организмов (а не всех, присущих данному продукту); если таковые идентифицированы – определение вероятности их вредного воздействия и масштаба этого воздействия. Согласно концепции существенной эквивалентности, процедура оценки риска должна включать сравнительный анализ новых продуктов питания с их традиционными аналогами, сфокусированный на определении сходств и различий между ними. Если обнаружены новые по сравнению с аналогом факторы риска или произошло изменение ранее присутствовавших факторов, риск, ассоциированный с ними, должен быть адекватно оценен. При этом основными направлениями оценки риска перед высвобождением новых продуктов на товарный рынок являются следующие [Schauzu, 2000; Kuiper, 1998; Kuiper et al., 2001; Chessy, 2002]:

- Безопасность любых непреднамеренных эффектов модификации (изменения состава ключевых компонентов, путей метаболизма).
- Безопасность новых белков, продуктов трансгенов (токсический, метаболический эффекты новых продуктов трансгенов).
- Изменение аллергенного потенциала (аллергенность белков – продуктов трансгена, изменение аллергенности вследствие плейотропного эффекта генетической модификации).
- Снижение питательной ценности и изменение роли новых продуктов (их компонентов) в пищевом рационе групп населения.
- Возможность переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам микрофлоре желудочно-кишечного тракта и снижения вследствие этого эффективности традиционной терапии.

Методика оценки пищевой биобезопасности построена на научных принципах, изложенных нами ранее (раздел 4.6). Оценка риска включает как анализ цельных продуктов питания, так и отдельных их компонентов в сравнении с соответствующими аналогами. При этом во внимание принимаются как преднамеренные, так и непреднамеренные эффекты генетической модификации. В целом оценка пищевой безопасности представляет собою последовательный, шаг за шагом, процесс анализа информации и данных исследований, относящихся к изучаемой проблеме. Ниже представлена общая структура оценки безопасности продуктов питания, изготовленных из генно-инженерных растений (являющихся генно-инженерными растениями или включающих генно-инженерные растения), так как именно эта категория новых продуктов питания превалирует на товарном рынке. Этапы процедуры оценки риска продуктов питания, изготовленных из иных ГИО, принципиально сходны, хотя в дан-

ном случае могут приниматься во внимание и другие факторы в зависимости от каждого оцениваемого продукта. Процедура оценки риска продуктов, изготовленных из генно-инженерных растений, включает среди прочих этапов анализ процесса генетической модификации, а именно [FAO/WHO, 2003]:

- описание модифицированного организма (исходного сырья);
- описание исходного организма-хозяина и порядка его использования в качестве пищи;
- описание организма-донора;
- описание самого процесса генетической модификации;
- характеристику генетической модификации.

На данном этапе собирается и анализируется имеющаяся информация об исходных организмах и ГИО. Особенно важна информация о тех признаках исходных организмов, которые представляют угрозу здоровью человека: об уровне их токсичности, аллергенности. Значима также информация о порядке и истории безопасного употребления в пищу исходных для модификации организмов, о принятых методах их переработки и влиянии на токсичность конечных продуктов. Кроме того, анализируется информация о способе трансформации, о полном составе трансгенов введенной конструкции ДНК, включая гены устойчивости к антибиотикам, о целевых кодируемых признаках и их экспрессии. На указанном этапе анализа важно показать, что гены организма-донора, ответственные за продукцию токсических и антипитательных веществ, не входили в состав трансгенной конструкции.

Для определения непреднамеренных эффектов модификации весьма важна информация о том, затронула ли вставка трансгена уникальные кодирующие последовательности ДНК организма-хозяина или регуляторные последовательности (что может привести к изменению экспрессии генов исходного организма). С этой точки зрения желательно также получить сведения об открытых рамках считывания во вставленной конструкции и прилегающих районах генома хозяина, которые могут инициировать синтез новых, не целевых продуктов. В результате анализа указанной информации на данном этапе оценки риска устанавливается вероятность переноса от организма-донора генов, отвечающих за синтез потенциально опасных для здоровья человека веществ; определяется природа новых белков – продуктов трансгена и порядок их экспрессии; устанавливается вероятность непреднамеренных эффектов модификации (возможность изменения исходного потенциала токсичности, аллергенности).

Далее следует этап инструментального (практического) анализа безопасности ГИО и новых продуктов. Он включает, во-первых, сравнительный анализ состава ключевых компонентов (композиционный анализ) и оценку метаболитов. Данный этап очень важен как для анализа существенной эквивалентности новых и традиционных продуктов, так и для собственно анализа риска выявленных отличий в составе компонентов и метаболитов ГИО. Проводимые исследования должны быть сфокусированы на доказательстве того, что уровень продукции компонентов, характеризующих исходный потенциал токсичности, аллергенности, питательной ценности, существенно не изменился в результате непреднамеренных эффектов модификации. Кроме того, данные этого этапа оценки риска показывают возможные изменения путей метаболизма и характера аккумуляции метаболитов, представляющих угрозу для здоровья человека.

Дальнейшим шагом оценки риска является инструментальная оценка биобезопасности экспрессирующихся в ГИО целевых продуктов трансгенов (не нуклеиновых кислот), которая заключается в определении их вероятной токсичности и аллергенности. Проводимые здесь исследования должны быть сконцентрированы на химической природе и функциях новых синтезируемых веществ; на доказательстве того, что гены

донора, определяющие синтез неблагоприятных для здоровья продуктов, не перенесены в ГИО. Если продукты трансгена не являются известными веществами с длительной историей безопасного употребления в пищу или уровень их экспрессии достоверно превышает таковой у аналога, то проводятся принятые исследования токсичности (см. ниже).

Для оценки риска существенна также оценка изменения питательной ценности (питательного профиля) исходных организмов вследствие генно-инженерной модификации. Такое изменение может быть следствием как преднамеренных (направленных на улучшение питательной ценности), так и непреднамеренных эффектов. Оценка данного фактора риска проводится на основании результатов композиционного анализа, показывающих характер изменения ключевых макро- и микропитательных веществ. В процессе оценки устанавливаются возможные последствия таких изменений для здоровья человека (если они идентифицированы). Для этого вначале рассчитывается наиболее вероятный и максимальный уровень потребления новых продуктов питания в составе общего пищевого рациона анализируемой популяции людей. Затем проводится расчет возможных неблагоприятных эффектов в результате изменения их питательной ценности. При этом во внимание принимаются физиологические особенности и особенности метаболизма специфических групп населения – грудных детей, подростков, взрослых людей, кормящих матерей и т.д. Кроме вышеуказанных рисков при оценке пищевой биобезопасности оценивается риск, связанный с использованием маркерных генов устойчивости к антибиотикам.

При оценке безопасности новых продуктов питания используются современные, адекватные научные методы в соответствии с рекомендованными Правилами «Хорошей лабораторной практики» [OECD, 1992; 2001b]. Цель каждой оценки – в свете научных знаний достичь уверенности, что употребление в пищу новых продуктов не вызывает неблагоприятных последствий для здоровья человека, когда она изготавливается, используется (поедается) предполагаемым образом. Ожидаемым результатом такого анализа будет заключение, является ли новый пищевой продукт в такой же степени безопасным, как его традиционный аналог. Природа основных факторов риска для здоровья человека, характерных для оценки безопасности ГИО и новых продуктов, и соответствующие методы оценки риска изложены в последующих разделах.

5.7. Оценка риска непреднамеренных эффектов генетической модификации

В идеальном случае ГИО отличается от своего аналога только экспрессией целевых молекулярных продуктов модификации. Упрощенная модель такой генетической модификации следующая [The Royal Society of Canada, 2001].

- В определенном, единственном участке генома организма-хозяина встроена новая последовательность ДНК (ДНК трансгена).
- Происходит транскрипция одной новой мРНК, комплементарной трансгену.
- Происходит синтез нового белка вследствие трансляции новой мРНК (если трансген кодирует белок).
- Появляется новая каталитическая активность, определяемая новым белком (если он относится к ферментам).
- Изменяется пул соответствующих метаболитов.

Предполагается, что такая линейная последовательность событий, инициированных трансформацией, не затрагивает активность других генов и процессов. Иными словами, новые возможные риски определяются только новым трансгенным признаком, и процедура оценки фокусируется исключительно на нем. Однако линейная модель генетической модификации, как свидетельствует имеющийся научный опыт, не

всегда адекватно описывает действительные процессы в биологических системах, которые включают в себя сложные, многоуровневые взаимодействия между компонентами клетки. Вместе с проявлением целевых признаков генетической модификации (преднамеренный эффект) в результате вставки чужеродной ДНК в ГИО могут проявляться дополнительные признаки или предсуществующие признаки могут претерпеть изменения (непреднамеренный эффект). Непреднамеренные эффекты генетической модификации (НЭГМ) теоретически могут возникать в результате случайного встраивания последовательностей ДНК в геном растения, вызывающего прекращение экспрессии или изменение уровня экспрессии ранее активных генов, начало экспрессии ранее «молчавших» генов. Кроме того, такие эффекты могут быть следствием изменения особенностей метаболизма у организма-хозяина. Одни НЭГМ могут быть частично предсказуемыми на базе знаний о процессе трансформации, месте встраивания трансгена, функциях его продуктов (включая влияние на метаболизм). Другие НЭГМ являются непредсказуемыми (область научной неопределенности).

Непреднамеренные эффекты генетической модификации не являются атрибутом только биотехнологии, они могут быть следствием и традиционной селекции живых организмов – исходных для изготовления продуктов питания. НЭГМ могут быть вредными, благоприятными и нейтральными по отношению к самому модифицируемому организму и к здоровью человека. Анализ безопасности ГИО и новых продуктов питания должен исключить проявление вредных для здоровья человека непреднамеренных эффектов генетической модификации. Учитывая природу НЭГМ, наиболее прогнозируемым их следствием является изменение качественного и (или) количественного состава определенных химических соединений ГИО по сравнению с исходным организмом. Поэтому НЭГМ идентифицируются в рамках установления существенной эквивалентности ГИО и аналогов путем проведения широкого спектра сравнительных биохимических исследований.

Для идентификации НЭГМ могут применяться различные стратегические подходы: целевой и нецелевой [Kuiper et al., 2001]. В случае целевого подхода исследуется ограниченный ряд ключевых химических компонентов ГИО и новых продуктов питания, существенных для здоровья человека, содержание которых могло быть непреднамеренно изменено вследствие генетической модификации. Чем больше компонентов ГИО (ферментов, метаболитов) анализируется, тем больше вероятность обнаружить непредсказуемые НЭГМ. Такой подход пока является наиболее часто применяемым и достаточно эффективным. В частности, при проведении экспертизы безопасности трансгенной сои, устойчивой к гербициду глифосату, было проведено около 1400 отдельных анализов [Padgett et al., 1996; AgBios Date Base]. Их результаты показали существенную эквивалентность ГИО и исходной линии как по «питательным», так и «антипитательным» свойствам. В качестве первых оценивали: содержание белка, жира, волокон, зольных элементов, углеводов, калорийность и влажность зерна. Кроме того, определяли «питательные» свойства переработанного зерна, сухой муки и обезжиренной муки, очищенного белкового компонента, лецитина, очищенного и дезодорированного масла и т.п. Не было выявлено различий ГИО и аналога также по составу и содержанию специфических жирных кислот, составу аминокислот, в частности по содержанию ароматических аминокислот (гербицидоустойчивость трансгенной сои связана с ключевым ферментом метаболизма ароматических аминокислот EPSPS – 5-енолпирувилшикимат-3-фосфатсинтетаза). Естественно, особое внимание было уделено антинутриентам соевого зерна: ингибитору трипсина, лектинам, фитоэстрогенам (генистеину и додзеину), стахиозе и фитату. По содержанию этих веществ ГИО и исходная линия также не различались.

В качестве примера обнаружения НЭГМ при такой стратегии исследования можно привести исследования так называемого генно-инженерного «золотого риса» [FAO/WHO, 2000b]. Целью генетической модификации в данном случае было увеличение содержания β -каротина в зернах (как вещества, полезного для здоровья – источника витамина А) для восполнения дефицита этого витамина у определенных групп населения развивающихся стран. Но наряду с целевым эффектом в названном сорте риса выявили нежелательное накопление ксантофилла (желтого пигмента). Иные примеры проявления НЭГМ, обнаруженные при целевой стратегии исследования, представлены в таблице 5.4.

Ограничением целевой стратегии при анализе НЭГМ является возможное появление в ГИО неизвестных токсических компонентов или пищевых антагонистов, которые не имели истории потребления человеком и соответственно не могут являться целью идентификации.

Альтернативным подходом к определению НЭГМ (и существенной эквивалентности) является так называемый нецелевой подход, в котором используются профильные аналитические методы. Тысячи генов согласованно экспрессируются в эукариотических клетках и интегрированно «отвечают» на многие внеклеточные и внутриклеточные управляющие факторы. Такая интегральная картина экспрессии генов служит уникальным чувствительным индикатором текущего состояния клеток и тканей. Профильные аналитические методы позволяют определить статус экспрессии генов и обнаружить качественные и количественные изменения состава многочисленных (не обязательно ключевых) химических соединений на внутриклеточном уровне. Порядок экспрессии генов в клетках оценивается по составу транскриптов (мРНК), по профилю белков и метаболитов. Профильный анализ выявляет полный спектр определенных классов химических соединений в клетках и тканях безотносительно к их биологической функции и тем самым дает индивидуальную характеристику исследуемому генотипу. По аналогии с идентификацией людей по отпечаткам пальцев такое профильное химическое тестирование организмов, выявляющее их индивидуальные (сортовые, линейные и т.д.) различия, называют фингерпринтингом (от английского *finger* – отпечаток пальца). Примеры определения НЭГМ с использованием фингерпринтинга мРНК, аналитико-химического фингерпринтинга метаболитов растений уже представлены в литературе [Kok et al., 1998; Noteborn et al., 1998]. Такой подход является пока достаточно трудоемким и редко используемым, но в перспективе позволит эффективно выявлять многие проявления НЭГМ.

Таблица 5.4

Примеры непреднамеренных эффектов генетической модификации трансгенных растений¹

Растение-хозяин	Признак, определивший проявление непреднамеренных эффектов	Непреднамеренный эффект генетической модификации
Рапс масличный	Чрезмерная экспрессия фермента фитинсинтазы	Множественные изменения содержания метаболитов (токоферола, хлорофилла, жирных кислот, фитина)
Картофель	Экспрессия фермента – дрожжевой инвертазы	Уменьшенное содержание гликоалкалоидов
Рис	Экспрессия соевого глицинина	Увеличенное содержание гликоалкалоидов
Соя	То же	Увеличенное содержание витамина B ₆
	Экспрессия фермента EPSPS	Повышенное содержание лигнина, уменьшение урожайности (до 40%) при высокой температуре почвы
Пшеница	Экспрессия фермента глюкозооксидазы	Фитотоксичность

¹ Представленные в таблице данные взяты из работы Н. Kuiper et al. (2001).

Композиционный (профильный) сравнительный анализ для определения НЭГМ осуществляется в рамках принятой модели анализа количественных признаков. Оценке подвергаются сравниваемые образцы (организмы), выращенные (культивируемые, содержащиеся) в одинаковых условиях среды. При этом оценка обычно предусматривает одновременные испытания генно-инженерных организмов и их аналогов в ряду географических пунктов (в разных средах) и в ряду сезонов (в разных климатических условиях). При такой постановке сравнения достоверно определяются различия ГИО и аналога в содержании ключевых компонентов и метаболитов, обусловленные именно эффектом генетической модификации, а не являющиеся следствием вариации под воздействием факторов окружающей среды. Для анализа количественных данных сравнения используются обычные статистические методы, позволяющие определить различие или сходство сравниваемых групп на требуемом уровне значимости.

В случае идентификации НЭГМ дальнейший анализ риска проводится на основе индивидуального подхода. Оценивается вероятность ущерба здоровью человека от проявления выявленных непреднамеренных эффектов генетической модификации. В связи с этим прежде всего учитывается возможность повышения токсического и аллергенного потенциала ГИО и новых продуктов питания в сравнении с аналогами, а также возможность модификации их питательной ценности. Методология определения токсичности и аллергенности базируется при этом на оценке отдельных пищевых компонентов – белков, метаболитов (см. ниже) или продуктов питания как единого целого (экстрактов продуктов). Несмотря на трудности оценки токсичности в тестах по скармливанию цельных пищевых продуктов животным, такие испытания предпринимаются для оценки неблагоприятных НЭГМ [см. обзор Kuiper et al., 2001]. Перспективным является подход к оценке риска НЭГМ в экспериментах по определению токсикологического профиля испытуемого продукта *in vitro*. В данном случае уровень токсичности пищевых экстрактов устанавливают в процессе измерения активности ряда ферментов (например, лактатдегидрогеназы, альфа-глутатион-8-трансферазы) или уровня синтеза определенных соединений в клетках культуры тканей млекопитающих или человека (метод биомаркеров). Изменение активности биомаркеров в зависимости от изменения концентрации того или иного химического компонента экстракта свидетельствует о возможной его токсичности [Noteborn et al., 1998]. Тщательный анализ потенциальных НЭГМ наиболее актуален для тех видов организмов, которые в принципе могут быть опасными для здоровья человека. К ним относятся, например, картофель, томаты (из-за синтеза токсичных гликоалкалоидов), хлопок (из-за синтеза токсичного госсипола) и др.

До настоящего времени у высвобожденных на товарный рынок продовольственных генно-инженерных организмов (в основном растений) оценка риска не выявила существенных различий в составе ключевых компонентов, обусловленных НЭГМ. Сотни исследованных внутриклеточных метаболитов присутствовали в ГИО в концентрациях, сравнимых с исходными линиями (что не удивительно, если учесть высокоинтегрированную природу биохимических и регуляторных процессов клетки, определяющих концентрацию промежуточных соединений и участие их в метаболизме) [Chassy, 2002]. В то же время полностью исключить возможность вредных эффектов вследствие НЭГМ невозможно.

Необходимость оценки риска НЭГМ продемонстрирована, в частности, в широко обсуждавшейся общественностью статье S.W.B. Ewen и A. Pusztai (1999). В данной работе исследовался эффект субхронического скармливания крысам трансгенного картофеля (картофель со вставкой трансгена GNA, определяющего продукцию белка лектина, имеющего пестицидные свойства). Уровень токсичности генно-инженерного картофеля определялся по характеру пролиферации клеток кишечника. Исследовате-

ли отметили, что диета лабораторных животных, основанная на трансгенном картофеле, вызывала различные неблагоприятные эффекты в тканях кишечника (пролиферативные, антипролиферативные). В то же время скармливание животным контрольного, не модифицированного картофеля с добавлением лектина таких эффектов не вызывало. Хотя данные композиционного анализа не были представлены в работе, весьма вероятно, что вставка целевого гена привела к непреднамеренному изменению содержания естественных токсических соединений. Именно данный факт, а не процесс генетической трансформации продовольственной культуры как таковой мог быть причиной выявленных деструктивных процессов в кишечнике животных. Результаты данного исследования в связи с большим общественным резонансом обсуждались в Королевском научном обществе Великобритании, которое признало их неадекватными [The Royal Society (UK), 1999] по вышеуказанным и иным причинам.

5.8. Оценка потенциальной токсичности новых для организма-хозяина молекулярных продуктов трансгенов

Если существенная эквивалентность ГИО и ближайшего аналога установлена по всем ключевым параметрам, за исключением специфических целевых признаков генетической модификации, дальнейшие исследования фокусируются на оценке безопасности проявления только данных признаков [EU, 1997]. Среди прочих одним из основных оцениваемых факторов риска молекулярных продуктов трансгенов (не нуклеиновых кислот) является их потенциальная токсичность. С точки зрения здоровья человека явление токсичности может быть охарактеризовано как причина заболевания химической этиологии (отравление) и как фактор, вызывающий повреждение тканей (типовой патологический процесс), следствием которого является формирование соответствующего патологического состояния [Голиков и др., 1986].

Прежде всего следует отметить, что нет никаких научно обоснованных указаний на токсичность для человека ДНК трансгенов *per se*. Люди ежедневно съедают в среднем минимум 0,1–1 г ДНК в составе различных продуктов [Doerfler, 2000]. Поэтому ДНК трансгена не является новым, особенным компонентом в рационе человека и присутствует в нем в чрезвычайно малом количестве. Десятилетия исследований не выявили токсического эффекта трансгенной ДНК на организм человека и других млекопитающих. Нет достоверных сведений о случаях вставки трансгенной ДНК, поступившей в организм с продуктами питания, в геном человека [Chassy, 2002]. Защитные механизмы млекопитающих (гидролитическое разрушение ДНК в процессе переваривания, исключение чужеродной ДНК из генома реципиента в ходе репаративных процессов, препятствие экспрессии встроенных генов вследствие их целевого метилирования и др.) противодействуют встраиванию чужеродной ДНК в геном человека и ее экспрессии [Doerfler, 2000]. Таким образом, вероятность вредного эффекта на здоровье человека, обусловленного потреблением трансгенной ДНК, минимальна [FAO/WHO, 2000b].

«Чужие» гены переносят в трансформируемый организм с целью передачи ему желательных признаков. Фенотипическое проявление данных признаков обусловлено синтезом новых для организма-реципиента соединений белковой и небелковой природы. Такими синтезируемыми в результате вставки трансгена соединениями могут быть традиционные компоненты продуктов питания: белки, жиры, углеводы, витамины, которые являются новыми только в контексте определенных исходных организмов и ГИО. Кроме того, продуктами трансгенов могут быть целевые белки, не являвшиеся ранее компонентами продуктов питания и соответственно не имеющие длительной истории безопасного употребления человеком. Новыми по отношению к реципиенту могут быть также метаболиты, образовавшиеся в ГИО в результате активности транс-

генного фермента. Оценка потенциальной токсичности продуктов трансгенов подразумевает следующее [FAO/WHO, 2003]:

- Определение химической природы, функций новых синтезирующихся соединений, а также их концентрации в продукте питания, учитывая естественную вариацию.

- Анализ информации о характере генетической модификации и ГИО для получения уверенности в том, что гены донора, отвечающие за синтез известных токсичных и антипитательных веществ, не экспрессируются в ГИО.

- Если новое соединение является традиционным пищевым компонентом с известными биологическими функциями (например, витамин А в «золотом рисе») и его концентрация в продукте не превышает обычных пределов варьирования, специальные тесты на токсичность не являются необходимыми. В других случаях такие тесты могут быть необходимы.

- В случае новых, не имевших истории употребления в пищу белков оценка их потенциальной токсичности сфокусирована на определении следующих характеристик: уровня сходства их аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью известных токсичных белков; уровня их физико-химической стабильности. В отдельных случаях (см. ниже) для оценки токсичности белков необходимы тесты на модельных животных.

- Потенциальная токсичность небелковых соединений оценивается на индивидуальной основе в зависимости от их биологической функции и доли в обычной диете. В данном случае необходимо исследование метаболизма, токсикокинетики, субхронической токсичности, хронической токсичности, канцерогенности, репродукционной токсичности и др. (см. раздел 5.3).

Наиболее часто продуктами трансгенов коммерчески используемых ГИО являются определенные белки. Поэтому процедура оценки их потенциальной токсичности ниже рассматривается нами более подробно. Известно, что существует ряд важных различий в токсическом воздействии на человека белков и промышленных химикатов небелковой природы [Jones, Maryanski, 1991]. Белки обычно не токсичны в острых экспериментах на модельных животных, и нет известных случаев, чтобы они демонстрировали хроническую токсичность, например, обладали мутагенным, канцерогенным эффектами. Отдельные белковые токсины хорошо изучены и являются высокоспецифичными. Белки в отличие от химикатов обычно быстро перевариваются в желудочно-кишечном тракте человека и теряют свою активность. Они также не обладают способностью к биоаккумуляции (накоплению), как некоторые вредные химические вещества. С учетом данных особенностей оценка токсического потенциала трансгенных белков несколько отличается от вышеуказанной (раздел 5.3) процедуры оценки токсичности промышленных и иных загрязнителей пищевых продуктов. Она призвана дать ответы на следующие вопросы [Chassy, 2002]:

- Каково предполагаемое количество оцениваемого белка в обычном рационе человека?

- Вызывает ли оцениваемый новый белок регистрируемые неблагоприятные (токсические) эффекты, когда употребляется в пищу в количествах, значительно превышающих установленные дозы потребления?

- Переваривается ли новый оцениваемый белок в желудочно-кишечном тракте человека?

- Разрушается ли новый оцениваемый белок в процессе переработки продуктов питания?

Оценка содержания нового белка в обычной диете человека необходима для дальнейшего анализа его потенциальной токсичности (неблагоприятные токсические

эффекты в большинстве случаев зависят от дозы токсичного агента). Данные о вероятном потреблении исследуемого агента собирают в зависимости от специфики питания разных групп населения: национальных групп, возрастных групп, кормящих матерей и пр. Такая оценка может быть достаточно сложной, так как генно-инженерные организмы относительно редко употребляются в пищу сами по себе, а являются чаще компонентами разнообразных продуктов питания. В качестве примера оценки потребляемого количества трансгенного белка в таблице 5.5 представлены данные, касающиеся дневного потребления трансгенных Сгу-белков (Вt-протеинов) генетически модифицированной кукурузы. Потребляемое количество трансгенных белков, как правило, минимально по сравнению с общим количеством потребляемого белка. Однако даже оно теоретически может вызвать неблагоприятные для здоровья человека реакции.

Специальные тесты на токсичность трансгенных белков не нужны, если доказано, что они (белки) являются традиционно употребляемыми в пищу, безопасными компонентами продуктов питания. В иных случаях такие тесты необходимы, причем для оценки токсичности обычно используются очищенные с помощью рутинных биохимических методов исследуемые белки ГИО либо идентичные им по структуре белки, полученные методом микробиологического синтеза. Исследования включают ряд специальных тестов, характер и количество которых определяются в зависимости от каждого индивидуального случая [FAO/WHO, 1996; 2000b]. В первую очередь сравнивается аминокислотный состав оцениваемых белков с таковым у известных белковых токсинов с использованием специальных компьютерных баз данных. Затем новые белки проходят тест на устойчивость к перевариванию ферментами желудочно-кишечного тракта, на стабильность в среде с низкой рН, на устойчивость к термообработке. Относительная устойчивость к этим факторам указывает на возможность длительного сохранения биологической активности поступившего с пищей трансгенного белка в организме человека (в том числе на его потенциальную токсичность). Если доказано структурное сходство оцениваемого трансгенного белка с известными токсинами и (или) его устойчивость к деструктивным физико-химическим условиям среды, то в таком случае требуется его интенсивная дальнейшая токсикологическая оценка. Негативные результаты предварительных тестов указывают на то, что вероятность токсичности данного белка очень мала. Однако даже при негативном результате предварительных исследований оценка токсичности может быть продолжена.

Таблица 5.5

Вероятный уровень потребления трансгенного белка Сгу9С в составе продуктов из кукурузы различными группами населения США (99% потребителей продуктов из кукурузы)¹

Исследуемая группа населения	Уровень потребления Сгу9С, мкг/день	Общий уровень потребления белка кукурузы, мкг/день	Общий уровень потребления белка из всех продуктов, мкг/день
Общая популяция США	0,37	9 752 000	219 600 000
Дети 1–6 лет	0,25	6 183 000	125 900 000
Граждане США латиноамериканского происхождения	0,21	16 261 000	209 500 000
Дети латиноамериканского происхождения 1–6 лет	0,15	6 818 000	130 200 000

¹ Представленные в таблице данные взяты из работы В.М. Chassy (2002).

Дополнительные исследования потенциальной токсичности осуществляются, если: 1) уровень продукции оцениваемых белков в ГИО достоверно больше, чем уровень продукции аналогичных природных белков; 2) если оцениваемые белки имеют извест-

ный уровень токсичности (пусть даже не по отношению к человеку, например Bt-протеин) или являются природными агентами с антибиологическими функциями (например, PR (pathogenesis related) – белки, сверхпродукция которых в растениях обуславливает их устойчивость к болезням и вредителям); 3) если новый белок не имел истории безопасного употребления в пищу (например, GFP (green fluorescent protein) – маркерный флюоресцирующий белок для выявления трансформированных организмов); 4) если предварительные тесты показали высокий уровень устойчивости новых белков к физико-химической деградациии.

Дальнейшие исследования токсичности проводятся на индивидуальной основе в зависимости от конкретного оцениваемого белка. Обычно они включают традиционные для токсикологических анализов тесты: определение токсичности в острых и субхронических (10–90-дневных) экспериментах по скармливанию очищенного белка лабораторным животным с определением обычных показателей LD50, ADI, NOAEL. Хронические испытания применяются редко, так как известные токсичные белки действуют обычно через острый механизм при низких дозах, а хроническая токсичность каких-либо белков не доказана [Jones, Maryanski, 1991]. Токсическое действие белковых агентов в опубликованных данных испытаний на модельных животных определялось по различным показателям: по уровню их смертности, по динамике привеса тела, по изменению массы отдельных органов, а также при измерении иных, более специфических параметров (например, уровня пролиферации клеток определенных тканей, уровня иммунной защиты и др.). Кроме того, в практике оценки пищевой биобезопасности используется ряд других, узконаправленных тестов: анализ связывания оцениваемого белка с рецепторами клеток желудочно-кишечного тракта млекопитающих; анализ его гемолитического потенциала, иммуно-токсичности и др. [Kuiper et al., 2001].

В качестве примера исследования токсичности продуктов трансгенов может служить процедура оценки риска белка Cry1A(b) генно-инженерной кукурузы MON 810, обладающего инсектицидным действием (Bt-протеин, природный белок бактерии *Bacillus thuringiensis*) [Monsanto Canada Inc., 1997; Agbios Date Base]. Исследование токсичности показало, что специфические рецепторы к Bt-протеинам, необходимые для проявления биологической активности Cry1A(b), отсутствуют в клетках желудочно-кишечного тракта млекопитающих. Аминокислотная последовательность Cry-белка не была гомологичной известным пищевым токсинам и пищевым аллергенам млекопитающих (по результатам сравнения с более чем 2000 аминокислотных последовательностей известных токсинов, содержащихся в соответствующих компьютерных базах данных). Белок Cry1A(b) в дозах, в 10 000 раз превышающих их содержание в растениях модифицированной кукурузы, не проявлял токсичности в острых и субхронических экспериментах на грызунах. В частности, в семидневном тесте по определению токсичности белок Cry1A(b) скармливался лабораторным мышам в дозах 0, 400, 1000 и 4000 мг/кг веса животных (дозы, в том числе значительно превышающие дневную норму потребления человеком, см. табл. 5.5). Никакого вредного эффекта на животных, связанного с кормлением, не наблюдалось (максимальная доза 4000 мг/кг составила NOEL). В модельной системе *in vitro*, имитирующей воздействие желудочным пищеварительным соком, очищенный белок Cry1A(b) быстро деградировал (более 90% в течение 2 мин). В итоге комплексной оценки риска не было обнаружено никаких свидетельств потенциальной токсичности Cry1A(b)-белка для человека.

Поскольку при исследовании токсичности ГИО и новых продуктов питания используется комплексный подход, предусматривающий целый ряд косвенных и прямых тестов, прямые испытания токсичности продукта в опытах по его принудительному скармливанию лабораторным животным являются наиболее доказательными. Применение концепции существенной эквивалентности для оценки безопасности продуктов

питания позволяет в ряде случаев избежать постановки тестов по скармливанию цельных пищевых продуктов (а соответственно и серьезных методических проблем). Если испытуемый ГИО эквивалентен аналогу, за исключением экспрессии продуктов трансгена, то в экспериментах по скармливанию лабораторным животным используется очищенный трансгенный белок, дозировку которого можно варьировать без нарушения общего баланса питания (как указано в приведенном выше примере с Cry-белком ГМ кукурузы). В данном случае постановка эксперимента аналогична принятым испытаниям на токсичность пищевых добавок и контаминантов продуктов питания.

В ряде случаев представляется целесообразной дополнительная оценка риска токсичности с использованием цельных продуктов. Испытание цельных продуктов в тестах на модельных животных проводят тогда, когда новые продукты питания составляют значительную долю в пищевом рационе определенных групп населения, и в случаях, когда не было длительной истории употребления в пищу молекулярных продуктов трансгенов. Кроме того, такие тесты оправданы, когда трансгенный белок влияет на целый ряд путей метаболизма ГИО или если высок уровень научной неопределенности. Для субхронических испытаний безопасности цельного продукта питания на модельных животных рекомендован 90-дневный тест [FAO/WHO, 2000b]. В нем применяется максимально возможная дозировка оцениваемого продукта, не нарушающая пищевой баланс животных. При этом используемая доза не должна быть ниже средней дневной нормы потребления оцениваемого продукта человеком. В связи со сложностью постановки эксперимента и анализа результатов до настоящего времени тесты по скармливанию цельных продуктов применяются относительно редко (опубликованы не более двух десятков таких работ [Kuiper, 2001]). Пример теста по скармливанию модельным животным цельного генно-инженерного картофеля [Ewen, Pusztai, 1999] мы приводили выше. Оценка потенциальной токсичности небелковых соединений осуществляется на индивидуальной основе с учетом их биологической функции и доли в обычном рационе. Процедура оценки их токсичности аналогична традиционной оценке токсичности химических и биологических пищевых загрязнителей.

В заключение раздела, посвященного исследованию потенциальной токсичности ГИО и новых продуктов питания, отметим, что оценка риска производится в рамках научно обоснованного, комплексного подхода. Для оценки риска применяется ряд методов, основанных как на испытании отдельных пищевых компонентов, так и цельных пищевых продуктов. Вся стратегия испытаний базируется на принципе существенной эквивалентности. Ключевым этапом стратегии является сравнительный композиционный (профильный) анализ ГИО и аналога, позволяющий (при доказательстве существенной эквивалентности по нецелевым признакам) проводить дальнейшие исследования с индивидуальными агентами в соответствии с принятыми в токсикологии подходами. Эффективность определения существенной эквивалентности (и оценки потенциальной токсичности в целом) возрастет при дальнейшем развитии аналитических методов, позволяющих вскрыть вероятные преднамеренные и непреднамеренные эффекты генетической модификации (методы профильного анализа на уровне генома, белковых продуктов, метаболитов).

5.9. Оценка риска потенциальной аллергенности генно-инженерных организмов и ГМ продуктов

5.9.1. Природа аллергической реакции организма человека на продукты питания. Термином «пищевая аллергия» часто определяют любую ненормальную, нежелательную реакцию организма человека на отдельные продукты питания [Taylor, 2000]. Но с точки зрения оценки риска ГИО и изготовленных из ГИО продуктов питания важно среди многих недомоганий, вызванных «чувствительностью» к пищевым продуктам,

определить точное понятие пищевой аллергии. Под широко используемым в литературе термином «неблагоприятная пищевая реакция», или «чувствительность», понимают любой тип неблагоприятной реакции организма человека на определенные продукты питания. Сюда относится как собственно пищевая аллергия, так и различные формы индивидуальной непереносимости некоторых пищевых продуктов.

Непереносимость отдельных пищевых продуктов коренным образом отличается от пищевой аллергии, поскольку в данном случае неблагоприятная реакция организма не связана с действием иммунной системы человека и обусловлена чаще небелковыми компонентами продуктов питания [Taylor, 1985; The Royal Society of Canada, 2001]. К такому типу неблагоприятных пищевых реакций можно отнести: пищевые отравления; негативные метаболические реакции на пищу и некоторые необъяснимые пока иные неблагоприятные реакции. Пищевые отравления случаются, когда в поступающей в организм пище содержатся токсины того или иного происхождения. В некоторых случаях пищевые отравления могут напоминать аллергические реакции. Например, испорченная рыба содержит большое количество гистамина, производимого патогенными бактериями. При употреблении такой рыбы в пищу развивается неблагоприятная реакция, симптоматически сходная с аллергической реакцией. В случае неблагоприятных метаболических реакций организм не может по тем или иным причинам адекватно усваивать провоцирующие их пищевые компоненты. В организме людей, не усваивающих молочные продукты, не вырабатывается фермент лактаза (действующий в кишечнике), необходимый для сбраживания молочного сахара лактозы. При употреблении в пищу молока либо иных молочных продуктов у таких людей развивается тошнота, диарея. Другим, не связанным с аллергией видом пищевой непереносимости является так называемая пищевая идиосинкразия (ненормальная реакция организма на пищу). Симптоматически идиосинкразия напоминает аллергическую реакцию гиперчувствительности, но при этом иммунная система в ней не задействована. Примером пищевой идиосинкразии является сульфит-индуцируемая астма, которая встречается крайне редко, но при этом может представлять угрозу для жизни страдающих ею людей [The Royal Society of Canada, 2001].

Истинная пищевая аллергия – это наряду с респираторной и контактной аллергией специфическая, неблагоприятная для человека иммунологическая реакция, развивающаяся в ответ на попадание в организм определенных экзогенных веществ – аллергенов. Чтобы избежать ошибочной трактовки возможных неблагоприятных воздействий новых пищевых продуктов на здоровье человека, под термином «аллергия» далее будут пониматься только неблагоприятные реакции организма человека, опосредованные действием иммунной системы. Пищевой аллерген – компонент продуктов питания, который стимулирует развитие неблагоприятной иммунной реакции у страдающих пищевой аллергией индивидов. Тот или иной продукт может содержать от одного до целого ряда аллергенов, которые в подавляющем большинстве случаев являются белками (не углеводами и не жирами). Пищевая аллергия развивается в ответ на поступление аллергенов в организм с пищей. В некоторых случаях у особенно чувствительных людей аллергическая реакция может возникать в ответ даже на обычный контакт с пищевыми продуктами или на вдыхание их летучих компонентов.

Истинная пищевая аллергия включает несколько типов неблагоприятных иммунных реакций на пищевые белки. При этом наиболее встречаемый тип пищевой аллергии, согласно классификации аллергических реакций Gell R. A. Coombs [цит. по Иергер и др., 1990], относится к типу I, который сопровождается выработкой в организме антител (IgE – иммуноглобулинов E) с особой клеточной аффинностью (способностью связываться с мембранами ряда специализированных клеток). Антитела – специализированные иммунные эффекторные белки сыворотки крови (иммуноглобули-

ны), специфически распознающие чужеродные для организма макромолекулы – антигены (в основном чужеродные белки и белковые комплексы) и участвующие в их элиминации. Антитела продуцируются специализированными клетками иммунной системы в ответ на проникновение в организм чужеродных антигенов. Выделяют 5 классов антител, различных по своей структуре, которые совместно с другими специализированными белковыми и клеточными компонентами иммунной системы участвуют в защите организма от генетически чужеродных веществ.

Аллергическую реакцию типа I определяют как приобретенную гиперчувствительность организма немедленного типа к относительно безвредным экзогенным веществам – аллергенам (в том числе к безвредным в общем случае компонентам продуктов питания). В отличие от защитных реакций иммунитета аллергическая реакция типа I неблагоприятна для человека и связана с выработкой повышенного количества одного особого класса антител – IgE, направленных против специфических аллергенов (механизм IgE-зависимой аллергической реакции см. ниже). Ее симптомы могут наступать спустя минуты после контакта компонентов системы иммунитета с аллергеном. Другим, менее распространенным типом пищевой аллергической реакции является гиперчувствительность замедленного типа (например, специфическая энтеропатия, вызываемая клейковиной зерна злаковых). В данном случае симптомы аллергии проявляются через восемь и более часов после употребления в пищу аллергена. Аллергическая гиперчувствительность замедленного типа определяется действием скорее эффекторных клеток иммунной системы (лимфоцитов), нежели антител, но точный механизм ее не ясен [The Royal Society of Canada, 2001; FAO/WHO, 2001]. На рисунке 5.3 представлены все возможные типы неблагоприятных пищевых реакций, включая аллергические.



Рис. 5.3. Различные типы неблагоприятных пищевых реакций (модифицированная схема L. Edler [2003])

5.9.2. Биологические механизмы пищевой аллергии. Механизм IgE-зависимой аллергии достаточно хорошо изучен [Йергер и др., 1990; Галактионов, 1998; Фрейдлин, 2001]. Аллергическая реакция вызывается антигенами в основном белковой природы. В ней участвует ряд специализированных клеток организма, которые действуют в кооперации друг с другом. Аллергическую реакцию можно разделить на две фазы: sensi-

билизацию (приобретение чувствительности к аллергену) и собственно аллергическую реакцию организма (экспрессию).

Первый контакт организма с аллергенным белком не приводит к развитию аллергии, но при этом происходит сенсibilизация специальных клеток системы иммунитета – В-лимфоцитов (ответственных за продукцию антител) и Т-лимфоцитов-помощников, способствующих трансформации В-клеток в антителопродуцирующие клетки. В-лимфоциты после распознавания аллергена и в результате взаимодействия с Т-лимфоцитами-помощниками (типа Th-2) трансформируются в плазматические клетки и начинают производить специфически связывающиеся с поступившим аллергеном антитела (IgE). Иммуноглобулины E обладают двумя участками связывания. Во-первых, как и антитела прочих классов, они имеют антигенсвязывающий участок, посредством которого взаимодействуют со специфической (отличающей его от других) частью антигена (антигенной детерминантой – эпитопом). Антигены, имеющие различные эпитопы, вызывают продукцию специфических, структурно соответствующих им антител. Во-вторых, в отличие от антител других классов IgE обладают уникальной способностью связываться с поверхностными рецепторами специализированных клеток – базофилов и тучных клеток (имеют рецептор-специфичный участок связывания). Базофилы и тучные клетки играют ключевую роль в развитии аллергической реакции. Базофилы относятся к фагоцитирующим клеткам плазмы крови (поглощающим или адсорбирующим инородные «тела» в кровяном потоке). Тучные клетки локализованы в большинстве тканей организма – местах первичного проникновения чужеродных, вызывающих иммунный ответ субстанций: под кожными покровами, в ткани легких, в слизистых покровах желудочно-кишечного тракта, вдоль сосудов соединительной ткани и т.д. После связывания иммуноглобулинов E, выработанных в ответ на первое поступление аллергена в организм, с рецепторами тучных клеток и базофилов этап сенсibilизации (приобретения неблагоприятной чувствительности к аллергену) завершается.

У здоровых людей содержание IgE весьма мало (в среднем 0,03 мг в 100 мл сыворотки крови). У людей, страдающих пищевой аллергией, в ответ на поступление аллергена с пищей вырабатывается увеличенное количество IgE. Собственно аллергическая реакция развивается при повторном поступлении пищевого аллергена в организм человека. Пищевые аллергены, прошедшие через барьер слизистых покровов кишечника и попавшие в кровоток, связываются со специфическими к ним антителами на поверхности тучных клеток и базофилов. Факт образования комплекса антитело-аллерген (перекрестной сшивки двух антител аллергеном) на поверхности тучных клеток и базофилов является стартовой точкой для реакции гиперчувствительности немедленного типа. В результате перекрестного связывания антител аллергеном из секреторных гранул тучных клеток и базофилов инициируется «выброс» предсуществовавших в них и синтезированных *de novo* молекулярных медиаторов и факторов, сопутствующих воспалительной реакции: вазоактивных аминов (гистамина и серотонина); хемотаксических факторов; простагландинов, лейкотриенов, энзимов и многих других. Индуцировать высвобождение данных веществ из тучных клеток и базофилов может повторное попадание в организм даже незначительного количества аллергена.

Взаимодействуя с рецепторами на поверхности клеток-мишеней, медиаторы тучных клеток и базофилов могут вызывать комплекс неблагоприятных эффектов в различных тканях и органах: сокращение гладкой мускулатуры трахеи, бронхов, кишечника, повышенную проницаемость сосудов кожи и ряда внутренних органов, инфильтрацию органов клетками, участвующими в воспалительной реакции. На уровне организма как целого данные процессы проявляются в виде симптомов аллергической реакции. Так как тучные клетки локализованы в различных органах и тканях, аллер-

гическая реакция может развиваться как локальная (проявляющаяся в отдельных органах и тканях) или как общая (системная). У склонных к пищевой аллергии людей редко наблюдаются все возможные ее симптомы в совокупности. Обычно после попадания аллергена в желудочно-кишечный тракт аллергия проявляется в виде отдельных неблагоприятных эффектов, таких как тошнота, рвота, спазм, диарея. Обычными при пищевой аллергии симптомами являются также покраснение и зуд кожных покровов (крапивница) [Sampson, Metkalfе, 1991; Andersen, 1996; Галактионов, 1998; Taylor, 2000]. Наиболее серьезным и несущим угрозу для жизни человека проявлением пищевой аллергии является системная реакция – анафилактический шок. В случае анафилактического шока симптомы аллергии развиваются быстро и могут проявляться одновременно отеком горла, зудом, крапивницей, нарушением дыхания вследствие бронхоспазма, снижением кровяного давления, потерей сознания [Sampson et al., 1992]. Однако такое проявление пищевой аллергии встречается сравнительно редко.

5.9.3. Особенности пищевой аллергии и пищевых аллергенов. К особенностям IgE-опосредованных аллергических заболеваний можно отнести следующие. Во-первых, только небольшое количество антигенов, обладающих потенциальной способностью вызывать иммунный ответ, являются аллергенами. Во-вторых, далеко не все индивидуумы в одинаковых условиях среды реагируют на контакт с аллергеном. Хотя у всех людей продуцируется какое-то количество антител класса E, только некоторая часть индивидов становятся чувствительными при попадании в организм чужеродных белков внешней среды и развивают IgE-опосредованный аллергический иммунный ответ. Приобретение чувствительности – сложный процесс, зависящий от природы конкретного человека и времени первого контакта с аллергеном [Metcalfe et al., 1996; Lehrer, 2000; Taylor, 2000; Edler, 2003 и др.]. Аллергическая реакция может возникать у людей в ответ на различные экзогенные стимулы: пыльцу растений, споры плесневых грибов, перхоть животных, яды насекомых, а также на некоторые продукты питания. Аллергия может проявляться в виде аллергического ринита (сенной лихорадки), бронхиальной астмы, поражения кожных покровов (дерматит). Доля зарегистрированных случаев аллергических заболеваний возросла за последние 20 лет на 20%. Разными видами IgE-опосредованных аллергических заболеваний страдают от 10 до 25% населения развивающихся стран [The Royal Society of Canada, 2001]. При этом по сравнению с другими видами аллергий пищевая IgE-зависимая аллергия встречается довольно редко (у 0,3 – 8% детей в зависимости от возраста и у 1 – 2% взрослого населения) [Taylor, 2000; The Royal Society of Canada, 2001]. Дети в большей степени подвержены пищевой аллергии вследствие неполной зрелости их IgE-системы иммунитета и неполной физиологической зрелости. Они обычно «перерастают» пищевую аллергию, особенно на молоко, яйца и соевые бобы. Поэтому среди взрослого населения она распространена в гораздо меньшей степени, чем среди детей.

Более чем 90% аллергических реакций, наблюдаемых у детей и взрослых, происходит при употреблении в пищу восьми основных продуктов или групп продуктов [Taylor, Lehrer, 1996; Taylor, 2000]. Это коровье молоко, яйца, рыба, морские ракообразные (креветки, крабы), а также моллюски, арахис, соя, орехи (миндаль, грецкие орехи и др.), пшеница. Кроме того, еще около 160 других продуктов или пищевых компонентов вызывают аллергическую реакцию только у отдельных людей [Taylor et al., 1999]. Среди них отмечены большинство зерновых, масличных и овощных продовольственных культур, а также промышленно изготовленные продукты: пиво, шоколад и пр. Фактически все пищевые аллергены являются белками или гликопротеинами. Однако только очень низкий процент из многих тысяч пищевых белков являются аллергенами. Пищевые аллергенные белки стимулируют в организме чувствительных к ним индивидов формирование преимущественно лимфоцитов-помощников типа Th2 и соответ-

ственно способствуют переключению антителопродуцирующих клеток на синтез аллергенспецифических IgE антител. Аллергены способны также перекрестно связывать молекулы антител на мембранах тучных клеток или базофилов и «включать» секрецию вазоактивных аминов. Обычно аллергены – это хорошо растворимые белки (водорастворимые альбумины и солерастворимые глобулины) с молекулярной массой 10–80 тыс. дальтон и кислотной изоэлектрической точкой. Большинство аллергенных белков характеризуются стабильностью к перевариванию в желудочно-кишечном тракте и к разным видам переработки (в том числе термической). Эти свойства позволяют им сохранить свою структуру вплоть до попадания в кишечник и преодолевать барьер слизистой ткани кишечника в иммунологически интактной форме [Metcalf et al., 1996; Taylor, Lehrer, 1996]. Характерная молекулярная масса и относительная устойчивость к физико-химическим разрушающим воздействиям служат косвенными показателями аллергенного потенциала белков (см. ниже), однако они не имеют абсолютной надежности при оценке риска аллергенности. В частности, существует множество термолабильных или частично термолабильных пищевых аллергенов [Taylor, Lehrer, 1996]. Некоторые аллергенные белки имеют молекулярный вес ниже характерного (например, липидопереносящие белки растений – LTP весом 9 тыс. дальтон; белок кожуры семян сои весом 8 тыс. дальтон). В отдельных случаях термообработка может не снижать, а даже увеличивать аллергенность белков, в частности в результате их химического гликозилирования (например, в случае β -лактоглобулина коровьего молока, некоторых белков ракообразных) [The Royal Society of Canada, 2001].

Первичная аминокислотная структура многих главных и минорных аллергенных белков установлена, так как многие из них являются важными запасными, структурными, функциональными белками живых организмов. В связи с этим стало возможным идентифицировать потенциальные пищевые аллергены, сравнивая их первичную аминокислотную последовательность с уже известными аллергенами при использовании соответствующих компьютерных баз данных [Reese, Lehrer, 1998]. Такая процедура является обязательной при оценке аллергенного потенциала ГИО (см. ниже).

Многие аллергенные продукты содержат целый ряд аллергенов: пищевые продукты могут включать как главные («сильные»), так и минорные («слабые») аллергены. Главными аллергенами обозначают белки, которые вызывают формирование IgE у 50% и более склонных к аллергии индивидов [King et al., 1994]. Многие главные аллергены в большом количестве присутствуют в вышеперечисленных высокоаллергенных продуктах питания, составляя от 1,0 до 80% общего содержания белка. Но аллергические реакции могут быть спровоцированы и низкими дозами аллергена. Какая-либо пороговая (наименьшая) концентрация аллергена, способная вызывать аллергическую реакцию, не установлена. Существуют продукты, которые даже при низком содержании аллергенных белков являются аллергенными для значительного количества чувствительных людей. Например, парвальбумин Gad 1, который составляет только 0,05–0,1% от общего мышечного белка трески, является, тем не менее, главным аллергеном. У людей с аллергией на арахис реакция развивается при съедании лишь 0,01–0,1 мг орехов [Taylor, Lehrer, 1996]. Поэтому при рассмотрении риска ГИД надо представлять себе, что даже перенос одного гена, кодирующего синтез аллергенного белка, который составит лишь малую часть от общего белка ГИО, может привести к получению аллергенного продукта питания. В таблице 5.6 представлены в качестве примера некоторые главные аллергенные белки с известной аминокислотной последовательностью, содержащиеся в продуктах питания.

Как уже указывалось выше, обычно проявление пищевой аллергии у людей характеризуется легкой и средней тяжестью. Но у некоторых страдающих пищевой аллергией индивидов развивается опасная для жизни анафилактическая реакция. Так, по

данным на 2001 год, в странах ЕС три тысячи пациентов были госпитализированы с диагнозом «анафилактический шок» вследствие иммунного ответа на пищевые аллергены [Edler, 2003]. Следует также отметить, что не известно лекарственной терапии, посредством которой можно было бы излечиться от пищевой аллергии. Людям, страдающим данным заболеванием, рекомендуется избегать пищевых продуктов, к которым они чувствительны. Таким образом, несмотря на относительную редкость, пищевая аллергия представляет собой совершенно определенную опасность для здоровья человека и является одним из основных факторов риска при оценке безопасности генно-инженерной деятельности.

Таблица 5.6

Пищевые аллергены растительного и животного происхождения (по Metkalfе et al., 1996)

Видовое название растения или животного	Традиционное название	Аллерген (систематическое и оригинальное название)	Молекулярный вес kDa
<i>Аллергены растительного происхождения</i>			
<i>Arachis hypogea</i>	Арахис	Ara h 1	
<i>Bertholletia escelsa</i>	Бразильский орех	Ber e 1 (2S альбумин)	14
<i>Brassica juncea</i>	Горчица листовая	Braj 1; 2S альбумин	14
<i>Sinapis alba</i>	Горчица белая	Sin a 1 (2S albumin)	
<i>Glycine max</i>	Соя	Глицинин (субъединица AlaVx, субъединица A2B1a, субъединица A3B4 и др.), β-конглицинин (α-субъединица, субъединица CG4), соевый лектин (соевый агглютинин), ингибитор трипсина Куница (Kunitz)	
<i>Hordeum vulgare</i>	Ячмень	Hor v 1; BMAI-1 (α-амилаза/ингибитор трипсина)	15
<i>Oriza sativa</i>	Рис	RAP (рисовый аллергенный белок), RAG1 (рисовый аллерген 1)	
<i>Phaseolus vulgaris</i>	Фасоль	PR-1 (белок, связанный с патогенезом - 1)	
<i>Triticum aestivum</i>	Пшеница мягкая	WGA (зародышевый агглютинин А, D пшеницы)	
<i>Triticum durum</i>	Пшеница твердая	WGA (зародышевый агглютинин пшеницы)	
<i>Аллергены животного происхождения</i>			
<i>Bos taurus</i>	Крупный рогатый скот	BSA(бычий сывороточный альбумин), β-лактоглобулин (белок молока), α-лактальбумин (белок молока), казеин (типы α-S1, α-S2, β-)	
<i>Gadus callaria</i>	Треска	Gad c1; allergen M, β-парвальбумин	12
<i>Gallus domesticus</i>	Домашние куры	Gal d1 (овомукоид), Gal d2 (овальбумин), Gal d4 (лизоцим)	28 44 14
<i>Metapenaeus ensis</i>	Креветки	Met el; тропомиозин	34

5.9.4. Может ли генно-инженерная деятельность увеличить потребление аллергенных продуктов. Риск того, что в ряде новых продуктов питания (изготовленных из ГИО, включающих ГИО или являющихся ГИО) может возрасти аллергенный потенциал, в значительной степени обоснован. Диагноз пищевой аллергии ставят пациенту, исходя из точной истории воспроизведения аллергических реакций при употреблении определенных продуктов и отсутствия данных реакций при исключении этих продуктов из его рациона. Потенциальный риск аллергенности новых продуктов питания состоит в том, что люди, чувствительные к аллергену – продукту трансгена, не смогут идентифицировать данный провоцирующий аллергию компонент, если он будет

включен в целый ряд продуктов питания. В этом случае будет намного сложнее установить первопричину аллергической реакции, так как аллергию, вероятно, будут вызывать не сходные пищевые источники аллергена [The Royal Society of Canada, 2001].

В процессе генно-инженерной модификации в исходный организм-хозяин включаются один или несколько трансгенов, ответственных за продукцию очень небольшой фракции (обычно менее 0,4%) белка относительно общего содержания белка ГИО. Однако, как указывалось выше, этого может быть достаточно для развития пищевой аллергии у чувствительных к ней людей. До настоящего времени не зафиксировано случаев аллергических реакций у людей от употребления новых продуктов питания или их трансгенных источников, высвобожденных для обращения на товарном рынке. При этом все же существует определенная вероятность того, что в процессе генетической модификации может быть увеличен аллергенный потенциал ГИО и соответствующих новых продуктов питания. Теоретически такое увеличение аллергенного потенциала новых продуктов питания может произойти вследствие двух событий [Lehrer, 2000]. Во-первых, экспрессия трансгенов, переданных исходному организму вследствие генетической модификации, может привести к продукции не свойственных ему ранее аллергенных белков (т.е. молекулярные продукты трансгенов могут быть аллергенами). Во-вторых, вероятно, что природный аллергенный потенциал организма-хозяина может быть увеличен вследствие непреднамеренных эффектов генетической модификации. Различные пищевые культуры, такие как арахис, авокадо, пшеница, характеризуются значительной вариабельностью количества аллергенов [Bush, Hefle, 1996], и их уровень может подвергнуться дальнейшему изменению в результате генетической модификации. Кроме того, есть вероятность, что присущие организму-хозяину неаллергенные ранее белки после генетической трансформации станут аллергенными (например, вследствие гликозилирования).

Действительно, известно, что многие белковые аллергены обладают биологической активностью, которая может найти применение в трансгенных организмах (может быть целевым эффектом модификации). Например, многочисленные белки с потенциальной антимикробной, антигрибной активностью являются известными аллергенами. Важные запасные белки семян многих двудольных растений – 2S альбумины являются одновременно главными аллергенами горчицы, бразильского ореха, грецкого ореха, семян хлопчатника (см. табл. 5.6) [Shewry et al., 2001]. Известна попытка переноса гена, ответственного за синтез 2S альбумина, от бразильского ореха растениям сои с целью увеличения у нее содержания аминокислоты метионина и улучшения ее кормовых качеств. Однако продуцируемый в трансгенных растениях сои 2S альбумин, составивший значительную часть от общего соевого белка (6%), оказался аллергенным для чувствительных к бразильскому ореху людей [Nordlee et al., 1996]. И хотя этот сорт трансгенной сои предназначался исключительно для кормления животных, он не был допущен к коммерческому использованию. Данный пример весьма показателен в плане того, что существует реальный риск переноса генов, отвечающих за продукцию аллергенов, от организма-донора, обладающего аллергенным потенциалом, организму-реципиенту. Более того, если вероятность привнесения известного аллергенного белка в итоговый ГИО можно относительно просто проконтролировать (см. ниже), то сложнее оценить вероятный аллергенный потенциал новых для исходного организма трансгенных белков, у которых не было длительной истории употребления в пищу (например, GFP, Bt-протеина и др.). Вероятность неблагоприятного воздействия ГИД на здоровье человека, обусловленного проявлением пищевой аллергии, потребовала разработки специальных подходов для оценки риска аллергенности новых продуктов питания.

5.9.5. Оценка риска увеличения исходного аллергенного потенциала организмов вследствие их генетической модификации. При оценке риска генно-инженерной деятельности в соответствии с принципом существенной эквивалентности оценивается риск того, что новые продукты питания не увеличили свой аллергенный потенциал по сравнению с их аналогами, имевшими длительную историю безопасного употребления в пищу. Эксперты ряда международных организаций (ILCI –Allergy and Immunology Institute; IFBC – International Food Biotechnology Council; FAO/WHO) разработали систему оценки риска аллергенности новых продуктов питания и исходных ГИО, включающую целый ряд анализов. Ниже мы приводим процедуру оценки аллергенности, принятую экспертами FAO/WHO [FAO/WHO, 2001]. При этом надо иметь в виду, что процедура оценки аллергенности ГИО и новых продуктов питания (ее стандарты) не является раз и навсегда данной. Она постоянно модифицируется международными рабочими группами по пищевой аллергии с целью увеличения эффективности оценки риска [FAO/WHO, 2003].

Процедура оценки риска аллергенности ГИО и новых продуктов питания исходит из следующих положений. Во-первых, из того, что все новые для исходного организма белки – продукты трансгенов должны быть оценены с точки зрения их потенциальной аллергенности для человека. Это могут быть как белки с известным аллергенным потенциалом, так и белки, которые ранее в пищу не употреблялись и аллергенный потенциал которых не известен. Во-вторых, она исходит из необходимости оценки риска увеличения аллергенности организма-хозяина вследствие НЭГМ. В-третьих, из того, что не существует единого универсального теста для уверенной оценки уровня аллергенности антигенов. Поэтому процедура должна предусматривать интегрированный, последовательный подход, рассматривающий каждый случай ГИО в отдельности. Конечным выводом оценки риска должно быть заключение, является ли новосинтезируемый белок (белки) аллергеном, изменился ли аллергенный потенциал ГИО и соответствующих продуктов вследствие непреднамеренных эффектов модификации.

Процедура оценки риска начинается с характеристики аллергенного потенциала источника трансгенов (потенциальной аллергенности донорного организма). Протеин – продукт трансгена, который никогда не вызывал аллергической реакции при употреблении в пищу не будет с большой вероятностью вызывать ее и при экспрессии в трансгенном организме. Например, трансгенный ферритин, продуцирующийся в генно-инженерном рисе с повышенным содержанием железа, – белок не аллергенный, и данный ГИО не будет с большой вероятностью представлять риска аллергенности. Напротив, велика вероятность того, что экспрессия аллергенного белка организма-донора в ГИО увеличит аллергенный потенциал исходного организма-хозяина. Например, продукция трансгенного 2S альбумина бразильских орехов в семенах сои сделала ее аллергенным продуктом для людей, чувствительных к бразильскому ореху (но не чувствительных ранее к сое и соевым продуктам) [Nordlee et al., 1996]. Исходя из этого, на первом этапе оценки риска по имеющейся информации устанавливают: является ли источник трансгенов общепризнанным (главным) или минорным аллергеном, или он не является известным аллергеном. Если источник трансгена принадлежит к указанным выше восьми главным или 160 минорным аллергенным источникам, то итоговый ГИО и соответствующие пищевые продукты признаются аллергенными, пока не доказано обратное.

После установления аллергенного потенциала организма-донора следующим шагом принятой процедуры является сравнение аминокислотной последовательности всех новых белков – продуктов трансгенов из аллергенных и не аллергенных источников – с аминокислотной последовательностью уже известных аллергенов. В настоящее

время идентифицирована аминокислотная последовательность более 200 аллергенов и созданы специальные компьютерные базы данных (Swiss Prot, TrEMBL, GenBank, PIR) для сравнения структуры целевых белков ГИО и аллергенов. Цель сравнения аминокислотной последовательности – установление факта, является ли новосинтезируемый белок сходным по структуре с известными аллергенами. Структурное сходство считается установленным, если обнаружена 35%-ная идентичность последовательностей случайных фрагментов из 80 аминокислот или если обнаружена полная идентичность 6 последовательных аминокислот у сравниваемых белков (вероятный минимальный линейный эпитоп) [FAO/WHO, 2001].

Позитивный результат структурного сравнительного анализа свидетельствует о том, что оцениваемый белок является с большой вероятностью аллергеном и ГИО не может высвободиться для обращения на товарном рынке. Чтобы доказать обратное, требуются дальнейшие специфические иммунологические исследования (см. ниже). Структурное сходство с известными аллергенами может рассматриваться как существенное и в случае менее чем 35%-ной идентичности сравниваемых белков, если испытуемый белок принадлежит к семействам белков, содержащим ряд известных аллергенов. Примерами могут быть: липокалина, напина (2S альбумины семян), парвальбумины и др. Если рассматриваемый белок принадлежит к таким семействам, он с большой вероятностью может быть аллергеном для человека. Негативный результат структурного анализа свидетельствует о том, что оцениваемый белок не относится к известным к настоящему времени аллергенам и не обладает перекрестной реактивностью с известными аллергенами. При этом, однако, не исключается, что он может иметь аллергенный потенциал (особенно если речь идет о белках, которые ранее в пищу никогда не употреблялись, например о GFP).

Сравнительный анализ аминокислотной последовательности имеет свои недостатки. В частности, он ограничен только сравнением с уже известными аллергенами, внесенными в базы данных. Он не выявляет пространственные (не линейные) эпитопы, формирующиеся вследствие особенностей третичной структуры белка (к примеру, аллерген Bet V3 березовой пыльцы содержит именно такие конформационные эпитопы). Напротив, определенные белки, гомологичные известным аллергенам, сами по себе аллергенами не являются. Например, главный аллерген креветок (тропомиозин) – белок, который присутствует во многих других продуктах питания, таких как говядина, свинина и мясо кур. Тропомиозин из перечисленных источников обладает 60%-ной гомологией с соответствующим белком креветок. При этом названные продукты не относятся к аллергенным [Lehrer et al., 1996].

Кроме сравнительного анализа аминокислотной последовательности на первых этапах исследования проводится также физико-химический тест на устойчивость проверяемых белков к протеазам желудочно-кишечного тракта (тест на разрушение пепсином). Выше уже отмечалось, что аллергенами являются белки, в основном устойчивые к разрушению реагентами желудочно-кишечного тракта (иначе они не могут достигнуть в нативном состоянии реактивных тучных клеток слизистой кишечника). Стандартная процедура оценки протеолитической активности пепсина предусматривает обработку целевого белка раствором пепсина [FAO/WHO, 2001]. Негативный результат теста говорит о том, что исследуемый белок лишь с небольшой (но требующей внимания) вероятностью может являться аллергеном. Напротив, устойчивость оцениваемых белков к разрушению пепсином в подходящих условиях показывает, что они могут быть аллергенами. Оценки ряда физико-химических характеристик белков – продуктов трансгенов, часто используемых для модификации различных организмов, представлены в таблице 5.7.

В совокупности предварительные непрямые тесты на аллергенность позволяют с определенной вероятностью судить о том, является ли оцениваемый белок аллергеном. Положительный результат свидетельствует о том, что с большой вероятностью тестируемые белки могут быть аллергенными (но это не обязательно так).

Отрицательный результат непрямых тестов не является абсолютным доказательством того, что тестируемые белки не обладают аллергенным потенциалом. Поэтому после предварительной характеристики структурных и физико-химических особенностей исследуемых белков процедура оценки риска обычно продолжается. Она предусматривает проведение специфических иммунологических исследований, окончательно устанавливающих, являются ли тестируемые белки аллергенами. Для белков, ведущих свое происхождение из известных аллергенных источников или имеющих структурную гомологию с известными аллергенами, процедура оценки риска рекомендует проведение так называемого специфического сывороточного скрининга. Это тесты *in vitro* на реактивность трансгенного белка со специфическими IgE из сыворотки крови людей, чувствительных к белкам организма-донора (из ДНК которого выделен трансген). Данные исследования показывают, распознаются ли анализируемые белки антителами IgE из сыворотки крови людей, чувствительных к аллергенам донора. Анализ *in vitro* может установить факт присутствия и количество аллергенного белка в исследуемых продуктах питания и в определенной степени показать изменение аллергенных свойств белка. Стандартными, применяемыми для иммунологических исследований *in vitro* являются тесты твердофазной иммунологической диагностики – радиоаллергосорбентный анализ (RAST) и ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA). Например, в случае теста RAST сыворотка чувствительных индивидов инкубируется с испытуемым потенциальным аллергеном (экстрактом пищевых продуктов), закрепленным на подходящем твердофазном носителе. Аллерген-специфичные IgE связываются с закрепленным на носителе аллергеном и могут определяться при использовании меченных радиоактивным йодом антител против IgE человека [OECD, 1997].

Таблица 5.7

Физико-химические характеристики белков-продуктов некоторых трансгенов

Белок	рН денатурации	Температура денатурации	Концентрация в тканях	Время переваривания	
				в желудочном соке	в дуоденальном соке
NPT II			Картофель (клубни) – 2,7 мкг/г Хлопок (семена) – 7 мкг/г	50% – менее 10 с 100% – 20 мин	50% – 2–5 мин
EPSPS	5	65°C в течение 15 мин	Хлопок (семена) – 60–70 мкг/г	50% – менее 15с	50% – менее 10 мин
PAT	4	75°C		1 мин при pH4 – 10 мин	
CP PVY			Менее 2 мкг/г (в 12–244 раза ниже естественного уровня)		
CRY A(b)	I		Кукуруза: во время цветения – 8–16 г/га в конце вегетации – менее 0,8 г/га	90% в течение 2 мин Разведение: 1:1000 – 10мин 1:100 – 5 мин	Не переваривается
CRY IIIA			Картофель: листья – 20–63 мкг/г клубни – 0,2–0,6 мкг/г		

Примечание. рН желудочного сока равен 1,0, дуоденального – 7,5. 50% поглощенной твердой пищи переходит из желудка в тонкий кишечник в течение 2 ч, жидкой – в течение 25 мин. Общая продолжительность нахождения пищи в желудочно-кишечном тракте от 4–10 ч до 68–165 ч.

Для получения достоверных оценок риска в тестах *in vitro* критической является доступность сыворотки крови достаточного количества индивидов, чувствительных к определенному аллергену. Анализ по возможности должен проводиться с 25 пробами сыворотки людей, страдающих пищевой аллергией. Испытания с использованием минимум восьми соответствующих сывороток необходимы для достижения 99%-ной достоверности того, что испытуемый белок не является главным аллергеном. Соответственно 24 сыворотки необходимы для достижения такой же достоверности в случае минорных аллергенов. При наличии по крайней мере 14 индивидуальных сывороток негативный результат специфического сывороточного скрининга с вероятностью более 99,9% свидетельствует о том, что испытуемый белок не относится к главным аллергенам. В аналогичных условиях негативный результат с вероятностью более 95% свидетельствует о том, что испытуемый белок не относится к минорным аллергенам, вызывающим аллергическую реакцию, по крайней мере, у 20% чувствительных индивидов [FAO/WHO, 2001; Metcalfe et al., 1996; Taylor, 2000]. Если тест *in vitro* дает положительный результат, ГИО или соответствующий продукт признаются аллергенными. При негативном результате теста (в совокупности с данными об отсутствии структурной гомологии испытуемого белка с известными аллергенами и отсутствии устойчивости к протеазам желудочно-кишечного тракта) трансгенный белок с большой вероятностью не является аллергеном.

Если трансген не был выделен из известного аллергенного источника и не было установлено гомологии последовательности аминокислот тестируемого белка и известных аллергенов, это еще не свидетельствует окончательно о том, что трансгенный белок не является аллергеном. Возможно, что в имеющихся базах данных на момент испытаний отсутствует информация о структурно сходных с ним аллергенах. В этом случае иммунологические тесты *in vitro* рекомендуется проводить с привлечением сыворотки людей, чувствительных к аллергенам, из сходных источников (так называемый целевой сывороточный скрининг). Например, при тестировании белка однодольных растений, не являющегося известным аллергеном, в тестах RAST, ELISA могут быть использованы сыворотки людей, чувствительных к травам, рису и т.д. В случае анализа трансгенного белка двудольных растений к использованию рекомендуются образцы сывороток пациентов с высоким содержанием IgE против аллергенов двудольных растений (пыльцы деревьев, арахиса, древесных орехов и т.д.). Обычно для целевого скрининга используют 25 индивидуальных сывороток с высоким содержанием IgE к выбранной группе респираторных аллергенов и, если возможно, 25 сывороток с IgE к выбранной группе пищевых аллергенов [FAO/WHO, 2001]. Положительный результат целевого сывороточного скрининга свидетельствует о том, что трансгенный белок с большой вероятностью является аллергеном. Негативный результат целевого сывороточного скрининга (в совокупности с отсутствием устойчивости к протеазам, отсутствием гомологии с известными аллергенами) свидетельствует о том, что тестируемый белок с большой вероятностью не является аллергеном.

В случае, когда источник трансгенов – известный аллерген, негативный результат иммунологического теста *in vitro* может быть недостаточным для того, чтобы сделать заключение об отсутствии аллергенного потенциала у продукта трансгена. В основном это относится к случаям, когда источник трансгена – организм, содержащий минорные аллергены, которые вызывают аллергию менее чем у 20% чувствительных индивидов. При этом зачастую бывает недоступно необходимое количество сывороток крови индивидов, содержащих IgE к таким аллергенам, и соответственно результат теста *in vitro* не убедителен. В подобных обстоятельствах процедура предусматривает возможность дополнительного иммунологического исследования *in vivo* на модельных животных или с привлечением пациентов-добровольцев. Известно, что разработанные к настоя-

щему времени модели на животных далеко не всегда дают адекватные оценки аллергенности тех или иных антигенов по отношению к человеку. В то же время использование клинических испытаний с участием добровольцев, чувствительных к пищевым аллергенам организма – донора трансгенов (за исключением людей, подверженных системным реакциям), осложнено этическими соображениями. Однако в отдельных случаях такие испытания необходимы и осуществляются.

В случае клинического анализа аллергенности трансгенных белков *in vivo* обычно используется кожный тест (SPT – skin prick test). Экстракты нужной концентрации, выделенные из организма-реципиента, донора и ГИО (пищевых продуктов, полученных на их основе), вводятся в эпидермальный слой кожи чувствительных индивидов. В течение 15 минут после введения регистрируется локальная аллергическая реакция, проявляющаяся покраснением тестовой зоны (наподобие следа от укуса комара). Если реакции за этот промежуток времени не наблюдается, испытуемые продукты с большой вероятностью не содержат пищевых аллергенов. Критическим для данного метода является изготовление экстрактов с адекватным содержанием потенциального аллергена. На результаты SPT также оказывают влияние способы приготовления испытуемых продуктов (например, нагревание может как разрушить, так и создать новые антигенные детерминанты у аллергена) [IFIC, 2001].

Таблица 5.8
Пример стандартной дозировки
потенциального аллергена
(земляные орехи) в испытании *in vivo*
(DBPCFC)¹

Группы наблюдаемых пациентов ² (№)	Дозировка протеина арахиса, мкг
1	30
2	100
3	300
4	1 000 = 1 мг
5	3 000
6	10 000
7	30 000
8	100 000
9	300 000
10	1 000 000 = 1 г

¹ Пример показан в докладе L. Edler (2003).

² Проводятся два отдельных испытания – в дозировках 1–7 и 6–10.

ских симптомов. Определяется минимальная, провоцирующая реакцию доза аллергена. В таблице 5.8 приведены стандартные повышающиеся дозы испытуемого антигена. Тест DBPCFC – наиболее точный для подтверждения аллергенности того или иного вещества, но при этом и наиболее трудно осуществимый на практике, так как он требует прежде всего наличия добровольцев.

Процедура оценки потенциальной аллергенности более проста и надежна, если аллергенный потенциал рассматриваемых белков – продуктов трансгенов уже известен ко времени испытаний. В этой ситуации доступна сыворотка чувствительных индивидов для специфического скрининга *in vitro* – метода с хорошей доказательной базой. Гораздо сложнее проводить оценку трансгенных белков, если они не имели истории употребления в пищу и соответственно нет никакой информации об их аллергенном потенциале. В данном случае сыворотки крови людей, содержащие специфические к

Если это необходимо и есть добровольцы, на конечной стадии оценки риска может применяться более чувствительный иммунологический тест – DBPCFC (double-blind placebo-controlled food challenge). Для проведения теста отбираются люди с известной чувствительностью к пищевым аллергенам и позитивной реакцией на SPT. В дозированном рационе испытуемых «скрытно» включают предполагаемую аллергенную пищу в повышающихся концентрациях, чтобы окончательно выяснить, содержит ли анализируемая пища аллергены, вызывающие реакцию. В качестве контроля в такой же рацион включают сходные продукты, не содержащие потенциального аллергена (placebo). Данные наблюдений за пациентами, получающими потенциальный аллерген и placebo, кодируются (так, чтобы ожидание реакции у пациента и (или) врача не повлияло на результат анализа). Пациенты получают повышающуюся дозу потенциального аллергена до регистрации объективных аллергиче-

испытуемому белку IgE, недоступны. На первый план здесь выходят указанные выше непрямые методы оценки потенциальной аллергенности: сравнительный анализ аминокислотной последовательности испытуемых белков с известными аллергенами и их физико-химическая характеристика. При этом к результатам таких испытаний, не являющихся собственно иммунологическими, следует относиться с определенной осторожностью. Обычно для «новых» с точки зрения питания человека белков производится полная процедура оценки риска, в том числе иммунологические испытания на добровольцах. Практический пример такой последовательной оценки «нового» пищевого белка показан на рисунке 5.4 [Astwood et al., 1996, цит. по Taylor, 2000].

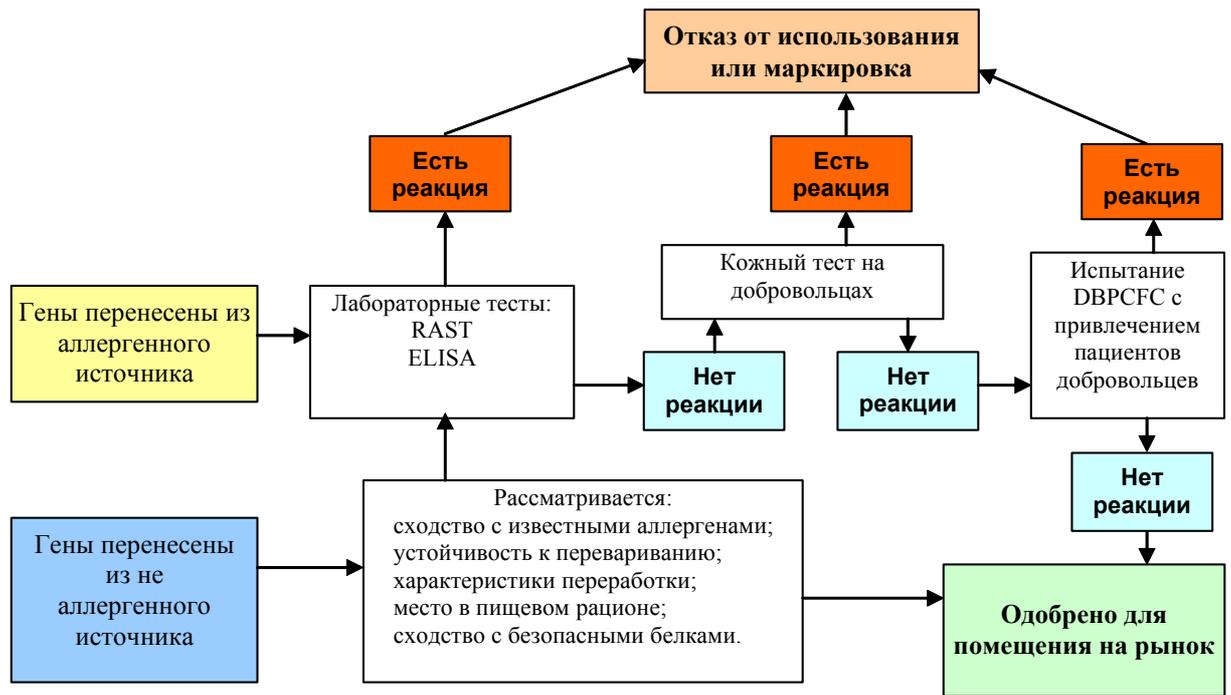


Рис. 5.4. Оценка потенциальной аллергенности продуктов питания, изготовленных из генетически модифицированного исходного сырья (практический пример из работы Astwood et al. [1996])

Генетическая модификация, как уже говорилось выше, вследствие непреднамеренных (плейотропных) эффектов может увеличить аллергенный потенциал исходного организма-хозяина. Процедура оценки риска должна предусматривать и такую возможность качественного и количественного изменения исходного состава аллергенов организма-реципиента. Прежде всего, в данном случае важнейшее значение имеет предварительный анализ существенной эквивалентности, оценивающий, насколько ГИО эквивалентен исходному организму (см. раздел 5.5). В случае доказательства неэквивалентности ГИО аналогу по существенным признакам (обусловленной не только продукцией новых трансгенных белков) должны применяться методы оценки аллергенности, адекватные для идентификации НЭГМ. В принципе выявить непреднамеренные эффекты генетической модификации возможно с помощью методов иммунологического твердофазного анализа *in vitro* и DBPCFC, так как они дают количественную оценку уровня аллергенности продукта. При этом для оценки изменения аллергенного потенциала организма-реципиента иммунологическая аллергическая реакция измеряется в ответ на смесь (экстракт) белков ГИО (а не на выделенный отдельный продукт трансгена).

Ниже приводятся основные характеристики предложенной процедуры оценки аллергенности новых продуктов питания и ГИО и выводы из возможных ее результатов [FAO/WHO, 2001].

• Комбинация тестов, включающих тесты с привлечением людей, подверженных аллергии, или их сывороток крови, обеспечивает высокий уровень достоверности того, что главные аллергены не появятся в новых продуктах питания вследствие генетической модификации исходного материала. Принятая процедура допускает небольшую вероятность появления в данных продуктах минорных аллергенов, действующих на ограниченное число людей.

• Любой позитивный результат, полученный в системе иммунологических тестов, с большой вероятностью свидетельствует об аллергенности нового белка – продукта трансгена.

• Новый для организма-хозяина белок, не имеющий сходства аминокислотной последовательности с известными аллергенами или происходящий из неаллергенного источника и не связывающийся с IgE из сывороток чувствительных людей (>5 сывороток), но при этом стабильный к перевариванию в желудочно-кишечном тракте и к переработке, должен рассматриваться как потенциальный аллерген. Дальнейшие исследования должны предприниматься для преодоления такой неопределенности.

• Новый для организма-хозяина белок, не имеющий сходства аминокислотной последовательности с известными аллергенами и не устойчивый к перевариванию в желудочно-кишечном тракте и к переработке, с высокой вероятностью не является аллергеном. Сходным образом новый белок, происходящий из неаллергенного источника и не связывающийся с IgE из сывороток чувствительных людей (> 5, но < 14 сывороток), с высокой вероятностью не будет аллергеном.

Описанная выше процедура оценки аллергенного потенциала ГИО и новых продуктов питания представлена на рисунке 5.5.

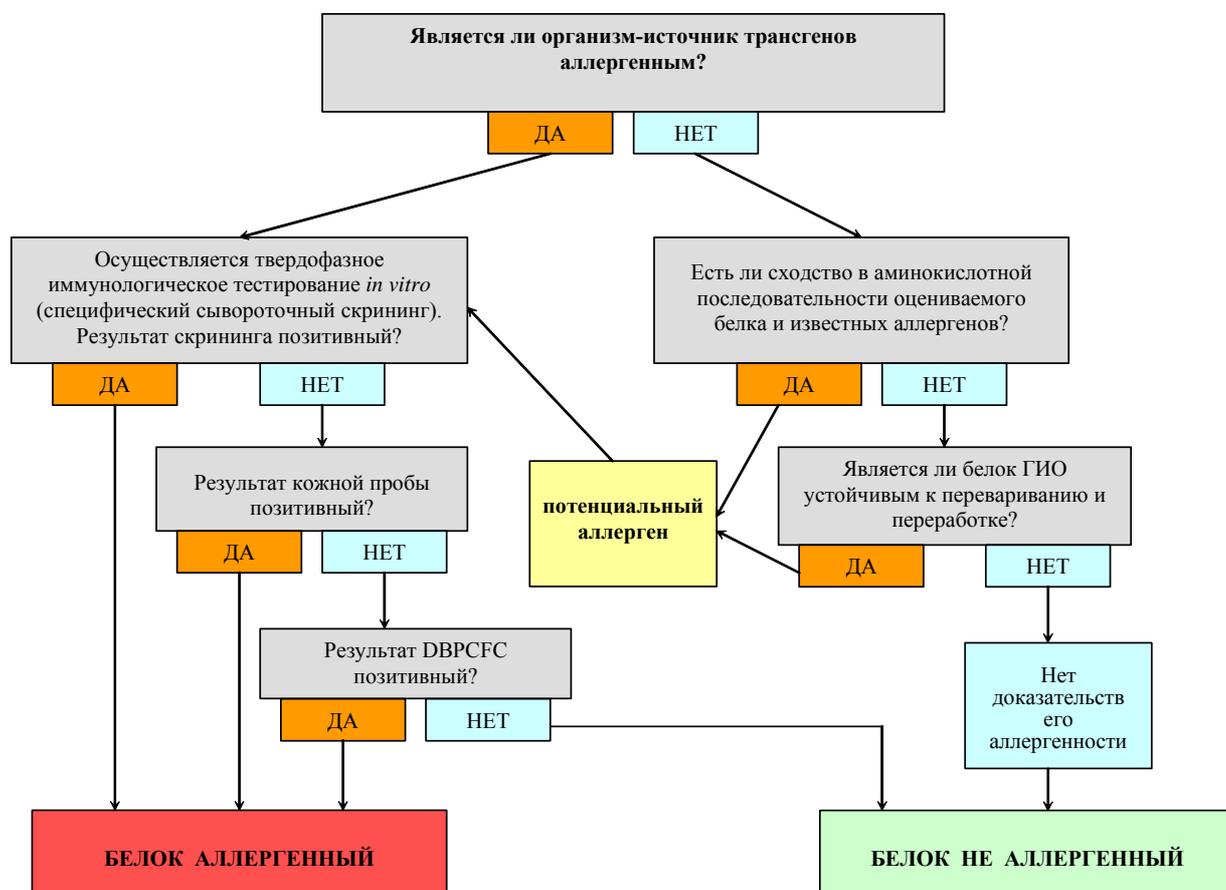


Рис. 5.5. Оценка риска аллергенности пищевых продуктов, изготовленных из ГИО, являющихся ГИО, содержащих ГИО. Последовательность тестов и решений, предложенная экспертами FAO/WHO [2001]

Разработанные и действующие в разных странах системы оценки аллергенности ГИО и соответствующих продуктов питания (которые не отличаются принципиально друг от друга) хорошо себя зарекомендовали. Широко известный пример, когда в результате оценки риска было выявлено изменение аллергенного потенциала кормовой сои (вследствие продукции в генно-инженерной сое трансгенного 2S альбумина бразильского ореха), уже приводился выше. Другим характерным примером эффективности предложенной системы оценки риска аллергенности служит оценка инсектицидного белка (Vt-протеина) – продукта трансгена Cгy9C, синтезирующегося в модифицированной кукурузе [USEPA, 1999, цит. по Kuiper et al., 2001]. Vt-протеин не являлся традиционным пищевым белком, и его аллергенный потенциал как пищевого белка не был известен. Поэтому, хотя более 30 лет он использовался в качестве микробиологического инсектицидного препарата и никаких указаний на его аллергенность не было получено, для масштабного высвобождения генно-инженерной кукурузы требовалось проведение полной процедуры оценки его аллергенности. Сравнение аминокислотной последовательности не выявило структурной гомологии Vt-протеина с известными пищевыми аллергенами. Возможности проведения специфического иммунологического анализа были ограничены из-за отсутствия сывороток крови людей, чувствительных к Vt-протеину. Исследование на модельных животных дало противоречивые результаты, хотя отмечалось, что оцениваемый белок провоцирует в ряде случаев иммунный ответ. Физико-химические характеристики протеина Cгy9C показали его относительную устойчивость к перевариванию в желудочно-кишечном тракте и определенную термостабильность. В дополнение молекулярный вес белка (68,7 kDa) соответствовал верхней границе варьирования, характерного для известных аллергенов. На основании двух позитивных биохимических характеристик, указывающих на потенциальную аллергенность протеина Cгy9C, соответствующая трансгенная кукуруза была запрещена для коммерческого производства как в качестве продукта питания человека, так и в качестве кормовой культуры. Причем оценка сходных эндотоксинов (продуктов трансгенов Cгy 1 A, Cгy3 A) не выявила биохимических и иных характеристик, присущих аллергенам. Соответствующие генно-инженерные растительные культуры занимают в настоящее время значительные посевные площади в США и Канаде [Stewart et al., 2000]. Ни один поступивший до настоящего времени на товарный рынок продукт питания, изготовленный из ГИО, не представляет большей опасности аллергенности для человека, чем его традиционные аналоги. При этом, как уже говорилось выше, постоянно продолжается работа по оптимизации предложенной процедуры оценки аллергенности и выработки единых международных стандартов оценки.

5.10. Риск, обусловленный возможностью горизонтального переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам

Используемые для создания генно-инженерных организмов методы генетической трансформации (будь то агробактериальная трансформация, бомбардировка микрочастицами с закрепленными на них фрагментами ДНК, микроинъекция и др.) относительно малоэффективны. Чтобы отобрать в общей массе единичные трансформированные клетки, в трансгенную молекулярную конструкцию кроме целевого гена обычно включают селективный маркерный ген (см. главу 2). Экспрессия маркерного гена позволяет делиться трансформированным клеткам в присутствии антипролиферативного селективного агента; небольшое число трансформированных клеток становятся легко доступными для отбора среди большой популяции нетрансформированных клеток. В качестве таких агентов наиболее часто используются антибиотики и гербициды, а в качестве селективных маркерных генов – гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам (таблица 5.9).

Маркерные гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам, часто используемые в практике генетической инженерии¹

Ген	Продукт гена	Селективный признак	Источник гена
<i>npt II</i> (<i>aphA2</i>)	Неомицин фосфотрансфераза II (аминогликозид-3'-фосфотрансфераза II)	Устойчивость к антибиотикам: канамицину, неомицину, гинетицину (G418), паромомицину, амикацину	Бактерия <i>Escherichia coli</i> , транспозон Tn5
<i>nptIII</i>	Неомицин фосфотрансфераза III	Устойчивость к антибиотикам: канамицину, неомицину, гинетицину (G418), паромомицину, амикацину	Бактерия <i>Streptococcus faecalis</i> , R-плазида
<i>bla</i>	β -лактамаза	Устойчивость к антибиотикам: пенициллину, ампициллину	Бактерия <i>E. coli</i>
<i>aadA</i>	Аминогликозид-3'-аденилтрансфераза	Устойчивость к антибиотикам: стрептомицину, спектиномицину	Бактерия <i>Shigella flexneri</i>
<i>epsps</i>	5-енолпирувилшкимаат-3-фосфатсинтетаза	Устойчивость к гербициду глифосату	Кукуруза (<i>Zea mays</i>), бактерия <i>Agrobacterium sp.</i>
<i>gox</i>	Глифосат оксидоредуктаза	Устойчивость к гербициду глифосату	Бактерия <i>Achromobacter</i> LBAA
<i>als</i>	Ацетолактат синтетаза	Устойчивость к ряду гербицидов	Арабидопсис (<i>Arabidopsis thaliana</i>) и др.

¹ Представленные данные опубликованы в работе Н.А. Kuiper et al., (2001)

Наличие и экспрессия в ГИО генов устойчивости к антибиотикам вызывают серьезные опасения и являются предметом серьезных дискуссий. Тревога научных кругов и общественности основана прежде всего на потенциальной возможности горизонтального переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам от ГИО (из продуктов питания, состоящих из ГИО или включающих ГИО) микрофлоре кишечника человека и животных. В случае если горизонтальный перенос генов (ГПГ) происходит с относительно высокой частотой, он может негативно сказаться на эффективности традиционной антибиотикотерапии человека и домашних животных. В рамках оценки риска ГИД наряду с другими вышеописанными факторами риска обязательно проводится и оценка риска переноса маркерных генов устойчивости к антибиотикам и гербицидам для здоровья человека (если они присутствуют в ГИО). Данное требование и критерии оценки соответствующего риска включены в принятую на международном уровне процедуру оценки безопасности ГИО и новых пищевых продуктов [EU, 2001, FAO/WHO, 2003]. В частности, в Директиве 2001/18/ЕС потенциальный неблагоприятный эффект маркерных генов ГИО сформулирован как «снижение эффективности профилактики и терапии заболеваний человека ... например, вследствие переноса генов, придающих признак устойчивости к антибиотикам, используемым в медицине и ветеринарии».

Оценка риска маркерных генов ГИО сфокусирована на важных факторах: природе микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека; потенциальной токсичности и аллергенности продуктов маркерных генов; потенциальных неблагоприятных эффектах, обусловленных горизонтальным переносом маркерных генов. Проблемы оценки риска токсичности, аллергенности продуктов трансгенов обсуждались в разделах 5.8 и 5.9. В настоящем разделе мы рассматриваем исключительно риски, обусловленные возможностью горизонтального переноса генов устойчивости к антибиотикам.

Антибиотики – органические вещества, образуемые живыми организмами (в основном бактериями, грибами) и обладающие антимикробными свойствами. Они являются одной из главных составляющих современной лекарственной терапии. Со вре-

мени открытия пенициллина в конце 20-х годов прошлого века из различных микроорганизмов были выделены более 6000 антибиотиков с разной специфичностью и механизмом действия. Ежегодно в мире производится 100 000 тонн антибиотиков; каждый год ученые обнаруживают 100–200 новых антибиотиков [Глик, Пастернак, 2002].

Наибольшее применение в практике генетической инженерии нашел маркерный ген устойчивости к антибиотику канамицину – *nptII* (*aphA2*). В 80-х годах прошлого столетия было показано, что его экспрессия в растениях (при объединении *nptII* с промотором, активным в растительных клетках) обеспечивает им признак канамицин-устойчивости. После этого ген *nptII* стал доминирующим при производстве генно-инженерных высших растений и является компонентом генома многих представленных на рынке коммерческих образцов ГИО (табл. 5.10). Ген *npt II* выделен из транспозона Tn5 *E.coli* и кодирует фермент неомифосфотрансферазу II (амино-гликозид-3'-фосфотрансферазу II, APH(3')II). Активность NPTII в клетке придает ей признак устойчивости к родственным антибиотикам: канамицину, неомифину и гинетицину (G418). Канамицин (впервые выделен из микроорганизмов в 1957 году) относится к классу сахаросодержащих антибиотиков. Это трисахарид, включающий в состав молекулу дезоксистрептамина и две молекулы глюкозамина. Антибиотик взаимодействует с 30S и 50S субъединицами бактериальных рибосом и субъединицами рибосом митохондрий и хлоропластов растений, прекращая при этом процесс синтеза белка (что приводит в итоге к гибели клеток). Фермент NPTII модифицирует структуру молекулы канамицина (фосфорилирует одну из его гидроксильных групп), вследствие чего канамицин утрачивает свои антибиотические свойства, а клетка приобретает признак устойчивости [Nap et al., 1992]. Аналогично другие указанные в таблицах 5.9 и 5.10 маркерные гены кодируют ферменты, дезактивирующие антибиотики и гербициды. Горизонтальный перенос селективных маркерных генов патогенным бактериям может стать причиной их устойчивости к антибиотикам и тем самым снизить эффективность лечения заболеваний человека и домашних животных.

В природе известны несколько механизмов горизонтального переноса генов, которые могут обеспечить проявление новых признаков у организма-реципиента [Smalla et al., 2000; DeVries, 2001; Moens, Collard, 2002 и др.]. Среди них конъюгация и трансдукция играют существенную роль в обмене генетической информацией между прокариотическими организмами (в основном между бактериями). Осуществление переноса генов между бактериальными клетками вследствие конъюгации зависит от наличия в донорной клетке автономно реплицируемой молекулы ДНК (плазмиды) или конъюгативного транспозона в хромосоме. Конъюгативный перенос генов у прокариот (наряду с трансдукцией) в природе осуществляется как на внутривидовом, так и на межвидовом уровнях. Проведенные исследования показали, что в популяциях почвенных бактерий, бактерий речной воды, бактерий ризосферы растений, желудочно-кишечного тракта и других действуют данные механизмы горизонтального переноса генов, которые играют определенную роль в генетической изменчивости прокариот [Hall, 1995; Smalla et al., 2000]. Возможность горизонтального переноса маркерных генов тщательно исследуется при оценке риска генно-инженерных микроорганизмов и при оценке непрямых экологических эффектов ГИО.

Для оценки риска ГПГ при использовании высших ГИО более важен другой механизм генетической трансформации – так называемая естественная (natural) трансформация. Естественная трансформация – наиболее вероятный механизм горизонтального переноса генов устойчивости к антибиотикам от трансгенных высших организмов бактериям [Nielsen et al., 1998; Smalla et al., 2000]. Он предусматривает активный перенос свободной внеклеточной ДНК в цитоплазму бактериальной клетки. Фрагмент одноцепочечной ДНК, захватываемый бактериальной клеткой, теоретически может

интегрироваться в бактериальный геном вследствие гомологичной рекомбинации или вследствие образования автономного репликативного элемента. Транспорт свободной ДНК происходит в основном в течение специфической фазы роста бактериальной клетки, когда она является компетентной. Из лабораторных экспериментов известно, что более 40 видов бактерий, выделенных из разных условий среды, могут быть подвержены естественной трансформации [Smalla et al., 2000].

Таблица 5.10

Генетически модифицированные растения, несущие маркерные гены устойчивости к антибиотикам, которые прошли или проходят процедуру оценки риска в странах Европейского Союза

Номер заявки на высвобождение	Компания-производитель ГМО	ГМО	Гены устойчивости к антибиотикам	Цель высвобождения
C/UK/94/M1/1	(Plant Genetic Systems) AgrEvo	Масличный рапс (<i>Brassica napus</i>)	<i>aph(3')-II</i>	Производство семян
C/NL/94/25	Bejo Zaden BV	Цикорий (<i>Radicchio rosso</i>)	<i>aph(3')-II</i>	То же
C/F/94/11-03	(Ciba-Geigy) Novartis	Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	<i>bla_{TEM-1}</i>	Производство семян, импорт, переработка, продукты питания и корма
C/F/95/05-01A	(Plant Genetic Systems) AgrEvo	Масличный рапс (<i>Brassica napus</i>)	<i>aph(3')-II</i>	То же
C/UK/95/M5/1	AgrEvo UK	То же	<i>bla_{TEM-1}</i>	Импорт, переработка, продукты питания и корма
C/F/95/12-07	AgrEvo France	Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	<i>bla_{TEM-1}</i>	Производство семян, импорт, переработка, продукты питания и корма
C/F/95/12-01/B	Pioneer Hi-Bred International	То же	<i>aph(3')-II</i>	То же
C/NL/94/25-A	Bejo Zaden BV	Цикорий (<i>Radicchio rosso</i>)	<i>aph(3')-II</i>	Продукты питания и корма
C/NL/96/10	Avebe	Картофель (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>aph(3')-I+aph(3')-III</i>	Производство семенного картофеля, крахмала, кормов
C/ES/96/01	Zeneca	Томаты (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>aph(3')-II</i>	Производство семян, импорт, переработка, продукты питания и корма
C/ES/96/02	Monsanto	Хлопок (<i>Gossypium hirsutum</i>)	<i>aph(3')-I+ant(3'')-Ia¹</i>	Производство семян, переработка, продукты питания и корма
C/ES/97/01	»	То же	<i>aph(3')-II+ant(3'')-Ia¹</i>	То же
C/SE/96/3501	Amylogene HB	Картофель (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>aph(3')-II</i>	Производство семенного картофеля, крахмала, кормов
C/NL/97/17	Dekalb Genetics	Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	<i>bla_{TEM-1}</i>	Производство семян, импорт, переработка, продукты питания и корма

Примечание. Табличные данные представлены в работе W. Moens, J.M. Collard [2002].

¹ Ген устойчивости к аминогликозидам (в том числе к канамицину).

Потенциальная возможность естественной трансформации и включения в геном бактерий генов устойчивости к антибиотикам стимулировала интенсивное исследование этого процесса с точки зрения оценки риска ГИО. Результаты данных исследований и рекомендации к соответствующей процедуре оценки риска были представлены рядом международных совещаний экспертов [WHO, 1993; FAO/WHO, 1996, 2000b]. Итогом тщательного изучения данного вопроса экспертами по биобезопасности было заключение о том, что горизонтальный перенос генов устойчивости к антибиотикам бактериям, населяющим желудочно-кишечный тракт млекопитающих, – процесс ма-

ловероятный. Перенос ДНК от высших ГИО микроорганизмам кишечника вследствие употребления новых продуктов питания может произойти только при одновременном сочетании ряда маловероятных событий [FAO/WHO, 2000b]:

- Маркерный ген ГИО, участвующий в трансформации бактерии, должен быть в виде свободных фрагментов ДНК, возможно, только в качестве линейных фрагментов.
- Маркерный ген должен избежать деградации нуклеазами самого ГИО и нуклеазами желудочно-кишечного тракта.
- Маркерный ген должен избежать конкуренции с другой ДНК ГИО и новых продуктов за транспорт в бактериальную клетку.
- Реципиентные бактерии должны быть компетентными в отношении трансформации, и маркерный ген должен избежать ферментативной рестрикции.
- Маркерный ген должен быть встроен в ДНК реципиента вследствие редких репаративных или рекомбинационных событий (должна иметь место гомология маркерного гена или прилегающих к нему районов ДНК с ДНК хромосомы или плазмиды болезнетворной бактерии пищеварительного тракта).

К вышеперечисленным условиям следует добавить, что экспрессия встроенного маркерного гена в бактериях возможна лишь при выполнении ряда условий. В частности, необходимо, чтобы маркерный ген попал в «сферу действия» бактериальных регуляторных последовательностей ДНК (в эукариотических ГИО активность трансгена регулируется эукариотическими промоторами, не функционирующими в прокариотах).

Несмотря на теоретически низкую вероятность ГПГ, осуществлялись многочисленные эксперименты, чтобы на практике оценить частоту горизонтального переноса маркерных генов. В результате процесс естественной трансформации бактерий генетическим материалом высших растений был обнаружен исключительно в оптимизированных лабораторных условиях и при непременном требовании гомологичной рекомбинации. Компетентные бактерии различных видов, несущие не функционирующий (вследствие делеции) ген *nptII*, подвергались трансформации растительной ДНК картофеля, табака, свеклы, содержащей не измененный ген *nptII*. На селективной среде удалось отобрать трансформанты с восстановленной в результате гомологичной рекомбинации функцией устойчивости к канамицину [Nielsen et al., 1997; Smalla et al., 2000; DeVries et al., 2001]. Это означает, что маркерный ген устойчивости к антибиотикам может быть перенесен из ГИО в бактериальные клетки, если тот же самый ген или гены, включающие фрагменты с идентичной последовательностью нуклеотидов, заранее присутствуют в данных клетках. В случае, когда гомологии ДНК у живых организмов не наблюдается, ГПГ маловероятен даже в оптимизированных лабораторных условиях [Nielsen et al., 1997; DeVries et al., 2001].

Специфика генетической инженерии такова, что трансгены относительно часто содержат последовательности нуклеотидов, гомологичные прокариотическим, что существенно увеличивает вероятность их интеграции в бактериальный геном. Высказываются также предположения, обоснованные данными о механизме рекомбинации вирусов растений, о том, что и негомологичная рекомбинация, несмотря на ранее приведенные научные факты, может быть составным элементом механизма ГПГ [Weber, 2002].

В связи с вышеуказанными опасениями вероятность ГПГ кроме лабораторных экспериментов оценивалась также в модельных системах, имитирующих условия желудочно-кишечного тракта человека. Предпринятые исследования показали, что ДНК генно-инженерных растений быстро (в течение нескольких секунд) разрушается в тонком кишечнике, но сохраняется относительно продолжительное время (минуты) в нижней части подвздошной кишки и в толстом кишечнике, где ГПГ соответствующей

микрофлоре теоретически возможен [Calgen, 1990, цит. по Nap et al., 1992; Van Der Vossen et al., 1998]. Расчет вероятности ГПГ канамицин-устойчивости из трансгенных томатов микрофлоре толстого кишечника человека представила американская агрофирма «Calgene» [цит. по Nap et al., 1992]. Он показал, что употребление в пищу 250 г трансгенных томатов (3 мг ДНК, 10 копий гена *npt II* на геном) может увеличить долю микроорганизмов, несущих ген *npt II* лишь на $2,4 \times 10^{-15}$ %. При этом факт трансформации не означает еще функционирования гена, что требует дополнительных процессов рекомбинации и отбора. Показательны также данные прямой экспериментальной оценки частоты трансформации микрофлоры толстого кишечника при использовании в качестве трансформирующего агента плазмиды широкого круга хозяев pGKV21 *E.coli* [Van Der Vossen et al., 1998]. Факт трансформации не был зарегистрирован вообще при чувствительности метода детекции – один трансформант на 10^9 клеток микрофлоры кишечника (т.е. доля трансформантов была ниже 10^{-9}). Трансформация линейным фрагментом ДНК значительно менее вероятна, и соответствующая частота оценивалась разными исследователями как 10^{-18} [Nielsen et al., 1997; Van Der Vossen et al., 1998]. Таким образом, определенная опытным путем вероятность неблагоприятного воздействия рассматриваемого фактора риска ГИД (вероятность ГПГ) крайне мала. Более того, до сих пор не получено никаких данных, подтверждающих естественный перенос генов устойчивости к антибиотикам от ГИО к бактериям желудочно-кишечного тракта человека.

Кроме вероятности неблагоприятного воздействия для оценки риска важен параметр величины его последствий. Рассмотрим фактор ГПГ с этой точки зрения. Известно, что значительная доля микроорганизмов желудочно-кишечного тракта человека уже являются устойчивыми к тем или иным антибиотикам независимо от генно-инженерной деятельности. Доля устойчивых форм растет вместе с ростом масштаба применения антибиотиков в медицинской практике (селективный фактор, влияющий на процесс генетической изменчивости микроорганизмов). В отношении канамицина в литературе приведены данные о том, что из 10^{14} бактерий пищеварительного тракта 10^{12} не устойчивы к нему и могут быть трансформированы (остальные уже имеют природную устойчивость) [Nap et al., 1992]. Широкая распространенность устойчивых к канамицину, неомицину бактерий ограничивает применение этих препаратов в медицинской практике. В настоящее время они не применяются для лечения человека и используются только в ветеринарии. Более того, следует учитывать, что любые продукты питания, поступившие на товарный рынок, не являются стерильными. Следовательно, бактерии с природной устойчивостью к антибиотикам являются частью микрофлоры не стерильной и не подвергшейся соответствующей кулинарной обработке пищи. Экспериментально продемонстрировано, что на поверхности семян сои, кукурузы, как трансгенных, так и не трансгенных, содержатся с высокой частотой бактерии с различным фенотипом устойчивости к антибиотикам (не только к ампициллину, канамицину, неомицину) [Moens, Collard, 2002]. В связи с этим следует признать, что вероятность горизонтального переноса генов устойчивости к антибиотикам микрофлоре кишечника от естественной микрофлоры, загрязняющей продукты питания, гораздо выше, чем ГПГ от ГИО. Возможность переноса микроорганизмам кишечника генов устойчивости к антибиотикам вследствие употребления в пищу ГИО и новых продуктов достоверно не изменяет глобальную вероятность их переноса от природных бактерий.

Все вышеуказанные факты свидетельствуют, что горизонтальный перенос соответствующих маркерных генов, широко представленных в ГИО, маловероятно приведет к существенным для здоровья человека неблагоприятным последствиям и вряд ли снизит эффективность современной терапии. Принимая во внимание оба параметра (вероятность ГПГ и его последствия), можно констатировать, что риск горизонтального

переноса генов устойчивости к антибиотикам, применяемым в современной генно-инженерной практике, несущественный (приближается к нулю). Однако данный риск обязательно оценивается при высвобождении ГИО, характер соответствующей необходимой информации указан, в частности, в приложении III Директивы 2001/18/ЕС [EU, 2001]. Тем более не могут игнорироваться возможные отдаленные эффекты ГПГ и эффекты ГПГ устойчивости к новым, интенсивно применяемым в медицине лекарственным препаратам, в связи с чем эксперты FAO/WHO предлагают избегать использования таких маркерных генов в рамках ГИД.

Предлагается шире использовать методы получения ГИО без включения в трансгенную конструкцию генов устойчивости к антибиотикам. Известным производителем ГИО, фирмой «Novartis», запатентован маркерный ген *manA*, отвечающий за продукцию фермента фосфоманноза изомераса. Активность фермента позволяет поддерживать рост трансформированных растительных клеток на питательной среде, содержащей маннозо-6-фосфат. Альтернативой маркерным генам устойчивости к антибиотикам являются также гены, отвечающие за синтез ферментов триптофан декарбоксилазы, β -глюкуронидазы и ряд других [Kuiper et al., 2001]. В качестве маркерного (репортерного) гена в последнее время применяют также ген, отвечающий за синтез флуоресцирующего в ультрафиолетовом свете белка (GFP). Отбор трансформированных клеток в данном случае вообще не требует применения селективных сред [Stewart et al., 2000]. Разработаны и применяются методы генетической трансформации, позволяющие исключать из ГИО маркерные гены на стадии после отбора трансформантов [Глик, Пастернак, 2002].

* * *

Таким образом, генно-инженерные организмы и полученные на их основе продукты не несут каких-то специфических, принципиально новых рисков для здоровья человека. Описанные выше возможные риски, связанные с генетической модификацией, отнюдь не характерны для всех без исключения вновь полученных генно-инженерных организмов. Как показывает практика, отклонения от нормы, от «ожидаемого» фенотипа у них встречаются очень редко. Эти отклонения чаще всего можно выявить визуально и выбраковать уже на самых ранних этапах испытания ГИО. Использование сложных процедур оценки рисков обусловлено применением на практике основного принципа биобезопасности – принципа принятия мер предосторожности. Все-таки мы имеем еще слишком короткую историю безопасного использования генно-инженерных организмов.

С точки зрения генетики, например, трансгенный сорт растения отличается от исходного только тем, что в его генетический материал к 25–30 тысячам существующих генов добавлен относительно небольшой фрагмент ДНК, в котором записана информация об одном-двух новых генах и их регуляторных элементах. Активность этих добавленных генов в организме выражается в биосинтезе одного-двух новых для организма протеинов (ферментов или структурных белков). Поскольку генетическая инженерия может оперировать любыми генами, существующими в природе, а не только генами от организмов, состоящих в эволюционном родстве с отдельными видами культурных растений, как это делается в традиционной селекции, то продукты привнесённых генов (ферменты, протеины) могут выглядеть в ГИО как необычные, несвойственные, чужеродные для данного вида, которые в природе у него не встречаются. Именно продукты трансгенов являются наиболее существенными, осязаемыми факторами рисков, связанных с генно-инженерными организмами. Следовательно, они должны изучаться наиболее тщательно.

С уверенностью можно утверждать, что это не относится к добавленному фрагменту ДНК, так как строение наследственного материала у всех организмов на нашей

планете универсально. И у человека, и у животных, растений, грибов, бактерий и вирусов он устроен одинаково: речь идет о полимере, состоящем из двух связанных цепочек чередующихся в различном сочетании четырех нуклеотидов. Сама по себе ДНК в чистом виде является абсолютно безопасным для человека продуктом. Сколько существует человек, столько он ежедневно потребляет его без какого-либо ущерба для своего здоровья.

Что касается рекомбинантных протеинов, то не во всех ГИО они являются абсолютно чужеродными, несвойственными для определенного вида соединениями. Во-первых, существует достаточно большая группа трансгенных сортов растений, которые получены благодаря генетическим манипуляциям с их собственными генами (томаты с удлинненным периодом хранения, соя, рапс с улучшенным составом масла, картофель с улучшенным качеством крахмала, кофе без кофеина, табак без никотина и др.).

Во-вторых, многие весьма отдаленные в эволюционном плане организмы имеют большое количество идентичных путей метаболизма, и соответственно состав и строение ферментов, которые обеспечивают их реализацию, также идентичны. В качестве примера можно привести упомянутый выше фермент EPSPS, который является ключевым в биосинтезе ароматических аминокислот у всех растений, грибов, бактерий. Бактериальный EPSPS, образующийся у трансгенной сои, толерантной к гербициду глифосату, вполне успешно выполняет соответствующие функции в растительном организме после обработки растений гербицидом, когда свой, растительный EPSPS сои дезактивирован. Однако при оценке безопасности таких близких по функциональной активности генов следует обращать внимание не столько на сам белок – продукт трансгена, сколько на возможное изменение отдельных путей метаболизма трансгенного растения из-за повышения концентрации одного из их компонентов. В случае с тем же EPSPS при оценке безопасности генетически модифицированной сои принималось во внимание, что этот фермент катализирует реакцию, не лимитирующую конечную скорость синтеза ароматических аминокислот, поэтому, как и ожидалось, показатели их синтеза у ГИО не отличались от таковых у исходных растений.

В-третьих, последние научные данные, полученные в результате изучения строения генетического материала человека, некоторых животных и растений, существенно расширили наши представления о сходстве и различиях генов разных систематических групп и вероятности их переноса от одной отдаленной систематической группы к другой (горизонтальный перенос генов). Оказалось, что в геноме уже знакомого читателям растения арабидопсис присутствует около ста генов – «двойников» генов человека, в том числе таких, как ген рака молочной железы, ген, ответственный за опасное заболевание мусковисцидоз и др. [Зеленин и др., 2001]. Почвенная бактерия *Agrobacterium tumefaciens* регулярно переносит часть своих генов в растения, вызывая у них образование опухоли – корончатого галла. И это абсолютно естественный, Богом данный процесс, который с успехом используют и генные инженеры. И таких примеров можно привести очень много.

Таким образом, то, что делают генетики, ни в коей мере не противоречит законам природы. Обмен генетической информацией между отдаленными видами в ней происходит постоянно. В отдельных случаях для этого требуются миллионы лет, а в некоторых (агробактериальная трансформация) это может происходить ежедневно и ежедневно. Тем не менее, любой ученый, планируя добавить растению, микробу или животному какой-либо новый ген, должен тщательно изучить сам этот ген, а также продукт его активности и убедиться в их безопасности.

Большая группа рисков связана с самим фактом вставки трансгенов в генетический материал организма. Есть основания полагать, что встраивание трансгенов про-

исходит случайным образом. Это означает, что привнесенный ген может затронуть область ДНК, которая кодирует структуру или регуляторные элементы какого-либо гена модифицируемого организма. Именно риски, вытекающие из случайного характера встраивания трансгенов, несут наибольший элемент научной неопределенности, и оценить их иногда весьма сложно. Следует, однако, подчеркнуть, что вероятность этого события в целом не так велика, как может показаться на первый взгляд. Дело в том, что генетический материал высших организмов устроен таким образом, что собственно генами и их регуляторными элементами занято менее 10% длины молекулы ДНК, что, как полагают, повышает стабильность, устойчивость молекулы ДНК к внешним воздействиям. Гены на молекуле ДНК расположены не плотно один за другим, как кадры на киноплёнке, а через большие промежутки, занятые некодирующими последовательностями нуклеотидов. Более того, даже в пределах кодирующих последовательностей генов имеются области, так называемые интроны, которые также не несут никакой генетической информации. Они вырезаются в ходе «созревания» молекулы информационной РНК, образовавшейся при транскрипции гена.

Тем не менее, вероятность того, что трансген может встроиться в область ДНК, уже занятую другим геном, все же существует. Если при этом будет затронута область, кодирующая структуру поврежденного гена, то в результате продукт этого гена образовываться не будет. Если затронутый ген выполняет какую-то важную функцию в организме, то отсутствие его продукта может иметь весьма печальные последствия, вплоть до потери жизнеспособности организма. Понятно, что до уровня коммерческого сорта генотипы с поврежденными генами дойти не могут в принципе. Если в процессе встраивания будут затронуты другие регуляторные элементы – энхансеры («усилители» активности генов) или сайлэнсеры («замедлители»), то это может привести к изменению активности затронутых вставкой генов. Сорта растений, образующие какие-либо токсичные соединения (например, соланины картофеля) в концентрациях, безвредных для здоровья человека, в результате генетической модификации могут усилить их синтез до уровня, превышающего предельно допустимые значения. Такие генотипы уже становятся опасными для здоровья, и их необходимо своевременно выявлять и выбраковывать в ходе селекции.

Наконец, третья основная группа рисков, связанных с горизонтальным переносом трансгенов, например селективных генов устойчивости к антибиотикам от ГМ растения микроорганизмам пищеварительного тракта, как показывает практика, относительно легко контролируется. Тот факт, что она вызывает пристальное внимание общественности, объясняется скорее политическими, чем реальными методическими проблемами безопасности генно-инженерной деятельности.

Литература к главе 5

- Галактионов В.Г. Иммунология. М.: Изд-во Московского университета, 1998. –479 с.
- Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биология. Принципы и применение: Пер. с англ. / Под ред. Н.К. Янковского. М.: Мир, 2002. – 589 с.
- Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986.–280 с.
- Зеленин А.В., Бадаева Е.Д., Муравенко О.В. Введение в геномику растений // Молекулярная биология. 2001. Т. 35, №3. С. 339–348.
- Йергер Л., Амброзиус Г., Байер Р. и др. Клиническая иммунология и аллергология: В 3 т. М.: Медицина, 1990.
- Козубова Л.И. Токсиканты в пищевых продуктах: аналитический обзор. Новосибирск, 1990. – 127 с.
- Лойт А. О. Определение токсичности в острых опытах // Токсикологическая оценка новых химических веществ. Ч. I / Под ред. И.И. Барышникова, СИ. Колесникова. Изд-во Иркутского ун-та, 1992. С. 68–92.

- Савченков М. Ф. Особенности определения токсичности в хроническом эксперименте // Токсикологическая оценка новых химических веществ. Ч. I / Под ред. И.И. Барышникова, С.И. Колесникова. Изд-во Иркутского ун-та, 1992. С. 98–117.
- Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб: Наука, 2001. – 370 с.
- ACGM (Advisory Committee on Genetic Modification, UK) (2000) Guidance from the health and safety commissions Advisory Committee on Genetic Modification. Part 2. Risk Assessment of Genetically Modified Organisms. P. 1–35.
<http://www.hse.gov.uk/hthdir/noframes/acgmcomp/acgmcomp.htm>.
- ACGM (2000) Guidance from the health and safety commissions Advisory Committee on Genetic Modification. Part 2D. Risk Assessment of Work with Genetically Modified Plants.
<http://www.hse.gov.uk/hthdir/noframes/acgmcomp/acgmcomp.htm>.
- Anderson J.A. Allergic reactions to foods // Critical Rev. in Food Sci. and Nutr. 1996. Vol. 36. P. 19–38.
- Bush R.K., Hefle S.L. Food allergens // Critical Rev. in Food Sci. and Nutr. 1996. Vol. 36. P. 119–163.
- Chassy B.M. Food Safety Evaluation of Crops Produced through Biotechnology // J. Amer. College of Nutrition. 2002. Vol. 21, No. 3. P. 166–173.
- Clark E.A., Lehman H. Assessment of the GM crops in commercial agriculture // J. of Agricultural and Environmental Ethics. 2001. Vol. 14. P. 3–28.
- DeVries J., Meier P., Wackernagel W. The natural transformation of the soil bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Acinetobacter* sp. by transgenic plant DNA strictly depends on homologous sequences in the recipient cells // FEMS Microbiology Letters. 2001. Vol. 195. P. 211–215.
- Doerfler W. Foreign DNA in mammalian systems. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000.
- Edler L. Quantitative methods for allergenic food risk assessment. ICCRA, International Conference on Cancer Risk Assessment, Athens, 22–24 August 2003.
- EU Council Directive of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified microorganisms (90/ 219/EEC). 1990.
- EU Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients // Off. J. Eur. Commun. 1997. L43. P. 1–7.
- EU Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/ 220/EEC // Off. J. Eur. Commun. 2001. L106. P. 1–23.
- EU Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed // Off. J. Eur. Union. 2003. L268. P. 1–23.
- Ewen S.W.B., Pusztai A. Effects of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine // The Lancet. 1999. Vol. 354. P. 1353–1354.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization). Biotechnology and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 30 September – 4 October 1996. FAO Food and Nutritional Paper 61. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1996 (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- FAO/WHO. Report of the first session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology (ALINORM 01/34). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000a (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- FAO/WHO. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Geneva, Switzerland, 29 May – 2 June 2000b: P. 1–37. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000b (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- FAO/WHO. Allergenicity of genetically modified foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Rome, 22–25 January 2001. P. 1–29. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2001 (<http://www.fao.org/es/esn/gm/biotech-e.htm>).
- FAO/WHO. Joint FAO/WHO Food Standards Programme «Codex Alimentarius Commission». Appendix II «Draft guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants». Twenty-Sixth Session (ALINORM 03/34), FAO Headquarters, Rome, 30 June – 7 July 2003. Rome, 2003. P. 47–57 (http://www.codexalimentarius.net/session_26.stm).
- Hall G. Environmental release of genetically modified Rhizobia and mycorrhizas // Genetically Modified Organisms. A Guide to Biosafety CABI, Wallingford, UK, 1995. P. 64–92.
- IFIC (International Food Information Council) Understanding Food Allergy. IFIC REVIEW, 2001. P. 1–7. (<http://www.ific.org>).
- IFT (Institute for Food Technologist). Human food safety of rDNA biotechnology-derived foods. IFT Expert Report on Biotechnology and Foods. Food Tech. 2000. Vol. 54. P. 15.
- Jones D.D., Maryanski J.H. // Impact assessment in Genetic Engineering: Environmental release of organisms. 1991. P. 64–82.

- Kinderlerer J. Tools of Regulation. An Initiative of the United Nations Environment Program (UNEP) Guide to Risk Assessment and Biosafety in Biotechnology, GRABB, 1997.
- King T.P., Hoffman D., Lowenstein H. Allergen nomenclature // International Archives of Allergy and Immunology. 1994. Vol. 10. P. 224-233.
- Kok E.J., Keijer J., Van Hoef A.M.A. et al. MRNA fingerprinting of transgenic food crops // Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction / Ed. Horning M. The Hague: Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 37-49.
- Kuiper H. A. Safety evaluation of genetically modified foods and animal feed as a basis for market introduction // Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction Ed. M. Horning. The Hague: Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 7-19.
- Kuiper H. A., Kleter G. A., Noteborn H. P. J. M., Kok E.J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods // The Plant Journal. 2001. Vol. 27. No. 6. P. 503-528.
- Lehrer S.B. Potential Health Risks of Genetically Modified Organisms: How Can Allergens be Assessed and Minimized? // Agricultural Biotechnology and the Poor. 2000. P. 149-155.
- Lehrer S.B., Horner W.E., Reese G. Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology // Clin. Rev. Food Sci. Nutr. 1996. Vol. 36. P.553-564.
- Metkalf D.D., Astwood J.D., Townsend R. et al. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants // Critical Rev. in Food Sci. and Nutr. 1996. Vol. 36 (S). P. 165-186.
- Miller H.I. Substantial equivalence: its uses and abuses // Nature Biotech. 1999. Vol. 17. P. 1042-1043.
- Millstone E., Brunner E., Mayer S. Beyond substantial equivalence // Nature. 1999. Vol. 401. P. 525-526.
- Moens W., Collard J.M. GM Plants containing antibiotic resistance genes. Belgian Biosafety Server. Last revised: 4 December 2002 (<http://biosafety.ihe.be/ARGMO/ARGMOMenu.htm>).
- Monsanto Canada Inc. "Decision Document 97-19 Determination of the Safety of Monsanto Canada Inc.'s Yield guard Insect Resistant Corn (Zea mays) Line MON810" (Annex I); "Novel Food Information Document FD-OFB-97-07 (June 1997) for Insect Resistant Corn MON810" (Annex II), 1997.
- Nap J. P., Bijvoet J., Stikema W. J. Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants // Transgenic Res. 1992. Vol. 1. P. 239-249.
- Nielsen K M., Gebhard F., Smalla K. et al. D. Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413 // Theor. Appl. Genet. 1997. Vol. 95. P. 815-821.
- Nielsen K.M., Bones A.M., Smalla K, van Elsas J.D. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria - a rare event? // FEMS Microbial Rev. 1998. Vol. 22. P. 79-103.
- Nordlee J.A., Taylor S.L., Townsend J.A. et al. Identification of a brazil nut allergen in transgenic soybeans // N. Engl. J. Med. 1996. Vol. 334. P. 688-692.
- Noteborn H.P.J.M., Lommen A., Weseman J.M. et al. Chemical fingerprinting and *in vitro* toxicological profiling for the safety evaluation of transgenic food crops // Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction / Ed. M. Horning. The Hague: Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 51-79.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Principles of Good Laboratory Practice, 1992 (<http://www.oecd.org/ehs/service.htm>).
- OECD. Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology: concepts and principles. OECD, Paris, 1993a. P. 1-74.
- OECD. Safety assessment of new foods: results of an OECD survey of serum banks for allergenicity testing, and use of databases. OECD, 1997 (ICGB (97)1). P. 1-34.
- OECD. Report of the working group on harmonization of regulatory oversight in biotechnology. C(2000)86/ADD2. P. 1-33.
- OECD. Expert Group on The Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, Consensus documents, 1998-1999. OECD, Paris: 2001a, Inter-Agency Network for Safety in Biotechnology (<http://www.oecd.org/ehs/cd.htm>).
- OECD. OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity - Up-and-Down Procedure. Adopted: 17th December 2001. OECD, 2001b (<http://www.oecd.org/ehs/cd.htm>).
- Padgett S.R., Taylor N.B., Nida D.L. et al. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans // J. of Nutr. 1996. Vol. 126. P. 702-716.
- Reese J., Lehrer S.B. Toxicants in food: food allergens // Nutrition and Chemical Toxicity / Ed. C Ioannides. Wiley, West Sussex, England, 1998. P. 81-114.
- Sampson H.A., Metcalfe D.D. Food allergies // J. Amer. Med. Assoc. 1992. Vol. 268. P. 2840-2844.

- Sampson H.A., Mendelson M.D., Rosen J.P.* Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescent // *New Engl. J. Med.* 1992. Vol. 327. P. 380-384.
- Schauzu M.* The concept of substantial equivalence in safety assessment of foods derived from genetically modified organisms // *AgBiotechNet*. 2000. Vol. 2, ABN 044, P.
- Shewry P.R., Tatham A.S., Halford N.G.* Genetic modification and plant food allergens: risks and benefits // *J. Chromatography*. 2001. Vol. 756. P. 327-335.
- Smalla K., Borin S., Heuer H. et al.* Horizontal transfer of antibiotic resistance genes from transgenic plants to bacteria - are there new to fuel the debate? // *Proc. of the 6th International Simp. on the Biosafety of Genetically Modified Organisms, July 2000 (Saskatoon, Canada)*. P. 146-154.
- Stewart C.N. Jr., Richards H.A., Halfhill M.D.* Transgenic plants and biosafety: science, misconceptions and public perception // *Biotechniques*. 2000. Vol. 29. P. 832-843.
- Taylor S.L.* Food allergies // *Food Technol.* 1985. Vol. 49. P. 116.
- Taylor S.L.* Assessment of the allergenicity of genetically modified foods BINAS Online Library: Biosafety Reviews. 2000 (<http://binas.unido.org/binas/>).
- Taylor S., Lehrer S.B.* Principles and characteristics of food allergens // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Allergenicity of Foods Produced by Genetic Modification*. 1996. Vol. 36 (S). P. 91-118.
- Taylor S.L., Hefle S.L., Munoz-Furlong A.* Food allergies and avoidance diets // *Nutr. Today*. 1999. Vol. 34. P. 15-22.
- The Royal Society of UK Review of date on possible toxicity of GM potatoes. 1999 (<http://www.royalsoc.ac.uk.>).
- The Royal Society of Canada. Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada. An Expert Panel Report on the Future of Food Biotechnology prepared by The Royal Society of Canada at the request of Health Canada Canadian Food Inspection Agency and Environment Canada, 2001. P. 1-242 (<http://www.rsc.ca>).
- Van der Vossen J.M.B.M., Havekes W.A.L.M., Koster D.S. et al.* Development and application of *in vitro* intestinal tract model for safety evaluation of genetically modified foods // *Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction* / Ed. M. Horning. The Hague: Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 81-96.
- Weber B.* How can we feel sure about the safety of transgenic plants? Risk assessment dialogue. 2002 (<http://www.agbiotech.net>).
- WHO (World Health Organization). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. Geneva: World Health Organization, 1987.
- WHO. Principles for the toxicological assessment of pesticide residues in food. Environmental Health Criteria 104. Geneva: World Health Organization, 1990.
- WHO. Health aspects of marker genes in genetically modified plants. Report of WHO Workshop (WHO/FNU/FOS/93.6). Geneva: World Health Organization, 1993.

Глава 6

ОЦЕНКА РИСКА ВОЗМОЖНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ ОРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Когда речь идет о риске неблагоприятных последствий использования генно-инженерных технологий для окружающей среды в целом или для каких-то отдельных ее объектов, то, как правило, имеется в виду выпуск ГИО в окружающую среду с целями испытания или коммерческого использования. Ведь очевидно, что негативное влияние ГИО на элементы окружающей среды или экосистему в целом возможно только при попадании ГИО в окружающую среду и их распространении там. Использование ГИО в замкнутых системах не может нести каких-либо угроз для окружающей среды в силу обязательно применяемых специальных мер изоляции, предотвращающих взаимодействие создаваемых, испытываемых или используемых ГИО с окружающей средой. Взаимодействие модифицированных организмов с элементами окружающей среды при их содержании в замкнутой системе возможно только при нарушении предусмотренных мер изоляции и является нештатной ситуацией. Такие ситуации требуют специальных мер регулирования по предотвращению или минимизации неблагоприятных последствий, связанных с воздействием ГИО, и не являются объектом оценки безопасности ГИО для окружающей среды при его запланированном высвобождении. В данной главе мы рассмотрим проблемы экологического характера, которые могут возникнуть при запланированном высвобождении ГИО, прошедших оценку безопасности для здоровья человека и животных (о безопасности ГИО при использовании в замкнутых системах см. в главе 5).

Негативное влияние хозяйственной деятельности человека на окружающую природную среду, к сожалению, неоспоримо. Использование новых технологий, в том числе биотехнологий, теоретически может стать как источником новой опасности для окружающей среды, так и методом сбережения природных ресурсов, улучшения и даже восстановления природных и подверженных деятельности человека экосистем. Чтобы максимально извлечь все выгоды использования генно-инженерных организмов и в то же время избежать возникновения неблагоприятных эффектов, необходимо четко представлять, какая опасность для окружающей среды может возникать в каждом конкретном случае использования ГИО. При этом следует обращать внимание как на очевидные факторы влияния, так и на возможные отдаленные или опосредованные неявные последствия. В этой главе будут рассмотрены основные факторы риска, связанные с высвобождением ГИО в окружающую среду и способные стать причиной негативных последствий для природных и культурных экосистем и популяций живых организмов. Показана значимость каждого из факторов в зависимости от биологических особенностей объекта высвобождения, характера генно-инженерной модификации, взаимодействия ГИО с элементами окружающей среды. Особое внимание будет уделено методам оценки рисков возникновения неблагоприятных последствий для окружающей среды и путям предотвращения или минимизации возможных негативных последствий использования генетически модифицированных организмов.

6.1. Воздействие различных типов генно-инженерных организмов на экологические системы

Вероятность возникновения каких-либо экологических последствий высвобождения ГИО, как положительных, так и отрицательных, кроме особенностей самого ГИО, напрямую зависит от частоты использования данных ГИО, масштабов и длительности их применения, от способности этих организмов осваивать новые пространства и экологические ниши и сохраняться в новых местах обитания, их возможностей в успешном конкурировании с эндемичными видами и воздействии на неживые элементы окружающей среды.

Наиболее часто упоминаемые факторы риска для окружающей среды, связанные с использованием ГИО, в первую очередь касаются высвобождения трансгенных растений. Это и не удивительно, если учесть ведущую роль растений в производстве сельскохозяйственной продукции и связанное с этим воздействие на формирование современных ландшафтов. В экономически развитых странах аграрные ландшафты составляют большую часть территорий и являются наиболее типичными биоценозами. Растения играют базовую роль в формировании сообществ живых организмов и экологических систем в целом, являясь не только синтезаторами кислорода, но и преобразователями неорганических веществ в органические. Они составляют основу пищевой пирамиды для всех живых организмов, являются местом обитания большинства из них, играют важную роль в почвообразовании, формировании гидробиологического режима и местного микроклимата.

Современное состояние генно-инженерных исследований и развитие биотехнологических методов в наибольшей степени способствуют созданию именно генетически модифицированных (ГМ) сортов растений. Развитие биоинженерных технологий касается прежде всего сельскохозяйственных растений – зерновых, плодовоовощных, кормовых, а также декоративных культур. Однако в последнее время интерес исследователей стали привлекать лесные, в первую очередь древесные, растения [Mullin, Bertrand, 1998; Pilate et al., 2002; Mann, Plummer, 2002 и др.]. Таким образом, увеличивается вероятность распространения растительных ГИО не только в сильно измененных человеком агробиологических ландшафтах, но и в местах, менее затрагиваемых деятельностью человека, в том числе на охраняемых территориях.

Генно-инженерные модификации в настоящее время позволяют не только добиться увеличения урожайности или устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды и вредителям, но и придать традиционным культурам новые, непривычные свойства и функции. Например, использовать их как биореакторы по производству различных биохимических веществ – вакцин, физиологически активных и других фармакологических веществ, необычного сырья для химической промышленности или применять ГМ растения в качестве восстановителей либо преобразователей природных ландшафтов [Walmsley, Arntzen, 2000; Giddings, 2001; Mann, Plummer, 2002]. То есть, мы наблюдаем процесс вовлечения в сферу нетрадиционной селекции все новых видов растений и расширение сферы деятельности самой нетрадиционной селекции. Это в еще большей мере увеличивает вероятность воздействия генно-инженерных растений на экосистемы и расширяет палитру таких воздействий.

Уже теперь посадки генетически модифицированных растений в некоторых странах занимают если не основные, то весьма значительные площади. Например, в США – основном производителе генетически модифицированных растений – в 2000 году сорта и гибриды генно-инженерного происхождения составили одну треть посевов кукурузы и половину – хлопчатника и сои. С 1992 по 2000 год разрешение на коммерческое использование в этой стране получили порядка 60 сортов сельскохозяйст-

венных растений [Stewart et al., 2000]. Расширяется география возделывания ГМ растений (см. главу 3). Очевидные экономические выгоды, связанные с культивированием сортов и гибридов генно-инженерного происхождения, будут и дальше служить стимулом к распространению растительных ГИО, причем не только в развитых, но и в развивающихся странах, где увеличивается опасность проникновения ГИО в природные экологические системы, не измененные человеком.

Вероятность воздействия ГМ растений на природные ландшафты возрастает в связи с особенностями биологии этих организмов, в частности биологии размножения, которая позволяет растениям быстро распространяться на обширные территории и достаточно долго сохраняться на них, несмотря на отсутствие явных средств передвижения и кажущуюся статичность и уязвимость. Это выработавшаяся в процессе эволюции способность к обмену генетическим материалом посредством пыльцы, способной переноситься на значительные расстояния с помощью ветра, насекомых, других животных. Это образование специальных вегетативных органов, которые могут служить как для запаса питательных веществ и выживания в неблагоприятных условиях, так и для быстрого размножения и заселения новых территорий, формирование плодов и семян, которые также могут быть перенесены на большие расстояния от материнского растения, длительное время сохраняться, переживая неблагоприятные условия, и затем активно развиваться в новое растение за счет запасных питательных веществ, содержащихся в семени. И, наконец, что очень важно, количество образующейся пыльцы и семян, как правило, очень велико и избыточно, что позволяет популяции растений и виду в целом существовать на занимаемой территории длительное время даже в крайне неблагоприятных условиях и при сильном эволюционном прессинге.

К генно-инженерным микроорганизмам (ГИМ) по традиции относят как прокариотические организмы (вирусы и бактерии), так и некоторые эукариоты (дрожжи, грибы), даже если они имеют довольно сложное строение и крупные размеры, как, например, грибы-макромицеты. Микроорганизмы исторически были первыми объектами генной инженерии, но до последнего времени работа с ГИМ и их использование для производства тех или иных продуктов ограничивались в основном замкнутыми системами. Однако в настоящее время успешно развивается ряд направлений генетической инженерии микроорганизмов, которые могут быть реализованы в окружающей среде. Это придание или усиление уже имеющегося свойства азотфиксации некоторым бактериям, создание микориз, способных вступать в симбиотические отношения с высшими растениями и помогать им в усвоении питательных веществ почвы, создание микробиологических пестицидов бактериального и вирусного происхождения [Hall, 1995; Levin, 1995]. Хотя имеется ряд публикаций о создании подобных ГИМ, сведения об их выпуске в окружающую среду крайне ограничены. Фактически сообщалось только о нескольких случаях высвобождения с исследовательскими целями маркированных генно-инженерных штаммов *Bradyrhizobium japonicum* и *Rhizobium meliloti* [Hall, 1995], об успешном испытании в замкнутой системе ряда вирусных препаратов для борьбы с насекомыми – вредителями лесных насаждений в Канаде [Barber et al., 2003] и трех случаях высвобождения ГИМ с коммерческими целями в США. В частности, в США используют интродуцированный в 1997 году генно-инженерный штамм RMBPC-2 азотфиксирующей бактерии *Sinorhizobium meliloti* (для внесения в почву и с целью инокуляции семян бобовых растений) и два ГИМ с пестицидными свойствами. Это *Agrobacterium radiobacter* k1026, который применяется для предупреждения образования корончатых галлов, вызываемых *A. tumefaciens* у плодовых, овощных и декоративных культур, и *Pseudomonas fluorescens* с рядом встроенных от разных подвидов почвенной бактерии *Bacillus thuringiensis* Cry генов дельта-Bt-эндотоксина (Bt-протеина). Послед-

ний из вышеназванных ГИМ применяется только после термической обработки, убивающей живые бактерии, и является фактически химическим препаратом бактериального происхождения, а не живым ГИО [ISIS Press Release, 2003].

Налицо весьма осторожное отношение к высвобождению генно-инженерных микроорганизмов. Это, очевидно, связано со сложностью контроля над их распространением в окружающей среде и недостаточным знанием процессов, происходящих в почве – основном местообитании создаваемых ныне с целями высвобождения в окружающую среду ГИМ. Опасения вызывают обычная для многих микроорганизмов нестабильность генома, наличие мобильных генетических элементов, характерная для многих из них токсичность и способность вызывать различные заболевания человека, животных или растений.

Работы в области генетической инженерии животных имеют самую короткую историю. Однако уже существует ряд примеров успешного использования генно-инженерных методов в этой области [Powell, 1995; Aleström, 1996; Houdebine, 2000]. Если учесть зависимость между степенью риска для окружающей среды тех или иных ГИО и возможностями этих ГИО к распространению, то становится очевидным, что большинство созданных или создаваемых в настоящее время трансгенных животных просто не в состоянии оказывать серьезное влияние на элементы окружающей среды. Как правило, они содержатся в лабораториях, клетках или вольерах, т.е. фактически находятся в условиях изоляции. И даже если такие животные случайно попадут в природные условия, их способность к выживанию будет практически нулевой в силу крайней доместикиации.

Исключением являются генетически модифицированные насекомые, а также рыбы и другие животные аквакультуры (моллюски, креветки и т.п.). Обычно они доместифицированы в очень малой степени или вообще являются дикими животными, лишь используемыми человеком. Контролировать их несанкционированное распространение на новые территории и локализацию в определенном отведенном им месте довольно затруднительно [Fletcher et al., 2000]. Особенно это касается океанических животных (из-за практического отсутствия природных барьеров распространения в Мировом океане) и насекомых (из-за малых размеров и способности многих из них к полету). Кроме того, как и растения, животные аквакультуры и насекомые чаще всего формируют многочисленное и избыточное потомство.

Как видим, биологическое разнообразие генно-инженерных организмов неуклонно расширяется. По мнению С.Н. Stewart с соавторами (2000), в течение ближайших двадцати лет удастся осуществить генетическую трансформацию всех основных на сегодняшний день сельскохозяйственных культур, а к 2100 году этот метод будет применен ко всем растениям, используемым человеком. Безусловно, будет расширяться и количество видов животных и микроорганизмов, вовлекаемых в сферу генно-инженерной деятельности человека. Соответственно будут расширяться сфера, частота и степень влияния ГИО на окружающую среду. Поэтому, чтобы не допустить возникновения возможных неблагоприятных эффектов, требуется серьезное изучение вероятных экологических взаимодействий с окружающей средой вновь создаваемых ГИО, а также видов – кандидатов на генно-инженерные модификации. Необходимы серьезная и ответственная оценка новых ГИО при их высвобождении и мониторинг за использованием уже существующих ГИО с целью сбора информации, которая, безусловно, будет востребована в будущем.

6.2. Отличие генно-инженерных организмов от традиционных с точки зрения экологической безопасности

Целью любого селекционного процесса, будь то современные генно-инженерные методы или традиционная система селекции, является получение организмов с новыми генетическими и соответственно фенотипическими свойствами. И традиционная селекция, и генетическая инженерия используют для достижения этой цели два подхода. Первый подход – внесение в имеющийся организм дополнительного генетического материала. В традиционной селекции это половая гибридизация, включающая различные типы скрещиваний между представителями одного и того же вида или нескольких родственных видов. Даже отдаленная гибридизация подразумевает только скрещивание между филогенетически близкими формами, при котором происходит так называемый вертикальный перенос генов. Генетическая инженерия позволяет осуществлять перенос генов от весьма отдаленных в эволюционном плане организмов. Например, перенос в растения генов от микроорганизмов или животных. При этом используются природные явления бактериальной трансформации (у растений) или вирусной инфекции (у животных). Это так называемый горизонтальный (неполовой) перенос генетического материала.

Второй подход – появление новых признаков без внесения дополнительного генетического материала за счет изменения регуляции работы определенных генов. В традиционной селекции такая регуляция может достигаться путем индукции мутаций отдельных генов или хромосомных перестроек. В генной инженерии разработан ряд приемов, позволяющих добиться как усиления экспрессии определенных генов, так и их репрессии вплоть до полного выключения (например, встраивание экстракопии функционального гена или использование антисмысловых конструкций).

Использование первого подхода при получении генетической модификации вызывает наибольшее недоверие к генно-инженерным организмам со стороны экологов. Хотя этот же подход может привести к неожиданным и порой нежелательным последствиям и при реализации методов традиционной селекции. Нежелательные последствия, например появление новых сорных растений, может иметь спонтанная межвидовая гибридизация, происходящая даже без участия человека. Особенно это относится к гибридизации между аборигенным и интродуцированным экзотическим видами.

Несмотря на то, что при гибридизации мы оперируем огромным количеством генов, характеристики нового продукта селекции, в том числе его экологическое поведение, как правило, предсказуемы и управляемы: в традиционной селекции осуществляется вертикальный перенос генов и селекционер действует в пределах нормы реакции уже существующего у данного вида или родственных ему видов комплекса генов. Ситуация может измениться при привлечении экзотического для данной местности или достаточно отдаленного в генетическом плане селекционного материала. История знает немало примеров как удачных, так и неудачных интродукций, случившихся по воле человека или самопроизвольно. Например, наиболее распространенный в Западной Европе и наиболее ценный клон тополя возник как результат гибридизации интродуцированного во Францию вида тополя *Populus deltoides* с местным видом *P. nigra*. А вот завезенный в Англию в XVIII веке вид клена *Acer pseudoplatanus* превратился в один из наиболее вредоносных сорняков древесных насаждений в этой стране [Mullin, Bertand, 1998]. При целенаправленной или случайной гибридизации экзотической формы или отдаленного вида с местными формами возможно появление организмов, которые могут оказаться не только и не столько ценным селекционным материалом, сколько успешным конкурентом для местных видов и, по сути, сорняком, подавляющим популяции эндемичного вида, или нести вред сельскому хозяйству. Например, появление од-

ного из наиболее вредоносных и широко распространенных в мире сорняков, сорго алепшского (*Sorghum halepense*), явилось результатом гибридизации культурного сорго (*S.bicolof*) и интродуцированного из Юго-Восточной Азии дикого вида *S.propinquit* [Snow, Palma, 1997].

Генно-инженерный метод, с одной стороны, позволяет четко определиться по поводу возможных изменений организма. Ведь мы заранее знаем, какой признак и каким образом планируется модифицировать, какие гены будут внесены и какие продукты этих генов мы намерены получить. Мы можем предвидеть характеристики создаваемого ГИО и его возможное поведение в окружающей среде в связи с осуществляемой модификацией. С другой стороны, в генетической инженерии нередко оперируют горизонтальным переносом экзотических генов, часто совершенно несвойственных ни данному виду, ни родственным ему видам. Результат действия любого из этих генов в несвойственной им среде может стать источником отрицательных экологических последствий как сам по себе, так и за счет совместного действия с комплексом генов модифицированного организма. Таким образом, генно-инженерные модификации, будучи сами по себе не опасными, а, напротив, полезными как для человека, так и для объекта модификации, могут спровоцировать нежелательное поведение ГИО в окружающей среде и в конечном итоге сделать его проблемой для самого человека. По сути, высвобождая ГИО в окружающую среду, мы осуществляем интродукцию нового вида с новыми, экзотическими для объекта модификации свойствами. Поэтому абсолютно точно предсказать экологическое поведение ГИО зачастую бывает сложнее, чем поведение объекта традиционной селекции. Особенно если последствия этого поведения имеют неявный и/или отдаленный характер.

Как видно из приведенного выше сравнения особенностей организмов, полученных в результате традиционной селекции и путем генной инженерии, экологические последствия поведения таких организмов в окружающей среде зависят не столько от метода их получения, сколько от особенностей самих организмов. Эти особенности в свою очередь определяются характеристиками исходных родительских форм и полученного нового гибридного организма, а также условиями среды, в которую он попадает. Чтобы избежать возможных неблагоприятных последствий интродукции и использования ГИО (как, впрочем, и селекционных образцов, создаваемых традиционными методами, особенно с привлечением методов отдаленной гибридизации или интродукции экзотических видов) и в то же время максимально использовать все преимущества, которые дают для селекции новые технологии, проводится предварительная оценка вероятного экологического поведения генетически модифицированных организмов в предполагаемой среде выпуска.

Процесс создания нового сорта растений или породы животных вне зависимости от методов, используемых селекционером, обязательно включает поэтапную оценку объекта селекции (испытания). Закрепление нового свойства у объекта селекции обязательно проходит на фоне отбора лучших по продуктивности и жизнеспособности образцов, в наибольшей степени соответствующих целям селекции. При традиционной селекции многоступенчатый отбор, как правило, происходит на протяжении нескольких лет, иногда десятков лет (особенно длителен процесс селекции животных), что дает возможность исследователю накопить немало сведений, касающихся экологического поведения селекционного образца. Генетическая инженерия позволяет значительно ускорить первый этап процесса селекции, состоящий в передаче объекту селекции нового признака. Однако окончательная доработка селекционного образца, включающая закрепление нового признака и отбор лучших образцов, сочетающих наличие нового признака с другими необходимыми качествами, т.е. превращение селекцион-

ного образца в сорт или породу, невозможна без второго этапа, использующего методы традиционной селекции. Таким образом, создатели генно-инженерного организма также имеют возможность оценить экологическое поведение своего селекционного образца на протяжении ряда лет.

Чтобы селекционный образец был признан сортом растения или породой животного, он должен пройти процедуру государственной регистрации, которой предшествует оценка селекционного образца по различным показателям. Как правило, он сравнивается с исходным сортом (породой) или уже имеющимися селекционными достижениями подобного рода. Выявляется, насколько новый образец соответствует предполагаемой цели селекции, определяются его агрономические (зоотехнические) и потребительские качества. Чтобы результаты оценки были объективными и научно обоснованными, испытания селекционных образцов проводятся специалистами в течение ряда лет и в различных условиях культивирования.

Таким образом, выпуску генно-инженерного сорта растения, как и любого другого сортообразца, предшествует многолетнее испытание и оценка его фенотипических особенностей в предполагаемых условиях выращивания. Согласно принятым международным правилам, при ввозе новых сортов растений или сельскохозяйственных животных экспортер должен предоставить полную информацию о ввозимом образце. При необходимости селекционный образец проходит дополнительные испытания в стране ввоза. Все эти испытания селекционных образцов на ограниченных территориях под наблюдением специалистов позволяют выявить положительные и негативные качества нового сорта растений (породы животных) и возможные последствия их широкого коммерческого использования. Они также дают возможность правильно построить систему агротехнических (зоотехнических) мероприятий, которые впоследствии позволят максимально реализовать генетически детерминированный потенциал нового селекционного достижения и избежать возможных неблагоприятных последствий его эксплуатации для окружающей среды и здоровья человека.

Неблагоприятные последствия для окружающей среды, такие как появление новых сорных видов растений, перенос генов от сельскохозяйственных культур к диким сородичам, появление устойчивых к гербицидам сорняков и новых вредителей, снижение биологического разнообразия, возможны и при использовании продуктов традиционной селекции, что подтверждается многочисленными примерами [Snow, Palma, 1997; Ramachandran et al., 1998a; Stewart et al., 2000; Stewart et al., 2003 и др.]. Поэтому оценка риска возникновения неблагоприятных последствий и регулирование рисков в случае их появления должны проводиться и проводятся вне зависимости от того, получен ли новый организм (новая комбинация генов) в результате традиционной селекции, в ходе генно-инженерной деятельности или в результате интродукции экзотического вида. Такой подход к оценке экологических рисков практикуется в США и Канаде. Так же, по сути, осуществляется и регистрация новых организмов в Европе, однако здесь к ГМ организмам применяется более строгий подход из-за их «нетрадиционного» происхождения [EU, 2001].

Существуют две точки зрения на вероятность появления у ГИО новых неблагоприятных признаков в связи с генетической модификацией. Согласно одной из них, прибавление к 2–3 десяткам тысяч уже существующих у организма генов еще одного или двух не может существенно повлиять на его экологическое поведение [Dale et al., 2002]. Согласно другой точке зрения, появление у трансгенных организмов новых, порой совершенно не свойственных организмам данной группы генов и свойств может повысить вероятность возникновения неблагоприятных последствий и расширяет спектр культур, которые могут стать их источником. Например, сложнее прогнозируют

вать последствия интрогрессии в дикие популяции экзотических трансгенов, чем генов, характерных для этого вида или рода. Соответственно сложнее предвидеть сценарий последующего поведения дикой популяции, нарушение у нее старых и возникновение новых экологических связей с представителями других видов [Rissler, Mellon, 1993]. Анализ обеих точек зрения приводит к мнению о том, что использование ГИО не столько способствует появлению новых факторов риска – они известны и вероятны при использовании любых созданных человеком организмов, сколько повышает и расширяет действие фактора неопределенности при оценке возможности возникновения неблагоприятных воздействий, спектра и степени их влияния [Hayes, 2002; Levidow, 2003 и др.]. Поэтому в отношении ГИО практикуется более строгий подход при испытании и оценке возможности возникновения неблагоприятных последствий для окружающей среды. Хотя за более чем десятилетнюю историю коммерческого использования трансгенных растений не выявлено ни одного доказанного случая серьезных неблагоприятных последствий такого использования.

6.3. Оценка экологического риска использования генно-инженерных организмов

Требования к проведению экологической экспертизы высвобождаемых генно-инженерных организмов в разных странах различаются по некоторым параметрам и подходам. Это касается, в частности, стран Евросоюза и США. Если в Европе во главу угла ставится метод, которым был получен новый селекционный образец, то в Америке (США, Канада) основным объектом оценки является конечный продукт селекции, представляемый для испытаний и/или на рынок для коммерческого использования. Могут несколько различаться требования к объему и содержанию необходимой информации для первоначальной оценки потенциальной опасности или безопасности ГИО. Тем не менее, несмотря на национальные особенности требований различных природоохранных организаций при проведении экспертизы, они все имеют одну цель, происходят примерно по одному и тому же плану и приводят, как правило, к сходным результатам. Примером одного из таких планов может служить схема экологической экспертизы, разработанная в США Американским агентством по охране окружающей среды (US EPA – United States Environment Protection Agency). US EPA – государственный орган, который проводит экспертизу влияния различной деятельности человека на окружающую среду, в том числе осуществляет экологическую экспертизу ГИО (рис. 6.1). В основе данной схемы лежит программа оценки риска, связанного с влиянием антропогенных факторов (загрязнение химическими веществами и внесение чужеродных организмов) на различные экосистемы и их компоненты на территории Соединенных Штатов [Kendall et al., 1996; Solomon et al., 1996].

Первый этап экспертизы заключается в формулировке проблемы, связанной с высвобождением ГИО. То есть выявляются факторы риска, способные стать источником возможных неблагоприятных экологических последствий, и определяются вероятные последствия, как отрицательные, так и положительные, связанные с наличием или отсутствием тех или иных факторов. Как правило, такие факторы имеют отношение к самому ГИО – исходному объекту модификации, характеру генно-инженерной модификации и конечному продукту модификации. Однако определенную роль могут сыграть особенности экологической системы, в которую предполагается выпуск ГИО (агросреда или природный ландшафт, земельный участок или акватория прибрежного шельфа и т.п.), или отдельные ее компоненты (например, некоторые живые организмы, не являющиеся объектами воздействия ГИО, но вступающие с ГИО в прямые или опосредованные взаимоотношения). Это могут быть также особенности использо-

вания ГИО, имеющие отношение к агротехнике, занимаемым площадям, длительности использования и т.п.

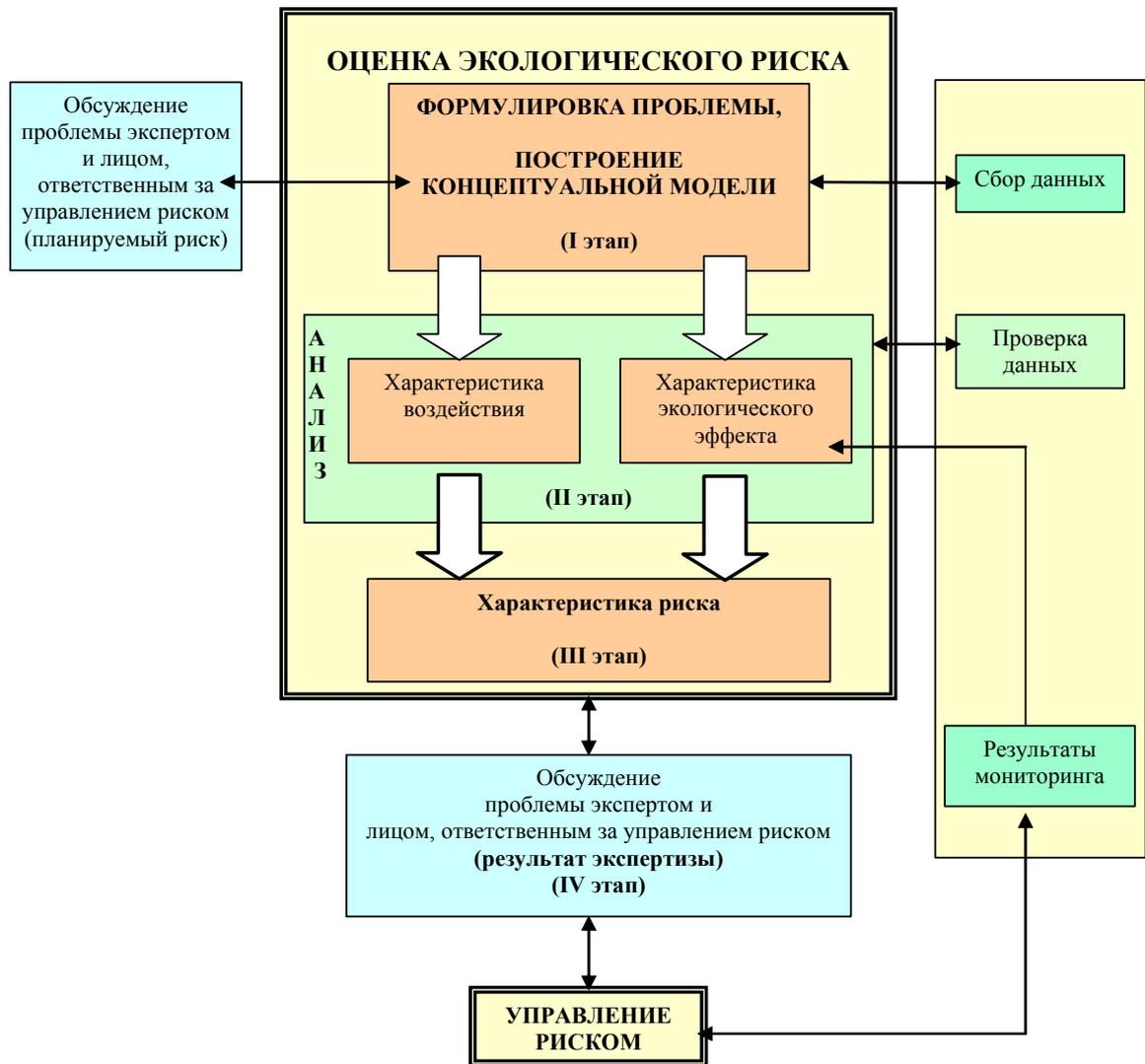


Рис. 6.1. Схема оценки экологического риска (по Kendall et al., 1996)

Выявление и обсуждение проблемы проводится экспертами на основании информации о ГИО и условиях его высвобождения. Она включает данные научной литературы об объекте модификации, характере модификации и экологической системе предполагаемого высвобождения и ее компонентах, данные о характере модификации и ГИО, которые получены самими создателями модифицированного организма и/или пользователями, а также сведения о последствиях более ранних случаев высвобождения подобных ГИО и/или высвобождения ГИО в подобных данному случаю условиях. Более подробно значимость тех или иных факторов будет рассмотрена далее при обсуждении возможных неблагоприятных последствий, связанных с высвобождением и использованием генно-инженерных организмов.

Результатом обсуждения проблемы на первом этапе является построение так называемой концептуальной модели [Solomon et al., 1996] – модели вероятных взаимоотношений ГИО с окружающей средой и вероятных экологических последствий таких взаимоотношений. Она позволяет выявить факторы неопределенности (неизвестные факторы, которые могут повлиять на экологическое поведение ГИО и тем самым изменить вероятность возникновения неблагоприятных последствий и/или степень их

проявления, или характеристики самого ГИО, не известные ранее и не имеющие аналогов), определяет возможные экологические связи, в которые может вступить ГИО (сфера вероятного влияния ГИО), помогает выделить вопросы, на которые экспертам и исследователям стоит обратить особое внимание. С помощью такой модели определяется, какие, кроме уже имеющихся, сведения о ГИО и среде высвобождения необходимы для наиболее полной оценки последствий высвобождения, разрабатывается схема дополнительных экспериментов.

Второй этап экспертизы – собственно анализ экологического поведения ГИО, его взаимоотношений с окружающей средой. Он опирается на ранее полученные сведения о ГИО и условиях его высвобождения и на результаты специально проводимых исследований – лабораторных тестов, ограниченных полевых испытаний (small-scale field test), экологических исследований по всем направлениям взаимодействий, определенных в концептуальной модели. Анализ состоит из двух блоков.

Первый блок – характеристика воздействия, оказываемого ГИО. Она основана на изучении предполагаемых воздействий ГИО, выделенных на первом этапе исследования, на отдельные элементы окружающей среды или экологическое поведение ГИО в модельных условиях. Это могут быть, например, тесты на токсичность в отношении организмов-немишеней, площадь возможного распространения пыльцы и семян, способность эффективно скрещиваться с другими видами, тестирование семян на выживаемость, на скорость прорастания или продолжительность периода покоя, конкурентоспособность (агрессивность) по отношению к другим видам и т.д. Как правило, тесты проводятся в сравнении с контролем, в качестве которого служит исходный объект модификации.

Второй блок – характеристика экологического воздействия. Она включает проведение масштабных экологических исследований, позволяющих оценить действительное воздействие ГИО с учетом реальных природных условий, в которых он будет существовать и использоваться. Эти исследования учитывают особенности агротехники (зоотехники) выращивания ГИО, масштабность их высвобождения и длительность использования. Они определяют наличие истинных взаимоотношений между ГИО и компонентами окружающей среды и реальную степень воздействия ГИО на эти компоненты. В реальных природных условиях предположения, основанные на исходных сведениях о ГИО и данных модельных экспериментов, могут кардинально измениться. Возможно выявление новых воздействий, не учтенных ранее.

Примером того, как всестороннее изучение характеристик экологического воздействия может скорректировать первоначальные выводы об уровне опасности/безопасности ГИО, служит исследование влияния предполагаемой токсичности пыльцы *Vt*-кукурузы на динамику популяций бабочки Монарх (*Donaus plexippus* L.), проведенное учеными США и Канады [Sears et al., 2000]. Это исследование позволило выявить действительные причины уменьшения данной популяции, связанные, как оказалось, не столько с выращиванием ГИО, сколько с сокращением мест обитания бабочки. Этот эксперимент описан подробнее в разделе 6.10.

К сожалению, не всегда существует реальная возможность проведения широко-масштабного эксперимента, и исследование проводится в рамках ограниченных полевых испытаний, которые не могут дать полную картину воздействия, оказываемого ГИО на природный комплекс. С одной стороны, испытания ГИО на ограниченной площади (не более 40 гектаров) и в течение ограниченного времени (один-два сезона вегетации для растений) делают их экологически более безопасными. Однако, с другой стороны, в этом случае из сферы внимания выпадает определенная часть воздействий, оказываемых ГИО [Snow, Palma, 1997]. Тем более если такие влияния оказываются не-

явными – опосредованными или пролонгированными по времени, например перенос признака устойчивости к гербицидам от трансгенных растений к их диким сородичам или появление вредителей, устойчивых к токсину, вырабатываемому трансгенной культурой. Как правило, полноценное экологическое исследование возможно только после высвобождения ГИО и начала его коммерческого использования. Оно осуществляется в рамках мониторинговых исследований с участием разработчика ГИО, организаций, проводящих экспертизу, и с привлечением академической науки.

Сделать достаточно обоснованные выводы о степени безопасности ГИО на основе данных ограниченных испытаний помогает математическое моделирование экологической ситуации и вероятного сценария развития событий. Математическая модель позволяет составить прогноз изменений в популяции ГИО и экосистеме с ее участием в отдаленном будущем (неявные отложенные влияния). Однако, несмотря на очевидные преимущества математического моделирования при анализе экологического поведения ГИО (возможность избежать крупномасштабных испытаний, долгосрочный прогноз), используется оно не так уж часто и не может пока рассматриваться как альтернатива экспериментальным методам [Squire et al., 1999]. Это связано со сложностью построения самой математической модели, учитывающей все или хотя бы основные биологические и не биологические компоненты предполагаемой среды обитания ГИО. Например, в эксперименте G.D. Giddings et al. (1997) результаты математического моделирования зависимости дисперсии пыльцы от направления ветра не удавалось привести в соответствие с экспериментальными до тех пор, пока в математической формуле кроме направления ветра не стали учитывать его скорость и эффекты турбулентности. Однако модель, включающая такие сложные для контроля параметры, как турбулентность ветра и другие подобные факторы, очевидно, вносит в анализ элемент хаотичности и делает его излишне сложным.

Третий этап экспертизы – характеристика риска. Это оценка риска на основании всех полученных данных о ГИО с учетом выявленных факторов неопределенности. Она показывает степень вероятности возникновения неблагоприятных последствий использования ГИО исходя из характера и интенсивности его воздействия по каждому из выявленных факторов риска и дает оценку совокупного риска, который может представлять модифицированный организм; определяет, насколько серьезны могут быть экологические последствия выявленных неблагоприятных влияний при различных сценариях развития событий, возможно ли регулирование риска в случае, если он присутствует, и насколько этот риск будет поддаваться регулированию.

Третий этап завершает процедуру оценки экологического риска высвобождения ГИО в окружающую среду. Его основная задача – дать рекомендации о допустимости высвобождения ГИО, показать, является ли риск приемлемым и регулируемым, а также, когда это необходимо, определить стратегию регулирования риска, т.е. дать рекомендации по обеспечению безопасного использования ГИО.

Четвертый этап – принятие решения о высвобождении ГИО. На основании полученных рекомендаций о допустимости высвобождения ГИО и с учетом всех его положительных и отрицательных характеристик эксперт и лицо, ответственное за управление риском, принимают решение о целесообразности высвобождения ГИО. Они разрабатывают план мероприятий, которые помогут исключить возникновение или развитие неблагоприятных последствий либо минимизировать эти последствия в случае, если определенный риск использования ГИО существует (план управления риском). Например, могут быть предложены меры по ограничению распространения ГИО за пределы площадей культивирования, особенные агротехнические методы выращива-

ния, методы очистки территорий от остатков ГИО и др. Одновременно разрабатывается план мониторинга и выполнения условий его использования.

Как видно из приведенной схемы оценки экологического риска (см. рис. 6.1), этапы оценки риска, обсуждения проблемы и управления риском связаны двусторонними потоками информации. Данные оценки риска являются фундаментом для обсуждения проблемы, однако в ходе всестороннего обсуждения у экспертов могут возникнуть новые вопросы, которые скорее всего будут касаться факторов неопределенности, не замеченных ранее или выявленных в ходе эксперимента. Эти вопросы в силу принципа предосторожности могут потребовать дополнительных исследований. По мнению L. Levidow (2003), именно выявление факторов неопределенности является основной задачей анализа возможного воздействия ГИО на окружающую среду. Новая информация может появиться и в результате долговременного мониторинга ГИО (процесс управления риском). Мониторинг может выявить новые особенности нежелательного экологического поведения ГИО, не известные ранее, и на основании новой информации помочь скорректировать план управления рисками или стать основанием для дополнительных исследований. В случае выявления значимых последствий, которые трудно или невозможно предотвратить, данные мониторинга могут стать основанием для запрещения или ограничения использования ГИО.

Таким образом, оценка риска возможных неблагоприятных экологических последствий высвобождения ГИО является сложным творческим процессом с рядом взаимосвязанных этапов. Она позволяет сделать обоснованный прогноз экологического поведения ГИО и обеспечить в дальнейшем его безопасное использование или послужит основанием для запрещения либо ограничения его использования и распространения.

6.4. Экологические риски, связанные с высвобождением и распространением ГИО

Несмотря на некоторые различия в классификациях экологических рисков, разработанных различными организациями и учеными, все они схожи в общих чертах и основываются на наличии у ГИО наиболее часто встречающихся в настоящее время генетических модификаций (устойчивость к стрессам и/или вредителям и болезням, устойчивость к гербицидам, ускоренное развитие организма и др.). В классификациях находят отражение определенные особенности объекта модификации (например, экологические особенности, стабильность его генома и др.); наиболее вероятные экологические связи ГИО (наличие родственных видов, с которыми вероятно эффективная гибридизация; наличие видов, не являющихся мишенями модифицированного признака и т. д.); методы осуществления модификации (например, использование для переноса чужеродной ДНК векторов на основе вирусов). Как правило, выделяют следующие источники неблагоприятных последствий для окружающей среды (экологические риски):

- 1) появление новых, более агрессивных сорняков в результате генетической модификации или переноса трансгенов, способствующих повышению агрессивности вида, диким родственными видами;

- 2) миграция и последующая интродукция трансгена в дикие популяции в результате вертикального (обмен генетической информацией между организмами, принадлежащими к одному типу, например между растениями) или горизонтального (обмен генетической информацией между организмами, принадлежащими к разным типам, например между растением и бактерией) переноса генов;

- 3) воздействие продукта трансгенов на организмы, не являющиеся мишенью их запланированного действия;
- 4) появление живых организмов, резистентных или толерантных к продуктам трансгенов;
- 5) влияние трансгенных вирусных ДНК (РНК) на естественную эволюцию вирусов путем транскрипции, синергизма, рекомбинации;
- 6) сокращение биологического (генетического) разнообразия в результате изменения естественных биоценозов, вытеснения местных сортов, преобладания в агропроизводстве монокультуры.

Различия в классификациях связаны со сложностью выделения наиболее значимых, базовых экологических рисков. Порой бывает сложно отделить один риск от другого. Например, появление нового агрессивного сорняка возможно как в результате изменения свойств самого объекта модификации (культурного растения), так и при интрогрессии гена, вызвавшего свойства сорняка, к дикому сородичу объекта модификации. Как видим, основой одного и того же неблагоприятного следствия – появления нового сорного вида растений – могут стать разные причины. Таким же образом разные причины могут вызвать появление толерантных к продуктам трансгена вредителей.

Многие из экологических рисков взаимосвязаны и являются звеньями одной цепи: один из них способен стать источником возникновения другого. Как правило, неблагоприятные изменения в окружающей среде возможны вследствие действия именно такой цепочки экологических рисков или комплекса нескольких рисков.

Например, в результате вертикального переноса генов устойчивости к какому-либо вредителю от сельскохозяйственной культуры к их дикому сородичу может начаться неконтролируемое размножение этого дикого вида, ранее регулировавшееся наличием у него того же вредителя-мишени трансгена, что и у сельскохозяйственной культуры. С одной стороны, такое неконтролируемое размножение дикого вида может сделать его более сложным для контроля сорняком, если он уже является сорным растением, а с другой стороны – этот вид может стать причиной сокращения других растительных видов в природном биоценозе. Изменение в растительном сообществе может привести к изменению в цепи питания животных организмов, и, следовательно, к изменению всего биоценоза, которое может проявиться в сокращении биологического разнообразия на территории проникновения трансгена. Как более конкурентоспособный, ГИО-аллельный тип может стать доминирующим в популяции и постепенно вытеснить исходные аллельные типы, характерные для других ценных адаптивных генов этой популяции. Результат – снижение аллельного генетического разнообразия, которое может негативно сказаться на стабильности и адаптивных характеристиках аборигенной популяции, привести к ее деградации, т.е. к снижению генетического разнообразия вида. Таким образом, разные причины могут стать источником одного нежелательного явления, а одна причина может стать источником сразу нескольких нежелательных явлений.

При классификации и оценке неблагоприятных экологических последствий (эффектов), связанных с высвобождением ГИО в окружающую среду, учитывается также характер действия экологических рисков. Они могут быть локальными, т.е. нести потенциальную угрозу экологической системе или отдельным популяциям на небольших, привязанных к месту использования ГИО территориях, или глобальными; временными или постоянными. Неблагоприятные последствия, связанные с рисками высвобождения ГИО, могут проявляться быстро и очевидным образом или носить отдаленный и/или опосредованный характер.

Выращивание на какой-либо ограниченной территории в течение одного года или нескольких лет растений, несущих ген Bt-протеина, защищающий растения от вредителей, может привести к уменьшению популяции насекомых-вредителей, паразитирующих на этих растениях и одновременно являющихся кормом для некоторых видов птиц. Сокращение пищевой базы может вынудить птиц покинуть территорию выращивания растений со встроенным геном или привести к сокращению их численности за счет уменьшения выводимого потомства. В данном случае характер неблагоприятного следствия высвобождения ГИО будет отдаленным и опосредованным. Прекращение выращивания ГМ растений скорее всего повлечет быстрое восстановление популяции насекомых-вредителей, а следовательно, и местной популяции птиц, питающихся этими насекомыми. Очевидно, что неблагоприятный экологический эффект в данном случае будет носить локальный и временный характер.

В то же время выращивание конкурентоспособных ГМ сортов какой-либо сельскохозяйственной культуры на территории происхождения или генетического разнообразия этой культуры может привести к вытеснению и, в конечном счете, к потере менее продвинутых в селекционном плане и, следовательно, менее экономически выгодных местных сортов. Не обладая многими преимуществами генно-инженерных растений, местные сорта или расы остаются источниками значительного числа ценных генов. Поэтому их исчезновение приведет к сокращению генетического разнообразия данной культуры и будет нести негативные эффекты как для будущей селекции ее, так и видового разнообразия в целом. Неблагоприятный экологический эффект в этом случае будет носить глобальный и постоянный характер.

Рассмотрим более подробно влияние представленных выше экологических рисков на изменения в окружающей среде, значимость для появления и проявления определенных рисков различных факторов, связанных с объектом и характером модификации, характеристиками среды высвобождения и особенностями управления рисками.

6.5. Появление новых сорняков в результате генетической модификации или переноса трансгенов диким родственными видами

6.5.1. Генетическая модификация и появление новых сорняков. Прежде всего, надо дать определение тому, какие растения мы считаем сорняками. Согласно энциклопедическим словарям, сорняки (сорные растения) – это растения, произрастание которых на определенных участках нежелательно. Нежелательное действие их может проявляться в ухудшении условий выращивания культурных растений, снижении их урожая или его качества. Сорняки могут быть ядовитыми, бесполезными растениями и т.д. Сорными могут быть дикие растения (травянистые и древесные, а также водоросли), проникающие на возделываемые поля или другие используемые человеком территории (сенокосы, пастбища, зеленые насаждения, придорожные полосы, взлетно-посадочные полосы аэродромов, стадионы, водные каналы и др.). Сорняками могут стать и культурные растения, которые каким-либо образом попадают в посеvy другой, основной культуры и приводят к снижению массы или качества ее урожая. Чаще всего дичают растения-предшественники, которые выращивались на поле в предыдущую вегетацию.

С экологической, природоохранной точки зрения сорняками также можно считать любые растения, не свойственные данному биоценозу, которые, конкурируя с эндемичными видами, способствуют сокращению их численности и исчезновению с данной территории. Как частный случай проявления сорных характеристик в естест-

венных биоценозах, затрагивающий и экономические интересы человека, может рассматриваться проникновение быстрорастущих древесных растений из древесных промышленных насаждений в природный или восстанавливаемый высокопродуктивный лес. Например, сорными могут быть некоторые виды тополя (*Populus*, включая осину *P. tremula*), березы (*Betula*), клена (*Acer*), выращиваемые для переработки на целлюлозу [Wall et al., 1992]. Имея преимущества в скорости роста и развития, они подавляют рост семян или саженцев многих ценных медленно растущих деревьев, постепенно засоряя лес и снижая его продуктивность.

Характерные признаки сорных растений перечислены в так называемом «Листе Бейкера» [Baker, 1965] (табл. 6.1). Даже одного из приведенных в этом списке признаков достаточно, чтобы предоставить растению дополнительные экологические преимущества и позволить ему успешно конкурировать с другими (основными) видами растений. Как правило, сорные растения обладают одновременно несколькими признаками из этого перечня. Эти признаки способствуют реализации одной из двух основных стратегий сохранения и распространения потенциальных сорных растений в окружающей среде или позволяют им использовать обе стратегии сразу.

Таблица 6.1

Признаки растений, характерные для сорняков (по Baker, 1965)

№ п/п	Основные признаки
1	Семена прорастают в различных условиях среды
2	Семена длительное время сохраняют жизнеспособность
3	Растения быстро проходят фазы вегетации до цветения
4	Растения образуют семена в течение длительного времени в ходе вегетации (до тех пор, пока позволяют условия произрастания)
5	Растения самосовместимы, но не являются строгими самоопылителями
6	Пыльца при перекрестном опылении переносится неспециализированными насекомыми или ветром
7	Растения формируют очень много семян в благоприятных условиях среды
8	Растения образуют семена в широком диапазоне условий среды
9	Растения адаптированы к рассеиванию семян и пыльцы как на большие расстояния, так и на короткие
10	Многолетние растения способны очень хорошо размножаться вегетативно; способны к регенерации из фрагментов растения
11	Многолетние растения очень хрупкие в области стебля, расположенной на уровне почвы, что препятствует их легкому извлечению из почвы
12	Растения приспособлены к конкуренции с другими видами с помощью специальных средств: формирования розеток; роста, подавляющего соседние растения; образования токсичных веществ

Первая стратегия – выживаемость. Она проявляется в способности растений сохраняться в агросреде или природной среде даже в случае направленной борьбы с ними и препятствовать росту основной культуры или последующих культур (в случае сохранения растений предшествующей культуры). Одно из проявлений выживаемости – способность растений формировать так называемый «банк семян» [Rissler, Mellon, 1993; Squire et al., 1999 и др.]. Это набухшие семена, которые, не теряя жизнеспособности, могут сохраняться в почве на протяжении нескольких сезонов вегетации, иногда в течение многих лет. На небольшом участке, прилегающем к обрабатываемому полю, в почве в виде «банка семян» может одновременно находиться до 30 сорных видов растений, способных стать источниками засорения полей при благоприятных условиях и при отсутствии конкуренции со стороны уже растущих сорняков [Squire et al., 1999]. Отсутствие конкуренции обеспечивается самим человеком в ходе борьбы с сорняками, уже растущими на полях.

Вторая стратегия – инвазивность. Это способность сорных растений быстро распространяться в окружающей среде, осваивать новые места обитания, включая не только окультуренные участки, но и природные экосистемы. После выхода за пределы возделываемых участков одичавшие культурные растения в первую очередь будут захватывать территории, прилегающие к окультуренным участкам или участкам, периодически используемым человеком. Однако существует вероятность проникновения новых видов в дикие и даже охраняемые экосистемы.

Инвазивность является более опасной стратегией как для сельскохозяйственного производства, так и для сохранения первозданных природных ландшафтов. В первом случае инвазивность может стать источником как первичного, так и вторичного засорения (возвращение сорняка на поле через некоторое время после его уничтожения). Во втором случае она может привести к изменениям в сложившихся природных популяциях и экосистемах. Не следует забывать, что растительные сообщества являются местом обитания и основанием пищевой пирамиды для животных и микроорганизмов, включая почвообразующих. Появление нового, быстро размножающегося вида способно привести к каскадным и иногда необратимым последствиям для отдельных популяций и экосистемы в целом.

Селекция, направленная на увеличение семенной продуктивности, теоретически может повысить агрессивность растений в качестве сорняков. Однако признаки, определяющие потенциальную урожайность (увеличение количества семян или их массы), как правило, имеют полигенную природу и не являются объектом приложения генной инженерии, так как генно-инженерной модификации доступны в основном признаки, контролируемые одним или немногими генами [APHIS, 1996].

Практически любая генетическая модификация, направленная на повышение адаптивных свойств растений – устойчивости к абиотическим стрессам (холоду, засухе, засолению почв, гербицидам) или биологическим стрессовым факторам (вредителям, болезням), способна предоставить ГИО новые экологические преимущества по сравнению с исходными видами или природными популяциями. Она делает их способными значительно превысить обычные (естественные) лимиты популяционного роста. Адаптивные преимущества могут быть связаны и с изменением некоторых агрономических показателей, например с ускорением развития растения на стадии проростка или более быстрым созреванием семян и плодов.

Трансгенные признаки, направленные на изменение биохимических показателей, на первый взгляд кажутся более безобидными. Однако и они за счет совместного или каскадного действия генов в результате приобретения ГИО нового биохимического статуса могут в конечном итоге привести к нежелательному популяционному росту. Например, улучшение качества крахмала клубней картофеля содействует повышению их холодостойкости и, как следствие, дает клубням шанс успешной перезимовки в поле. Селекция картофеля на улучшение качества крахмала, проводившаяся в Голландии, уже привела к появлению перезимовавших в окружающей среде растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.), которые являются проблемой на полях этой и других стран с относительно мягкими зимами. Превращение в сорняк подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) в южных районах России и Украины связано с селекцией (традиционной!) этой теплолюбивой, по сути тропической, культуры как на устойчивость к холоду, так и на повышение масличности семян. Теоретически не только увеличение масличности, но и изменение биохимических показателей синтезируемых растениями масел может предоставить семенам дополнительное преимущество как на стадии покоя (перезимовка), так и на стадии прорастания: ускорить темпы прорастания или расширить возможности их прорастания в неблагоприятных условиях [Linder, 1998].

Генно-инженерная модификация может способствовать появлению свойств сорняков у растений, ранее не обладавших такими свойствами. Вероятнее всего, это связано с повышением адаптивных характеристик семян данных растений (расширение условий среды, в которых возможно прорастание, изменение периода покоя и более длительное сохранение жизнеспособности семян). Генно-инженерная модификация может также сказаться на повышении агрессивности растений вида, уже являющегося потенциальным сорняком, может усилить агрессивность аборигенного вида. На территории Беларуси к таким видам относятся, например, вика (*Vicia sativa* L.), клевер белый и клевер луговой (*Trifolium repens* L. и *T. pratense* L.), люцерна (*Medicago sativa* L.), некоторые древесные культуры, например тополь черный, или осокорь (*Populus nigra*), осина (*P. tremula*). Сорняком может стать интродуцированный вид, который не являлся таковым в стране интродуцирования, например картофель или подсолнечник, но который относится к сорнякам в стране происхождения. Поэтому при планировании генно-инженерной модификации видов, которые уже являются потенциальными сорняками или имеют родственные виды-сорняки в природе, надо проявлять максимальную осторожность.

В то же время существуют виды, которые в силу своей экзотичности и крайней доместикировки не могут представлять реальной опасности при любой адаптивной модификации. Для Беларуси такими видами являются соя (*Glycine max* L. Merr.) и кукуруза (*Zea mays* L.).

Ярким примером потенциально сорного растения является рапс масличный (*Brassica napus* L.). Он обладает пятью из приведенных выше двенадцати признаков растений-сорняков [Metz et al., 1997]. Это типичный представитель хозяйственно важных растений, способных уменьшать урожай и качество урожая следующих за ним сельскохозяйственных культур, например зерновых. Рапс является одновременно ценной масличной культурой и хорошим сидератом, включаемым в севооборот с зерновыми и зернобобовыми культурами и позволяющим за счет быстрого роста очищать поля от сорняков [Orson, 2002]. Усилению этого свойства помогает генно-инженерная модификация, делающая растения рапса толерантными к гербицидам. В настоящее время устойчивость к гербицидам и улучшение биохимических свойств масла – основные направления генно-инженерных модификаций этой сельскохозяйственной культуры. В 2000 году 19% всех посадок генетически модифицированных растений в мире (3,5 млн. гектаров) были заняты под устойчивым к различным гербицидам ГМ рапсом [Kwon, Kim, 2001].

Как показал опыт выращивания гербицидоустойчивого рапса в западных регионах Канады и исследования, проведенные в США, трансгенная устойчивость к гербицидам может нести потенциальную угрозу повышения агрессивности рапса. До недавнего времени казалось несложным контролировать агрессивность рапса как на полях, так и на участках временного использования или защитных полосах (границах полей, придорожных полосах и др.) путем применения гербицида, по отношению к которому у растений устойчивость отсутствует. Однако уже доказано явление обмена трансгенами устойчивости к гербицидам между различными линиями ГМ рапса. Обнаружены формы, обладающие всеми используемыми такими трансгенами, что делает выращивание гербицидоустойчивого рапса в качестве сидерата экономически невыгодным – вместо культуры, помогающей бороться с сорняками, в результате межсортовой гибридизации получился суперсорняк (superweed), только осложнивший жизнь фермерам [Hall et al., 2000; Stewart et al., 2000; Ellestrand, 2001; Orson, 2002].

Рапс масличный считается самоопыляющейся культурой, что должно служить целям предупреждения нежелательной спонтанной гибридизации, однако более 10%

семян рапса способны формироваться в результате перекрестного опыления [Kwon, Kim, 2001]. Как показали специально проведенные эксперименты H.J. Beckie et al. (2001) в Канаде и J. Ingram (2000) в Великобритании [цит. по Orson, 2002] с участием трансгенного рапса сортов Roundup Ready (устойчивый к глифосату) и Liberty Link (устойчивый к глюфоzinату), стандартного расстояния в 40 метров для изоляции различных генотипов может оказаться недостаточно. В эксперименте, проведенном на 11 изолированных полях, был зафиксирован перенос генов (пыльцы) на расстояние до 800 метров. Поэтому рекомендуется увеличить стандартные изоляционные расстояния для полей с трансгенными сортами, хотя вероятность попадания трансгена за пределы стандартного расстояния не превышает 0,2% при изоляции от 50 до 400 метров [Orson, 2002].

Кроме переноса трансгенов между сортами в пределах одного вида в некоторых случаях возможен перенос трансгенов к диким представителям того же вида, что и трансгенный сорт, а также диким или культурным представителям родственного вида растений. Более подробно проблема интрогрессии трансгенов в дикие популяции рассматривается в разделе 6.8. В связи с агрессивностью растений-сорняков следует отметить повышенную опасность переноса адаптивных генов, в том числе генов гербицидоустойчивости, диким родственными видами.

Культурные растения прошли длительный путь селекции в условиях агрокультуры и постоянной заботы человека. Они стали более урожайными и приобрели массу других ценных для человека качеств. Но в условиях человеческого протекционизма они стали менее жизнестойкими по сравнению со своими дикими предками и сородичами (подверглись так называемому «прессингу доместикиции»). Как правило, дикие сородичи культурных растений обладают более высокой экологической стабильностью, повышенным по сравнению с культурными родственниками иммунитетом к различным заболеваниям. То есть дикие сородичи культурных растений изначально более экологически конкурентоспособны. Появление у них дополнительных адаптивных генов (трансгенов), позволяющих изменить конкурентные взаимоотношения с другими видами экосистемы, способно значительно повысить их инвазивность и/или выживаемость и привести к резкому популяционному росту.

Если такие растения являются сорняками агрокультуры, появление у них нового адаптивного гена (устойчивость к гербициду, вредителям) может сделать малоэффективным химический или биологический метод борьбы с ними и превратить такие растения в трудно управляемый источник засорения агросреды – суперсорняк. Сохранение трансгена в природной популяции (за пределами агросреды) делает проблему борьбы с суперсорняком не только дорогостоящей, но и долговременной за счет вторичного засорения полей. Поэтому выявление, учет и изучение характеристик сорняков (выживаемость, инвазивность) – возможных кандидатов на спонтанную гибридизацию с трансгенными растениями являются одними из основных вопросов анализа экологических рисков, связанных с высвобождением трансгенных растений. В настоящее время, например, прекращены генно-инженерные работы в отношении культурного сорго (*Sorghum bicolor* L. Moench.). Основанием для этого стало доказанное образование жизнеспособных гибридов при спонтанной гибридизации культурного сорго с одним из наиболее опасных сорных растений – широко распространенным практически во всех тропических и субтропических регионах планеты сорго алеппским (*S. halepense*), известным в мире под названием «Джонсонграсс», а также с рядом других сорных видов сорго, произрастающих в тропиках [Stewart et al., 2003].

Несмотря на достаточно высокую теоретическую вероятность повышения инвазивности растений в связи с переносом адаптивных трансгенов в природные экосисте-

мы, экспериментальные данные, как правило, не подтверждают теоретические выкладки. Это связано со сложностью самого процесса проникновения нового объекта в сложившуюся экосистему, являющуюся достаточно стабильным образованием. Инвазивность может проявиться только по истечении довольно большого времени при условии высокой выживаемости нового вида и/или при многочисленных случаях интродукции [Ellstrand, Schierenbeck, 2000]. При соблюдении севооборота и сортосмены эти условия выполняться не могут. Поэтому первоначально выдвинутые опасения, как правило, оказываются преувеличенными. Кроме того, некоторые важные модификации, прежде всего устойчивость к гербицидам, вообще не дают преимуществ за пределами агросреды, где гербициды не применяются. А гербицидоустойчивые растения составляют подавляющее большинство среди растительных ГИО: в 2003 году они насчитывали 73% всех выращиваемых ГИО в мире. Мониторинг за уровнем инвазивности в природные экосистемы трансгенных гербицидоустойчивых сортов рапса, картофеля, сахарной свеклы и кукурузы, проводившийся в течение 10 лет в 12 различных местах обитания, не выявил у них каких-либо инвазивных преимуществ в сравнении с сортами, полученными традиционными методами [Crawley et al., 2001]. В случае рапса уровень инвазивности трансгенных линий был даже ниже, чем у традиционных сортов [Crawley et al., 1993].

6.5.2. Проблема инвазивности и агрессивности по отношению к другим биологическим видам трансгенных животных и микроорганизмов. При определении экологического риска, связанного с вероятным неограниченным ростом популяций и конкурентными преимуществами ГИО по сравнению с исходным организмом и аборигенными формами, речь идет, как правило, о трансгенных растениях. Это следует также из формулировки, обычно даваемой этому риску, – опасность появления новых сорняков. Однако проблему инвазивности и нежелательной выживаемости ГИО в окружающей среде, подавления ими других организмов можно рассматривать шире. Эта проблема также правомерна в отношении трансгенных животных и микроорганизмов.

Как уже отмечалось, контролировать распространение трансгенных животных в окружающей среде в большинстве случаев не представляет большого труда – достаточно наладить надлежащий контроль над их клеточным или вольерным содержанием. Исключением могут быть морские рыбы, например атлантический лосось (*Salmo salar*), и другие животные морской аквакультуры (моллюски, креветки), работы по трансгенезу которых активно проводятся в настоящее время [Zilinskas, 1995; Fletcher et al., 2000]. Основные типы генно-инженерных модификаций в отношении рыб и других животных аквакультуры – ускорение их роста до товарного размера и повышение адаптивной способности (толерантность по отношению к холоду, недостатку кислорода и др.). Теоретически ускоренное развитие должно позволять ГИО успешно конкурировать с исходным видом и другими аборигенными для региона выпуска ГИО видами за корм. Их поведение в отношении аборигенных видов может также оказаться более агрессивным из-за более крупных размеров. Этот фактор может предоставить дополнительные преимущества в процессе размножения, как было показано в модельной популяции, составленной из трансгенных (крупных) и нетрансгенных (обычного размера) рыб вида *Oryzias latipes* [Muir, Howard, 1999].

Рыбы и другие животные аквакультуры практически не domestцированы, т.е. по своим адаптивным способностям они соответствуют исходным видам. Это лишает дикие исходные виды каких-либо стартовых экологических преимуществ в сравнении с созданными человеком. В результате не способные конкурировать с ГИО за пищевую базу и жизненное пространство виды могут быть постепенно вытеснены или исчезнуть. Снижение видового разнообразия ведет одновременно к снижению продуктив-

ности моря, что в будущем может негативно сказаться на воспроизводстве и добыче его даров. Такие же последствия возможны при проникновении аквакультуральных ГИО за счет приобретенных адаптивных свойств на новые территории. Таким образом, животных аквакультуры также можно рассматривать как своеобразные «сорняки», хотя проблема интродукции животных аквакультуры гораздо шире экономического снижения продуктивности моря и является проблемой опасности глобального снижения биологического разнообразия.

На настоящий момент выпуск трансгенных рыб в окружающую среду для коммерческого использования пока не проводился. Однако есть опыт многочисленных интродукций селекционных образцов рыб (полученных методами традиционной селекции) в природные условия, свидетельствующий о существенной зависимости характера и степени экологического воздействия селекционных популяций от вида рыб и места их выпуска [Sutterlin et al., 2003]. В частности, имеется опыт интродукции селекционного норвежского лосося, который сосуществует с дикими особями. Как показали наблюдения, он оказался экологически менее конкурентоспособным по сравнению с диким лососем, а основной проблемой сохранения «дикого типа» явилось недопущение распространения заболеваний, попадавших в популяцию лосося вместе с «одомашненными» особями [Aleström, 1996]. При испытаниях трансгенных рыб (карпа) в изолированных условиях не было выявлено какого-либо особого воздействия на окружающую среду, отличного от воздействий, производимых соответствующими нетрансгенными культивируемыми в садках рыбами [Powell, 1995]. Тем не менее, исходя из принципа принятия мер предосторожности, в случае планируемого выпуска трансгенных животных аквакультуры следует очень внимательно относиться к проблеме инвазивности и конкурентного доминирования новых селекционных образцов. Природозащитные организации, разрабатывая рекомендации по содержанию трансгенных животных аквакультуры, в качестве основной отмечают недопущение по возможности свободного попадания трансгенных особей за пределы отведенных им акваторий и обеспечение здоровья и инфекционной безопасности культивируемых животных.

Своеобразными «сорняками» могут быть и интродуцированные микроорганизмы. Известны случаи неудачного симбиоза селектированных штаммов азотфиксирующих бактерий рода *Rhizobium* и *Bradyrhizobium* с некоторыми хозяйственно важными бобовыми культурами. Например, многие серогруппы 76 штаммов *Bradyrhizobium japonicum* вызывают хлороз сои, а штаммы группы В *Rhizobium tropici* – хлороз фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) [Hall, 1995], что, естественно, ведет к потере урожайности этих культур.

Как правило, селекционные штаммы менее конкурентоспособны по сравнению с природными аналогами, поэтому они не являются долгоживущими и не могут распространиться за территорию внесения. Следовательно, нанесение существенного ущерба использованием неудачной модификации маловероятно. Одно из направлений генно-инженерных работ с азотфиксирующими бактериями сегодня как раз и направлено на повышение конкурентоспособности ГИМ и их способности выживать в почве в свободном состоянии без формирования клубеньков, а также успешно конкурировать с аборигенными штаммами в колонизации бобовых растений.

Существует опасение, что внесение генно-инженерных азотфиксирующих бактерий при приобретении ими способности стабильно сохраняться в почве может локально разрушать азотный почвенный цикл (еще одно проявление «сорняковости»). Однако специальные эксперименты с генно-инженерными микроорганизмами показали его несостоятельность. Доказано отсутствие какого-либо влияния ГИМ на процес-

сы аммонификации, нитрификации и денитрификации почвы, на динамику популяций микроорганизмов, способствующих этим процессам [Hall, 1995].

Чтобы абсолютно исключить вероятность нежелательного распространения ГИМ и эффективно очищать территории от генно-инженерных микроорганизмов после окончания их применения, предлагается использовать так называемые «гены-убийцы».

Это летальные гены, которые либо способствуют разрушению ДНК микроорганизмов, либо стимулируют лизис их клеточной стенки. Такие гены должны находиться под контролем других генов-медиаторов (репрессорных или промоторных), начинающих действовать только в определенных условиях окружающей среды. При изменении условий окружающей среды гены-медиаторы стимулируют действие «гена-убийцы» и разрушают ГИМ [Levin, 1995].

6.6. Оценка агрессивности растений-сорняков

В соответствии со схемой оценки экологического риска (рис. 6.1) на первом этапе оценки вероятной агрессивности вида как сорняка проводится анализ всей имеющейся о данном виде информации. Наиболее существенные вопросы, которые подлежат обсуждению, – оценка потенциала ГИО по неконтролируемому росту численности, возможности самостоятельно осваивать новые территории, вытеснять или подавлять эндемичные или хозяйственно важные популяции других организмов.

Первый блок вопросов включает *информацию о биологических особенностях реципиентного организма*. Ответы на вопросы этого блока позволят очертить возможный круг воздействий ГИО, зависящих от таксономического статуса организма-реципиента, определить потенциальные характеристики ГИО, основываясь на уже известных биологических особенностях исходных организмов, их экологическом поведении. Полная информация об особенностях реципиента трансгена одинаково необходима для оценки как агрессивности, так и любого другого риска неблагоприятных воздействий ГИО на окружающую среду и здоровье человека.

При оценке конкурентных возможностей растений одинаково важной является информация, дающая ответы на все вопросы о реципиентном организме. При данной оценке других организмов особое внимание следует уделить вопросам патогенности и инфицирующей способности (для микроорганизмов), экологическим и физиологическим особенностям реципиента, способствующим подавлению других организмов экосистемы (период генерации в естественных экосистемах, половой и бесполой репродуктивный цикл; информация о выживаемости в окружающей среде, включая сезонность и способность образовывать структуры, необходимые для выживания: споры, склеротии и т.п.; инфекционная способность, токсиногенность, способность колонизировать другие организмы; воздействие на естественные процессы: первичная продукция, процесс разложения органических веществ, дыхание и т.д.).

Агрессивность микроорганизмов может определяться также и свойствами вектора, использованного для трансгеноза (его природой, происхождением, естественной средой обитания и соответствующими характеристиками безопасности; структурой транспозонов, промоторов и других некодирующих генетических элементов, использованных для создания генетической конструкции и необходимых для ее переноса и функционирования в реципиентном организме).

Во втором блоке вопросов, относящихся к *характеру генно-инженерной модификации*, для растений наиболее существенны следующие: описание встроенного в геном (плазмон) реципиентного организма фрагмента ДНК (источник и предполагаемая функция каждого составного элемента встроенной ДНК, регуляторные и другие эле-

менты, влияющие на функционирование транзенов); присутствие в структуре ДНК известных потенциально опасных последовательностей, функциональное соответствие встроенного фрагмента ДНК; наличие во встроенной ДНК каких-либо неизвестных последовательностей. Для других организмов эти вопросы рассматриваются в третьем блоке. Наличие неизвестных последовательностей является дополнительным фактором неопределенности, что должно делать оценку поведения ГИО более строгой.

В третьем блоке вопросов, относящихся к *биологическим особенностям ГИО*, как для растений, так и для других организмов наиболее важна оценка новых признаков, связанных с транзенозом. Это описание генетических признаков и фенотипических характеристик, связанных с адаптивными свойствами организма, в особенности новых признаков и характеристик, которые стали проявляться или перестали проявляться у ГИО по сравнению с реципиентным организмом; генетическая стабильность ГИО; степень и уровень экспрессии транзена (или транзенов); история прежних генно-инженерных модификаций ГИО. Для микроорганизмов следует рассмотреть также способность ГИО к колонизации живых объектов.

Информация в отношении принимающей среды (четвертый блок вопросов), которая может повлиять на принятие решения о допустимости использования ГИО, включает для растений и других ГИО сведения о географическом положении участка, где будет осуществляться высвобождение; описание участка: размер и обработанность, климатическая, геологическая и почвоведческая характеристика, флора и фауна (для микроорганизмов дополнительная информация о возделываемых сельскохозяйственных культурах и описание экосистем-мишеней, которые могут быть затронуты в результате высвобождения ГИО); методы вмешательства в природу участка (методы культивации, ирригации и т.п.). Сравнение мест естественного обитания реципиентных организмов с предполагаемым местом высвобождения ГИО позволит более точно прогнозировать экологическое поведение ГИО и выделить факторы неопределенности, на которые следует обратить внимание, если предполагаемое место обитания ГИО имеет какие-либо особенные характеристики, не свойственные местам обитания реципиентных организмов. Более строгого подхода к оценке характеристик ГИО и возможных последствий его высвобождения требует близость к заповедникам, заказникам и другим природоохранным объектам и территориям.

Если достоверную и полную информацию по перечисленным блокам можно получить на основе данных литературы, документов, исследований ГИО в условиях изоляции, то сведения о взаимодействии ГИО с окружающей средой, почерпнутые из таких источников, не всегда оказываются достаточными и столь же доступными. В этом случае при принятии решения о высвобождении ГИО можно использовать опыт, приобретенный при анализе последствий предыдущих высвобождений подобного рода ГИО или высвобождений похожих ГИО в сходных условиях окружающей среды. Однако такой опыт не поспевает угнаться за прогрессом в области биотехнологии. Быстрое расширение географии высвобождения ГИО и возрастание количества живых объектов, доступных генно-инженерным модификациям, увеличение разнообразия модификаций требуют все новых знаний, которые можно добыть только опытным путем. Это лабораторные тесты, ограниченные полевые испытания, результаты долгосрочных наблюдений за ГИО, уже получившими статус сорта или породы (штамма) и использующимися на значительных территориях в течение достаточно длительного времени.

При оценке выживаемости и возможной инвазивности ГИО, вероятности появления нежелательного агрессивного поведения по отношению к другим организмам экосистемы можно опираться на уже имеющиеся данные о реципиентном организме, характере модификации, ГИО, принимающей среде. Оцениваются биологические осо-

бенности ГИО, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение и распространение в потенциальной принимающей среде (сравниваются имеющиеся данные по реципиентному организму и ГИО). Учитываются известные пути рассеивания ГИО в потенциальной принимающей среде, известные или возможные способы взаимодействия с рассеивающими агентами (вода, ветер, насекомые, рассеивание посредством вдыхания, заглатывания, поверхностного контакта, проникновения в поры и т.д.), известные и прогнозируемые условия потенциальной принимающей среды, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение, рассеивание ГИО.

Что касается ГИМ, то при их оценке следует также рассмотреть известное или предполагаемое их вовлечение в биогеохимические процессы; чувствительность или устойчивость к специфическим агентам; предполагаемый механизм и результат взаимодействия ГИМ с организмами-мишенями (симбионтами).

Очевидно, что данные этой оценки будут нести скорее характер прогноза, а более достоверные сведения появятся только в ходе специальных экспериментов и наблюдений. Только опытным путем и путем долгосрочных наблюдений можно выявить все или почти все потенциально возможные взаимодействия ГИО с окружающей средой. В частности, только экспериментальным путем или в результате длительных наблюдений можно точно оценить вероятность сдвига в характере взаимоотношений ГИО с другими организмами, изменение ими круга хозяев, конкурентное преимущество ГИО по сравнению с исходным организмом, проявления у ГИО в потенциальной принимающей среде нежелательных свойств, признаков или резкого увеличения численности.

На рисунке 6.2 приводится схема анализа определения вероятности возникновения и оценки уровня сорной активности трансгенных растений (выживаемость и инвазивность), используемая Агентством по охране окружающей среды США (US EPA) [Rissler, Mellon, 1993].

В основе экспериментальной части оценки использован так называемый «тест на замещение популяций». Тестирование проводится по двум показателям: 1) уровень собственно замещения одной популяции другой (соотношение по уровню прорастания семян и выживания особей в популяциях); 2) уровень сохранения семенами жизнеспособности в банке семян (насколько способны к будущему прорастанию семена, не взошедшие первоначально по каким-либо причинам, т.е. составляющие банк семян). Первый показатель характеризует возможности популяции к сохранению и распространению в окружающем пространстве. Второй показатель позволяет оценить возможности сохранения популяции в неблагоприятных для прорастания семян и развития сеянцев условиях среды и ее возобновления в случае гибели растущих растений. Банк семян является важнейшим источником вторичного засорения.

Уровень проведения теста – стандартный (полный) или сокращенный – выбирается экспертом на основе имеющихся данных об инвазивных способностях реципиентного организма. Если такие способности достаточно высоки, проводят полный тест на нескольких участках в различных возможных местах обитания тестируемого образца, включая участки в пределах агросреды и в природных экосистемах. При невысоком потенциале агрессивности реципиентного организма как сорняка ограничиваются сокращенной схемой эксперимента в пределах агрозоны. Количество и разнообразие экспериментальных участков зависят также от того, насколько широк и разнообразен по условиям произрастания ареал предполагаемого использования ГИО.

Эксперимент позволяет сравнить возможности сохранения в естественных условиях популяций трансгенных растений и их нетрансгенного аналога. В случае если коэффициент замещения популяции трансгенного растения выше, чем у его аналога,

можно прогнозировать возрастающую агрессивность ГИО в качестве сорного растения и его способность к проникновению в природные экосистемы. Показатель жизнеспособности банка семян дает возможность оценить перспективы по управлению риском инвазивности трансгенных растений и уточнить агротехнические мероприятия при необходимости очистки территории от остатков ГИО. Если этот показатель высок, то работа по уничтожению трансгенных растений на участке может оказаться весьма трудоемкой. При высокой жизнеспособности банка семян повышаются возможности выживания популяции в неблагоприятных условиях, что дает им дополнительные экологические преимущества.

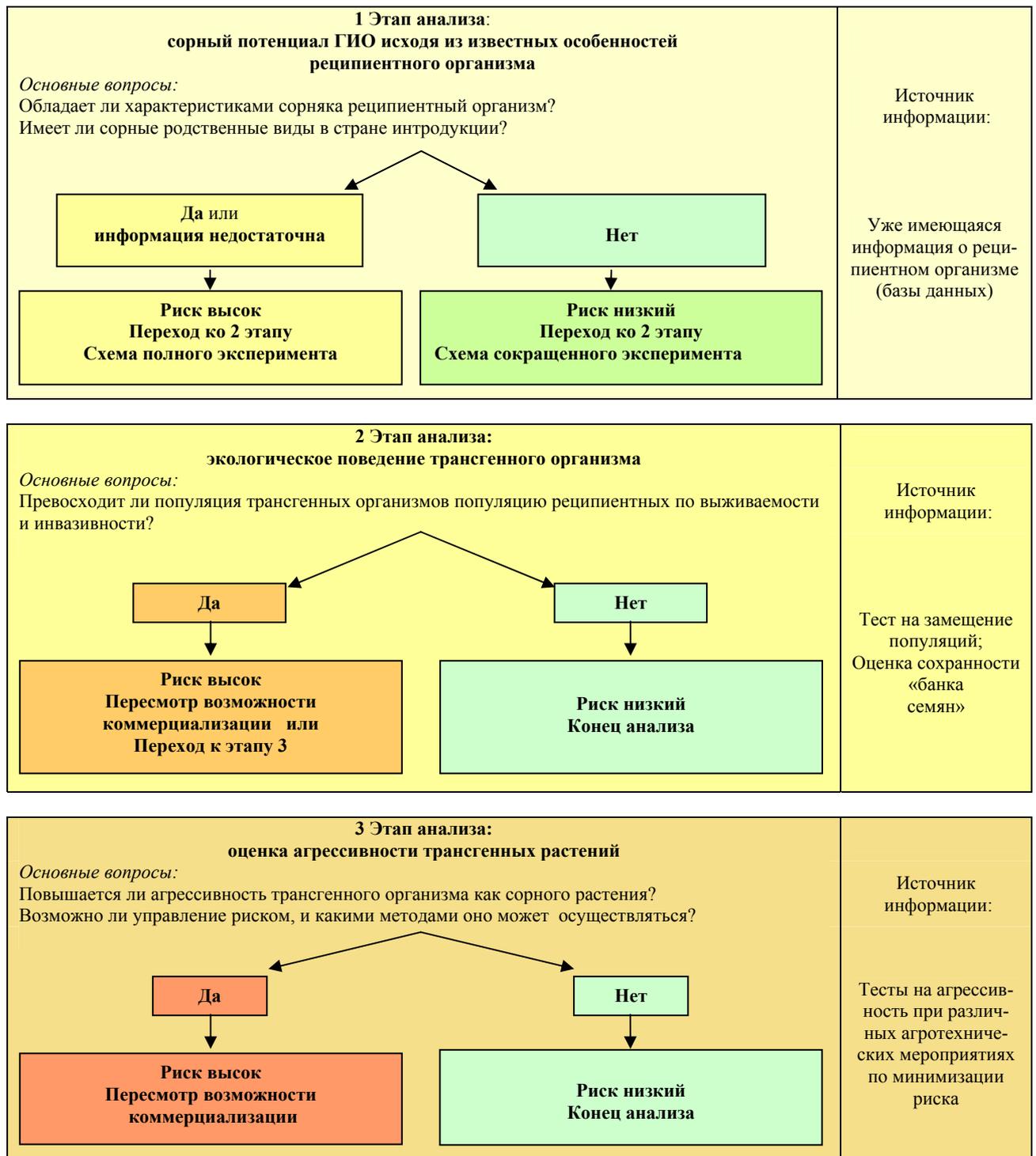


Рис. 6.2. Экспериментальная оценка сорного потенциала трансгенных растений (оценка инвазивности и выживаемости) (модифицированная схема J. Rissler, M. Mellon [1993])

Если потенциал трансгенного растения по замещению популяции выше, чем у исходного аналога, то проводится дополнительный эксперимент по оценке его агрессивности в качестве сорняка, в ходе которого определяют, как сказывается совместное произрастание на основной популяции, а также эффективность различных методов борьбы с сорной популяцией. На основе эксперимента даются рекомендации о целесообразности коммерческого использования ГИО и по его менеджменту.

6.7. Миграция и последующая интрогрессия трансгена в дикие популяции в результате вертикального или горизонтального переноса генов

6.7.1. Вертикальный перенос генов. Чем опасна миграция трансгенов от ГИО в популяции диких видов? Как уже отмечалось в разделе 6.5, в случае передачи адаптивного признака дикому виду, родственному ГИО, его возможности в проявлении адаптивных свойств теоретически будут гораздо выше, чем у культурного (доместицированного) организма. Например, приобретение сорными растениями устойчивости к гербициду может сделать их намного более опасными сорняками агросреды, чем культурные растения предшествующей культуры, поскольку первые изначально имеют более высокий адаптивный потенциал по сравнению с культурными растениями и, кроме того, получили еще устойчивость к гербициду. По мнению тех, кто критически относится к выращиванию трансгенных сортов растений, это способно привести к появлению суперсорняков, контроль которых с помощью тех же гербицидов станет весьма дорогостоящим и неблагоприятным занятием или практически невозможным. В худшем случае сорные растения, приобретая дополнительные инвазивные возможности и конкурентные преимущества, могут проникнуть на территории природных экосистем и нанести им ощутимый ущерб [Ellstrand, 1992]. Возможные пути миграции трансгена от ГИО к нетрансгенным культурам и родственным видам растений представлены на рисунке 6.3.

На самом деле последствия миграции генов еще недостаточно полно изучены и не всегда ясны. Разумеется, что, как и в случае появления любого другого риска, последствия миграции генов будут определяться особенностями модифицируемого организма и характером модификации. Кроме того, в данном случае важно учитывать особенности организмов, которым вероятно передача этой модификации (реципиентных). Во-первых, следует рассматривать возможность передачи генетической информации от трансгенной культуры этому организму. Во-вторых, учитывать особенности экологического поведения гибридов и последующих гибридных поколений от скрещивания трансгенных и нетрансгенных организмов. При изучении экологического поведения потомства от гибридизации ГИО с дикими родственными видами большую помощь могут оказать уже имеющиеся сведения о природной интрогрессии с участием изучаемых видов или интрогрессии, полученной в результате традиционной селекции растений.

Когда речь идет об экологических рисках, связанных с высвобождением ГИО, под миграцией (поток) гена (*gene flow*), как правило, понимают рассеивание генетического материала какого-либо организма, в частности ГИО, в виде пыльцы (или сперматозоидов животных) и семян, являющееся проявлением инвазивности. На самом деле перенос пыльцы или рассеивание семян необходимые, но недостаточные условия для устойчивого проникновения трансгена в природные популяции и его закрепления там. Безусловно, особенности распространения пыльцы (преимущественное самоопыление или необходимость перекрестного опыления для завязывания семян, способ пе-

рeноса пыльцы – ветром или животными, дальность, на которую может распространяться пыльца) и семян (как далеко и какими способами) определяют инвазивные возможности ГИО. Они могут влиять на вероятность проникновения трансгена в дикие популяции, расширяя территорию попадания чужеродного генетического материала. Но даже распространение большого количества пыльцы и семян еще не означает стабильной передачи трансгена родственным видам.

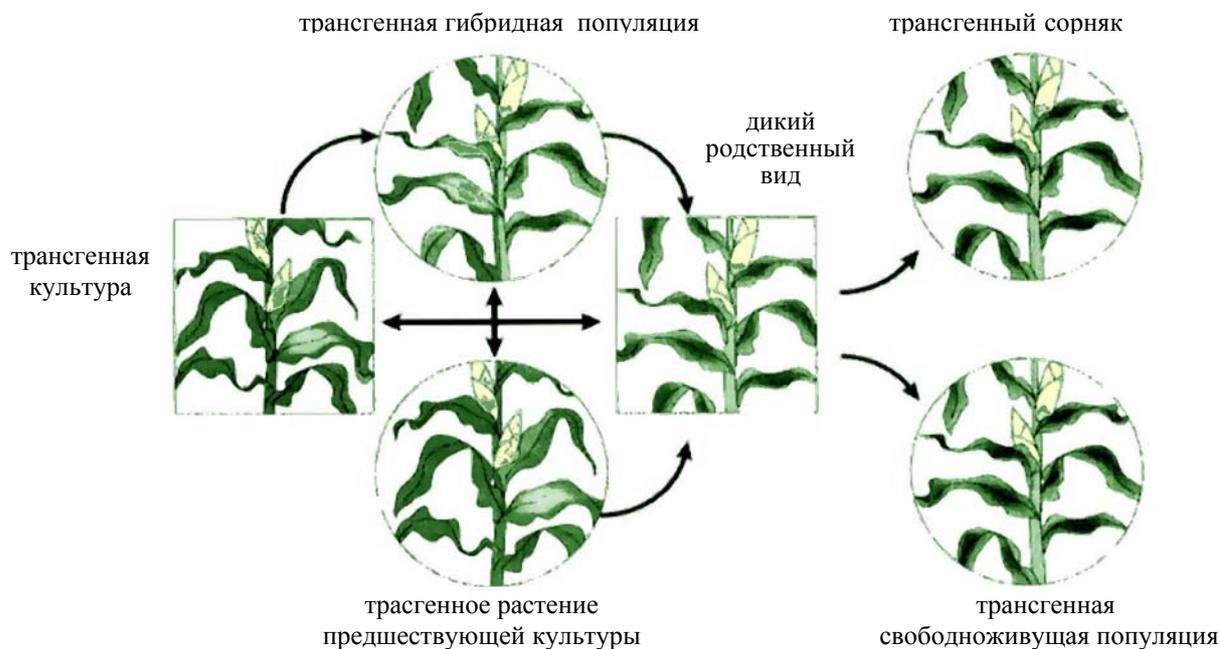


Рис. 6.3. Пути миграции трансгена и возможные варианты его сохранения в окружающей среде (по Stewart et al., 2003).

В квадратах - первоначальные трансгенная и нетранссгенная популяции; в кругах - потенциальные популяции, приобретающие трансген в результате его миграции и интродукции. Стрелками показаны возможные направления миграции трансгена

Семена как источник рассеивания трансгена. Для некоторых видов растений при проникновении на новые территории большую роль играют семена. Как правило, это многолетние растения, способные размножаться вегетативно, например садовая земляника (*Fragaria ananassa*) [Westman et al., 2002] или некоторые виды тополя [Slavov et al., 2002] и многолетних трав [Wipff, 2002]. Они способны формировать на природных территориях самостоятельные популяции. Глубоко проникая в естественные экосистемы, такие популяции имеют больше возможностей для встречи с дикими родственными видами и обмена с ними генетическим материалом. Распространению и стабильному существованию новых популяций способствуют относительно низкий уровень доместикации таких растений (особенно многолетних трав и деревьев), а также наличие у них специальных приспособлений для распространения семян (у земляники это вкусные ягоды, привлекающие животных, которые и являются переносчиками семян на значительные расстояния; у тополя и многих трав – образование пуха на семенных коробочках, что помогает дальнему переносу их ветром).

Чтобы предотвратить распространение трансгенов через семена, предлагаются различные системы контроля над жизнеспособностью гибридных эмбриоидов и семян. Разработаны методы химической репрессии генов, отвечающих за созревание семян, и несколько так называемых GURT (Gene Use-Restriction Technology) систем, включающих комбинирование трансгена с генами, контролирующими созревание семян. GURT-системы обеспечивают блокировку генов, важных для развития гибридных за-

родышей, и нормальное развитие семян только при наличии у одного из партнеров по скрещиванию специальной системы генов – репрессоров этой блокировки [Stewart et al., 2003].

Большинство существующих в настоящее время трансгенных растений являются однолетними сельскохозяйственными культурами. Поэтому основную роль в распространении трансгена от сельскохозяйственных растений играют не семена, ради которых эти культуры, как правило, и выращиваются, а пыльца. Даже при некоторой потере семян или их попадании за пределы аграрной зоны вероятность утечки трансгенов в природные экосистемы таким путем маловероятна из-за высокой степени доместикации сельскохозяйственных растений. До некоторой степени исключение могут составлять только культуры с характеристиками сорняков. Но и их адаптивные возможности в природной среде весьма ограничены.

Пыльца как источник рассеивания трансгенов. Распространение трансгенов с пыльцой будет зависеть от множества факторов. Прежде всего, как уже отмечалось, имеют значение способ опыления растений (преимущественное самоопыление или преобладающее перекрестное опыление), дальность и способы переноса пыльцы – ветром или насекомыми (животными). Очевидно, что при преимущественном самоопылении растений вероятность попадания пыльцы за пределы их выращивания очень низка. И даже при наличии частичного перекрестного опыления, характерного для большого числа самоопыляющихся культур (рапс, сорго, ячмень, пшеница, овес, подсолнечник, хлопок и др.), такая вероятность будет гораздо ниже, чем у перекрестников. Как правило, пыльца сельскохозяйственных культур распространяется в пределах поля, на котором они выращиваются, хотя часть пыльцы может выйти за эти рамки и за пределы площади, обычно покрываемой пыльцой данного вида (соответствующие цифры можно найти в справочниках) [Eastham, Sweet, 2002 и др.]. При оценке вероятности распространения пыльцы необходимо учитывать наличие насекомых-опылителей, преобладающее направление и силу ветра и другие факторы, способные повлиять на дальность ее полета. Большую площадь распространения, иногда весьма значительную, имеет пыльца древесных культур и многих луговых трав [Slavov et al., 2002; Wipff, 2002].

Чтобы предотвратить переопыление нетрансгенных сортов трансгенными, что особенно нежелательно при использовании приемов органического земледелия и, безусловно, при поддержании сортовой чистоты семян, предлагается применение защитных (изоляционных) полос из нетрансгенных растений той же культуры вокруг полей с трансгенными растениями. Посадки трансгенных растений одного сорта лучше всего проводить крупными блоками, избегая пестроты посевов небольшими участками трансгенных и нетрансгенных культур одного вида.

Эффективным методом предотвращения переноса трансгенов с пыльцой может быть придание трансгенным растениям, предназначенным для коммерческого использования, признака мужской стерильности (МС). МС-растения не формируют пыльцу вообще или формируют пыльцу, не способную к результативному опылению. Однако использование этого метода не всегда возможно или возможно только с привлечением специальных приемов восстановления фертильности, поскольку фертильность пыльцы для большинства сельскохозяйственных культур является гарантом их урожайности. В настоящее время создано несколько генетических систем стерильности/восстановления фертильности. Например, система *barnase* гена стерильности и *barstar*-гена-ингибитора *barnase* гена у рапса (см. главу 3) применяется уже в коммерческих посевах. Использование агробактериального *rolC*-гена стерильности у одного партнера по скрещиванию и ингибирующей действие *rolC*-гена антисмысловой после-

довательности к нему у другого партнера пока ограничено опытными полями [Stewart et al., 2003]. Предлагаются и некоторые агротехнические методы обеспечения урожая мужски стерильных форм, например посадка трансгенных МС-форм совместно с не-трансгенными фертильными опылителями [Feil, Stamp, 2003].

В качестве еще одного метода, который может стать барьером распространения трансгенов с пыльцой, рассматривают трансгеноз органелл, в частности хлоропластов, имеющих у высших покрытосемянных растений, как правило, материнское наследование и не присутствующих в пыльце. Однако существует немало свидетельств двуродительского и даже отцовского, например, у люцерны (*Medicago sativa*) и представителей рода *Actinidia*, наследования пластид [Даниленко, Давыденко, 2003]. Кроме того, к настоящему времени удалось осуществить перенос интересных с точки зрения практического использования трансгенов (гены Вt-протеинов *Cry1A* и *Cry2A* и ген устойчивости к гербициду глифосату *EPSPS*) только в хлоропласты табака [DeGray et al., 2001; Даниленко, Давыденко, 2003].

Гибридизация как источник рассеивания трансгена. Перенос трансгенов с пыльцой может быть причиной серьезных проблем в результате гибридизации сортов внутри вида в пределах агрозоны или при опылении свободноживущих вне агрозоны представителей культуры, как было показано на примере формирования комбинированной устойчивости к нескольким гербицидам у гибридов рапса (см. раздел 6.5.1). Однако существует вероятность, хотя и гораздо более низкая, переноса трансгенного признака с пыльцой к представителям других родственных видов (принадлежащих к тому же роду или семейству). В природе имеется множество барьеров (географических, поведенческих, физиологических и, наконец, генетических), препятствующих свободной гибридизации между видами и позволяющих им сохранять свою индивидуальность. Если бы таких барьеров не существовало, то не было бы и самой категории вида. Тем не менее, в некоторых (достаточно редких) случаях эти барьеры преодолеваются, в результате чего могут появиться новые виды. Молекулярно-генетические методы, применяемые при изучении происхождения видов, показали, что случаи преодоления межвидовых барьеров происходят чаще, чем это представлялось раньше, однако все равно остаются из разряда редких событий и в большей степени связаны с эффективной гибридизацией между подвидами, чем с гибридизацией между видами [Stewart et al., 2003].

Чтобы произошла гибридизация между трансгенными растениями и растениями родственного вида, необходимо выполнение одновременно ряда условий. Во-первых, должны совпадать или перекрываться сроки цветения трансгенных растений и растений родственного вида. Во-вторых, расстояние между ними должно позволять пыльце первого, не потеряв опыляющей способности, достигнуть цветка второго. Далее, должны быть преодолены генетические презиготные и постзиготные барьеры скрещиваемости. Презиготная совместимость обеспечивает прорастание пыльцы в пестике и оплодотворение яйцеклетки, постзиготная – развитие зародыша и созревание семени, способного прорасти и развиваться в жизнеспособное растение. У растений существует ряд механизмов, поддерживающих презиготные и постзиготные барьеры гетероспецифических скрещиваний и обеспечивающих сохранение видового гомеостаза.

Даже если гибридизация между видами произошла и сформировалось гибридное растение, генетические межвидовые барьеры продолжают действовать. За редким исключением, межвидовые гибриды представляют собой слабые растения с низкими адаптивными возможностями, как правило, стерильные или с пониженной фертильностью [Snow et al., 1998 и др.]. Такие отдельные индивидуумы не способны обеспечить

стабильное включение гена (трансгена) в популяцию дикого вида и его функционирование там.

Стабильное включение гена в новый генетический пул, обеспечивающее его длительное существование в этом пуле, называют *интрогрессией гена* [Anderson, 1949, цит. по Kwon, Kim, 2001]. Случаев доказанной интрогрессии в природе гораздо меньше, чем доказанных случаев спонтанной межвидовой гибридизации. На настоящий момент имеется 65 достаточно документированных случаев интрогрессии, которые имеют отношение к различным таксономическим группам растений с различными типами роста, распространения пыльцы и системами скрещивания [Stewart et al., 2003]. Как и в случае гибридизации, интрогрессия более характерна для взаимоотношений подвидов, чем видов.

Процесс интрогрессии достаточно сложен и включает ряд циклов формирования гибридного потомства и/или беккроссирования гибридов пыльцой одного из родителей ($F_1 F_2$, $BC_1 BC_2$ и т.д.). Все эти поколения могут присутствовать в популяции и обмениваться генами одновременно. Это динамический процесс, который может потребовать многих лет и поколений, пока трансген стабильно не закрепится в генетическом окружении дикого вида. Вероятность интрогрессии повышается, если будет наблюдаться постоянное поступление трансгена в дикую популяцию (например, от многолетней трансгенной культуры) и размеры популяции реципиента будут невелики. При отсутствии стабильного поступления трансгена в течение нескольких поколений его включение в дикую популяцию маловероятно. Таким образом, севооборот и сортомена однолетних трансгенных культур будут препятствовать интрогрессии, тогда как сохранение семян в банке семян трансгенных растений будет способствовать ей.

Вероятность устойчивой интрогрессии трансгена в популяции родственного вида значительно увеличится, если он будет доминантным и не ассоциированным с вредными для вида аллелями или признаками, а, напротив, будет давать селективные преимущества. Интрогрессии способствует локализация трансгена в общем для трансгенного организма и организма-реципиента геноме, гомологичной для этих организмов хромосоме или хромосоме, не претерпевшей перестроек по сравнению с гомологичной хромосомой дикого вида.

По степени вероятности интрогрессии генов к диким родственным видам сельскохозяйственные культуры принято разделять на три категории – культуры *высокого риска*, *среднего риска* и *низкого риска интрогрессии* (иногда добавляют группу растений *крайне низкого риска интрогрессии*). По оценкам разных авторов, одно и то же культурное растение может попасть в разные категории. Это объясняется как разными подходами к оценке риска неблагоприятных последствий интрогрессии (например, к оценке степени агрессивности как сорняка), так и географическим распространением культурного растения и его диких родичей. Так, американские авторы [Stewart et al., 2003] причисляют пшеницу (*Triticum aestivum* L.) к культурам среднего риска, тогда как европейские эксперты [Eastham, Sweet, 2002] рассматривают ее как культуру низкого риска (табл. 6.2).

Объясняется это тем, что в Америке растет сорное растение рода *Aegilops*, родственное пшеницам (*Aegilops cylindrica* Ces.), которое не растет в Европе. Эти аллополиплоидные виды (гексаплоидная пшеница с геномами А, В, D и тетраплоидный *A. cylindrica* с геномами С и D) имеют один общий геном D, вследствие чего они способны скрещиваться с формированием жизнеспособных гибридов, которые в свою очередь формируют жизнеспособные яйцеклетки и достаточно легко скрещиваются с *A. cylindrica*. Причем фертильность беккроссных поколений возрастает. Доля беккроссных семян пшенично-эгилопсного гибрида составляет не более 1% в популяциях *A.*

cylindrica, тем не менее, интрогрессия генов от коммерческих сортов пшеницы к дикому сорному виду была доказана, а пшеница в США переведена из разряда растений низкого риска в разряд среднего риска [Zemetra, 2000; Zemetra et al., 2002; Stewart et al., 2003].

Таблица 6.2

Растения низкого (НР), среднего (СР) и высокого (ВР) уровня риска миграции трансгена в природные популяции родственных видов растений для условий Беларуси

Культура	Вероятность перекрестного опыления, %	Совместимость с другими сельскохозяйственными культурами и дикими сородичами	Вероятность интрогрессии гена к диким или одичавшим сородичам	Признаки, введенные путем трансгена
Перекрестноопыляющиеся культуры				
Кукуруза (НР)	20–75	Теосинте, <i>Zea mexicana</i>		Устойчивость к гербицидам, насекомым **
Подсолнечник (НР)		<i>Helianthus tuberosus</i> , <i>H. petiolaris</i> , <i>H. agrophyllus</i>		Устойчивость к гербицидам, насекомым **
Сахарная свекла (НР)		Все виды рода <i>Beta</i>		Устойчивость к гербицидам, вирусам*
Люцерна (СР)		<i>Medicago sativa</i> , <i>M. falcata</i>		<i>M. sativa</i> ssp. <i>sativa</i>
Самоопыляющиеся культуры				
Ячмень (НР)	max 10	Дикие формы ячменя, <i>Hordeum spontaneum</i> , <i>H. bulbosum</i>		Устойчивость к насекомым-вредителям**
Картофель (НР)	< 1	<i>Solanum</i> sec. <i>Tuberosa</i> , <i>S. andigena</i> , <i>S. demissum</i> , <i>S. edinense</i> , <i>S. semidemissum</i> , <i>S. curtilobum</i> , <i>S. sucrense</i>		
Соя (НР)		<i>Glycine soya</i>		
Пшеница (НР)		Вариабельная (max 10)		
Масличный рапс (ВР)	> 10	<i>Brassica napus</i> , <i>B. campestris</i> (=rapa), <i>B. nigra</i> , <i>B. napella</i> , <i>B. borugetaui</i> , <i>B. cretica</i> , <i>B. montana</i>		

* Селекционные образцы, еще не используемые в коммерческих целях. ** Коммерческие сорта и гибриды. *** Коммерческое использование не рекомендуется (в США).

Принадлежность к той или иной группе риска может быть изменена также в связи с приобретаемым опытом и накоплением фактических научных сведений о сельскохозяйственных культурах, родственных им видах и их экологическом поведении. Например, развитие методов молекулярно-генетического анализа расширило возможности специалистов в выявлении интрогрессии, позволило подтвердить или опровергнуть первоначальные допущения о предполагаемой миграции генов от одних видов к другим.

К группе *высокого риска* относятся виды, которые могут не только выращиваться как сельскохозяйственные культуры, но одновременно встречаться как свободноживущие популяции, представляющие серьезную опасность в качестве сорных растений и легко скрещивающиеся с дикими родственными видами. По оценке L. Holm с соав-

торами (1977, цит. по [Snow, Palma, 1997]), 11 из 18 наиболее широко распространенных в мире сорных растений одновременно выращиваются и как сельскохозяйственные культуры. N.C. Ellstrand с соавторами (1999), ссылаясь на имеющиеся литературные данные, доказывают возможность гибридизации с дикими родственными видами 12 из 13 наиболее важных сельскохозяйственных культур в некоторых из ареалов их выращивания, хотя на настоящий момент интрогрессия генов от культурных к диким видам доказана далеко не для всех из этих культур.

Одной из культур высокой степени риска в Европе признается рапс масличный (*Brassica napus* L.) (в США его рассматривают как культуру средней степени риска). С одной стороны, он довольно часто покидает поля и может выживать в природной окружающей среде. Кроме того, обладает свойствами сорняка. С другой стороны, являясь, подобно пшенице, аллополиплоидным видом (рис. 6.4), он способен эффективно скрещиваться с шестью видами из рода *Brassica* (*B. rapa*, *B. oleraceae*, *B. nigra*, *B. kaber* (*Sinapis arvensis*), *B. juncea*, *B. adpressa*), с одним видом рода *Raphanus* (*R. raphanistrum*) и одним видом рода *Erucastrum* (*E. gallicum*). Некоторые из них известны как достаточно опасные сорняки [Mikkelsen et al., 1996; Metz et al., 1997; Stewart, 1999; Orson, 2002; Warwick et al., 2003 и др.]. Гибриды в этих скрещиваниях образуются, как правило, когда рапс является материнской формой, а количество гибридов, формирующихся в полевых условиях, крайне мало ($<2-5 \times 10^{-5}$), поэтому утечка трансгенов посредством пыльцы от рапса к большинству из перечисленных видов маловероятна. Однако доказана интрогрессия генов (в том числе трансгенов устойчивости к гербициду и синтеза Bt-протеина) посредством пыльцы от *Brassica napus* к виду *B. rapa* L. [Mikkelsen et al., 1996; Halfhill et al., 2002; Warwick et al., 2003]. Растения этого вида, выращиваемые в культуре как репа и турнепс, также известны как сорняки и довольно легко выживают в природе. В связи с высокой агрессивностью как сорняка и высокой вероятностью интрогрессии генов от рапса к сорному виду *B. rapa* в США были отозваны разрешения на коммерциализацию трансгенных сортов рапса с устойчивостью к насекомым, болезням и стрессам [Stewart et al., 2003].

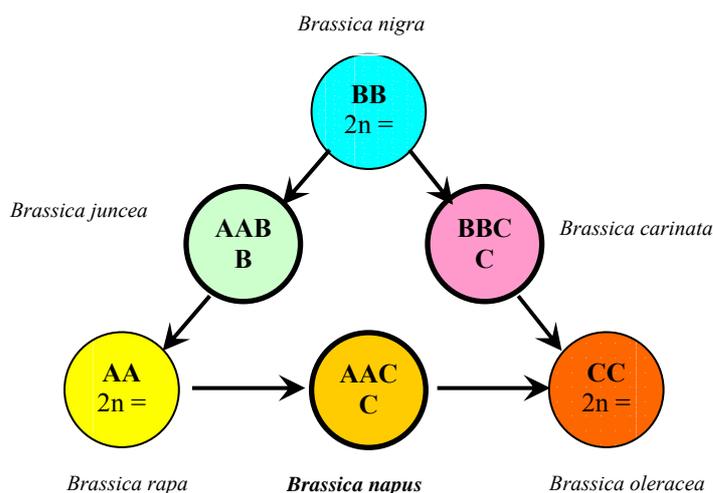


Рис. 6.4. Геномные родственные связи между шестью видами рода *Brassica*.

Рисунок иллюстрирует процесс образования новых видов, многие из которых являются гибридами, содержащими несколько геномов от разных видов. Геномные взаимосвязи изображены в виде треугольника. В вершинах углов представлены три вида с простыми геномами (AA, BB и CC). Три вида на сторонах треугольника - аллотетраплоидные (комбинированные) геномы, сформировавшиеся в результате гибридизации базовых геномов. $2n$ - хромосомные числа видов, характерные для спорофита (по Stewart, 1999)

Наиболее опасной культурой в плане вероятности интрогрессии генов к диким сорным видам и серьезности последствий такой интрогрессии принято считать сорго (*Sorghum bicolor*). Сорго легко скрещивается с дикими и одичавшими представителями своего вида и тремя видами, распространенными как в Новом, так и в Старом свете (*S. halepense*, *S. propinquum*, *S. alatum*). Гибриды, как и все названные виды сорго, обладают высоким инвазивным потенциалом и высокой степенью выживаемости, что делает их

одними из наиболее опасных сорных растений, очень широко распространенных в мире.

К категории *средней степени риска* относят виды, которые имеют свободноживущих представителей своего же вида, не представляющих большой опасности в качестве сорняков, или представителей родственных видов, не представляющих большой опасности как сорняки, но принадлежащих к тому же роду, что и культурная форма, и представленных сходным с культурным видом числом хромосом или общим для двух видов геномом. Как правило, такие растения представляют умеренный (регулируемый) риск в качестве сорных растений в агросреде, но могут вызвать определенные экологические проблемы как в агросреде, так и за ее пределами. Возможные экологические эффекты миграции генов для этой группы определяются исходя из конкретной ситуации. В первую очередь учитывается наличие родственных видов на территории высвобождения и характер модификации (рекомендуется проявлять особую осторожность при высвобождении форм с устойчивостью к вредителям и стрессовым факторам). Среди культур средней степени риска называют люцерну (*Medicago sativa* ssp. *sativa*) и подсолнечник (*Helianthus annuus*), имеющие свободноживущих представителей этих видов, а также свеклу сахарную и столовую (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*), которые скрещиваются не только со свободноживущими представителями своего вида, но и с представителями подвида *Beta vulgaris* ssp. *maritima* (в некоторых регионах Западной Европы). В условиях Беларуси подсолнечник и свекла могут быть причислены к растениям низкого риска.

В группу растений среднего риска могут быть отнесены и некоторые многолетние плодовые культуры, такие как земляника садовая (*Fragaria ananassa*), слива (*Prunus domestica*), черника (*Rubus fruticosus*) и малина (*Rubus idaeus*). У них имеется достаточно много диких и культурных видов, с которыми возможна свободная гибридизация. Многолетний характер выращивания этих культур повышает вероятность интрогрессии генов к диким видам и сортам того же вида. Однако уровень и основные векторы интрогрессии для перечисленных выше плодовых культур в настоящее время еще окончательно не определены, поэтому сложно предсказать реальные экологические последствия интрогрессии адаптивных трансгенных признаков к их диким родственным видам и свободноживущим представителям [Eastham, Sweet, 2002].

К категории *низкого уровня риска* относят культуры, у которых вероятность интрогрессии генов к диким видам очень мала, но, тем не менее, существует (к группе растений крайне малого риска относят те, для которых нет молекулярно-генетического подтверждения интрогрессии генов от культурного вида к диким представителям). Несмотря на это, принцип предосторожности предусматривает возможность эволюционной важности редких случаев интрогрессии и их экологических последствий.

Низким уровнем риска характеризуются кукуруза (*Zea mays* ssp. *mays*), хлопок (*Gossypium hirsutum*) и рис (*Oryza sativa*). Для условий Центральной и Восточной Европы, в том числе Беларуси, хозяйственное значение имеет только кукуруза, у которой нет здесь родственных видов и которая не представляет какой бы то ни было инвазивной опасности. Поэтому кукуруза в наших условиях может быть отнесена к культурам крайне низкого риска или вовсе не представляющим риска интрогрессии наравне с соей (*Glycine max*), ячменем (*Hordeum vulgare*), фасолью (*Phaseolus vulgaris*), картофелем (*Solanum tuberosum*) и рядом других культур.

В том случае, если интрогрессия генов (трансгенов) реально существует, необходимо уделить особое внимание изучению возможных изменений адаптивных характеристик популяции организмов-реципиентов, прежде всего тех, которые могут повли-

ять на ее неконтролируемый рост и связанные с ним экологические последствия, как негативные, так и позитивные. Как правило, при рассмотрении экологических последствий интрогрессии, учитывая требования биологической безопасности, основное внимание уделяют негативным изменениям в агросреде и природных экосистемах. Однако интрогрессия трансгенов в природные популяции может иметь и безусловно положительные последствия. Например, в настоящее время в США возлагают большие надежды на то, что посадки трансгенных растений каштана (*Castanea dentata*) с устойчивостью к грибным заболеваниям позволят восстановить в первозданном виде леса восточной части страны. До Первой мировой войны основу этих лесов составляли каштаны, которые позже практически исчезли из-за эпифитотии, вызванной азиатским грибом *Cryphonectria parasitica*. В этой стране существует программа использования трансгеноза устойчивости к различным болезням и вредителям для восстановления природных популяций таких ценных лесных пород деревьев, как вяз, калифорнийский орех, некоторые виды дуба [Mann, Plummer, 2002]. Настоящего результата по восстановлению лесов можно добиться только при наличии устойчивой интрогрессии ценных генов устойчивости от искусственно созданных трансгенных популяций в сохранившиеся естественные популяции.

Интрогрессия трансгена совершенно не обязательно будет способствовать неограниченному росту популяции реципиента. Рост и стабильность существования популяции будут определяться как внешними факторами среды (абиотическими и биотическими), так и характером привнесенного модификацией признака.

Сложившаяся природная популяция, длительно существующая на определенной территории, представляет собой достаточно стабильное образование, приспособленное к данным условиям среды и существующим экологическим связям внутри экосистемы. Привносимые человеком селекционноценные с точки зрения сельскохозяйственного производства признаки в естественных условиях, как правило, не дают селекционным формам преимуществ и очень часто оказываются вредными для вида. Как и признаки, привносимые в результате традиционной селекции, трансгенные признаки можно разделить на несколько категорий по степени вредоносности для благополучия вида в природной экосистеме. Они могут быть нейтральными, вредными и проявляющими себя по-разному в зависимости от уже имеющегося уровня адаптивности реципиентных видов, уровня природного биологического контроля реципиентного вида и тех селективных преимуществ, которые трансген может этому виду предоставить [Stewart et al., 2003].

Трансгены, имеющие нейтральный эффект для адаптивности, могут распространяться в природных популяциях в результате миграции генов, не предоставляя этим популяциям дополнительных преимуществ (например, для растений это маркерные гены устойчивости к антибиотикам). Трансгены с вредоносным эффектом, как правило, приводят к негативному отбору особей, несущих такие гены, в результате чего количество особей, несущих трансгены в природной популяции, не может увеличиваться или будет сокращаться. Это многие признаки, ассоциированные с доместикацией, включая гены, вызывающие мужскую стерильность, улучшающие качество волокна или древесины, замедляющие созревание плодов, и некоторые другие. Трансгены, обеспечивающие устойчивость к гербицидам или вредителям, варьируют по своим адаптивным возможностям в зависимости от инвазивности реципиентного организма и уровня природного контроля его распространения в окружающей среде. Если численность популяции зависит от устойчивости особей к вирусам, грибным заболеваниям или насекомым-вредителям, то трансгены, предоставляющие такую устойчивость, например гены Bt-протеина, очевидно обеспечат популяции дополнительные адап-

тивные преимущества. Но в отсутствие экологического давления вредителей трансгены устойчивости становятся нейтральными.

То же относится и к генам устойчивости к гербицидам. В природных популяциях они являются нейтральными, но, попав к сорнякам культурных насаждений, могут значительно усложнить их контроль с помощью гербицидов. Трансгены, повышающие толерантность видов к неблагоприятным факторам среды или изменяющие характер их роста и развития, могут привести к значительному адаптивному сдвигу и иметь существенное значение для развития их адаптивных возможностей. Например, устойчивость к холоду или засолению может расширить зоны обитания реципиентного вида. Но в отсутствие стрессового фактора такие гены опять-таки будут скорее всего нейтральными.

Таким образом, чтобы предотвратить интрогрессию чужеродного генетического материала в природные популяции или снизить до минимума связанные с инкорпорацией чужеродных генов последствия, необходимо либо предупредить перенос генетического материала от селекционных форм в природные популяции, либо блокировать действие генов при их попадании к диким родственным видам.

В первом случае могут помочь описанные выше методы по предотвращению распространения пыльцы и семян. В случае животных аквакультуры предлагается вариант создания трансгенных триплоидных, а потому стерильных, как правило, женских особей. К сожалению, при создании таких триплоидных популяций остается небольшая вероятность утечки трансгенов за счет редких гетероплоидных (мозаичных) особей, способных скрещиваться с дикими сородичами [Standish et al., 2003; Sutterlin et al., 2003]. Однако пониженная жизнеспособность гибридного потомства от скрещивания с дикими рыбами как традиционно селекционированных, так и трансгенных рыб [Aleström, 1996; Muir, Howard, 1999] позволяет рассматривать такую утечку генов как не опасную.

Для предупреждения интрогрессии в случае, когда невозможно избежать утечки генов с пыльцой (половыми клетками животных) или семенами, предлагаются генетические методы, предотвращающие передачу трансгена от ГИО к организму-реципиенту или к его потомству. Все предлагаемые методы основаны на использовании ассоциации трансгенов с группами сцепления генов и могут применяться как по отдельности, так и в комплексе.

В настоящее время встраивание трансгена чаще происходит случайно. Однако развитие молекулярно-биологических методов позволяет в обозримом будущем надеяться на более точное, планируемое встраивание гена в определенные участки генома. Идеальными мишенями для трансформации представляются группы сцепления генов, редко передающиеся при рекомбинации. Такие группы сцепления выявлены в геномах подсолнечника, кукурузы, хлопка [Stewart et al., 2003]. Очевидно, редко вступающие в рекомбинацию участки генома могут быть выявлены у большинства, если не у всех хозяйственно важных культур. При трансгенозе аллополиплоидных видов (в том числе рапса, пшеницы, риса, хлопка и др.) рекомендуется перенос трансгена в геном, не встречающийся у родственных видов, интрогрессия признака которым нежелательна. В случае рапса, например, более безопасна инкорпорация трансгенов в геном *C*, свойственный виду *B. oleracea*, чем в геном *A*, полученный рапсом от *B. тара* (см. рис. 6.4).

Второй подход, нацеленный на блокирование нежелательного действия трансгена, может осуществляться при целенаправленной инкорпорации гена в конкретный участок, а также путем создания специальных конструкций, в которых трансген, предоставляющий виду дополнительные адаптивные преимущества, будет сцеплен (в идеальном случае фланкирован) с генами, отвечающими за доместикационные при-

знаки, такие, например, как понижение периода покоя семян или уменьшение их рассеивания. Вероятность разрыва сцепления трансгена с одним доместикационным геном при кроссинговере сопоставима с вероятностью инактивации гена в результате мутации (порядка 10^{-5} – 10^{-7}). При фланкировании трансгена двумя доместизирующими генами разрыв становится совсем маловероятным (примерно 10^{-12}) [Gressel, 1999]. Поэтому с уверенностью можно говорить, что наследование доместикационных генов и встраиваемого гена будет проходить одновременно и действие доместикационных генов будет «гасить» негативные последствия в случае миграции трансгена к другим видам растений.

6.7.2. Горизонтальный перенос генов. В природе существуют три способа горизонтального переноса генов: конъюгация, трансдукция и трансформация. Первые два способа характерны для микроорганизмов и могут быть как средством переноса генетического материала между бактериями одного и того же или близких видов, так и средством переноса генетического материала между бактериями, принадлежащими к разным систематическим группам. Трансформация может быть средством переноса генетической информации как между бактериями, так и между систематически весьма отдаленными группами организмов. Например, между бактериями и растениями происходит процесс естественной передачи бактериальной ДНК посредством *Ti*-плазмиды от почвенных бактерий из рода *Agrobacterium* двудольным растениям с последующим встраиванием ДНК плазмиды в геном растений. Обратный процесс передачи генетического материала от растений к бактериям в природе до сих пор не зафиксирован, хотя сделан ряд успешных попыток осуществления этого процесса в лабораторных условиях. Косвенным подтверждением возможности переноса некоторых генов от эукариотических к прокариотическим организмам, в частности от растений к бактериям, могут служить данные, полученные при сопоставлении последовательностей нуклеиновых кислот и белков некоторых бактерий и растений [Bertolla, Simonet, 1999].

Все три процесса обмена генетической информацией у микроорганизмов давно и хорошо известны, однако до недавнего времени они изучались в основном только в искусственно созданных условиях лабораторного эксперимента (специально подобранные питательные среды для выращивания бактерий, оптимальные для жизнедеятельности бактерий условия культивирования). Какова вероятность миграции встроенного генетического материала от трансгенной бактерии к диким популяциям бактерий или от трансгенного растения к почвенным бактериям? Последняя разновидность горизонтального переноса вызывает наибольшие опасения из-за распространенности растительных ГИО и их тесного контакта с почвенными микроорганизмами, что повышает опасность передачи их маркерных генов устойчивости к антибиотикам, нежелательных с точки зрения биобезопасности для здоровья человека и домашних животных, почвенным микроорганизмам.

При конъюгации две клетки, обменивающиеся генетической информацией, находятся в непосредственном контакте (через пили у грамотрицательных бактерий и ДНК-транспортные поры у грамположительных бактерий). При трансдукции чужеродная ДНК защищена белковой оболочкой бактериофага. Таким образом, как при конъюгации, так и при трансдукции переносимая ДНК относительно защищена от окружающей среды, что повышает вероятность осуществления этих двух процессов в природе.

Действительно, экспериментально подтверждена передача плазмид в нестерильной почве от *Bradyrhizobium japonica* к нескольким штаммам бактерий разных видов рода *Bradyrhizobium*. Эксперименты также выявили определенную специфичность в пе-

реносе плазмид в отношении определенных штаммов бактерий, влияние на частоту конъюгации температуры, при которой протекал процесс, механического и химического состава почвы [Hall, 1995]. Таким образом, показана возможность миграции генов посредством конъюгации в почве, несмотря на существующие физиологические барьеры между бактериями, а также воздействие средовых факторов.

По мнению R.P. Novick et al. (1986, цит. по [Hall, 1995]), основным механизмом переноса хромосомной и плазмидной ДНК между бактериями в природе является трансдукция. В лабораторных условиях этот процесс отмечен у большого числа свободноживущих в природе бактерий, в том числе и хорошо изученной бактерии *E. coli*. Однако перенос ДНК к этой бактерии – явление крайне редкое. Были подтверждены случаи переноса ДНК между грамотрицательными бактериями и в почве. В группе бактерий *Rhizobia*, в настоящее время представляющих наибольший интерес для трансгеноза с целью последующего выпуска в окружающую среду, было показано наличие общей трансдукции некоторыми фагами бактерий *Rhizobium meliloti*, *R. leguminosarum* и *Bradyrhizobium japonicum*, а также специфическая трансдукция определенными фагами *R. meliloti*. Во всех описанных случаях трансдукция происходила при участии умеренных лизирующих фагов. Таким образом, можно говорить о достаточно большой вероятности переноса генетической информации между бактериями группы *Rhizobia* в природе [Hall, 1995].

В отличие от первых двух способов обмена генетической информацией трансформация осуществляется посредством свободной, не защищенной от воздействия средовых факторов ДНК. Поэтому природная трансформация между бактериями в почве маловероятна. Действительно, до сих пор не зафиксировано случаев трансформации между бактериями группы *Rhizobia* в почве, хотя экспериментально (в почвенном экстракте) была показана возможность трансформации *Pseudomonas stutzeri* и *Acinetobacter calcoaceticus*. Способными к трансформации считаются более 40 видов бактерий, характерных для различных экосистем [Hall, 1995; Nielsen et al., 1998].

Очевидно, что обмен фрагментами ДНК более вероятен между штаммами внутри одного вида, чем между разными видами или более отдаленными систематическими группами. Эффективность обмена между отдаленными неродственными микроорганизмами в экосистеме почвы определяется возможностью интеграции чужеродной ДНК в новом геноме (ей может препятствовать инсерция, рестрикция или модификация чужеродной ДНК в клетках нового хозяина), ее представительством у нового хозяина и возможностью последующей экспрессии. На вероятность обмена ДНК между бактериями могут повлиять: количество бактерий в объеме почвы (плотность размещения клеток); физиологическое состояние бактерий (компетентность к восприятию ДНК); количество фагов, характерных для бактерий, живущих на этом участке, и плотность фагов; концентрация жизнеспособной (не деградированной) ДНК в почве; активность нуклеаз, находящихся в почве; температура, питательный и механический состав почвы.

Несмотря на высокую вероятность переноса трансгенов от ГИМ к диким сородицам, последствия такого переноса не должны оказывать существенного негативного влияния на природные популяции бактерий и других организмов. С одной стороны, процессы конъюгации, трансдукции и трансформации очень важны для эволюции бактерий, поскольку способствуют увеличению их экологической стабильности. Это в свою очередь значительно повышает адаптивность бактерий в изменяющихся природных условиях и позволяет им колонизировать разнообразные экосистемы. С другой стороны, как было показано выше, небольшое разнообразие трансгенных микроорганизмов, которые предназначены для выпуска в окружающую среду, и специфика гене-

тических модификаций, не представляющих серьезной экологической опасности и не дающих микроорганизмам существенных адаптивных преимуществ, позволяют рассматривать перенос используемого в настоящее время трансгенного материала между бактериями как источник приемлемого и регулируемого риска.

Трансформация может быть не только механизмом переноса генетического материала между бактериями. Она считается наиболее вероятным механизмом передачи ДНК растений, в частности трансгенных, к бактериям почвы [Smalla et al., 2000]. Предполагается, что горизонтальный перенос может происходить посредством восприятия компетентными бактериями фрагментов ДНК, высвобожденной из остатков растений, проникающих в почву. Попадая в бактериальную клетку, одноцепочечная ДНК может быть интегрирована в бактериальный геном в результате рекомбинации гомологичных участков или может формировать автономно реплицирующиеся элементы (плазмиды).

Теоретическая возможность трансформации бактерий тотальной ДНК растений и ДНК, содержащейся в гомогенате растений, была показана экспериментально. В частности, осуществлена трансформация почвенной бактерии *Acinetobacter sp* BD413, содержащей ген *nptIII* с делецией 10 п. н. (нарушение функции гена), посредством ДНК, содержащей функционально активный ген устойчивости к антибиотику канамицину *nptIII* из гомогената картофеля, табака, свеклы, томата и рапса масличного. Такая трансформация приводила к полному восстановлению функции гена у бактериальных клеток, что свидетельствует о возможности передачи маркерных признаков устойчивости к антибиотикам от трансгенных растений к почвенным бактериям и доказывает возможность рекомбинации комплементарных участков ДНК бактерий и минерализованных растений. Однако частота такой рекомбинации была очень низкой [Nielsen et al., 1997; Smalla et al., 2000].

Первым условием успешной трансформации бактериальных клеток ДНК растений является наличие в почве долгоживущей свободной ДНК. Новые данные изменили ранее сложившееся мнение о быстрой деградации в почве высокомолекулярной ДНК. Неоднократно показано, что ДНК может стабилизироваться, адсорбируясь на частицах глины, полевого шпата, кварца, гуминовых кислот, и таким образом сохраняться в течение нескольких недель, а то и месяцев [Gebhard, Smalla, 1999]. Трансформирующую способность она может сохранять по меньшей мере в течение нескольких дней [Nielsen et al., 2000]. Продлению жизни ДНК в почве способствует медленное разрушение целлюлозных клеточных стенок растений.

Несмотря на достаточно продолжительную жизнь ДНК в почве, вероятность трансформации в природных условиях оценивается большинством авторов как очень низкая. Ее удается фиксировать только в стерильной почве. В нестерильной почве трансформация бактерий свободной растительной ДНК не обнаружена. Компетентность бактерий к трансформации не является конститутивным (постоянно присутствующим) признаком, и ее появление лимитировано многими факторами, как эндогенными (физиологический статус бактерий), так и средовыми (температура, питательный и механический состав почвы и т.д.). Конкуренция с другими организмами почвы, очевидно, негативным образом сказывается на компетенции бактериальных клеток к трансформации. Предполагается, что вероятность трансформации в нестерильной почве составляет не более 10^{-10} – 10^{-11} [Nielsen et al., 2000]. По мнению других авторов, частота природной трансформации бактериальных клеток растительной ДНК еще ниже – 10^{-17} [Schluter et al., 1995]. Низкая частота трансформации делает возможность горизонтального переноса генов от растений к микроорганизмам почвы, в частности генов устойчивости к антибиотикам, весьма маловероятной.

Дополнительным барьером горизонтального переноса генов от растений к бактериям служит несовпадение регуляторных последовательностей, осуществляющих экспрессию трансформированного генетического материала, прокариотических и эукариотических организмов. Как правило, промоторные последовательности, регулирующие активность трансгенов в растениях, у прокариот обладают очень низкой активностью. Единственным исключением является промотор 35S, выделенный из вируса мозаики цветной капусты (CaMV35S). Увеличение числа экспрессирующихся у бактерий последовательностей может быть вызвано применением новых методов трансгеноза. Например, при обстреле растений из генной пушки возможно встраивание в геном растений целых плазмид, ДНК которых имеет больше шансов экспрессироваться при трансформации в бактериальную клетку. То же касается и хлоропластных геномов, трансгеноз которых в настоящее время предлагается как альтернатива ядерному в качестве средства, предотвращающего возможность утечки трансгенов с пылью.

Несмотря на крайне низкую вероятность горизонтального переноса трансгенов от растений к бактериям, безопасность тех или иных модификаций для окружающей среды в связи со сменой их носителя должна обязательно рассматриваться согласно принципу принятия мер предосторожности. Вероятность и серьезность этих последствий, как и при вертикальном переносе генов, определяется двумя факторами: возникновением у трансформантов дополнительных экологических преимуществ, дающих им возможность существенного популяционного роста и колонизации новых мест обитания, и прессингом на популяции других организмов, связанным с экспрессией трансформированного гена (например, с появлением у микроорганизмов токсичности). К сожалению, ограниченность имеющихся научных сведений об экологии микроорганизмов, в частности почвенных микроорганизмов, не дает нам возможности достаточно точно оценить факторы окружающей среды, которые могут повлиять на способность трансформантов воспринимать новые гены, и уверенно предсказать поведение микроорганизмов, связанное с трансформацией генов от неродственных организмов.

6.8. Сценка вероятности вертикальной и горизонтальной миграции генов и последствий такой миграции

При оценке риска, связанного с миграцией трансгенов, следует учитывать, что сам по себе процесс миграции гена не несет каких-либо негативных последствий для окружающей среды. Такие последствия могут быть связаны с реализацией функции трансгена в популяции реципиентных организмов и приобретением этими организмами новых адаптивных возможностей. Поэтому оценка последствий интрогрессии гена состоит из двух этапов (рис. 6.5). На первом этапе проводят анализ вероятности передачи трансгена новому реципиенту. На этом этапе определяют круг возможных реципиентов трансгена в агросреде и природной среде и вероятность миграции трансгена к этим реципиентам. На втором этапе дают оценку вероятности стабильной интрогрессии трансгена в популяцию реципиентов и выявляют связанные с этой интрогрессией изменения характеристик популяции: ее выживаемости, инвазивной возможности, вероятности прессинга на другие организмы.

Первый этап основывается на оценке имеющейся информации о биологическом виде, подвергнутом трансгенозу, и среде его предполагаемого выпуска. При сборе информации значительную помощь могут оказать не только сведения о более ранних случаях высвобождения ГИО, принадлежащих этому же виду, но и данные по гибридизации, полученные при использовании методов традиционной селекции, данные по изучению происхождения вида и его родственных связей с другими биологическими

видами. Выводы делаются на основе имеющихся сведений из литературы, данных мониторинга за высвобождением ГИО и, при необходимости, данных дополнительных экспериментов по изучению рассеивания генетического материала ГИО и возможности его гибридизации с другими видами.

Для оценки возможности миграции трансгена и следствий этой миграции наиболее важны сведения о таксономической принадлежности ГИО и биологических особенностях исходного для ГИО организма, связанные с его размножением, и о наличии в районе высвобождения партнеров, которым возможна передача трансгена. При оценке вероятности миграции генов от растительных ГИО учитывают способ размножения растений, трансгеноз которых уже осуществлен или предполагается осуществить в будущем (рис. 6.5). Кроме того, обращают внимание на специфические факторы, влияющие на размножение (например, необходимость в насекомых-опылителях или каких-то особых погодных условиях), и время генерации и рассеивания генетического материала (пыльцы и семян).

Чтобы оценить вероятность передачи генетической информации от ГИО другим организмам, следует учитывать степень родства между донором и реципиентом или родительскими организмами, потенциальную вероятность передачи и обмена генетической информацией исходных для ГИО микроорганизмов с другими организмами, а также данные о генетической стабильности этих организмов и разрушающих ее факторах.

Информация, относящаяся к характеру генно-инженерной модификации у растений и биологическим особенностям вектора у микроорганизмов (включая природу врожденных векторов), позволит оценить вероятность интеграции чужеродного материала при его вертикальном или горизонтальном переносе в геном реципиента, а также вероятность и характер его экспрессии в новом генетическом окружении.

При изучении информации, относящейся к биологическим особенностям ГИО, рассматриваются такие наиболее важные вопросы, как история прежних генно-инженерных модификаций ГИО, описание новых генетических признаков или фенотипических характеристик, имеющих отношение к размножению, которые стали проявляться или перестали проявляться у ГИО по сравнению с реципиентным организмом, генетическая стабильность ГИО. Для ГИМ важна также информация о стабильности инкорпорации привнесенной ДНК в геном реципиентного организма, о локализации вставки и характеристика сайта модификации реципиентного генома. Кроме того, на последующий перенос ДНК от ГИО другим организмам могут оказать влияние методы, использованные при создании и переносе трансгенной конструкции (например, трансформация путем обстрела трансформируемого растения металлическими микрочастицами с нанесенными векторными плазидами), и особенности встроеного фрагмента ДНК, включая регуляторные и другие элементы, влияющие на функционирование трансгенов.

При оценке информации о потенциальной принимающей среде и взаимодействии ГИО с окружающей средой наиболее важны вопросы, касающиеся возможности гибридизации растительных и животных ГИО с другими организмами и сохранения и последующего размножения гибридного потомства. Это биологические особенности самого ГИО, которые могут влиять на выживаемость, размножение и распространение в потенциальной принимающей среде, известные и прогнозируемые условия потенциальной принимающей среды, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение, рассеивание ГИО, и наличие в потенциальной принимающей среде диких или культурных родственных видов, способных к гибридизации с ГИО. Учитывается вероятность переноса трансгенов от ГИО к таким организмам и конкурентное преимущество

ГИО и его гибридов по сравнению с интактным реципиентным организмом при размножении, рассеивании и выживании. Для ГИМ важны данные о способности к переносу генетической информации. Оценивают как вероятность переноса трансгенов от ГИО к организмам, населяющим потенциальную принимающую среду обитания, так и вероятность переноса трансгенов от этих организмов к ГИО.

1 Этап анализа:	
вероятность миграции трансгена (могут ли образовываться жизнеспособные фертильные гибриды от скрещивания трансгенной культуры с ее диким или сорным сородичем)*.	
<i>А) Является ли основным типом размножения половой тип?</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход к вопросу В</i>	Нет (основной тип размножения – вегетативный) <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>В) Является ли трансгенная культура перекрестноопыляемой или частично перекрестноопыляемой</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход к вопросу С</i>	Нет (самоопылитель или процент перекрестного опыления низкий) <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>С) Имеет ли ГИО родственные виды в регионе высвобождения (в агросреде и природной среде)</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход к вопросу D</i>	Нет <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>Д) Может ли скрещиваться с родственным видом в принципе и ведет ли скрещивание к образованию фертильного потомства (возможна ли миграция генов между популяциями трансгенной культуры и родственного вида)</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переходим к вопросу E</i>	Нет (гибриды не образуются или они стерильны). <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>Е) Является ли время цветения культурного (ГИО) и родственных видов совпадающим или близким по времени (с учетом срока жизнеспособности пыльцы и количества образующейся фертильной пыльцы)</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход к вопросу F</i>	Нет (сроки цветения не совпадают). <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>F) Используют ли культурный вид (ГИО) и родственный вид одинаковую систему опыления (ветер, насекомые)</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход к вопросу G</i>	Нет. <i>Риск низкий, конец анализа</i>
<i>F) Могут ли культурный вид (ГИО) и его родственные виды перекрестно опыляться в природе и формировать семена, способные к последующему размножению в природных (полевых) условиях</i>	
Да или информация недостаточна , <i>переход ко 2 этапу анализа</i>	Нет. <i>Риск низкий, конец анализа</i>
2 Этап анализа:	
Изменение в экологическом поведении популяции диких видов в связи с интрогрессией трансгена от ГИО**.	
<i>А) Оценка изменений в экологическом поведении диких видов, родственных ГИО, связанных с передачей им трансгенного признака</i>	
Да <i>Риск высок</i> <i>Пересмотр возможности коммерциализации</i> <i>или переход к В</i>	Нет <i>Риск низкий</i> <i>Конец анализа</i>
<i>В) Возрастает ли инвазивная (как сорняка) опасность дикого вида в связи с интрогрессией трансгенного признака</i>	
Да <i>Риск высок</i> <i>Пересмотр возможности коммерциализации</i>	Нет <i>Риск низкий</i> <i>Конец анализа</i>

Рис. 6.5. Экспериментальная оценка вероятности миграции трансгена и изменения характеристик природных популяций в связи с его интрогрессией (модифицированная схема J. Rissler, M. Mellon [1993])

* Источник информации: уже имеющиеся сведения о трансгенном организме (базы данных) и результаты специальных экспериментов по выявлению миграции генов.

** Источник информации: данные эксперимента по замещению популяции и сохранению банка семян гибридов (беккроссных поколений) от скрещивания ГИО и дикого родственного вида.

На решение эксперта о возможности высвобождения и коммерческого использования ГИО может повлиять информация о высвобождении, мониторинге, контроле, очистке территории от остатков ГИО. Даже при наличии природных факторов, способствующих миграции трансгенов, грамотные действия по контролю за рассеиванием генетического материала и очистке территорий от остатков ГИО и их нежелательного потомства способны полностью нейтрализовать влияние нежелательных природных факторов.

Учитывают предполагаемое количество высвобождаемых ГИО, расстояние от участка до посадок растений диких и культурных родственных видов, способных к гибридизации с ГИО (изоляцию животных ГИО от контактов с родственными видами), меры, которые намечаются использовать для предотвращения рассеивания генетического материала ГИО. Для ГИМ также важна информация об обработке участка после высвобождения и методах очистки почвы от ГИМ после окончания их использования.

Важная роль уделяется вопросам, связанным с мониторингом возможной миграции трансгена. В частности, рассматривается наличие методов выявления переноса трансгенов другим организмам и возможности идентификации ГИО и их потомства в популяциях-реципиентах.

При экспериментальном изучении рассеивания генетического материала и интрогрессии гена в природные популяции большую помощь окажут современные молекулярно-биологические методы. Молекулярные маркеры могут дать точную информацию о наличии чужеродного генетического материала у организма-реципиента, даже если он не ведет к изменению фенотипических или биохимических показателей у нового носителя и тем самым не проявляет себя. Кроме ставших уже классическими методов фингерпринтинга, в настоящее время все более широкое распространение получает метод включения в конструкцию для трансгеноза специальных репортерных генов, продукт которых позволяет проследить судьбу трансгена в онтогенезе ГИО и зафиксировать наличие трансгена в его потомстве. Один из таких генов, выделенный из медузы *Aequorea Victoria*, кодирует белок, получивший название GFP (Green fluorescent protein – белок зеленого флюоресцентного свечения). Этот белок способен светиться в живых объектах в ультрафиолетовом (360– 400 нм) или синем (440–480 нм) свете, что дает возможность фиксировать его наличие в живых организмах в режиме реального времени. Использование GFP-метода позволяет при наличии ручного ультрафиолетового излучателя выявлять трансгенные растения в популяциях живых растений в полевых условиях по зеленой окраске (нетрансгенные растения имеют в ультрафиолетовом свете красную окраску за счет специфической в этом свете красной автофлюоресценции хлорофилла) [Stewart, 1999; Halfhill et al., 2001]. GFP-ген, помещенный под специфический промотор, активизирующий его действие в пыльце, например промотор LAT59 из томата, позволяет успешно изучать и контролировать рассеивание в окружающей среде пыльцы трансгенных растений, что важно не только при изучении миграции трансгенов, но и при оценке воздействия трансгена через пыльцу на организмы-немишени [Hudson et al., 2001].

На втором этапе изучения миграции трансгена, т.е. при выявлении стабильной интрогрессии трансгена в популяцию реципиентного вида, также используют фенотипические, биохимические и молекулярные маркеры. Изменение характеристик природной популяции, ее выживаемость и инвазивные возможности в связи с интрогрессией в нее трансгенного признака оценивают при помощи описанных ранее экспериментальных методов (оценка замещения популяции, сохранность банка семян), наблюдения за проявлениями агрессивности реципиентов в отношении других видов растений (см. рис. 6.2 и 6.5).

6.9. Воздействие продуктов трансгенов на организмы, не являющиеся мишенью их запланированного действия

Одним из наиболее значимых неблагоприятных эффектов ГИО считается отрицательное влияние продуктов трансгена на организмы, не являющиеся мишенью трансгенного признака. Организмами-немишенями называют все организмы, на которые непосредственно не нацелено воздействие трансгенного организма, связанное с генно-инженерной модификацией. Возникновение эффекта в первую очередь может быть вызвано использованием растений, обладающих пестицидными свойствами в результате генно-инженерных модификаций, вызывающих у них синтез, например, Bt-протеинов. В настоящее время ведутся работы по расширению спектра эндотоксинов, которые можно привнести в сельскохозяйственные растения с помощью генно-инженерных модификаций, однако Bt-протеины по ряду причин пока что остаются вне конкуренции [Shuler et al., 1998; Stewart, 1999; Cohen et al., 2000].

С точки зрения биобезопасности наиболее важной из этих причин является высокая токсичность Bt-протеинов и специфичность (целенаправленность) их действия в отношении определенных групп насекомых-вредителей. Эндотоксин, кодируемый конкретным геном *cry*, имеет поражающее действие на конкретную систематическую группу насекомых, например на представителей только чешуекрылых (*Lepidoptera*) или только жесткокрылых (*Coleoptera*) (табл. 6.3). При этом Bt-протеины абсолютно безвредны для человека и теплокровных животных.

Несмотря на высокую специфичность действия Bt-протеинов, невозможно полностью исключить вероятность их неблагоприятного воздействия на непаразитарных представителей из тех же семейств, что и насекомые-мишени. Например, к семейству *Lepidoptera* наряду с серьезными вредителями сельскохозяйственных культур, такими как капустная моль (*Plutella xylostella*), кукурузный мотылек (*Ostrinia nubilalis*), яблонная плодожорка (*Cydia pomonella*), коробочный червь хлопка (*Helicoverpa armigera*) и другие, принадлежат насекомые, не представляющие угрозы сельскохозяйственным культурам (большинство бабочек), а также насекомые, полезные в качестве опылителей или напрямую используемые человеком (шелковичные черви *Antheraea perngicuerin* [*Antheraea pernyi*] и *Bombyx mori*). Такие нейтральные или полезные насекомые не всегда потребляют Bt-протеин с кормом, однако могут подвергнуться его действию при попадании эндотоксина на их кормовую базу.

Известно побочное нежелательное действие Bt-токсинов на организмы-немишени в связи с использованием распыляемых бактериальных препаратов на основе *Bacillus thuringiensis*. Возможно также «распыление» Bt и других токсинов трансгенного происхождения на кормовую базу нейтральных и полезных насекомых и других беспозвоночных животных. Во-первых, в случае, если ген токсичности экспрессируется в пыльце, то токсин может распространяться с пыльцой сельскохозяйственных генно-инженерных растений. Во-вторых, возможно попадание Bt-протеинов в почву с остатками трансгенных растений или выделениями их корней. В данном случае могут пострадать беспозвоночные животные почвы и ризосферы растений, обеспечивающие минерализацию почвы и ее плодородие. Например, возможно негативное действие Bt-токсинов на земляных червей и ногохвосток. Несмотря на довольно быстрое разложение Bt-протеинов в почве (период полураспада от 2 до 10 дней в зависимости от почвенных условий [Palm et al., 1993]), они, подобно ДНК, могут довольно долго сохранять активность в связанном состоянии, образуя конгломерат с глиной или гуминовыми кислотами. Так, в почвах, содержащих каолин, Bt-протеины сохраняют уровень токсичности, достаточный для уничтожения рогатой гусеницы табака (*Manduca sexta*), в тече-

ние шести месяцев. Этот период увеличивается при повышении кислотности почв [Tapp, Stotzky, 1998].

Таблица 6.3

Основные источники токсичности к насекомым-вредителям, используемые при трансгенезе сельскохозяйственных и древесных растений (по Schuler et al., 1998)

Источник токсичности	Насекомые-мишени	Трансформированные растения
Кристаллопротеины от <i>Bacillus thuringiensis</i>		
<i>Cry1Aa</i>	<i>Lepidoptera</i>	Брюква, клюква*, тополь
<i>Cry1Ab</i>	»	Ель белая, клевер белый, кукуруза, катофель, рис, табак, томат, тополь, хлопчатник, яблоня*
<i>Cry 1 Ac</i>	»	Арахис, брокколи, виноград*, грецкий орех, капуста белокочанная, рапс масличный, рис, соя, табак, томат*, хлопчатник, яблоня
<i>Cry1Ba</i>	»	Клевер белый
<i>Cry1Ca</i>	»	Арабидопсис, люцерна, табак
<i>Cry1H</i>	»	Кукуруза
<i>Cry1F</i>	»	»
<i>Cry2Aa</i>	»	Хлопчатник
<i>Cry3A</i>	<i>Coleoptera</i>	Баклажан, картофель, табак
<i>Cry6A</i>	»	Люцерна
<i>Cry9C</i>	<i>Lepidoptera</i>	Кукуруза
Vt (неспецифического действия)		Боярышник, ирга, груша, сахарный тростник
Ингибиторы протеиназ		
С-II (соевый ингибитор серино-протеиназы)	<i>Coleoptera, Lepidoptera</i>	Картофель, рапс масличный, табак, тополь
СМе (ингибитор трипсина из ячменя)	<i>Lepidoptera</i>	Табак
СМТI (ингибитор трипсина из кабачка)		»
СрII (вигновый ингибитор трипсина)	<i>Coleoptera, Lepidoptera</i>	Батат, земляника, картофель, подсолнечник*, рапс масличный, рис, салат-латук, табак, томат, яблоня
14К-СI (бифункциональный ингибитор серино-протеиназы и α-амилазы из пшеницы)		Табак
МП-2 (ингибитор серино-протеиназы из горчицы)	<i>Lepidoptera</i>	Арабидопсис, табак
ОС-1 (рисовый ингибитор цистеино-протеиназы)	<i>Coleoptera, Homoptera</i>	Рапс масличный, табак, тополь
PI-IV (соевый ингибитор серино-протеиназы)	<i>Lepidoptera</i>	Картофель, табак
Pot PI-I (картофельный ингибитор протеиназы I)	<i>Lepidoptera, Orthoptera</i>	Петунья, табак
Pot PT-II (картофельный ингибитор протеиназы II)	<i>Lepidoptera, Orthoptera</i>	Береза, рис, салат-латук, табак
Ингибитор протеиназ I (неспецифический)	<i>Lepidoptera</i>	Рапс масличный
КТiз, SKTI (соевый ингибитор трипсина Кунитца)	»	Картофель, табак
Ингибитор протеиназы томата I	»	Люцерна, паслен, табак, томат
Ингибитор протеиназы томата II	»	Табак, томат
Другие гены устойчивости к насекомым растительного происхождения, встроенные в сельскохозяйственные культуры		
Ингибиторы α-амилазы		
αAI-Pv (ингибитор α-амилазы фасоли)	<i>Coleoptera</i>	Горох, табак
WMAI-1 (ингибитор α-амилазы зерновых)	<i>Lepidoptera</i>	Табак
14К-СI (бифункциональный ингибитор α-амилазы и протеиназ серина)		»

Источник токсичности	Насекомые-мишени	Трансформированные растения
Лектины GNA (лектин <i>Galantus nevalis</i>)	<i>Homoptera</i> , <i>Lepidoptera</i>	Батат, виноград, картофель, подсолнечник*, рапс масличный, рис, сахарный тростник, табак, томат
P-lec (лектин гороха)	То же	Картофель, табак
WGA (агглютинин зародышей пшеницы)	<i>Coleoptera</i> , <i>Lepidoptera</i>	Кукуруза
Лектин риса	То же	»
Другие VCH (хитиназа бобов)	<i>Homoptera</i> , <i>Lepidoptera</i>	Картофель
Анионактивная пероксидаза табака	<i>Coleoptera</i> , <i>Lepidoptera</i>	Табак, томат
Хитиназа томатов	<i>Homoptera</i>	Рапс масличный
TDC (триптофан декарбоксилаза, ген выделен из <i>Catharanthus roseus</i>)	»	Табак
Гены устойчивости к насекомым животного происхождения, экспрессирующиеся у сельскохозяйственных растений		
Ингибиторы протеиназ Антихимотрипсин, ген выделен из <i>Manduca sexta</i>	<i>Homoptera</i>	Табак, хлопчатник
Антиэластаза, ген выделен из <i>Manduca sexta</i>	»	Люцерна, табак, хлопчатник
α_1 AT (А-антитрипсин)	<i>Lepidoptera</i>	Картофель
Антитрипсин, ген выделен из <i>Manduca sexta</i>	<i>Homoptera</i>	Табак, хлопчатник
BPTI (бычий панкреатический ингибитор трипсина)	<i>Lepidoptera</i> , <i>Orthoptera</i>	Картофель, клевер белый, петуния, салат-латук, табак
SI (ингибитор из селезенки)	<i>Lepidoptera</i>	Картофель
Хитиназы Хитиназа, ген выделен из <i>Manduca sexta</i>	»	Табак

* Трансгенные растения занесены в базу данных выдачи разрешений на генно-инженерные организмы USDA/APHIS (<http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/>).

Кроме прямого ненаправленного действия токсина, связанного с его непосредственным потреблением полезными и нейтральными животными, возможно опосредованное нежелательное действие токсина через взаимоотношения хищничества или паразитарности. Опасения, касающиеся возможности такого негативного воздействия токсинов трансгенных растений на популяции полезных насекомых, питающихся насекомыми – мишенями трансгенного признака и позволяющих контролировать численность вредителей биологическими методами, например на популяции златоглазки (*Chrysoperla carnea*) и божьей коровки (*Hippodamia convergent*), неоднократно высказывались научной общественностью [Hilbeck et al., 1998; Sharma, Ortiz, 2000; Levidow, 2003 и др.].

Беспокойства по поводу нецелевого ущерба, наносимого Bt-токсинами, основаны, как правило, на данных лабораторных тестов, далеких от реальных условий существования и поведения насекомых. Например, хищным насекомым (*Chrysoperla carnea*) не предоставляют возможности выбора жертвы и тем самым искусственно вынуждают их питаться вредителями, которыми в природе они не только не питаются, но и редко сталкиваются с ними, как это случилось при искусственном скармливании личинок кукурузного мотылька златоглазке [Hilbeck et al., 1998]. Или непреднамеренно искусственно завышают концентрацию токсина, которую реально может потребить насекомое, путем нанесения избыточного количества неочищенной от растительных остатков пыльцы на листья, скармливаемые растительноядным насекомым, как это случилось в опыте, проведенном J.E. Losey с соавторами (1999) по скармливанию гусеницам бабоч-

ки-данаиды (*Danaus plexippus*) листьев ваточника с искусственно нанесенной пылью трансгенной кукурузы Bt11. Несмотря на относительность результатов и слабое соотношение моделируемых в лабораторном тесте условий с реальными событиями, происходящими в природе, такой тест является основой для выявления наличия фактора риска, связанного с токсичностью и другими нецелевыми воздействиями продукта трансгена, или полного исключения вероятности его возникновения.

Уменьшению нецелевого пестицидного действия трансгенных растений может способствовать использование специальных промоторов, позволяющих генам токсичности экспрессироваться только в частях растений, повреждаемых вредителями, и не экспрессироваться в пыльце, а также встраивание генов токсинов, которые быстро разрушаются в почве.

В последнее время в связи с развитием направления генной инженерии, связанного с приданием растениям функций биореакторов (синтез растениями вакцин, алкалоидов, витаминов, гормонов и других физиологически активных и фармацевтических веществ), спектр организмов-немишеней может расшириться за счет теплокровных животных, случайно потребивших такие растения. Опасность нецелевого действия трансгена возрастает, если он попадает в результате миграции в популяции свободноживущих растений за пределы охраняемых от нежелательного посещения животными территорий или при переопылении других сортов не биофармацевтического назначения этой же сельскохозяйственной культуры, что превращает в организмы-немишени человека и сельскохозяйственных животных. Неслучайно к посадкам подобных растений предъявляются особые требования по изоляции и предотвращению возможности переопыления с посадками растений пищевого или кормового назначения. Например, такая перекрестноопыляющаяся культура, как кукуруза, чаще других используемая для производства биофармацевтических средств в США, согласно требованиям департамента США по вопросам сельского хозяйства, должна быть изолирована от посадок пищевой кукурузы расстоянием не менее 400 метров [информация BINAS. biotech-info.net].

Еще одно нецелевое воздействие на организмы-немишени может быть связано с использованием генно-инженерных бактерий ризосферы растений (бактерии группы *Rhizobia*), а также трансгенных микориз, работы по созданию которых ведутся в настоящее время. Неблагоприятное воздействие на окружающую среду может быть следствием смены азотфиксирующими бактериями или полезными микоризами первоначального хозяина-носителя на нового симбионта. Такая смена хозяина может вызвать резкое усиление конкурентных возможностей нового носителя-симбионта, которое может негативно сказаться на сложившихся взаимоотношениях внутри биоценоза. Потеря симбионтной бактерии или микоризы в свою очередь может стать причиной угнетения организма – мишени действия трансгенных ГИМ.

К сожалению, исследования воздействий, производимых природными микоризами и природными или генно-инженерными *Rhizobia*, в большинстве своем касаются только конкретного растения-хозяина и не предусматривают изучения изменений в растительных сообществах и сообществах ризосферы растений при смене хозяина, поэтому научные данные по этому вопросу практически отсутствуют [Hall, 1995]. Можно предположить незначительность действия этого фактора в природных, особенно в лесных, сообществах, где такой нецелевой эффект может проявить себя скорее всего. Природные сообщества изначально разнообразны по своему видовому составу и весьма стабильны, что может послужить защитным фактором от неожиданного и быстрого изменения в почвенных и растительных сообществах. Однако интерес, который биотехнологи проявляют в настоящее время к трансгенному микориз, требует более внима-

тельного изучения проблем экологических взаимоотношений с участием эндо- и эктомикориз и бактерий ризосферы.

6. 10. Оценка вероятности возникновения прямого или опосредованного действия продуктов трансгена на организмы-немишени

С точки зрения выявления и оценки потенциальных последствий риск, связанный с нецелевым воздействием продукта трансгена, является, пожалуй, одним из наиболее сложных. С одной стороны, трудно учесть и выявить всех участников пищевой цепочки, которые могут подвергнуться действию токсина, включая все возможные взаимоотношения хищничества и паразитизма. С другой стороны, множество факторов биотического и абиотического свойства, которые практически невозможно воссоздать в лаборатории и даже в условиях ограниченного полевого эксперимента, могут повлиять на вероятность, интенсивность и специфику проявления токсического эффекта. При проявлении отдаленных эффектов, связанных с участием нескольких посредников между первоначальным действием токсина и конечной непредвиденной мишенью, может пройти несколько лет и поколений организмов, подверженных действию селективного фактора в той или иной степени. Поэтому окончательное суждение о нецелевом действии токсина и его последствиях может быть составлено только после длительного мониторинга за объектом наблюдений или рядом связанных между собой объектов в условиях широкомасштабного эксперимента в различных условиях окружающей среды, отражающих в максимально возможном объеме условия известных мест обитания организмов-немишеней.

Наиболее важная информация, необходимая для оценки нецелевого воздействия ГИО на организмы-немишени, касается описания мест естественного произрастания организма – реципиента трансгенного признака, его потенциально значимых взаимодействий с животными или другими организмами типичного для него биоценоза (биологические особенности реципиентного или родительского организма). Выявлению возможной токсичности и характера токсичного действия поможет информация о характере генно-инженерной модификации: название донорного организма – источника трансгена, описание регуляторных и других элементов, влияющих на функционирование трансгенов. При описании биологических особенностей ГИО надо учитывать активность и свойства протеина, кодируемого трансгеном, уровень экспрессии трансгена, части растения, в которых трансгены экспрессируются (например, только в зеленых частях растения или также в пыльце). При анализе информации о потенциальной принимающей среде и взаимодействии ГИО с окружающей средой наиболее важны сведения, касающиеся идентификации и описания организмов-мишеней и организмов-немишеней, которые могут быть подвержены влиянию ГИО, а также предполагаемого механизма и результата взаимодействия ГИО с организмами-мишенями. При планируемом использовании ГИО в качестве биореакторов при оценке сведений, касающихся условий высвобождения ГИО, следует уделить особое внимание мерам, предохраняющим территорию посадок ГИО от нежелательного посещения ее животными.

Стройная система оценки нецелевого действия факторов, вызванных действием трансгена, разработана в США Агентством по защите окружающей среды (US EPA). Она представлена трехступенчатой схемой (рис. 6.6). На первом этапе устанавливают наличие фактора риска, т.е. токсичности (происхождение токсина, характер его действия), и уровень токсичности, который может привести к возникновению неблагоприятных последствий (особенности экспрессии гена), а также выявляют круг предпола-

гаемых организмов-немишеней. Наличие токсических эффектов определяют на основании лабораторных тестов по скармливанию продукта трансгена, например определенного типа Bt-протеина, кодируемого встроенным геном, ряду организмов, которые могут оказаться в числе организмов-немишеней (более подробно методика оценки токсичности рассматривается в разделе 5.3). Следуя принципу принятия мер предосторожности, в лабораторном остром эксперименте, как правило, используют повышенные дозы предполагаемого токсина, употребляемого в виде очищенного вещества. Если обнаружен поражающий эффект очищенного токсина, проводят лабораторные и полевые тесты с применением посредника – медиатора действия токсина, например пыльцы, которая может быть его переносчиком, или зараженных токсином личинок либо яиц организма – мишени действия трансгенного признака. Определяют летальную дозу токсина (LD_{50}) и дозу, вызывающую ингибирование роста и развития организма (сублетальный эффект EC_{50}).

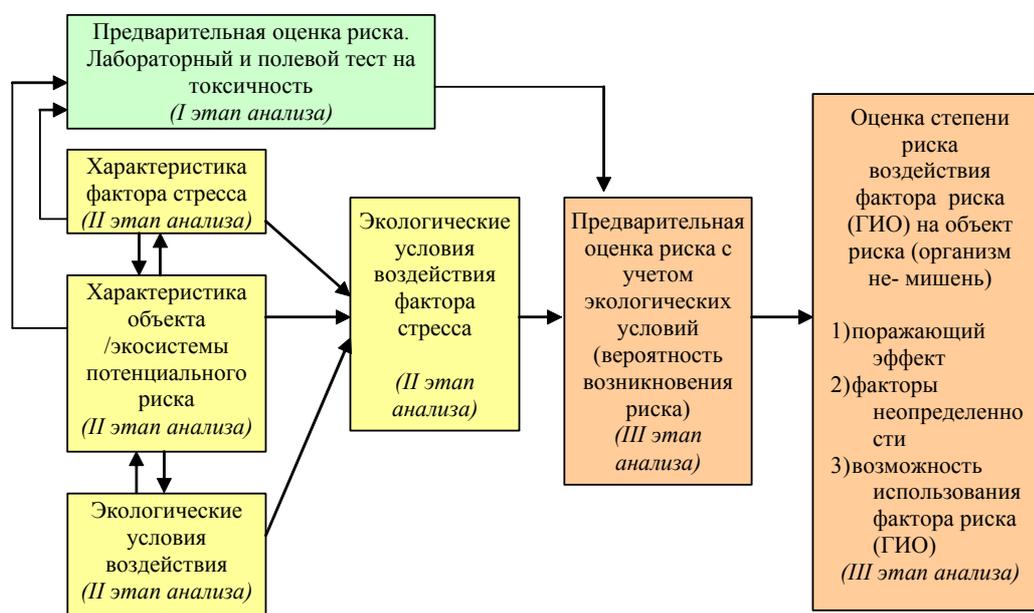


Рис. 6.6. Схема оценки экологического риска воздействия ГИО на организмы-немишени, используемая Агентством по охране окружающей среды США (US EPA) (по Sears et al, 2001)

Поскольку наибольшую сложность вызывает определение круга возможных организмов-немишеней, для оценки новых видов токсинов биологического происхождения US EPA предлагает использовать стандартные наборы организмов. Для Bt-токсинов это птицы (несмотря на отсутствие подтвержденных сведений о Bt-токсичности в отношении теплокровных животных); водные животные (рыбы, обитающие на рисовых плантациях, или способные контактировать с пыльцой и другими частями Bt-растений и Bt-микроорганизмами, водные беспозвоночные, например дафнии (*Daphnia*)), почвенные животные – черви и ногохвостки (*Collembola*) и полезные насекомые. Среди тестируемых полезных насекомых должны быть обязательно представлены насекомые-опылители на примере медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) (тест проводят на личинках и взрослых особях) и еще три вида насекомых, принадлежащих к различным отрядам, в которых встречаются виды-паразиты или хищники, питающиеся насекомыми-вредителями. Это представители следующих групп: паразитарные двукрылые и гименовые (например, *Brachymeria intermedia* – паразит домашней мухи), хищные жесткокрылые (обычно божьи коровки *Hippodamia convergent*, *Adalia bipunctata* или *Coccinella septempunctata*), полужесткокрылые, сетчатокрылые (обычно златоглазки), а также хищные клещи.

На втором этапе выявляют экологические факторы, в которых действует фактор риска и которые определяют вероятность возникновения неблагоприятных последствий, связанных с использованием ГИО. Эти факторы касаются биологии и экологии самих ГИО (характеристика фактора риска), организмов-немишеней (характеристика объекта потенциального риска) и среды их обитания (экологические факторы воздействия, такие как база питания организма-немишени и др.).

На третьем этапе проводят предварительную оценку степени риска с учетом всех экологических условий действия фактора риска и окончательную оценку возможности использования ГИО с учетом поражающего эффекта фактора риска, факторов неопределенности и условий предполагаемого регулирования риска.

Одним из примеров наиболее полного и последовательного изучения нецелевого влияния трансгенных сельскохозяйственных растений на организмы-немишени служит оценка влияния выращивания Bt-кукурузы на численность популяции бабочки Монарх (*Donaus plexippus* L., отряд *Lepidoptera*), проведенная группой ученых из США и Канады. Поводом для исследования явились разногласия в среде научной общественности вокруг истинных причин существенного сокращения численности этого вида насекомых, популяции которого населяют регионы так называемого «кукурузного пояса» США, а также южную часть Канады и Мексику [Niiler, 1999].

В статье американских энтомологов [Losey et al., 1999] сообщалось о выявленном токсическом эффекте пыльцы трансгенной кукурузы на рост и развитие гусениц упомянутой бабочки. Выводы делались на основании данных лабораторного теста на токсичность с использованием ручного напыления пыльцы трансгенной кукурузы клона Bt11 (ген *Cry1Ab*) на листья одного из видов ваточника, которым в природе питается бабочка. Это сообщение сразу же взяли на вооружение противники выращивания трансгенных культур. Однако в ответ на статью были высказаны обоснованные сомнения по поводу правильности постановки самого эксперимента, а также правильности выводов о негативном влиянии Bt-кукурузы на численность бабочки, сделанных при отсутствии каких-либо данных экологических исследований. Учитывая возникшие разногласия, US EPA выделило грант на изучение проблемы и создало группу из специалистов-биологов различного профиля для исследования всех аспектов проблемы согласно принципам и методам, применяемым этим учреждением. Схема эксперимента представлена на рисунке 6.7.

На первом этапе анализа применили методику острого эксперимента по скармливанию гусеницам бабочки искусственного питания с добавлением очищенного кристаллического токсина четырех типов (*Cry1Ab*, *Cry1Ac*, *Cry9C* и *Cry1F*); листьев ваточника (*Asclepias ssp.*), опыленных чистой пыльцой, ряда гибридов Bt-кукурузы (Bt11, 176 и Mon 810, вырабатывающих токсин *Cry1Ab*; Cbh351, вырабатывающего токсин *Cry9C*, и Dbt418, вырабатывающего токсин *Cry 1F*) и листьев ваточника, опыленных пыльцой, загрязненной остатками вегетативных тканей кукурузы. Учитывали летальный и сублетальный эффекты на разных стадиях развития гусеницы.

В эксперименте с добавлением чистого токсина было показано полное отсутствие неблагоприятных эффектов при использовании токсинов *Cry9C* и *Cry1F*. Действительный токсический эффект при скармливании листьев, опыленных чистой пыльцой, был выявлен только в случае трансгенной формы 176. Причем эффект проявлялся при малых дозах нанесения пыльцы, сопоставимых с реально возможными при переносе пыльцы с кукурузы на растения ваточника в природе. В других случаях использования *Cry1Ab*-гена (Bt11 и Mon810) токсический эффект наблюдали только при загрязнении пыльцы остатками вегетативных тканей растения, чего, как правило, не происходит при естественном распространении пыльцы [Helmich et al., 2001]. На основании ре-

зультатов проведенного исследования было сделано заключение о возможном токсическом эффекте для гусениц бабочки в природных условиях только гибридов кукурузы, происходящих от линии 176. К 2001 году этой кукурузой было засеяно менее 2% площадей, занятых всей трансгенной кукурузой США, и перерегистрация ее для дальнейшего использования не предполагалась.

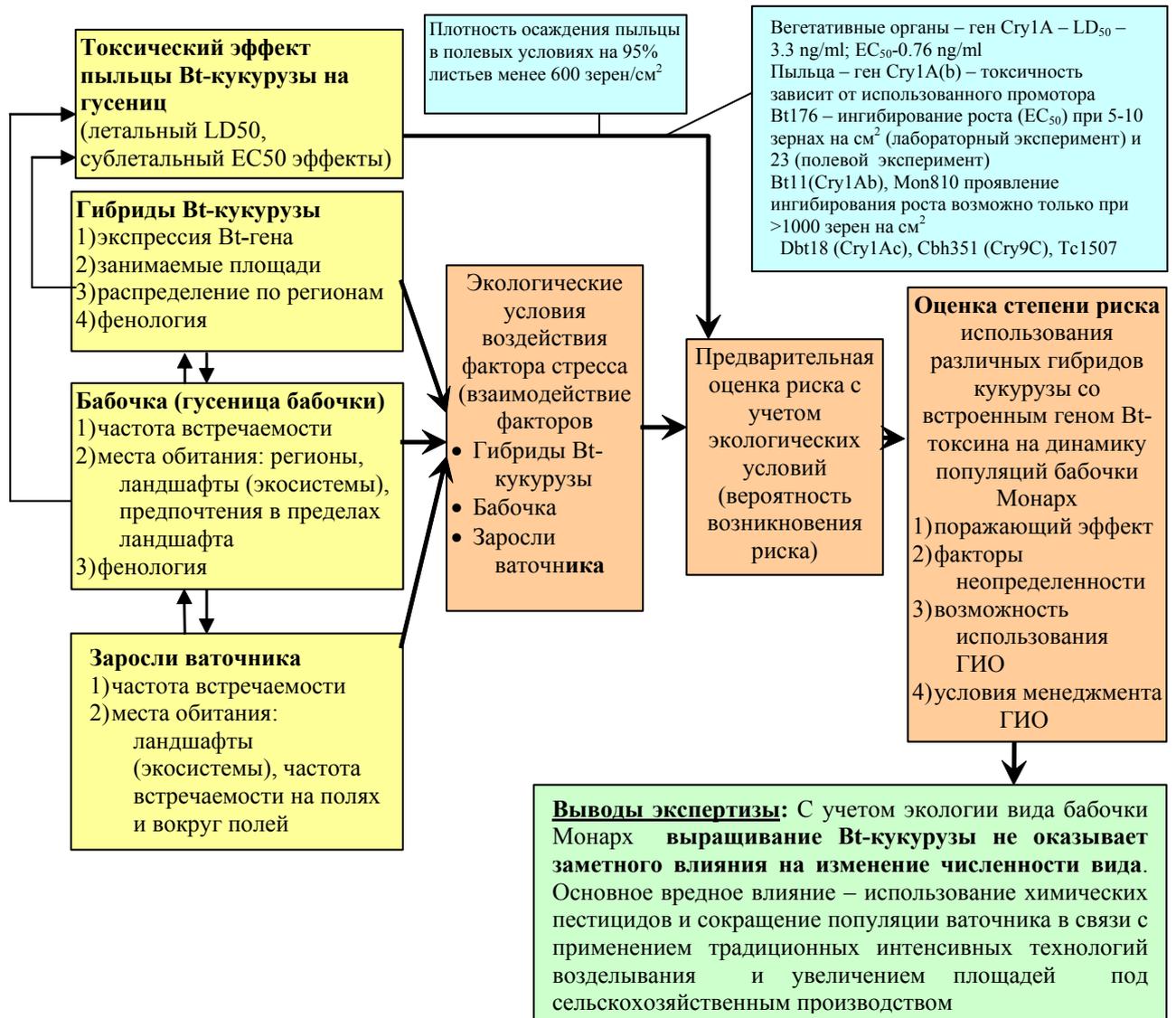


Рис. 6.7. Схема оценки экологического риска токсического воздействия различных гибридов Bt-кукурузы на выживаемость и численность популяции бабочки Монарх (*Donaus plexippus*)

Эксперимент выявил ряд сложностей, с которыми может быть связана реальная оценка токсичности пыльцы на основе только лабораторного теста, и показал необходимость проведения экологических полевых экспериментов для оценки реальных последствий воздействия пыльцы Bt-кукурузы на развитие гусеницы и численность бабочки.

Полевой эксперимент проводили на различных участках в разных штатах США и Канады, отражающих наиболее типичные места обитания бабочки в различных климатических зонах. Кроме токсического эффекта изучали плотность оседания пыльцы на растениях ваточника, растущих внутри кукурузных полей и по их краям, влияние климатических факторов (ветер, дождь) на распространение и сохранность пыльцы на

листьях, предпочтения гусениц в питании в пределах растения [Pleasants et al., 2001; Stanley-Horn et al., 2002].

В ходе эксперимента были подтверждены токсический сублетальный эффект пыльцы гибрида кукурузы, происшедшего от линии 176, и отсутствие эффектов для гибридов, бравших начало от кукурузы Bt11 и Mon810. В случае гибрида от линии 176 установлена худшая выживаемость и развитие личинок, которые питались на растениях ваточника, растущих внутри кукурузных полей, по сравнению с выживаемостью тех, что кормились за пределами поля. Это объяснялось большей плотностью оседания пыльцы на ваточнике внутри полей. Средняя плотность оседания пыльцы для всех гибридов кукурузы оказалась примерно одинаковой и составляла 127 пыльцевых зерен на 1 см² листа. Токсический эффект для линии 176 был замечен при плотности пыльцы около 67 зерен на 1 см². Как показали лабораторные тесты, для того чтобы выявить токсичность Bt11 и Mon810, плотность пыльцы должна превышать 1000 зерен на 1 см² листа, что в природных условиях практически нереально (на 95% листьев ваточника плотность пыльцы не превышала 600 зерен на 1 см²). Количество пыльцы на сорных растениях резко уменьшалось при выпадении дождей. Обнаружено, что личинки предпочитают кормиться на верхушечных листьях ваточника, тогда как максимальное количество пыльцы наблюдалось на среднем ярусе листьев этих растений. Даже в случае питания гусениц на полях кукурузы линии 176 сублетальный эффект был ниже, чем для гусениц, питавшихся на полях нетрансгенной кукурузы, обработанных инсектицидом λ-цихалотрином. Таким образом, в полевом эксперименте подтверждена полная безопасность большинства используемых ныне гибридов *Cry1Ab* Bt-кукурузы. Даже если токсический эффект проявлялся, он был ниже того, который наблюдался при выращивании нетрансгенной кукурузы, обрабатываемой химическими инсектицидами.

На втором этапе полевых исследований изучали экологические условия воздействия стрессового фактора. Были установлены численность и плотность популяций бабочки в различных регионах «кукурузного пояса» (штаты Миннесота, Айова, Мэриленд, Висконсин в США и Онтарио в Канаде), зависимость численности бабочки от количества зарослей ваточника. Определены предпочтения бабочек в откладывании яиц между растениями, растущими внутри и снаружи кукурузных полей, характер распределения популяций ваточника и их численность в разных регионах выращивания кукурузы. Кроме этого проведена оценка вероятности перекрытия во времени в разных климатических регионах двух важных с точки зрения интенсивности токсического действия кукурузы фенологических событий – периода откладывания яиц и развития гусениц бабочки и максимума пыления кукурузы [Oberhauser et al., 2001].

Было выяснено, что бабочка привязана к растениям ваточника, расположенным внутри или вокруг полей кукурузы, весь период своего развития. Численность бабочек на одно растение ваточника практически одинакова как в агросреде, так и в некультурных (природных) местах произрастания ваточника. В регионах с большой плотностью кукурузных полей и редко встречающимися природными зонами бабочки отдают явное предпочтение агросреде, поскольку это основные места произрастания ваточника, являющегося кормовой базой бабочек и их личинок. В менее освоенных регионах явного предпочтения не наблюдалось. Обитающие в агросреде бабочки предпочитали растения ваточника, растущие внутри полей, что, очевидно, объяснялось меньшей конкуренцией бабочек с другими видами насекомых и животных.

При изучении перекрытия во времени максимального пыления кукурузы (максимального увеличения плотности пыльцы) и периодов развития бабочки оказалось, что в южных штатах, где бабочка чаще селится внутри кукурузных полей, основная часть особей успевает пройти стадию личинки и развиться до взрослого состояния до

начала интенсивного пыления кукурузы. В северных регионах периоды пыления кукурузы и личиночной стадии бабочки совпадали, но именно в этих регионах у бабочек больше возможностей селиться за пределами агросреды. Таким образом, было показано, что основное влияние на численность бабочек оказывает кормовая база, т.е. наличие зарослей ваточника, а оно в свою очередь в наибольшей степени определяется используемыми в том или ином регионе методами ведения сельскохозяйственного производства (применение вспашки, гербицидов, выбор основной сельскохозяйственной культуры).

В результате проведенных исследований экспертная группа сделала следующие обобщенные выводы:

1. Экспрессия Vt-токсинов в пыльце большинства коммерческих гибридов кукурузы очень мала. Поэтому лабораторный и полевой тесты показывают отсутствие токсических эффектов при плотности пыльцы, обычной при пылении кукурузы.

2. Только часть бабочек использует заросли ваточника внутри и возле кукурузных полей. При этом наблюдается различное и ограниченное перекрытие периода основного пыления кукурузы и активного периода размножения и развития бабочек. Поэтому токсичность пыльцы не может радикальным образом повлиять на численность вида бабочки.

3. С учетом площадей, занимаемых трансгенной Vt-кукурузой, уровня токсичности и экспозиции действия токсина (плотность и время действия пыльцы) риск воздействия трансгенной кукурузы на численность популяции бабочки Монарх можно признать крайне незначительным. По расчетам экспертов, при существовавшем в 2000–2001 годах уровне использования гибридов на основе линии 176 риску токсического действия пыльцы этих гибридов могли подвергнуться не более 0,8% популяции бабочки, обитающей в регионе «кукурузного пояса» [Sears et al., 2001]. Это еще раз говорит о незначительности нецелевого действия трансгена (даже если оно присутствует) на численность вида-немишени.

4. Основной причиной сокращения численности бабочки Монарх в США следует признать сужение ее природного ареала в связи с интенсивным сельскохозяйственным производством и связанным с ним сокращением численности ваточника, на котором бабочка кормится и размножается.

6.11. Появление живых организмов, резистентных или толерантных к продуктам трансгенов

6.11.1. Живые организмы, резистентные и толерантные к продуктам трансгенов. Насекомые-вредители, сорняки и болезни являются основными причинами потерь в сельскохозяйственном производстве во всем мире. Поэтому селекция на резистентность или толерантность к болезням и вредителям во все времена являлась одним из основных направлений селекции сельскохозяйственных культур. Одновременно разрабатывались и продолжают разрабатываться различные искусственные средства защиты растений, в первую очередь химические (инсектициды, гербициды, фунгициды), использование которых обуславливает появление массы новых проблем. Кроме негативного влияния на здоровье людей и проникновения в продукты питания, происходит накопление остатков пестицидов, прежде всего гербицидов, в почве, загрязнение грунтовых и поверхностных вод, снижение биологического разнообразия вследствие нецелевого отравляющего влияния на полезных и нейтральных насекомых и животных, включая млекопитающих, птиц и рыб. С использованием химикатов связывают и появление устойчивости к ним вредителей. Создание трансгенных сельскохозяйственных растений с пестицидными свойствами и устойчивостью к гербицидам позво-

ляет одновременно повысить урожай и его сохранность и решить, хотя бы частично, проблемы, связанные с химизацией сельского и лесного хозяйства.

Практика показывает, что появление устойчивых к вредителям и патогенам новых сортов и использование новых химических препаратов защиты растений сопровождается обратным процессом адаптации к ним патогенов. Адаптация основана на генетических изменениях в популяции под действием факторов окружающей среды, главным из которых является воздействие пестицида или растения с пестицидными свойствами. В результате такой адаптации популяция патогена может выживать, несмотря на селекционный прессинг, вызываемый пестицидом или устойчивостью растения к патогену. Как правило, контроль численности таких обретших резистентность популяций патогена проводить гораздо сложнее, и обходится он дороже, чем контроль исходных популяций. В худших случаях вредители могут совершенно выйти из-под контроля.

Существование в настоящее время большого числа различных резистентных к пестицидам вредителей связано с активным использованием химикатов, создавших необычайный селекционный прессинг, ускоривший эволюционный процесс развития устойчивости. Этот процесс продолжается и носит глобальный характер. Так, первый случай устойчивости к гербициду был зафиксирован в 60-х годах прошлого века. А в 90-х было уже известно 84 случая устойчивости сорняков по крайней мере к одному из гербицидов и описаны случаи комплексной устойчивости к широкому спектру гербицидов среди сорняков пшеничных полей в Австралии.

С 60-х годов прошлого века отмечено появление устойчивости к фунгицидам среди патогенных грибов. В 80-х годах было известно уже о более ста видах патогенных грибов, развивших устойчивость к одному и более фунгицидам.

На примере насекомых-вредителей наиболее ярко прослеживается процесс приобретения и развития признака устойчивости к пестицидам. За последние несколько десятков лет различные формы устойчивости приобрели более 530 видов насекомых [Whalon, Norris, 1999]. Объясняется это тем, что насекомые используют разнообразные адаптационные стратегии развития устойчивости. Они могут приспособливать свое пищеварение к безопасному перевариванию вторичных токсичных метаболитов растений-хозяев или развить механизм детоксикации или нейтрализации токсина. У них может появиться новое пищевое поведение, они могут сменить свои пищевые предпочтения или полностью перейти на питание новым видом растения.

Использование трансгенных растений имеет более короткую историю по сравнению с химизацией сельского хозяйства. Массовое коммерческое использование трансгенных растений, устойчивых к гербицидам или несущих Bt-устойчивость к насекомым-вредителям, приходится на начало 90-х годов прошлого века. Но мы уже имеем пример приобретения комплексной устойчивости к гербицидам у трансгенного рапса и передачу такой устойчивости нетрансгенным сортам [Hall et al., 2000; Orson, 2002 и др.]. Как растение предшествующей культуры рапс с комплексной устойчивостью к гербицидам сам может представлять немалую проблему для контроля над сорняками при выращивании последующей за ним культуры. Однако вероятность интрогрессии генов гербицидоустойчивости к его диким сорным сородичам усугубляет проблему развития устойчивости к гербицидам при участии этой трансгенной культуры.

Этот пример показывает один из путей появления у диких сорных или культурных растений устойчивости к гербицидам – миграцию генов. Второй путь – эволюционная адаптация популяций сорняков на фоне загрязнения их мест обитания гербицидами. Предполагается, что выращивание трансгенных растений, устойчивых к гербицидам, может привести к эффекту «неполного расхода реагента». Присутствующий

в почве в малых концентрациях гербицид, в целом продолжая подавлять популяцию сорных растений, может не препятствовать выживанию генотипов, обладающих частичной толерантностью к гербициду, и тем самым послужить фактором отбора на устойчивость к этому препарату.

Пока что не зафиксировано случаев приобретения насекомыми устойчивости к коммерческим сортам Bt-растений. Однако известен случай приобретения устойчивости к распыляемому препарату на основе *Bacillus thuringiensis* одним из основных вредителей крестоцветных культур – капустной молью (*Plutella xylostella* L.) [Tabashnik et al., 1990]. В лабораторном эксперименте было показано, что устойчивые к Bt-токсину популяции *P. xylostella* могут нормально развиваться и на Bt-трансгенных растениях рапса [Ramachandran et al., 1998a].

В отличие от быстро разрушающихся на свету бактериальных препаратов Bt-протеина постоянно действующие в течение сезона летальные или полублетальные дозы Bt-токсинов трансгенных растений обеспечивают более длительный и сильный селекционный прессинг на популяцию вредителя, что может стать источником ускорения процесса приобретения или закрепления у него устойчивости. В настоящее время известны пятнадцать видов насекомых, развивших устойчивость к бактериальным распыляемым препаратам Bt-токсинов [Whalon, Norris, 1999]. Поэтому уже сейчас стоит подумать о мерах, которые могут уменьшить потенциальную адаптацию вредителей к трансгенным растениям с Bt-устойчивостью.

Развитие резистентности у вредителей (насекомых, сорняков, болезнетворных грибов и микроорганизмов) к новым токсинам имеет генетическую основу и происходит под влиянием селективного фактора действия пестицида и других условий окружающей среды, которые, как правило, известны исходя из данных об организме – реципиенте трансгенного признака, характера модификации, особенностей ГИО и условий принимающей среды. Все это дает основание рассматривать управление этим фактором риска как вполне реальный и осуществимый процесс. Под управлением фактором риска «развитие резистентности», или, как принято называть этот процесс в мире, «менеджментом резистентности», понимают процесс приведения развития резистентности в популяциях вредителя в допустимое русло.

Как показывает история использования пестицидов и множество научных исследований в области менеджмента резистентности, полностью исключить постепенную адаптацию к пестицидам практически невозможно. Поэтому вопрос стоит не об абсолютном предотвращении процесса адаптации, а о его максимальном замедлении и уменьшении вредоносного эффекта. Основные усилия направляются на регулирование факторов, которые могут оказывать влияние на развитие резистентности. В настоящее время в мире используются пять ключевых стратегий, на которых в той или иной степени основаны все предлагаемые программы менеджмента развития резистентности [McGaughey, Whalon, 1992; Snow, Palma, 1997; Whalon, Norris, 1996, 1999] (табл. 6.4).

Первая стратегия получила название *стратегии гена*. Она нацелена на уничтожение гетерозиготных особей, появившихся в результате скрещивания чувствительных и резистентных особей из популяции вредителя. Согласно теории полурецессивного характера резистентности насекомых, устойчивость особей варьирует в зависимости от количества аллелей резистентности у каждого из индивидуумов. В соответствии с этой моделью гетерозиготные резистентные особи, получившиеся от скрещивания чувствительных и резистентных, имеют промежуточный характер устойчивости и могут выжить только при минимальной экспозиции токсина [Levidov, 2003]. Увеличение токсического эффекта до критической отметки, убивающей всех гетерозиготных особей,

способно радикальным образом снижать вероятность возникновения резистентной популяции. На сегодняшний день наиболее надежным средством реализации этой стратегии является получение трансгенных растений, в которых экспрессия Bt-генов была бы достаточной для уничтожения гетерозиготных особей на протяжении всего периода вегетации растения. Другие стратегии гена включают совместное или каскадное действие разных генов Bt-токсичности либо использование разных механизмов достижения летальности вредителя в одном растении. В настоящее время большинство коммерческих сортов Bt-трансгенных растений пока что экспрессируют только один ген токсичности.

Таблица 6.4

Основные стратегии использования генно-инженерных модификаций токсичности, препятствующие развитию резистентности к ним патогена-мишени (по McGaughey, Whalon, 1992)

Область применения	Возможная тактика использования модификации	Решаемая задача
Альтернативный выбор гена	Использование одного гена токсичности Использование нескольких генов токсичности Использование химерных генов (<i>генетически отличных от оригинального гена токсичности</i>)	Активация одного или нескольких агентов контроля патогена (инсектицидный протеин, регуляторы роста патогена, ингибиторы протеиназ и т.д.) в одном растении. Происходит смена селективного фактора , что сказывается на снижении развития резистентности у патогена
Использование разных промоторов	Конститутивный промотор (<i>постоянная доза токсина во всех тканях растения</i>) Тканеспецифическая экспрессия гена (<i>в определенных частях растения, например только в плодах, только в корнях, только в пыльце и т.д.</i>) Индукцибельный промотор (<i>действует только при определенных обстоятельствах, например при опрыскивании химическим препаратом или при физическом повреждении растения</i>)	Контроль дозы токсина на протяжении всей жизни растения и/или в определенных частях растения
Особенности экспрессии гена	Высокая Низкая Смешанная	Контроль дозы токсина в результате генной регуляции количества и/или качества токсина, экспрессируемого в тканях растения
Тактика использования гена (<i>тактика полевого использования источника токсичности</i>)	Однородное использование одного гена Использование смеси генов (<i>смесь семян</i>) Ротация гена или очередность использования генов (<i>временное разделение действия генов</i>) Мозаичные посадки (<i>смена участков или регионов посадок</i>) «Островки безопасности» (<i>пространственные или временные участки отсутствия действия гена токсичности</i>)	Регуляция дозы токсина посредством манипуляции размещения трансгенных растений на поле

Вторая стратегия заключается в *периодической или полной замене источника токсичности или комбинировании источников токсичности* (смена фактора эволюционного прессинга). Очевидно, что смертность в популяции, вызванная различными причинами (в результате одновременного действия разных механизмов воздействия токсинов), будет препятствовать адаптации. Комбинация таких причин может быть достигнута разными способами, которые используют как при традиционных способах обработки пестицидами, так и при выращивании трансгенных растений.

Первый способ – использование комбинации двух или более токсинов по очереди или одновременно. В настоящее время кроме 11 генно-инженерных модификаций Bt-токсичности, которые уже сами по себе предоставляют возможность для комбинирования, предлагается ряд других источников токсичности различного происхождения (см. табл. 6.3). Эффект может достигаться как смешением при посадке семян, принадлежащих различным генетическим линиям, экспрессирующим различные токсины, или сменой линий в севообороте, так и генно-инженерным созданием линий с одновременным (или один за другим) действием нескольких разных генов токсичности (стратегия гена). В настоящее время при разработке мульти-локусных модификаций устойчивости отдают предпочтение комбинированию Bt-генов как наиболее целенаправленных по действию в отношении мишени и, следовательно, наиболее безопасных с точки зрения нецелевого влияния на организмы-немишени. Однако в ближайшем будущем, очевидно, Bt-гены будут комбинироваться с другими источниками токсичности более широкого спектра действия в выборе мишени, но обладающими иными механизмами обеспечения токсического действия. Связано это с тем, что некоторые насекомые-вредители, например капустная моль (*Plutella xylostella*) или табачная листовёртка-почкоед (*Heliothis virescens*), могут приобретать резистентность сразу к нескольким Bt-токсинам.

Исходя из теории полурецессивного характера резистентности насекомых, предполагается наличие у некоторых видов вредителей по крайней мере двух независимых рецессивных локусов разного характера действия, обеспечивающих выживание гетерозиготных особей в популяции и адаптацию популяции к новому токсину [Snow, Palma, 1997; Stewart et al., 2000]. Высказываются опасения, что устойчивость к Bt-токсинам может иметь и доминантный характер, что может обуславливать более быстрое распространение аллелей резистентности и развитие адаптивности популяций, имеющих такие аллели [Levidov, 2003]. По мнению M. Whalon и L. Norris (1999), сочетание Bt-генов с другими источниками токсичности является самой лучшей стратегией поддержания успешности широкого и эффективного использования Bt-растений.

Третья стратегия – *поддержание чувствительности популяции к определенному типу токсина* (уменьшение действия селективного прессинга). Идея этой стратегии состоит не в стопроцентном уничтожении особей в популяции вредителя, а в сохранении и поддержании в популяции определенного количества чувствительных к токсину особей (т. е. гомозиготных по гену чувствительности к токсину). Эти особи могут передать потомству гены чувствительности и таким образом препятствовать отбору на резистентность.

Сохранение чувствительных особей осуществляется путем создания так называемых «островков безопасности» – растений, не несущих гены токсичности. Островки безопасности могут создаваться за счет мозаичных посадок трансгенных и нетрансгенных форм в коммерческих посевах в пропорции, позволяющей не снижать урожайность культуры за счет поражения вредителем и в то же время сохранять популяцию чувствительных особей вредителя. Например, чтобы контролировать чувствительность к Bt-токсину большинства вредителей рапса, достаточно добавить к посадкам трансгенных растений 10% нетрансгенных [Hokkanen, Wearing, 1995]. Для большинства культур рекомендуется пропорция 80% трансгенных и 20% нетрансгенных растений [Whalon, Norris, 1996]. Тканеспецифическая экспрессия гена и экспрессия гена на определенных этапах развития растений (временное лимитирование действия гена токсичности) также могут нести функции островков безопасности.

Мозаичность достигается разными способами: смесью семян, высеваемых на одном поле; посадкой блоками в пределах одного поля или чередованием трансгенных и

нетрансгенных полей; чередованием посадки трансгенных и нетрансгенных растений по годам. Выбор типа мозаичности может зависеть от типа трансгенной культуры, условий окружающей среды, применяемой сельскохозяйственной технологии и других факторов. Однако решающее значение здесь играет учет поведенческих характеристик вредителя, в первую очередь подвижность взрослых особей и личинок. Чаще всего в качестве наиболее эффективного способа предлагается посадка блока или нескольких блоков нетрансгенных растений внутри поля трансгенной культуры [Ramachandran et al., 1998a, b; Hoy, 1999; Shelton et al., 2000 и др.].

Четвертая стратегия – *прогнозирование появления и мониторинг за развитием резистентности*. Предварительная оценка популяций вредителя на вероятность развития ими резистентности и изучение процесса адаптации к токсину должны помочь выявить появление резистентности популяций на ранних этапах и таким образом упростить дальнейший контроль над этим нежелательным явлением. Основные положения и подходы, предлагаемые этой стратегией, наиболее полно изложены в «Меморандуме EPA и USDA по менеджменту резистентности Bt-трансгенных культур» [EPA and USDA Position Paper on Insect Resistance Management in Bt Crops, 1999]. Согласно Меморандуму, разработка плана мониторинга и менеджмента резистентности является обязательным условием при регистрации Bt-трансгенных культур. Мониторинг предусматривает периодический отбор проб особей из популяций вредителя и их изучение с помощью недорогих диагностических средств или в специальных лабораториях с более сложным оборудованием. Для взятия проб предлагается всемерное привлечение сельскохозяйственных производителей, которые выращивают Bt-культуры.

К сожалению, этот подход, хорошо зарекомендовавший себя в развитых странах с достаточно большим опытом выращивания трансгенных растений, пока мало доступен развивающимся странам из-за своей высокой стоимости и необходимости создания специальных структур для осуществления мониторинга. Но именно развивающиеся страны рассматриваются как основное поле деятельности будущего маркетинга Bt-токсичных культур.

И наконец, пятая стратегия – *неукоснительное выполнение соответствующих условий эксплуатации в каждом конкретном случае использования трансгенных растений*. Эта стратегия имеет самое широкое применение и действует одновременно со всеми другими. Основная идея этой стратегии – использование трансгенных растений с устойчивостью к вредителям должно осуществляться на основании предварительной оценки риска возникновения резистентности и с учетом всех требований по всемерному предотвращению этого риска. Оценка производится по принципу индивидуального подхода в соответствии с условиями конкретного региона использования ГИО и с учетом опыта более ранних случаев появления резистентности патогенов к подобного рода пестицидам (токсинам). Сравнительный подход требует глубокого и полного изучения как условий окружающей среды, так и условий сельскохозяйственного производства, присутствующих данному региону, а также биологии и экологии растения-хозяина и организма-мишени и их взаимодействия.

Основные элементы, которые требуется учитывать при оценке вероятности развития резистентности к токсину: 1) особенности культуры, которые могут оказать влияние на развитие адаптации к токсину у организма-мишени; 2) особенности биологии вредителя-мишени: количество видов растений-хозяев вредителя, способность вида-вредителя к развитию резистентности к токсину; 3) возможность и выгодность использования подходящих генно-инженерных технологий в свете полученных данных о характере культуры и ее вредителя. По результатам оценки определяют, может ли быть использована та или иная генно-инженерная модификация для решения про-

блемы устойчивости данной культуры в данном регионе, выбирается стратегия поддержания чувствительности популяций патогена к токсину.

6.11.2. Трансгенные вирусные ДНК (РНК). История трансгенных растений, устойчивых к вирусам, берет начало с 1986 года, когда Р. Powell-Abel с соавторами создали растение табака, устойчивое к вирусу табачной мозаики (ТМВ) [Powell-Abel et al., 1986]. С тех пор увидело свет множество трансгенных культур, устойчивых к широкому спектру вирусов. Эти растения являются примером использования патоген-зависимой резистентности – резистентности, определяемой действием патогена (вирусными генами). Среди агентов резистентности вирусного происхождения, инкорпорируемых в растительный геном, можно назвать гены, кодирующие капсидный белок (СР-белки – от английского словосочетания coat proteins); дефектные гены белков, обеспечивающих движение вирусов и их проникновение в клетку; гены репликаз, протеиназ и их вспомогательных компонентов [Sanford, Johnston, 1985; Lomonossoff, 1995]. Однако чаще всего для развития резистентности растений к вирусам используют трансгеноз СР-генов. К настоящему времени использование СР-системы позволило добиться резистентности растений к 23 различным видам, принадлежащим по крайней мере к 13 группам РНК-содержащих вирусов [Gramet, 1995].

Устойчивость к вирусным заболеваниям – одно из наиболее ценных достижений современной генно-инженерной биотехнологии. Однако, несмотря на неоспоримые преимущества при использовании, трансгенные вирусостойчивые растения могут представлять собой и определенный фактор экологического риска. Фактор риска связан с предполагаемой вероятностью взаимодействия продуктов вирусного трансгена (РНК или вирусного протеина) с природными вирусами по типу синергизма, транскапсидации или рекомбинации. Эти взаимодействия теоретически могут привести к повышению активности вирусов, выражающейся как в усилении их поражающего действия, так и расширении первоначального видового состава их потенциальных носителей. В качестве фактора риска в отношении некоторых групп растений рассматривается также вероятность миграции гена вирусостойчивости к представителям диких родственных видов (появление резистентности или толерантности к вирусам может стать фактором неконтролируемого увеличения их численности).

Повышение активности вирусов может быть вызвано фенотипическими изменениями во взаимодействии вирусов между собой и их кумулятивным действием на растение-носитель (при синергизме вирусов и транскапсидации) или иметь в своей основе генетические изменения вирусной РНК при ее рекомбинации с РНК трансгенного устойчивого к вирусам растения.

При *синергизме* два или более различных вируса могут одновременно заражать растение. При этом комбинированное действие этих вирусов имеет больший поражающий эффект, чем тот, который был бы при поражении каждым из вирусов в отдельности. В случае взаимодействия вирусов с трансгенным растением существует вероятность эффекта синергизма при взаимодействии РНК или протеинов, являющихся продуктами трансгена, с вирусом другого типа (не родственного трансгену), заражающего трансгенное растение. До настоящего времени не было зафиксировано ни одного случая синергизма у трансгенных растений, однако такие взаимодействия между вирусами, одновременно заражающими одно растение, неоднократно наблюдались у нетрансгенных растений. Впервые замечен и наиболее полно изучен эффект синергизма при одновременном заражении картофеля вирусами картофеля Х (PVX) и Y (PVY) [Agbios, 2001]. Механизмы, лежащие в основе проявления эффектов синергизма, еще мало изучены. Однако было установлено, что значимую роль для их возникновения в случае взаимодействия PVX и PVY играет 5'-терминальная последовательность

PVY-генома размером в 3544 нуклеотида, кодирующая протеазу-1 (P1), компонент-помощник протеазы (HC-Pro) и протеин-3 (P3) [Vance et al., 1995].

В научной литературе, посвященной экологическим проблемам биобезопасности, неоднократно поднимался вопрос о потенциальной опасности другого типа взаимодействия вирусов – *транскапсидации* (иначе гетерокапсидации). При транскапсидации происходит замена капсидной белковой оболочки одного типа вируса на капсидную оболочку другого. Если первый вирус мог распространяться от растения к растению посредством растительноядных насекомых (например, тлей (*Aphis*), колорадского жука (*Lepidoptera decemlineata*) и многих других), то передача его капсидной оболочки второму вирусу, не имевшему такой способности, приводит у второго вируса к ее появлению. Таким образом, транскапсидация рассматривается как способ расширения числа потенциальных носителей вирусов, которые раньше были ограничены в выборе хозяина из-за невозможности переноса растительноядными насекомыми. В случае с трансгенными вирусостойчивыми растениями РНК вируса, заражающего трансгенное растение, может приобрести новую белковую оболочку (энкапсидироваться), кодируемую CP-трансгеном этого растения.

В модельных системах (с искусственно созданными оптимальными для протекания процесса условиями) возможность транскапсидации была продемонстрирована для нескольких типов вируса, например для вируса желтой карликовости ячменя (группа luteovirus), представителей группы вирусов, к которым также принадлежит PVY (группа potyvirus) [Bourdin, Lecoq, 1991], и вируса кустистой карликовости томатов (группа tombusvirus) [Dalmai et al., 1992]. Также была продемонстрирована возможность транскапсидации с участием вирусного CP-белка трансгенных растений [Dalmai et al., 1992; Lecoq et al., 1993]. Например, Н. Лесоq с соавторами (1993) наблюдали заражение трансгенных растений кабачка со встроенным CP-геном от переносимого тлями вируса желтой мозаики кабачка (potyvirus) вирусными штаммами, которые тлей переноситься не могут (имеют дефектный трансмиссионный фактор в CP-гене). Однако в природных условиях явление транскапсидации наблюдается исключительно редко, хотя известны многочисленные случаи совместного сосуществования нескольких вирусов в разных сельскохозяйственных и древесных растениях [Falk et al., 1995].

Таким образом, несмотря на теоретическую возможность транскапсидации и синергизма при участии вирусных генов трансгенных растений, осуществление этих событий в естественных условиях представляется маловероятным. Кроме того, синергизм и транскапсидация у сельскохозяйственных культур могут иметь только кратковременный фенотипический эффект, который прекращается вместе с окончанием вегетации трансгенного растения. По мнению С.М. Henry с соавторами (1995), транскапсидацию вообще не стоит рассматривать как проблему, поскольку трансмиссия капсидного белка представляет собой единичные случаи, и даже если вирусы приобретают такой белок, они быстро возвращаются к использованию своего собственного.

В целом вероятность неблагоприятных последствий для сельскохозяйственных культур и окружающей среды транскапсидации и синергизма с участием устойчивых к вирусам трансгенных растений можно оценить как очень низкую. А эффекты, которые могут последовать для трансгенных растений от реализации синергизма или транскапсидации, не могут превышать тех, что имеют место при заражении вирусами нетрансгенных вирусочувствительных растений.

Рекомбинация вирусной РНК со встроенными участками генома растений вирусного происхождения гораздо чаще по сравнению с двумя предыдущими явлениями рассматривается в качестве реального источника неблагоприятных последствий для окружающей среды в литературе, касающейся безопасности использования растений с

трансгенным признаком устойчивости к вирусам. Как известно, эти последствия будут определяться вероятностью события (фактора риска) и его возможным поражающим эффектом. Насколько вероятна рекомбинация генов между РНК двух вирусов или РНК вирусов и вирусными генами трансгенных растений?

Впервые рекомбинацию вирусных РНК обнаружил G.K. Hirst (1962) при совместном заражении животных разными штаммами полиовируса. С тех пор был опубликован ряд сообщений о рекомбинации РНК животных и растительных вирусов. В качестве доказательства существования рекомбинации между вирусными РНК приводятся данные лабораторных экспериментов с использованием штаммов вирусов с функциональными дефектами. В результате взаимодействия в совместно инфицированных растениях дефектных вирусов с полноценными функции первых восстанавливались, что служит подтверждением наличия рекомбинации РНК дефектных и полноценных вирусов [Agbios, 2001]. Однако до сих пор нет ни одной публикации по поводу рекомбинации между совместно инфицированными дикими типами вирусов. Возможно, это связано со сложностью учета частоты рекомбинации РНК между бездефектными дикими штаммами вирусов. Ведь даже если рекомбинация имеет место, это событие относится к разряду крайне редких. Для рекомбинации необходимо совпадение по крайней мере двух событий: два вируса должны одновременно находиться в состоянии репликации РНК и в непосредственной близости в клеточном пространстве.

Та же система с использованием дефектных функциональных генов применяется для обнаружения рекомбинации между РНК растительных вирусов и РНК инфицируемых трансгенных растений. Была выявлена возможность рекомбинации между РНК вируса мозаики цветной капусты (CaMV) и РНК трансгенных растений со встроенными генами вирусов хлорозной пятнистости вигны (CCMV) и кустистой карликовости томата (TBSV) [Borja et al., 1999]. Показано также восстановление двигательной функции белка у дефектного по этому признаку штамма CaMV после его инокуляции в трансгенные растения рапса с экспрессией гена CaMV ORFVI, кодирующего двигательный протеин, необходимый для систематического заражения растений вирусом мозаики цветной капусты [Gal et al., 1992]. Таким же образом А.Е. Green и R.F. Allison (1996) удалось продемонстрировать рекомбинацию РНК растения с трансгеном, кодирующим 3'-терминальную часть капсидного протеина CCMV и РНК изолята CCMV, в котором гены, кодирующие этот участок протеина, отсутствовали. Таким образом, нельзя исключить вероятность случаев рекомбинации как между РНК вирусов, принадлежащих к одной или разным группам, так и вероятность рекомбинации РНК вирусов с участками РНК, являющихся продуктами транскрипции встроенных генов вирусного происхождения трансгенных растений.

Если такая рекомбинация возможна, возникает второй вопрос: может ли рекомбинация между РНК трансгенного происхождения и РНК инфицирующего вируса стать причиной возникновения новых штаммов вируса с более сильными, чем у исходного штамма, поражающими свойствами? К настоящему времени нет ни одного экспериментального подтверждения такого увеличения патогенности. В ряде экспериментов, изучавших поражения, вызываемые у растения рекомбинантным вирусом, было показано появление новых случайных симптомов, однако они не увеличивали поражающего эффекта, производимого дикой формой вируса при совместном заражении [Allison et al., 1999; Agbios, 2001]. К сожалению, в этих экспериментах не проводилось сравнение отдельно действующих поражающих эффектов рекомбинантного и исходных диких типов вируса. Можно предположить, однако, что рекомбинантные вирусы по своему действию на трансгенное растение-хозяин или при совместном с исходными формами заражении растений не будут сильно отличаться от диких штам-

мов, заражающих растение в одиночку. Наличие рекомбинации между вирусами, одновременно заражающими растение, позволяет говорить о том, что трансгенные растения, экспрессирующие гены вирусного происхождения, не представляют новой опасности повышения вирулентности природных вирусов и по своему влиянию на процесс эволюции вирусов оказывают эффект, сравнимый с эффектом от естественных причин эволюции, характерных для нетрансгенного окружения вирусов.

6.12. Сокращение биологического разнообразия в результате изменения естественных биоценозов

Биологическое разнообразие – разнообразие живущих на Земле видов и существующих естественных экосистем – не только основа стабильного существования жизни на Земле, но и источник богатейших ресурсов для жизнедеятельности человека. Основой и неотъемлемой частью биологического разнообразия является разнообразие генетическое. Под *генетическим разнообразием* понимается вариация генов или аллельного разнообразия генов внутри популяции (элементарной единицы эволюции) и вида. Генетическое разнообразие имеет жизненно важное значение для существования популяции и вида в целом, так как позволяет им адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и выживать как в имеющихся на данный момент, так и в новых условиях существования. Значит, генетическое разнообразие является фундаментом видового разнообразия и стабильности экосистем. Поэтому биологическое и генетическое разнообразие обычно отождествляются, хотя, исходя из определения биоразнообразия, даваемого «Конвенцией о биологическом разнообразии» (статья 2), генетическое разнообразие следует рассматривать скорее как внутривидовую ступень биоразнообразия вообще (наряду с другими двумя ступенями – видовой и экосистемной) [CBD, 1992].

В настоящее время биологическое и генетическое разнообразие рассматриваются как всемирное достояние человечества, а в любой стране мира – как национальное достояние, использование и эксплуатация которого должны регулироваться государственными законами (Конвенция о биологическом разнообразии, принцип 2) [CBD, 1992]. Потенциал биоразнообразия, который человечество без ущерба для окружающей среды может использовать для своего стабильного существования и развития, до конца еще не изучен и применяется лишь частично и порой весьма нерационально. Достижения биотехнологии, и в частности генетической инженерии, во многом способствуют более полному, разнообразному и рачительному использованию биоресурсов за счет придания уже применяемым человеком формам дополнительных адаптивных свойств, новых полезных качеств, повышения их продуктивности. Одновременно они делают доступными для использования новые виды, не находившие применения раньше в силу каких-то биологических особенностей или из-за кажущейся бесполезности. Эти методы позволяют добиться качественного изменения сельскохозяйственного производства, уменьшая его экстенсивность, зависимость от экологически опасной химизации и энергонасыщенности, при этом не снижая общего количества урожая. В развивающихся странах применение современных технологий должно способствовать снижению экстенсивности сельского хозяйства и тем самым сохранению природных экосистем. В развитых странах уход от экстенсивных технологий способствует превращению части территорий, ранее занятых под сельскохозяйственные посевы, в рекреационные зоны, лесные насаждения и другие, более естественные и богатые в биологическом плане ландшафты. По расчетам специалистов, при использовании новых технологий для обеспечения объема сельхозпродукции, производимого в Европе на данный момент, понадобится только одна треть территории, занимаемой странами Евро-

пейского Союза [Porceddu, 2001]. Сейчас сельскохозяйственными угодьями в большинстве стран Западной и Центральной Европы занято от 50 до 70% территории. Таким образом, использование достижений генетической инженерии способствует сохранению и восстановлению биологического разнообразия в природе.

Однако часто высказываются опасения по поводу того, что достижения генетической инженерии могут оказывать и противоположный эффект на развитие природных и агробиологических экосистем и биологическое, прежде всего генетическое, разнообразие в целом. Каким образом генно-инженерная деятельность, а точнее, продукты этой деятельности – генно-инженерные организмы могут нанести ущерб генетическому разнообразию?

Как правило, выделяют пять источников опасности ГИО для генетического (биологического) разнообразия. С тремя из них мы уже знакомы раньше. Это основные факторы риска высвобождения ГИО в окружающую среду:

1. Возможная повышенная инвазивность и агрессивность как сорняков некоторых ГИО, которая может привести к подавлению и вытеснению тех же, что и ГИО, видов, а также других видов экосистемы, не способных конкурировать с ГИО за жизненное пространство или пищевую базу.

2. Нецелевое действие ГИО с токсическими свойствами, которое может привести к уменьшению численности не только вредителей, но и нейтральных и полезных видов насекомых и к нарушениям экологических связей с участием этих насекомых (прерывание пищевой цепи, исчезновение опылителя, нарушение биологического контроля численности вредителей).

3. Последствия миграции трансгенов от ГИО к их диким родственникам видам. Следующие источники опасности снижения видового и генетического разнообразия происходят не столько из использования ГИО, сколько из вполне понятного и естественного стремления людей к получению максимальной прибыли при производстве сельскохозяйственной продукции. Из этого стремления вытекают два следствия:

4. Использование в агропроизводстве монокультур приводит, с одной стороны, к уменьшению разнообразия биоценозов в агросреде и соответственно к уменьшению видового разнообразия организмов, обычно обитающих в биотопах агросреды. С другой стороны, монокультура становится источником снижения генетического разнообразия, которое может явиться причиной снижения адаптивных возможностей культуры и источником селективного прессинга в популяциях ее вредителя.

5. Применение ограниченного количества наиболее экономически выгодных сортов и вытеснение местных сортов и рас, являющихся источниками многих селекционно-ценных признаков, ведет к снижению генетического разнообразия и потере многих ценных аллелей и генов, которые впоследствии могли бы быть востребованы при улучшении существующих сортов сельскохозяйственных культур.

Если первые два источника теоретически могут привести к уменьшению численности и потере каких-либо биологических видов (к снижению биологического видового разнообразия), то миграция трансгенов не приводит к снижению видового разнообразия экосистемы и не обязательно сказывается на численности вида – реципиента трансгенного признака. Однако она приводит к изменению существующего генетического разнообразия в популяции-реципиенте родственного вида и может отразиться на его адаптивных свойствах.

В связи с миграцией трансгенов высказываются опасения, что присутствие трансгенов у дикого вида может привести к снижению аллельного разнообразия в локусе, к которому принадлежит трансген, или в локусах, взаимодействующих с трансгеном [Stewart et al., 2003]. В первую очередь может произойти потеря редких аллелей, не

имеющих большого адаптивного значения для популяции при стабильных условиях окружающей среды, не подверженных резким изменениям. Но при возникновении резких изменений в условиях существования (например, при появлении нового не эндемичного патогена или хищника, усилении влияния антропогенных факторов и др.) именно эти редкие аллели могут оказаться фактором выживания популяции [Тимофеев-Ресовский и др., 1969; Грин и др., 1990]. Таким образом, потеря аллельного разнообразия, несмотря на преимущества, которые могут быть связаны с приобретением популяцией трансгена, при изменении условий окружающей среды в будущем может негативно отразиться на адаптивных способностях популяции и вида в целом.

Однако, как показывают примеры изучения генетического разнообразия в популяциях диких видов, подверженных интрогрессии генов со стороны культурных родственников, миграция трансгена совершенно необязательно ведет к уменьшению аллельного разнообразия диких популяций. Так, при изучении интрогрессии генов от сахарной свеклы (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) к популяциям дикого вида свеклы морской (*B. vulgaris ssp. maritima*) у последней наряду с новыми генами были выявлены все редкие аллели, присущие данному подвиду. При этом генетическое разнообразие в популяциях, взаимодействовавших с культурным видом, было выше, чем в изолированных популяциях *B. maritima* [Bartsch et al., 1999].

Несмотря на неоднократно высказываемые опасения, нет ни одного доказанного случая негативного влияния ГИО на видовое разнообразие и стабильность развития природных экосистем (в агросистемах появление неблагоприятных явлений более вероятно). Пока что не подтверждаются и опасения по поводу снижения генетического разнообразия в природных популяциях родственных ГИО видов. По-видимому, это объясняется недостаточным объемом знаний в данной области. Однако эксперименты по изучению взаимодействия ГИО с природными экосистемами продолжаются, ведется постоянный мониторинг за вновь высвобождаемыми и вновь создаваемыми ГИО. Современное состояние изученности проблемы не позволяет говорить о возможности далеко идущих негативных последствий воздействия ГИО на поддержание биологического разнообразия природных экосистем.

Чтобы избежать упомянутых неблагоприятных последствий, осуществляется строгий подход к регулированию генно-инженерной деятельности и высвобождению ГИО во всем мире. Если какие-то признаки опасности ГИО для окружающей среды имеют место, то либо запрещается высвобождение ГИО, либо приостанавливается его использование. Могут также вводиться специальные правила его применения, которые позволяют минимизировать воздействие ГИО на окружающую природную среду. Таким образом, возможность появления неблагоприятных последствий пресекается еще до того момента, когда они могут себя проявить.

Для большинства современных ГИО, которые, как правило, являются однолетними сельскохозяйственными культурами, характерно кратковременное воздействие их на окружающую среду и ограниченное взаимодействие с природными экосистемами. Без сомнения, в будущем разнообразие ГИО будет расширяться. Уже сейчас имеются примеры удачных трансгенозов многолетних, в том числе древесных культур, некоторых видов рыб и других животных аквакультуры, использование которых приведет к более тесному и длительному контакту ГИО с природными экосистемами. Однако подход к экологической безопасности таких объектов гораздо строже. Их выпуску в окружающую среду предшествует глубокое изучение экологических взаимосвязей на примере модельных систем с участием организмов, исходных для тестируемых ГИО. Серьезное отношение к подготовке коммерциализации многолетних ГИО позволяет надеяться, что их использование не будет представлять большей опасности для при-

родных экосистем, чем те, которые существуют сейчас при широком использовании однолетнего сортифта.

Если первые три источника снижения биологического и генетического разнообразия можно рассматривать скорее в теоретическом контексте, то неблагоприятные последствия использования монокультуры и ограниченного сортового разнообразия мы имеем возможность наблюдать в действительности. История существования этих источников неблагоприятных последствий для окружающей среды столь же длинна, как и история развитого сельскохозяйственного производства. И «вина» трансгенных культур в развитии этих нежелательных процессов состоит не столько в их происхождении, сколько в их успешности при конкурировании с уже используемыми в производстве сортами растений, созданными традиционными методами.

Совершенно естественно стремление производителей сельскохозяйственной продукции выращивать наиболее прибыльные культуры и наиболее продуктивные и доходные сорта растений. Однако такое стремление однажды приводит к серьезным, а порой катастрофическим последствиям: монокультура ведет к возрастанию опасности развития болезней и увеличения численности вредителей. Снижение генетического разнообразия за счет предпочтения немногих сортов еще более увеличивает эту опасность и в результате приводит к снижению адаптивных возможностей популяции сельскохозяйственной монокультуры.

В Европе до сих пор вспоминают последствия эпифитотии фитофтороза картофеля (*Phytophthora infestans* Mont. (De Bary)) 1845 года, поразившего практически всю Европу и США. Особенно тяжело пострадала Ирландия – страна, где картофель был основной культурой и важнейшим продуктом питания. Картофель, выращиваемый в Ирландии, представлял собой потомство первой интродукции в Европу картофеля чилийского происхождения, имевшего небогатую генетическую базу. Он оказался совершенно беззащитным перед новым патогеном, проникшим в Европу из другой части Американского континента. В результате голода, вызванного гибелью посадок картофеля, численность населения Ирландии в те годы сократилась почти на 2,5 млн. человек из-за высокой смертности населения и вынужденной эмиграции [Abad, 1995].

Имеются примеры и более близких в историческом плане событий, связанных с монокультурой ограниченного количества сортов, хотя и не такие трагические, но, тем не менее весьма неприятные. В 1970 году шестая часть посевов кукурузы в США (в том числе половина посевов в южных штатах) погибла из-за поражения невероятно размножившимся вредителем *Helminthosporium (Cochliobolus) maydis* [Porceddu, 2001]. В Индонезии в конце 70-х годов прошлого века из-за нашествия дельфаид (*Delphacidae*) полностью погибли плантации риса (основной культуры этой страны), которые были представлены практически одним-единственным сортом. Это стало одной из основных причин голода в индонезийской провинции Ломбук [<http://www.oxfam.org.uk/>].

В настоящее время из трех тысяч видов растений, которые когда-либо выращивал человек, культивируются только 150. И менее 20 из них являются источниками питания для большей части мира. 60% калорий и 56% протеинов человечеству поставляют всего три культуры – пшеница, кукуруза и рис [Porceddu, 2001]. Поэтому очень важно сохранить генетическое разнообразие, обеспечивающее экологическую пластичность и далеко не исчерпавший себя селекционный потенциал хотя бы тех культур, которые ныне активно эксплуатируются человеком.

Источником генетического разнообразия могут быть местные сорта и расы выращиваемых культур и их дикие предки (внутривидовое разнообразие) или представители родственных видов (межвидовой источник разнообразия). Например, источником устойчивости к упоминавшемуся выше вредителю кукурузы (*Zea mays*) *Helminthosporium*

maydis является другой вид кукурузы *Z. diploperennis*, до сих пор культивируемый в некоторых районах Мексики. Вместе с несколькими другими видами (*Z. mexicana*, *Z. mays* ssp. *Parviglumis* и *Z. perennis*) он известен под общим названием Теосинте [Hernandez, 1996; Porceddu, 2001]. Еще один вид кукурузы, также произрастающий в Мексике, *Z. tripsacum*, представляет собой практически не тронутый источник устойчивости кукурузы к ряду биотических и абиотических стрессов [Hoisington et al., 1999]. Один из диких видов пшеницы, обитающий в Турции (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*), является источником генов резистентности к нескольким болезням, в том числе к бурой ржавчине (*Puccinia recondita*), погубившей однажды треть полей пшеницы в штате Монтана (США) [Porceddu, 2001].

Как показало изучение аллельного разнообразия кукурузы, из 163 идентифицированных аллелей, принадлежащих к 23 локусам 34 различных мексиканских рас кукурузы, только 11 % аллелей присутствует во всех расах. Они же есть и у 30 наиболее популярных инбредных линий кукурузы, которые являются родительскими формами практически всех гибридов, в настоящее время выращиваемых в США. 60% аллелей встречаются с очень малой частотой (порядка 0,01). В элитных инбредных линиях сохраняются не более двух из этих редких аллелей [Doelby et al., 1985].

Ежегодно аллельное богатство, предоставляемое местными расами и сортами, безнадежно теряется. Так, по сообщениям ЕАО, к 1996 году в связи с распространением современных интенсивных сортов исчезло более тысячи местных рас основных сельскохозяйственных культур. В более чем 80 из 154 исследованных стран мира замена местных сортов достигла критического значения для их существования. А монокультура кукурузы стала угрозой генетическому и биологическому разнообразию агросреды в сельскохозяйственном производстве Коста-Рики, Чили, Малайзии, Филиппин и Таиланда [<http://www.oxfam.org.uk/>].

Наибольшее разнообразие местных форм и рас наблюдается в центрах происхождения и генетического разнообразия сельскохозяйственных растений. За редким исключением (например, в случае пшеницы) центры происхождения сельскохозяйственных культур являются и местами их наибольшего генетического разнообразия. Большинство сельскохозяйственных растений имеют лишь один или небольшое число центров генетического разнообразия. Еще в 1935 году Н.И. Вавилов [Вавилов, 1987] выделял восемь таких центров, семь из которых сегодня территориально совпадают с регионами развивающихся стран мира (табл. 6.5).

Таблица 6.5

Центры происхождения и генетического разнообразия некоторых наиболее важных сельскохозяйственных культур (по Вавилову, 1987)

Центры происхождения и генетического разнообразия сельскохозяйственных культур	Наиболее важные сельскохозяйственные культуры (хлебные злаки, зернобобовые, овощные, плодовые, масличные, сахароносы, прядильные и некоторые другие)
<p>I Китайский (Центральный и Западный Китай, Восточный Китай и Япония)</p> <p>Важнейший центр эндемичных проса, гречихи, сои и других зернобобовых, необыкновенное богатство плодовых, в частности цитрусовых. Центр выделяется по богатству эндемичных видов, по величине видового и родового потенциала культурных растений</p>	<p>Просо (<i>Panicum miliaceum</i> L., <i>P. italicum</i> L.), голозерные и безостые ячмени (<i>Hordeum hexastichum</i> L.), кукуруза (<i>Zea mays</i> L. вторичный центр богатейшего разнообразия восковых кукуруз), гречиха (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench., <i>F. tataricum</i> Gaertn), соя (<i>Glycine hispida</i> Maxim), вигна (<i>Vigna sinensis</i> Endl.), редька и редька масличная (<i>Raphanus sativus</i> L. и <i>R. sativus</i> var. <i>olieifera</i> Metzg.), турнепс (<i>Brassica rapa</i> L.), огурец (<i>Cucumis sativus</i> L., <i>C. chinensis</i> Pang.), листовые салаты (<i>Lactuca</i> sp.), баклажан (<i>Solanum melongena</i> L.), груша (<i>Pyrus serotina</i> Rehd., <i>P. ussuriensis</i> Maxim), яблоня китайская (<i>Malus asiatica</i> Nakai), персик (<i>Prunus persica</i> L., <i>P. davidiana</i> Franch.), абрикос (<i>P. armeniaca</i> L.), слива (<i>P. salicina</i> Lindl., <i>P. simonii</i> Carr.), вишня (<i>P. tomentosa</i> Thunb.), апельсин (<i>Citrus sinensis</i> Osb.) и ряд других цитрусовых (всего 9 культивируемых видов), сахарный тростник (<i>Saccharum sinense</i> Roxb.), конопля (<i>Canabis sativa</i> L.)</p>

Центры происхождения и генетического разнообразия сельскохозяйственных культур	Наиболее важные сельскохозяйственные культуры (хлебные злаки, зернобобовые, овощные, плодовые, масличные, сахароносы, прядильные и некоторые другие)
<p>II Индийский и Индо-Малайский (полуостров Индостан за исключением Северо-западных районов, Бирма, страны Индокитая) Малайский архипелаг, Ява, Борнео, Суматра, Филиппины</p> <p>Родина риса и сахарного тростника, большого числа зернобобовых и многих тропических плодовых, включая манго и цитрусовые</p>	<p>Рис (<i>Oriza sativa</i> L.), сорго (<i>Andropogon sorghum</i> Brot.), вигна (<i>Vigna sinensis</i> Endl), баклажан (<i>Solanum melongena</i> L.), огурец (<i>Cucumis sativus</i> L., <i>C. Hardwickii</i> Royle.), манго (<i>Mangifera indica</i> L.), апельсин (<i>Citrus sinensis</i> Osb.), лимон (<i>C. limon</i> Burm.) и ряд других цитрусовых (всего 10 культивируемых видов), сарептская горчица (<i>Brassica juncea</i> Czern.), банан (<i>Musa cavendishii</i> Lamb., <i>M. Paradisica</i> L., <i>M. sapientum</i> L., <i>M. textilis</i> Nee.), сахарный тростник (<i>Saccharum officinarum</i> L.), кокосовая пальма (<i>Cocos nucifera</i> L.), конопля (<i>Canabis indica</i> L.)</p>
<p>III Среднеазиатский (Северо-западная Индия (включая Пенджаб и Кашмир), Афганистан, Таджикистан, Узбекистан, Западный Тянь-Шань)</p> <p>Родина мягкой пшеницы (наибольший сортовой потенциал), родина карликовой и круглозерной пшеницы, родина всех важнейших зерновых бобовых (исключительное разнообразие генов)</p>	<p>Пшеницы (в т. ч. мягкие пшеницы <i>Triticum vulgare</i> Vill., <i>T. compactum</i> Host., <i>T. spaerococcum</i> Perc.), рожь (<i>Secale cereale</i> L.), горох (<i>Pisum sativum</i> L.), бобы (<i>Vicia faba</i> L.), горчица (<i>Brassica juncea</i> Czern.), индау (<i>Eruca sativa</i> L.), лен (<i>Linum usitatissimum</i> L.), конопля (<i>Canabis indica</i> Lam.), хлопчатник (<i>Gossypium herbaceum</i> L.), морковь (<i>Daucus carota</i> L.), репа (<i>Brassica campestris</i> L. subv. <i>rapifera</i> Metzg.), редис (<i>Raphanus sativus</i> L.), репчатый лук (<i>Allium sepa</i> L., <i>A. pskemense</i>, Fedtsch., <i>A. vavilonii</i> Vved.), чеснок (<i>A. sativum</i> L., <i>A. longicuspis</i> E.Regel), абрикос (<i>Prunus armeniaca</i> L.), груша (<i>Pyrus communis</i> L. и еще 4 диких вида), яблоня (<i>Malus pumila</i> Mill. большое разнообразие в диком виде и культуре), миндаль (<i>Amygdalus communis</i> L. дико и в культуре, необыкновенное разнообразие), виноград (<i>Vitis vinifera</i> L. дико и в культуре), грецкий орех (<i>Juglans regia</i> L. в культуре и дико).</p>
<p>IV Переднеазиатский (Передняя Азия, включая внутренние районы Малой Азии, Закавказье, Иран, Горный Туркменистан)</p> <p>Исключительное богатство видов культурных пшениц (в том числе 9 эндемичных видов), основная родина ржи. Мировой потенциал плодородия умеренной зоны, мировое богатство дынь. Передняя Азия – родина важнейших кормовых трав (люцерны, клевера, вики, пажетника, эспарцета и др.)</p>	<p>Пшеницы (в т.ч. культурные однозернянки <i>Triticum monoccum</i> L., твердые пшеницы <i>T. Durum</i> subsp. <i>Expansum</i> Vav., мягкие безостые <i>T. vulgare</i> Vill. и ряд других, большое число эндемичных видов <i>Aegilops</i>), двурядный ячмень (<i>Hordeum distichum</i>), рожь (<i>Secale cereale</i> L. и еще 4 диких вида), овес (<i>Avena byzantina</i> C. Koch., <i>A. sativa</i> L.), горох (<i>Pisum sativum</i> L.), люпин (<i>Lupinus pilosus</i> L., <i>L. angustifolius</i> L., <i>L. albus</i> L.), лен (<i>Linum usitatissimum</i> L.), горчица черная (<i>Brassica nigra</i> L.) и сарептская (<i>B. juncea</i> Czern. var. <i>sareptana</i> Sinsk), индау (<i>Eruca sativa</i> L. var. <i>orientalis</i> Sinsk), дыня (<i>Cucumis melo</i> L. и дикие виды), тыква (<i>Cucurbita pepo</i> L.), морковь (<i>Daucus carota</i> L.), капуста (<i>Brassica oleracea</i> L.), свекла (<i>Beta vulgaris</i> L.), салат-латук (<i>Lactuca sativa</i> L.), гранат (<i>Punica granatum</i> L.), яблоня (<i>Malus pumila</i> Mill), груша (<i>Pyrus communis</i> L. и ряд других видов), черешня (<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench.), абрикос (<i>Prunus armeniaca</i> L.), миндаль (<i>Amygdalus communis</i> L. и другие виды), грецкий орех (<i>Juglans regia</i> L.), лещина (<i>Corylus avellana</i> L. в культуре и дико, есть еще 4 диких вида), виноград (<i>Vitis vinifera</i> L. дико и в культуре. Огромное разнообразие форм)</p>
<p>V Средиземноморский (страны Европы, Азии и Африки, прилегающие к Средиземному морю)</p> <p>Родина маслины и большого числа овощных культур, включая свеклу, многих кормовых культур. По овощным культурам – важнейший мировой очаг наравне с Китайским. Формы, происходящие из этого центра отличаются крупнозерностью и крупноплодностью.</p>	<p>Пшеницы (в т.ч. твердые пшеницы <i>Triticum Durum</i> subsp. <i>Expansum</i> Vav., а также <i>T. dicoccum</i> Schrank., <i>T. polonicum</i> L., <i>T. spelta</i> L.), овес (<i>Avena byzantina</i> C. Koch., <i>A. brevis</i> Roth, <i>A. strigosa</i> Schreb.), крупнозерный ячмень (<i>Hordeum sativum</i> Jess), горох (<i>Pisum sativum</i> L.), бобы (<i>Vicia faba</i> L.), люпин (<i>Lupinus luteus</i> L., <i>L. angustifolius</i> L., <i>L. albus</i> L., <i>L. termis</i> Forskal), лен (<i>Linum usitatissimum</i> L. subsp. <i>Mediterraneum</i> Vav., <i>L. angustifolium</i> Huds., рапс (<i>Brassica napus</i> L. subsp. <i>oleifera</i> Metzg.), белая и черная горчицы (<i>Brassica alba</i> L. и <i>B. nigra</i> L.), сурепица (<i>B. campestris</i> L. subsp. <i>oleifera</i> Metzg.), индау (<i>Eruca sativa</i> L.), маслина (<i>Olea europea</i> L.), свекла (<i>Beta vulgaris</i> L. очень разнообразна, есть дикий подвид <i>B. vulgaris</i>.ssp. <i>maritima</i>), капуста (<i>Brassica oleracea</i> L. очень большое разнообразие, есть еще 3 диких вида), репа (<i>Brassica campestris</i> L. subvar. <i>rapifera</i> Metzg.), брюква (<i>Brassica napus</i> L. var. <i>rapifera</i> Metzg.), лук (<i>Allium sepa</i> L.), чеснок (<i>Allium sativa</i> L.), салат-латук (<i>Lactuca sativa</i> L.), сельдерей (<i>Apium graveolens</i> L. в культуре и дико)</p>
<p>VI Абиссинский (Эфиопия, Эритрея, Сомали)</p> <p>На первом месте по числу ботанических разновидностей пшениц. Центр формирования культурного ячменя.</p>	<p>Пшеницы (в.ч. твердая <i>Triticum Durum</i> subsp. <i>abyssinicum</i> Vav., <i>T. tigrinum</i> subsp. <i>abyssinicum</i> Vav. исключительное разнообразие форм, <i>T. dicoccum</i> subsp. <i>abyssinicum</i> Stol., <i>T. polonicum</i> subsp. <i>abyssinicum</i> Vav), ячмень (<i>Hordeum sativum</i> Jess исключительное разнообразие форм), сорго (<i>Andropogon sorghum</i> Link), горох (<i>Pisum sativum</i> L.), бобы (<i>Vicia faba</i> L.), люпин (<i>Lupinus termis</i> Forskal), лен (<i>Linum usitatissimum</i> L.), кофейное дерево (<i>Coffe Arabica</i> L.), лук (<i>Allium sepa</i> L.), абиссинский банан (<i>Musa ensete</i> J.F.Gmel)</p>

Центры происхождения и генетического разнообразия сельскохозяйственных культур	Наиболее важные сельскохозяйственные культуры (хлебные злаки, зернобобовые, овощные, плодовые, масличные, сахароносы, прядильные и некоторые другие)
<p>VII Южномексиканский и Центральноамериканский (Мексика, Гватемала, Гондурас, Коста-Рика, Антильские острова)</p> <p>Несомненный основной очаг происхождения кукурузы и одного из видов хлопчатника. Родина основных видов фасоли, тыква, перца, многих тропических плодовых</p>	<p>Кукуруза (<i>Zea mays</i> L и еще несколько видов, культивируемых под общим именем Теосинте), фасоль (<i>Phaseolus vulgaris</i> (L.) Savi., <i>Ph. multiflora</i> Willd., <i>Ph. lunatus</i> L. gr. <i>microspermus</i>, <i>Ph. acutifolius</i> A. Gray var. <i>latifolius</i> Freeman), тыква (<i>Cucurbita moschata</i> Duch, <i>C. melanosperma</i> Al. Braunn, <i>C. mixta</i> Pang.), батат (<i>Ipomea batatas</i> Poirlet), перец (<i>Capsicum annuum</i> L., <i>C. frutescens</i> L.), хлопчатник (<i>Gossypium hirsutum</i> L., <i>G. purpurascens</i> Poir.), папайя (<i>Carica papaya</i> L.), томат (<i>Lycopersicon cerasiforme</i> Dun), физалис (<i>Physalis aequata</i> Jacq.), какао (<i>Theobroma cacao</i> L.), табак (<i>Nicotiana rustica</i> L.)</p>
<p>VIII Южноамериканский</p> <p>VIIIa Андский Территории современных Перу, Боливии и Эквадора</p> <p>Большое разнообразие видов картофеля и ряда своеобразных клубненосных растений, культивируемых только в этой части земного шара</p>	<p>Картофель <i>Solanum andigena</i> Juz. et Buk. (48 хромосом) и <i>S. phureja</i> Juz. et Buk (24 хромосомы) и еще 14 культивируемых эндемичных видов картофеля разной ploидности, люпин (<i>Lupin mutabilis</i> Sweet.), крахмалистая кукурузы (<i>Zea mays</i> L. gr. <i>amylacea</i>), фасоль (<i>Phaseolus vulgaris</i> L., <i>P. lunatus</i> L. gr. <i>macrospertum</i> вторичный центр), тыква (<i>Cucurbita maxima</i> Duch.), хлопок (<i>Gossypium barbadense</i> L. (<i>G. peruvianum</i> Cav.)), табак (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)</p>
<p>VIIIb Чилоанский (Остров Чилоэ, расположенный у берегов южного Чили)</p> <p>Центр происхождения картофеля, в основном культивируемого в Европе</p>	<p>Картофель <i>Solanum tuberosum</i> L. (48 хромосом), земляника (<i>Fragaria chiloensis</i> Duchesne в диком состоянии)</p>
<p>VIIIc Бразильско-Парагвайский</p>	<p>Арахис (<i>Arachis hypogaea</i> L.), ананас (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.), какао (<i>Theobroma cacao</i> L.- вторичный центр, <i>T. grandiflora</i> K.Schum и другие виды), каучуковое дерево (<i>Hevea brasiliensis</i> Müll.)</p>

Опасность, связанная с генно-инженерными сортами, заключается в том, что они представляют несомненный интерес для увеличения объема сельскохозяйственной продукции развивающихся стран. Слабая законодательная база и отсутствие инфраструктуры в области биобезопасности в подавляющем большинстве этих стран не могут должным образом защитить от вытеснения местные сорта и расы. В результате они очень быстро могут быть потеряны из-за своей экономической неконкурентоспособности. Свою долю в снижение генетического разнообразия могут внести также последствия миграции трансгена и потенциальное повышение инвазивности некоторых трансгенных культур.

Одним из решений проблемы защиты генетических ресурсов планеты от экспансии генно-инженерных сортов может быть полное запрещение их ввоза и использования в центрах генетического разнообразия. Однако этот путь представляется малореальным и нерациональным. Ведь ГИО благодаря своим уникальным свойствам сегодня рассматриваются как один из основных источников решения проблемы голода в развивающихся странах. Кроме того, за счет своей высокой эффективности ГИО дают шанс сохранить от занятия под новые посевные площади и разрушения природные ландшафты развивающихся стран, значительная часть которых представлена богатейшими по видовому составу, но очень чувствительными к действию антропогенного фактора тропическими лесами.

Хотя распространение ГИО в центрах происхождения и генетического разнообразия видов и не приветствуется, проблему гармонизации экономической выгоды и сохранения биологического разнообразия в принципе можно решить без огульного запрещения ГИО. Сегодня мировое сообщество, международные организации, имеющие

щие отношение к биобезопасности (в том числе FAO, UNIDO, UNEP, CBD, OECD и некоторые другие), одну из основных задач видят в помощи развивающимся странам в создании национальных систем биобезопасности, которые позволили бы, не изолируя эти страны от достижений современной биотехнологии, защитить их биологическое (генетическое) разнообразие и сделать его доступным для мирового использования. Уже имеются первые плоды такой международной помощи и примеры удачного сотрудничества по вопросам биобезопасности международных и национальных организаций. В настоящее время принята и работает программа по сохранению генетического разнообразия в регионе происхождения кукурузы – Мексике.

Мексика, являющаяся центром генетического разнообразия одной из ведущих зерновых культур мира, одновременно считается уникальной страной по своему социальному и экономическому статусу, так как занимает промежуточное положение между развитыми и развивающимися странами мира по уровню экономики и развитию правовой базы и инфраструктуры, в том числе и в области биобезопасности. Кроме того, ее отличает непосредственная близость к основному источнику распространения генно-инженерных культур на сегодняшний день – США, что делает территорию Мексики легкодоступной для легального и нелегального проникновения ГИО. Поэтому эту страну можно рассматривать как модельную для изучения и развития системы биобезопасности в области рационального использования достижений современной биотехнологии и одновременного сохранения генетического разнообразия [Hernandez, 1996]. Основные позиции действующей в Мексике программы по защите генетического разнообразия, которые могут быть приняты и другими странами, следующие: 1) развитие соответствующих научных исследований в области экологической безопасности ГИО с участием специалистов различного профиля; 2) государственная поддержка фермеров, разводящих местные сорта и виды растений; 3) развитие собственного законодательства и государственных систем в области биобезопасности, включая создание системы мониторинга за используемыми на территории страны ГИО [Hernandez, 1996].

В Европе находится только один крупный центр происхождения и генетического разнообразия видов сельскохозяйственных растений – Средиземноморский. Еще один небольшой по площади центр генетического разнообразия свеклы охватывает регионы Великобритании и Франции, примыкающие к Ла-Маншу [Rissler, Mellon, 1993]. Поэтому для Центральной и Восточной Европы опасность, связанная с проникновением ГИО и вытеснением местных рас и сортов, не столь актуальна, как для большинства развивающихся стран и стран юго-запада Европы. Хотя и у нас существует немало местных сортов основных сельскохозяйственных культур восточноевропейского региона, которые являются ценными источниками адаптивных признаков для селекции на устойчивость к заболеваниям и неблагоприятным факторам среды и которые не должны быть утрачены. Тем не менее, наибольшую опасность для генетического и биологического разнообразия нашего региона могут представлять проблемы, связанные с монокультурой и другими факторами экологического риска использования генно-инженерных растений – миграцией трансгенов (на данном этапе развития генно-инженерных технологий в основном к сортам нетрансгенных растений), повышенной инвазивностью некоторых ГИО и нецелевым влиянием ГИО на виды-немишени. Поэтому при оценке экологического риска использования трансгенных сортов в связи с сохранением биологического и генетического разнообразия следует обращать внимание на вопросы, касающиеся этих факторов риска. Необходимо также уделять серьезное внимание предполагаемым методам и условиям выращивания генно-инженерных сортов (вопросам предупреждения риска).

* * *

В настоящее время исследования в области экологической безопасности генно-инженерной деятельности активно развиваются. Каждый год в Европе и Америке появляются очередные научные отчеты государственных и независимых экспертов по всесторонней оценке новых образцов генно-инженерных сельскохозяйственных растений. Публикуются научные статьи и проходят международные научные симпозиумы по таким направлениям изучения аспектов биобезопасности, как миграция генов, нецелое воздействие продуктов трансгена, разработка методов уменьшения селекционного прессинга трансгенных растений с пестицидными свойствами на популяции вредителя и другим вопросам, связанным с экологической безопасностью ГИО. В проведении исследований участвуют специалисты различного профиля – молекулярные биологи, генетики, экологи, экономисты, социологи и др. Это позволяет дать всестороннюю, глубокую и объективную научную оценку предполагаемого или уже имеющегося воздействия ГИО на окружающую среду и ее отдельные компоненты.

К сожалению, не на все вопросы, связанные с обеспечением экологической безопасности ГИО, уже есть готовые однозначные и полные ответы. Однако накопленный к настоящему моменту опыт позволяет с уверенностью сказать, что существующие факторы риска, связанные с высвобождением конкретных ГИО в окружающую среду, носят, за редким исключением, лишь потенциальный характер и в реальных условиях окружающей среды не несут каких-либо серьезных негативных последствий. Как правило, претензии, высказываемые в научной прессе в отношении безопасного коммерческого использования ГИО, имеют обобщающий характер и являются скорее предположениями, чем утверждениями возможности возникновения неблагоприятных эффектов. Тем не менее, исходя из принципа принятия мер предосторожности, чтобы исключить или уменьшить даже предполагаемое негативное влияние ГИО, все аспекты, связанные с его природой и условиями высвобождения, тщательно изучаются и учитываются. Большое внимание уделяется исследованию биологии и экологии не только групп растений и животных, которые уже модифицированы и предлагаются к использованию, но и тех, которые пока что являются только кандидатами на проведение генно-инженерных модификаций и коммерческое использование в будущем. Разрабатываются методы, позволяющие не только максимально уменьшить, но и полностью исключить действие факторов риска как на уровне самих ГИО (например, генно-инженерные методы, обеспечивающие тканеспецифичную экспрессию генов), так и на уровне управления риском в условиях окружающей среды (например, методы, предотвращающие миграцию гена). Уделяется внимание разработке методик, которые позволят более точно проследить судьбу трансгена в природе, наиболее полно выявить взаимосвязи ГИО с другими объектами экологической системы.

Имеющийся опыт использования ГИО в сельском хозяйстве и других областях человеческой деятельности, накопленный в течение прошедших с начала применения ГИО 20–30 лет, свидетельствует не столько об опасности использования трансгенных организмов для окружающей среды, сколько о их природоохранном эффекте. Выращивание трансгенных растений позволяет значительно сократить расходы трудовых, энергетических и водных ресурсов, использовать щадящие технологии возделывания почвы. Не вызывает сомнений, что уменьшение в несколько раз количества обработок полей пестицидами имеет благотворный эффект на состояние окружающей среды и видовое разнообразие в пределах агросреды. Подсчитано, что увеличение площадей посевов Вt-культур на 10% автоматически приводит к уменьшению расходов инсектицидов на 8%. Это эквивалентно уменьшению ежегодно используемых в мире инсектицидов (в пересчете на активное вещество) на 49,4 млн. килограмм [Whalon, Norris,

1999]. Кроме того, трансгенные растения с инсектицидными свойствами позволяют ограничить действие инсектицида рамками поля и предохранить от загрязнения прилегающие к полям участки и природные экосистемы. Это то, что мы имеем на сегодняшний день.

Ведутся работы по созданию генно-инженерных растений и микроорганизмов, которые позволят эффективно очищать почву и водоемы от загрязнения различными химическими веществами. В недалеком будущем биотехнология должна послужить делу сохранения редких исчезающих видов растений и животных, а также сохранения и восстановления целых экосистем. Таким образом, генно-инженерную деятельность следует рассматривать не как угрозу окружающей среде, а скорее как средство ее защиты и рационального использования.

Тем не менее, не следует полностью исключать вероятность возникновения неблагоприятных влияний на окружающую среду и жизнедеятельность человека отдельных случаев использования ГИО. Своевременная оценка риска и принятие необходимых мер безопасности, начиная с применения специальных методик создания и использования ГИО и кончая государственным регулированием в области генно-инженерной деятельности, призваны свести к минимуму или полностью предотвратить неблагоприятные последствия использования ГИО для человека и окружающей среды.

Литература к главе 6

- Айала Ф., Кайгер Дж.* Современная генетика: В 3 т.: Пер. с англ. М.: Мир, 1988. Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции растений // Теоретические основы селекции. М.: Наука, 1987. – 512 с.
- Вехов В.Н., Губанов И.А., Лебедева Г.Ф.* Культурные растения СССР. М.: Мысль, 1978. – 336 с.
- Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология: В 3 т.: Пер с англ. / Под ред. Р. Сопера. М.: Мир, 1990.
- Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г.* Миры геномов органелл. Минск: Технология, 2003. – 494 с.
- Жизнь растений. Т. 5: Цветковые растения. Ч. 1 / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1981. – 430 с.*
- Жизнь растений. Т. 5: Цветковые растения. Ч. 2 / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1981. – 511 с.*
- Жизнь растений. Т. 6: Цветковые растения / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1982. – 543 с.*
- Мэтьюз Р.* Вирусы растений: Пер с англ. / Под ред. И. Атабекова М.: Мир, 1973. – 600 с.
- Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В.* Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1969. – 408 с.
- Abad G.* Historical and scientific evidences that support the modern theory of the peruvian Andes as center of origin of *Phytophthora infestans* // Proc. of Seminar presented at the International Potato Center (CIP), March 28 th, 1995. 1995. P. 1–4.
- AgBios, Principles and Practice of Environmental Safety Assessment of Transgenic Plants. Part No. AGBESAM-01-099B Agriculture and Biotechnology Strategies (Canada) Inc.(MON 810 Case Study), 2001. – 147 p. (см. также AgBios Date Base. MON 810 Environmental Risk Assessment Case Study.
http://www.agbios.com/static/books/esa_mon810_preface.html.)
- Alestran P.* Genetically modified fish in future aquaculture: technical, environmental and management considerations // Biotechnology seminar paper, 1996. ISNAR Biotechnology service. 2001. P. 81–85.
- Allison R.F., Schneider W.L., Deng M.* Risk assessment of virus-resistant transgenic plants // J. Schiemann, R. Casper (eds.) Proceedings of the 5th International Symposium on Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. Braunschweig, 1999.
- APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service) APHIS field tests permits. [Online]. 1996 (<http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/index.html>).
- Baker H.* Characteristics and modes of origin of weeds // H.G. Baker, G.L. Stebbins (eds.) The Genetics of Colonizing Species. New York: Academic Press, 1965. P. 147–168.

- Barber K.N., Kaupp W.J., Kreutzweiser D.P. et al. Environmental assessment of genetically engineered insect viruses in Canadian forestry. Canadian Forest Service press, 2003 (<http://www.i-sis.org.uk/GMMINA.php>).
- Bartsch D., Lehnen M., Clegg J. et al. Impact of gene flow from cultivated beet on genetic diversity of wild sea beet populations // *Mol. Ecol.* 1999. Vol. 8, No. 10. P. 1733–1741.
- Bertolla F., Simonet P. Horizontal gene transfers in the environment: natural transformation as a putative process for gene transfers between transgenic plants and microorganisms // *Res. in Microbiol.* 1999. Vol. 150. P. 375–384.
- Borja M., Rubio T., Scholthof H.B., Jackson A.O. Restoration of wild-type virus by double recombination of tombusvirus mutants with a host transgene // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1999. Vol. 12. P. 153–162.
- Bourdin D., Lecoq H. Evidence that heteroencapsidation between two potyviruses is involved in aphid transmission of a non aphid transmissible isolate from mixed infection // *Phytopathol.* 1991. Vol. 28. P. 1459–1464.
- CBD (Convention on Biological Diversity). 1992. Montreal, Canada: Unated Nations Environmental Program (UNEP), Secretariat on Biological Diversity (<http://www.biodiv.org/doc/legal/cbd-en.pdf>).
- Cohen M.B., Gould F., Bentur J.S. Bt rice: practical steps to sustainable use // *International Rice Res. Not.* 2000. Vol. 25. No. 2. P. 4–10.
- Crawley M.J., Hails R.S., Rees M. Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats // *Nature.* 1993. Vol. 363. P. 620–623.
- Crawley M.J., Brown S.L., Hails R.S. et al. Transgenic crops in natural habitats // *Nature.* 2001. Vol. 409. P. 682–683.
- Dale P.J., Clarke B., Fontes E.M.G. Potential for the environmental impact of transgenic crops // *Nat. Biotechnol.* 2002. Vol. 20. No. 6. P. 567–574.
- Dalmay T., Rubino L., Burgyan J., Russo M. Replication and movement of a coat protein mutant of cymbidium ringspot tombusvirus // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1992. Vol. 5. P. 379–383.
- DeGray G., Rajasekaran K., Smith E et al. Expression of an antimicrobial peptide via the chloroplast genome to control phytopathogenic bacteria and fungi // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 127, No. 3. P. 852–862.
- Doebley J.F., Goodman M.M., Stuber C.W. Isozyme variation in the races of corn from Mexico // *Amer. J. of Botany.* 1985. Vol. 72. P. 629–639.
- Eastham K., Sweet J. Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. A review and interpretation of published literature and recent/current research from the ESF 'Assessing the Impact of GM Plants'(AIGM) programme for the European Science Foundation and the European Environment Agency. Environmental issue report No. 28. EEA. Copenhagen, 2002. – 75 p.
- Ellstrand N. Gene flow by pollen – implications for plant conservation genetics // *OIKOS.* 1992. Vol. 63. No. 1. P. 77–86.
- Ellstrand N. When transgenes wander, should we worry? // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 125. P. 1543–1545.
- Ellstrand N.C., Prentice H.C, Hancock J.F. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives // *Ann. Rev. of Ecol. and Syst.* 1999. Vol. 30. P. 539–563.
- Ellstrand N.C., Schierenbeck K.A. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000. Vol. 97, No. 13. P. 7043–7050.
- EPA and USDA Position Paper on Insect Resistance Management in Bt Crops, 5/27/99 (minor revisions 7/12/99). (http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/otherdocs/bt_position_paper_618.htm).
- EU Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC // *Off. J. Eur. Commun.* 2001. L106. P. 1–23.
- Falk B.W., Passmore B.K., Watson M.T., Chin L.-S. The specificity and significance of heterologous encapsidation of virus and virus-like RNAs // D.D. Bills, S.-D. Kung (eds.). *Biotechnology and Plant Protection: Viral pathogenesis and disease resistance.* World Scientific, Singapore, 1995. P. 391–415.
- Feil B., Stamp P. The pollen-mediated flow of transgenes in maize can already be controlled by cytoplasmic male sterility. (ABN 099). November 2002. CAB International, 2003. (<http://www.agbiotech.net>).
- Fletcher G.L., Goddard S.V., Shears M., Sutterlin A., Hew C.L. Transgenic salmon: potential and hurdles // J.P.Toutant, E.Balazs (eds.). *Molecular Farming (Proceedings of the OECD Workshop held in La Grande Motte (France), September 3–6, 2000.*

- Gal S., Pisan B., Hohn T., Grimsley N., Hohn B. Agroinfection of transgenic plants leads to viable cauliflower mosaic virus by intermolecular recombination // *Virology*. 1992. Vol. 187. P. 525-533.
- Gebhard F., Smalla K. Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer // *FEMS Microbiological Ecology*. 1999. Vol. 28. P. 261-272.
- Giddings G.D. Transgenic plants as protein factories // *Current Opinion in Biotechnology*. 2001. Vol.12. No. 5. P. 450-454.
- Giddings G.D., Hammilton N.R.S., Hayward M.D. The release of genetically modified grasses. Part 2: The influence of wind direction on pollen dispersal // *Theoret. and Appl. Gen.* 1997. Vol. 94. P. 1007-1014.
- Greene A.E., Allison R.F. Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts // *Science*. 1994. Vol. 263. P. 1423-1425.
- Greene A.E., Allison R.F. Deletions in the 3.untranslated region of cowpea chlorotic mottle virus transgene reduce recovery of recombinant viruses in transgenic plants // *Virology*. 1996. Vol. 225. P. 231-234.
- Gressel J. Tandem constructs: preventing the rise of superweeds // *Trends in Biotechnol.* 1999. Vol. 17. P. 361-366.
- Grumet R. Genetic engineering for crop virus resistance // *Hort. Science*. 1995. Vol. 30. P. 449-456.
- Halfhill M.D., Richards H.A., Mabon S.A., Stewart C.N. Expression of GFP and Bt transgenes in *Brassica napus* and hybridization with *Brassica rapa* // *Theoret. and Appl. Gen.* 2001. Vol. 103. P. 659-667.
- Halfhill M.D., Millwood R.J., Raymer P.L., Stewart C.N. Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative *Brassica rapa* // *Environ. Biosafety Res.* 2002. Vol. 1. P. 19-28.
- Hall G. Environmental release of genetically modified Rhizobia and mycorrhizas // *Genetically Modified Organisms. A Guide to Biosafety/* Ed. T. Tzotzos. CABI, Wallingford, UK, 1995. P. 64-92.
- Hall L., Topinka K., Huffman J. et al. Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers // *Weed Science*. 2000. Vol. 48. P. 688-694.
- Hayes K. Environmental Risk Assessment for GMO's. CSIRO Biodiversity sector - GMO risk assessment initiative. 2002. P. 1-35 (<http://www.agbiotech.net>).
- Hellmich R.L., Siegfried B., Sears M.K. et al. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *PNAS Early Edition*. 2001. P. 1-6 (<http://www.w.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211297698>).
- Henry C.M., Barker I., Pratt M. et al. Risks associated with the use of genetically modified virus tolerant plants. A report to the Ministry of Agriculture Fisheries and Food (MAFF), United Kingdom, 1995.
- Hernandez J.A.S. Evaluation of novel crop varieties in their center of origin and diversity: the case of maize in Mexico // *Biotechnology seminar paper*, 1996. ISNAR Biotechnology service, 2001. P. 68-73.
- Hilbeck A., Baumgartner M., Fried P.M., Bigler F. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (*Neuroptera:Chrysopidae*) // *Environ. Entomol.* 1998. Vol. 27. P. 480-487.
- Hirst G.K. Genetic recombination with Newcastle disease virus, poliovirus and influenza // *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 1962. Vol. 27. P. 303-308.
- Hoisington D., Khairallah M., Reeves T. et al. Plant genetic resources: what can they contribute toward increased crop productivity // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999. Vol. 96, No. 11. P. 5937-5943.
- Hokkanen H.M.T., Wearing C.H. Assessing the risk of pest resistance evolution to *Bacillus thuringiensis* engineered into crop plants: a case study of oilseed rape // *Field Crops Res.* 1995. Vol. 45. P. 171-179.
- Houdebine L.-M. The last three years in animal transgenesis // J.P.Toutant, E.Balazs (eds.). *Molecular Farming* (Proceedings of the OECD Workshop held in La Grande Motte (France), September 3-6, 2000).
- Hoy C. Colorado potato beetle resistance management strategies for transgenic potatoes // *Amer. J. of Potato Res.* 1999. Vol. 76, No. 4. P. 215-219.
- Hudson L.C., Chamberlain D., Stewart C.N. Jr. GFP-tagged pollen to monitor pollen flow of transgenic plants // *Mol. Ecol. Notes*. 2001. Vol. 1. P. 321-324.
- ISIS Press Release GM Microbes Invade North America, 2003. (<http://www.i-sis.org.uk/GMMINA.php>)

- Kendall R.J., Lacher T.E.Jr., Bunck Ch. et al. An ecological risk assessment of lead shot exposure in non-waterfowl avian species: upland game birds and raptors // *Environ. Toxicol. and Chem.* 1996. Vol. 15, No. 1. P. 4-20.
- Kwong Y. W., Kim D. Herbicide-resistant genetically-modified crop: its risks with an emphasis on gene flow // *Weed Biol. and Management.* 2001. Vol. 1. P. 42-52.
- Lecoq H., Ravelonandr M., Wipf-Scheibel Monision M. et al. Aphid transmission of a non-aphid transmissible strain of zucchini yellow mosaic potyvirus from transgenic plants expressing the capsid protein of plum poxvirus // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1993. Vol. 3. P. 301-307.
- Levidow L. Precautionary risk assessment of Bt maize: what uncertainties? // *J. of Invertebrate Pathol.* 2003. Vol. 83. P. 113-117 (<http://www.elsevier.com/locate/yjipa>).
- Levin M. Microbial pesticides: safety conditions // *Genetically Modified Organisms. A Guide to Biosafety* / Ed. T. Tzotzos. CABI, Wallingford, UK, 1995. P. 93-109.
- Linder C.R. Potential persistence of transgenes: seed performance of transgenic canola and wild canola hybrids // *Ecol. Applicat.* 1998. Vol. 894. P. 1180-1195.
- Lomonosoff G.P. Pathogen-derived resistance to plant viruses // *Ann. Rev. of Phytopathol.* 1995. Vol. 33. P. 323-343.
- Losey J.E., Rayor L.S., Carter M.E. Transgenic pollen harms monarch larvae // *Nature.* 1999. Vol. 399. P. 214.
- Mann C.C., Plummer M.L. Can genetic engineering help restore "heritage" trees? // *Science.* 2002. Vol. 295, No. 5560. P. 1628.
- McGaughey W.H., Whalon M.E. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins // *Science.* 1992. Vol. 258. P.1451-1455.
- Metz P.L.J., Jacobsen E., Stiekema W.J. Aspects of the biosafety of transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) // *Acta Bot. Neerl.* 1997. Vol. 46, No. 1. P. 51-67.
- Mikkelsen T.R., Andersen B., Jorgensen R.B. The risk of crop transgene spread // *Nature.* 1996. Vol. 380. P. 31.
- 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 // *PNAS.* 1999. Vol. 96, No. 24. P. 13853- 13856 (<http://www.pnas.org>).
- Mullin T.J., Bertrand S. Environmental release of transgenic trees in Canada - potential benefits and assessment of biosafety // *The Forestry Chronicle.* 1998. Vol. 74, No. 2. P. 203-219.
- Nielsen K. M., Gebhard F., Smalla K. et al. Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413 // *Theor. Appl. Genet.* 1997. Vol. 95. P. 815- 821.
- Nielsen K.M., Bones A.M., Smalla K., van Elsas J.D. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria - a rare event? // *FEMS Microbial Rev.* 1998. Vol. 22. P. 79-103.
- Nielsen K.M., van Elsas J.D., Smalla K. Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 (pFG4nptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66. P. 1237-1242.
- Niiler E. GM corn poses little threat to Monarch // *Nat. Biotechnol.* 1999. Vol.17. P.1 154.
- Noordam M.Y., Kok E.J., Kuiper H.A. Novel foods and feed - regulatory aspects // *Report of the Demonstration Programme on Food Safety Evaluation of Genetically Modified Food as a Basis for Market Introduction* / Ed. M. Horning. The Hague, Ministry of Economic Affairs, 1998. P. 21-36.
- Oberchauser K.S., Prysby M.D., Mattila H.R. et al. Temporal and spatial overlap between Monarch larvae and corn pollen. *PNAS Early Edition.* 2001. P.1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211234298>).
- Orson J. Gene stacking in herbicide tolerant oilseed rape: lessons from the North American experience. *English Nature Research Reports No 443* // *English Nature.* 2002. P. 2-17.
- Palm C.J., Seidler R.J., Donegan K.K., Harris D. Transgenic plant pesticides: fate and persistence in soil // *Plant Physiol.* 1993. Supplement 102. P. 166.
- Pilate G., Guiney E., Holt K et al. Field and pulping performances of transgenic trees with altered lignification // *Nat. Biotechnol.* 2002. Vol. 20, No. 6. P. 607-612.
- Pleasants J.M., Hellmich R.L., Dively G.P. et al. Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *PNAS Early Edition,* 2001. P. 1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211287498>).
- Powell D. Safety in the contained use and release of transgenic animals and recombinant proteins // *Genetically Modified Organisms. A Guide to Biosafety* / Ed. G.Tzotzos. CABI, Wallingford, UK, 1995. P. 110-146.

- Powell-Abel P., Nelson R.S., De G. et al. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene // *Science*. 1986. Vol. 232. P. 738-763.
- Porceddu E. Biodiversity: scientific aspects and political issues // *J. of Plant Pathol.* 2001. Vol. 83, No. 2. Special issue. P. 63-74.
- Prysky M.D., Stanley-Horn E., Sears M.K. et al. Temporal and spatial overlap between Monarch larvae and corn pollen. PNAS Early Edition. 2001. P.1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211234298>).
- Ramachandran S., Buntin G.B., All J.N. et al. Survival, development and oviposition of resistant diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*) on transgenic canola producing a *Bacillus thuringiensis* toxin // *J. Econ. Entomol.* 1998a. Vol. 91, No. 6. P.1239-1244.
- Ramachandran S., Buntin G.D., All J.N. et al. Movement and survival of Diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*) larvae in mixtures of nontransgenic and transgenic canola containing a *CryIA(c)* gene of *Bacillus thuringiensis* // *Environ. Entomol.* 1998b. Vol. 27. P. 649-656.
- Rissler J., Mellon M. Perils amidst the promise. Ecological risks of transgenic crops in a global market. Union of Concerned Scientists. Cambridge UK, 1993. - 92 p.
- Sanford J.C., Johnston S.A. The concept of parasite-derived resistance: deriving resistance genes from the parasites own genome // *J. of Theoret. Biol.* 1985. Vol. 113. P. 395-405.
- Schluter K., Fütterer J., Potrykus I. Horizontal gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs - if at all - at an extremely low frequency // *Biotechnology*. 1995. Vol. 13. P. 94-98.
- Schuler T.H., Poppy G.M., Kerry B.R., Denholm I. Insect-resistant transgenic plants // *Tibtech*. 1998. Vol. 16. P. 168-175.
- Sears M.K., Hellmish R.L., Stanley-Horn D.E. et al. Impact of Bt corn pollen on Monarch butterfly populations: A risk assessment. 2001. P. 1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211329998>).
- Sharma H. C., Rodomiro O. Transgenics, pest management, and the environment // *Current Science*. 2000. Vol. 79, No. 4. P. 421-437.
- Shelton A., Tang J., Roush R. et al. Field tests on managing resistance to Bt-engineered plants // *Nat. Biotechnol.* 2000. Vol. 18, No. 3. P. 339-342.
- Slavov G. T., DiFazio S. P., Strauss S. H. Gene flow in forest trees: From empirical estimates to transgenic risk assessment // *Gene Flow Workshop, The Ohio State University, March 5 and 6, 2002*. P. 113-133.
- Smalla K., Borin S., Heuer H. et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes from transgenic plants to bacteria - are there new to fuel the debate? // *Proc. of the 6th International Simp. on the Biosafety of Genetically Modified Organisms, July 2000 (Saskatoon, Canada)*. P. 146-154.
- Snow A.A., Palma P.M. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks // *BioScience*. 1997. Vol. 47. No. 2. P. 86-96.
- Snow A.A., Moran-Palma P., Rieseberg L.H. et al. Fecundity, phenology and seed dormancy of F₁ crop hybrids in sunflower (*Helianthus annuus*, *Asteraceae*) // *Amer. J. Bot.* 1998. Vol. 85. P. 794-801.
- Solomon K. R., Baker D.B., Richards R.P. et al. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters // *Environ. Toxicol. and Chem.* 1996. Vol. 15, No. 1. P. 31-76.
- Squire G.R., Augustin N., Bown J. Gene flow in the environment - genetic pollution? // *Ann. Report of the Scottish Crop Res. Institute, 1998/1999*. 1999. P. 45-54.
- Standish K., Allen Jr., Ximing G. Triploids for biological containment: the risk of heteroploid mosaics. - [www .agbiotech.net](http://www.agbiotech.net) / CAB International, 2003.
- Stanley-Horn E., Dively G.P., Hellmich R.L. et al. Assessing the impact of *Cry1Ab*-expressing corn pollen on Monarch butterfly larvae in field studies. PNAS Early Edition. 2001. P.1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211277798>).
- Stewart C.N. Jr. Insecticidal transgenes into nature: gene flow, ecological effects, relevancy, and monitoring // 1999 bcpc Symposium Proceedings No.72: Gene Flow and Agriculture; Relevance for Transgenic Crop. 1999. P. 179-190.
- Stewart C.N. Jr., Halfhill M.D., Richards H.A. Transgenic plants and biosafety: science, misconceptions and public perception // *Biotechniques*. 2000. Vol. 29. P. 832-843.
- Stewart C.N.Jr., Warwick S.I., Halfhill M.D. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives // *Nat. Rev. Genet.* 2003. Vol. 4. P. 806-816 (<http://www.nature.com/reviews/genetics>).
- Sutterlin A., Fletcher G., Hew Ch., Benfey T. Environmental risks in using transgenic Atlantic salmon and Rainbow trout for commercial marine production in Canada. CAB International, 2003 (<http://www/agbio-tech.net>).

- Tabashnik B.E., Cushing N.L., Finson N., Jonson M.W. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*) // J. Econ. Entomol. 1990. Vol. 83, No. 5. P. 1671-1676.
- Tapp H., Stotzky G. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* in soil // Soil Biol. and Biochem. 1998. Vol. 30, No. 4. P. 471-476.
- UK The Food and Drink Federation (UK FDF). GM crops and the environment. Benefits and risks. FDF Publishing., London, 2000. – 33 p.
- Vance V.B., Berger P.H., Carrington J.C. et al. 5D proximal potyviral sequences mediate potato virus X/potyviral synergistic disease in transgenic tobacco // Virology. 1995. Vol. 206. P. 583-590.
- Wall R.E., Prasad R., Shamoun S.F. The development and potential role of mycoherbicides for forestry // Forestry Chronicle. 1992. Vol. 68. P. 736-741.
- Walmsley M., Arntzen C. Plants for delivery of edible vaccines // Current Opinion in Biotechnol. 2000. Vol. 11, No. 2. P. 126-129.
- Warwick S.I., Simard M.J., Legere A. et al. Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., *Erucastum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz // Theoret. and Appl. Genet. 2003. Vol. 107. P. 528-539.
- Westman A., Miller B., Spira T. et al. Molecular genetic assessment of the risk of gene escape in strawberry, a model perennial study crop // Gene Flow Workshop, The Ohio State University, March 5 and 6, 2002. P. 6- 18.
- Whalon M.E., Norris D.L. Managing target pest adaptation: the case of Bt transgenic plant deployment // J.I. Cohen. (ed.) Managing Agriculture Biotechnology. Addressing Research Program Needs and Policy Implication. CAB International, 1999. P.194-205.
- Wipff J.K. Gene flow in turf and forage grasses (Poaceae) // Gene Flow Workshop, The Ohio State University, March 5 and 6, 2002. P. 143-159.
- Zemtra R. S. Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goat grass (*Aegilops cylindrica*) // Weed Science. 2000. Vol. 46. No. 3. P. 313-317.
- Zemtra R.S., Mallory-Smith C.A., Hansen J. et al. The Evolution of a Biological Risk Program: Gene flow between Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Jointed Goat grass (*Aegilops cylindrica* Host) // Gene Flow Workshop, The Ohio State University, March 5 and 6, 2002. P. 178-186.
- Zilinskis R.A. Safety aspects of aquatic biotechnology // Genetically Modified Organisms. A Guide to Biosafety / Ed. G.Tzotzos. CABI, Wallingford, UK, 1995. P. 147-172.

Глава 7 ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ

7.1. Международно-правовой режим биобезопасности

Бурное развитие генетической инженерии в последней четверти XX столетия как одного из наиболее перспективных научных направлений вывело вопросы обеспечения биобезопасности в системе международных отношений на первые роли. Практическое использование современных биотехнологий потребовало правового урегулирования этой достаточно новой сферы межгосударственных отношений, принимая во внимание потенциально возможный ущерб для окружающей среды и здоровья человека.

Впервые вопросы безопасности генно-инженерной деятельности оказались в центре внимания крупных международных организаций начиная с 80-годов прошлого века. На Венской встрече государств – участников Совецания по безопасности и сотрудничеству в Европе (ныне ОБСЕ) в 1986 году было положено начало деятельности Европейской экономической комиссии ООН (ЕЭК ООН), связанной с разработкой руководящих принципов 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 [1].

Организация экономического сотрудничества и развития (OECD) финансировала сотрудничество государств – членов этой международной межправительственной экономической организации в области биобезопасности с начала 80-х годов XX века. Эксперты государств-членов подготовили два важнейших доклада: первый касается аспектов безопасности при работе с рекомбинантными ДНК [2], а второй посвящен планированию и проведению экспериментов при контролируемом высвобождении генетически измененных растений и микроорганизмов в окружающую среду [3].

Важной вехой в процессе разработки международных руководящих принципов безопасности в биотехнологии явилась публикация «Кодекса добровольного поведения при высвобождении организмов в окружающую среду» [4], подготовленного группой экспертов Организации Объединенных Наций по промышленному развитию (ЮНИДО), Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО) и Программы ООН по окружающей среде (ЮНЕП).

Проблемы безопасного использования и устойчивого развития биотехнологий находились в центре внимания на Конференции ООН по окружающей среде и развитию (КОСР), которая проходила в Рио-де-Жанейро с 3 по 14 июня 1992 года. Об этом свидетельствует подписание 163 участниками КОСР 5 июня 1992 года Конвенции о биологическом разнообразии – первого универсального международного договора о сохранении и устойчивом использовании биологического разнообразия планеты [6].

В «Повестке дня на XXI век», принятой на этой международной конференции и представляющей собой динамичную программу, в главе «Экологически безопасное использование биотехнологии» биотехнология рассматривается как «растущая науко-

емкая 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» [5]. 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.

Конвенция о биологическом разнообразии (КБР) вступила в силу 29 декабря 1993 года. Республика Беларусь подписала Конвенцию в Рио-де-Жанейро, а 10 июня 1993 года парламент ратифицировал ее [7].

Проблема обеспечения безопасности в области биотехнологии рассматривается в рамках КБР в подпункте g) статьи 8 и в пунктах 3 и 4 статьи 19. В частности, в подпункте g) статьи 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 статьи 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 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 своем решении II/5 Второе совещание Конференции Сторон КБР, состоявшееся в Джакарте в ноябре 1995 года, постановило создать Специальную рабочую группу открытого состава для разработки проекта Протокола по биобезопасности, в котором особое внимание уделить трансграничному перемещению ЖИО. Вместе с тем в этом же решении было подчеркнуто важное значение безотлагательного завершения работы над Международными руководящими принципами техники безопасности в области биотехнологии ЮНЕП. Конференция Сторон отметила, что такие Международные руководящие принципы могут использоваться в качестве временной меры в ходе разработки протокола и дополнять протокол после завершения работы над ним для целей содействия развитию национального потенциала по оценке и предупреждению рисков, связанных с ЖИО, созданию соответствующих информационных систем и

подготовке специалистов по вопросам биобезопасности. Эти руководящие принципы были разработаны на основе общих элементов и принципов, взятых из существующих на тот момент соответствующих региональных и международных документов, а также национальных правил и предписаний, и приняты на Глобальной консультации назначенных правительствами экспертов в Каире в декабре 1995 года [8].

Вышеупомянутая Специальная рабочая группа открытого состава по биобезопасности начала свою работу в 1996 году. После нескольких лет переговоров 29 января 2000 года в Монреале на внеочередном совещании Конференции сторон был окончательно доработан и принят протокол, известный как Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. Его 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 года по 4 июня 2001 года. За это время его успели подписать 103 государства. По состоянию на 15 мая 2005 года Сторонами Картахенского протокола являются 119 стран. Протокол вступил в силу 11 сентября 2003 года – на девяностый день с момента сдачи на хранение пятидесятого документа о его ратификации, принятии, одобрении или присоединении к Протоколу. 6 мая 2002 года принят Закон Республики Беларусь «О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» [9].

7.1.1. Основные положения Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. В статье 1 сформулирована основная цель Картахенского протокола: «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».

Как видим, помимо собственно цели Протокола данная статья содержит ряд очень важных положений.

Во-первых, в ней 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.

Во-вторых, в анализируемой статье определен объект Протокола: «живые измененные организмы, являющиеся результатом применения современной биотехнологии и способные оказать неблагоприятное воздействие на сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия» (ЖИО).

В статье 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 (b)».

Приведенное определение ЖИО появилось в ходе разработки Протокола не сразу. Первоначально в качестве основного рассматривалось определение ЖИО, содержащееся в Директивах Европейского Союза 90/219/ЕЕС и 90/220/ЕЕС: «Генетически модифицированный организм означает организм..., в котором генетический материал был изменен путем, который не происходит естественно при скрещивании и/или при естественной рекомбинации». Недостатки этого определения очевидны для специалистов: генетический материал любого ЖИО получен им абсолютно естественным путем от своих родителей в ходе размножения. Более того, если брать несколько глубже и рассматривать процесс создания ЖИО, то и тут оказывается, что во многих случаях их генетический материал является результатом традиционной селекции, в которой в качестве исходного материала использовались, среди прочего, отдельные генно-инженерные генотипы, которые служили донорами трансгенных признаков.

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 статье 4 Протокола определена его сфера 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 статьи 4 и без ущерба для любого права Стороны проводить оценку рисков в отношении всех живых измененных организмов до принятия решений относительно импорта настоящий 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), 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

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 (они будут рассмотрены 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). 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 генно-инженерной деятельности, 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).

Картахенским протоколом предусмотрена также упрощенная процедура для ввоза некоторых категорий ЖИО (например, имеющих достаточно продолжительную историю безопасного использования) (ст. 13). В этом случае трансграничное перемещение ЖИО может производиться одновременно с уведомлением либо вообще без уведомления, если перемещаемые ЖИО подлежат исключению из сферы действия процедуры заблаговременного обоснованного согласия. Тем не менее, Страна импорта обязана заблаговременно оговорить с Механизмом посредничества Протокола аспекты биобезопасности при применении упрощенной процедуры.

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 статьей 11 Картахенского протокола, согласно которой основанием для ввоза генно-инженерного организма является факт регистрации генно-инженерного сорта, породы, штамма в стране происхождения. То есть 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 генно-инженерного сорта, породы, штамма. Перечень

вопросов, на которые необходимо ответить, определен в приложении II к Протоколу. Тем не менее, любая Сторона Протокола, например Беларусь, имеет право запросить у таких органов дополнительную информацию, касающуюся биобезопасности ввозимых генно-инженерных организмов, 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. Такой контроль может выполняться в рамках таможенного оформления товара и включать определение характера генно-инженерной модификации (т.е. идентификацию трансгенов, содержащихся во ввозимых организмах), ее соответствие тому, что указано в сопроводительных документах и др.

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.

Живые измененные организмы, попавшие в окружающую среду, не признают границ между государствами. Поэтому возможно непреднамеренное трансграничное перемещение ЖИО. В связи с этим Стороны Протокола берут на себя обязательство принятия мер по регулированию рисков возможных неблагоприятных последствий высвобождения ЖИО в окружающую среду. В число таких мер входит, прежде всего, требование относительно проведения оценок рисков до первого высвобождения в окружающую среду ЖИО, созданных в стране. Кроме того, 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 генно-инженерной деятельности, 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.

В соответствии с постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 5 июня 2002 года «О мерах по реализации положений Картахенского Протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» [10] в качестве координационного центра, ответственного за связь с секретариатом Протокола, назначен Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, на который ранее были возложены обя-

занности Национального координационного центра биобезопасности [11]. В качестве компетентных органов определены: Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды в части функций, связанных с высвобождением ЖИО в окружающую среду, а также Министерство здравоохранения и Министерство сельского хозяйства и продовольствия по вопросам использования ЖИО в хозяйственной деятельности.

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 генно-инженерной деятельности. 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 генно-инженерных организмах, которые предполагается использовать, результатах государственной экспертизы их безопасности для здоровья человека и окружающей среды, о функционировании государственной системы биобезопасности. Важно предусмотреть возможность консультаций с общественностью при принятии решений по вопросам генно-инженерной деятельности, для чего должны быть разработаны конкретные механизмы и процедуры (ст. 23). Идея максимального учета интересов общества при внедрении достижений современной биотехнологии нашла свое отражение также в статье 26, в которой рекомендуется при выработке решения относительно импорта ЖИО учитывать социально-экономические последствия, связанные с живыми измененными организмами, прежде всего для местных и коренных общин.

В Картахенском протоколе по биобезопасности важное место отведено вопросам, связанным с ответственностью за его нарушение и с возмещением ущерба. В статье 25, посвященной незаконным трансграничным перемещениям ЖИО, выдвигается требование, чтобы каждая Страна 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 Страна может потребовать от Страны происхождения, чтобы она удалила за свой счет соответствующий живой измененный организм путем репатриации или уничтожения. Каждая Страна должна предоставлять механизму посредничества по биобезопасности информацию о случаях незаконных трансграничных перемещений, касающихся ее.

Однако, учитывая исключительную сложность проблемы возмещения за вред, причиненный окружающей среде, в международных отношениях, было принято решение, что «Конференция Сторон, выступающая в качестве Сопредседателя Сторон настоящего Протокола, на своем первом совещании инициирует процесс в отношении соответствующей разработки международных правил и процедур в области ответственности и возмещения за ущерб, причиненный в результате трансграничных перемещений живых измененных организмов, на основе анализа и должного учета текущих процессов в международном праве по этим вопросам и прилагает усилия к завершению этого процесса в течение четырех лет» (ст. 27).

7.1.2. Орхусская конвенция и Международная конвенция по охране новых сортов растений. На Международной конференции «Окружающая среда для Европы», состоявшейся в июне 1998 года 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» [12.] Она утверждена Указом Президента Республики Беларусь от 14 декабря 1999 года [13].

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 генно-инженерных организмов в окружающую среду.

Основные положения Орхусской конвенции созвучны статье 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:

- a. государственные органы располагали экологической информацией, имеющей отношение к их функциям, и обновляли ее;
- b. 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 формируется в зависимости от обстоятельств либо путем публичного уведомления, либо в индивидуальном порядке на самом начальном этапе процедуры принятия решений по вопросам, касающимся окружающей среды, среди прочего:

- a. о планируемом виде деятельности и заявке, по которой будет приниматься решение;
- b. о характере возможных решений или проекте решения;
- c. о государственном органе, ответственном за принятие решения;
- d. о предусматриваемой процедуре, включая то, каким образом и когда такая информация может быть предоставлена:
 - i. о начале осуществления процедуры;
 - ii. о возможностях для участия общественности;
 - iii. о времени и месте любого намечаемого публичного слушания;
 - iv. о наличии государственного органа, в котором можно получить соответствующую информацию, и о том, куда соответствующая информация была передана для рассмотрения общественностью;
 - v. о наличии соответствующего государственного органа или любого другого официального органа, которому могут представляться замечания или вопросы, и о сроках представления замечаний или вопросов; и
 - vi. о том, какая экологическая информация, касающаяся планируемого вида деятельности, имеется в наличии; и

е. 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 и подготовки и эффективного участия общественности в процессе принятия решений по вопросам, касающимся окружающей среды».

В цитируемой статье содержится положение, непосредственно касающееся генно-инженерных организмов: «Каждая Сторона 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).

«Каждая Сторона прилагает усилия для содействия эффективному участию общественности на соответствующем этапе, пока остаются открытыми возможности для выбора, в подготовке государственными органами нормативных положений, имеющих непосредственную исполнительную силу, и других общеприменимых юридически обязательных правил, которые могут оказать существенное воздействие на окружающую среду» (ст. 8).

Если Орхусская конвенция связана с информированием и участием общественности в принятии решений, касающихся биобезопасности, то Международная конвенция по охране новых сортов растений затрагивает вопросы патентования, а следовательно, и использования в хозяйственной деятельности генно-инженерных сортов растений.

Международная конвенция по охране новых сортов растений принята в декабре 1961 года в Женеве, пересмотрена в ноябре 1972 года, в октябре 1978 года и в марте 1991 года. Ратифицирована Законом Республики Беларусь от 24 июня 2002 года [14].

В пункте (5) статьи 14 Конвенции, определяющей объем права селекционера, речь идет, среди прочего, о сортах сельскохозяйственных растений, в значительной мере наследующих свойства других сортов и полученных с помощью методов генной инженерии. Это положение закреплено и в Законе Республики Беларусь «О патентах на сорта растений». Согласно статье 7 Закона, «сорт признается сортом, существенным образом наследующим признаки другого сорта (исходного), если он:

наследует наиболее существенные признаки исходного сорта или сорта, который сам наследует наиболее существенные признаки исходного сорта, сохраняя при этом основные признаки, отражающие генотип или комбинацию генотипов исходного сорта;

явно отличается от исходного сорта и соответствует генотипу или комбинации генотипов исходного сорта, за исключением отклонений, вызванных применением указанных ниже методов.

К таким методам могут быть отнесены отбор естественного или индуцированного мутанта либо соматического мутанта, отбор отдельного мутанта из растений исходного сорта, беккросс, изменение сорта методами генной инженерии».

Как видим, Международная конвенция по охране новых сортов растений и наше национальное законодательство не рассматривают генетическую инженерию как нечто экстраординарное.

Конвенция о биологическом разнообразии, Картахенский протокол к Конвенции о биологическом разнообразии, Конвенция о доступе к информации, участии общественности в принятии решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды, и Международная конвенция по охране новых сортов растений являются частью национального законодательства Республики Беларусь в соответствии с

Законом Республики Беларусь «О нормативных правовых актах» от 10.01.2000 года, так как они ратифицированы (утверждены) в соответствии с требованиями белорусского законодательства. Нормы этих международных договоров обладают юридической силой нормативного правового акта, которым он был ратифицирован [15].

7.2. Опыт правового регулирования безопасности генно-инженерной деятельности на национальном уровне

Систему биобезопасности необходимо создавать не только с учетом международных обязательств Республики Беларусь, вытекающих из Картахенского протокола и других международных документов, но также с учетом опыта ведущих в области генетической инженерии стран (США, страны Европейского Союза), а также соседних с Беларусью стран, прежде всего Российской Федерации, Украины и др.

7.2.1. Государственное регулирование биобезопасности в США. Государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляется в США более длительное время, чем в других странах мира. Первое высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду было произведено в США в 1983 году с официального согласия Национального института здравоохранения. В 1984 году был сформирован специальный комитет Белого дома при содействии Министерства по науке и технологии (Office of Science and Technology Policy, OSTP), чтобы предложить план государственного регулирования применения биотехнологии в промышленности и сельском хозяйстве. Данный план был опубликован OSTP в 1986 году как Координированная система взглядов по регулированию биотехнологии (Coordinated Framework for the Regulation of Biotechnology) 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 генно-инженерных организмов. Производство и потребление продуктов биотехнологии должно регулироваться таким же образом, как продуктов других технологий [16]. 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 генно-инженерный организм (ГИО) или новый продукт, изготовленный на основе ГИО, 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 ГИО (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. Такой сравнительный принцип, когда ГИО-растения или новые продукты питания оцениваются по отношению к аналогам с известным уровнем биобезопасности, часто проявляется в концепции оценки риска, определяемой как «существенная эквивалентность» (см. главы 4–6).

Оценку риска ГИД в США осуществляют ученые и специалисты, находящиеся на государственной службе, в штате уполномоченных государственных институтов, а не специальные, совещательные органы, как, например, во многих европейских странах. Проведение вневедомственной научной экспертизы не является обязательным при оценке риска ГИД в США. Однако вневедомственные экспертные комиссии и комитеты могут привлекаться для решения отдельных проблем на *ad hoc* (по случаю) основе.

Специального федерального закона, регулирующего отношения в области биобезопасности, в США нет. В США нет одной специфической организации, регулирующей вопросы безопасности ГИД и ответственной за оценку риска ГИД и выдачу разрешения на осуществление ГИД. Оценку 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 (U.S. Department of Agriculture – USDA), Агентство по охране окружающей среды (Environmental Protection Agency – EPA), Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных услуг (Food and Drug Administration – FDA). Эти государственные органы осуществляют регулирование использования отдельных продуктов генетической инженерии в рамках своей компетенции.

Система биобезопасности США предусматривает, что безопасность продукта биотехнологии рассматривается в соответствии с его предназначением и планируемым порядком использования. При этом возможность применения определенного продукта биотехнологии может регулироваться более чем одним уполномоченным учреждением (табл. 7.1, 7.2). 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-APHIS), 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 препаратах (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act – FFDSA) [17], федеральный Закон об инсектицидах, фунгицидах и родентицидах

(Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act –FIFRA) [18], Закон о контроле над токсическими веществами (Toxic Substances Control Act –TSCA) [19], федеральный Закон о вредителях растений (Federal Plant Pest Act – FPPA) [20]. Для новых сортов трансгенных растений при их регистрации специальных требований не предъявляется.

В рамках USDA имеется Служба проверки здоровья животных и растений (Animal and Plant Health Inspection Service –APHIS), которая отвечает в соответствии с законодательством США за защиту сельскохозяйственных растений и животных от болезней и вредителей. Согласно федеральному Закону о вредителях растений, APHIS определяет процедуру выдачи разрешений на деятельность, связанную с высвобождением в окружающую среду, транспортировкой, ввозом/вывозом так называемых регулируемых объектов. Под последними понимают, среди прочих, и ГИО, которые являются вредителями растений или есть основания полагать, что они таковыми могут быть.

Таблица 7.1

Структура государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности США

Орган государственного управления	Регулируемые продукты генетической инженерии
USDA	Растения, вредители растений, ветеринарные препараты
EPA	Микробные/растительные пестициды, использование существующих пестицидов по новому назначению, новые микроорганизмы
FDA	Пищевые продукты, корма, пищевые добавки, ветеринарные препараты, лекарственные препараты и медицинское оборудование

Таблица 7.2

Примеры взаимодействия органов государственного управления США при регулировании безопасности отдельных продуктов генетической инженерии

Трансгенный признак/организм	Органы, осуществляющие регулирование	Направления регулирования
Сорта с/х растений с устойчивостью к вирусам	USDA EPA FDA	Безопасность выращивания Безопасность для окружающей среды Безопасность пищевых продуктов из ГИО
Сорта с/х растений, толерантные к гербицидам	USDA EPA FDA	Безопасность выращивания Использование гербицида по новому назначению Безопасность пищевых продуктов из ГИО
Сорта декоративных растений, толерантные к гербицидам	USDA EPA	Безопасность выращивания Использование гербицида по новому назначению
Сорта с/х растений с измененным содержанием масла	USDA FDA	Безопасность выращивания Безопасность пищевых продуктов из ГИО
Сорта декоративных растений с измененной окраской цветка	USDA	Безопасность выращивания
Почвенные бактерии, деградирующие загрязнения	EPA	Безопасность для окружающей среды

Агентство по охране окружающей среды (EPA) имеет Офис программ по пестицидам, в котором в свою очередь имеется Отдел биопестицидов и предупреждения загрязнения, регулирующий, согласно соответствующему закону (FIFRA), распространение, куплю-продажу, использование и испытание растений и микроорганизмов, образующих пестицидные субстанции. EPA устанавливает также предельно допустимые нормы содержания пестицидов в пищевых продуктах и кормах.

EPA регулирует в соответствии с TSCA деятельность, связанную с предназначенными для коммерческого использования микроорганизмами, которые содержат или экспрессируют новую комбинацию признаков. К таковым относятся так называемые межродовые микроорганизмы, которые получены путем комбинации генетического материала микроорганизмов, принадлежащих разным таксономическим родам.

FDA регулирует отношения, связанные с обращением пищевых продуктов и кормов, полученных из новых сортов растений, в соответствии с FFDCA. Политика FDA основана на существующем законодательстве о пище, т.е. пищевые продукты, полученные из ГИО, должны отвечать тем жестким стандартам безопасности, которые предъявляются обычным продуктам. FDA рассматривает пищевые продукты, полученные из ГИО, как пищевые добавки, если они существенно отличаются по структуре, функциям и содержанию от обычных продуктов. Поскольку большинство трансгенных сортов растений, созданных и используемых в США, не содержат веществ, значительно отличающихся от тех, что уже применяются в питании, то они не требуют специального разрешения для помещения на рынок. Тем не менее, в соответствии с политикой, принятой с 1992 году, FDA проводит консультации с разработчиками генно-инженерных организмов по вопросам биобезопасности и законодательства в этой области.

Таким образом, в законодательстве США содержатся конкретные нормы, касающиеся отдельных направлений генно-инженерной деятельности, и имеется четкая система государственных органов, ответственных за биобезопасность, начиная с этапа создания ГИО в научно-исследовательских лабораториях и кончая коммерческим использованием продуктов, полученных из конкретных ГИО. Рассмотрим, как функционирует этот механизм в процессе государственного регулирования биобезопасности по направлениям генно-инженерной деятельности.

Регулирование безопасности генно-инженерной деятельности в замкнутых системах. В октябре 1974 года в ответ на обеспокоенность общественности относительно безопасности манипуляций, связанных с искусственным созданием и использованием рекомбинантных ДНК, при Департаменте здравоохранения и социальных услуг Национального института здравоохранения (НИИ) США был организован Консультативный комитет по рекомбинантной ДНК. Консультативный комитет разработал правила, регулирующие порядок проведения научных исследований в указанной области, которые были впервые опубликованы в 1976 году и с тех пор периодически пересматривались. Целью разработанных НИИ Правил применения технологий рекомбинантной ДНК является установление условий осуществления исследований с рекомбинантной ДНК для предотвращения непреднамеренного высвобождения ГИО в окружающую среду или непреднамеренного контакта людей и иных организмов как с ГИО, так и с рекомбинантной ДНК. Эти Правила установлены на добровольной основе и ими руководствуются ученые, занятые фундаментальными и прикладными исследованиями во всем мире. Тем не менее, они являются обязательными для любых исследований федеральных лабораторий, получающих финансовую поддержку НИИ, включая исследования, осуществляемые непосредственно сотрудниками данного института.

Согласно установленным правилам НИИ, исследования с применением технологии рекомбинантной ДНК должны проводиться под надзором специально созданных в научных учреждениях комитетов по биобезопасности. Комитет должен состоять как минимум из пяти экспертов, включая двух представителей региона осуществления исследований, делегируемых в него местными управлениями по защите здоровья населения и окружающей среды (независимых от НИИ). Комитет по биобезопасности обеспечивает тем самым дополнительный уровень наблюдения за безопасностью научных

исследований и точным соблюдением Правил безопасности NIH. Комитет действует открытым, прозрачным для общественности образом. Исследователи, научные проекты которых не соответствуют Правилам безопасности NIH, могут быть подвергнуты штрафным санкциям вплоть до прекращения финансирования NIH данных проектов.

Регулирование безопасности генно-инженерной деятельности при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний. 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 ГИО-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, неблагоприятного воздействия ГМ растений на окружающую среду и др. Если эксперты USDA-APHIS в процессе оценки риска предполагаемого испытания приходят к заключению о несущественном влиянии испытываемого организма на окружающую среду, то заявителю выдается разрешение на его проведение.

В 1993 году с целью упрощения процедуры APHIS установила порядок уведомления о полевых испытаниях ГИО и разрешения на высвобождение ГИО в окружающую среду для полевых испытаний, альтернативный принятому ранее процессу рассмотрения заявки и оценки безопасности таких испытаний [21, 22]. Упрощенный процесс уведомления применялся вначале только для трансгенных образцов томатов, кукурузы, сои, хлопка и картофеля (трансгенных растений, для которых проведенная ранее тщательная всесторонняя оценка риска не выявила значимой вероятности их неблагоприятного воздействия на окружающую среду). Начиная с 1997 года он был усовершенствован так, чтобы процедура уведомления о полевых испытаниях применялась для всех видов растений, не внесенных в реестр сорных растений, распространение которых надо регулировать, а также в реестр культурных растений, рассматриваемых в качестве сорняков в ареале предполагаемого высвобождения [23]. В настоящее время вместо подробной заявки на разрешение испытаний установленной формы селекционеры предоставляют в APHIS уведомительное письмо, которое включает описание встроенного гена, характеристику ГМ растения и место предполагаемых испытаний. APHIS затем извещает о полевых испытаниях департамент сельского хозяйства штата, где предполагается их проведение.

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. APHIS не участвует в процессе публичного обсуждения возможности высвобождения ГИО для полевых испытаний, но периодически публикует сообщения в специальном печатном органе (Federal Register), из которых можно узнать о проводимых в текущий момент испыта-

ниях ГИО. 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 (далее – РЭИ) 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 на получение РЭИ о предполагаемых испытаниях извещается общественность. Широкому обсуждению биобезопасности испытаний способствует сообщение об их проведении в издании *Federal Register*.

Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности при широкомасштабном высвобождении ГИО в окружающую среду. В 1993 году Министерство сельского хозяйства США закончило разработку процедуры регулирования широкомасштабного высвобождения ГИО-растений, подпадающей под действие федерального Закона о защите растений (прежде федерального Закона о вредителях растений). Данная процедура устанавливает порядок ходатайства заявителя (селекционной фирмы) о придании «нерегулируемого статуса» генно-инженерным сортам растений для их коммерческих посадок [21,22]. При этом предполагается, что коммерческие посадки данных образцов ГМ растений не будут в дальнейшем регулироваться на территории США уполномоченными государственными учреждениями.

Данная процедура была упрощена в 1997 году [23]. В настоящее время регулируемый объект (генетически модифицированный организм) 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). Вредитель растений определяется как организм на любой стадии жизненного цикла из числа беспозвоночных животных, бактерий, грибов, паразитических растений, вирусов или любых иных организмов, агентов или субстанций, которые могут прямо или опосредованно нанести вред или стать причиной вредного воздействия на растения. Хотя регулированию, согласно действующему законодательству, подлежит только деятельность, связанная с использованием известных вредителей растений, администрация USDA-APHIS на свое усмотрение может трактовать ее более широко, допуская, что любое генно-инженерное растение может рассматриваться как вредитель растений и соответственно на него может распространяться действие принятых регулирующих документов. То есть USDA-APHIS может самостоятельно установить (обозначить) использование любого продукта генетической инженерии как нуждающееся в юридическом регулировании, если есть основания полагать, что данный продукт (организм) является вредителем растений. Иные объекты ГИД могут получить нерегулируемый статус по принятому USDA-APHIS порядку ходатайства.

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 ГИО. Анализируются факторы риска, обуславливающие возможные неблагоприятные последствия для окружающей среды вследствие проявления «сорняковых» качеств ГИО и признаков, характерных для сельскохозяйственных вредителей, возможное неблагоприятное прямое и опосредованное воз-

действие ГИО на другие организмы среды высвобождения. Далее, 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 Register* 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 ГИО, проводить с ними опыты и использовать их для получения новых сортов растений без каких-либо дополнительных санкций со стороны USDA-APHIS.

Государственное регулирование биобезопасности при высвобождении в окружающую среду трансгенных растений с пестицидными признаками. В случае выращивания на территории США ГМ растений, обладающих пестицидными свойствами (таких как Вt-кукуруза, хлопок, картофель и др.), APHIS координирует свою регулируемую деятельность с Агентством по охране окружающей среды (EPA) (см. табл. 7.2). В США по действующему законодательству все используемые в практике пестициды, включая пестициды, вырабатываемые 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 FFDCА уполномочивает Агентство 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 году EPA опубликовало инструкцию для регулирования деятельности, связанной с использованием пестицидов, производимых ГМ растениями, в соответствии с законами FIFRA и FFDCА. В 2001 году правила осуществления соответствующей ГИД были установлены окончательно. Кроме того, EPA представило официальное разъяснение, какие средства защиты, продуцируемые самими растениями, не подлежат контролю [25 – 27]. По определению EPA, 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. Последние Правила формализуют установленный EPA процесс для регуляции деятельности с такими веществами, поясняют, какие из них должны быть оценены в соответствии с требованиями FIFRA и FFDCА и какие не требуют специального кон-

троля. Согласно последним Правилам, большинство продуцируемых растениями средств защиты трансгенной природы являются объектами регулирования законов FIFRA и FFDCА для уверенности в том, что соблюдены федеральные стандарты безопасности.

На стадии разработки (создания) соответствующих ГМ растений и их полевых испытаний (на площади свыше 4,05 га) производитель консультируется со штатными сотрудниками ЕРА относительно данных, необходимых для получения РЭИ. Кроме обычной информации, представляемой в APHIS для получения РЭИ, заявителем в ЕРА представляются дополнительные данные, характеризующие рассматриваемое трансгенное средство защиты растений. На стадии разработки и испытаний получение РЭИ обязательно для всех сельскохозяйственных культур, которые могут применяться для изготовления пищевых продуктов. Для получения РЭИ заявителем ЕРА требует от него принятия строгих ограничительных мер, исключающих неконтролируемое распространение ГИО или частей ГИО в окружающей среде (за границы участка полевых испытаний). Данные меры направлены на то, чтобы свести к минимуму возможный ущерб для окружающей среды и здоровья людей вследствие испытаний ГМ растений. Закон дает 120 дней ЕРА на принятие решения о выдаче РЭИ или отказе в нем. В этот период в соответствующих опубликованных в Federal Register уведомлениях общественности предлагается высказывать свои замечания по поводу заявки на получение РЭИ.

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 года. В этот период общественности дается возможность выносить на обсуждение свои замечания о допустимости регистрации данного ГИО.

Закон США о пестицидах (FIFRA) предоставляет ЕРА полномочия на изменение условий уже полученной регистрации пестицидов или ее отмену в случае, если имеет место «необоснованное неблагоприятное воздействие» на здоровье человека или окружающую среду. Кроме того, ЕРА может принимать новые меры по регулированию ГИД в случае поступления дополнительной информации, важной для результатов оценки риска ГИД. В частности, к таким новым мерам относятся современные требования ЕРА, касающиеся мероприятий, препятствующих развитию устойчивости вредителей к вырабатываемым ГМ растениями пестицидам, прежде всего к Bt-токсину. Хотя до настоящего времени не выявлено подтвержденных случаев развития устойчивости вредных насекомых к Bt-токсину вследствие ширококомасштабного выращивания соответствующих ГМ растений, экспертами ЕРА отмечалась необходимость применения определенных превентивных мероприятий по контролю за развитием устойчивости насекомых. В связи с этим ЕРА требует от заявителя разработки плана управления данным процессом, являющегося важной составной частью документов, на основании которых ЕРА принимает решение о регистрации новых генно-инженерных сортов растений.

В январе 2001 года ЕРА объявило о новых мерах, включаемых в план управления процессом развития устойчивости вредителей сельскохозяйственных культур, которые

обязывают производителей Вt-сорта кукурузы, хлопчатника, картофеля иметь защитные посадки из сортов традиционной селекции без этого признака. Кроме того, данные меры обязывают производителей осуществлять мониторинг развития устойчивости у вредителей.

Государственное регулирование безопасности продовольственного сырья и продуктов питания, полученных из генно-инженерных организмов. Согласно федеральному Закону о пищевых продуктах, лекарственных и косметических препаратах (FFDCA), Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) имеет полномочия проводить оценку (обзор) безопасности для здоровья человека и животных продуктов питания и фуража до поступления их на товарный рынок и санкционировать их поступление на товарный 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 году 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 [29].

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.

Краеугольным камнем опубликованного официального курса FDA 1992 года является то, что продукты питания, произведенные на основе ГМ сырья, не представляют изначально большего риска для здоровья человека и окружающей среды, чем произведенные традиционным способом. В рамках принятого подхода FDA регулирует процесс создания и потребления новых «трансгенных» продуктов питания путем консультаций с компаниями-производителями относительно безопасности и состава пищевых компонентов ГМ организмов. Представители FDA встречаются с производителем и дают руководящие указания о том, какие исследования FDA считает необходимыми для оценки безопасности новых продуктов питания и фуража.

Согласно директивам, разработанным FDA и опубликованным в 1997 году, у производителей продуктов питания из трансгенных растений запрашивается основная информация относительно безопасности новых продуктов и оценки их питательных

свойств. Производители представляют научные данные о своих продуктах ученым FDA. Производители новых продуктов питания добровольно участвуют в таком консультативном процессе. Целью добровольных консультаций FDA является совместная работа с производителем начиная с ранних стадий разработки нового продукта для идентификации и разрешения любых проблем относительно их безопасности, которые будут регулироваться агентством при поступлении данных продуктов на товарный рынок. Примерами таких проблем (факторов озабоченности) являются: существенно увеличенный в продуктах уровень растительных токсиантов 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.

В соответствии с добровольной природой процесса консультаций нет надобности в публичном извещении о предполагаемом производстве новых продуктов питания в Federal Register или в публичном обсуждении данных продуктов. FDA не выдает собственно санкцию на возможность производства и потребления нового продукта питания. FDA лишь информирует производителя в письменном виде о том, что оно не имеет более вопросов к производителю на основании представленной информации и напоминает ему об установленной законом ответственности за безопасность для потребителей произведенного продукта.

В мае 2000 года правительство США объявило ряд новых инициатив, направленных на усиление эффективности и прозрачности регуляторной системы биобезопасности для производителей и на улучшение информированности о новых продуктах потребителей и фермеров. Среди данных инициатив особенно важны следующие: подготовка критического обзора федерального законодательства по охране окружающей среды Советом по качеству окружающей среды и Министерством по науке и технологии; разработка FDA требований по обязательному заблаговременному уведомлению о любой новой продовольственной культуре или продуктах питания, которые поступают на товарный рынок; расширение состава ученых для проведения сельскохозяйственной биотехнологической экспертизы в консультативных комитетах FDA по продуктам питания и ветеринарии; 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 года FDA опубликовало предлагаемые им правила для обязательной процедуры извещения о новых продуктах питания до поступления их на товарный рынок [31]. 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.

FDA не требует обязательного специального маркирования для продуктов питания, изготовленных из ГИО (включающих ингредиенты из ГИО). FDA исходит из того, что нет оснований полагать, что новые продукты питания особо отличаются от тради-

ционных продуктов. Нет также оснований полагать, что такие продукты представляют какие-либо новые или большие риски для здоровья потребителей, нежели обычные продукты питания, изготовленные из сырья, полученного из сортов растений традиционной селекции. Таким образом, ГМ продукты, как и традиционные продукты, являются предметом правил маркировки, основанных на законе FFDCA. То есть 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 продуктов, произведенных из ГИО (с включением ингредиентов из ГИО), и для продуктов, изготовленных по традиционным технологиям.

7.2.2. Государственное регулирование биобезопасности в странах Европейского Союза. В основе существующего законодательства по биобезопасности стран Европейского Союза (далее – ЕС) лежат директивные документы, устанавливающие порядок осуществления основных направлений генно-инженерной деятельности (ГИД). Законодательство ЕС по биотехнологии существует с начала 90-х годов, и за последнее десятилетие оно было дополнено и изменено. 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.

Директива 90/219/ЕЕС (далее – Директива-219) [32] 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. Директива-219 служит базовым документом при разработке законодательства стран ЕС по осуществлению генно-инженерной деятельности в замкнутых системах, касающейся разных видов ГМО (не только микроорганизмов).

В приложении 1А Директивы четко перечислены методы (техника) рекомбинации, относящиеся к получению генетически модифицированных микроорганизмов. Директива регулирует осуществление двух типов операций с ГММ. Тип А – операции, связанные с их исследованием, получением, использованием в образовательных программах (не промышленное, не коммерческое использование, где объем культуры не превышает 10 л). Тип В – другие операции, не относящиеся к типу А. С точки зрения необходимых мер биобезопасности ГММ подразделяются на две группы. Микроорганизмы группы I удовлетворяют ряду критериев, предъявляемых к исходным родитель-

ским и реципиентным организмам, молекулярным векторам и итоговым ГММ (приложение II). Данная совокупность критериев предусматривает, что ни исходные микроорганизмы, ни ГММ не являются патогенными для человека и животных. Кроме того, ГММ должны иметь ограниченную жизнеспособность в окружающей среде вне реакторов и ферментеров. К микроорганизмам группы II относятся все прочие, включая патогенные.

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.

В приложении III Директивы перечислены параметры безопасности, которые должны быть определены при оценке риска ГИД. Данные параметры детально характеризуют биологические особенности исходных микроорганизмов и ГММ с точки зрения возможного их неблагоприятного эффекта на здоровье человека и окружающую среду, а их анализ позволяет оценить степень опасности при осуществлении ГИД и принять необходимые меры защиты.

Директива 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 7 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, исключая 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.

Упомянутая директива предполагает учреждение компетентных организаций в странах ЕС, исполняющих вышеуказанные меры по обеспечению безопасности ГИД; принимающих и рассматривающих заявки на генно-инженерную деятельность в замкнутых системах. Регламентируется порядок уведомления данных организаций о намерении осуществления юридическими и физическими лицами генно-инженерной деятельности. Учитывается, что необходимая форма запроса и его рассмотрения увеличивает безопасность использования ГМО. В Директиве констатируется, что компетентные организации должны организовать инспекцию за точным исполнением вышеуказанных мер по обеспечению биобезопасности ГИД. Предусмотрено, что до начала ГИД в случае необходимости должен быть выработан и предоставлен компетент-

ным 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) [33] 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 ГМО в окружающую среду. Директива 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 с целью помещения ГМО на рынок. В приложении I к Директиве 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 (см. далее).

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.

Основными принципами оценки риска декларируются следующие. Возможные вредные эффекты ГМО сравниваются с таковыми исходного, не модифицированного организма в сходных условиях. Оценка проводится последовательно, с использованием всех необходимых научных и технических данных. При этом принимается во внимание, что требуемая информация зависит от типа ГМО, предполагаемого порядка и места высвобождения ГМО. Оценка риска должна постоянно уточняться в процессе поступления новой значимой информации о ГМО.

Указанные принципы положены в основу обязательной методологии оценки риска, которая обеспечивает подробный анализ вероятных вредных эффектов высвобож-

дения 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.

Отдельный этап оценки риска – заключение о потенциальном воздействии высвобождения ГМО на окружающую среду в случаях, если ГМО не является или является высшим растением (определяется вероятность, что ГМО станет более жизнестойким и распространится в среде высвобождения; селективные преимущества и недостатки, связанные с природой ГМО в среде его высвобождения; потенциальные немедленные и отдаленные влияния на среду высвобождения; возможность переноса генов от ГМО другим видам и пр.).

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.

Названная Директива 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 генетически модифицированных продуктов и кормов регулируется Директивой-18 и рядом 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) [34]. Под генетически модифицированными пищевыми продуктами 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 1% 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 генетически модифицированных продуктов и кормов (ГМПик), порядок разрешения на их высвобождение (помещение на рынок) и порядок специального их маркирования. Целью этих актов

является высокая степень защиты жизни, здоровья человека и животных и, шире, окружающей среды от вероятных неблагоприятных эффектов при употреблении ГМПиК. Кроме того, их целью является защита интересов потребителя. Для обеспечения такой защиты в вышеперечисленной системе актов для производителей и импортеров предусмотрены специальные разрешения на помещение на рынок ГМПиК. При этом:

- Они не должны представлять риска для здоровья человека, животных и окружающей среды.
- Они не должны каким-либо образом вводить в заблуждение потребителя (пользователя) относительно их природы.
- Они не должны ухудшать пищевую ценность и вкусовые качества тех пищевых продуктов и кормов, которые они предназначены заменить.
- Использование генетически измененных кормов не должно приносить вред потребителю из-за ухудшения определенных качеств животных продуктов.

Процедура разрешения на помещение на рынок ГМПиК несколько отличается от таковой в случае ГМО, но базовые правила и принципы идентичны. Запрос на высвобождение на рынок генетически модифицированной пищи и кормов подается компетентным специальным органам ЕС. Он включает полное техническое досье на ГМПиК 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 эффектами ГМПиК на окружающую среду согласно приложению VII.

Потребители требуют ясного обозначения ГМПиК, чтобы делать осознанный выбор того или иного продукта. Поэтому продукты питания, разрешенные к обращению на рынке, должны иметь соответствующую маркировку (Постановления ЕС 25 8/97; 1139/98; 50/2000). Маркировка производится в случае присутствия в продукте ДНК или белка, появившихся вследствие генетической модификации. Генетически модифицированные 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 всей генетически модифицированной пищи независимо от результатов определения в ней чужеродной ДНК или белка. Все модифицированные продукты питания, требующие разрешения на помещение на рынок, предполагают и обязательное маркирование. Генетически модифицированные корма должны маркироваться по тем же принципам, что и продукты питания. Предусматривается маркирование большого ассортимента кормов, не требующих этого согласно текущему законодательству.

Таким образом, анализ законодательных документов ЕС свидетельствует, что они предъявляют очень жесткие требования к безопасности генно-инженерной деятельности для здоровья человека и окружающей среды. В целях безопасности обязательно проведение следующих мероприятий:

- Тщательная предварительная оценка риска ГИД, выработка действий, исключая вредных 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 за со-

блюдением 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.

Система биобезопасности стран Европейского Союза, ближайших соседей Беларуси (Польша, Литва, Латвия), основана на принципах, указанных в рассмотренных выше директивных документах ЕС. В этих странах приняты законы и иные нормативные документы, регулирующие ГИД; построена соответствующая административная система. Аналогично правовым документам ЕС в указанных странах законодательство регулирует ГИД в замкнутых системах, высвобождение ГМО в окружающую среду с иными целями, нежели размещение на рынке, помещение продукции, состоящей из ГМО или включающей ГМО, на рынок. Определения видов ГИД, ГМО и методов получения ГМО в законодательстве упомянутых стран аналогичны данным в директивах ЕС.

Биобезопасность ГИД в замкнутых системах законодательно регламентирована в Польше в Законе от 22 июня 2001 года «О генетически модифицированных организмах» [35]; в Латвии – в постановлении Совета Министров от 19 сентября 2000 года «Об использовании и высвобождении генетически модифицированных организмов» [36]; в Литве – в Законе от 12 июня 2001 года «О генетически модифицированных организмах» [37]. Эта система предписаний регулирует деятельность юридических и физических лиц, связанную с культивированием, хранением, перемещением, размещением, уничтожением или с иными способами использования ГМО при условии создания специальных ограничений для предотвращения контакта данных ГМО с окружающей средой. Цель регулирования – защита здоровья человека и охрана окружающей среды.

Для получения разрешения на ГИД заявитель Латвии, Литвы, Польши представляет запрос установленного образца. До подачи запроса заявитель обязан провести процедуру оценки риска и определить в соответствии с опасностью ГМО необходимый класс закрытых систем. В правовых документах Польши и Латвии регламентированы 4 класса закрытых систем: 1 – когда действия с ГМО не несут ущерба человеку и 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 системой, где используются организмы группы I (не патогенные); три последующих – с тремя категориями систем манипулирования организмами группы II (патогенными). Форма запроса, принятая в Польше и Латвии, включает: техническое досье (информация о заявителе, о природе исходных организмов и ГМО, о методах получения ГМО, порядке действий с ГМО и др.), оценку риска по представленным в правовых документах критериям, план действий во избежание ущерба здоровью человека и среде в непредвиденных обстоятельствах. В соответствии с упомянутым выше постановлением в Латвии требуется предоставление большего объема информации в запросе по мере увеличения класса опасности используемой закрытой системы. Указанные в документах Латвии и Польши критерии оценки риска, технические требования к закрытым системам разного класса и к персоналу в главных положениях идентичны требованиям, принятым в других странах ЕС. В законодательстве Польши, кроме того, подробно прописаны требования, по которым заявитель разрабатывает и представляет план действий в непредвиденных ситуациях. Запрос должен содержать: 1) информацию о соответствующих мерах безопасности, применяемых лицами в условиях произошедшего инцидента; 2) информацию о методах противо-

стояния непредвиденным неблагоприятным эффектам (включая действия различных специальных служб).

Вышеуказанный закон о биобезопасности в Литве не прописывает подробно формы запросов на ГИД, требования к оценке риска, определения категорий замкнутых систем и пр. В законе представлены общие требования к порядку осуществления ГИД в замкнутых системах.

Разрешение на ГИД в замкнутых системах выдаются в Польше и Литве Министерством окружающей среды; в Латвии – Министерством благосостояния. При этом в Польше и Латвии законодательно установлены специальные совещательные организации (Комиссия по ГМО в Польше и Совет по мониторингу за ГМО и новыми пищевыми продуктами в Латвии), которые проводят экспертизу представленных запросов на ГИД и компетентное мнение которых является значимым при выдаче разрешения министерствами. Закон «О генетически модифицированных организмах» регулирует деятельность комиссии по ГМО, состоящей из 19 членов – представителей заинтересованных министерств, научных кругов, биотехнологов, неправительственных экологических организаций и потребителей. В Латвии функции и состав Совета определены в специальном постановлении Совета Министров от 19 сентября 2000 года «Подзаконный акт о Совете по мониторингу за ГМО и новыми пищевыми продуктами». В него входят представители заинтересованных министерств и ведомств, Академии наук и других специальных научных учреждений, биологического факультета государственного университета, ассоциации генетиков и селекционеров, а также министр сельского хозяйства.

В Литве экспертиза запросов на ГИД (в том числе на ГИД в замкнутых системах) проводится Министерством окружающей среды (правительством и установленными им институтами). При этом процедура оценки риска ГИД и соответствующая необходимая информация в запросе устанавливаются этим министерством совместно с Министерством здоровья и Государственной службой по контролю за продуктами питания и ветеринарным обслуживанием.

Контроль над установленными законными правилами ГИД в замкнутых системах в Польше проводится Министерством окружающей среды совместно с другими госучреждениями: санитарной инспекцией, инспекцией по защите растений, инспекцией по защите окружающей среды и др. (всего 8 организаций) в соответствии с компетенцией данных учреждений. В Латвии слежение и контроль осуществляют Государственная служба по контролю за продуктами питания и ветеринарным обслуживанием, Государственная служба по защите растений, Государственная инспекция по охране окружающей среды или Государственная аптечная инспекция в областях их компетенции. В Литве функции государственного контроля над ГИД в замкнутых системах также переданы ряду государственных инспекций, служб, Министерству здоровья и назначенным им институтам.

Система биобезопасности при высвобождении ГМО в окружающую среду, не связанном с помещением ГМО на рынок, установлена в вышеперечисленных правовых документах и основана на принципах, принятых в странах ЕС. В правовых документах Польши и Латвии представлены подробные требования к запросу на высвобождение ГМО. Запрос включает техническое досье на ГМО (информацию о заявителе; о природе ГМО; о среде и условиях высвобождения; информацию, касающуюся взаимодействия ГМО и среды высвобождения, возможности переноса генетического материала от ГМО эндемичным видам, и другую информацию). Важнейшей частью запроса является оценка риска высвобождения. Параметры досье и оценки риска соответствуют в главных чертах требованиям, указанным в приложениях II и III директив 90/220/ЕЕС и

2001/18/ЕС. Кроме того, в запросе должен быть представлен план мониторинга за высвобожденными ГМО и план действий по защите граждан и окружающей среды при непредвиденных вредных эффектах высвобождения. В Законе Литвы «О генетически модифицированных организмах» представлен лишь общий порядок высвобождения. Указывается, что форма запроса разрабатывается и представляется уполномоченными органами (см. далее).

В отличие от документов ЕС в Латвии ГМО при высвобождении подразделяются на две категории (к первой относятся ГМО с хорошо известной биологией исходных организмов, с известным опытом высвобождения, с доказанной невозможностью вызвать токсичные, аллергические реакции; ко второй – иные ГМО). В то же время в Постановлении Совета Министров от 19 сентября 2000 года нет точной информации о различии в процедуре высвобождения ГМО данных категорий.

Правовые документы рассматриваемых стран обуславливают также действия заявителя и административной системы по защите граждан и среды при появлении дополнительной (новой) информации о высвобожденном ГМО, свидетельствующей о вероятных вредных эффектах.

Разрешение на высвобождение ГМО в окружающую среду в Польше и Литве выдается Министерством окружающей среды, в Латвии – Министерством защиты окружающей среды и регионального развития. Экспертизу представленных документов и оценку риска, как и в случае ГИД в закрытых системах, проводят соответственно Комиссия по ГМО и Совет по мониторингу за ГМО и новыми пищевыми продуктами, компетентное мнение которых является значимым при выдаче разрешения министерствами. В Литве разрешение на высвобождение выдает Министерство окружающей среды, которое совместно с Министерством сельского хозяйства в области его компетенции устанавливает правила экспертизы и содержание заявочных документов (процедуру оценки риска). В Законе подчеркивается, что правительство и установленные им институты должны оценить степень риска высвобождения ГМО.

Законодательством указанных стран предусмотрено проведение постоянного мониторинга за высвобожденными ГМО как самими заявителями, так и государственными органами, а также определены органы, ведущие инспекцию за законным порядком высвобождения. Инспектирующие органы перечислены выше.

Система биобезопасности при помещении продуктов, содержащих ГМО (состоящих из ГМО), установлена в рассматриваемых странах в вышеперечисленных правовых документах. В Латвии порядок высвобождения на рынок пищевых продуктов, содержащих ГМО, регулируется, кроме того, постановлением Совета Министров «Процедуры для оценки новых пищевых продуктов и требования к классификации, маркировке и качеству новых продуктов питания». Принципы соблюдения биобезопасности при помещении ГМО на рынок аналогичны таковым при высвобождении ГМО в окружающую среду.

Продукт, содержащий ГМО, не может быть помещен на рынке без соответствующего разрешения государственных органов. В правовых документах Польши и Латвии представлены подробные требования к оформлению запроса на помещение продуктов, содержащих ГМО, на рынок. Запрос включает техническое досье на ГМО, аналогичное процедуре высвобождения, и оценку риска данной ГИД. По сравнению с информацией на высвобождение запрос должен быть дополнен специфической информацией о порядке упаковки, маркировки, хранения продукции и другими сведениями, имеющими косвенное отношение к безопасности. В запросе обязательно должен быть представлен обоснованный план действий по защите населения и окружающей среды от непредвиденных вредных эффектов помещения ГМО на рынок.

Параметры досье и оценки риска соответствуют в главных чертах требованиям, указанным в приложениях II и III директив 90/220/ЕЕС и 2001/18/ЕС (см. выше). В Законе Литвы о генетически модифицированных организмах сформулирован общий порядок регулирования помещения ГМО на рынок. Указано, что разработка формы запроса для выдачи соответствующего разрешения и критериев оценки риска лежит в компетенции Министерства окружающей среды совместно с Министерством здоровья и Государственной службой по контролю за продуктами питания и ветеринарным обслуживанием.

Правовые документы рассматриваемых стран регламентируют постоянный мониторинг продукции, содержащей ГМО, на рынке. Обусловлен порядок сбора и анализа соответствующей информации. Обращается внимание на то, что в случае непредвиденных вредных эффектов продукт удаляется с рынка решением компетентных государственных органов. В законодательстве трех стран указан и порядок обязательной маркировки продуктов, содержащих ГМО, помещенных на рынок. При этом в законодательстве других стран ЕС требования к маркировке продукции, содержащей ГМО, несколько выше, чем в рассматриваемых странах. В частности, отдельно регулируется порядок маркировки кормов, более обстоятельно изложены критерии, по которым та или иная продукция подлежит или не подлежит маркировке. Однако маркирование проводится больше с целью уважения свободы выбора потребителя, нежели с целью безопасности (помещенная на рынок, маркированная продукция уже прошла тщательную проверку на предмет возможного риска).

В Польше государственным органом, принимающим компетентное решение о помещении продукции, содержащей ГМО, на рынок и производстве такой продукции, является Министерство окружающей среды. Экспертную оценку запросов, оценку риска и заключение о возможности помещения ГМО на рынок представляет министру по окружающей среде совещательный орган правительства – Комиссия по ГМО. В Латвии соответствующие функции переданы Министерству благосостояния и Совету по мониторингу за ГМО и новыми пищевыми продуктами (см. выше). Кроме того, в Латвии разрешается помещение на рынок ГМО, прошедшего процедуру разрешения в ЕС, что лишнее свидетельствует об общности критериев безопасности данных стран. В Литве разрешение на помещение ГМО на рынок выдается Министерством окружающей среды. В разработке и осуществлении процедуры оценки риска совместно с данным министерством принимают участие министерства здоровья, сельского хозяйства и Государственная служба по контролю за продуктами питания и ветеринарным обслуживанием в области их компетенции. Последние организации отвечают за разработку критериев безопасности и процедуры изучения безопасности продуктов питания, содержащих ГМО, а также за порядок их маркировки. Порядок обязательной маркировки пищевых добавок, содержащих ГМО, определяет, кроме того, Министерство экономики. Госорганы рассматриваемых стран, производящие мониторинг и контроль за помещенной на рынок продукцией, те же, что и при высвобождении ГМО в окружающую среду.

Важной составляющей системы биобезопасности при помещении продуктов, содержащих ГМО, на рынок, является предоставление информации о планируемой ГИД общественности. Законодательство рассматриваемых стран имеет соответствующие статьи. В частности, указаны официальные печатные издания, где такая информация публикуется и обсуждается. При этом соблюдены права производителя и не разглашается информация, составляющая коммерческую тайну.

В заключение отметим, что ГИД в Польше, Литве и Латвии проводится при соблюдении мер безопасности, которые в главных чертах совпадают с принятыми в дру-

гих странах ЕС. Отличия в системе биобезопасности между рассматриваемыми странами минимальны. Существенным различием является отсутствие специализированного консультативного правительственного органа, осуществляющего государственную экспертизу безопасности ГИД в Литве. Функции государственной экспертизы в Литве переданы ряду министерств и ведомств, в законе не регламентирована единая форма запросов на ГИД.

7.2.3. Государственное регулирование биобезопасности в Российской Федерации.

В Российской Федерации существует специальный федеральный Закон, являющийся правовой основой регулирования вопросов, связанных с ГИД, принятый законодателями с дополнениями и изменениями 28 июня 2000 года, и ряд документов, представляющих законодательную и нормативную базу для организации и работы органов, осуществляющих надзор за ГИД в стране. Кроме того, в соответствии с областью распространения и использования ГИД и ее производных в народном хозяйстве и жизнедеятельности населения страны регулирование ГИД и решение сопутствующих ей проблем подпадает под действие десяти других федеральных законов и ряда базирующихся на них подзаконных актов.

Российская Федерация является участником Конвенции о биологическом разнообразии 1992 года, ратифицированной в 1995 году [38]. Она присоединилась также к Конвенции по охране новых сортов растений 1961 года (в редакции от 19.03.1991 г.), участие в которой подтверждается постановлением Правительства Российской Федерации от 18 декабря 1997 года. Кроме того, как и Беларусь, эта страна является участником 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 (утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации от 25 августа 1999 года [39]). Таким образом, Россия является одной из сторон международных договоров, регулирующих основные сферы деятельности, к которым ГИД может иметь то или иное отношение, а именно: охрана окружающей среды (сохранение биоразнообразия), производство продуктов питания и других элементов жизнеобеспечения человека (охрана здоровья человека), правовая основа регистрации и оборота генно-инженерных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов.

В соответствии с постановлением Правительства от 22 апреля 1997 года [40] в Российской Федерации создана специальная Межведомственная комиссия по проблемам генно-инженерной деятельности при Правительстве Российской Федерации (МВКГИД), одной из задач которой является приведение механизмов обеспечения биобезопасности в стране в соответствие с уже действующими международными аналогами.

При анализе национальной законодательной базы Российской Федерации, касающейся ГИД, следует учитывать, что до последнего времени такая деятельность осуществлялась в основном в рамках научно-исследовательских лабораторий и не играла значительной роли применительно к хозяйственной деятельности и повседневной жизни граждан. Поэтому регулирование в сфере ГИД и использования генно-инженерных организмов (по терминологии, принятой в законодательстве Российской Федерации, – генно-инженерно-модифицированных организмов – ГИМО) не оговаривается отдельными статьями большинства законов или подзаконных актов и не имеет конкретного упоминания как объект их действия, за исключением принятых или измененных и дополненных в последние годы документов, непосредственно касающихся ГИД и государственного контроля по ее осуществлению.

Среди документов, имеющих отношение к области применения и распространения ГИД (за исключением актов законодательства, непосредственно ей посвященных), упоминание самой деятельности или использования ее результатов (ГИМО и продуктов, созданных с их участием) существует только в федеральном Законе «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30 марта 1999 года [41] и в Постановлении Правительства Российской Федерации от 19 июня 1994 года, утвердившем Положение о государственном ветеринарном надзоре в Российской Федерации [42,43]. В статье 26 названного закона «Санитарно-эпидемиологические требования к условиям работы с биологическими веществами, биологическими и микробиологическими организмами и их токсинами» указано, что условия работы в области генной инженерии не должны оказывать вредное воздействие на человека (пункт 1) и допускаются только при наличии санитарно-эпидемиологических заключений о соответствии условий выполнения таких работ санитарным правилам (пункт 2).

Положение о ветеринарном надзоре 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 (пункт 5 главы 2 Положения).

В то же время перечень документов, которые по области своего применения должны учитывать ГИД и ее последствия, довольно широк. Условно в соответствии со сферами приложения ГИД он может быть разделен на три группы: 1) документы, касающиеся охраны природы, сохранения биологического разнообразия и обеспечения экологической безопасности (в том числе условий жизни человека); 2) документы, регламентирующие регистрацию и оборот новых сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов; 3) документы, регулирующие отношения в области здоровья, санитарно-эпидемиологического благополучия человека и его хозяйственной деятельности.

Основой законодательства Российской Федерации в сфере природопользования, охраны окружающей среды и обеспечения экологической безопасности при осуществлении генно-инженерной деятельности является федеральный Закон «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» от 5 июля 1996 года с изменениями и дополнениями от 21 июня 2000 года [44]. В законе уточнены отношения в области генодиагностики и генной терапии, хотя сам закон не распространяется на ГИД и ее методы в отношении к человеку, тканям и клеткам в составе его организма.

Закон состоит из 14 статей. Они раскрывают основные понятия, используемые в законе, определяют законодательную базу в области ГИД, задачи и основные направления регулирования в области ГИД. В статьях также описана система поддержания безопасности в области ГИД, включая порядок лицензирования, стандартизации и сертификации продукции на основе ГИМО, перечисляются требования к юридическим и физическим лицам, осуществляющим ГИД, и ответственность при нарушении законодательства. Имеются статьи, посвященные источникам финансирования ГИД и безопасности ее осуществления, обеспечению общедоступности сведений о безопасности ГИД, международному сотрудничеству в этой области.

В статье 2 закона закреплены определения таких понятий, как «генная инженерия» и «генно-инженерная деятельность», дается понятие генно-инженерно-модифицированного организма (ГИМО), дублируемое понятием «трансгенный организм», определение замкнутой и открытой систем функционирования ГИД, «генная терапия» и др. В законе разъясняется, что подразумевается под выпуском ГИМО в окружающую среду и биологическим и физическим типами защиты от неблагоприят-

ных воздействий ГИМО. В то же время отсутствует определение биобезопасности или безопасности ГИД (определение безопасности ГИМО было введено позднее в Положении о государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов).

Среди задач государственного регулирования в области ГИД (ст. 4) отмечаются установление основных направлений в области ГИД на разных уровнях (от федерального до юридических и физических лиц) и основные положения правового регулирования отношений в ГИД; определение механизмов, обеспечивающих безопасность граждан и окружающей среды в процессе самой ГИД и при использовании ее результатов; установление правовых основ международного сотрудничества и создание условий для развития приоритетных направлений в ГИД.

Основными направлениями государственного регулирования в области ГИД закон определяет улучшение условий жизни человека и охрану его здоровья, охрану и восстановление окружающей среды и сохранение биологического разнообразия, повышение эффективности сельского хозяйства, добывающей и перерабатывающей промышленности, подготовку новых специалистов, а также сохранение и улучшение имеющегося кадрового состава для ГИД (ст. 5).

В статье 5 приводятся также основные принципы, которые должны соблюдаться при реализации ГИД:

- безопасность граждан и окружающей среды;
- общедоступность сведений о биобезопасности ГИД;
- сертификация продукции, содержащей результаты ГИД, с указанием полной информации о методах получения и свойствах данного продукта.

В то же время в законе не нашли отражения такие важные принципы, как научно обоснованное сочетание экономических и социальных интересов человека, общества и государства в целях устойчивого развития и благоприятных условий жизни человека и сохранения окружающей среды; ответственность органов государственного управления за соблюдение безопасности и обязательности их участия в деятельности по ее обеспечению. Не отражен также обычный для федеральных законов принцип международного сотрудничества в сфере действия закона и приоритетности международных норм права либо национального законодательства в решении спорных вопросов. Международное сотрудничество регулируется статьей 13 закона, но и в ней не оговаривается приоритет международного либо национального законодательства и необходимость гармонизации национального законодательства в области ГИД в соответствии с международными нормами.

Статья 6 закона закрепляет виды ГИД, подлежащие лицензированию, а статья 7 посвящена системе безопасности в области ГИД. Так, согласно статье 6, обязательному лицензированию подлежат работы в области ГИД, соответствующие III и IV уровням риска. Однако только в статье 7 раскрывается понятие того, что подразумевается под уровнями риска и соотношением уровней риска при работе в замкнутой и открытой системах.

В соответствии со статьей 7 к III и IV уровням риска относятся работы в замкнутых системах, представляющие умеренную опасность для здоровья человека (III группа риска) или особо опасные для здоровья человека (IV группа риска) и по уровню риска сопоставимые с работами с микроорганизмами, потенциально способными к передаче инфекции, и возбудителями особо опасных инфекций. Закон приравнивает к III и IV группам риска все работы, производимые с микроорганизмами в замкнутых системах в масштабе, превышающем лабораторные исследования, а также любую ГИД в условиях открытых систем. Таким образом, под лицензирование подпадают не только виды дея-

тельности, связанные с микробиологическими исследованиями III и IV групп опасности, с промышленным производством микробиологических ГИМО и продукции на основе ГИМО, коммерческим использованием ГИМО и их производных, и крупномасштабное высвобождение ГИМО в окружающую среду, но и ряд научно-исследовательских работ и сопутствующих действий (утилизация отходов генно-инженерной деятельности, покупка, продажа, обмен и иная деятельность, связанная с генно-инженерными технологиями и ГИМО, в том числе в сфере международной деятельности), если они связаны, например, с количественной наработкой ГИМО в микробиологических исследованиях непатогенных микроорганизмов или с полевыми испытаниями в ограниченных масштабах растительных ГИМО на участках селекционных учреждений.

Работы, соответствующие I и II группам риска (т.е. работы, не представляющие опасности для здоровья человека (I группа) или сопоставимые с опасностью при работах с условно-патогенными микроорганизмами (II группа) и осуществляемые в замкнутой системе (т.е. системе, где весь процесс от внесения генетической модификации в организм-реципиент до утилизации ГИМО осуществляется в условиях существования физических, химических и биологических барьеров, предотвращающих контакт ГИМО с населением и окружающей средой)), не лицензируются, но также должны регистрироваться в организации, осуществляющей ГИД. В этом случае все работы должны контролироваться комиссиями по генно-инженерной деятельности, создаваемыми в учреждениях, выполняющих ГИД в соответствии с Положением о комиссии по генной инженерии в организации/предприятии, осуществляющей генно-инженерную деятельность, утвержденным Межведомственной комиссией по генно-инженерной деятельности (протокол № 2 от 10 июля 1998 года) [46] (русская схема управления ГИД в замкнутых системах представлена на рисунке 7.1).

В Законе «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» приведены требования к физическим и юридическим лицам, которые осуществляют генно-инженерную деятельность (ст. 8), соответствующие в целом требованиям, выдвигаемым другими законами в области охраны здоровья человека. В нем оговаривается ответственность в области ГИД (ст. 12), которую они несут в случае причиненного вреда (за счет действия или бездействия) работникам организации, выполняющей ГИД, населению, окружающей среде в соответствии с законодательством Российской Федерации.

В статье 10 закона содержатся требования по обеспечению общедоступности сведений о безопасности ГИД и порядок их предоставления, включая сведения, составляющие государственную, служебную или коммерческую тайну, в статье 11 – требования к стандартизации и сертификации продукции и услуг в области ГИД, которые осуществляются в соответствии с федеральным Законом «Об обязательной сертификации качества и соответствия».

Увеличение объемов производства, поставки и реализации продукции, полученной из генетически модифицированных источников, появление медицинских и других услуг на основе ГИД, интенсификация научных исследований в области молекулярной биологии и генной инженерии определили необходимость расширения и конкретизации по отношению к ГИД уже имеющегося законодательства в области здоровья населения, охраны окружающей среды и других сферах, связанных с ГИД, и создание специальных актов, регламентирующих деятельность в области генной инженерии, включая специальный федеральный закон.

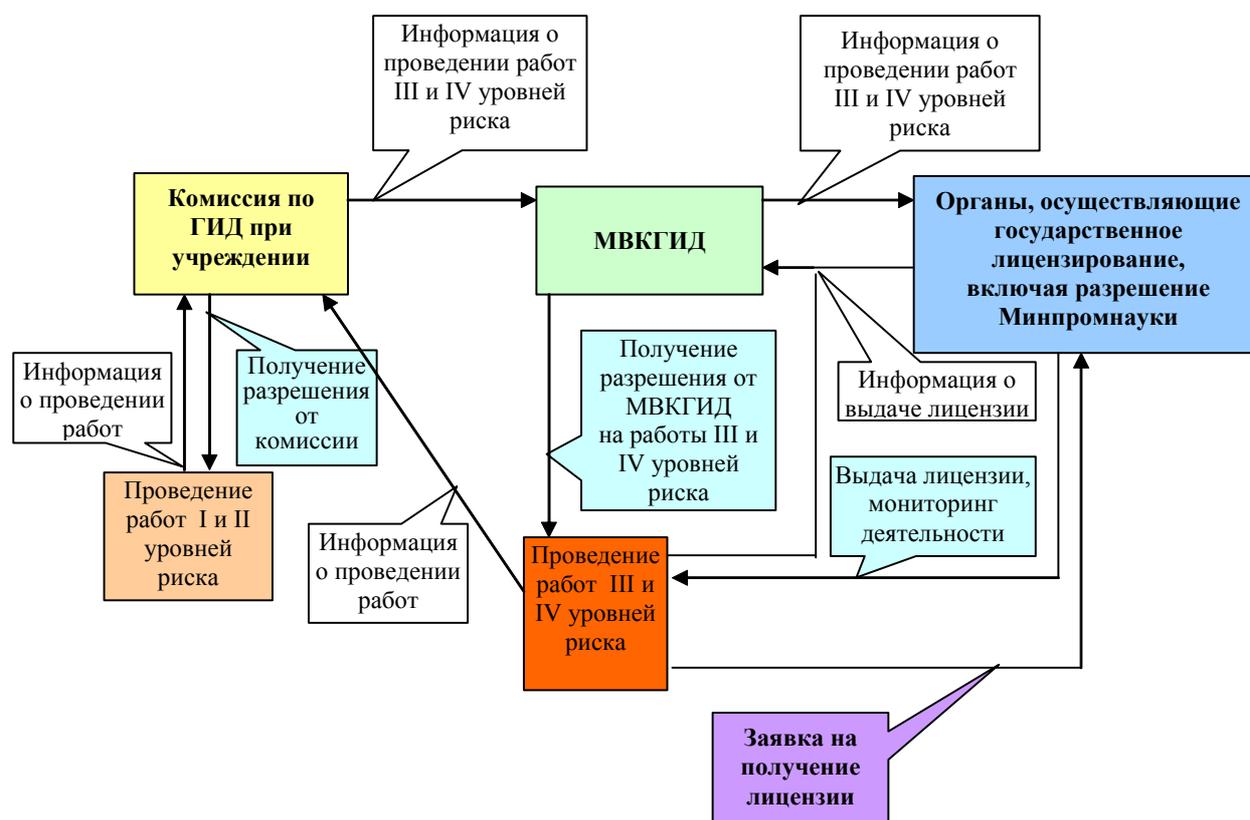


Рис. 7.1 Схема управления ГИД в замкнутой системе, принятая в Российской Федерации

Этими причинами, в частности, обусловлено появление ряда документов, инициированных Правительством России и Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, которые касаются правил регистрации ГИМО и осуществления экспертизы ГИМО и продукции, созданной на их основе. Конституционной основой для них наряду с уже перечисленными в предыдущем разделе законами послужил федеральный Закон от 7 февраля 1992 года «О защите прав потребителей», принятый в новой редакции 9 января 1996 года. Это положения «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 16 февраля 2001 года [48]); «О порядке проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников» и «О проведении гигиенической экспертизы и регистрации пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников» (утверждены постановлениями Главного государственного санитарного врача Российской Федерации соответственно 8 ноября 2000 года и 6 апреля 1999 года) [49,50]; постановления Главного государственного санитарного врача РФ от 8 ноября 2000 года «О нанесении информации на потребительскую упаковку пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников» и от 26 сентября 1999 года «О совершенствовании системы контроля за реализацией сельскохозяйственной продукции и медицинских препаратов, полученных на основе генетически модифицированных источников» [51, 52]; положение «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 18 января 2002 года) [53].

Постановление Правительства РФ от 16 февраля 2001 года вводит обязательную государственную регистрацию генно-инженерных организмов, предназначенных для первого на территории РФ выпуска в окружающую среду, промышленного использования или импорта. Разработанное Положение о регистрации ГИМО устанавливает

правила такой регистрации и выдачи свидетельств. Оно является обязательным для выполнения всеми российскими и зарубежными субъектами хозяйственной деятельности, включая научно-исследовательскую при создании ими ГИМО, их использовании и выпуске в окружающую среду. Под действие правил подпадают также все сделки, в том числе внешнеторговые, предметом которых являются ГИМО. В Положении приведен порядок регистрации, осуществляемой Министерством промышленности, науки и технологий РФ, и необходимые сведения, которые заявитель должен предоставить в комиссию по регистрации. Предоставляемые материалы должны содержать заявление о государственной регистрации ГИМО с указанием его таксономического статуса и соответствующую информацию о ГИМО.

На основании представленных сведений экспертный совет в течение 45 дней проводит экспертизу и дает заключение о степени безопасности ГИМО (согласно Положению, безопасность ГИМО – это отсутствие фактического или прогнозируемого нежелательного воздействия ГИМО на окружающую среду по сравнению с исходным не модифицированным организмом) и принимает решение о регистрации ГИМО или об отказе в регистрации с указанием причин (схема регулирования действий по высвобождению ГИМО в окружающую среду представлена на рисунке 7.2, а коммерциализации ГИМО – на рисунке 7.3). Если данных о ГИМО недостаточно, может быть затребована дополнительная информация или рекомендовано проведение дополнительных испытаний ГИМО. В случае выявления негативного воздействия государственная регистрация может быть аннулирована.

Обязательной регистрации и экспертизе должны также подвергаться пищевые продукты, медицинские препараты и корма, произведенные на основе ГИМО. Экспертиза продукции из генетически модифицированных источников (ГМИ) включает как оценку представляемой информации, так и экспериментальное изучение образцов продукции, которое осуществляется рядом НИИ соответствующего профиля и курируется Центром санитарно-эпидемиологического нормирования, гигиенической сертификации и экспертизы Министерства здравоохранения РФ. Центр издает специальный реестр пищевых продуктов из генетически модифицированных источников. Регистрацию кормов на основе ГИМО и ведение специального реестра таких кормов осуществляет Министерство сельского хозяйства РФ.

При экспертизе новых пищевых продуктов обязательны сведения, отражающие медико-генетическую оценку пищевой продукции, полученной из ГМИ (включая вносимую последовательность генов, маркерные гены антибиотиков, промоторы, усилители и эффекты экспрессии соседних генов, стабильность ГИМО на протяжении нескольких поколений с учетом стабильности уровня экспрессии генов); медико-биологическую оценку пищевой продукции, включая санитарно-химические показатели качества и безопасности; результаты токсикологических исследований на лабораторных животных; исследования на аллергенность, изучение возможных мутагенных и канцерогенных эффектов продукта, его влияния на функцию воспроизводства; материалы, характеризующие технологические свойства продукции (органолептические, физико-химические свойства, сохранность, влияние генетической модификации на технологические параметры продукции). При оценке кормов требуется также информация о технологии выращивания сорта модифицированного растения, используемого для получения корма; о технологии получения корма; подтвержденная свидетельством Министерства промышленности, науки и технологий РФ информация об экологической безопасности ГИМО (если у них сохраняется способность к репродуцированию) и о внесении в Государственный реестр селекционных достижений. Требуется также проведение оценки потенциальной опасности использования корма и рекомен-

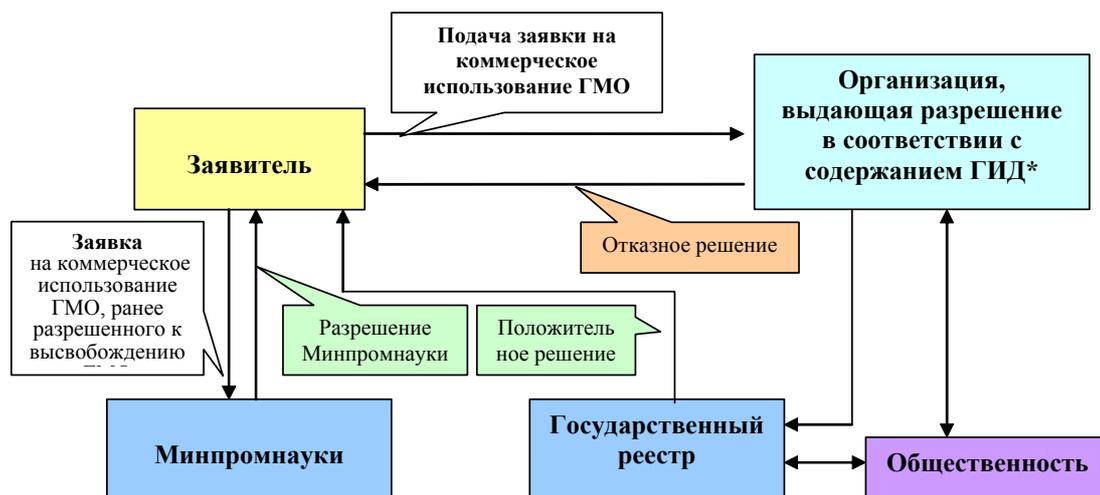


Рис. 7.3. Схема выдачи разрешений на коммерциализацию ГМО, действующая в Российской Федерации
 * Организации, ответственные за выдачу разрешений и пострегистрационный мониторинг: проведение сортоиспытаний – Госкомиссия по сортоиспытаниям (Министерство сельского хозяйства); регистрация пищевой продукции – Министерство здравоохранения, Главный санитарный врач; регистрация кормов – Министерство сельского хозяйства; экологическая экспертиза – Министерство природных ресурсов

С целью обеспечения государственного регулирования в области ГИД и ее безопасности как в организациях, занятых ее осуществлением, так и для всего населения и окружающей среды в соответствии с федеральным Законом «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» в Российской Федерации создана Межведомственная комиссия по проблемам генно-инженерной деятельности (МВКГИД). Работа Комиссии проводится в соответствии с Положением о МВКГИД [43], утвержденным Постановлением Правительства РФ от 22 апреля 1997 года. Она также руководствуется в своей деятельности Конституцией РФ, федеральными законами, указами, распоряжениями и постановлениями Президента и Правительства РФ. МВКГИД является постоянно действующим органом, призванным координировать действия заинтересованных органов исполнительной власти по реализации федерального Закона «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности».

Основными задачами Комиссии являются:

- создание и совершенствование инфраструктуры и системы контроля в области обеспечения безопасности ГИД;
- обеспечение разработки правил безопасности в области ГИД;
- координация разработки и реализации разрешительно-уведомительной системы при осуществлении ГИД на основе оценки и управления потенциальными рисками;
- координация деятельности федеральных органов исполнительной власти, научных, производственных организаций и учебных заведений в области разработки порядка и обеспечения безопасности передачи ГМО или их фрагментов и генно-инженерных технологий.

Комиссия также готовит предложения по развитию приоритетных направлений ГИД в Российской Федерации и приводит механизмы обеспечения безопасности в РФ в соответствие с уже действующими международными аналогами.

На основании полученной от органов исполнительной власти и организаций, осуществляющих ГИД, информации Комиссия принимает решения, координирующие действия ветвей исполнительной власти и организаций, и создает временные ра-

бочие группы из ученых и специалистов для оперативной проработки предложений по отдельным проблемам, связанным с решением возложенных на нее задач. Решения МВКГИД в области ГИД являются обязательными для всех органов исполнительной власти, предприятий и организаций, находящихся в их ведении.

Комиссию возглавляет министр промышленности, науки и технологий РФ, а находящееся под его руководством Минпромнауки осуществляет организационно-техническое обеспечение деятельности Комиссии. Отдел регулирования ГИД при министерстве выдает свидетельства заявителям о биобезопасности ГИД, которой они предполагают заниматься, и разрешение на работы в области ГИД или отказное решение на заявляемую деятельность (см. рис. 7.1–7.3).

Решение министерства основывается на заключении МВКГИД после прохождения заявителем научной и технической экспертизы предполагаемой деятельности в специально созданном по этому случаю экспертном совете по биобезопасности. Экспертиза включает как изучение представляемых заявителем документов, касающихся предполагаемой ГИД и ее последствий, так и, при необходимости, проведение специальных испытаний, определяющих степень ее безопасности для населения и окружающей среды (см. рис. 7.2).

При коммерциализации продукции, созданной на основе ГМИ, заявитель должен в обязательном порядке пройти регистрацию в специализированном реестре. Регистрацию генно-инженерных сортов растений осуществляет Госкомиссия по сортоиспытаниям, регистрацию пищевых продуктов с использованием ГМИ – Министерство здравоохранения РФ и Главный государственный санитарный врач РФ, регистрацию кормов на основе ГИМО – Министерство сельского хозяйства РФ. Экологическую экспертизу проектов, связанных с использованием ГИД, производит Министерство природы и охраны природных ресурсов РФ. Эти же органы государственного управления осуществляют пострегистрационный мониторинг, оценку последствий ГИД и продуктов на основе ГМИ и надзор за соблюдением правил их использования в практической деятельности (см. рис. 7.3).

Таким образом, оценивая имеющуюся в Российской Федерации законодательную базу, на основании которой происходит регулирование в области ГИД, и систему государственных органов, осуществляющих надзор за исполнением требований законодательства, следует выделить несколько моментов. Как положительное качество можно рассматривать то, что в Российской Федерации при регулировании вопросов, связанных с генно-инженерной деятельностью в замкнутых системах и высвобождением ГИМО с различными целями, включая их рыночное использование, активно применяются законы, другие документы и нормативные акты, разработанные конкретно не с целью регулирования ГИД, но по своему содержанию имеющие отношение к сферам применения ГИД. В связи с этим отпадает необходимость в создании большого пакета специальных документов, регулирующих использование генно-инженерных методов и ГИМО в различных сферах деятельности, за исключением самых необходимых, например документов, описывающих процедуру и методику оценки безопасности ГИМО и их регистрации. Прошедший регистрацию ГИМО автоматически становится объектом регулирования законодательства соответствующего профиля. Система органов государственного управления ГИД в целом соответствует международной практике и может рассматриваться как оптимальная или близкая к оптимальной.

К недостаткам следует отнести излишне строгий подход к процедуре высвобождения ГИМО в окружающую среду вне зависимости от целей и объемов выпуска. Привравнивание действий по высвобождению абсолютно всех ГИМО, в том числе относящихся к I группе риска (непатогенных), к действиям в отношении III и IV групп опас-

ности не может способствовать развитию генно-инженерных исследований и внедрению новых технологий, в частности применению новых методов в селекции растений и животных, хотя в Законе «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» и ряде других законов и документов, имеющих законодательную силу, неоднократно подчеркивается необходимость создания благоприятствующих условий развитию науки и внедрению новых технологий. Безусловно, для обеспечения безопасности здоровья людей и окружающей природной среды, охраны интересов производителей сельскохозяйственной продукции и отечественного рынка товаров необходимо государственное лицензирование деятельности, связанной с работами с ГИМО III и IV групп опасности, при проведении широкомасштабных испытаний живых объектов (например, сортоиспытании), при производстве продуктов питания, кормов и других товаров. Собственно, все эти виды деятельности подпадают под государственное лицензирование вне зависимости от того, с какими живыми объектами осуществляется работа – с генно-инженерно-модифицированными или традиционными. Необходимость в получении лицензии на абсолютно все работы, связанные с выходом ГИМО за рамки замкнутой системы, может поставить организацию, занимающуюся потенциально неопасными видами ГИД, в положение, при котором она будет вынуждена отказаться от проведения таких работ, поскольку не обеспечена всеми необходимыми условиями для безопасного проведения работ III и IV групп риска и соответственно получения разрешения на них, либо обеспечить такие условия, весьма дорогостоящие и нецелесообразные. Таким образом, положение об огульном приравнивании высвобождения ГИМО к потенциально высоко опасным видам деятельности не может рассматриваться как продуманное и позитивное.

7.3. Проект национальной системы биобезопасности для Республики Беларусь

Система безопасности генно-инженерной деятельности Республики Беларусь находится в стадии формирования. В настоящем разделе представлены основные положения концепции государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в Беларуси, разработанной учеными Национальной академии наук, ведущими юристами страны. При ее разработке принимались во внимание политика государства в данной области, опыт ряда ведущих стран, существующее законодательство Республики Беларусь и сложившаяся в стране система государственного управления, ее обязательства по международным соглашениям.

Политика Беларуси в области биобезопасности является частью ее политики в области здравоохранения и охраны окружающей среды с позиций концепции устойчивого развития. Государственная политика в этих областях основывается на фундаментальных принципах, закрепленных в ряде международных договоров, Стороной которых является Республика Беларусь, а также в соответствующих актах национального законодательства.

Основная цель нашего государства в области биобезопасности состоит в том, чтобы, с одной стороны, создать условия, позволяющие в максимальной степени использовать достижения современной биотехнологии, способствовать развитию генетической инженерии как одного из приоритетных научных направлений и, с другой стороны, гарантировать безопасность здоровья человека и окружающей среды при осуществлении генно-инженерной деятельности, внедрении новых биотехнологий, потреблении их продуктов [55].

Учитывая особую значимость биотехнологий для устойчивого развития Республики Беларусь, государство уделяет им большое внимание. Биотехнология и генетиче-

ская инженерия отнесены к приоритетным научным направлениям и технологиям [56,57]. Одновременно в Беларуси предприняты важные шаги в области безопасного использования биотехнологий. Среди них следует отметить, прежде всего, создание Национального координационного центра биобезопасности, в функции которого входит осуществление полномасштабного мониторинга за развитием данного направления (Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1999 года). В мае 2002 года Беларусь присоединилась к Картахенскому протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. В апреле 2004 года парламент Беларуси принял в первом чтении проект Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности».

Для выбора модели государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности очень большое значение имеет адекватная оценка преимуществ и возможных неблагоприятных эффектов использования достижений современной биотехнологии. Недооценка или преувеличение последних может привести к существенному снижению эффективности модели.

Разработчики концепции государственного регулирования в области биобезопасности взяли за основу научно аргументированное, подтвержденное на практике представление о генетической инженерии как новом методе селекции, позволяющем существенно расширить возможности традиционной селекции за счет использования всего разнообразия ценных генов, существующих в природе. С помощью методов генетической инженерии можно добавлять сорту растений, породе животных, штамму микроорганизмов строго определенные гены, не изменяя при этом остальные его генетические характеристики. Риски для здоровья человека и окружающей среды, связанные с генно-инженерной деятельностью, не отличаются в принципе от таковых при использовании традиционных селекционных технологий. Они могут быть выявлены и оценены на ранних этапах селекционного процесса или даже во время планирования экспериментов. Это дает возможность избежать неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности или свести их к минимуму.

При разработке модели государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности к ней предъявлялись следующие требования:

Во-первых, она должна обеспечить безопасность человека и окружающей среды при осуществлении генно-инженерной деятельности и использовании ее результатов, одновременно создавая благоприятные условия для развития генетической инженерии как одного из приоритетных научных направлений.

Во-вторых, при формировании системы биобезопасности государство должно избегать существенного изменения действующего законодательства, создания новых государственных структур, которые лягут дополнительным бременем на республиканский бюджет и рядового налогоплательщика. Надо использовать уже существующие структуры, наделив их, если в этом есть необходимость, соответствующими полномочиями.

В-третьих, в новом законодательстве в области биобезопасности важно использовать нормы и процедуры, которые можно выполнить с минимальными затратами ресурсов и средств. Сами процедуры должны быть простыми и понятными для граждан.

В-четвертых, общество имеет право получать полную и достоверную информацию о результатах генно-инженерной деятельности и осуществлять общественный контроль. Поэтому в создаваемой системе биобезопасности должен быть предусмотрен механизм информирования и участия общественности в принятии решений в этой области.

Ниже рассмотрены основные элементы национальной системы биобезопасности: законодательство, административная система, система государственной экспертизы безопасности ГИО, механизмы информирования и участия общественности в принятии решений в области биобезопасности. Описание построено таким образом, что вначале рассматривается существующее положение дел в государственном регулировании безопасности определенного направления генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь, затем изложены предложения по совершенствованию системы биобезопасности. Большинство из этих предложений, проектов законодательных актов было разработано и обсуждено общественностью в ходе выполнения совместного проекта правительства Республики Беларусь, Программы ООН по окружающей среде и Глобального экологического фонда (далее – проекта ЮНЕП-ГЭФ) (см. Введение). Они закреплены в проекте Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» [58], который был принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 года.

Необходимо отметить, что в законопроекте впервые раскрыто содержание важнейших понятий в области генно-инженерной деятельности, которые имеют значение для правильного формирования и развития нормативно-правовой базы в этой области отношений. В проекте закона однозначно закреплено, что 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. Они регулируются специальным законодательством о здравоохранении.

Проект закона устанавливает основы правового регулирования четырех групп общественных отношений, которые соответствуют главным направлениям генно-инженерной деятельности, сложившимся в мировой практике: а) осуществление генно-инженерной деятельности в замкнутой системе, т.е. в научно-исследовательских лабораториях; б) высвобождение генно-инженерных организмов 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 генно-инженерных организмов через границу Республики Беларусь, т.е. ввоз, вывоз и транзит, например, семян сельскохозяйственных культур, клубней картофеля и др. Таким образом, закон не претендует на всеобъемлющее регулирование этой сложной области общественных отношений.

Любой из вышеназванных видов генно-инженерной деятельности может выполняться, согласно законопроекту, только при соблюдении следующих основополагающих принципов:

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

–международное сотрудничество в области безопасности генно-инженерной деятельности.

7.3.1. Законодательство Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности в замкнутых системах. основополагающими законами в этой области являются:

1. Закон «О здравоохранении» [59], определяющий государственную политику в области охраны здоровья граждан Республики Беларусь, правовые, социально-экономические и организационные основы системы здравоохранения.

2. Закон «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» [60], регулирующий общественные отношения в области обеспечения санитарно-эпидемического благополучия населения Республики Беларусь, сохранения и укрепления здоровья, физического, духовного развития и долголетней активной жизни людей. Закон определяет компетенцию республиканских и местных органов государственной власти и управления в области обеспечения санитарно-эпидемического 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, противоэпидемических и противорадиационных мероприятий; 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 генно-инженерными, микроорганизмами в лабораториях учреждений Министерства здравоохранения используется 15 различных нормативно-правовых и инструктивно-методических документов (табл. 7.3). Этот перечень включает целый ряд нормативных документов, разработанных в СССР и не противоречащих законодательству Республики Беларусь. Они сохраняют юридическую силу в нашей стране до принятия на их основе национальных нормативно-правовых актов в данной области.

В частности, постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 ноября 1997 года «О комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима (режимная комиссия)» [61] унифицировано с действующими российскими нормативными документами. Данным постановлением утверждены:

- состав республиканской комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима (режимная комиссия) в лабораториях учреждений Министерства здравоохранения Республики Беларусь и других ведомств, работающих с микроорганизмами I и II групп патогенности;

- Положение о республиканской режимной комиссии;
- Положение об областной режимной комиссии;
- Положение о порядке выдачи разрешения на работы с микроорганизмами I и II групп патогенности;

- Перечень действующих директивных документов по соблюдению требований биологической безопасности и противоэпидемического режима при работе с патогенными для человека микроорганизмами.

Согласно постановлению Главного государственного санитарного врача, республиканская режимная комиссия является контролирующим и консультативным органом Министерства здравоохранения Республики Беларусь по вопросам соблюдения требований биологической безопасности и противоэпидемического режима в лабора-

ториях учреждений Министерства здравоохранения и других государственных органов, работающих с микроорганизмами I и II групп патогенности. Персональный состав режимной комиссии утверждается заместителем министра здравоохранения – Главным государственным санитарным врачом, которому она непосредственно подчиняется. Данным нормативным актом утвержден единый порядок выдачи разрешения на работу с микроорганизмами I и II групп патогенности при проведении экспериментальных и диагностических исследований, производства иммунобиологических препаратов и продуктов микробиологического синтеза.

Таблица 7.3

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-противоэпидемического 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 и в таблицах 7.3 – 7.7, 7.9, можно ознакомиться на сайте Национального координационного центра биобезопасности <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.

Все перечисленные работы могут выполняться только при наличии в учреждении разрешения на право работы, выданного органом или учреждением государственного

санитарного надзора на основании заключения режимной комиссии. Разрешение выдается на каждый вид микроорганизма, используемого в работе, и является официальным подтверждением того, что в данном учреждении созданы необходимые санитарно-гигиенические условия, обеспечивающие соблюдение требований биологической безопасности и противоэпидемического режима, защиту населения и охрану окружающей среды. Разрешение на работу с микроорганизмами I и II групп патогенности выдается сроком на 5 лет. Разрешение может быть аннулировано при нарушении требований биологической безопасности и противоэпидемического режима и считается недействительным при несанкционированном изменении планировки и назначения помещений. В учреждениях, работающих с микроорганизмами I и II групп патогенности, создаются комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима (режимные комиссии).

В проекте Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» [58] имеется ряд важных положений, касающихся регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в замкнутых системах. Прежде всего, проект закона устанавливает четыре уровня риска генно-инженерной деятельности:

- первый уровень риска – работа с непатогенными генно-инженерными организмами;
- второй уровень риска – работа с условно-патогенными генно-инженерными организмами;
- третий уровень риска – работа с генно-инженерными организмами, способными вызывать опасные инфекционные заболевания и распространять инфекцию, для которых имеются эффективные меры профилактики и лечения;
- четвертый уровень риска – работа с генно-инженерными организмами, которые являются возбудителями особо опасных инфекционных заболеваний, обладающих способностью быстро распространяться, и для которых неизвестны эффективные меры профилактики и лечения.

Генно-инженерная деятельность второго, третьего и четвертого уровней риска выполняется исключительно государственными организациями в пределах замкнутой системы. Эта деятельность может осуществляться только при наличии разрешения на осуществление генно-инженерной деятельности, выдаваемого Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Порядок установления уровня риска генно-инженерной деятельности, а также требования к замкнутым системам при выполнении работ второго, третьего и четвертого уровней риска определяются Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Замкнутая система, в которой осуществляется генно-инженерная деятельность, подлежит обязательной аккредитации. Аккредитация замкнутых систем для проведения работ второго, третьего и четвертого уровней риска генно-инженерной деятельности осуществляется Министерством здравоохранения Республики Беларусь в установленном им порядке.

В Беларуси сформирована и эффективно функционирует система обеспечения биобезопасности при работе с микроорганизмами, в том числе и генно-инженерными, разных групп патогенности. Очевидно, эта система может быть полностью использована применительно к работам с патогенными и условно-патогенными генно-инженерными микроорганизмами. Важная особенность таких работ по сравнению с обычными состоит в том, чтобы правильно определить, к какой группе патогенности отнести генно-инженерный микроорганизм, поскольку он может в своем геноме иметь элементы от организмов разных групп. Для этих целей в ходе выполнения проекта

ЮНЕП-ГЭФ были подготовлены «Методические указания по оценке риска генно-инженерной деятельности».

Для генно-инженерных работ с непатогенными генно-инженерными организмами (растениями и животными) в замкнутых системах использовать названную систему биобезопасности, функционирующую в структуре Министерства здравоохранения, нецелесообразно, поскольку такие работы не представляют угрозы здоровью граждан. В то же время с этими работами могут быть связаны определенные риски для окружающей среды. Следовательно, государственное регулирование такой деятельности должно состоять прежде всего в обеспечении мер, препятствующих непреднамеренному высвобождению генно-инженерных организмов в окружающую среду.

Проектом Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» предусмотрена процедура аккредитации замкнутых систем для проведения работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности (с непатогенными генно-инженерными организмами), которую должно проводить Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь в установленном им порядке.

Порядок проведения аккредитации замкнутых систем для работ с непатогенными генно-инженерными организмами, а также правила безопасности при осуществлении таких работ сформулированы в соответствующих нормативных правовых документах, разработанных в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ.

7.3.2. Законодательство Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний. В новой редакции Закона Республики Беларусь «Об охране окружающей среды» (в редакции закона от 17 июля 2002 года) [62] содержится статья 49 «Требования в области охраны окружающей среды к деятельности, которая оказывает или может оказывать вредное биологическое воздействие на окружающую среду», согласно которой «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...» Как видим, данное положение в полной мере относится к генно-инженерным организмам. Тем не менее, в этой статье имеется отсылочная норма к специальному законодательству, касающемуся высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, в котором названные требования должны быть конкретизированы.

Большинство актов законодательства, регулирующего безопасность при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний (табл. 7.4), в настоящее время находится на стадии разработки.

В названном законодательстве (проекте Порядка выдачи разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний) определены следующие виды высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний:

- Контролируемое высвобождение – ограниченные полевые испытания генно-инженерных организмов (в том числе испытания на биобезопасность) на огороженных охраняемых участках (полигонах) с применением специальных мер ограничения рисков. Участок, предназначенный для проведения контролируемого высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, должен пройти процедуру аккредитации в Министерстве природных ресурсов и охраны окружающей среды в соот-

ветствии с Порядком аккредитации участков для проведения контролируемого высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, проект которого подготовлен.

- Запланированное высвобождение – высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду без использования специальных мер ограничения рисков (в том числе государственное сортоиспытание).

- Повторное высвобождение – контролируемое или запланированное высвобождение генно-инженерных организмов, высвобождавшихся ранее, при наличии выданных ранее соответствующих разрешений.

Таблица 7.4

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)

Для проведения испытаний допускается высвобождение в окружающую среду только непатогенных генно-инженерных организмов. Любое высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду, проводимое впервые в Беларуси, допускается на основании разрешения Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды. На высвобождение в окружающую среду для проведения испытаний генно-инженерных организмов, выведенных методами традиционной селекции с использованием в качестве исходного материала генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов, прошедших процедуру государственной регистрации в Республике Беларусь, разрешение Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды не требуется.

В статье 17 проекта Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» предусматривается, что испытания генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду должны осуществляться на специально оборудованных участках по испытанию генно-инженерных организмов

(контролируемое высвобождение). Требования к участкам по испытанию генно-инженерных организмов 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 генно-инженерных организмов в окружающую среду».

В соответствии с проектом Порядка выдачи разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний (рис. 7.4) для получения разрешения на контролируемое или запланированное высвобождение заинтересованное юридическое лицо направляет заявку в Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь. К заявке прилагаются материалы, содержащие сведения о высвобождаемых генно-инженерных организмах, потенциальной принимающей среде, цели и условиях высвобождения.

Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды в 10-дневный срок регистрирует заявку с присвоением ей регистрационного номера, о чем уведомляет заявителя, и передает ее на экспертизу. Одновременно материалы заявки передаются в Национальный координационный центр биобезопасности.

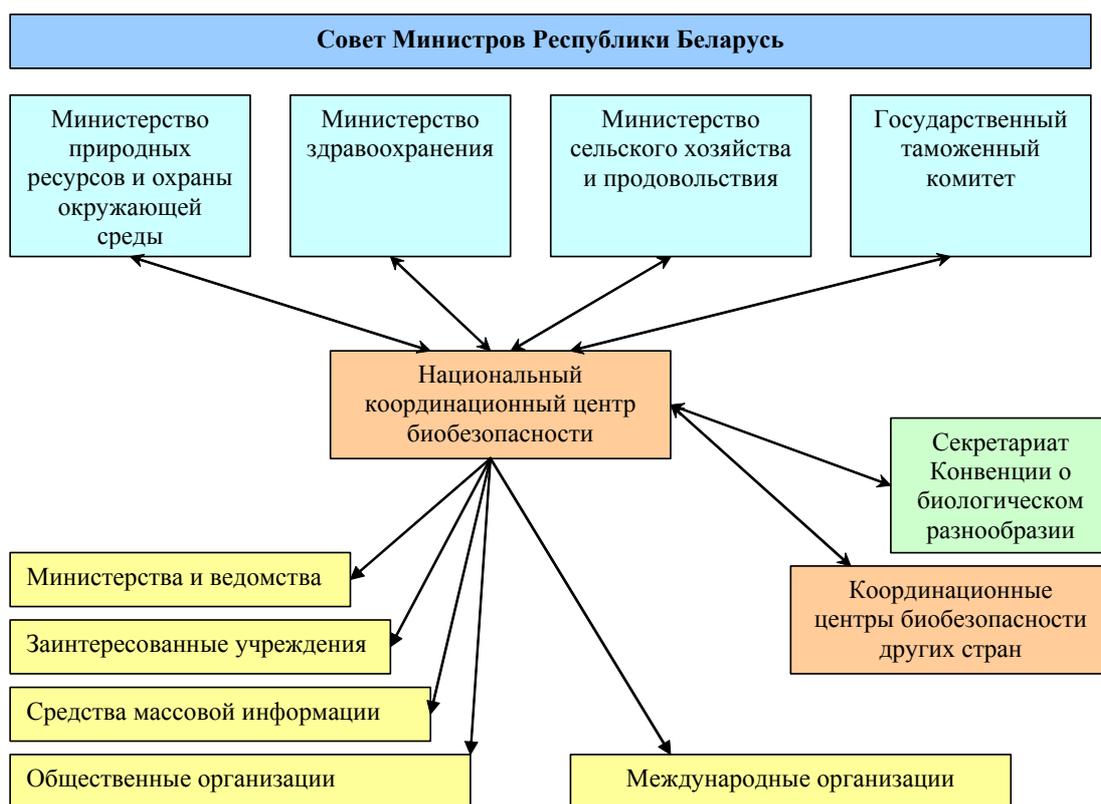


Рис. 7.4. Структура административной системы биобезопасности Республики Беларусь

Государственная экспертиза безопасности генно-инженерных организмов проводится в соответствии с «Положением о порядке организации и проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов». Эксперты в своей работе руководствуются «Методическими указаниями по оценке риска генно-инженерной деятельности» (проекты документов разработаны в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ).

На основании экспертного заключения о безопасности генно-инженерных организмов Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды выдает разрешение на высвобождение генно-инженерных организмов. Разрешение действительно для всех последующих высвобождений конкретных генно-инженерных организмов (генотипов), если при этом не изменились условия высвобождения (принимающая среда, меры предосторожности и т.п.). В разрешении на контролируемое высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду может быть указано, что оно действительно и для запланированного высвобождения, если в экспертном заключении отмечено, что высвобождение данных генно-инженерных организмов является безопасным как в рамках контролируемого высвобождения, так и запланированного высвобождения.

Разрешение на высвобождение генно-инженерных организмов 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 генно-инженерных организмов на здоровье человека и состояние окружающей среды. Решение о приостановлении или аннулировании действия разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду доводится до заявителя в письменной форме.

В случае отказа Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды выдать заявителю разрешение на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду должны быть приведены обстоятельные доводы, объясняющие причины отказа. Заявителю предоставляется право обжалования отрицательного решения министерства в порядке, установленном законодательством Республики Беларусь.

7.3.3. Законодательство Республики Беларусь в области биобезопасности при использовании генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности. В соответствии с проектом Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» под термином «использование генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности» понимают: «разведение и (или) выращивание (культивирование) генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов для производства сельскохозяйственной и микробиологической продукции, а также в иных хозяйственных целях».

Перечень актов законодательства Республики Беларусь, регулиującego безопасность при использовании генно-инженерных сортов растений в хозяйственной деятельности, приведен в таблице 7.5.

Генно-инженерные сорта растений в соответствии с Законом Республики Беларусь «О патентах на сорта растений» от 13 апреля 1995 года (с изменениями и дополнениями от 14 июня 2004 года) [63] относятся к категории сортов, существенным образом наследующих признаки другого сорта (ст. 7). В связи с этим любой генно-инженерный организм, представляющий селекционный интерес, должен пройти процедуру патентования в соответствии с вышеназванным законом, чтобы быть включенным в Государственный реестр охраняемых сортов растений Республики Беларусь и получить, таким образом, правовую защиту.

Согласно Закону Республики Беларусь «О семенах» от 14 февраля 1997 года [64], семена сортов и древесно-кустарниковых пород могут использоваться на посевные цели только после того, как они включены в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород или признаны перспективными и если иное не предусмотрено настоящим законом и другими актами законодательства Республики Беларусь.

Для определения хозяйственно ценных и других свойств сортов и древесно-кустарниковых пород с целью рекомендации их для использования в производстве в Беларуси проводится государственное сортоиспытание. Оно возлагается на Инспекцию по государственному испытанию и охране сортов растений при Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, проводящую испытания в соответствии с «Положением о сортоиспытании», утвержденным Советом Министров Республики Беларусь.

Результаты государственного сортоиспытания учитываются, с одной стороны, при патентной экспертизе заявки на сорт (в соответствии с «Законом о патентах на сорта растений»), с другой стороны, они являются основанием для включения или не включения сортов в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь.

Таблица 7.5

Перечень актов законодательства Республики Беларусь, регулирующих безопасность при использовании в хозяйственной деятельности генно-инженерных сортов растений*

№ п/п	Наименование законодательных актов
1	Закон Республики Беларусь от 13 апреля 1995 г. «О патентах на сорта растений» (изменения и дополнения от 14 июня 2004 г.)
2	Закон Республики Беларусь от 14 февраля 1997 г. «О семенах»
3	Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии»
4	Закон Республики Беларусь от 24 июня 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Международной конвенции по охране новых сортов растений»
5	Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» (проект Закона принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 г.)
6	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 28 мая 1992 г. № 320 «О Государственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты и регуляторов роста растений»
7	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 11 августа 1997 г. «Об организационно-правовых мероприятиях по выполнению Закона Республики Беларусь "О семенах"»
8	Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 15 марта 2002 г. № 2 «О порядке ввоза, реализации и применения средств защиты растений и регуляторов роста в Республике Беларусь»
9	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»
10	Постановление Совета Министров Республики Беларусь «О мерах по реализации положений Международной конвенции по охране новых сортов растений». 18 сентября 2002, №1288
11	Положение о государственном контроле в семеноводстве от 11 августа 1997 г.
12	Положение о сортоиспытании от 11 августа 1997 г.
13	Порядок и условия ведения Государственного реестра сортов и древесно-кустарниковых пород от 11 августа 1997 г.
14	Приказ Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 14 апреля 2003 г. № 128 «Об утверждении Положения о Государственной межведомственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты растений, регуляторов роста и удобрений»

Отдельного внимания заслуживает 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). 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 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» (подробнее об этом ниже).

Для проведения государственных испытаний и регистрации новых наиболее эффективных средств защиты растений принято постановление Совета Министров Республики Беларусь от 28 апреля 1992 года «О Государственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты и регуляторов роста растений (Госхимкомиссии)» [65].

Госхимкомиссия была образована при Министерстве сельского хозяйства и продовольствия. В ее обязанности входило:

- формирование ассортимента новых химических и биологических средств защиты растений и биологически активных веществ (препаратов), безопасных для здоровья человека и окружающей среды;
- организация проведения государственных испытаний новых препаратов и препаративных форм из стран СНГ и из-за рубежа;
- регистрация производимых странами СНГ и за рубежом препаратов, прошедших государственные испытания и разрешенных для применения в странах Содружества.

14 апреля 2003 года Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь издан приказ [66], которым утвержден состав Государственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты растений, регуляторов роста и удобрений и «Положение о Государственной межведомственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты растений, регуляторов роста и удобрений». Техническое обеспечение деятельности Госхимкомиссии осуществляет государственное учреждение Главная Государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений (пункт 3 приказа).

В новом Положении указывается, что оно «направлено на обеспечение контроля со стороны государства за единым порядком государственных регистрационных испытаний и регистрации химических и биологических средств защиты растений, регуляторов роста и удобрений» (глава 2, пункт 4).

«...Государственной регистрации подлежат все химические и биологические средства защиты растений, регуляторы роста и удобрения, производимые и используемые в Республике Беларусь, в том числе ввозимые из-за ее пределов» (глава 2, пункт 5).

«В "Каталог пестицидов и удобрений, разрешенных для применения на территории Республики Беларусь", включаются химические и биологические препараты, регуляторы роста растений и удобрения, прошедшие в порядке, установленном законодательством Республики Беларусь, государственные регистрационные испытания и имеющие соответствующие документы (Удостоверение о государственной регистрации химических и биологических средств защиты и регуляторов роста растений Министерства сельского хозяйства и продовольствия и Удостоверение о государственной гигиенической регистрации Министерства здравоохранения)» (глава 2, пункт 6).

Как видим, в Республике Беларусь имеется четкая система обеспечения безопасности при использовании биопестицидов и биоудобрений, которая в полном объеме

может быть использована по отношению к биопестицидам, биоудобрениям на основе микроорганизмов, созданных с помощью методов генетической инженерии. Предложения по совершенствованию законодательства заключаются в следующем.

Действующим законодательством Республики Беларусь допускается использование в хозяйственной деятельности только сортов растений, прошедших процедуру государственной регистрации (включение в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород) по результатам государственного сортоиспытания. Это положение относится как к сортам растений, выведенным с помощью традиционной селекции, так и к генно-инженерным сортам. Особенности государственной регистрации последних закреплены в статье 18 проекта Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности»: «Государственная регистрация осуществляется после проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, а также при наличии положительных результатов испытаний генно-инженерных организмов при их высвобождении в окружающую среду».

Таким образом, если для государственной регистрации сортов традиционной селекции принимаются во внимание положительные результаты, полученные ими в ходе государственного сортоиспытания, то для регистрации генно-инженерных сортов требуются дополнительно следующие документы:

- 1) разрешение Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды на высвобождение конкретных генотипов генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, которое выдается на основании положительных результатов государственной экспертизы их биобезопасности;
- 2) отчет о результатах испытаний этих генотипов генно-инженерных организмов на биобезопасность, в котором указано, что при испытании генно-инженерных организмов не отмечено существенных негативных эффектов на окружающую среду;
- 3) положительное экспертное заключение о безопасности данных генотипов генно-инженерных организмов для здоровья человека.

Процедура государственной регистрации генно-инженерных сортов растений описана в проекте «Положения о порядке государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов», который был разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ. Решение о включении генно-инженерного сорта принимает Инспекция по государственному испытанию и охране сортов растений при Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь на основании результатов государственного сортоиспытания и рассмотрения перечисленных выше материалов.

Исходя из решения о государственной регистрации генно-инженерного сорта, Инспекция по государственному испытанию и охране сортов растений при Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь в течение 10 дней со дня принятия указанного решения выдает заявителю свидетельство о государственной регистрации сорта и вносит сведения о нем в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь. Затем в течение 10 дней после выдачи свидетельства инспекция направляет необходимую информацию в Национальный координационный центр биобезопасности, форма представления которой согласовывается с центром.

Принципы государственного регулирования биобезопасности при использовании в хозяйственной деятельности генно-инженерных сортов растений в полной мере могут быть применены и для средств защиты растений и удобрений на основе микроорганизмов.

Проект Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» не предусматривает особой процедуры государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, предназначенных для непосредственного использования в качестве пищевого сырья, продуктов питания, кормов или для переработки. Однако если в ходе создания национальной системы биобезопасности возникнет такая необходимость, то это будет достигнуто путем внесения изменений и дополнений в действующее законодательство. Данная функция может быть возложена на Министерство сельского хозяйства и продовольствия, которое является ответственным за ведение Государственного реестра сортов и древесно-кустарниковых пород, а также обеспечение продовольственной безопасности страны.

7.3.4. Законодательство Республики Беларусь в области безопасности и качества продовольственного сырья и продуктов питания. Перечень актов законодательства Республики Беларусь в области безопасности и качества продовольственного сырья и продуктов питания приведен в таблице 7.6. Право граждан страны на защиту здоровья в связи с потреблением продуктов питания закреплено Законом Республики Беларусь «О здравоохранении» [59], определяющим политику государства в области охраны здоровья населения. В законе закреплено право граждан на охрану здоровья, которое обеспечивается охраной окружающей среды, созданием благоприятных условий труда, быта, отдыха, гигиеническим воспитанием и обучением граждан, производством и реализацией доброкачественных продуктов питания, созданием условий для занятий физической культурой и спортом.

Таблица 7.6

Перечень актов законодательства Республики Беларусь в области безопасности и качества продовольственного сырья и продуктов питания*

№ п/п	Наименование законодательных актов
1	Закон Республики Беларусь от 18 июня 1993 г. «О здравоохранении» (в редакции закона от 11 января 2002 г.)
2	Закон Республики Беларусь от 23 ноября 1993 г. «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» (в редакции закона от 23 мая 2000 г.)
3	Закон Республики Беларусь от 29 июня 2003 г. «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» (изменения и дополнения от 5 июля 2004 г.)
4	Закон Республики Беларусь от 9 января 2002 г. «О защите прав потребителей»
5	Закон Республики Беларусь от 5 января 2004 г. «Об оценке соответствия требованиям технических нормативных правовых актов в области нормирования и стандартизации»
6	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 2 августа 1993 г. № 517 «О государственной системе регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов, продуктов в Республике Беларусь»
7	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 14 декабря 2001 г. № 1807 «О совершенствовании системы государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания»
8	Постановление Главного санитарного врача Республики Беларусь от 2 сентября 2003 г. № 116 «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников»
9	Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Комитета по стандартизации, метрологии и сертификации при Совете Министров Республики Беларусь от 10 марта 1993 г. № 14/2 «Об упорядочении контроля за показателями безопасности продовольственного сырья и продуктов питания»
10	Санитарные правила «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» (СанПиН 11 63 РБ 98)

Закон Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» [67] устанавливает правовые и организационные основы предотвращения и уст-

ранения неблагоприятного воздействия на организм человека факторов среды его обитания (продовольственные товары являются неотъемлемой частью этой среды), а также регламентирует действия государственных органов, юридических и физических лиц по обеспечению санитарно-эпидемического благополучия населения, которое тесно связано с безопасностью и качеством потребляемых продуктов питания.

Требования, установленные данным законом, направлены на предотвращение поступления потенциально опасных продуктов питания. Обязательное согласование с органами государственного санитарного надзора использования новых видов и образцов продукции, внедрения новых технологий, техники и оборудования, новых видов сырья и материалов является необходимым условием обеспечения безопасности пищевых продуктов на стадии планирования их производства. Согласованию подлежат и нормативно-техническая документация на сырье, продукцию, технологические процессы и оборудование. Закон гарантирует право граждан на получение объективной информации о качестве и безопасности пищевых продуктов.

С целью предотвращения использования опасной для здоровья продукции в Республике Беларусь законодательными и другими нормативно-правовыми актами установлено проведение государственной гигиенической регистрации и регламентации производимых в стране и закупаемых по импорту химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, представляющих потенциальную опасность для здоровья людей, а также продукции производственно-технического назначения, товаров для личных нужд, включая продукты питания.

В развитие Закона «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» недавно принят Закон Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» [68] (далее – Закон о качестве пищевых продуктов), который конкретизирует положения и требования по обеспечению безопасности питания. Качество и безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов обеспечиваются путем: 1) осуществления государственного регулирования (техническое нормирование и стандартизация, государственная гигиеническая регистрация и регламентация, лицензирование отдельных видов деятельности, сертификация, государственный контроль и надзор); 2) проведения юридическими и физическими лицами организационных, агрохимических, ветеринарных, технологических, инженерно-технических, санитарно-противоэпидемических и фитосанитарных мероприятий по соблюдению требований Республики Беларусь к продовольственному сырью и пищевым продуктам; 3) осуществления юридическими и физическими лицами производственного контроля качества и безопасности сырья и продуктов питания, условий их производства и оборота, внедрения систем управления качеством; 4) применения мер по предупреждению и пресечению нарушений законодательства Республики Беларусь в области обеспечения качества и безопасности продуктов питания; 5) применения иных мер, направленных на обеспечение качества и безопасность продуктов питания.

Основными органами государственного управления, обеспечивающими контроль за безопасностью продуктов питания, определены Министерство здравоохранения, Министерство сельского хозяйства и продовольствия, Комитет по стандартизации, метрологии и сертификации при Совете Министров Республики Беларусь, Комитет государственного контроля Республики Беларусь.

На перечисленные государственные органы возложено и проведение мониторинга качества и безопасности продуктов питания, что является основополагающим в определении основных направлений государственной политики в области обеспечения качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, охраны

здоровья населения, разработки мер по предотвращению поступления в оборот некачественных и опасных для жизни и здоровья человека пищевых продуктов.

В Законе о качестве пищевых продуктов впервые вводится понятие «генетически модифицированное продовольственное сырье и пищевые продукты», которые определены как «продовольственное сырье и пищевые продукты, полученные методами генетической инженерии из генно-инженерных организмов или с их использованием». К сожалению, это определение не выдерживает критики ни с научной точки зрения, ни с точки зрения здравого смысла. Во-первых, не существует специальных методов генетической инженерии для получения сырья или пищевых продуктов. Во-вторых, под него не попадает сырье и продукты, действительно произведенные из ГИО, поскольку их получают обычными, традиционными методами. В-третьих, оно не соответствует существующей практике регулирования безопасности сырья и продуктов из генетически модифицированных источников в странах Западной Европы и США. Так, в законодательстве Европейского Союза специально оговорено, что сырье и продукты, полученные с помощью ГМО, не требуют особого регулирования [34].

Как отмечалось выше, Законом Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» гарантировано право на получение информации о продуктах питания. Закон о качестве пищевого сырья определяет конкретные требования к ее содержанию. В частности, информация, приводимая в сопроводительных документах, на упаковке, должна содержать сведения о нормативных документах, регламентирующих качество и безопасность сырья или продукта, сведения о его пищевой и биологической ценности, о наличии вредных для жизни и здоровья потребителя веществ, показаниях и противопоказаниях к применению, указание на то, что пищевые продукты, сырье и отдельные компоненты получены из генетически модифицированных источников (если такой факт имеет место), дату изготовления и срок годности, требования к хранению, сведения о последствиях невыполнения рекомендуемых действий при применении продукта по истечении срока годности.

Производство работ по подтверждению соответствия продукции (в том числе продуктов питания) требованиям, установленным нормативными актами и конкретными стандартами, осуществляется согласно Закону Республики Беларусь «Об оценке соответствия требованиям технических нормативных правовых актов в области нормирования и стандартизации» [69]. Одной из основных целей сертификации продукции является обеспечение безопасности ее для жизни и здоровья населения. Для реализации этой цели, согласно закону, проводится обязательная сертификация продукции, на которую в нормативных документах по стандартизации установлены требования безопасности для жизни и здоровья. Реализация на территории Беларуси и импорт продукции, подлежащей обязательной сертификации, без сертификата соответствия этой продукции установленным требованиям запрещены.

Законом, устанавливающим права потребителей на приобретение товаров надлежащего качества и безопасных для жизни, здоровья, получение информации о товарах и их изготовителях, является Закон Республики Беларусь «О защите прав потребителей» [70]. Согласно этому закону, в области безопасности продуктов питания потребитель имеет право на безопасность товаров и на получение полной информации о них (в отношении продуктов питания требования к информации соответствуют положениям Закона о качестве пищевых продуктов). В частности, в соответствии с пунктом 2.4 статьи 5 Закона о защите прав потребителей информация о товарах (работах, услугах) в обязательном порядке должна, среди прочего, содержать указание на то, что продукт питания является генетически модифицированным или в нем использованы

генетически модифицированные составляющие (компоненты). Информация должна быть представлена на государственных языках страны.

Для контроля качества и безопасности для жизни и здоровья человека веществ и материалов, используемых в народном хозяйстве и быту, создана государственная система гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов, продуктов (Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 2 августа 1993 года [71]. Государственная гигиеническая регламентация и регистрация продукции (химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания отечественного и зарубежного производства) осуществляется в целях выявления свойств продукции, представляющих опасность для здоровья и жизни человека, и оценки соответствия продукции, условий ее изготовления и оборота требованиям санитарных правил, норм и гигиенических нормативов, предотвращения вредного воздействия продукции на здоровье человека при ее производстве и использовании. Регистрации и регламентации подлежат все вещества, материалы и продукты, производимые и используемые в Беларуси, в том числе ввозимые из-за ее пределов. Государственной гигиенической регистрации должна предшествовать регламентация, осуществляемая на основе специальных исследований или имеющихся данных, достаточных для убедительного научного обоснования допустимых концентраций или уровней содержания вредных веществ в различных объектах окружающей среды, включая продукты питания.

Координация работ, экспертная оценка результатов токсиколого-гигиенических исследований, ответственность за качество и достоверность результатов исследований, осуществление регистрации и регламентации возложены на Министерство здравоохранения. Ему предоставлено право утверждать перечень химических и биологических веществ, материалов и продуктов, подлежащих регистрации. Во исполнение названного выше постановления Совета Министров с 1994 года Минздрав ведет государственный гигиенический регистр химических и биологических веществ, материалов, продуктов, зарегистрированных в стране.

Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 14 декабря 2001 года «О совершенствовании системы государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания» [72] конкретизировало алгоритм проведения регистрации и регламентации, порядок проведения лабораторных испытаний и отбора проб (образцов) продукции для лабораторных исследований. В связи с подписанием Республикой Беларусь ряда соглашений о взаимном признании документов (гигиенических сертификатов, заключений и т.д.) новым постановлением было установлено, что признание указанных документов осуществляется в соответствии с международными обязательствами, принятыми страной.

Действующее в настоящее время постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь «Об утверждении Положения о порядке осуществления государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания на территории Республики Беларусь и перечня продукции, подлежащей государственной гигиенической регистрации» [73] было принято 13 ноября 2000 года. В частности, Перечень продуктов питания, подлежащих государственной регистрации, включает следующие группы: жировые продукты, биологически активные добавки к пище, вку-

совые вещества, добавки пищевые, рыбные продукты и продукты моря, концентрированные продукты, заквасочные культуры, напитки безалкогольные и алкогольные, плодоовощную продукцию, молочные и мясные продукты, сахар и кондитерские изделия, мукомольно-крупяные и зернобобовые продукты, кофе, чай, мате и др. (диетические, специальные). Таким образом, данный перечень включает практически полный спектр пищевых продуктов. Кроме того, регистрации подлежат все вещества и материалы, контактирующие с продуктами питания в процессе их приготовления, производства, транспортировки и потребления. Однако, согласно положению, государственной гигиенической регламентации и регистрации не подлежат пищевые продукты и продовольственное сырье с ограниченными (до одного месяца) сроками годности (хранения) и/или требующие специальных условий хранения (+6°C и ниже). Контроль качества и безопасности такой продукции осуществляется в рамках текущего санитарного надзора соответствующими компетентными органами.

2 сентября 2003 года Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь принято постановление «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников» [74]. В соответствии с этим постановлением с 1 января 2004 года вводится обязательная государственная гигиеническая регламентация и регистрация продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также компонентов (фрагментов) для их производства, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников, при содержании последних 2% и более. Утвержденный перечень такого сырья и продуктов, подлежащих обязательным лабораторным испытаниям на наличие генетически модифицированных источников (компонентов), приведен в таблице 7.7. Установлено, что настоящее постановление не распространяется на продовольственное сырье и пищевые продукты, полученные из или с использованием генетически модифицированных источников, не содержащих ДНК и белка.

В соответствии с постановлением обязательным документом, дающим право производства и оборота такого сырья и продуктов, является удостоверение о его государственной гигиенической регистрации. Учреждениям Министерства здравоохранения Республики Беларусь, осуществляющим проведение государственной гигиенической регистрации, предписано обеспечить проведение его государственной гигиенической регламентации и регистрации. Выдачу удостоверений о государственной гигиенической регистрации до организации проведения лабораторных испытаний на наличие генетически модифицированных источников (компонентов) проводить по сопроводительным документам, представляемым производителем (поставщиком) продукции. Постановлением запрещается оборот продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также компонентов (фрагментов) для их производства, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников, не имеющих соответствующей маркировки.

Многочисленную группу документов, осуществляющих нормативно-правовое регулирование обеспечения безопасности и качества продуктов питания, составляют нормативные акты республиканских органов государственного управления, ответственных за предотвращение угрозы, создаваемой здоровью людей недоброкачественными и потенциально опасными продуктами питания: Министерства здравоохранения, Министерства сельского хозяйства и продовольствия, Комитета по стандартизации, метрологии и сертификации и др.

Одним из основных документов, направленных на обеспечение качества и безопасности продуктов питания, являются санитарные правила «Гигиенические требова-

ния к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» (СанПиН 11 63 РБ 98) [75], которые устанавливают гигиенические нормативы качества и безопасности сырья и продуктов, блюд для человека, а также требования по соблюдению указанных нормативов при операциях с пищей, единые для всех продуктов и сырья вне зависимости от использования или не использования генетически модифицированных источников.

Таблица 7.7

Перечень продовольственного сырья и пищевых продуктов, подлежащих обязательным лабораторным испытаниям на наличие генетически модифицированных источников (компонентов) (приложение 1 к Постановлению Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 02.09.2003 г.)

Продовольственное сырье	Пищевые продукты
Соя	Соевые бобы Соевые проростки Концентрат соевого белка и его текстурированные формы Изолят соевого белка Гидролизат соевого белка Соевая мука и ее текстурированные формы Заменитель молока (соевое молоко) Заменитель сухого молока (сухое соевое молоко) Консервированная соя Вареные соевые бобы Жареные соевые бобы Жареная соевая мука Продукты, полученные из или с использованием изолята соевого белка, концентрата соевого белка, гидролизата соевого белка, соевой муки, сухого соевого молока Ферментированные соевые продукты Соевая паста и продукты из нее Соевый соус Продукты, полученные из или с использованием соевого молока (тофу, сквашенные напитки, мороженое, майонез и др.)
Кукуруза	Кукуруза для непосредственного употребления в пищу (мука, крупа и др.) Кукуруза замороженная и консервированная Попкорн Кукурузные чипсы Мука смешанная, содержащая кукурузную муку
Картофель	Картофель для прямого потребления Полуфабрикаты из картофеля Пюре картофельное сухое Хлопья картофельные Картофельные чипсы Крекеры картофельные (полуфабрикаты) Продукты из картофеля обжаренные: - хворост картофельный - в ломтиках - соломкой Концентрат из картофеля: - мука для оладий - вареники с картофелем (полуфабрикаты) - пюре картофельное, не требующее варки Продукты из картофеля быстрого приготовления: - картофель сушеный, быстро восстанавливаемый - картофель сушеный, быстро развариваемый Консервы из картофеля Меласса
Томаты	Томаты для непосредственного употребления в пищу (натуральные, цельно-консервированные) Томатная паста Томатное пюре Томатный сок, напитки Томатные соусы, кетчупы
Кабачки	Кабачки в натуральном виде Продукты, произведенные из или с использованием кабачков
Дыня	Дыня в натуральном виде Продукты, произведенные из или с использованием дыни

Продовольственное сырье	Пищевые продукты
Папайя	Папайя в натуральном виде Продукты, произведенные из или с использованием папайи
Цикорий	Продукты, содержащие цикорий
Пищевые добавки	Произведенные из или с использованием генетически модифицированных источников
Биологически активные добавки к пище	Произведенные из или с использованием генетически модифицированных источников
Продукты для детского, диетического и лечебно-профилактического питания	Произведенные из или с использованием генетически модифицированных источников

При государственной гигиенической регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников, предусмотрено лишь проведение молекулярно-генетических анализов с целью выявления фрагментов трансгенной ДНК в сырье и продуктах. Результаты анализов используются для маркировки названных сырья и продуктов на предмет содержания в них компонентов из генетически модифицированных источников. Инструкция по медико-биологической оценке пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников, недавно утверждена Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь.

Кроме рассмотренных выше, в настоящее время на территории страны действует более сорока нормативно-методических документов, регламентирующих требования к предприятиям пищевой и перерабатывающей промышленности (технологические процессы, сырье), и около десяти документов по соблюдению санитарно-эпидемического режима на предприятиях торговли пищевыми продуктами. Общие методы проверки и анализа пищевых продуктов, технические условия их изготовления, требования к качеству изложены более чем в 200 СТБ, 1000 ГОСТов и ТУ.

Действующая в Республике Беларусь система обеспечения качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов питания в целом отвечает современным требованиям. Однако содержащиеся в ней положения, касающиеся сырья и продуктов, полученных из генно-инженерных организмов, требуют дальнейшего совершенствования. В частности, в связи с принятием Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» необходимо будет уточнить определение «генетически модифицированного продовольственного сырья и пищевых продуктов», содержащееся в действующем Законе Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека».

В ходе выполнения постановления Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников» стала очевидной невозможность осуществления в полном объеме пункта 6, касающегося обязательного лабораторного испытания на наличие генетически модифицированных источников (компонентов) большого перечня сырья и продуктов. Поскольку данные испытания не имеют отношения к безопасности сырья и продуктов, а относятся к области защиты прав потребителя на получение информации, то эта норма должна быть уточнена в сторону изменения тотального контроля сырья и продуктов, входящих в перечень, на выборочный контроль (подробнее см. главу 8).

7.3.5. Законодательство Республики Беларусь, регулирующее ввоз, вывоз и транзит генно-инженерных организмов. Перечень актов законодательства Республики Бе-

ларусь в области биобезопасности при ввозе и вывозе генно-инженерных организмов приведен в таблице 7.8.

Таблица 7.8

Перечень актов законодательства Республики Беларусь, регулирующих ввоз, вывоз и транзит генно-инженерных организмов*

№ п/п	Наименование законодательных актов п/п
1	Таможенный кодекс Республики Беларусь от 6 января 1998 г.
2	Закон Республики Беларусь от 2 декабря 1994 г. «О ветеринарном деле»
3	Закон Республики Беларусь от 14 февраля 1997 г. «О семенах»
4	Закон Республики Беларусь от 9 ноября 1999 г. «О ратификации 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 Соглашения о Таможенном союзе»
5	Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии»
6	Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» (проект Закона принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 г.)
7	Устав по карантину растений Республики Беларусь. Утвержден постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 июля 1993 г. «О мерах по улучшению организации карантина растений в Республике Беларусь»
8	Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 18 марта 1997 г. «Об установлении запретов и ограничений на перемещение вещей через таможенную границу Республики Беларусь» (с изменениями и дополнениями от 21 апреля 2000 г.)
9	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»
10	Постановление Государственного таможенного комитета Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 5 июля 2002 г. «Об условиях перемещения под таможенные режимы товаров, подконтрольных Белорусской государственной инспекции по карантину растений»)
11	Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 27 ноября 2001 г. «Об утверждении Положения о порядке ввоза в Республику Беларусь и вывоза за ее пределы семян»
12	Ветеринарно-санитарные правила осуществления импорта в республику грузов животного происхождения и кормов для животных (Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 июля 2002 г.)
13	Положение о порядке выдачи разрешений на ввоз в Республику Беларусь или транзит через ее территорию генно-инженерных организмов (проект документа разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ)

С точки зрения правового режима живые организмы представляют собой движимое имущество и являются товаром в соответствии с положениями Гражданского кодекса Республики Беларусь от 7 декабря 1998 года и статьи 18 Таможенного кодекса Республики Беларусь от 6 января 1998 года (с последующими изменениями и дополнениями) [76]. В последнем нормативном правовом акте ввоз и вывоз определяются как фактическое перемещение товаров через таможенную границу Республики Беларусь.

Согласно статье 19 Таможенного кодекса все лица на равных основаниях имеют право на ввоз-вывоз товаров, ограничения реализации данного определяющего принципа могут быть закреплены в указанном кодексе либо в иных законодательных актах Республики Беларусь. В частности, запрет ввоза-вывоза отдельных товаров допускается «с целью обеспечения государственной безопасности ... жизни и здоровья человека, защиты животных и растений, охраны окружающей природной среды ... Республики Беларусь и зарубежных стран, защиты права собственности, в том числе на объекты интеллектуальной собственности, защиты интересов белорусских потребителей ввозимых товаров и исходя из других интересов Республики Беларусь на основании актов законодательства Республики Беларусь и международных договоров Республики Бела-

реть». В свою очередь ограничения на ввоз-вывоз товаров могут устанавливаться в интересах выполнения международных обязательств Республики Беларусь и по иным достаточно важным основаниям в соответствии с законодательством Республики Беларусь и международными договорами Республики Беларусь.

С другой стороны, в соответствии со статьей 133 Таможенного кодекса «при ввозе-вывозе ... живых животных, скоропортящихся товаров ... и других подобных товаров их таможенное оформление производится в упрощенном виде и приоритетном порядке. Случаи и условия применения упрощенного порядка таможенного оформления определяются Государственным таможенным комитетом Республики Беларусь».

Таким образом, Таможенный кодекс закрепляет принцип свободы ввоза-вывоза товара, в том числе живых организмов, а запреты и ограничения в осуществлении данных видов деятельности установлены в иных актах таможенного законодательства и в ином специальном законодательстве.

Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 18 марта 1997 года «Об установлении запретов и ограничений на перемещение вещей через таможенную границу Республики Беларусь» (с изменениями и дополнениями) [77] утверждены перечень вещей, запрещенных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь, и перечень вещей, ограниченных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь. Вещи относятся к категории запрещенных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь или ограниченных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь только после включения их в соответствующий перечень, утвержденный указанным постановлением. В перечень вещей, запрещенных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь при вывозе, в частности, входят растения и животные, относящиеся к видам, занесенным в Красную книгу Республики Беларусь, а также их части и дериваты (кроме культивируемых или выращенных в неволе). В перечень вещей, ограниченных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь, входят при ввозе и вывозе животные и растения, их части или производные от них (дериваты), подпадающие под действие Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения.

Определенные правовые ограничения и запреты сформулированы также в отношении ввоза-вывоза семян и сельскохозяйственных животных. Так, Закон Республики Беларусь от 14 февраля 1997 года «О семенах» [64] регламентирует особые правила ввоза-вывоза семян, согласно которому семена могут быть ввезены в Республику Беларусь из других государств при условии, что Государственная карантинная инспекция Республики Беларусь дала разрешение на их ввоз на территорию республики; семена имеют фитосанитарный сертификат, выданный государственными органами по карантину растений государства-экспортера; семена относятся к сорту, который прошел государственное сортоиспытание и внесен в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород или признан перспективным.

Семена сортов, не внесенные в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород и признанные неперспективными, могут быть ввезены в Республику Беларусь из других государств только для целей проведения научно-исследовательских работ, государственного сортоиспытания и экспонирования; если их размножение предусмотрено международным договором для реализации за пределы Республики Беларусь; если относительно сорта и древесно-кустарниковой породы принято специальное решение соответствующим министерством, другим республиканским органом государственного управления, в компетенцию которого входят вопросы производства, заготовки, реализации, использования семян.

Вывоз семян осуществляется в соответствии с иным законодательством Республики Беларусь. При этом семена, ввозимые на территорию Республики Беларусь и вывозимые за ее пределы для научных целей и государственного сортоиспытания, не облагаются таможенной пошлиной, таможенными сборами и налогами.

Контроль за ввозом (вывозом) семян осуществляется Главным управлением по производству продукции растениеводства, Белорусской государственной инспекцией по карантину растений (Белгоскарантин), государственной семенной инспекцией на основе Закона Республики Беларусь «О семенах» [64], постановления Государственного таможенного комитета Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 5 июля 2002 года «Об условиях перемещения под таможенные режимы товаров, подконтрольных Белорусской государственной инспекции по карантину растений» [78], Устава по карантину растений Республики Беларусь, утвержденного постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 июля 1993 года «О мерах по улучшению организации карантина растений в Республике Беларусь» [79], постановления Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 27 ноября 2001 года «Об утверждении Положения о порядке ввоза в Республику Беларусь и вывоза за ее пределы семян» [80].

На основании Закона Республики Беларусь «О ветеринарном деле» [81] от 2 декабря 1994 года постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 июля 2002 года [82] утверждены Ветеринарно-санитарные правила осуществления импорта в страну грузов животного происхождения и кормов для животных. В них определяются особые условия ввоза указанных объектов, в том числе таких живых организмов, как сельскохозяйственные, домашние, зоопарковые и цирковые животные, а также пушные звери, птица, рыба, пчелы и другие представители животного мира, на территорию Беларуси, требования к организации карантина, таре и упаковке, к содержанию сертификатов и иных сопроводительных документов, регламентируются порядок и условия получения импортером разрешения Главного управления ветеринарии Минсельхозпрода Республики Беларусь на ввоз товаров. Обращается особое внимание на то, что инспекционный контроль за возможностью поставки в Республику Беларусь указанных товаров осуществляет Главное управление ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

Пункт 315 Ветеринарно-санитарных правил содержит императивную норму, согласно которой импортируемые в Республику Беларусь корма растительного происхождения (фуражное зерно, соевые бобы, тапиока, шроты из арахиса и сои) «не должны содержать сырье, выработанное с использованием методов генной инженерии, или другие генетически модифицированные источники».

В последнее десятилетие резко возрос импорт в Беларусь пищевых продуктов. Данные лабораторных исследований свидетельствуют о том, что в ряде случаев ввозятся пищевые продукты, превышающие допустимые уровни содержания опасных для здоровья веществ (микотоксинов, нитратов, микроорганизмов и т.д.). Это стало одной из причин ратификации 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 Соглашения о Таможенном союзе [83]. Протокол устанавливает единые требования к применению стандартов, норм и правил в области импорта товаров как меру, способствующую охране жизни, здоровья граждан и окружающей среды. Единый порядок применения стандартов и требований распространяется как на ввозимые, так и на производимые товары. Законом о ратификации протокола определен

перечень министерств и ведомств, ответственных за пресечение ввоза недоброкачественных товаров, в том числе продуктов питания. Национальные требования относительно порядка ввоза и реализации товаров, подлежащих обязательной стандартизации и гигиенической регистрации, согласно закону, должны применяться к продукции, импортируемой также из государств, не являющихся сторонами Соглашения о Таможенном союзе. Перечень товаров, подлежащих обязательной стандартизации и гигиенической регистрации, государственному санитарному надзору, ветеринарному и фитосанитарному контролю, включающий спектр продуктов питания, сырья для их производства, пищевых добавок, оборудования, используемого для производства, приготовления и потребления пищевых продуктов, других материалов и веществ, контактирующих с продуктами питания (упаковка, тара и т.д.), достаточно широк и обоснован в целях обеспечения безопасности для здоровья человека.

Обязательным условием ввоза продуктов питания, а также сырья для их производства, контактирующих материалов является наличие документов, подтверждающих их безопасность для здоровья, выданных органами государственного санитарного надзора, и информации о происхождении продукта (в отношении генетически измененных сырья и продуктов питания). Однако законом предусмотрено проведение при необходимости дополнительного государственного контроля (экспертизы, испытаний и др.). Закон запрещает ввоз в страну товаров, которые не соответствуют требованиям, действующим на ее территории. Товары, ввоз которых запрещен органами государственного надзора, подлежат немедленному вывозу за пределы государства.

В этой связи правовые нормы Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии, который Беларусь ратифицировала в 2002 году, устанавливающие обязательную процедуру получения заблаговременного обоснованного согласия до первого преднамеренного трансграничного перемещения генно-инженерных организмов, предназначенных для преднамеренного высвобождения в окружающую среду стороны импорта, имеют важнейшее значение для обеспечения биобезопасности.

В соответствии с проектом Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» ввоз в Республику Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов, предназначенных для высвобождения в окружающую среду с целью проведения испытаний, допускается при наличии разрешения на ввоз и высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, выдаваемого в соответствии со статьей 17 проекта закона. Как уже отмечалось, высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний предполагается осуществлять при наличии разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду, выдаваемого Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь.

Ввоз в Республику Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов, предназначенных для использования в хозяйственной деятельности, производится при наличии свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных или штаммов микроорганизмов, выдаваемого в соответствии со статьей 18 настоящего закона: «Использование в хозяйственной деятельности генно-инженерных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов, в том числе ввозимых в Республику Беларусь, допускается после их государственной регистрации Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь или Министерством здравоохранения Республики Беларусь в соответствии с их компетенцией в порядке, установленном Советом Министров Республики Беларусь. Госу-

дарственная регистрация осуществляется после проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, а также при наличии положительных результатов испытаний генно-инженерных организмов при их высвобождении в окружающую среду».

Транзит через территорию Республики Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов допускается после уведомления перевозчиком Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь.

Ввоз в Республику Беларусь и транзит через ее территорию условно-патогенных и патогенных генно-инженерных организмов допускается исключительно для научных исследований при наличии разрешения на ввоз, выдаваемого Министерством здравоохранения Республики Беларусь в порядке, установленном Советом Министров Республики Беларусь.

В случае несанкционированного ввоза генно-инженерных организмов лицо, осуществляющее ввоз, удаляет их с территории Республики Беларусь в соответствии с таможенным законодательством.

Вывоз из Республики Беларусь генно-инженерных организмов производится при наличии разрешения на ввоз, выданного специально уполномоченным органом страны назначения в соответствии с международными договорами Республики Беларусь. Вывоз из Республики Беларусь условно-патогенных и патогенных генно-инженерных организмов производится при наличии разрешения на ввоз, выданного специально уполномоченным органом страны назначения в соответствии с международными договорами Республики Беларусь и при наличии разрешения на вывоз, выдаваемого в порядке, установленном Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Описание процедуры получения указанных выше разрешений содержится в проекте Положения о порядке выдачи разрешений на ввоз в Республику Беларусь или транзит через ее территорию генно-инженерных организмов, который был разработан в рамках выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ.

7.3.5. Система органов государственного управления Республики Беларусь в области биобезопасности. Система органов государственного управления Республики Беларусь в области биобезопасности в настоящее время находится в состоянии формирования.

В соответствии с постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 5 июня 2002 года «О мерах по реализации положений Картахенского Протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» [10] в качестве компетентных органов для выполнения международных обязательств страны в соответствии с Картахенским протоколом определены Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды (в части функций, связанных с высвобождением генно-инженерных организмов в окружающую среду), а также Министерство здравоохранения и Министерство сельского хозяйства и продовольствия (по вопросам использования генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности).

В качестве координационного центра, ответственного за связь с секретариатом Картахенского протокола, назначен Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, на который ранее были возложены обязанности Национального координационного центра биобезопасности (см. рис. 7.4).

Национальный координационный центр биобезопасности создан в соответствии с Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 года [11] «в целях обеспечения эффективного участия Республики Беларусь в сохранении биологического разнообразия и координации на национальном уровне деятельности в рамках Конвенции о биологическом разнообразии, принятой 5 июня 1992 года в Рио-де-

Жанейро и касающейся вопросов безопасного использования достижений современной биотехнологии». В качестве основных определены следующие задачи центра:

- сбор, анализ и систематизация информации о законодательстве и научных исследованиях по вопросам биобезопасности, полевых испытаниях генно-инженерных объектов, ввозе (вывозе), коммерческом использовании в Беларуси генно-инженерных организмов и продуктов на их основе, а также указанной информации по биобезопасности из баз данных международных информационных сетей, создание национальной базы данных о биобезопасности;
- предоставление информации по вопросам биобезопасности заинтересованным министерствам и другим республиканским органам государственного управления, средствам массовой информации;
- обмен информацией с координационными центрами биобезопасности других стран, международными организациями;
- организация научной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и продуктов на их основе, использование которых предполагается на территории Республики Беларусь;
- оказание консультативных услуг министерствам и другим республиканским органам государственного управления в разработке проектов актов законодательства, касающихся ввоза (вывоза) и безопасного использования генно-инженерных организмов и продуктов на их основе, руководств по оценке и предупреждению риска для окружающей среды и здоровья человека, инструкций по технике безопасности для лабораторий генетической инженерии;
- оказание консультативных услуг министерствам и другим республиканским органам государственного управления в подготовке предложений по заключению двусторонних и региональных соглашений, в разработке международных соглашений по вопросам биобезопасности.

Дальнейшее формирование национальной системы биобезопасности Республики Беларусь не предполагает создания нового органа государственного управления, в чью компетенцию входит весь круг вопросов, относящихся к данной области. Согласно проекту Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности», государственное управление в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляют Президент Республики Беларусь, Совет Министров Республики Беларусь, а также специально уполномоченные республиканские органы государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности: Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь и их территориальные органы.

Предлагается наделить правительство Республики Беларусь следующими полномочиями в области регулирования генно-инженерной деятельности:

- принимать нормативные правовые акты в области безопасности генно-инженерной деятельности;
- определять порядок выдачи разрешений на ввоз в Республику Беларусь, вывоз из Республики Беларусь, транзит через ее территорию генно-инженерных организмов, а также разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний;
- утверждать положение о порядке организации и проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов;
- утверждать положение о государственном реестре экспертов по безопасности в области генно-инженерной деятельности;

- определять правовое положение и порядок деятельности Национального координационного центра биобезопасности;
- определять порядок государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов;
- определять порядок выдачи разрешений на ввоз в Республику Беларусь или транзит через ее территорию генно-инженерных организмов;
- определять порядок проведения государственного контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности.

В соответствии с законодательством правительство может осуществлять иные полномочия.

Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, согласно проекту закона, имеет право:

- принимать нормативные правовые и технические нормативные правовые акты в области безопасности генно-инженерной деятельности при высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний;
- выдавать в установленном порядке разрешения на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний;
- устанавливать требования безопасности к участкам по испытанию генно-инженерных организмов по согласованию с Национальной академией наук Беларуси;
- определять порядок проведения испытаний генно-инженерных организмов, высвобождаемых в окружающую среду;
- устанавливать порядок проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на состояние окружающей среды;
- выдавать в установленном порядке разрешения на ввоз в Республику Беларусь и высвобождение в окружающую среду для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов;
- устанавливать требования безопасности к замкнутым системам при осуществлении работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности;
- осуществлять государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности в пределах своей компетенции, а также иные полномочия в случаях, предусмотренных законодательством.

Министерство здравоохранения Республики Беларусь в пределах своей компетенции:

- принимает нормативные правовые и технические нормативные правовые акты в области безопасности генно-инженерной деятельности второго, третьего и четвертого уровней риска, осуществляемой в замкнутой системе;
- выдает в установленном порядке разрешения на осуществление генно-инженерной деятельности второго, третьего и четвертого уровней риска в замкнутой системе;
- выдает в установленном порядке разрешения на ввоз в Республику Беларусь, вывоз из Республики Беларусь и транзит через ее территорию условно-патогенных и патогенных генно-инженерных организмов;
- устанавливает требования безопасности при транспортировке условно-патогенных и патогенных генно-инженерных организмов;
- устанавливает порядок определения уровня риска генно-инженерной деятельности, а также требования безопасности к замкнутым системам при осуществлении работ второго, третьего и четвертого уровней риска генно-инженерной деятельности;
- устанавливает порядок проведения оценки риска возможных неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности на здоровье человека;

- осуществляет государственную регистрацию генно-инженерных штаммов микроорганизмов;
- осуществляет государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также иные полномочия в соответствии с законодательством.

Компетенция Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь определяется в проекте Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности» следующим образом:

- принимает нормативные правовые и технические нормативные правовые акты в области безопасности генно-инженерной деятельности при использовании генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности;
- осуществляет государственную регистрацию генно-инженерных сортов растений, пород животных и штаммов микроорганизмов;
- осуществляет государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также иные полномочия в соответствии с законодательством.

7.3.6. Система государственной экспертизы безопасности генно-инженерной деятельности. В соответствии с постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 года «О создании Национального координационного центра биобезопасности» [11] одной из функций координационного центра биобезопасности является «организация научной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и продуктов на их основе, использование которых предполагается на территории Республики Беларусь».

В 1999 году состоялось первое в Республике Беларусь официальное испытание генно-инженерных организмов, связанное с высвобождением их в окружающую среду. По заявке фирмы AgrEvo (Германия) Институтом генетики и цитологии НАН Беларуси проведена научная экспертиза безопасности трансгенного сорта сахарной свеклы, устойчивого к гербициду глюфозинату аммония. При оценке риска для здоровья человека и окружающей среды специалистами института использовалась методика, принятая в странах Европейского Союза. На основании заключения о безопасности данного трансгенного сорта для здоровья человека и окружающей среды Беларуси Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды выдало разрешение на его ввоз и проведение испытаний.

В соответствии со статьей 22 проекта Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» государственная экспертиза безопасности генно-инженерных организмов (далее – экспертиза) проводится с целью их идентификации, определения вероятности возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, определения допустимости их высвобождения в окружающую среду или использования в хозяйственной деятельности.

Государственная экспертиза безопасности генно-инженерных организмов проводится:

- при первом высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний;
- при государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов, предназначенных для использования в хозяйственной деятельности.

Объектами первого высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, требующего разрешения Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды, могут быть:

1) отдельные селекционные образцы (первичные трансформанты или их потомство), высвобождение которых в окружающую среду проводится на опытном участке с целью их испытания для оценки селекционной ценности, биобезопасности и отбора лучших генотипов (контролируемое высвобождение);

2) генно-инженерные сорта зарубежной селекции, высвобождение которых в окружающую среду проводится в системе государственного сортоиспытания (запланированное высвобождение) для их последующей государственной регистрации и использования в хозяйственной деятельности.

В ходе государственной экспертизы при первом высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду основное внимание уделяется оценке экологической безопасности высвобождаемых организмов. При испытании селекционных образцов речь идет, по меньшей мере, о сотнях генотипов, подавляющее большинство которых будет выбраковано по результатам испытания.

Аспекты безопасности генно-инженерных организмов для здоровья человека выходят на первый план в ходе государственной экспертизы биобезопасности при государственной регистрации генно-инженерных сортов. С одной стороны, на этом этапе становится актуальным вопрос о допустимости использования конкретного генно-инженерного сорта для использования в хозяйственной деятельности, поскольку он успешно прошел государственное сортоиспытание. С другой стороны, конкретный генно-инженерный сорт можно досконально изучить на предмет его безопасности для здоровья человека, в том числе по параметрам существенной эквивалентности, что практически невозможно сделать, когда речь идет о десятках и сотнях генотипов.

Проведение экспертизы организуется экспертными советами по безопасности генно-инженерных организмов (далее – экспертные советы), которые создаются специально уполномоченными республиканскими органами государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности. Экспертный совет для оценки биобезопасности генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду создается Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь. Экспертный совет для оценки биобезопасности генно-инженерных организмов, предназначенных для использования в хозяйственной деятельности, создается Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Экспертные советы формируются из числа должностных лиц органов государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности, ведущих специалистов в области биобезопасности. Состав экспертных советов утверждается соответствующими республиканскими органами государственного управления.

При подготовке проекта Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» ко второму чтению в парламенте возможен вариант, при котором будет предусмотрено создание одного межведомственного экспертного совета – при Министерстве природных ресурсов и охраны окружающей среды. В функции этого совета будет входить организация обеих названных выше экспертиз.

Для проведения экспертизы по представлению экспертных советов соответствующими специально уполномоченными республиканскими органами государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности назначаются государственные эксперты. Государственными экспертами могут быть ведущие в соответствующей области научные организации Республики Беларусь, ученые и специалисты, являющиеся гражданами Республики Беларусь, включенные в реестр государственных экспертов. В качестве экспертов не могут привлекаться заинтересованные лица, в том числе работники юридического лица, обратившегося в специально уполномоченный республиканский орган государственного управления в области безопас-

ности генно-инженерной деятельности с заявлением о проведении экспертизы. Государственный эксперт несет ответственность за своевременное, объективное и квалифицированное проведение экспертизы в соответствии с законодательством.

По результатам проведения экспертизы государственные эксперты готовят заключение, содержащее однозначные выводы о допустимости высвобождения конкретных генотипов генно-инженерных организмов в окружающую среду или использования их в хозяйственной деятельности. Положительное заключение государственных экспертов является основанием для выдачи разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, а также для выдачи свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов.

Заключение государственных экспертов рассматривается на заседании экспертного совета. По результатам рассмотрения заключения государственных экспертов экспертный совет дает рекомендацию соответствующему республиканскому органу государственного управления о выдаче (невыдаче) разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, выдаче (невыдаче) свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов или о проведении повторной экспертизы.

Порядок организации и проведения экспертизы определяется Советом Министров Республики Беларусь. Проект Положения о порядке организации и проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов был разработан в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ.

В связи с принятием Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» значительные усилия должны быть направлены на повышение образовательного уровня и специальную подготовку экспертов по биобезопасности, совершенствование материальной и методической базы. При решении первой из названных задач весьма полезными могут быть Методические указания по оценке риска генно-инженерной деятельности, разработанные в ходе выполнения проекта ЮНЕП-ГЭФ, а также настоящая монография.

7.3.7. Система контроля и мониторинга в области биобезопасности. В соответствии с проектом Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» государственный контроль в этой области осуществляется специально уполномоченными республиканскими органами государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности в пределах их компетенции: Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Министерством здравоохранения Республики Беларусь, Министерством сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, их территориальными органами и должностными лицами в порядке, установленном Советом Министров Республики Беларусь.

Республиканские органы государственного управления, их территориальные органы и должностные лица, уполномоченные осуществлять государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности, имеют право в пределах своей компетенции:

- выдавать обязательные для исполнения предписания об устранении нарушений законодательства в области безопасности генно-инженерной деятельности, причин их совершения и способствующих им условий;
- предъявлять иски о возмещении вреда, причиненного в результате генно-инженерной деятельности;

- принимать в порядке, установленном законодательством, решения об ограничении, приостановлении генно-инженерной деятельности, осуществляемой с нарушениями требований ее безопасности;
- осуществлять иные права в соответствии с законодательством.

Ведомственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляется государственными органами либо организациями в целях обеспечения выполнения подведомственными им организациями требований законодательства в области безопасности генно-инженерной деятельности и охраны окружающей среды.

Порядок осуществления ведомственного контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности устанавливается органами государственного управления либо организациями, выполняющими такой контроль в подведомственных им организациях, по согласованию с Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь (при осуществлении генно-инженерной деятельности первого уровня риска), Министерством здравоохранения Республики Беларусь (при осуществлении генно-инженерной деятельности второго, третьего и четвертого уровней риска).

Юридические лица и индивидуальные предприниматели, осуществляющие генно-инженерную деятельность, организуют и выполняют производственный контроль в целях проверки соблюдения требований безопасности генно-инженерной деятельности, а также соблюдения санитарных норм, правил, гигиенических нормативов и природоохранных требований.

Порядок осуществления производственного контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности устанавливается юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями, выполняющими генно-инженерную деятельность, по согласованию с соответствующими территориальными органами Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь (при осуществлении генно-инженерной деятельности первого уровня риска), Министерства здравоохранения Республики Беларусь (при осуществлении генно-инженерной деятельности второго, третьего и четвертого уровней риска).

Общественный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляется гражданами и общественными объединениями в соответствии с законодательством.

Названные выше органы государственного управления обязаны осуществлять мониторинг последствий использования генно-инженерных организмов в хозяйственной деятельности в рамках своей компетенции.

В соответствии с проектом Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» учет генно-инженерных организмов и государственную статистическую отчетность в области генно-инженерной деятельности, а также определение возможного влияния генно-инженерной деятельности на здоровье человека и состояние окружающей среды ведут юридические лица и индивидуальные предприниматели, осуществляющие генно-инженерную деятельность, в порядке, установленном Министерством статистики и анализа Республики Беларусь по согласованию с Министерством здравоохранения, Министерством сельского хозяйства и продовольствия, Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды и Национальной академией наук Беларуси. В процессе формирования национальной системы биобезопасности порядок и формы отчетности должны быть разработаны.

В проекте Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» содержится перечень нарушений законодательства в этой области. Правонарушениями в области безопасности генно-инженерной деятельности являются:

- нарушения требований безопасности генно-инженерной деятельности;
- осуществление юридическими лицами и индивидуальными предпринимателями хозяйственной деятельности без свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов;
- представление на государственную экспертизу безопасности генно-инженерных организмов и государственную регистрацию генно-инженерных организмов документов, содержащих заведомо недостоверную информацию о безопасности генно-инженерных организмов;
- невыполнение предписаний специально уполномоченных республиканских органов государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности, их территориальных органов и должностных лиц по устранению выявленных нарушений законодательства о безопасности генно-инженерной деятельности;
- осуществление ввоза в Республику Беларусь, вывоза из Республики Беларусь, транзита через ее территорию генно-инженерных организмов, а также их высвобождение в окружающую среду без соответствующего разрешения;
- выдача должностными лицами специально уполномоченных республиканских органов государственного управления разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, а также свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов без положительного заключения государственной экспертизы безопасности генно-инженерной деятельности;
- проведение государственными экспертами государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов с нарушением законодательства.

Законодательными актами могут быть предусмотрены и иные правонарушения в области безопасности генно-инженерной деятельности. Задача состоит в том, чтобы в ближайшее время разработать меры ответственности за совершенные правонарушения в области генно-инженерной деятельности и ввести их в существующее законодательство.

Следует заметить, что функционирующей системы контроля и мониторинга, учета и отчетности, привлечения к ответственности за правонарушения в области биобезопасности в настоящее время в Беларуси нет. Отсутствует и опыт решения отдельных проблем в данной области.

В системе Министерства здравоохранения создано две лаборатории для идентификации трансгенных компонентов в ДНК пищевого сырья и продуктов питания с целью соблюдения выполнения законодательства в области маркировки ГМ продуктов и сырья. Выделены помещения, закуплено оборудование и реактивы, сотрудники прошли стажировку по освоению соответствующих методик. Теперь усилия направлены на официальную аккредитацию лабораторий и сертификацию методик в системе Госстандарта Республики Беларусь. Предполагается создание еще нескольких подобных лабораторий, в том числе в Национальной академии наук.

После введения в действие Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» предстоит проделать значительную работу по созданию соответствующих административных структур, принятию подзаконных нормативно-правовых актов, по подготовке и повышению образовательного уровня специалистов в области биобезопасности.

7.3.8. Механизм информирования и участия общественности в принятии решений в области безопасности генно-инженерной деятельности. Общество получит максимальную выгоду от использования достижений современной биотехнологии, если каждый его член будет уверен, что государство в состоянии обеспечить безопасность продуктов генно-инженерной деятельности.

В связи с этим в законодательстве Республики Беларусь закреплено право граждан на получение информации и право на участие общественности в принятии решений. Названные нормы содержатся в ряде международных соглашений, ратифицированных Республикой Беларусь, в частности в Картахенском протоколе по биобезопасности (ст. 23) и Орхусской конвенции, которые ратифицированы Республикой Беларусь [9,13].

В соответствии со статьей 5 Закона Республики Беларусь «О защите прав потребителей» от 9 января 2002 года [70] информация о товарах (работах, услугах) в обязательном порядке должна содержать указание на то, что продукт питания является генетически модифицированным или в нем использованы генетически модифицированные составляющие (компоненты). Подобная норма содержится и в Законе Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» [68]. В частности, статья 10 данного закона регламентирует, что информация о качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов должна содержаться в сопроводительных документах, на упаковке, этикетках или доводиться до сведения населения иным способом и включать указание на то, что продовольственное сырье и пищевые продукты являются генетически модифицированными, если в них содержатся генетически модифицированные составляющие (компоненты). На выполнение этих требований направлено постановление 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» [74].

Согласно Постановлению Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 года [11], одной из обязанностей Национального координационного центра биобезопасности является предоставление информации по вопросам безопасности генно-инженерной деятельности заинтересованным республиканским органам государственного управления, средствам массовой информации, гражданам и общественным объединениям.

В проекте Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» содержится ряд положений, обеспечивающих реализацию права граждан на экологическую информацию и участие общественности в принятии экологически значимых решений. В соответствии со статьей 24 проекта закона гражданам и общественным объединениям гарантируется право на получение полной, своевременной и достоверной информации в области безопасности генно-инженерной деятельности. Республиканские органы государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также юридические лица и индивидуальные предприниматели, осуществляющие генно-инженерную деятельность, обязаны по просьбе заинтересованных граждан и общественных объединений предоставлять информацию по вопросам безопасности генно-инженерной деятельности в соответствии с законодательством.

В проекте законодательно закреплены функции Национального координационного центра биобезопасности по сбору, хранению и распространению информации в области биобезопасности. Важно отметить, что законопроект обязывает специально

уполномоченные республиканские органы государственного управления в сфере безопасности генно-инженерной деятельности предоставлять соответствующую информацию Национальному координационному центру биобезопасности. В частности, речь идет об информации, касающейся выдачи разрешения на осуществление генно-инженерной деятельности в замкнутой системе; разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний; свидетельства о государственной регистрации генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов; информации о пересечении таможенной границы Республики Беларусь лицами, осуществляющими ввоз, вывоз или транзит генно-инженерных организмов (ст. 27). Названная информация должна предоставляться в Национальный координационный центр биобезопасности в десятидневный срок после выдачи перечисленных разрешений.

Предполагается при разработке нормативно-правовых документов, определяющих порядок выдачи разрешений на осуществление отдельных видов генно-инженерной деятельности, предусмотреть информирование и участие общественности в принятии решений относительно выдачи таких разрешений. Информирование общественности и обмен информацией, вероятно, будут осуществляться через упомянутый выше сайт Национального координационного центра биобезопасности (<http://biosafety.org.by/forum/>).

В частности, проектом Порядка выдачи разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний предусмотрено, что Национальный координационный центр биобезопасности в течение 10 дней после поступления материалов заявки на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний помещает содержащуюся в ней информацию (за исключением конфиденциальной) на информационный сайт Национального координационного центра биобезопасности для ознакомления с ними общественности. Замечания и предложения общественности, касающиеся высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду, принимаются центром в течение 60 дней после обнародования материалов заявки. Эксперты, осуществляющие экспертизу заявки, обязаны рассмотреть и по возможности учесть поступившие от общественности замечания и предложения. В случае невозможности учета каких-либо замечаний и предложений общественности эксперты обязаны по каждому из них представить в центр письменные мотивированные возражения. Замечания и предложения, поступившие от общественности, и результаты их рассмотрения экспертной комиссией должны быть отражены в экспертном заключении.

Результаты рассмотрения заявки на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду (экспертное заключение и решение Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды) в течение 10 дней после принятия решения размещаются на информационном сайте Национального координационного центра биобезопасности для ознакомления с ними общественности.

7.3.9. Альтернативный вариант концепции государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь. Как отмечалось выше, рассматриваемый проект национальной системы биобезопасности прошел широкое обсуждение и согласование в министерствах и ведомствах, на заседаниях парламентских комиссий, ряде национальных и международных семинаров и конференций. Доработка проекта с учетом высказанных предложений и замечаний позволила существенно улучшить его. Тем не менее, остались предложения, которые не могут быть учтены по принципиальным соображениям.

Ряд депутатов парламента и представители Минздрава высказали предложение (фактически новую концепцию), поддержанное руководством Национальной академии наук, создать в дополнение к уже имеющейся системе органов государственного регулирования генно-инженерной деятельности межведомственную комиссию по биобезопасности при Национальной академии наук Беларуси. Как вариант этого предложения прозвучало мнение возложить на Национальную академию наук функции органа государственного управления в области биобезопасности.

С этой точки зрения комиссия (Национальная академия наук) должна отвечать за все, что касается безопасности генно-инженерной деятельности в Беларуси. В частности, в компетенцию комиссии (Национальной академии наук) должны входить: выдача разрешений (лицензий) на осуществление генно-инженерной деятельности в замкнутых системах, проведение государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, выдача разрешений на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, осуществление контроля за высвобождением, оценка безопасности генно-инженерных организмов для здоровья человека, государственная регистрация новых трансгенных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов, выдача разрешений на ввоз и вывоз генно-инженерных организмов (с вариантом проекта Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности», в котором закреплены положения данной концепции, можно ознакомиться на сайте <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>).

На наш взгляд, данная модель государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности представляется малоэффективной и затратной, она не учитывает современное состояние генно-инженерной деятельности в стране. Многие ее положения противоречат действующему законодательству Республики Беларусь и многим общепринятым в юриспруденции принципам. Не случайно подобные модели по существу не встречаются в практике государственного регулирования биобезопасности на национальном уровне (имеются лишь единичные случаи, например в Молдове). Против данной концепции можно выдвинуть следующие аргументы.

1. Создание межведомственной комиссии по вопросам генно-инженерной деятельности или возложение на Национальную академию наук ее функций по сути означает, что ряд министерств (Минздрав, Минприроды и Минсельхозпрод) делегируют ей некоторые из своих функций. Это потребует внесения изменений в Декрет Президента Республики Беларусь № 7 от 5 марта 2003 года и Устав НАН Беларуси, в которых содержится исчерпывающий перечень функций государственного управления, возлагаемых на Национальную академию наук.

В настоящее время правом выдачи специальных разрешений на проведение работ с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (организмами II–IV уровней риска), т.е. опасными и особо опасными, обладает Министерство здравоохранения. Здесь имеются высококвалифицированные специалисты, создана соответствующая лабораторная, нормативная и нормативно-техническая база, накоплен большой положительный опыт работы. Решение этих вопросов коллегиальным путем, тем более неспециалистами, недопустимо.

Высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду – деятельность, связанная с потенциальными экологическими рисками. Выдачей разрешений на осуществление таких видов деятельности на данном этапе занимается Минприроды. В соответствии с Законом Республики Беларусь «О государственной экологической экспертизе» [84] разрешения выдаются на основании положительного заключения государственной экспертизы, которую проводит специализированная служба министерства.

Экспертиза безопасности генно-инженерных организмов требует участия специалистов в разных областях знаний: в области генетики, молекулярной биологии, физиологии, биохимии, экологии, ботаники, токсикологии и т.д. Поэтому вышеназванным Постановлением правительства Республики Беларусь от 19 июня 1998 года [11] одной из обязанностей Национального координационного центра биобезопасности определена «организация экспертизы безопасности генно-инженерных организмов». Рассмотренным выше проектом Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности» предусмотрено создание Государственного реестра экспертов по безопасности генно-инженерной деятельности, ведение которого возлагается на этот центр.

Государственную регистрацию новых сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов осуществляет прежде всего Министерство сельского хозяйства и продовольствия. Так, в соответствии с Законом Республики Беларусь «О семенах» [64] ведение Государственного реестра сортов и древесно-кустарниковых пород возложено на Инспекцию по государственному испытанию и охране сортов растений при этом министерстве. Согласно статье 7 Закона Республики Беларусь «О патентах на сорта растений» [63], сорта, полученные с помощью методов генетической инженерии, отнесены к сортам, существенным образом наследующим признаки другого сорта. Создание государственного реестра специально для трансгенных сортов растений, который будет вести межведомственная комиссия (Национальная академия наук), вряд ли обоснованно.

Реализация рассматриваемого предложения – это не просто отмена названных выше решений правительства по проблемам биобезопасности, но и разрушение уже сложившихся, функционирующих и соответствующим образом финансируемых из бюджета элементов национальной системы биобезопасности.

2. Создание специально уполномоченного государственного органа по управлению генно-инженерной деятельностью связано с увеличением расходов государственного бюджета на содержание республиканских органов государственного управления. В случае наделения Национальной академии наук функциями органа государственного управления в области биобезопасности неизбежно возникнет вопрос о статусе сотрудников, которые будут этими проблемами заниматься, а именно вопрос о переводе таких сотрудников в государственные служащие.

3. Предоставление Национальной академии наук Беларуси права проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и выдачи разрешений на их высвобождение в окружающую среду для проведения испытаний означает совмещение в одном учреждении функций государственной экспертизы и государственного контроля, что не соответствует требованиям законодательства и практике государственного управления. Если же принять во внимание, что ряд институтов Национальной академии наук занимается непосредственно созданием новых генно-инженерных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов, то из данной концепции вытекает, что в одном и том же ведомстве генно-инженерные организмы получают, проводят их государственную экспертизу, дают разрешение на их испытание и использование, а также осуществляют контроль за соблюдением требований законодательства в области биобезопасности.

4. Выдача разрешений на осуществление любых видов генно-инженерной деятельности является элементом государственного регулирования. Согласно статье 12 Закона Республики Беларусь от 7 июля 1998 года «О Совете Министров Республики Беларусь» [85] и пункту 1 Указа Президента Республики Беларусь от 24 сентября 2001 года «О совершенствовании системы республиканских органов государственного управления и иных государственных организаций, подчиненных Правительству Рес-

публики Беларусь» [86], государственное регулирование (управление) осуществляют министерства, государственные комитеты и комитеты при Совете Министров Республики Беларусь.

Поскольку межведомственная комиссия не относится к органам государственного управления, ее нельзя наделять соответствующими функциями, т.е. полномочиями по выдаче разрешений на проведение генно-инженерной деятельности. Комиссии создаются, как правило, при Президенте или Совете Министров Республики Беларусь исключительно в целях координации деятельности государственных органов. Решения таких комиссий не носят общеобязательного характера.

5. Уровень развития генетической инженерии в Республике Беларусь не позволяет рассчитывать на появление в ближайшее время большого количества новых трансгенных сортов растений, пород животных, штаммов микроорганизмов отечественного производства. Сомнительно, что поток предложений таких сортов, пород, штаммов из-за рубежа будет слишком большим. За последние пять лет была только одна заявка на получение разрешения на высвобождение ГИО для проведения испытаний (в 1999 году от фирмы Hoechst Schering AgrEvo GmbH (Германия) – на высвобождение трансгенной свеклы, устойчивой к гербициду). Следовательно, весьма многочисленный штат постоянных сотрудников комиссии вряд ли будет адекватно загружен работой.

Учитывая приведенные аргументы, правительство Республики Беларусь отклонило данную концепцию, сделав выбор в пользу первоначальной концепции, основные положения которой закреплены в проекте Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности», принятого парламентом в первом чтении практически единогласно.

Литература к главе 7

1. ООН. Европейская Экономическая Комиссия. Перечень руководящих положений по биобезопасности в области биотехнологии. 1995. Нью-Йорк; Женева. – 65 с.
2. Recombinant DNA safety considerations. OECD. Paris, 1986. – 67 p.
3. Good developmental principles: Guidance for the design of small scale field research with genetically modified plants and micro-organisms. OECD. Paris, 1990. – 30 p.
4. Voluntary code of conduct for the release of organisms into the environment. UNIDO. Vienna, 1991.
5. Повестка дня на XXI век, глава 16: Экологически безопасное использование биотехнологии. ЮНИСЕД, 1992.
6. Конвенция ООН о биологическом разнообразии // Ведомости Верховного Совета Республики Беларусь, 1993, № 27, ст. 347.
7. Постановление Верховного Совета Республики Беларусь от 10 июля 1993 г. «О ратификации Конвенции о биологическом разнообразии» // Ведомости Верховного Совета Республики Беларусь, 1993, № 27, ст. 347.
8. Международные руководящие принципы техники безопасности ЮНЕП в области биотехнологии. ЮНЕП, 1996.–40с.

9. Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 53, 2/846.
10. 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» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 67, 5/10573.
11. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 г. № 963 «О создании Национального координационного центра биобезопасности» // Собрание декретов, указов Президента и постановлений Правительства Республики Беларусь, 1998, № 18, ст. 492.
12. Конвенция о доступе к информации, участии общественности в процессе принятия решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., №1, 1/837.
13. Указ Президента Республики Беларусь от 14 декабря 1999 г. № 726 «О присоединении к Конвенции о доступе к информации, участии общественности в процессе принятия решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 1, 1/837.
14. Закон Республики Беларусь от 24 июня 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Международной конвенции по охране новых сортов растений» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 75, 2/864.
15. Закон Республики Беларусь от 10 января 2000 г. «О нормативных правовых актах» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 7, 2/136; 2002 г., № 7, 2/830; 2004 г., № 175, 2/1070.
16. 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. 57, 6753–6762.
17. Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (USA).
18. Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (USA).
20. Federal Plant Pest Act (USA).
21. 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).
22. United States Department of Agriculture (USDA). Genetically Engineered Organisms and Products: Notification Procedures for the Introduction of Certain Regulated Articles; and Petition for Nonregulated Status. Federal Register. 1993b. 58, 17044 – 17059 (www.aphis.usda.gov/bbep/bp/393rule.txt).
23. 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. 62, 23945–23958.
24. Canadian Food Inspection Agency (CFIA). Canada and United States Bilateral on Agricultural Biotechnology Appendix I: Molecular Genetic Characterization Data. Ottawa, Canada, 1998.
25. 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. 66, 37772–37817.

26. 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. 66, 37817–37830.
27. 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. 66, 37830–37854.
28. Environmental Protection Agency (EPA). Biopesticide Registration Action Document: *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. 2001d.
29. Food and Drug Administration (FDA). Statement of Policy: Foods Derived from New Plant Varieties Federal Register. 1992. 57, 22984–23001.
30. Food and Drug Administration (FDA). Guidance on Consultation Procedures: Foods Derived from New Plant Varieties. FDA, Washington D.C. 1997 (<http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/consulpr.html>).
31. Food and Drug Administration (FDA). Premarket Notice Concerning Bioengineered Foods (21 CFR Parts 192 and 592). Federal Register. 2001. 66, 4706–4738.
32. Council Directive of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified microorganisms (90/219/EEC).
33. 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.
34. Proposal for a Regulation of the European Parliament and the Council on genetically modified food and feed (2001/0173 COD).
35. Ustawa z dnia 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych // Dziennik Ustaw Rzeczypospolitej. Nr 76, poz. 811).
36. By-laws of the Genetically Modified Organisms and Novel Foods Monitoring Council Cabinet Regulation No. 322; adopted on 19 September 2000; come into force on 15 October 2000 (Latvia).
38. Федеральный Закон Российской Федерации № 16-ФЗ от 17 февраля 1995 г. «О ратификации Конвенции о биологическом разнообразии»
39. Постановление Правительства Российской Федерации от 25 августа 1999 г. № 948 «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»
40. Постановление Правительства Российской Федерации от 22 апреля 1997 г. № 464 «О Межведомственной комиссии по проблемам генно-инженерной деятельности».
41. Федеральный Закон Российской Федерации № 52-ФЗ от 30 марта 1999 г. «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».
42. Постановление Правительства Российской Федерации от 19 июня 1994 г. № 706 «Об утверждении положения о государственном ветеринарном надзоре в Российской Федерации».
43. Положение «О государственном ветеринарном надзоре в Российской Федерации».
44. Федеральный Закон Российской Федерации № 86-ФЗ от 5 июля 1996 г. «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности».

45. Федеральный Закон Российской Федерации «О внесении изменений и дополнений в Федеральный Закон Российской Федерации «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности»».
46. Положение «О комиссии по генной инженерии в организации/предприятии, осуществляющем генно-инженерную деятельность» (Утверждено МВКГИД, Протокол № 2 от 10 июля 1998 г.).
47. Постановление Правительства Российской Федерации от 16 февраля 2001 г. № 120 «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов».
48. Положение «О государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов».
49. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 8 ноября 2000 г. № 14 «О порядке проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников».
50. Положение «О порядке проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников».
51. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 8 ноября 2000 г. № 13 «О нанесении информации на потребительскую упаковку пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных источников».
52. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 26 сентября 1999 г. № 12 «О совершенствовании системы контроля за реализацией сельскохозяйственной продукции и медицинских препаратов, полученных на основе генетически модифицированных источников»
53. Постановление Правительства Российской Федерации от 18 января 2002 г. № 26 «О государственной регистрации кормов, полученных из генно-инженерно-модифицированных организмов».
54. Положение «О межведомственной комиссии по проблемам генно-инженерной деятельности», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации.
55. Стратегия устойчивого развития Беларуси: Преемственность и обновление: Аналитический отчет. – Мн.: Юнипак, 2003. С. 103–109.
56. Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 139 от 27 февраля 1997 г. «О приоритетных направлениях создания и развития новых и высоких технологий и критериях их оценки»././Собрание декретов, указов Президента и постановлений Правительства Республики Беларусь, 1997 г., № 6, ст. 237.
57. Перечень приоритетных направлений фундаментальных научных исследований Республики Беларусь на 2002–2005 годы, утвержденный Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 января 2002 г. № 111 // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
58. Проект Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности». (Принят в первом чтении Палатой представителей Национального собрания Республики Беларусь 29 апреля 2004 г.) // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
59. Закон Республики Беларусь «О здравоохранении» от 18 июня 1993 г. // Ведамасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г, № 24, ст. 290.
60. Закон Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» от 23 ноября 1993 г. // Ведамасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г., № 36, ст.451; Ведамасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1997 г., № 28, ст.486; 1999 г., № 25, ст.427; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 52, 2/172.

61. Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь «О комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и противоэпидемического режима (режимная комиссия)» от 25 ноября 1997 г. № 25 // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
62. 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.
63. Закон Республики Беларусь «О патентах на сорта растений» от 13 апреля 1995 г. // Ведомасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1995 г. № 19, ст. 235; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2001 г., № 57, 2/ 791; 2004 г., № 103, 2/ 1040.
64. Закон Республики Беларусь «О семенах» от 14 февраля 1997 г. // Ведомасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1997 г., № 9, ст. 91.
65. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 28 мая 1992 г. № 320 «О Государственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты и регуляторов роста растений» // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
66. Приказ Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 14 апреля 2003 г. № 128 «Об утверждении Положения о Государственной Межведомственной комиссии по испытанию и регистрации химических и биологических средств защиты растений, регуляторов роста и удобрений» // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
67. Закон Республики Беларусь от 23 ноября 1993 г. «О санитарно-эпидемическом благополучии населения» // Ведомасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г., № 36, ст.451; Ведомасці 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.
68. Закон Республики Беларусь от 29 июня 2003 г. «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2003г., № 79, 2/966.
69. Закон Республики Беларусь от 5 января 2004 г. «Об оценке соответствия требованиям технических нормативных правовых актов в области нормирования и стандартизации» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2004г., № 5, 2/1018.
70. Закон Республики Беларусь «О защите прав потребителей» от 9 января 2002 г. // Ведомасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь, 1993 г., № 35, ст.447; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2003 г., № 8, 2/932.
71. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 2 августа 1993 г. № 517 «О государственной системе регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов, продуктов в Республике Беларусь» // Собрание постановлений Правительства Республики Беларусь, 1993 г., № 22, ст. 427.
72. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 14 декабря 2001 г. № 1807 «О совершенствовании системы государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, товаров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 1, 8/9611.
73. Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 13 ноября 2000 г. «Об утверждении Положения о порядке осуществления государственной гигиенической регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов и изделий из них, продукции производственно-технического назначения, това-

- ров для личных (бытовых) нужд, продуктов питания на территории Республики Беларусь и Перечня продукции, подлежащей государственной гигиенической регистрации» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 118, 8/4466; 2001 г., № 56, 8/6193; 2003 г., № 119, 8/10091.
74. Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 2 сентября 2003 г. № 116 «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников» // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
 75. СанПиН 11 63 РБ 98 «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» // <http://biosafety.org.by/rus/legislation.html>.
 76. Таможенный кодекс Республики Беларусь от 6 января 1998 г. // Ведомости Национального собрания Республики Беларусь, 1998 г., № 10–12, ст. 104; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 50, 2/166; 2001 г., № 116, 2/820; 2003 г., № 8, 2/932; 2004 г., № 180, 2/1081.
 77. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 18 марта 1997 г. «Об установлении запретов и ограничений на перемещение вещей через таможенную границу Республики Беларусь» (с изменениями и дополнениями от 21 апреля 2000 г.) // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 43, 5/3060.
 78. Постановление Государственного таможенного комитета Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 5 июля 2002 г. «Об условиях перемещения под таможенные режимы товаров, подконтрольных Белорусской государственной инспекции по карантину растений» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 96, 8/8414.
 79. Устав по карантину растений Республики Беларусь утвержден постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 июля 1993 г. «О мерах по улучшению организации карантина растений в Республике Беларусь» // Собрание постановлений Правительства Республики Беларусь, 1993 г., № 21, ст. 420.
 80. Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 27 ноября 2001 г. «Об утверждении Положения о порядке ввоза в Республику Беларусь и вывоза за ее пределы семян» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2001 г., № 115, 8/7498.
 81. Закон Республики Беларусь от 2 декабря 1994 г. «О ветеринарном деле» // Ведомости Национального собрания Республики Беларусь, 1998 г., № 29–30, ст. 465.
 82. Ветеринарно-санитарные правила осуществления импорта в республику грузов животного происхождения и кормов для животных: Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 31 июля 2002 г. // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2002 г., № 105, 8/8497.
 83. Закон Республики Беларусь от 9 ноября 1999 г. «О ратификации 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 Соглашения о Таможенном союзе» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 44, 2/73.
 84. Закон Республики Беларусь «О государственной экологической экспертизе» от 18 июня 1993 г. // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 70, 2/194.
 85. Закон Республики Беларусь от «О Совете Министров Республики Беларусь и подчиненных ему органах» от 7 июля 1998 г. // Ведомасці Вярхоўнага Савета Рэспублікі Беларусь,

- 1998 г., № 29-30, ст. 446; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2000 г., № 59, 2/176; 2003. № 17, 2/935.
86. Указ Президента Республики Беларусь от 24 сентября 2001 г. № 516 «О совершенствовании системы республиканских органов государственного управления и иных государственных организаций, подчиненных Правительству Республики Беларусь» // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2001 г., № 26, 1/5309.

Глава 8

ПРОБЛЕМЫ ВОСПРИЯТИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ ОБЩЕСТВЕННОСТЬЮ

8.1. С чего все начиналось

Новые, революционные достижения научно-технического прогресса, как правило, с недоверием воспринимаются населением, особенно в тех случаях, когда они затрагивают интересы широкого круга потребителей. Что-то подобное произошло и с генетической инженерией. Уже первые успешные опыты с применением технологии рекомбинантных ДНК, когда еще не шла речь о создании коммерческих продуктов, вызвали ожесточенные споры в среде научной общественности.

Первым выразил беспокойство по отношению к технологии рекомбинантных ДНК Р. Поллак, специалист в области биологии клетки, изучавший трансформацию клеток мыши вирусом SV-40 в лаборатории П. Берга в Колд-Спринг-Харборе (США). Ознакомившись в 1971 году с первыми результатами Дж. Мерц, тогдашней аспирантки П. Берга, по созданию рекомбинантных ДНК и с ее планами по генетической инженерии вируса SV-40, Р. Поллак предположил, что бактерии, несущие ДНК потенциально опасного онкогенного вируса SV-40, могут превратиться в векторы – переносчики генов рака человека.

Очередную волну опасений по поводу новых технологий вызвало распространившееся в 1974 году представление о том, что в ДНК мышей и вообще всех высших организмов могут содержаться участки ДНК онкогенных вирусов. Из этого предположения проистекала потенциальная опасность практически любых опытов с рекомбинантными ДНК позвоночных животных, в том числе человека. Тогда же было высказано предположение о потенциальной опасности создания плазмид, несущих множественные маркерные гены устойчивости к антибиотикам и способных бесконтрольно распространяться в популяции бактерий пищеварительного тракта человека.

В связи с этими опасениями в 1974 году по инициативе «отца генетической инженерии» П. Берга в журнале «Science» был опубликован призыв, подписанный группой выдающихся ученых-биологов, ввести всемирный мораторий на проведение определенных типов экспериментов с рекомбинантными ДНК до разработки специальных мер безопасности при проведении этих экспериментов [Berg et al., 1974a]. В 1975 году в Великобритании опубликован специальный правительственный доклад, требовавший от лабораторий, занимающихся исследованием рекомбинантных ДНК, введения специальных мер предосторожности.

В ответ на эти обращения в феврале 1975 года в Калифорнии в Асиломарском центре по проведению конференций близ Монтре состоялась конференция, собравшая более 100 ученых с мировым именем в области молекулярной биологии. Основной задачей этой конференции, получившей название Асиломарской встречи, была консолидация мнений о необходимости введения определенных ограничений на исследования с использованием рекомбинантных ДНК и выработка правил, регламентирующих такие исследования. Не имея на тот момент возможности оценить реальную опас-

ность генно-инженерных работ и руководствуясь принципом предосторожности, ученые пришли к общему мнению о необходимости проведения работ по клонированию ДНК только с участием организмов, «ослабленных» генетическими методами и потому способных нормально развиваться исключительно в оптимальных условиях изолированной культуры (в пробирке). Тогда же прозвучал призыв к созданию безопасных для здоровья человека векторных систем, которые можно было использовать и за пределами лабораторий [Berg et al., 1975a,b].

Позднее рекомендации, выработанные Асиломарской встречей, были рассмотрены в США специальным комитетом, назначенным Национальным институтом здравоохранения этой страны, и положены в основу требования ужесточения мер при работе с рекомбинантными ДНК. Большинство ограничений были направлены на недопущение использования рекомбинантных технологий в исследованиях онкогенных вирусов. Рекомендации Асиломарской встречи, зафиксированные в виде официальных государственных правил, вступили в силу в 1976 году и действовали вплоть до начала 1979 года, т.е. до снятия части ограничений [Уотсон и др., 1986].

Таким образом, уже первые опыты с использованием технологии рекомбинантных ДНК вызвали опасения ученых по поводу ее безопасности. Более того, призыв П.Берга и его коллег о введении моратория на некоторые виды генно-инженерных работ и результаты Асиломарской конференции сделали эти опасения достоянием общественности. В результате с момента зарождения генетической инженерии вокруг нее в общественном мнении сложился ареол загадочности, чего-то очень сложного и потенциально опасного. Однако, с другой стороны, гласность, абсолютная прозрачность в рассмотрении возможных рисков генно-инженерной деятельности для здоровья человека и окружающей среды позволили быстро ввести ее в русло государственного регулирования, опровергнуть многие необоснованные выводы, касающиеся этой деятельности. Все это способствовало в дальнейшем росту доверия населения к продуктам современной биотехнологии, по крайней мере в США.

Несмотря на принятые ограничения, на конец 70-х – начало 80-х годов прошлого века приходится ряд важных событий, которые вывели использование генно-инженерных методов за пределы лабораторий и сделали их частью мирового производства. Среди прочих событий этого времени – создание в 1977 году первой генно-инженерной компании Джинтек и строительство в 1980 году первого предприятия для промышленного производства инсулина с использованием бактерий, полученных методами рекомбинантных ДНК. Одновременно с увеличением объема знаний в области безопасности работ с рекомбинантными ДНК в США проходило постепенное смягчение или отмена ряда ограничений на проведение работ этого типа, первоначально введенных правилами Национального института здравоохранения.

В 1986 году Американское федеральное агентство по науке и технологиям (USOSTP-US Office of Science and Technology Policy) разработало Основные положения по регулированию деятельности в области биотехнологии. В этом документе отмечалось, что существующей законодательной базы США достаточно для регулирования деятельности по созданию генно-инженерной продукции. В настоящее время американское законодательство в области регулирования генно-инженерной деятельности руководствуется 107 законами, специальными правилами и директивами. В упомянутых положениях был также определен круг правительственных организаций, которым поручался надзор за генно-инженерной деятельностью и проведение оценки безопасности продуктов этой деятельности (USEPA, USDA, NIH, FDA).

Установление государственного регулирования в области безопасности генно-инженерной деятельности в США, а позднее и в других странах во многом способство-

вало снижению накала страстей в обществе, которые готовы были разгореться в связи с возникновением новой биотехнологии. Однако появление первых трансгенных растений, использование которых предусматривает высвобождение их в окружающую среду, вызвало новую волну опасений общественности по поводу потенциальной опасности, которую они могут представлять для биологического разнообразия.

Тем не менее, благодаря усилиям международных и национальных организаций по обеспечению безопасности здоровья человека и окружающей среды до конца 90-х годов не возникало серьезных нареканий по поводу создания и использования генно-инженерных сельскохозяйственных растений. Сомнения в безопасности использования генно-инженерных растений охватили мировую общественность в 1998 – 1999 годах в связи с двумя сообщениями ученых. Первое из этих сообщений сделал шотландский иммунолог А. Пужтаи (A. Pusztai) во время выступления на английском телевидении. Второе прозвучало в публикации американских энтомологов в английской научной прессе (Losey et al., 1999).

8.2. Во имя дешевой славы

А. Пужтаи стал всемирно известен после телеинтервью в августе 1998 года, в котором он обнародовал результаты своих исследований по влиянию диеты, включающей трансгенный картофель, на рост и иммунную систему лабораторных крыс. По его словам, рост замедлялся, а иммунитет ослабевал. Через несколько дней после интервью последовало официальное опровержение руководства института, где работал ученый, в котором говорилось, что выводы автора не являются научно обоснованными. Настоящий шквал критики в научных кругах вызвала и единственная публикация разрекламированных результатов А. Пужтаи в журнале «Ланцет» (The Lancet) [Ewen, Pusztai, 1999]. Один из официальных рецензентов этой статьи J. Pickett без обиняков заявил, что если бы кто-нибудь из его студентов пришел с такой работой на экзамен, то получил бы за нее неудовлетворительную оценку [см. Enserink, 2002]. Но среди оппонентов генетической инженерии А. Пужтаи стал национальным героем.

Обращает на себя внимание то, что в нашумевшей статье ничего не говорится ни о замедленном росте, ни о пониженном иммунитете крыс. Речь идет о патологических изменениях (уплотнение стенок тонкого кишечника) у крыс, которым в течение 10 дней скармливали исключительно трансгенный картофель, содержащий ген GNA натурального инсектицида, обнаруженного у подснежников. В контрольной группе крыс, которой скармливали обычный, нетрансгенный картофель, а также в группе, где к нетрансгенному картофелю добавляли GNA в концентрациях, сопоставимых с трансгенным, таких изменений не наблюдалось. Делается вывод, что именно генетическая модификация, а не само это вещество является причиной патологии.

GNA, как и другие лектины, рассматривается в качестве перспективного экологически чистого препарата для контроля вредных насекомых. Однако работы по введению гена, кодирующего GNA, в растения пока далеки от завершения. Не зарегистрировано ни одного коммерческого сорта с этой системой защиты растений от вредителей. Очевидно, что в работе использовался один из случайно выбранных трансформантов, который не проходил какого-либо тестирования по показателям безопасности. Тот факт, что встраивание чужеродных генов может в принципе влиять на активность других генов, в том числе и кодирующих образование токсичных веществ, не является новым для науки. Об этом говорилось выше. Можно предположить, что именно такой генотип попал в распоряжение А. Пужтаи. Вероятнее всего, он отличался повышенным уровнем гликоалкалоидов, которые и вызвали патологические изменения кишечника у крыс. Появление таких генотипов – весьма распространенное явление и в традицион-

ной селекции картофеля. Селекционеры спокойно выбраковывают их по результатам оценки вкусовых качеств (они явно горчат) либо по данным биохимического анализа (установлены предельно допустимые нормы содержания гликоалкалоидов в клубнях). А. Пужтаи не стал утруждать себя такими анализами, а сразу сделал вывод об опасности генетической инженерии для здоровья человека как таковой.

В мае 1999 года в престижном (заметим – не рецензируемом) журнале «Nature» появилась публикация энтомологов из Корнельского университета во главе с Дж. Лоси [Losey et al., 1999]. Суть их исследования заключалась в изучении влияния пыльцы трансгенной кукурузы с Vt-протеином на жизнеспособность личинок бабочки Монарх. Поскольку Vt-протеин токсичен для личинок точильщика («мотылек» из семейства чешуекрылых, к которому относятся бабочки), то трансгенный сорт стал устойчивым к этому опасному вредителю. Оказалось, что если такой пыльцой посыпать листья молочаев и скормить гусеницам бабочки Монарх, их смертность будет в семь раз выше, чем в варианте с пыльцой обычного, нетрансгенного сорта кукурузы.

Интерес общественности к этому отнюдь не выдающемуся научному «открытию» был просчитан довольно точно. Отметим, что бабочка Монарх – национальный символ для американцев. Поэтому появление указанной публикации вызвало огромный резонанс. Научная общественность возмутилась, назвав статью конъюнктурной, преждевременной и поверхностной. Результаты лабораторных экспериментов были абсолютно предсказуемы, поскольку Vt-протеин у трансгенной кукурузы был как раз и направлен для борьбы с представителями семейства чешуекрылых. Распространять их на природные условия, что незамедлительно сделали оппоненты генетической инженерии, не было никаких оснований хотя бы по той причине, что гусеницы Монарха обычно появляются на обочинах кукурузных полей уже после того, как кукуруза отцветет (например, в штате Небраска). Подавляющее большинство сортов Vt-кукурузы модифицированы таким образом, что ген, кодирующий выработку этого протеина, в пыльце не функционирует и Vt-протеина в пыльце таких сортов нет. Пыльца кукурузы во время цветения распространяется всего на несколько метров от кукурузного поля, и если эти полосы регулярно обкашивать, то в числе других сорняков будут уничтожены и полюбившиеся гусеницам молочаи, что вынудит их питаться в ином месте. Эта первая оценка получила в дальнейшем фундаментальное экспериментальное обоснование по результатам исследования, проведенного при участии большого авторского коллектива из нескольких университетов, которые были опубликованы в серии статей в самом престижном научном издании Америки – «Докладах Национальной академии наук» (см. раздел 6.10) [Sears et al., 2001].

8.3. Кризис недоверия к генетической инженерии в Западной Европе

Ничтожное с научной точки зрения «открытие» корнельских энтомологов имело грандиозные политические последствия. Европейский Союз ввел с 1999 года мораторий на рассмотрение заявок на новые трансгенные сорта растений. Так гусеница с Американского континента нашла ярых защитников по другую сторону океана. Абсурдность этого решения очевидна всем. Предполагалось отменить мораторий после доработки законодательства ЕС, регулирующего порядок высвобождения ГИО в окружающую среду (Директива 90/220/ЕЕС) и использования ГМ продуктов. Директива 2001/18/ЕС принята в марте 2001 года. Однако мораторий не отменен до сих пор. А что же Америка? Она приняла адекватные меры: был снят с производства гибрид кукурузы, который имел токсичную для бабочек пыльцу. Сделать это оказалось несложно, поскольку данный сорт занимал не более 2% посевных площадей под трансгенной кукурузой в США.

Между США и ЕС «разгорелось» нечто наподобие торговой войны, когда такие компании, как «Хайнц» и «Гербер», отказались использовать в своей продукции компоненты из генно-инженерных растений, а активисты Гринпис начали организовывать кампании в поддержку «настоящей пищи». На Европейском континенте в результате сформировалось резко негативное отношение к генетической инженерии и, в частности, к продуктам питания, полученным из ГИО.

Причины возникновения кризиса недоверия к генетической инженерии в Европе стали предметом изучения многих исследователей [см. Torgersen et al., 2001]. Среди основных причин называют, например, то, что появление первых трансгенных сортов сельскохозяйственных растений в Европе (1996–1997 годы), т.е. сои и кукурузы американской фирмы Monsanto, совпало с разразившимся на континенте скандалом, связанным с болезнью бешенства коров в Великобритании, а затем со скандалом, вызванным обнаружением диоксинов в мясе кур в Бельгии. В результате доверие к службам, обеспечивающим безопасность продуктов питания, было сильно подорвано [Grooms, 1999].

Появление нового типа пищи, естественно, вызвало недоверие масс: гарантирована ли ее безопасность в случае, если санитарные службы могут допускать такие серьезные ошибки. Немаловажное значение имел факт происхождения генно-инженерных продуктов именно из Америки: у многих европейцев наблюдается специфическое отношение ко всему, что связано с американским образом жизни. Сыграли свою роль (и продолжают играть в настоящее время) и вопросы конкурентных торговых взаимоотношений между Европой и Америкой. Как члены ВТО, европейские страны были не вправе отказывать во ввозе американской продукции. Выход из сложившегося положения был найден в умело организованном негативном отношении населения к ГИО. В такой ситуации оказалось очень много желающих сколотить финансовый и политический капитал на волне недовольства масс. Не случайно «зеленые» сейчас так широко представлены в правительствах многих западноевропейских стран. Выиграли и рядовые члены этих организаций, поскольку их деятельность и финансовое благополучие напрямую зависят от наличия всевозможных скандалов, связанных с безопасностью для здоровья человека и окружающей среды. Не последнюю роль в раздувании генно-инженерного скандала сыграли журналисты, для которых «жареные факты» в буквальном смысле слова на вес золота, поскольку определяют тиражи и рейтинг их изданий. Пытаются использовать благоприятную ситуацию и представители различных религиозных, профессиональных, женских и других общественных организаций.

8.4. Трансгенные ужасы, или «Что они никогда не расскажут о генной инженерии»

В последнее время появилось целое «поколение литераторов», специализирующихся на сочинении всевозможных страшилок про генетическую инженерию. Надо отдать им должное: делают они это виртуозно, с использованием всего арсенала средств «черного пиара»: очень эмоционально и с учетом последних достижений в области психологии и манипулирования общественным сознанием. У жителей Беларуси недавно появилась редкая возможность познакомиться с некоторыми произведениями этого жанра. В частности, можно назвать такие книги, как «Короли и капуста. Что они никогда не расскажут о генной инженерии» (М.: Издательство Международного социально-экологического союза, 2000), «Драма на кухонном столе, или популярно о генной инженерии» (Киев: Зеленое досье, 2000), а также «Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем» (Мн.: Международная академия экологии, 2001). В последнем издании излагаются наиболее интересные

положения двух предыдущих книг. Рассмотрим, какие методические приемы используют авторы в своей, на наш взгляд, неблагоприятной деятельности.

8.4.1. Они хотят нас отравить. В книге «Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем» на с. 20 читаем: «ГМ-продукты явно могут быть токсичными и опасными для здоровья людей. В 1989 г. генно-инженерная модификация L-триптофана, обычного компонента рациона, вызвала смерть 37 американцев и сделала инвалидами еще 5000 человек из-за приносящей большие страдания и потенциально смертельной болезни крови – синдрома эозинофильной миалгии (EMS). Лишь после этого продукт был отозван Управлением питания и лекарственных препаратов США (FDA). Производитель – Showa Denko, третья по величине японская компания, специализирующаяся на химических технологиях, впервые использовала ГМ-бактерии для производства гена. Полагают, что бактерии каким-то образом становятся заразными в процессе трансформации при рекомбинации ДНК. Согласно проведенным исследованиям, ГМ-L-триптофан был столь же чистым и равнозначным предыдущим препаратам, которые производились с помощью бактерий природного типа. Однако же он совершенно не соответствовал этим препаратам по показателям безопасности. Если бы проводились другие тесты, которые могут широко охватить возможные негативные эффекты, например тест на усваивание животными и людьми, факт, что этот продукт не является безопасным, сразу стал бы очевиден. Но таких тестов не было. Showa Denko уже выплатила компенсации жертвам на сумму, превышающую два миллиарда».

Интересно, как все было на самом деле, в частности, как дана эта же информация в заслуживающих доверие научных публикациях. Действительно, в начале восьмидесятых годов прошлого века L-триптофан был очень популярным у американцев препаратом. Его принимали по 1–3 грамма в день при бессоннице, пременструальном синдроме и депрессии. Продавали L-триптофан в виде пилюль и капсул с дозировкой 100 мг в магазинах здорового питания без рецепта как «натуральный» индуктор серотонина, т.е. не как лекарство, а как пищевую добавку. Осенью 1989 года произошло событие, описанное в приведенной выше цитате. По официальным данным, погибло 38 человек и около 1000 имели проблемы со здоровьем, большинство из которых после прекращения приема препарата поправилось, хотя смертность в этой группе населения в последующие годы была немного выше, чем в контрольных группах, не принимавших препарат.

Расследование причин инцидента показало следующее. L-триптофан – это биотехнологический продукт, т.е. он произведен в специальных ферментерах при культивировании микроорганизма *Bacillus amiloliquefaciens*. Для производства препарата, употребление которого имело такие трагические последствия, использован штамм V. При его разработке действительно применяли методы генетической инженерии, имеющие целью повышение «урожайности» бактерий. Однако полученный штамм вырабатывал именно L-триптофан, а не что-либо другое: ни один атом в молекуле этой аминокислоты не изменил свое положение! (Иначе это было бы уже другое вещество.) Предыдущие, III и IV, штаммы также были генно-инженерными, однако токсичности препарата, произведенного с их помощью, не отмечено. Но установлено, что в случае со штаммом V была несколько упрощена процедура очистки препарата: количество активированного угля в фильтрах уменьшили вдвое, а при производстве некоторых партий продукта при очистке исключили процедуру фильтрации с использованием мембран обратного осмоса. Хотя новый L-триптофан имел степень очистки более 99%, он оказался менее чистым, чем предыдущие. Стало очевидным, что злополучный препарат содержал какие-то токсичные посторонние примеси (контаминанты), кото-

рые, собственно, и явились причиной трагедии. Некоторые из них, например 1,1'-этилиденебис триптофан (сокращенно – ЕВТ), были выделены и изучены. Присутствие ЕВТ фиксировалось в L-триптофане в течение нескольких лет, предшествующих инциденту, однако именно в начале 1989 года отмечено резкое увеличение его концентрации в препарате [The Triptofan Incident, 1998].

Таким образом, результаты расследования «триптофанового» инцидента 1989 года определенно показывают, что его причины связаны с нарушением технологии производства препарата, но никак не с использованием генно-инженерных организмов. Аналогичная история могла произойти и с промышленными микроорганизмами, созданными с помощью традиционных методов селекции. Если рассуждать логически, то следует, например, запретить производство касторового масла на основании того, что семена клещевины, из которых его получают, одновременно содержат и один из сильнейших ядов – рицин. Нарушение технологии производства касторового масла, сопряженное с попаданием в него рицина, тоже может привести к трагическим последствиям.

Рассмотренный пример наглядно показывает, как оппоненты генетической инженерии за внешне объективной информацией о реальном инциденте скрывают недостаточность научной аргументации. Однако при этом сознательно опускаются некоторые важные моменты, что позволяет авторам подвести читателя к нужному выводу о его причинах. Результаты проведения официального расследования в лучшем случае замалчиваются. Надо признать, что в этом примере генно-инженерные организмы фигурируют хотя бы косвенно. Но для того, чтобы бросить тень на генетическую инженерию, ее оппонентам иногда даже этого не требуется.

8.4.2. Нас замучают аллергии. Приведем еще одну цитату из той же книги (с. 19): «ГМ-соя: новый виновник аллергии. Новые опасения по поводу безопасности ГМ-продуктов появились в марте 1999 года после исследований Йоркской лаборатории питания (Великобритания), когда выяснилось, что число случаев пищевой аллергии, связанных с соей, увеличилось в 1998 году на 50%.

Открытие, сделанное в Йорке, дает реальные сведения о том, что ГМ-продукты могут иметь явное негативное влияние на человека. Это первый случай за 17 лет, когда соя оказалась в первой десятке продуктов, способных вызывать аллергию. Среди хронических болезней, которые может вызывать соя, присутствуют синдром раздражения кишечника, болезни кожи, включая угревую сыпь и экзему, а также проблемы пищеварения. Люди могут страдать от хронической усталости, неврологических проблем, головных болей».

Безусловно, описание симптомов недомоганий, вызванных «пищей Франкенштейна», должно впечатлить обывателей. Ссылка на результаты исследований солидного научного заведения должна придать вес, достоверность высказанному положению: «ГМ-соя: новый виновник аллергии». Что же произошло на самом деле?

Эта информация сразу вызывает у специалистов массу вопросов: как был организован эксперимент, сколько в него вовлекалось людей, каких возрастных групп, каким образом формировали опытную (потребляющую продукты из генно-инженерной сои) и контрольную (потребляющую продукты из обычных сортов сои) группы людей, какие это были продукты, какова продолжительность эксперимента, степень переработки продуктов и др. И тут становится совершенно очевидно, что никакого такого эксперимента не было и в помине, поскольку организовать его практически невозможно. В «открытии, сделанном в Йорке», речь могла идти только о результатах клинических наблюдений за пищевыми аллергиями в этом графстве в течение определенного периода (по-видимому, последних 17 лет). Но причем здесь генно-инженерная соя?

Трансгенную сою начали выращивать в промышленных масштабах в США с 1996 года, но ее посевы тогда составляли всего 2% площадей, занятых этой культурой в стране, а в 1997 году – 13%. Именно урожаем этих двух лет мог в принципе попасть в пищу «несчастливых» йоркширцев. В 1998 году доля трансгенной сои составила уже 37%, а в 2001 году – 68%. Разумеется, чтобы такими быстрыми темпами расширять посевной клин под трансгенной соей, необходимо было значительную часть урожая (если не весь урожай) пускать на семена. Если принять во внимание, что 97% урожая сои используется для производства кормов и технической переработки, то представляется крайне маловероятным, чтобы американцы именно трансгенную сою попытались продать англичанам для продовольственных целей.

Надо также иметь в виду, что в Англии выращивается достаточно много собственной сои. Таким образом, несложно сделать вывод, что в результатах исследований британских диетологов речь могла идти только о пищевых аллергиях, одной из причин которых является потребление продуктов, полученных из сои обычных (нетрансгенных) сортов. Наблюдаемый же рост аллергий объясняется, с одной стороны, значительным увеличением потребления сои, которая заслуженно считается одним из наиболее ценных источников полезных и питательных продуктов, с другой стороны, общеизвестной тенденцией снижения иммунитета населения развитых стран (аллергия – это и есть иммунная реакция).

По данным Всемирной организации здравоохранения, соя по своему аллергенному потенциалу занимает второе место после арахиса в списке наиболее аллергенных продуктов питания (см. раздел 5.9). Тот факт, что продукты из сои могут вызывать аллергию, является открытием только для авторов рассматриваемой книги.

8.4.3. Навешивание ярлыков. Среди методических приемов, которые используют оппоненты генетической инженерии, важное место занимает «навешивание ярлыков». Оказывается, проще всего ее опорочить, поставив в один ряд с другими известными всем напастями.

«Проблемы здоровья и безопасности пищи связаны с индустриальным ведением сельского хозяйства (объединение мелких ферм в крупные хозяйства, усиление использования антибиотиков в кормах, механизация). Они стали проявляться начиная с 1960-х годов, когда сельское хозяйство и производство пищевых продуктов стало все более связано с пестицидами, гербицидами, инсектицидами и химическими удобрениями. Были установлены явные связи между некоторыми болезнями и индустриальным животноводством – кризис BSE (болезнь бешенства коров) в конце 1980-х и 1990-х годах стал наиболее явным примером из серии скандалов, связанных с безопасностью пищи.

Сальмонеллез был практически неизвестен в 1940-х годах, однако теперь это повсеместная проблема, состоящая в острой инфекции животных и человека, вызываемой кишечными бактериями. Пищевые отравления увеличились на 400% за последние 10 лет. Всем памятен скандал в связи с диоксинами, обнаруженными в мясе и яйцах бельгийских кур. Использование пестицидов и гербицидов, а также ГМ-культуры – последние проявления индустриализации сельского хозяйства» (из книги «Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем», с. 17).

Здесь же можно упомянуть и письмо нашего бывшего соотечественника, фермера-пчеловода из провинции Онтарио (Канада), который сетует, что в Канаде не любят гречиху и почти не выращивают ее. А та, которую выращивают, не выделяет нектар. «Так почему гречиха не дает нектар? – вопрошает фермер и сам отвечает: в этом по-

винны инженеры-генетики. Они вывели такой сорт, который дает зерно, но не дает нектара» (там же, с. 44).

Оказывается, все очень просто: во всем виноваты индустриализация сельского хозяйства и инженеры-генетики. И не имеет значения, что гречиха не относится к тем культурам, на которых проводились генно-инженерные исследования, не говоря уже о создании трансгенных сортов, поскольку она не популярна у западного потребителя.

8.4.4. За кого нас принимают ? Напугав читателя до смерти, можно не заботиться о научной достоверности вообще: «Еще одна проблема заключается в токсинах замедленного действия. Известно, что время проявления токсичного действия белка может занимать более 30 лет. ГМ-соя отличается от обычной по белкам на 74%. Поскольку эти белки – гибриды бактериальных и растительных организмов, они действительно принципиально новые, поэтому не могут приравниваться к растительным или бактериальным. Превращение белка из полезного в болезнетворный может зависеть от малейшего изменения аминокислотного состава» («Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем», с. 20).

Протеины (а продуктами трансгенов являются исключительно протеины) – это довольно нестойкие соединения, которые легко разрушаются под действием даже относительно невысоких температур (при приготовлении пищи, переработке), кислой среды и пищеварительных ферментов (в желудочно-кишечном тракте). Науке не известны случаи хронической токсичности протеинов, в частности их способности вызывать мутагенные или канцерогенные эффекты. Протеины не обладают способностью к биоаккумуляции (накоплению в тканях организма), как некоторые химические вещества. Эти положения хорошо известны биологам.

Что из себя представляет трансгенная соя на самом деле, мы уже достаточно подробно разобрали. ГМ растение отличается от исходного только тем, что у него вырабатывается небольшое количество фермента, близкого по строению аналогичному ферменту самого растения и к тому же способного успешно выполнять функции этого фермента в условиях, когда растительный фермент работать не может (после обработки гербицидом). Структура и функциональная активность всех остальных генов трансгенного растения абсолютно не отличается от таковых исходного сорта. С помощью точнейших молекулярно-генетических методов было показано, что в генетическом материале трансгенной сои имеется только одна вставка бактериального EPSPS-гена с необходимыми для его функционирования регуляторными последовательностями (промотором, терминальными последовательностями, а также последовательностью из петунии, кодирующей транзитный пептид, необходимый для доставки продукта трансгена в хлоропласты – место синтеза ароматических аминокислот).

Таким образом, вся новизна трансгенной сои по сравнению с исходным сортом заключается в добавке только одного гена, который кодирует фермент, близкий по структуре и способный выполнять функции фермента, имеющегося у исходного сорта. Если принять во внимание, что у растений насчитывается 25 – 35 тысяч генов, то процент «новизны» трансгенной сои по сравнению с исходным сортом составит $(1 : 35\ 000) \times 100 = 0,0029$, но никак не 74.

Для получения трансгенной сои, содержащей 74% измененных, а именно гибридных растительно-микробных белков, должно произойти следующее. В 25 900 (74% от 35 000) генов одной клетки должно одновременно встроиться соответствующее количество копий трансгенов, и все полученные «гибридные гены» должны при этом нормально работать и давать начало соответствующим гибридным белкам. Мало того, эта клетка должна начать делиться, чтобы из полученной клеточной массы можно было регенерировать такого трансгенного монстра.

На самом деле ни о каких гибридных растительно-микробных белках речь не идет вообще. При трансгенозе у растений в случае, когда трансген встраивается в область, кодирующую какой-либо ген (такая вероятность есть, но она небольшая, поскольку в генетическом материале растений собственно генами занято менее 10% всей длины молекулы ДНК), происходит «выключение» этого гена. Вместо него работают, дают начало синтезу определенных белков, которые они кодируют, только гены, входящие во встроенную генетическую конструкцию. В отличие от поврежденного гена они имеют все необходимые для их функционирования регуляторные элементы. Это явление (встройка трансгенов в области ДНК, кодирующие какие-либо гены) получило название инсерционного мутагенеза. Оно широко используется в генетических исследованиях для картирования генов – определения места гена на хромосоме относительно других известных генов.

Является глубоким заблуждением точка зрения, согласно которой «превращение белка из полезного в болезнетворный может зависеть от малейшего изменения аминокислотного состава». Чтобы быть токсином, белок должен иметь совершенно определенное строение молекулы, содержание и последовательность аминокислот в ней. Некоторые изменения в строении молекул токсинов могут привести лишь к утрате токсичности (получается анатоксин), но не наоборот. Именно такие обезвреженные токсины используют для производства вакцин к различным ядам, например к змеиному.

8.4.5. Воспитываем в себе устойчивость к антибиотикам? Еще одним важным козырем для оппонентов генетической инженерии является якобы высокая вероятность возникновения устойчивости к антибиотикам у болезнетворных микроорганизмов в результате потребления трансгенных продуктов. Дело в том, что в генетической инженерии растений для отбора клеток, в хромосомы которых произошло встраивание трансгенов, действительно удобно использовать маркерные гены устойчивости к антибиотикам. В этих целях применяют гены устойчивости к антибиотикам, которые давно утратили свои лечебные свойства из-за того, что большинство микроорганизмов уже имеют такие гены. Одним из них является антибиотик канамицин, выделенный в Японии еще в 1957 году. Для лечения людей его не употребляют уже лет тридцать, так как среди бактерий выделено по крайней мере 18 различных генов, кодирующих ферменты, дезактивирующие этот антибиотик. Для генетической инженерии растений используют один из таких генов NPTII, выделенный из кишечной палочки *E.coli*.

При переваривании ГМ пищи в желудочно-кишечном тракте человека или животных существует скорее теоретическая, чем реальная, возможность встраивания в генетический материал микроорганизмов фрагмента ДНК, кодирующего этот ген. В результате микроб станет устойчивым к антибиотику канамицину и в принципе может передавать ген устойчивости своему потомству. Вероятность этого события очень низкая (для этого необходимо сочетание многих крайне маловероятных событий), она оценивается приблизительно как 10^{-17} . Если же это событие все-таки произойдет, последствия его будут совершенно незначительные: к тысячам бактерий пищеварительного тракта, которые уже имеют ген NPTII или 17 аналогичных ему, добавится еще одна. Напомним, откуда взят этот ген: от кишечной палочки *E.coli*, обычного организма пищеварительного тракта людей. Микроорганизмы могут «взять» ген устойчивости к антибиотикам у устойчивых микроорганизмов пищеварительного тракта намного проще, чем из полуразрушенной ДНК ГМ пищи. Заметим, что при исследовании свойств продукта гена NPTII – фермента неомицинофосфотрансферазы был проведен полный комплекс исследований, касающихся его потенциальной токсичности и аллергенности (как описано выше), которые показали его полную безопасность.

Для раздувания псевдоопасности возникновения устойчивости к антибиотикам все методы хороши. О достоверности приводимых фактов и научной добросовестности авторы не считают нужным беспокоиться вообще: «Маркерные гены устойчивости к антибиотикам используются при выращивании всех коммерческих ГМ-культур»; «Возможность возрастания устойчивости к антибиотикам вынудила некоторые страны ЕС ввести запрет на импорт нескольких ГМ продуктов, как, например, Bt-кукурузы фирмы Novartis»; «...съедавая Roundup Ready-сою, вы с каждой клеткой этого растения получаете ген устойчивости к ампициллину» («Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем», с. 21–23).

На самом деле, как видно из полного перечня трансгенных сортов, имеющих официальное разрешение на использование в хозяйственной деятельности (табл. 3.1), только единицы (в основном из числа первых трансгенных сортов) имеют селективные гены устойчивости к антибиотикам. Нет этих генов и у RR-сои (см. выше), а Bt-кукуруза фирмы Novartis в этом списке отсутствует. В нем имеется только один сорт фирмы Novartis seeds, созданный совместно с фирмой Monsanto, – сахарная свекла, устойчивая к гербициду глифосату.

Утратив чувство меры, авторы приписывают голландским генетикам то, чего им даже в кошмарном сне не приснится: «...нидерландские исследователи в 1999 году обнаружили, что «живые» и целые гены устойчивости могут «перепрыгивать» из ГМ-продукта в кишечник человека и выживать там до нескольких минут. Получается, что потребители ГМ-продуктов «воспитывают» в себе устойчивость к антибиотикам» (там же, с. 23). Комментарии излишни. Воистину такое «они (очевидно, имеются в виду генные инженеры) никогда не расскажут о генной инженерии». Авторам повезло, что голландские ученые не читают по-русски.

8.4.6. Разве ученым можно доверять? Следующий методический прием, с помощью которого можно напугать обывателя, – показать его полную незащищенность перед грозящей генно-инженерной опасностью. Ведь эксперты-ученые могут ошибаться, система контроля безопасности несовершенна и т.п. «Одна из катастроф, связанных с ГМ-пищей, уже предотвращена. Ведущий генный инженер-исследователь для повышения количества белка ввел в сою ген бразильского ореха. При тестировании на животных не было замечено никаких признаков аллергенности. По счастью, у ученых под рукой оказалась сыворотка крови людей-аллергиков на бразильский орех» («Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем», с. 19).

Явно лукавят авторы этого опуса. Как видно из описания приведенной выше обязательной процедуры оценки потенциальной аллергенности белков – продуктов любых трансгенов, совсем не случайно «у ученых под рукой оказалась» эта сыворотка. И хотя полученный трансгенный сорт предназначался исключительно для производства кормов (серосодержащий белок бразильского ореха существенно повышал качество приготовленных из него кормов), компания-разработчик (Pioneer Hi-bred Int.) приняла решение остановить испытания. Случись подобная история с сортом, полученным с помощью традиционной селекции, этого бы явно не произошло. Просто при маркировке такого сорта в соответствии с существующим законодательством было бы указано, что он содержит компоненты бразильского ореха, вызывающие аллергию у некоторых людей, и что он предназначен только для кормовых целей. Ведь никому не придет в голову запретить, например, потребление любимого лакомства американцев и европейцев – жареного арахиса на том основании, что арахис по своему аллергенному потенциалу – продукт номер один в мире.

Не устраивает оппонентов генетической инженерии и концепция существенной эквивалентности: «...учитывая, что генная инженерия может принести в продукты ранее неизвестные опасные свойства, каждый ГМ-продукт должен быть подвергнут обследованию, способному выявлять самый широкий спектр возможных опасностей. Но в настоящее время использование концепции эквивалентности позволяет обойти необходимость такого тестирования» (там же, с. 18).

Спорное заключение. Видно, что тот, кто его сделал, в глаза не видел объемных досье с результатами оценки безопасности трансгенных организмов. Например, фирма Calgene представила в 1990 году в FDA для получения разрешения на использование в генетической инженерии растений маркерного гена устойчивости к антибиотик-у канамицину от кишечной палочки *E.coli* 600-страничный документ (две докторские диссертации), посвященный изучению безопасности этого гена. Что же предлагается взамен? «Только клинические испытания способны выявить все возможные опасности и непредвиденные побочные эффекты, которые могут таиться в продуктах генно-инженерного процесса» (там же, с. 18). А может, все-таки не доводить дело до клиники? Ведь речь-то идет не о лекарственных препаратах, а продуктах питания, подавляющее большинство которых на сто процентов идентичны обычным, «немодифицированным».

8.5. Последствия кризиса недоверия общественности к генетической инженерии в Европе и перспективы его преодоления

Прежде всего заметим, что никаких веских «материальных» причин для отторжения продуктов генетической инженерии в Европе не существует. Те многочисленные опасности, связанные с ГИО, о которых энергично напоминают оппоненты генетической инженерии, мягко говоря, не подтверждены научными фактами. С другой стороны, имеются подтвержденные данные, свидетельствующие о безопасности ГИО, красноречивые цифры, демонстрирующие триумфальное шествие трансгенных культур во всем мире. Имеется, наконец, многолетний опыт безопасного потребления ГМ продуктов в США, где к ним уже давно привыкли. А ведь американцы не менее, а может, даже намного более ревностно, чем европейцы, относятся к своему здоровью.

Тем не менее, негативное общественное мнение по отношению к ГИО в Западной Европе уже сформировано, а это несет вполне осязаемые отрицательные последствия для соответствующих стран и их граждан. Кто-то может спросить: о каких таких последствиях идет речь? Ведь обходились раньше без ГИО и не голодали, даже процветали.

Однако в истории имеется достаточно примеров, когда искусственное торможение научно-технического прогресса в отдельно взятой стране приводило к ее технологической отсталости, снижению экспортного потенциала и в итоге к снижению жизненного уровня населения. Вот конкретные данные по Европейскому Союзу. В 2001 году после введения моратория на генно-инженерные сорта, когда стало ясно, что этот мораторий отменят не скоро, наблюдался резкий спад в доходах европейских биотехнологических компаний. Прекращены или заморожены большое количество перспективных разработок. Многие научные сотрудники вынуждены были сменить работу или даже покинуть свою страну. В то же время в США доходы биотехнологических компаний продолжали расти и в 2001 году они превысили доходы своих европейских коллег в два раза. Инвесторы и ученые переместились туда, где им создали условия, а не препятствия.

В литературе опубликованы расчеты упущенной выгоды европейских стран из-за введения моратория. Речь идет не столько о недополученном урожае (для Европы это

неактуально), а об утрате положительных природоохранных и социальных эффектов выращивания трансгенных культур.

Руководство европейских государств выражает серьезную озабоченность в связи со сложившейся ситуацией. Принимаются всевозможные решения, направленные на стимулирование биотехнологии. Однако их реализация не может дать значимого эффекта без ощутимых положительных изменений в общественном сознании жителей европейских стран по отношению к ГИО. По-видимому, потребуется много времени и средств, чтобы убедить население в их безопасности. Активная позиция ученых, интенсивное использование средств массовой информации способны улучшить ситуацию в короткое время.

Характерен в этом смысле пример Швейцарии, где в 1998 году состоялся национальный референдум о современной биотехнологии. В этой стране вопрос стоял не только о полном запрете использования, но и создания ГИО. В течение полугода на страницах газет и журналов, на телевидении, многочисленных собраниях и конференциях шли бурные дискуссии. Нобелевские лауреаты на глазах всей страны поедали «ланчи», приготовленные из «генетически модифицированных» продуктов, чтобы убедить население в их безопасности. А что было делать? Ведь последствия запрета генно-инженерной деятельности были бы аналогичны тем, которые постигли в свое время Советский Союз в результате «закрытия» генетики и кибернетики: разрушение научных школ, две с половиной тысячи безработных генетиков, технологическая отсталость страны. К счастью для Швейцарии, восторжествовал здравый смысл: более 2/3 населения проголосовали против запрета генно-инженерной деятельности, хотя поначалу соотношение было отнюдь не в ее пользу. Если в начале кампании 62% жителей были против генетической инженерии, то к моменту голосования их осталось 33%. В то же время число тех, кто позитивно относился к ней, увеличилось с 25 до 39% [Lessons from the Swiss biotechnology referendum, 1998].

Отметим такой важный момент в ходе швейцарского референдума, как изменение аргументации оппонентов генетической инженерии. Если поначалу в их арсенале фигурировал полный набор страшилок, аналогичных рассмотренным нами выше, то к концу кампании, после многочисленных выступлений ученых в прессе и на телевидении с разъяснениями их несостоятельности, они были вынуждены сменить тактику. Пришлось все больше отходить от конкретных, научных аргументов (в их исполнении скорее псевдонаучных) к весьма туманным, квазиэтическим и религиозным. Например, они пытались убедить население, что неэтично и противоестественно вмешиваться в ДНК животных (хотя это постоянно делается в традиционной селекции).

В ноябре 2002 года оппоненты генетической инженерии в Швейцарии получили еще одно чувствительное поражение. После жарких 11-часовых дебатов члены Национального совета (нижняя палата парламента) проголосовали за принятие законопроекта, в котором они исключили меры по ограничению исследований в этой области и отменили 5-летний мораторий на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду [Генно-инженерные технологии, 2003].

Авторы книги неслучайно так подробно рассматривают опыт западноевропейских стран в использовании достижений современной биотехнологии. Всем известно исторически сложившееся очень уважительное отношение жителей Восточной Европы к западным европейцам. По мнению многих, именно там настоящая культура, цивилизация. Поэтому у доморожденных «экологов», журналистов, отдельных политиков невольно появляется желание перенести ситуацию с генетической инженерией, сложившуюся в Западной Европе, на нашу почву. Им кажется, что общие с европейцами взгляды на отдельные проблемы позволят нам выглядеть более современно, респекта-

бельно, «по-европейски». К тому же на популярной у населения теме легко заработать политический капитал. К сожалению, эти люди совершенно не задумываются о том, в какие материальные и социальные потери для Беларуси (а также любой другой страны – республики бывшего Советского Союза) может вылиться их неблагоприятная активность. Примером бесполезной с позиций здравого смысла траты государственных денег является внедрение вслед за Европой обязательной маркировки продуктов питания, полученных из генно-инженерных организмов.

8.6. Что нам дает маркировка ГМ-продуктов

Маркировку ГМ продуктов многие склонны рассматривать как один из элементов государственного регулирования генно-инженерной деятельности. Многие, но не все. Например, в США, где, как известно, о ГИО не спорят, а уже почти десять лет спокойно потребляют их, маркировка ГМ продуктов не принята [FDA, 1992]. В связи с этим есть смысл прислушаться к их аргументам по этому вопросу. В соответствии с законодательством США (так же как и других стран, в том числе и Беларуси) подлежат маркировке продукты, которые могут быть небезопасны для отдельных групп населения или имеют какие-либо особенности, отличающие их от большинства аналогичных продуктов. Так, на этикетках бутылок с вином можно найти надпись, предупреждающую, что потребление этого продукта не рекомендовано детям, беременным и кормящим женщинам, водителям транспортных средств. На упаковках сигарет присутствует грозное предупреждение Минздрава: «Курение опасно для здоровья!» Если в хлеб добавили каротин или витамин С, то об этом тоже должна быть соответствующая информация, так как эти добавки сказываются на потребительских качествах продукта. Кроме того, на этикетках продуктов питания должна быть представлена информация о составе продукта и его пищевой ценности.

Возникает вопрос: что писать на этикетках продуктов питания, полученных из ГИО? Ведь подавляющее большинство их абсолютно идентично обычным, особенно это касается переработанных продуктов. Не назовешь же воду, выпаренную из ГИО, «трансгенной». Тогда почему это можно делать по отношению к маслу, крахмалу, которые не содержат ни ДНК, ни белков. Если масло из генетически модифицированных рапса или сои имеет более высокие потребительские характеристики, то это необходимо отразить на этикетке продукта, если нет, то ничего писать не надо, считают чиновники в области биобезопасности из США. И в их логике есть резон.

В странах, где маркировка ГМ продуктов закреплена законом (большинство, если не все европейские страны, в том числе Россия, Беларусь), на этикетках таких продуктов просто указывают (или должны указывать), что продукт содержит компоненты из ГМ источников. О чем нас, потребителей, информирует эта надпись, о чем предупреждает? Ответ, если быть беспристрастным, прост: о методе селекции, с помощью которого выведены сорта растений, являющиеся этими самыми источниками. Что это за ГМ источники, чем они отличаются от обычных, являются ли они опасными для здоровья каких-либо групп населения? Об этом – ни слова. Многие с нами не согласятся. Ну как же? Это очень важная информация. Она дает нам право выбора. Однако тут же возникает вопрос: выбора между чем? Выбирать можно только в том случае, если есть хоть какие-то различия. А если их нет, то какой же это выбор?

Могут возразить: выбирая обычные продукты, а не ГИО, мы выбираем то, что считаем более безопасным. Действительно, значительная часть населения считает ГИО опасными для здоровья, несмотря на то, что объективные научные данные (некоторые из них были приведены в этой книге) свидетельствуют об обратном. Специалисты в области гигиены питания с мировым именем убеждены, что ГМ продукты менее опас-

ны для здоровья по сравнению с обычными, поскольку ни один обычный сорт не проходит такой тщательной проверки на безопасность, как это делают с трансгенными сортами. Практически мы подошли к сути проблемы выбора между ГИО и не ГИО. На самом деле речь идет о доверии к государству: способно оно обеспечить безопасность продуктов питания или нет.

Психология обывателя проста. Самому разобраться во всех этих научных или псевдонаучных спорах не так уж и просто, а некоторым и вовсе не под силу. Ну а коль кто-то где-то сказал, что ГИО опасны, значит, нет дыма без огня. К сожалению, так было всегда. Вспомним историю: и кофе принимали в свое время в штыки, а против внедрения картофеля боролись не на жизнь, а на смерть.

Со временем все станет на свои места. Однако практически на все продукты придется вешать пресловутую ГМ-метку, так как большинство сортов сельскохозяйственных растений будут генно-инженерными. Прогресс, равно как и рост населения планеты, не остановить.

Идея маркировки ГМ продуктов родилась в Европе как компромиссный вариант решения проблемы восприятия населением генетической инженерии и ее достижений. Иного выхода не было! В условиях резкого неприятия ГИО жителями европейских стран (о некоторых причинах этого кризиса говорилось выше), когда меры убеждения с позиций здравого смысла и на основе объективной научной информации оказались неэффективными, пришлось пойти на этот крайний шаг. Если доверяешь государству или сам сумел разобраться что к чему, то потребляешь ГИО, если нет, то предпочитаешь с ними не связываться. Казалось бы, это решение устроило всех. Но при его претворении в жизнь возникли проблемы.

Как известно, американцы свои ГИО не маркируют и считают бессмысленным делать это специально для европейцев. К тому же эта процедура связана с немалыми дополнительными издержками (раздельная уборка, хранение и транспортировка, что делает ГМ продукцию менее конкурентоспособной). Поэтому американцы не разделяют продукты, которые, как показано, являются безопасными. Кстати, в ходе проведенного в ноябре 2002 года в штате Орегон референдума 73% избирателей высказались против введения обязательной маркировки ГМ продуктов [Генно-инженерные технологии, 2003].

В самой Европе задумались, как же на практике обеспечить маркировку ГМ продуктов. Мало написать закон, надо его выполнять. Но производителям продукции он явно не по душе. Отсюда возникает желание не соблюдать закон. Установить нарушителей весьма сложно, а часто и невозможно. Большинство ГМ продуктов абсолютно идентичны обычным: попробуй разберись, содержат они ГИО или нет. Мобилизованные на решение проблемы ученые получили право на приобретение весьма солидных, в смысле зарплаты, оборудования и реактивов, грантов. Были разработаны методы обнаружения даже единичных фрагментов ДНК, содержащих последовательности нуклеотидов, характерные для определенных трансгенных конструкций. Теперь в любом продукте, где сохранилась ДНК, можно найти трансген!

Правда, не самый совершенный прибор для анализа ДНК стоит около пяти тысяч долларов, реактивы также весьма дорогие, да и анализировать надо практически все продукты, где предполагается наличие ГИО, а их уже немалое количество, которое будет постоянно возрастать. Значит, надо создавать сеть аккредитованных (имеющих право проводить анализы) лабораторий, т.е. выделять для них помещения, оборудовать их, закупать приборы и реактивы, ремонтировать, оплачивать коммунальные услуги, набирать и обучать персонал, платить зарплату.

Но ведь есть продукты, полученные из ГИО, которые не содержат ни ДНК, ни белков. Как быть с ними? Оказывается, если проанализировать документацию производителя, то можно проследить весь процесс производства – от сырья до конечного продукта. Если в документах написано, что сырье получено из трансгенного сорта, то на конечном продукте должна быть соответствующая бирка. Однако для того, чтобы таким образом обеспечить выполнение закона о маркировке ГМ продуктов, необходимо иметь целую армию чиновников-детективов, которых надо обеспечить рабочими местами, зарплатой и средствами на проезд к месту предполагаемого «преступления».

А теперь прикинем, во что обойдется бирка с «судьбоносной» информацией о продукте. Представляется, что для выполнения законодательства Европейского Союза о ГМ продуктах питания и контроля за его соблюдением не хватит всего национального дохода. И все ради чего? Чтобы обеспечить право выбора, но отнюдь не безопасность здоровья народа, как кое-кто думает. Ведь маркировка ГМ продуктов к их безопасности никакого отношения не имеет.

Коллектив авторов этой книги попытался дать читателю представление, каким образом, исходя из принципа принятия мер предосторожности, обеспечивается безопасность ГИО. Здесь хотелось бы особо отметить, что все описанные процедуры выполняются в процессе создания и испытания трансгенного сорта до момента его государственной регистрации (помещения на рынок, по терминологии законодательства западных стран). ГМ сорт может быть зарегистрирован, а значит, официально допущен к хозяйственному использованию только в том случае, если будут представлены убедительные научные данные по результатам его испытания, показывающие, что он не несет рисков для здоровья человека и окружающей среды или что эти риски сопоставимы с теми, которые характерны для обычных, нетрансгенных сортов.

Дальнейшие анализы, например, продуктов питания, полученных из трансгенных сортов, официально зарегистрированных и допущенных к использованию в хозяйственной деятельности, никто в мире не делает. Точнее, их могут анализировать на присутствие тяжелых металлов, остатков пестицидов, болезнетворных микроорганизмов и т.д. Но эта процедура обязательна для всех без исключения продуктов питания, как из ГИО, так и обычных. Каких-то специальных санитарных правил, касающихся ГИО, нет и быть не может, во-первых, потому, что подавляющее большинство ГМ продуктов абсолютно идентично обычным, во-вторых, потому, что ГМ сорта в ходе создания и испытания проходят всестороннюю оценку на биобезопасность, и, наконец, потому, что не представляется возможным проанализировать по показателям, применяемым при оценке их безопасности, даже миллионную долю продуктов, которую можно выработать из этих сортов.

Обеспечить безопасность ГМ продуктов можно только одним способом: использовать для их производства безопасные ГМ сорта, а именно, с юридической точки зрения, сорта, официально допущенные к применению в хозяйственной деятельности. Впрочем, появление на рынке других, опасных для здоровья сортов маловероятно. Не получишь ГМ сорт на кухне или на даче, как кое-кто думает. Технология их получения слишком сложная. Это по силам только крупным фирмам, способным вложить в научные разработки миллионы, сотни миллионов долларов. Такие фирмы не станут рисковать своей репутацией и прибылью, выпуская на рынок непроверенные до конца сорта. Особенно в современных условиях, когда малейшее подозрение на опасность ГИО для здоровья человека или окружающей среды звучит как приговор (вспомним ситуацию с трансгеном от бразильского ореха).

Все биохимические анализы предполагаемых ГМ продуктов, которые выполняются в европейских странах и которые собираются делать в Беларуси в соответствии с по-

становлением Главного санитарного врача республики от 2 сентября 2003 года, имеют целью определить наличие ГМ компонентов в продукте и их долю в продукте (если она составляет менее двух процентов, то продукт можно не маркировать). Таким образом, все это делается исключительно для соблюдения правил маркировки ГМ продуктов, т.е. для информирования населения, чтобы каждый имел возможность реализовать свое законное право выбора. К обеспечению безопасности здоровья человека и благоприятной окружающей среды эти меры имеют лишь косвенное отношение.

Согласно названному постановлению, с 1 января 2004 года вводится обязательная государственная гигиеническая регламентация и регистрация продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также компонентов (фрагментов) для их производства, полученных из, или с использованием генетически модифицированных источников, при содержании последних 2% и более. Утвержденный перечень такого сырья и продуктов, подлежащих обязательным лабораторным испытаниям на наличие генетически модифицированных источников (компонентов), включает сою и продукты ее переработки (соевые бобы, соевые проростки, концентрат, изолят, гидролизат соевого белка, соевую муку и т.д., всего 17 наименований), кукурузу и продукты ее переработки (5 наименований), картофель и картофелепродукты (11 наименований), томаты и продукты из томатов (5 наименований), кабачки, дыни, папайю, цикорий, пищевые и биологически активные добавки к пище и продукты детского, диетического или лечебно-профилактического питания, произведенные из, или с использованием генетически модифицированных источников (см. табл. 7.8). Постановлением запрещается оборот продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также компонентов (фрагментов) для их производства, полученных из, или с использованием генетически модифицированных источников, не имеющих соответствующей маркировки.

Как видим, грандиозную задачу поставил перед своими подчиненными Главный санитарный врач нашей страны. Можно представить, сколько бюджетных средств понадобится для ее претворения в жизнь. Ведь надо анализировать все «подозрительные» продукты, которых уже сейчас более пятидесяти наименований. Возникает только один вопрос: ради какой большой цели будут потрачены гигантские суммы народных денег? Согласно Постановлению Совета Министров Республики Беларусь от 2 августа 1993 года, обязательная государственная регистрация и регламентация введена с целью «выявления свойств продукции, представляющих опасность для здоровья и жизни человека, и оценки соответствия продукции, условий ее изготовления и оборота требованиям санитарных правил, норм и гигиенических нормативов, предотвращения вредного воздействия продукции на здоровье человека при ее производстве и использовании». Непонятно, что собираются делать наши санитарные службы с ГИО в контексте этой цели, кроме их обнаружения в продуктах питания и сбора бумаг с их характеристиками.

К сожалению, одной из основных наших бед является недостаточная научная и экономическая обоснованность многих весьма дорогостоящих государственных решений, которые тяжелым бременем ложатся на экономику страны. Ведь рассматриваемую проблему можно решить и без больших затрат. Поскольку маркировка ГМ продуктов не имеет отношения к их безопасности, то нет смысла анализировать тотально на присутствие ГМ компонентов все продукты и сырье, перечисленные в вышеприведенном списке. В частности, представляется нецелесообразным проводить такие анализы применительно к сырью и продуктам, в сопроводительной документации которых записано, что они произведены из генно-инженерных сортов, поскольку их результаты не дадут никакой новой информации. В целом для обеспечения выполнения

законодательства о маркировке достаточно проводить выборочный контроль сырья и продуктов. К нарушителям же следует применять относительно жесткие санкции.

Следует также иметь в виду, что в Республику Беларусь поступает не так много продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из ГИО, как это может показаться на первый взгляд. Фактически можно с уверенностью утверждать, что лишь завозимые из США соевые бобы и соевые продукты в основной массе произведены из сои трансгенных сортов. Если на их этикетке будет надпись: «Продукт может содержать компоненты, полученные из генно-инженерных сортов сои», то для такой маркировки дорогостоящие молекулярно-генетические анализы не потребуются. Те поставщики сои и соевых продуктов, которые претендуют на маркировку, гласящую, что их товар не содержит компонентов из генетически модифицированных источников (а их будет явное меньшинство), должны будут представить соответствующие документы и, если потребуют санитарные службы, свои продукты на анализ, заплатив за его проведение определенную сумму.

Остальные потенциальные ГМ продукты из списка Главного санитарного врача с очень малой вероятностью пересекают границу нашей страны. Можно провести специальное исследование, чтобы определить эту вероятность и осуществлять постоянный мониторинг объемов их поступления. Это потребует намного меньше средств, чем их тотальный анализ. Таким образом, для информирования общественности и выполнения требований законодательства Республики Беларусь о маркировке ГМ продуктов в настоящее время достаточно маркировать, как описано выше, только те из них, которые содержат компоненты из сои. По мере расширения объемов поступления в Беларусь продуктов, произведенных из других трансгенных культур, перечень товаров, подлежащих маркировке, можно будет расширить.

По-видимому, наступит время, когда население Беларуси будет воспринимать ГИО не как нечто совершенно новое и неизвестное, а как что-то обыденное (благодаря информированию общественности, в том числе с помощью маркировки ГМ продуктов, повышению образовательного уровня по вопросам генно-инженерной деятельности), и необходимость в маркировке отпадет сама собой.

8.7. Отношение населения Беларуси к генно-инженерным организмам

Безопасность генно-инженерной деятельности как социологическая проблема, т.е. как некое социальное противоречие, требующее разрешения, в самом общем виде может быть представлена следующим образом.

С одной стороны, генно-инженерная деятельность стала реальностью, и подавляющее большинство развитых в экономическом отношении стран развивают данное научное направление, полагая его весьма перспективным. Во всем мире генно-инженерные технологии завоевывают популярность и широко используются в медицине, биологии и сельском хозяйстве благодаря очевидным экономическим, а в ряде случаев и экологическим преимуществам.

В то же время в связи с применением ГИО существуют известные специалистам риски (хотя и минимальные), в числе которых потенциальные негативные последствия для окружающей среды и здоровья человека. Имеется научная неопределенность относительно отдаленных последствий применения технологий, связанных с использованием ГИО, и их кумулятивного эффекта.

Это противоречие может поставить под сомнение легитимность проведения научных исследований и применения технологий с использованием ГИО. В данном случае «легитимность» означает одобрение деятельности, признание ее возможной и правильной большинством граждан Беларуси.

Исходя из этих позиций, в марте 2004 года Институтом социологии НАН Беларуси проведено исследование с целью выявления оценок, бытующих в массовом сознании по вопросам безопасности генно-инженерной деятельности. Исследование репрезентирует мнения жителей города Минска и Минской области старше 16 лет. Всего методом индивидуального стандартизированного интервью (face to face) было опрошено 768 человек. Ошибка выборки составила не более 4%.

Исследование показало, что проблема ГИО является малоизвестной или вообще неизвестной широким слоям населения – практически 80% опрошенных указали, что они лишь «кое-что» слышали о генетически модифицированных организмах или вообще слышат о них первый раз. Вместе с тем такой информационный «вакуум» по данной проблеме, очевидно, не устраивает людей, которые в большинстве своем хотят знать о ГИО больше – о недостаточности знания о ГИО говорят 2/3 опрошенных.

Некоторые журналисты с удовольствием приводят названные выше цифры, пытаясь придать им определенный негативный смысл (вот, мол, какие мы отсталые; такая важная проблема, а она никого не беспокоит). Однако если подходить к этим цифрам объективно, с учетом того, что проблема безопасности ГИО имеет скорее социально-политические, чем научные корни, то цифры эти представляются вполне естественными. Много ли людей, даже в самых развитых странах, имеют информацию или хотя бы задумываются о методах селекции, с помощью которых выводят сорта сельскохозяйственных растений?

Специфичность ситуации в Беларуси состоит в том, что интерес к ГИО еще не достиг уровня социально значимого практического знания (как, например, медицинское), т.е. он вызван скорее индивидуальным любопытством, чем потребностью в возможном использовании. Об этом можно судить по дисбалансу соотношения каналов информирования о ГИО, где над каналами, предполагающими активность в поиске информации (специализированная литература и Интернет), абсолютно доминируют телевидение, радио, пресса, характеризующиеся пассивным восприятием; промежуточное положение занимает межличностное общение.

С одной стороны, такая структура каналов информирования о ГИО создает благоприятные условия для функционирования непроверенной информации, слухов и прочего; а с другой – является перспективной для проведения эффективной информационной политики и активизации интереса к ГИО со стороны населения с помощью официальных СМИ (в первую очередь ТВ и печатных изданий).

Разрабатывая информационно-пропагандистскую стратегию легитимации ГИО, следует учесть, что в наибольшей степени доверие у населения вызывает информация, транслируемая от лица ученых и медиков (в европейских странах, по данным Eurobarometer 1999, ученым и медикам доверяют лишь около 14% респондентов), а в наименьшей – от имени политиков и государственных чиновников. И здесь очень тонкий момент: недоверие к мнению политиков и чиновников по вопросам биобезопасности не отрицает главенствующей роли государства (как социального института) в организации контроля за использованием продуктов, содержащих ГИО. Именно всесторонний контроль вслед за полнотой информации о ГИО является необходимым условием принятия ГМ продуктов для подавляющей части опрошенных. И осуществлять его, как считает почти половина опрошенных, должно в первую очередь государство, хотя и при помощи международных организаций (о чем упомянул каждый третий).

Одним из инструментов, психологически компенсирующих недостаток знания о генетической инженерии и обеспечивающих на индивидуальном уровне «право выбора» (использовать или не использовать ГИО), является специальное маркирование

продуктов, на чем предельно жестко настаивает более чем половина опрошенных (57,3%).

В качестве причин, обосновывающих принятие или отвержение ГИО, большая часть респондентов указала противопоставление, типичное для формирования отношения к любым технологическим инновациям: экономическая выгода – риски для здоровья. Именно в такой жесткой форме этот вопрос стоит практически для половины респондентов. Характерно, что второй по значимости причиной, объясняющей возможное нежелание использовать ГИО, был назван недостаток информации.

Социально-демографические характеристики респондентов не выявили особо значимых различий в отношении к ГИО. Отсутствие дифференциации по этой проблеме отмечается по образованию, наличию в семье детей (в возрасте до 12 лет) и месту жительства. Более или менее содержательное описание групп людей по отношению к ГИО можно получить по критериям пола, возраста, сферы занятости респондента и его религиозности. Так, наиболее одобрительное отношение к ГИО демонстрируют мужчины по сравнению с женщинами; молодые респонденты по сравнению с более старшими; неверующие по сравнению с верующими. Среди представителей различных сфер занятости наибольшую расположенность к принятию ГИО высказывают учащиеся, работники науки, культуры, образования, здравоохранения, представители администрации, государственного аппарата и предприниматели.

Главным фактором, определяющим позитивное отношение к ГИО, является информированность, предполагающая активный поиск информации (Интернет, специальная литература). Негативное отношение вызвано отсутствием полной и достоверной информации.

При этом самые популярные источники информации не оказывают существенного влияния на формирование какого-либо определенного отношения к ГИО, что объясняется, с одной стороны, эпизодичностью и пассивностью восприятия такой информации, а с другой – фрагментарностью и упрощенностью ее подачи телевидением, радио и прессой. Вместе с тем наиболее эффективным механизмом воздействия на массовое сознание следует признать именно телевидение, и если ставится задача сформировать осознанное отношение населения к ГИО, то наиболее перспективными в этом случае представляются научно-популярные передачи из разряда «Очевидное-невероятное».

Обобщение вышеизложенных причин принятия/непринятия ГИО, условий, необходимых для безопасного применения ГИО, позволило выявить и описать «идейные» основания принятия людьми обозначенных позиций:

1. Положительное отношение к ГИО характеризуется взвешенностью или даже расчетливостью в отношении возможных выгод и рисков, адекватным и рефлексивным восприятием реальности. Для людей, занимающих такую позицию, характерно доверие ученым, требование сбалансированного контроля над оборотом ГИО и открытости информации.

2. Негативное отношение к ГИО можно охарактеризовать как традиционалистское неприятие новизны. Представителям этой стратегии присуща сформированная установка на эмоциональность и иррациональность в восприятии ГИО, что проявляется в декларативных опасениях за собственное здоровье и неприятию экономических выгод, упованиях на жесткий контроль со стороны государства при низкой значимости законодательного регулирования, доверии медикам и недоверии чиновникам.

3. Тип неопределившихся руководствуется стратегией настороженного отношения к ГИО, не подкрепленного достаточными знаниями, и часто совмещает полярные взгляды, специфичные для первых двух групп. При этом они демонстрируют боль-

шую готовность к восприятию информации по обсуждаемой теме. На данный момент эти люди представляет собой определенный ресурс, который может быть привлечен на ту или иную сторону, однако определение направленности развития ситуации возможно только в мониторинговом режиме.

Как и ожидалось, в силу слабой информированности о ГИО большинство населения предпочитает, чтобы ГМ продукты были маркированы даже несмотря на то, что это приведет к росту цены на них. При этом требование маркировки вызвано скорее необходимостью в психологическом комфорте, чем какими-либо рациональными причинами. Очевидно, проблему маркировки ГМ продуктов в Беларуси можно решить предложенными выше способами.

8.8. Информирование и участие общественности в принятии решений, касающихся безопасности генно-инженерной деятельности

Положительный опыт США и негативный опыт Западной Европы по проблеме восприятия общественностью генно-инженерных организмов представляет большой интерес для Беларуси и других стран бывшего Советского Союза. С одной стороны, в наших странах пока не приходится говорить о категорическом неприятии населением ГИО и ГМ продуктов. С другой стороны, мы можем видеть, какие неблагоприятные последствия может иметь развитие ситуации в этом вопросе по западноевропейскому сценарию. Поэтому проблеме формирования адекватного восприятия общественностью достижений современной биотехнологии следует уделять пристальное внимание на самом высоком государственном уровне.

То, что население Америки, в общем, благосклонно относится к биотехнологии и ГМ продуктам, является результатом продуманной, открытой политики государства в этом вопросе, результатом большой работы по просвещению потребителей, разъяснению им сути генно-инженерной деятельности и механизмов обеспечения ее безопасности. Эти вопросы изучают в школах, их обсуждают в прессе и на телевидении, выпущено большое количество научно-популярной литературы. Важным положительным моментом является закрепление в законодательстве обязательного требования информировать общественность о предполагаемых решениях, касающихся ГИО (например, знакомить с материалами заявок на получение разрешения на высвобождение ГИО в окружающую среду для проведения испытаний), а также требования учитывать мнение общественности при проведении оценки риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО для здоровья человека и окружающей среды и при принятии таких решений (о выдаче разрешений на высвобождение). При этом четко определены издания, где регулярно публикуются подобные материалы, установлены сроки, в течение которых принимаются замечания и предложения общественности. В соответствии с законом каждое поступившее замечание и предложение должно быть рассмотрено и на него должно быть дано обоснованное заключение экспертов в письменном виде: учтено оно или не учтено, и если не учтено, то почему.

Однако практика показывает, что на деле ни одного замечания общественности по вопросам оценки риска возможных неблагоприятных эффектов ГИО для здоровья человека и окружающей среды экспертными комиссиями учтено не было. Надо все-таки иметь в виду, что оценка риска требует высокой квалификации экспертов, глубокого знания предмета и внимательного ознакомления со всеми материалами заявки. Тем не менее участие общественности в этом процессе, его прозрачность имеет большой психологический эффект для снятия возможной напряженности, недоверия к государственным службам. Результат такой политики – налицо. Если по первым заявкам,

касающимся относительно безопасных ГИО, поступало до десяти и более замечаний, то в последние годы их число резко уменьшилось, несмотря на то, что вероятность риска в отдельных случаях намного выше, чем ранее. Это свидетельствует, прежде всего, о возрастании доверия населения к мнению специалистов-экспертов.

Опыт Америки в информировании и участии общественности при принятии решений, касающихся генно-инженерной деятельности, активно используют и западноевропейские страны. В недавно принятой директиве Европейского Союза 2001/18 в статьях 9 и 24 имеются соответствующие положения по этой проблеме. Эти положения содержатся также и в ряде международных соглашений, в частности в Картахенском протоколе по биобезопасности (ст. 23), а также в Орхусской конвенции, которая в целом посвящена механизмам информирования и участия общественности в принятии решений по экологически важным проблемам и которая содержит отдельное положение, касающееся безопасности генно-инженерной деятельности (ст. 6.12). В некоторых странах Западной Европы разработаны и применяются, помимо названных выше, самые разнообразные подходы и методы работы с общественностью по вопросам биобезопасности. Например, в Дании, Голландии широко распространены общественные слушания. Такие слушания могут проходить на муниципальном, региональном и национальном уровне. Как указывалось выше (в Швейцарии, а также Австрии), дело может доходить даже до национальных референдумов. Надо признать, ситуация с восприятием генетической инженерии в Западной Европе постепенно улучшается. Однако исправить что-либо в социальной жизни намного сложнее, чем предупредить, не допустить. Потребуется еще много времени, усилий и денег (особенно в связи с требованием обязательной маркировки ГМ продуктов), чтобы население этих стран поверило в способность своих правительств обеспечить безопасное использование достижений современной биотехнологии.

В проекте Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» также содержится ряд положений, касающихся информирования общественности (см. главу 7). Так, в соответствии со статьей 27 проекта закона одной из обязанностей Национального координационного центра биобезопасности является предоставление информации по вопросам безопасности генно-инженерной деятельности заинтересованным республиканским органам государственного управления, средствам массовой информации, гражданам и общественным объединениям. В целом Национальному координационному центру биобезопасности в решении рассматриваемой проблемы отводится исключительно важная роль. И многое уже сделано. Проведен целый ряд семинаров, посвященных вопросам формирования системы биобезопасности в Республике Беларусь. Представлены сообщения по актуальным вопросам биобезопасности в Беларуси на многих республиканских и международных конференциях и симпозиумах. Сотрудники центра неоднократно давали интервью для средств массовой информации, ими подготовлены и опубликованы материалы по биобезопасности в газетах и журналах. Создан информационный сайт центра в системе Интернет (biosafety.org.by), на котором содержится многочисленная информация по национальному и международному законодательству в области биобезопасности и другим актуальным проблемам генно-инженерной деятельности.

Заметим, что Беларусь как Сторона Картахенского протокола по биобезопасности и Орхусской конвенции обязана осуществлять деятельность, касающуюся информирования и участия общественности, в соответствии со своими обязательствами в рамках упомянутых международных договоренностей.

Литература к главе 8

- Беларусь и генетически модифицированные организмы: что нас ждет в ближайшем будущем. Мн.: Международная академия экологии, 2001. – 64 с.
- Генно-инженерные технологии. Информационный дайджест (Информационный центр «Биоинженерия РАН»). № 12 (сентябрь 2003 г.).
- Драма на кухонном столе, или популярно о генной инженерии. Киев: Зеленое досье, 2000.
- Закон Республики Беларусь «О защите прав потребителей» от 9 января 2002 г. // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2003. № 8, 2/932.
- Закон Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» от 29 июня 2003 г. // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2003. № 79, 2/966.
- Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2002. № 53, 2/846.
- Конвенция о доступе к информации, участии общественности в процессе принятия решений и доступе к правосудию по вопросам, касающимся окружающей среды // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2000. № 1, 1/837.
- Короли и капуста. Что они никогда не расскажут о генной инженерии. М.: Изд-во Международного социально-экологического союза, 2000. – 84 с.
- Постановление Главного санитарного врача Республики Беларусь от 2 сентября 2003 г. № 116 «О государственной гигиенической регламентации и регистрации продовольственного сырья и пищевых продуктов, полученных из или с использованием генетически модифицированных источников».
- Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 517 от 2 августа 1993 г. «О государственной системе регламентации и регистрации химических и биологических веществ, материалов, продуктов в Республике Беларусь».
- Berg P., Baltimore D., Boyer H.W. et al.* Potential biohazards of recombinant DNA molecules // *Science*. 1974a. Vol. 185. P. 303.
- Berg P., Baltimore D., Boyer H.W.* NAS ban on plasmid engineering // *Nature*. 1974b. Vol. 250. P. 175.
- Berg P., Baltimore D., Brenner S.* Asilomar conference on recombinant DNA molecules // *Science*. 1975. Vol. 188. P. 991–994.
- Berg P., Baltimore D., Brenner S.* Summary statement of the Asilomar conference on recombinant DNA molecules // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1975. Vol. 72. P. 1981–1984.
- 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.
- Enserink M.* The Lancet scolded over Pusztai Paper // *Science*. 2002. Vol. 286. P. 5440.
- Ewen S.W.B., Pusztai A.* Effects of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine // *The Lancet*. 1999. Vol. 354. P. 1353–1354.
- Food and Drug Administration (FDA). Statement of Policy: Foods Derived from New Plant Varieties. Federal Register. 1992. 57. P. 22984–23001.
- Grooms L.* Monsanto takes it step by step (Overcoming opposition to GMOs). *Prophyta (the Annual)*. June 1999. P. 32–35.
- Lessons from the Swiss biotechnology referendum. European Federation of Biotechnology. Task Group on Public Perceptions of Biotechnology. Briefing paper № 8. August 1998. (<http://efbweb.org/ppb>).

- Losey J.E., Rayor L.S., Carter M.E.* Transgenic pollen harms monarch larvae // *Nature*. 1999. Vol. 399. P. 214.
- Sears M.K., Hellmish 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. P. 1-6 (<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211329998>).
- The Triptofan Incident. European Federation of Biotechnology. Task Group on Public Perceptions of Biotechnology. Fact Sheet 1. July 2000 (<http://efbweb.org/ppb>).
- Torgersen H., Lassen J., Jelseo E. et al.* Europe the Spoil-Sport: On the Europeans' Reluctance Towards Genetically Modified Food // *BioLaw&Business*. 2000. Vol. 3. No. 3. P. 53-59.

Глава 9

МЕДИЦИНА, БИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОЭТИКА

Термин «биоэтика» ввел в употребление Ван Ренселлер Поттер в своей книге «Биоэтика: мост в будущее» (1974) как новую научную дисциплину, объединяющую биологическое знание и человеческие ценности. Первоначально биоэтические проблемы связывались с проблемами искусственного прерывания беременности, эвтаназии, сексуальных отношений, медицинского обслуживания, пересадки органов. В дальнейшем в число биоэтических проблем были включены проблемы, связанные с гуманным отношением человека к животным. Это нашло свое отражение и в издаваемой с 1979 года в США и Англии «Энциклопедии биоэтики» [Encyclopedia of Bioethics, 2003]. Но наибольший всплеск эмоций вызвала проблема клонирования человека и его органов в связи с развитием биотехнологии в медицине в 90-х годах XX века. С одной стороны, интерес человечества к этическим и моральным проблемам, а не только к материальной выгоде научно-технических достижений является прогрессивным. С другой стороны, этика и мораль очень часто используются в качестве аргументов в нечестной конкурентной борьбе производителей научно-технической продукции и различных политических группировок. Нужно быть специалистом во многих областях науки, философии и религии, чтобы отличить истинную морально-этическую проблему от ошибочной или от надуманных аргументов противников прогресса.

В настоящее время издано много научных трудов [Вульф, 1993; Юдин, 1998; Beauchamp, Hare, 1972; Lackwood, 1985; Childress, 1989; Herrnstein, Murray, 1994; Ahronheim et al., 1994; Friele, 2001], учебных пособий [Иванюшкин и др., 1998], популярных изданий [Малков, Огурцов, 1992; Доркинз, 1993; Бриле-Виньо, Сфера, 1999; Nagel, 1971; Sumner, 1981; Tooley, 1983; Thomson, 1986; Geisler, 1989] и псевдонаучных брошюр, посвященных различным аспектам биоэтики. Простой их перечень занял бы десятки страниц. Еще больше всевозможной информации можно найти в Интернете. Однако свобода слова и возможности ее выражения очень часто приводят к появлению лженаучных или заказных провокационных материалов, разобраться в которых неподготовленному человеку невозможно. Поэтому популяризация этой проблемы является важной, но очень трудной задачей.

В данной книге нет возможности осветить все вопросы биоэтики. Поэтому обсудим лишь одну проблему, связанную с применением современной биотехнологии в медицине. Это, прежде всего, проблема клонирования человеческих органов и тканей и самого человека.

Очень кратко и схематично рассмотрим суть проблемы. С самого детства происходит повреждение человеческого организма вследствие травм или болезней, при которых нарушаются или разрушаются клетки мышечной, костной, нервной либо другой ткани. Чтобы устранить повреждение, эти клетки нужно восстановить. В процессе восстановления ключевую роль играют так называемые стволовые клетки, расположенные в костном мозге и других органах. Получив сигнал о травме, организм выводит эти клетки в кровеносное русло, направляет к «неполадке» и превращает их в необходимые организму в данный момент клетки: костные, мышечные, печеночные и даже нервные. Иными словами, стволовые клетки – это клетки, не получившие еще

специализацию или, говоря научным языком, не прошедшие дифференциацию. Поэтому они могут дифференцироваться в «нужные» в данный момент организму клетки. Запас стволовых клеток в организме не безграничен и быстро теряется с возрастом. Доля стволовых клеток, способных к дифференцировке, в костном мозге в момент рождения человека одна на 10 тысяч кроветворных клеток. У подростков она уже в 10 раз меньше, к 50 годам – одна на полмиллиона, в 70 лет – лишь одна на миллион.

К счастью, стволовые клетки могут быть внесены в организм искусственно. В последние годы опубликовано большое количество работ, подтверждающих, что стволовые клетки, попадая на поврежденные участки самых различных органов, превращаются именно в клетки того типа, который необходим, чтобы залечить повреждение. В пораженном инфарктом сердце они преобразуются в клетки сердечной мышцы – миоциты, в пораженном инсультом головном мозгу – в нейроны и глиальные клетки (рис. 9.1). Стволовые клетки могут превращаться в клетки печени, костного мозга и т. д.

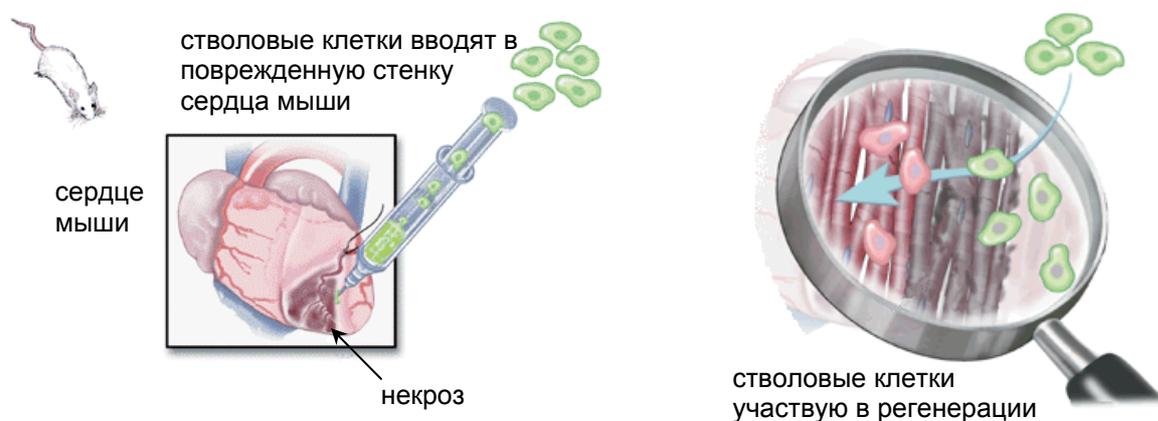


Рис. 9.1. Стволовые клетки, искусственно введенные в сердце мыши, способствуют регенерации сердечной мышцы

Основы науки о стволовых клетках были заложены около 30 лет назад советскими учеными А.Я. Фриденштейном и И.Л. Чертковым. В 1999 году эти клетки «переоткрыли» американские ученые, затем последовало лавинообразное возрастание интенсивности работ в этой области. Пожалуй, такого прорыва в медицине не было со времен открытия пенициллина, ибо человечество может получить «лекарство» от физических травм, паралича, цирроза, инсульта и инфаркта, болезни Паркинсона, инсулин-зависимого диабета, болезни Альцгеймера, последствий травм спинного мозга и многих других болезней, ранее считавшихся неизлечимыми. В далекой перспективе – полное восстановление или замена поврежденных органов, причем без иммунного отторжения, возникающего при трансплантации, поскольку такие клетки являются для организма родными.

9.1. Эмбриональные стволовые клетки

Чтобы понять, что такое стволовые клетки, кратко рассмотрим процесс индивидуального развития организма. В самом начале жизни человеческий организм представляет собой зиготу – яйцеклетку, оплодотворенную сперматозоидом. В оплодотворенной яйцеклетке содержатся все «инструкции» по превращению ее в тело взрослого человека (при нормальных условиях окружающей среды), закодированные в ДНК.

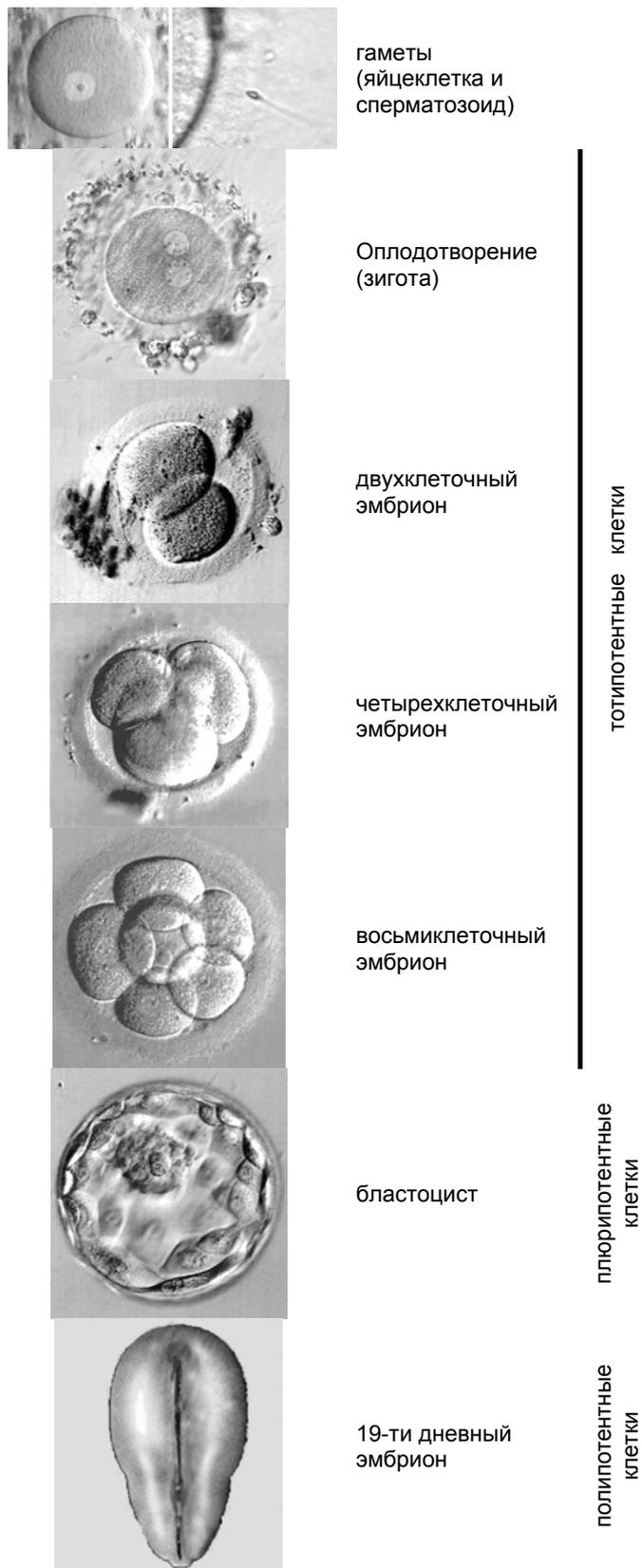


Рис. 9.2. Типы стволовых клеток в зависимости от стадии развития человеческого эмбриона.

всему организму. В ходе развития она делится на несколько одинаковых тотипотентных клеток, которые иногда расходятся и дают начало монозиготным (однойяйцевым) близнецам.

На ранней стадии эмбрионального развития образуется бластоцист – полый шар, стенки которого состоят из клеток. Клетки внешних слоев дают начало плаценте, а

По мере роста зародыша различные клетки в разных частях его тела приобретают определенную специализацию за счет блокировки некоторых «инструкций» в их ДНК, т.е. идет клеточная дифференцировка. Эти «инструкции» не исчезают, они просто игнорируются клеткой. В данном процессе участвуют сложные регуляторные генетические механизмы отключения определенных участков ДНК. «Включение» и «выключение» определенных участков ДНК должно происходить в правильной последовательности. Информация о ней частично закодирована в самой ДНК, но этот процесс регулируется и цитоплазмой клетки – это эпигенетическая регуляция. Именно поэтому невозможно клонировать динозавров и мамонтов, даже если бы удалось найти их неповрежденную ДНК, поскольку для этого необходима живая материнская яйцеклетка.

Благодаря сложной системе последовательного «включения» и «выключения» участков ДНК клетки костной ткани «используют» только «инструкции» по формированию кости. «Инструкции» для создания крови, нервов, кожи и других тканей сохраняются в ДНК этих клеток, но становятся недоступными. Сходным образом обстоит дело и в клетках других тканей. Но в организме остаются и недифференцированные, по крайней мере до некоторой степени, клетки. Это – стволовые клетки, в которых многие «инструкции» остаются в рабочем состоянии. Благодаря этому они способны давать начало разным типам тканей.

Различают несколько типов стволовых клеток в зависимости от степени их дифференцировки (рис. 9.2). Оплодотворенная яйцеклетка называется тотипотентной, т.е. способной дать начало

внутренних – тканям организма. Каждая из внутренних клеток способна дать начало большинству тканей, но не целому организму, поскольку в них блокирована информация о плаценте. Такие клетки называются плюрипотентными. По мере дальнейшего эмбрионального развития специализация клеток усиливается, и стволовые клетки уменьшают свой потенциал к превращениям. Теперь они могут давать начало лишь нескольким тканям, и такие клетки называются полипотентными.

Таким образом, эмбриональные стволовые клетки (ЭСТ) – это плюрипотентные клетки из внутреннего слоя бластоциста, развившиеся в первые дни после оплодотворения. Из этих клеток можно получить любой орган и любую ткань взрослого организма (рис. 9.3). Эмбриональные стволовые клетки впервые культивировал в 1998 году американский ученый Дж. А. Томсон (Висконсинский университет), который обнаружил, что из стволовых клеток, пересаженных мыши, формируются разнообразные ткани. Поэтому дальнейшие исследования эмбриональных стволовых клеток могут позволить разработать методы получения клеток для лечения многих состояний, связанных с повреждением тканей (рис. 9.4). Они особенно ценны, по-видимому, в тех случаях, когда восстановление естественным путем не происходит (т.е. во взрослом организме, в котором стволовых клеток мало или они уже вовсе отсутствуют).

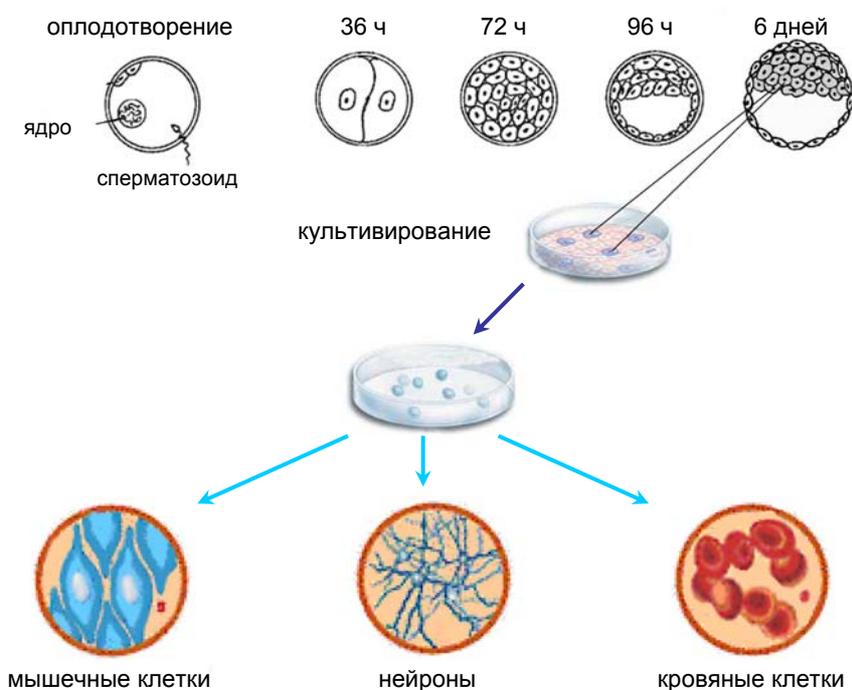


Рис. 9.3. Получение и культивирование эмбриональных стволовых клеток

С помощью стволовых клеток, используя технологию клонирования, схожую с клонированием овечки Долли, можно будет выращивать на заказ человеческие органы или части органов (например, сердечные клапаны), которые не будут отторгаться организмом реципиента. Также возможно помещать эмбриональные стволовые клетки в больные органы, включая мозг, которые будут обеспечивать восстановление поврежденных тканей и органов [Brustle et al., 1999]. Теоретически такие возможности предсказывались давно, но только теперь начинают рассматривать их практическое использование.

Где взять эмбриональные стволовые клетки? Один из их источников – абортивный материал при естественном и искусственном оплодотворении. Известно, что при каждой успешной беременности, которая приводит к рождению живого ребенка, теряется или «самопроизвольно abortируется» несколько эмбрионов (здесь, видимо, не-

правильно говорить о «выкидыше» в обычном смысле этого слова, потому что очень ранняя потеря эмбриона почти всегда остается незамеченной). Потеря некоторых эмбрионов вызвана генетическими аномалиями развития, а других – внешними физическими факторами или физиологическим либо психологическим состоянием матери. Очевидно, природа предопределила появление «лишних» эмбрионов почти в каждой беременности.

Поскольку эмбриональная стволовая клетка бессмертна и саморазмножается, тогда достаточно удобно в дальнейшем использовать бесконечную клеточную линию ее потомков. Однако время от времени происходящие генетические мутации в эмбриональных стволовых клетках будут передаваться дочерним клеткам и накапливаться в последующих клеточных поколениях.

Именно возможность применения эмбриональных стволовых клеток породила ключевой вопрос дискуссии по биоэтике – допустимость использования клеток, взятых у абортированных или специально клонированных эмбрионов, в биомедицинских исследованиях и лечении. Эту дискуссию мы рассмотрим несколько позже.

Медициной достигнуты большие успехи при использовании стволовых клеток, извлекаемых не из эмбрионов. Стволовые полипотентные клетки находятся в уголках и бороздах нашего мозга, костном мозге и волосяных фолликулах взрослого организма и других тканях [Hall, 2000]. Так, например, К. Дж. Хиу ввел в сердце крыс стволовые клетки, выделенные из костного мозга. Эти клетки дифференцировались в новую ткань сердечной мышцы, которая установила нормальные связи с окружающими участками ткани и оказалась способна сокращаться одновременно с ними [Hall, 2000].

Стволовые клетки из участка мозга, называемого гиппокамп, трансплантировали в глаза крысам. Эти клетки самостоятельно перемещались к местам повреждений сетчатки и образовывали новое нервное соединение. Возможно, в будущем это позволит восстанавливать зрение у больных, страдающих возрастной дегенерацией центрального пятна сетчатки, прогрессирующей дегенерацией сетчатки и даже отслоением сетчатки и ретинопатией, вызванной диабетом [Newman, 2001].

Стволовые клетки и другие полипотентные «промежуточные клетки-амплифайеры», найденные в наружном слое волосяных фолликулов, способны давать начало клеткам кожи, которые могут быть использованы для трансплантации [Coghlan, 2001].

Группе исследователей во главе с А. Пеком удалось вылечить инсулин-зависимый диабет у мышей с помощью стволовых клеток из протоков поджелудочной железы. Стволовые клетки в условиях *in vitro* превращались в структуры, производящие инсулин, – островки Лангерганса. Их вводили под кожу взрослых мышей, страдающих диабетом, и они производили инсулин, функционируя как клетки поджелудочной железы; вокруг них развивались кровеносные сосуды. Приблизительно через неделю мыши уже могли самостоятельно регулировать концентрацию глюкозы в крови [Hall, 2000].

Источник множества стволовых клеток – кровь из пупочного канатика, использование которой уже показало хорошие результаты при лечении лейкемии. Позже обнаружили, что стволовые клетки крови из пупочного канатика можно ввести мышам после инсульта, и они восстанавливают 50% ткани мозга. Учитывая множество стволовых клеток в пупочном канатике и тот факт, что эти клетки уже используются для лечения

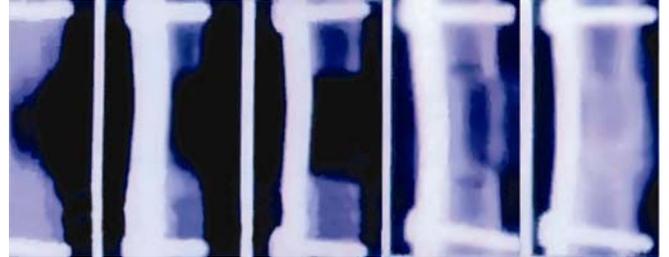


Рис 9.4. Восстановление костной ткани с помощью стволовых клеток. Расстояние между двумя обломками кости приблизительно равно 25 мм

разнообразных заболеваний (например, детской лейкемии), многие ученые предполагают, что в ближайшие годы их уже можно будет применять в лечении последствий инсультов.

Одним из возможных источников стволовых клеток является откачанный жир. Из таких стволовых клеток уже удалось вырастить хрящевую, мышечную и жировую ткани, используя разные питательные среды [Zuk et al., 2001]. Эти исследования представляют исключительную важность, так как свидетельствуют об огромном потенциале гемопоэтических клеток-предшественников и стволовых клеток взрослого организма. Эти клетки не только позволят избежать трудностей, связанных с отторжением трансплантата, но и будут проще поддаваться дифференцировке в нужную ткань.

Группа ученых во главе с Ж. Тома и Ф. Миллер вырастила из стволовых клеток дермального слоя кожи клетки гладкой мускулатуры, жировой и нервной ткани. Положительные результаты были получены при работе с клетками кожи мыши и человека [Toma et al., 2001].

Удалось вырастить нейроны из нервных стволовых клеток мозга взрослых мышей. Это показывает, что в перивентрикулярной области взрослого мозга существуют хорошо выраженные функционирующие стволовые клетки, способные давать начало нервным и другим клеткам. Такой метод получения клеток может быть применен к людям, и он дает надежду на излечение таких заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона [Rietze et al., 2001].

Исследование стволовых клеток из выпавших детских зубов показало, что они могут превращаться в клетки будущих зубов, одонтобласты, а также нервные и жировые клетки.

Британская фирма PPL Therapeutics PLC, участвовавшая в клонировании овечки Долли, намеревается провести эксперимент на основе нового метода дедифференцировки, т.е. повернуть дифференцировку вспять. Они планируют вернуть клетки кожи взрослого человека в эмбриональное состояние и утверждают, что уже добились такого результата с клетками коровы.

Все эти примеры ясно показывают, что исследования стволовых клеток взрослого организма весьма перспективны. Их использование не вызывает моральных и этических проблем в отличие от использования эмбриональных стволовых клеток. Но почему же тогда ученые настаивают на продолжении исследований с эмбриональными стволовыми клетками?

Во-первых, стволовые клетки взрослого организма не являются истинно плюрипотентными, т.е. из них нельзя получить любые органы и ткани организма, а только определенные. Исследования по их дедифференцировке пока только начаты и результаты еще неизвестны.

Во-вторых, в процессе развития организма его клетки подвержены различным генетическим нарушениям: соматические мутации, влияние вирусов и многое другое. Такие нарушения могут быть незаметны в стволовых клетках, однако могут сказываться на функции органов и тканей, полученных из них.

В-третьих, во взрослом организме количество стволовых клеток очень невелико, а именно взрослому организму они больше всего и требуются. Возможно хранение стволовых клеток, полученных из пуповины при рождении и взятых из различных тканей в детском возрасте. Но как быть с уже взрослыми людьми, у которых нет такого запаса стволовых клеток?

В-четвертых, как обеспечить надежное хранение стволовых клеток? И что делать, если в результате аварий или естественных катаклизмов произойдет разрушение такого хранилища?

Список вопросов и проблем можно было бы продолжать, но уже очевидно, что в настоящее время стволовые клетки взрослого организма не способны решить всех проблем. Будут ли найдены пути их решения, покажут дальнейшие исследования, на которые уйдут десятилетия [Харрис, 2003]. Это говорит о том, как важно вести исследования в обоих направлениях. Отказ от изучения эмбрионов в надежде на то, что будет достаточно стволовых клеток взрослых, чрезвычайно опасен и проблематичен. Может оказаться, что взрослые клетки подойдут для одних терапевтических целей, а ЭСК – для других. Поэтому ученые продолжают исследования с эмбриональными стволовыми клетками, которые могут помочь там, где использование взрослых стволовых клеток пока невозможно по различным причинам.

9.2. Клонирование

Использование эмбриональных стволовых клеток напрямую приводит нас к проблеме клонирования. Сама по себе технология может быть применена для тиражирования ценных пород животных, сохранения редких видов, получения генетических копий животных-моделей, что актуально для научных исследований. Наконец, для получения специализированных клеток и дальнейшего создания любого вида ткани или выращенных органов, необходимых в генотерапии и трансплантологии. На этом сконцентрировано внимание ученых всего мира.

Клонирование живых существ – важнейший технологический и фундаментальный прорыв в биологии конца XX века. Эта новая технология стремительно утрачивает свою фантастичность и может кардинально изменить XXI век. Однако она может оказаться всего лишь одной из многих так называемых рискованных технологий. Бесспорно, пожалуй, только одно: рождается принципиально новая биология и медицина. Возможность получения идентичных генетических копий органов и тканей конкретного взрослого индивидуума позволяет использовать такой материал для разнообразных трансплантаций. В медицине появился новый термин: «терапевтическое клонирование» – возможность получения собственных эмбриональных стволовых клеток и выращивания из клонированных стволовых клеток органов и тканей, необходимых в трансплантологии. Именно получение эмбриональных стволовых клеток и является основной задачей при клонировании человека.

Исследования по клонированию были начаты не так давно. Лишь несколько десятилетий назад ученые научились выращивать из одной взрослой растительной клетки целое растение. Первые клонированные амфибии появились в 70-х годах XX столетия. В практической ветеринарии уже несколько десятилетий проводится микрохирургическое разделение ранних эмбрионов с последующей подсадкой их самкам-реципиентам. Осуществляется также введение ядра соматической (неполовой) клетки в оплодотворенную яйцеклетку, в которой заранее удалено собственное ядро для обеспечения последующего эмбрионального развития. Таким образом, получение клонов животных имеет достаточно длительную историю и разработанные технологии.

В настоящее время предложено два способа клонирования живых существ: близнецовое деление и пересадка клеточного ядра. Первый способ состоит в разделении бластомер, т.е. клеток первичного эмбриона, на ранней стадии его развития (2, 4 или более клеток), поскольку эти клетки являются тотипотентными, т.е. способными произвести все типы клеток организма. Этот тип клонирования похож на естественное образование однояйцевых близнецов и широко используется в современном животноводстве.

Другим методом клонирования является пересадка клеточного ядра. Пересадка-подсадка ядра яйцеклетки стоит намного ближе к настоящему клонированию, по-

скольку не ограничивается строго определенными делениями эмбриона и может быть распространена на многие индивидуумы. Решающие достижения в этом направлении были сделаны при помощи метода, впервые использованного Willadsen в 1986 году. Совершенно нормальных телят и овец получали путем пересадки единичных бластомер, полученных из 8- и 16-клеточных эмбрионов, в неоплодотворенные яйцеклетки, из которых прежде было удалено клеточное ядро. Бластоциты, полученные таким образом, хорошо сформированные и организованные, затем имплантировали в матку самок-кормилиц для последующего развития плодов.

Недавнее создание овцы Долли – лишь обновленный вариант разрабатывавшейся ранее методики. Значимость же открытия I. Wilmut и K. Campbell состоит не в технологии получения овцы-близнеца, а в доказательстве еще одной способности клетки, а именно возможности зрелой взрослой клетки развиваться до эмбриональной стадии и продуцировать новое живое существо с тем же генетическим набором, что и у исходной клетки [Wilmut et al., 1997]. Разработанный ими процесс клонирования можно разделить на пять этапов [Campbell et al., 1996].

Первый этап: манипуляции с донорской клеткой. Взрослые соматические клетки, взятые из эпителия вымени овцы Финн-Дорсет, помещали в культуральную среду с низким содержанием питательных веществ. Заторможенные таким образом клетки перестают делиться, их гены утрачивают активность.

Второй этап: манипуляции с яйцеклеткой. В то же время у другой овцы – Блэкфейс – забирали неоплодотворенную яйцеклетку, из которой удаляли ее ядро (и соответственно ДНК), оставляя нетронутой цитоплазму яйцеклетки со всеми действующими механизмами, необходимыми для обычного развития эмбриона.

Третий этап: слияние донорской клетки и безъядерной яйцеклетки. Обе клетки – от овец Финн-Дорсет и Блэкфейс – помещали рядом друг с другом в сосуде с культуральной средой и с помощью электрического разряда вызывали их слияние. В результате ядром клеточного гибрида стало ядро донорской взрослой клетки, а цитоплазма обоих типов клеток слилась воедино. Действие второго электрического разряда заставляет «работать» механизм естественного оплодотворения, использовать весь потенциал яйцеклетки.

Четвертый этап: спустя 6 дней сформировавшийся эмбрион, прошедший через ряд клеточных делений, перенесли в матку овцы Блэкфейс.

Пятый этап: в результате завершения беременности овцы Блэкфейс у нее родилась овечка Долли – генетическая копия исходной овцы Финн-Дорсет

Описанный эксперимент по клонированию Долли может быть применен в принципе к любому другому виду млекопитающих, включая человека. В настоящее время этим методом получено достаточно большое количество клонов различных видов животных: мыши, овцы, козы, свиньи, быка, лошади, кошки и др. [Cibelli et al., 1998; Kato et al., 1998; Lewis, et al., 1998; Solter, Gearhart, 1999; Wakayama, Yanagimachi, 1999; Wakayama et al., 1999 и др.]. Наряду с улучшением технологии клонирования начато детальное исследование развития таких организмов.

В организме существует множество дифференцированных тканей, которые для своего полного созревания требуют соблюдения условий, учитывающих влияние различных факторов на каждой стадии развития. Это значит, что можно легко размножить клетки одного органа или ткани. Но чтобы воспроизвести весь организм целиком, требуется учесть огромное количество факторов, чтобы не получить в результате либо какую-то химеру, либо урода. В эксперименте с овечкой Долли в 277 опытах удалось получить только 29 эмбрионов, выживших более 6 дней, а до дня рождения удалось дойти только Долли. У многих клонированных животных обнаружены пороки

развития. Японские ученые установили, что клонированные мышцы живут меньше и более подвержены различным заболеваниям. Поэтому необходимы долгие и детальные исследования по клонированию живых существ, прежде чем приступать к клонированию человека [Vogel, 1999].

9.3. Клонирование человека и предрассудки

Как указывалось ранее, клонирование человека ставит своей основной целью получение собственных эмбриональных стволовых клеток, а также органов и тканей, выращенных из таких клеток. Это так называемое терапевтическое клонирование. Получение взрослого организма – репродуктивное клонирование – является второстепенной задачей и рассматривается в свете решения проблемы бесплодия в тех случаях, когда современные методы искусственного оплодотворения не дают желаемого результата. Однако именно возможность получения взрослого организма породила большое количество как морально-этических проблем, так и предрассудков.

Конечно, клонирование неестественно, но неестественное не обязательно плохое. Неестественно, например, двигаться быстрее, чем мы можем бегать, неестественно плавать под водой с аквалангом или летать на самолете, неестественно носить одежду. Но без всего этого мы не представляем сегодня своей жизни. Клонирование имеет свои плюсы и минусы, как и любое достижение прогресса. Этот вопрос не должен вызывать рефлекторную истерию. Его надо решать спокойно, трезво, с учетом всех преимуществ и недостатков клонирования. Требуется меньше эмоций и больше ясной мысли. Однако, как правило, дискуссии в средствах массовой информации ведутся теми, кто заведомо может предложить очень мало мыслей.

Нас пытаются запугать армией «Шварценегтеров», с оружием в руках отстаивающей интересы какого-нибудь диктатора, или трудовой армией человеко-роботов «Павлов Корчагиных», строящих «новое прекрасное тысячелетие». Но любой человек, знакомый с проблемой клонирования, понимает, что все это невозможно. Даже если не брать в расчет финансовый вопрос и предположить, что будут разработаны технологии выращивания клонов без материнского организма, который его выносит, то потребуются годы на их развитие, воспитание, обучение и пр. Куда проще использовать наемников, как это доказано событиями нашего времени. Но даже если и будет создана такая армия, она будет отличаться от обычной лишь тем, что солдаты в ней будут на одно лицо.

Вопрос о клонировании выдающихся личностей также является предрассудком. Уже очевидно, что нельзя клонировать из мертвых организмов (исходя из современных знаний), а значит, клонирование Ленина, Гитлера, Сталина и т.п., которыми нас так в последнее время пытаются запугать, нам не грозит. Но это значит, что и гениальный Достоевский тоже никогда не появится вновь. Более того, личность клонировать невозможно. Можно клонировать генотип (организм), а личность формируется в процессе воспитания и обучения, повторение условий которых невозможно. Это доказано путем наблюдения за монозиготными (однойцевыми) близнецами, которые по сути являются клонами друг друга. Воспитанные в разных условиях, они не только имеют разные характеры, склонности и умственные способности, но часто и внешне не похожи друг на друга.

Некоторые считают, что богатые люди захотят клонировать себя. Но зачем? Для того чтобы на старости лет посмотреть, как резвится на лужайке его брат-близнец, только намного моложе его? Но даже если и найдутся такие желающие, клоны человека будут обычными человеческими существами. Их будет вынашивать обычная женщина в течение девяти месяцев. Они родятся и будут воспитываться в семье, как любой

другой ребенок. Им, как и всем, потребуется 18 лет, чтобы достичь совершеннолетия. Клон-близнец будет на несколько десятилетий младше своего оригинала. Значит, исключена опасность, что люди будут путать клон-близнеца с оригиналом. У клона будут иные, нежели у донора, отпечатки пальцев. Клон не унаследует ничего из воспоминаний оригинала и будет иметь другой характер и другие способности и наклонности. Клон – не двойник человека, а просто его младший брат-близнец.

Собственно клонирование – это естественный процесс, если иметь в виду множество естественно рожденных монозиготных близнецов. Такое клонирование человеческого генома само по себе этически вполне безупречно, потому что происходит естественно. В самом факте естественного рождения монозиготных близнецов для нас нет ничего предосудительного или прискорбного, в крайнем случае – моральный нейтралитет. Те же чувства в принципе мы должны испытывать и по отношению к созданию близнецов любым другим методом. Если же мы против клонирования другим методом, например методом переноса клеточного ядра, то возражения должны быть, очевидно, связаны не с фактом клонирования как такового, а с техническими особенностями методики.

Технология клонирования может помочь людям иметь детей даже в тех случаях, когда обычная медицина бессильна. Да и само клонирование очень схоже с технологией искусственного оплодотворения (IVF), широко применяемой во всем мире. Различие лишь в том, что яйцеклетку не оплодотворяют, а вводят ей ядро из клетки реципиента.

Так в чем же неприятие такого клонирования? В том, что это смогут себе позволить лишь немногие богатые люди? Произведения искусства тоже могут позволить себе не все, тогда, по этой логике, надо запретить и искусство. Нужно остерегаться рефлексивной и бездумной антипатии ко всякому «неестественному». Однако, как говорилось выше, главной целью клонирования является не репродуктивное клонирование, а терапевтическое, т.е. получение эмбриональных стволовых клеток. Поэтому остановимся более подробно на этических проблемах такого типа клонирования.

9.4. Этические аспекты клонирования

Этические аспекты исследования человеческих стволовых клеток затрагивают широкий круг спорных и важных проблем, которые опубликованы во многих работах [Апресян, 1990; Зеленин, 2001; Судо, 2001; Ross, 1982; Annas et al., 1999; Lanza et al., 1999a; Lanza et al., 1999b; Safari, 2001]. Некоторые из них связаны с получением этих клеток, источником которых может быть взрослый организм, кровь из пупочного канатика, ткань зародыша или ткань плода на различных стадиях его развития. Сегодня общепризнано, что лучший источник стволовых клеток для терапевтических целей – эмбрионы (наука не стоит на месте, и это мнение может измениться). Поэтому Европейская группа по этике выдвинула на первый план проблему прав женщин. Если эмбриональный материал и кровь из пупочного канатика станут источником получения стволовых клеток, то женщины могут попасть под особое давление.

Существуют также проблемы добровольного и информированного согласия как доноров, так и получателей клеток; оценки приемлемого риска; применения этических стандартов в исследованиях на людях; анонимности доноров; охраны и безопасности клеточных банков; конфиденциальности и защиты частного характера генетической информации [Тищенко, 1992; Лопухин, 2001; Жиганова, Гариев, 2003; Курило, 2003]. Наконец, есть проблемы коммерциализации и компенсации участникам процесса; защиты человеческих тканей, генетического материала и информации при их перемещении через границы [Пеллегрин, 1990].

Исследования в области человеческих ЭСК в целом, и связанные с бессмертием в частности, побуждают задаться еще одним острым вопросом. Если мы станем жить намного дольше и будем здоровее, т.е. превратимся из «смертных» в «бессмертных», мы тем самым в корне изменим свою природу [Сгречча, Тамбоне, 2002; Safari, 2001]. Смертность – одна из определяющих характеристик человеческого существования. Есть ли моральные основания выступить против дальнейшей эволюции, будь то «естественная» дарвиновская эволюция или эволюция, определяемая осознанным выбором?

Мы можем оказаться перед проблемой допустимости так называемой «терапии улучшения». Например, благодаря своим регенеративным способностям стволовые клетки могут не только восстановить функцию поврежденного мозга, но и улучшить работу нормального. Этично ли улучшать функционирование мозга? Если подобная лечебная терапия станет безопасной, то будет трудно отказаться от ее применения как «терапии улучшения». Если научиться изменять человеческий геном так, чтобы защититься от наиболее распространенных болезней и удлинить полноценную жизнь на 25%, то, очевидно, многие захотят воспользоваться такой возможностью. Трудно найти сколько-нибудь убедительные аргументы против такой «терапии улучшения».

Люди сейчас живут в среднем на 25% дольше, чем 100 лет назад. Это достижение «прогресса» ни у кого не вызывает сожалений. Почему же дальнейший выигрыш в здоровье путем модификации вида или «направленной» эволюции вызывает опасения и страхи? Некоторые считают, что пока люди сохраняют способность к естественному размножению, они остаются, в биологическом смысле, представителями своего вида. Но вопрос не в том, принадлежим ли мы к своему виду в узкобиологическом смысле, а в том, изменили ли мы свою природу, а с ней, возможно, и наше понимание нормального видового функционирования.

Эти и другие проблемы очень важны и интересны, но невозможно обсудить их все. Остановимся подробнее на этической проблеме получения эмбриональных стволовых клеток, связанной с возможностью создания и использования человеческих эмбрионов. Можно ли специально создавать и/или использовать эмбрионы для получения стволовых клеток с целью лечения взрослых людей? И если да, то до какого возраста эмбрион можно рассматривать как эмбрион, а не человеческое существо? Последний вопрос связан с тем, что при терапевтическом клонировании используются эмбрионы до 14-дневного возраста.

Международный комитет по биоэтике (IBC) при ЮНЕСКО не пришел к единому мнению в отношении создания и использования эмбрионов для терапевтического клонирования. IBC признает, что решения по этому вопросу, принятые национальными комитетами по биоэтике или национальными законодательными органами, могут быть различны в разных странах и регионах. Такие различия неизбежны в плюралистическом мире, где одни могут принимать этические нормы, которые являются недопустимыми для других. Отношение к этой проблеме не совпадает как в разных странах, так и у различных религий и философских течений. Что допустимо в буддизме, то может быть недопустимым в христианстве и наоборот.

Ислам, например, допускает использование человеческих эмбрионов в период до 40 дней после оплодотворения, объясняя это тем, что у такого эмбриона еще нет души. Иудаизм считает, что оплодотворенная яйцеклетка не является еще человеческим существом, а становится им в процессе развития внутри матери. Более того, развивающийся эмбрион вне матери приравнивается к гамете и может считаться существом только после его имплантации матери. Наиболее строгое отношение к эмбриону у Римской католической церкви, ибо, согласно католическим канонам, человеческое существо появляется в момент зачатия, т.е. с момента оплодотворения яйцеклетки. Неко-

торые ветви христианской религии, например протестантская церковь, считают, что ранний эмбрион не является полноправным человеческим существом. Однако протестантские теологические воззрения не однородны, и этические нормы по отношению к эмбриону могут быть разными в различных протестантских этносах.

В качестве мнения Русской православной церкви можно привести слова священника Антония Ильина (и.о. секретаря по взаимоотношениям Церкви и общества ОВЦС МП): «Церковная позиция по этому вопросу изложена в Святом Евангелии. "Ангел сказал Ей в ответ: Дух Святой найдет на Тебя, и сила Всевышнего осенит Тебя; посему и рождаемое Святое наречется Сыном Божиим. Вот и Елисавета, родственница Твоя, называемая неплодною, и она зачала сына в старости своей, и ей уже шестой месяц, ибо у Бога не останется бессильным никакое слово. Тогда Мария сказала: се, Раба Господня; да будет Мне по слову твоему. И отошел от Нее Ангел. Встав же Мария во дни сии, с поспешностью пошла в нагорную страну, в город Иудин, и вошла в дом Захарии, и приветствовала Елисавету. Когда Елисавета услышала приветствие Марии, взыграл младенец во чреве ее; и Елисавета исполнилась Святаго Духа, и воскликнула громким голосом, и сказала: благословенна Ты между женами, и благословен плод чрева Твоего! И откуда это мне, что пришла Матерь Господа моего ко мне?" (Лук. 1; 35-43). Здесь ясно говорится, что возраст зачатого Пресвятой Девой Марией Богомладенца был менее 14 дней, а Елисавета уже почитала Его как Господа. Согласно церковной позиции, с момента зачатия эмбрион является человеческим существом и будущей личностью».

Этические нормы и основанное на них законодательство различны в разных странах с преобладанием одной и той же религии. Например, Великобритания приветствует исследование стволовых клеток. Она стала первой страной, по крайней мере, в Европе, одоббившей исследование человеческих ЭСК, правда, при условии «адекватных мер предосторожности». Для их соблюдения правительство создало экспертную группу и в августе 2000 года обнародовало свою позицию, сформулированную в докладе экспертов. Затем обе палаты Парламента Великобритании подавляющим большинством голосов одобрили исследования стволовых клеток и так называемое терапевтическое клонирование. Экспертная группа в своих рекомендациях основывалась главным образом на том, что в Великобритании исследования на эмбрионах уже разрешены и обстоятельно регламентированы «Актом о человеческом оплодотворении и эмбриологии» от 1990 года. Их регулирование осуществляется специальным органом – Управлением по человеческому оплодотворению и эмбриологии (HFEA). Работы с эмбрионами разрешены для изучения ограниченного круга проблем, в частности бесплодия. Теперь перечень разрешенных целей расширился, включив исследования человеческих ЭСК.

Во многих странах Европейского Союза законы по поводу эмбриональных стволовых клеток отсутствуют вообще, а принятые и действующие в некоторых странах имеют диапазон от абсолютного запрещения исследований на эмбрионах (во Франции, Германии, Ирландии) до разрешения создавать эмбрионы в исследовательских целях. Разнообразие мнений отражает существующие культурные и религиозные различия; в отдельных странах эмоции столь сильны, что трудно прийти к компромиссным решениям. Правительствам приходится балансировать между крайними воззрениями на статус эмбриона, с одной стороны, и обещаниями успехов в лечении болезней, с другой. Конфликт возникает между обязанностями государства по сохранению здоровья населения и обязанностями по защите его моральных установок.

В большинстве стран обнаруживается параллель между допустимостью исследований на эмбрионах и допустимостью абортов. Ирландия – единственная страна ЕС, чья конституция подтверждает право на жизнь еще не рожденных людей, и это право приравнивается к праву матери на жизнь, хотя неясно, действует ли это право от мо-

мента оплодотворения или от момента имплантации. Несмотря на это, аборт разрешается, только если жизни матери угрожает прямая опасность. Изнасилование, кровосмешение или аномалии зародыша не являются оправданием. Этот закон противоречит решению Европейского суда справедливости, согласно которому аборт представляет собой медицинскую услугу и любое ограничение в этой услуге со стороны государства – члена ЕС является компетенцией Европейского суда, а не ирландского законодательства. Ирландия должна оговаривать особые условия в Маастрихтском договоре, чтобы поддержать свои меры против абортов. Многим странам – новым членам ЕС, где есть запреты или ограничения на аборты, таким как Польша, Словакия, Литва, Венгрия, Словения, Чешская Республика и Мальта, вероятно, придется делать то же самое.

Бельгия и Нидерланды проводят исследования на эмбрионах при отсутствии законодательных рамок. В Португалии, где аборт незаконен, кроме случаев изнасилования или по серьезным медицинским причинам, и безоговорочно запрещен после 12-й недели беременности, нет законодательства, но нет и исследований. Такие исследования запрещены в Австрии, Германии и даже во Франции, но последняя позволяет «изучение эмбрионов без нанесения ущерба их целостности» и преимплантационную диагностику.

Испанская конституция предлагает защиту только для жизнеспособных эмбрионов *in vitro*, причем критерии жизнеспособности не распространяются на «лишние» эмбрионы, образующиеся при оплодотворении *in vitro*. Исследования на эмбрионах при тех же условиях допустимы в Финляндии и Швеции. Еще в девяти европейских странах законодательство либо пересматривается, либо исправляется. Эти страны, как и те, где законодательство вообще отсутствует, могут руководствоваться международными правилами.

В США десять штатов ввели у себя законы, регулирующие или ограничивающие исследования на человеческих эмбрионах, зародышах или еще не рожденных детях. На федеральном уровне запрещена финансовая поддержка любого исследования, в котором эмбрионы разрушаются.

Международные руководства не вносят особой ясности в проблему исследования человеческих эмбрионов. Все вопросы, кроме запрета репродуктивного клонирования человека, соглашения на европейском уровне оставляют на усмотрение каждого государства. Существует несколько общих руководств и «Конвенция о правах человека и биомедицине» Совета Европы, которая утверждает: 1) там, где закон разрешает проводить исследование *in vitro*, он должен обеспечить адекватную охрану эмбрионов; 2) создание эмбриона для исследовательских целей запрещено. Дополнительный протокол, запрещающий клонирование человека, вступил в силу в 2002 году. Однако Европейская группа по этике в науке и новых технологиях, действующая при Европейской комиссии, высказалась за выделение средств из бюджета сообщества для проведения исследований на лишних эмбрионах, хотя и подтвердила, что считает создание эмбрионов для исследований из донорских гамет этически неприемлемым и «полагает преждевременным» терапевтическое клонирование.

Против такого решения Совета Европы выступила Международная академия гуманизма. В ее декларации указывается: «Мы не видим в клонировании высших животных, исключая человека, каких-либо неразрешимых этических дилемм. Не считаем мы очевидным и то, что будущие достижения в клонировании человеческих тканей и даже человеческих существ создадут моральные затруднения, которые не сможет разрешить человеческий разум. Моральные проблемы, порождаемые клонированием, не являются более крупными и более глубокими, чем вопросы, с которыми люди уже

сталкивались по поводу таких технологий, как ядерная энергия, рекомбинантная ДНК и компьютерное шифрование. Они просто новые».

Наиболее взвешенная и интересная позиция по этому вопросу приведена в Рекомендации Национальной консультативной комиссии по биоэтике (США). Обращают на себя внимание существенные различия между американским и европейским документами. В американском речь идет не просто о запрете, а о моратории на проведение работ по клонированию человека и о необходимости вернуться к вопросу через несколько лет с тем, чтобы оценить ситуацию в свете новых научных данных, а также результатов общественного обсуждения этических и социальных проблем клонирования человека, что выглядит не столь категорично, как позиция Совета Европы. Более того, специально отмечается, что данный мораторий не должен затронуть другие исследования, включая исследования эмбриональных стволовых клеток. Таким образом, согласно американскому документу, последующие решения намечается предпринимать после специальных усилий, направленных на то, чтобы мнение общества было информированным и просвещенным.

9.5. Статус человеческого эмбриона

Этическая законность исследований эмбриональных стволовых клеток зависит от статуса, который присвоен эмбриону. Хотя есть и другие соображения по этому этическому вопросу, например согласие родителей или «владельцев» эмбриона, вопрос о статусе эмбриона является основополагающим. Большая часть этических дебатов в этой проблеме связана с вопросом: если эмбрион – человек, то действия с ним ограничены тем, что разрешено делать с другими людьми. Если эмбрион – это лишь множество человеческих клеток, то существует значительно меньше ограничений при его использовании.

Один из ключевых – вопрос о том, когда плод человека приобретает способность чувствовать. Первые движения плода зафиксированы на 6-й неделе развития, в это же время он начинает реагировать на прикосновения, в спинном мозгу выявляются синапсы. На 10-й неделе в нервных волокнах спинного мозга обнаруживаются первые нейромедиаторы и регистрируется активность ствола головного мозга. На основании электрофизиологических и иммуногистохимических данных одни исследователи считают, что плод человека начинает чувствовать в возрасте 18–19 недель, но способность перерабатывать полученные ощущения не обнаруживается вплоть до 30-й недели развития. Поэтому этот срок, по их мнению, можно считать границей между плодом и человеческим существом.

В других исследованиях способность плода реагировать на раздражение или боль обнаружена в 7–8 недель. Однако можно ли считать критерием становления личности лишь появление способности чувствовать? Подобная точка зрения вызывает некоторые возражения, так как бессознательное состояние и нечувствительность к боли, в сущности, не могут служить основанием для отказа в защите прав личности.

Ведущие эмбриологи мира, как правило, считают допустимым для манипуляций период от момента оплодотворения до 14-го дня развития эмбриона (начала формирования первичной полоски, элементов нервной системы) или до 30-го дня (начала дифференцировки центральной нервной системы) (рис. 9.5).

В 1994 году лаборатория генетики нарушений репродукции Медико-генетического научного центра РАМН проводила анкетирование. На вопрос «С какого срока внутриутробного развития эмбрион/плод следует считать индивидуумом с правом на жизнь?» более 25% специалистов (медиков и биологов) ответили, что лишь плод с 7-го месяца можно рассматривать как индивидуум; примерно 20% респондентов счи-

тают индивидуумом с правом на жизнь эмбрион с 14-го дня развития; 8,5–13% респондентов высказали мнение о том, что уже зрелые половые клетки следует считать индивидуумом. Примерно 25% респондентов, не имеющих отношения к медицине или биологии, затруднились ответить на этот вопрос. Среди респондентов с проблемами деторождения большее их число (по сравнению с медиками и биологами) считают, что следует признать индивидуумом половые клетки или 14-дневный эмбрион, т. е. более ранние сроки развития (табл. 9.1).

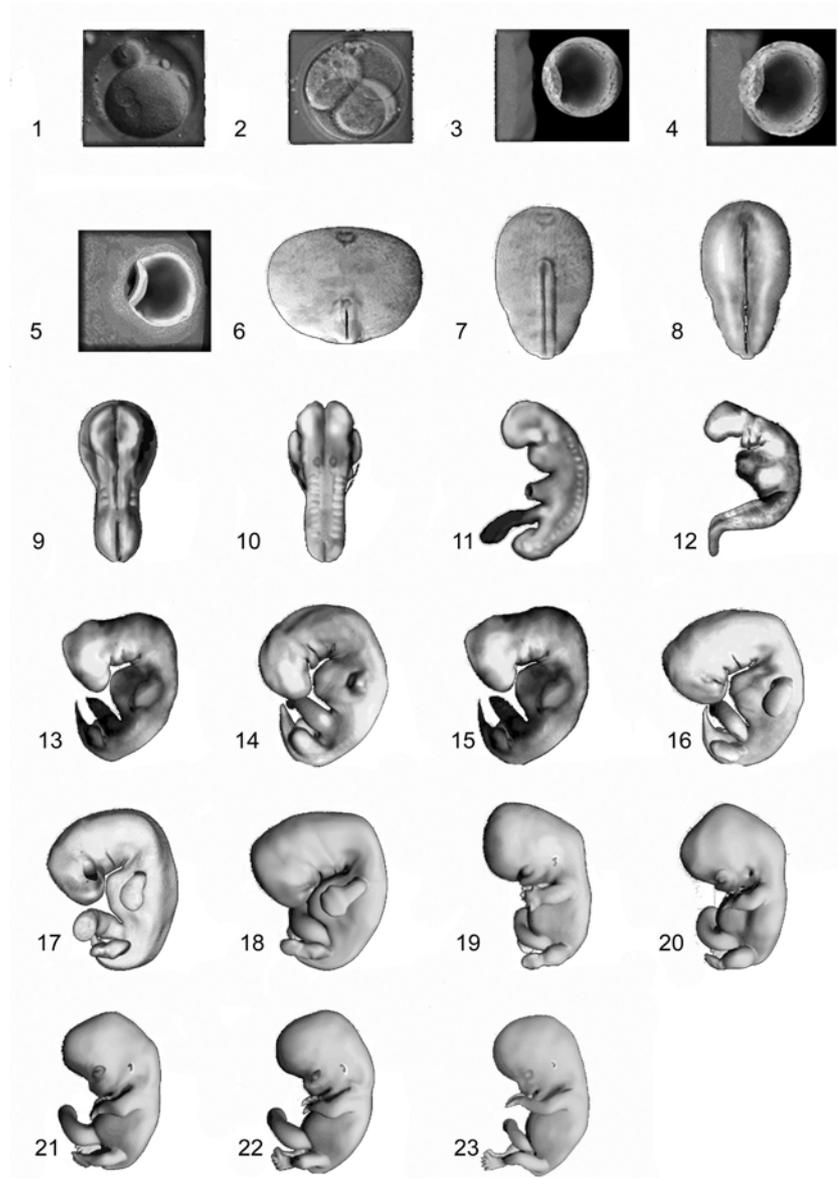


Рис. 9.5. Ранние стадии развития человеческого эмбриона: 1 – оплодотворение (0.1 мм); 2 – 2 дня (0.15 мм); 3 – 4 дня (0.15 мм); 4 – 6 дней (0.15 мм); 5 – 10 дней (0.15 мм); 6 – 13 дней (0.2 мм); 7 – 16 дней (0.4 мм); 8 – 19 дней (1 мм); 9 – 21 день (1.5 мм); 10 – 23 дня (2 мм); 11 – 25 дней (2.5 мм); 12 – 27 дней (3 мм); 13 – 29 дней (4 мм); 14 – 31 день (5 мм); 15 – 34 дня (7 мм); 16 – 36 дней (9 мм); 17 – 42 дней (10 мм); 18 – 46 дней (11 мм); 19 – 48 дней (13 мм); 20 – 51 день (15 мм); 21 – 52 дня (17 мм); 22 – 55 дней (19 мм); 23 – 57 дней (23 мм).
Примечание: в скобках указан размер эмбриона.

Человеческий эмбрион имеет уникальный статус: в отличие от любой другой группы живых клеток он способен развиваться в полноценный организм. Данное свойство можно назвать потенциалом эмбриона, т.е. потенциалом стать полностью развитым человеком. Это только биологический факт, но именно он и является причиной мо-

рального «страха». Проблема в том, можно ли эмбрион считать членом человеческого сообщества с теми правами, которые допускаются исключительно для человека. Достигнуть соглашения по этому вопросу пока не удастся. Существуют несколько основных непримиримых мнений:

- (1) индивидуальность человека начинается с момента зачатия;
- (2) индивидуальность человека начинается с момента, когда его разделение на близнецов невозможно (13-й день после оплодотворения);
- (3) индивидуальность человека начинается на значительно более поздних стадиях его развития (40 и более дней после оплодотворения).

Таблица 9.1.

Зависимость мнения о сроке развития эмбриона, позволяющем считать его индивидуумом с правом на жизнь, от профессии и состояния здоровья.

Респонденты	Считают индивидуумом (%)						
	зрелые половые клетки, зигота	эмбрион с 14-го дня развития	эмбрион с 30-го дня развития	плод с 8-недельного развития	плод с 7-месячного развития	затрудняюсь ответить	особое мнение
Медики и биологи	8,8	19,3	12,3	17,5	26,3	10,5	1,8
Не имеющие отношения к медицине	9,5	16,4	10,0	8,0	19,4	26,9	7,0
Не имеющие проблемы деторождения	8,5	14,9	12,2	11,2	20,7	22,9	6,9
С нарушением детородной функции	13,3	25,0	5,0	1,7	21,7	28,3	3,3

Главный предмет дебатов – это потенциальная возможность эмбриона. По мнению одних, человеческий эмбрион имеет потенциал, чтобы стать человеком, даже если это еще не человек. По этой причине неэтично лишить его возможности реализовать свой потенциал. Другая сторона утверждает, что потенциал не дает основания для такого статуса. Половые клетки – это компоненты зиготы, которая позже становится эмбрионом и затем ребенком, но это не дает им статуса, соответствующего зиготе, эмбриону или плоду, пока эта стадия развития не достигнута. Если не предоставляется эмбриональный статус сперме, то почему должен предоставляться статус человека эмбриону? Кроме того, эмбрион, созданный *in vitro*, но который не будет имплантироваться в матку, вообще не имеет потенциала развиваться в человека. Это же относится и к эмбрионам, созданным при помощи технологии пересадки ядра, которые не должны быть имплантированы для целей человеческого репродуктивного клонирования.

Известно, что из ранних, доимплантационных при искусственном оплодотворении эмбрионов можно без ущерба удалять отдельные клетки. Такой способ может быть одним из решений проблемы получения ЭСК. Однако если удаленные клетки тотипотентны (способны развиваться в любой орган и даже в самостоятельный организм), значит, они, по сути, отдельные зиготы и эмбрионы, и потому должны защищаться в той же мере, что и исходные эмбрионы. Если же такие клетки только плюрипотентны, то их нельзя рассматривать в качестве эмбрионов, а потому их использование скорее всего не будет оскорблять тех, кто считает эмбрион человеком. К сожалению, пока заранее невозможно сказать, является ли та или иная клетка тотипотентной или плюрипотентной. С уверенностью это можно установить только ретроспективно, наблюдая, на что способны клетки.

В настоящее время можно различить четыре основных способа искусственного получения эмбрионов:

(1) эмбрион, созданный оплодотворением *in vitro* (IVF) для имплантации в матку и выбранный для этой цели;

(2) эмбрион, созданный *in vitro* для имплантации, как в (1), но который является «лишним» (дополнительные эмбрионы необходимо создавать для гарантии успешной беременности);

(3) эмбрион, созданный искусственным оплодотворением для целей исследования или для целей создания эмбриональных стволовых клеток;

(4) эмбрион, созданный методом пересадки клеточного ядра в яйцеклетку.

В каждом из перечисленных случаев эмбрион имеет свой моральный статус:

(а) в первом случае эмбрион имеет специальный статус как вероятный предшественник человека, и любые попытки помешать выполнению этого потенциала должны отвергаться (за исключением аборт по моральным причинам в юридически законных случаях, особенно в случаях угрозы жизни матери);

(б) у эмбрионов в случае (2) нет потенциала развиться во взрослый организм;

(в) эмбрионы в (3) и (4) создаются для определенных целей исследования или использования, которое требует специального рассмотрения.

Как естественное, так и искусственное воспроизводство включает процесс создания эмбрионов, часть которых обречена и которые можно использовать для получения эмбриональных стволовых клеток. Имплантация двух или трех эмбрионов в надежде на успешное рождение ребенка – принятая практика в этой области. Даже в Германии, где исследования стволовых клеток с использованием эмбрионов ныне запрещены и защита эмбрионов включена в конституцию, оплодотворение в пробирке разрешается и обычно имплантируется три эмбриона в надежде получить единственного здорового ребенка.

Этические нормы создания эмбрионов для определенных целей существенно отличаются от таковых при создании эмбрионов для имплантации при IVF, поскольку при этом даже «лишние» эмбрионы создавались с целью выполнения потенциального развития во взрослый организм. Во многих странах IVF законен и широко используется, и этически допустимо использовать такие «лишние» эмбрионы для терапевтических целей. В любом случае такие «лишние» эмбрионы будут уничтожены, поэтому этично их использование для спасения жизни и здоровья других людей.

Возможно ли создание человеческих эмбрионов для определенных целей исследования или терапевтического использования? Если считать, что эмбрион имеет статус индивидуальности, то это должно быть запрещено, поскольку идет вразрез с общечеловеческим принципом, запрещающим «инструментальное» использование людей. Если у эмбриона нет такого статуса, то является ли моральным и этичным обрекать тысячи людей на страдание и смерть, когда есть возможность помочь им, используя эмбриональные стволовые клетки? В этом случае не может быть возражений против создания и использования человеческих эмбрионов, так как потенциальная польза от терапевтического клонирования перевешивает любые другие аргументы.

Отказ от статуса эмбриона как человеческой индивидуальности не должен приводить к занижению этической ценности человеческого эмбриона как такового. Человеческий эмбрион не может и не должен стать подобием лабораторного животного. Если мы ценим человеческую жизнь, то мы должны ценить ее во всех проявлениях и отвергать любые злоупотребления человеческими органами и тканями. Однако было бы неправильным утверждать, что создание и терапевтическое использование эмбрионов несовместимо с принципом ценности и уважения человеческих органов и человеческого достоинства при условии, что цели такого использования этичны и гуманны. Медицинское использование попадаете эту категорию. Терапевтическое кло-

нирование при использовании эмбрионов на ранней стадии развития (как правило, до 14 дней после оплодотворения) совместимо с принципом уважения человеческой жизни, ибо направлено на облегчение страданий и спасение жизней людей, принцип уважения которых мы отстаиваем.

Создание и использование человеческих эмбрионов должно быть строго регламентировано, находиться под постоянным контролем и проводиться с полного согласия родителей (доноров) биологического материала. Пожертвование такого биологического материала должно носить в большей степени альтруистический характер, не исключая определенной оплаты. Однако необходимо предпринять все меры против коммерциализации и финансового стимулирования этого процесса. Создание и использование человеческих эмбрионов должно иметь только гуманные медицинские цели и не может проводиться для тривиальных, косметических и немедицинских целей.

* * *

Мы не ставили своей целью решить этические проблемы терапевтического клонирования, а постарались показать различные точки зрения на данную проблему. Каждое общество имеет право обсуждать эту проблему и принимать свое решение, основанное на этических и моральных устоях в данный момент времени, или пересмотреть свое решение, если появятся другие веские аргументы. Этическое отношение к терапевтическому клонированию и статусу эмбриона основано на моральных и религиозных воззрениях, которые достаточно широко различаются в разных категориях общества. Поэтому каждое общество (государство) должно решить эту проблему для себя. Решение ее должно быть демократичным, основанным на детальном и всестороннем обсуждении. В истории имеется пример такого обсуждения – это проблема искусственного оплодотворения. Существовали и до сих пор существуют различные точки зрения по этому вопросу, но большинство государств высказалось за разрешение такой медицинской услуги.

И еще один урок, который необходимо извлечь из дискуссий, связанных с клонированием человека. Как уже отмечалось, дополнительный протокол, принятый Советом Европы, устанавливает запрещение на клонирование человеческих существ. Протокол сопровождается объяснительным докладом, в котором говорится: «...решено оставить для внутреннего законодательства определение рамок выражения «человеческое существо» для целей применения настоящего Протокола». Такое решение ставит вопрос о необходимости правового, юридического истолкования понятия «человеческое существо», а тем самым и понятия «человек». Известно, что определение этого понятия – давняя философская проблема. Философы разных времен предлагали множество дефиниций – от «двуногое без перьев» до «животное, производящее орудия» и «совокупность всех общественных отношений». Большинству же людей такие определения представлялись не более чем праздными причудами изошренных умов. Бурный прогресс современной биологии и медицины привел к тому, что это определение имеет не только отвлеченно философский, но и непосредственно практический смысл.

Таким образом, проблема, острота которой до недавнего времени была ясна лишь достаточно узкому кругу специалистов по философским и этическим вопросам, становится актуальной для всех. Это является еще одним из важнейших уроков дискуссии о клонировании. Современная биомедицина расширяет технологические возможности вмешательства в естественные процессы зарождения, протекания и окончания человеческой жизни. Стали обыденной практикой различные методы искусственной репро-

дукции человека, замены износившихся или поврежденных органов и тканей, нейтрализации действия вредоносных генов и многое другое.

Это приводит к ситуациям, когда трудно определить, имеем ли мы дело уже (или еще) с живым человеческим существом или только с агрегатом клеток, тканей и органов. Пределы нашего вмешательства в жизненные процессы и функции определяются не столько расширяющимися научно-техническими возможностями, сколько нашими представлениями о том, что есть человек, а следовательно, и о том, какие действия и процедуры по отношению к нему допустимы, а какие – неприемлемы. Но не что иное, как перспектива клонирования человека, со всей очевидностью демонстрирует необходимость юридически четко и однозначно определить понятия «человек» и «человеческое существо». Возможно, именно отсутствие такого определения, а значит и однозначного понятия, в конечном итоге и объясняет тот эмоциональный накал, который сопровождает данные дискуссии. Это определение мы должны выработать сами, на основе нашей морали и новых знаний современной биологии и медицины.

История знает запреты на науку: запрет генетики и кибернетики в 40–60-х годах XX века в нашей стране сказывается на развитии технологий до настоящего времени. Научную мысль запретить нельзя. Исторически выбор луддитов, стремившихся повернуть часы истории вспять и ограничить или запретить применение уже существующих технологий, никогда не бывал ни реалистическим, ни продуктивным. Необходимо регулировать применение научных достижений, как это делается с атомной энергетикой, генно-инженерными организмами и другими аспектами человеческой деятельности. Запреты никогда и ничего не решали – вспомним «сухие законы», введенные во многих странах. Только образование и воспитание может решить морально-этические проблемы.

Каждая страна, исходя из своих моральных и религиозных устоев, должна решить, готова ли она принять современные достижения науки и медицины. Обсуждение должно носить демократический характер с предоставлением права высказывать любые точки зрения, а решение приниматься на основании знаний, а не эмоций. Учитываться должны как уровень морали граждан, так и подготовленность специалистов. Если общество не готово принять новое, необходимо ввести мораторий и вернуться к этому вопросу через некоторое время. А выделенное время потратить на просвещение, информирование и образование общества.

Литература к главе 9

- Апресян Р.Г. Материалы «круглого стола»: Мы и биоэтика // Человек. 1990. № 6. С. 98–100.
- Бриле-Виньо Ф., Сфера К. (ред.). Требования биоэтики: Медицина между надеждой и опасениями. 1999.
- Вульф С.М. Эвтаназия: не переходить границу // Человек. 1993. № 5. С. 53–61.
- Докинз Р. Эгоистичный ген. М.: Наука, 1993.
- Жиганова Л.П., Гариев Ю.М. Биомедицина в США: актуальные этические и социально-политические аспекты // США – Канада: экономика, политика, культура. 2003. № 5. С. 103–116.
- Зеленин А.В. Генная терапия на границе третьего тысячелетия // Вестн. РАН. 2001. Т. 71, № 5. С. 387–395.
- Иванюшкин А.Я., Игнатьев В.Н., Коротких Р.В. и др. Введение в биоэтику: Учеб. пособие. М.: Прогресс-Традиция, 1998.
- Курило Л.Ф. Этико-правовые аспекты использования стволовых клеток человека // Человек. 2003. № 3. 23–27.
- Лопухин Ю.М. Биоэтика в России // Вестн. РАН. 2001. Т. 71, № 9. С. 111–11 А.
- Малков С.М., Огурцов А.П. (ред.). Биоэтика: проблемы и перспективы. М.: Институт философии РАН, 1992.
- Пеллегрини Э. Медицинская этика в США: настоящее и будущее // Человек. 1990. №2. С.50–57.
- Сгречча Э., Тамбоне В. Биоэтика. М.: Библиейско-Богослов. ин-т Св. Апостола Андрея, 2002.

- Судо Ж. История биоэтики, дискуссии, этическая ориентация. 2001. (<http://www.kcn.ru/tatru/religion/catholic/biohist.htm>).
- Тищенко П.Д. Право на помощь и право на жизнь // Человек. 1992. № 6. С. 34–47.
- Харрис Д. Стволовые клетки и воспроизводство // Человек. 2003. № 5. С. 123–133.
- Юдин Б.Г. (ред.). Биоэтика: принципы, правила, проблемы / Ин-т человека РАН. М.: Эдиториал УРСС, 1998.
- Ahronheim I., Moreno I., Lucherman C. Ethics in Clinical Practice. N. Y.: Little Brown and Company, 1994.
- Annas G.J., Caplan A., Elias S. Stem cell politics, ethics and medical progress // Nat Med. 1999. Vol. 5. P. 1339–1341.
- Beauchamp T.L., Childress J.F. Principles of Biomedical Ethics. 3 ed. Oxford, 1989.
- Brustle O., Jones K.N., Learish R.D. et al. Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants // Science. 1999. Vol. 285. P. 754–756.
- Campbell K.H., McWhir J., Ritchie W.A., Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line 1996. // Nature. 1996. Vol. 380. P. 64–66.
- Cibelli J.B., Stice S.L., Golueke P.J. et al. Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts // Science. 1998. Vol. 280. P. 1256–1258.
- Coghlan A. Hair today, skin tomorrow // New Scientist. 2001. Vol. 170 (2296). P. 19–23.
- Friele M.B. (ed.) Embryo Experimentation in Europe. Biomedical, Legal and Philosophical Aspects. Bad Neuenahr-Ahrweiler: Europäische Akademie, 2001.
- Geisler N.L. Christian Ethics, Baker Books, Grand Rapids. MI, USA, 1989.
- Hall A. Awaiting the Miracles of Stem-Cell Research, Business Week Online, 29. 2000.
- Hare R.M. Applications of Moral Philosophy. Cambridge, 1972.
- Herrnstein R. J., Murray Ch. The bell curve. Intelligence and class structure in american life. N. Y., 1984.
- Kato Y., Tani T., Sotomaru Y. et al. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult // Science. 1998. Vol. 282. P. 2095–2098.
- Lackwood M. Moral Dilemmas in Modern Medicine, Oxford Univ. Press, 1985.
- Lanza R.P., Cibelli J.B., West M.D. Human therapeutic cloning // Nat Med. 1999. Vol. 5. P. 975–977.
- Lanza R.P., Cibelli J.B., West M.D. Prospects for the use of nuclear transfer in human transplantation // Nat Biotechnol. 1999. Vol. 17. P. 1171–1174.
- Lewis I.M., Peura T.T., Trounson A.O. Large-scale applications of cloning technologies for agriculture: an industry perspective // Reprod Fertil Dev. 1998. Vol. 10. P. 677–681.
- Nagel Th. Death. Moral Problems. J. Rachels (ed.). N. Y., 1971.
- Newman L. Transplanted Stem Cells May Aid AMD Patients, Ophthalmology Times, 15. 2001.
- Rietze R.L. et al. Purification of a pluripotent neural stem cell from the adult mouse brain // Nature. 2001. Vol. 412 (6848). P. 736–739.
- Ross S.L. Abortion and the Death of the Fetus // Philosophy and Public Affairs. 1982. Vol. 11 (3). P. 243–249.
- Sarfati J. Stem cells and Genesis // TJ. 2001. Vol. 15 (3). P. 19–26, перевод на русский: Джонатан Сарфати. Стволовые клетки и Книга Бытия, <http://www.creation.crimea.com/text/172.htm>
- Solter D., Gearhart J. Putting stem cells to work // Science. 1999. Vol. 283. P. 1468–1470.
- Sumner L.W. Abortion and Moral Theory. Princeton; New Jersey: Princeton Univ. Press, 1981.
- Thomson J.J. A. Defence of Abortion. Rights, Restitution and Risk. Essays in Moral Theory. Cambridge (Mass.); L.: Harvard Univ. Press, 1986.
- Toma J.G. et al. Isolation of Multipotent Adult Stem Cells from the Dermis of Mammalian Skin // Nature Cell Biology. 2001. Vol. 3(9)/ P. 778–784.
- Tooley M. In Defence of Abortion and Infanticide. Moral Issues /Ed. by I.Narveson. Oxford Univ. Press, 1983.
- Vogel G. Harnessing the power of stem cells [news] // Science. 1999. Vol. 283. P. 1432–1434.
- Reich W. T. (ed.) Encyclopedia of Bioethics. Macmillan Publishing Company, Incorporated, 2003.
- Wakayama T., Yanagimachi R. Cloning of male mice from adult tail-tip cells // Nat Genet. 1999. Vol. 22. P. 127–128.
- Wakayama T., Rodriguez I., Perry A.C. et al. Mice cloned from embryonic stem cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 14984–14989.
- Wilmut I., Schnieke A.E., McWhir J. et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells // Nature. 1997. Vol. 385. P. 810–813.
- Zuk P.A. et al. Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies // Tissue Engineering. 2001. Vol. 7(2). P. 211–228.

Терминологический словарь

- GURT (Gene Use-Restriction Technology) система** – специально создаваемая комбинация трансгена с генами, контролирующими созревание семян. GURT-системы обеспечивают блокировку генов, важных для развития гибридных зародышей, и нормальное развитие семян только при наличии у одного из партнеров по скрещиванию специальной системы генов – репрессоров такой блокировки.
- Ti-плазмида** – плазмида почвенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, T-участок которой способен переноситься в клетки растений и включаться в их ядерную ДНК, что приводит к образованию опухолей.
- Агросреда** – см. *Экосистема окультуренная*.
- Адаптация вида (популяции, организма)** – способность вида (популяции, организма) приспосабливаться к новым условиям существования. Адаптация основана на генетических изменениях в популяциях вида, происходящих под действием факторов окружающей среды и имеющих селективное значение (оказывающих эволюционный (селективный) прессинг), или определяется особенностями генетического статуса отдельного организма.
- Адаптивность вида (популяции, организма)** – генетический статус вида, предоставляющий ему определенные возможности к адаптации в новых условиях существования. Определяется генетической полиморфностью (генным и аллельным разнообразием) вида (популяции) и наличием тех или иных адаптивных генов.
- Аденин (А)** – пуриновое основание, комплементарное тимину ДНК и урацилу РНК. Одно из азотистых оснований, входящих в состав ДНК и РНК.
- Аллели кодоминантные** – аллели, совместно проявляющиеся в гетерозиготе. Ни один не доминирует над другим.
- Аллель** – одна из двух (или нескольких) альтернативных структурных форм гена.
- Аллель доминантный** – аллель, определяющий проявление признака (фенотипа по этому признаку) у гетерозиготной особи.
- Аллель рецессивный** – не проявляющийся в гетерозиготе. Отсутствие проявления обусловлено инактивацией или отсутствием продукта рецессивного аллеля. Признак, кодируемый рецессивным аллелем, проявляется только у особей, несущих этот аллель в гомозиготном состоянии.
- Аллеля частота** – отношение встречаемости одного из аллелей данного локуса к сумме встречаемости всех аллелей у достаточно большого числа индивидумов в данной популяции.
- Аллергены** – химические вещества антигенной природы (см. *антигены*) различного состава и происхождения, контакт организма с которыми может привести к возникновению *сенсibilизации*. Длительное нахождение аллергена в организме или повторный контакт с ним нередко сопровождается развитием аллергического заболевания.
- Аллергены пищевые** – аллергены, попадающие в организм извне, входящие в состав продуктов питания, обуславливающие специфическую аллергическую реакцию *гиперчувствительности*.
- Аллергия** – одна из форм иммунного ответа, заключающаяся в формировании *гиперчувствительности* животного организма, включая человека, к аллергенам. Как и другие формы иммунного ответа, аллергия характеризуется наличием скрытого периода, высокой специфичностью, появлением и накоплением в сенсibilизированном организме антител или сенсibilизированных лимфоцитов. В отличие от иммунитета аллергия характеризуется не снижением, а повышением чувствительности организма к аллергену.
- Аминокислоты** – органические (карбоновые) кислоты, содержащие 1–2 аминогруппы. Совмещают свойства карбоновых кислот и аминов. Основной элемент (мономер) построения растительных и животных *белков*. Около 20 аминокислот – мономеры для образования белков.
- Амплификация** – увеличение количества ДНК, числа копий генов.
- Анафилаксия** – острая системная аллергическая реакция, протекающая по типу *гиперчувствительности немедленного типа*. У человека может варьировать от относительно легких форм до анафилактического шока с развитием острой сердечно-легочной недостаточности.
- Антибиотики** – вещества биологического происхождения (синтезируются грибами, микроорганизмами), избирательно подавляющие рост бактерий, вирусов, клеток. Ряд из них применяется в медицине, растениеводстве, животноводстве. Для практического использования получают путем микробиологического синтеза, реже – путем химического синтеза.
- Антигены** – структурно чужеродные для данного конкретного организма химические вещества, индуцирующие иммунный ответ и тем самым меняющие иммунологическую реактивность организма. Молекулы антигенов, как правило, характеризуются высокой молекулярной массой, сложной и частично жесткой структурой; относятся к свободным или расположенным на поверхности клеток белкам, полисахаридам, липополисахаридам. В структуре антигена выделяют *эпитопы (антигенные детерминанты)*, определяющие специфичность иммунного ответа, и «носитель», ответственный за индукцию иммунного ответа. Большинство антигенов имеют один или несколько эпитопов одинаковых или разных специфичностей (т.е. являются поли- или мультивалентными).
- Антикодон** – триплет нуклеотидов в молекуле тРНК, комплементарный нуклеотидам специфического кодона в молекуле мРНК.
- Антисмысловая цепь** – 1) транскрибируемая (кодирующая) цепь в молекуле хромосомной ДНК; 2) одна из цепей в двухцепочечной молекуле ДНК, нуклеотидная последовательность которой комплементарна таковой у соответствующей мРНК.

Антисыворотка – жидкая составляющая крови (сыворотка крови), обогащенная *антителами*, которую получают путем многократного введения животному (например, кролику или козе) антигена.

Антитела – специализированные белки (иммуноглобулины) сыворотки крови или секреторные иммуноглобулины, обладающие способностью к специфическому взаимодействию с гомологичными антигенами. Основными продуцентами антител являются плазматические клетки, которые образуются в результате гуморального иммунного ответа на гомологичный антиген. Молекула мономера иммуноглобулина состоит из 2 тяжелых и 2 легких полипептидных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками. N-концевые участки тяжелых и легких цепей разнообразны и называются переменными. Остальные участки – относительно постоянные по аминокислотному составу; их можно разделить на ограниченное число доменов (константные участки). В функциональном отношении в молекулах антител выделяют: 1) активный центр, ответственный за связь с антигеном, расположенный в переменной области; 2) константный участок (Fc-фрагмент), ответственный за вторичные биологические функции (например, за взаимодействие с рецепторами специализированных клеток).

Ареал – часть земной поверхности или акватории, в пределах которой встречается тот или иной вид (род, семейство и т.д.) растений или животных.

Аутосомы – все хромосомы, кроме половых. В диплоидной клетке имеется две копии каждой аутосомы.

Бактериофаг (фаг) – вирус, инфицирующий бактерии.

Баллистическая трансформация (биолистика, бомбардировка микрочастицами) – введение ДНК в растительные и животные клетки с помощью покрытых ДНК вольфрамовых или золотых микрошариков, которые разгоняют до большой скорости в специальных пневматических приборах.

Банк семян – набухшие семена, которые не взойли по каким-то причинам сразу, но, не теряя жизнеспособности, сохраняются в почве на протяжении нескольких сезонов вегетации, иногда в течение многих лет.

Барьеры скрещиваемости – существующий у животных и растений ряд генетических, физиологических и поведенческих механизмов, препятствующих успешному осуществлению гетероспецифических скрещиваний и обеспечивающих сохранение видового гомеостаза.

Безопасность в генно-инженерной деятельности, безопасность в биотехнологии (биобезопасность) – система мероприятий, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня неблагоприятных воздействий ГИО на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности.

Белки (протеины) – высокомолекулярные органические соединения, состоящие из одной или нескольких полипептидных цепей, построенных из остатков 20 аминокислот, и имеющие сложную четырехуровневую структурную организацию. Белки играют важнейшую роль в процессах жизнедеятельности всех организмов, как структурную (построение тканей, клеток и их составных частей), так и функциональную (ферменты, гормоны, двигательные белки, пигменты и т.д.).

Библиотека генома (банк генов) – набор клонированных фрагментов ДНК, содержащих весь геном индивидуума (вида). В случае крупного генома (например, млекопитающего) получают хромосомоспецифические библиотеки.

Библиотека кДНК – коллекция клонов кДНК, синтезируемых *in vitro* на матрицах мРНК, происходящих из одной ткани или клеточной популяции.

Бинарная векторная система – двухплазмидная система *Agrobacterium*, предназначенная для переноса участка Т-ДНК, несущего клонированные гены, в растительные клетки. Гены вирулентности локализованы на одной плазмиде, а встроенный участок Т-ДНК – на другой.

Биогеоценоз – взаимообусловленный комплекс живых (автотрофные и гетеротрофные организмы) и косных (приземный слой атмосферы с ее газовыми и тепловыми ресурсами; солнечная энергия; почва с ее водоминеральными ресурсами и отчасти кора выветривания; в водном биогеоценозе – вода) компонентов, связанных между собой обменом веществ и энергии. Одна из наиболее сложных природных систем.

Биодеградация – разрушение загрязняющих веществ, попавших в окружающую среду, с помощью живых организмов (в настоящее время – с помощью микроорганизмов, однако проводятся работы по созданию и трансгенных растений, способных к биодеградации).

Биологическое разнообразие – разнообразие живущих на Земле видов и существующих естественных экосистем.

Биореактор (ферментер) – устройство, в котором протекают биохимические реакции при участии живых микроорганизмов, клеточных экстрактов или ферментов. Как правило, представляет собой замкнутую систему для использования ГИО. Термин «биореактор» используется сегодня также и в отношении некоторых трансгенных растений, выращиваемых с целью получения различных веществ, синтез которых происходит при участии встроенных генов.

Биотехнология – 1) наука, изучающая возможности использования организмов, биологических процессов и систем в производстве. Основой современной биотехнологии являются генетическая и клеточная инженерия в сочетании с микробиологическим синтезом и широким набором методов биохимии, биоорганической химии и др.; 2) совокупность промышленных методов, использующих для производства живые организмы и биологические процессы (например, хлебопекарное производство, виноделие, производство некоторых биопрепаратов и др.).

Биотоп – 1) участок земной поверхности (суши или водоема) с однотипными абиотическими условиями среды (рельеф, почва, климатические факторы и т.п.), занимаемый тем или иным биоценозом. Характерный для данного биотопа комплекс условий определяет видовой состав организмов, его населяющих, а также особенности их существования и в свою очередь сам подвергается изменениям под действием *биоценоза*; 2) синоним местообитания любого вида, включая абиотическую и биотическую составляющую *биогеоценоза*.

Биоценоз (биологическое сообщество) – совокупность растений, животных и микроорганизмов, населяющих участок суши или водоема, характеризующихся определенными отношениями как между собой, так и с абиотическими факторами среды.

Бипотентность – способность клетки развиваться в 2 вида специализированных клеток. Например, эмбриональный гепатобласт при своем развитии дифференцируется в гепатоцит или в эпителий желчных протоков.

Бластоцист – преимплантационный эмбрион, состоящий из 30–150 клеток на 4–7-й день развития. Содержит внутреннюю клеточную массу, которая служит основным источником эмбриональных *стволовых клеток*.

Блоттинг – перенос разделенных с помощью электрофореза или других методов молекул из одной среды (например, геля) на твердый носитель (подложку) (бумагу, нитроцеллюлозный или нейлоновый фильтр).

Вегетативное размножение – у растений развитие новой особи из группы клеток без оплодотворения и образования семян (бесполое размножение) путем отделения от материнского организма многоклеточной части (побегов, клубней, корневых отпрысков, сегментов листа и др.), развивающейся в дочерний организм.

Вектор (векторная система) – самореплицирующаяся молекула ДНК (например, бактериальная плаزمид), используемая в генной инженерии для переноса генов от организма-донора в организм-реципиент, а также для клонирования нуклеотидных последовательностей.

Вектор интегрирующий – вектор, специально сконструированный для того, чтобы с его помощью можно было встраивать (интегрировать) клонированную ДНК в геном клетки-хозяина.

Вектор клонирующий – молекула ДНК (плазмидная или вирусная ДНК), предназначенная для клонирования ДНК-мишени.

Вектор экспрессирующий – плазмидный вектор, сконструированный таким образом, чтобы клонированный ген экспрессировался только в определенной фазе клеточного цикла и только в течение определенного времени. Для этого в плазмиду встраивают сильный регулируемый *промотор*.

Вектора емкость – максимальный размер участка ДНК, который может быть клонирован в данном *векторе*.

Векторная система ВАС (Bacterial Artificial Chromosome) – векторная система на основе F-плазмиды *E. coli*, используемая для клонирования длинных (100–300 т.п.н.) последовательностей ДНК.

Вертикальная передача генов (трансгенов) – передача генетического материала в поколениях половым путем.

Вестерн-блоттинг – процедура переноса белковых молекул, разделенных с помощью *гель-электрофореза*, на твердую подложку.

Взаимодействие генов – участие в формировании признака нескольких неаллельных генов (неаллельное взаимодействие) или генов одной и той же аллельной пары (аллельное взаимодействие).

Вид (биологический вид) – совокупность популяций особей, способных к скрещиванию с образованием плодовитого потомства и вследствие этого дающих переходные гибридные популяции между местными формами, населяющими определенный *ареал*, обладающих рядом общих морфофизиологических признаков и типов взаимоотношений в *экосистеме*, отделенных от других таких же групп особей практически полной нескрещиваемостью в природных условиях. Вид – основная структурная единица в системе живых организмов, качественный этап их эволюции. Поэтому вид является основным таксономическим подразделением в систематике животных, растений и микроорганизмов.

Вид аборигенный – вид, типичный для данного *биоценоза*, хорошо приспособленный к экологическим условиям своего *биогеоценоза*.

Вид аллоплоидный (аллополиплоидный) – см. Вид полиплоидный.

Вид интродуцированный (экзотический) – новый вид, ранее не встречавшийся в данной местности или стране.

Вид полиплоидный – вид, у которого в процессе эволюции произошло увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному. Виды, у которых увеличение происходило за счет одного и того же *гаплоидного набора*, называют автополиплоидами ($3n$, $4n$, $5n$ и т.д.). Виды, у которых увеличение числа хромосом произошло в результате отдаленной гибридизации с включением в их геном и умножением *генов* обоих родителей, называют аллополиплоидами (амфидиплоидами) ($2n_1 + 2n_2$).

Вид эндемичный (эндемик) – местный вид растений или животных, ограниченный в своем распространении относительно небольшой областью. Эндемичными могут быть и другие таксономические группы (роды, семейства и др.).

Видовой гомеостаз – динамическое постоянство генетического статуса вида. Сочетание генетического полиморфизма с постоянством присутствия определяющих видовую индивидуальность генов (признаков).

Виды родственные (филогенетически близкие) – эволюционно близкие виды (принадлежащие к тому же роду или семейству), разделившиеся на отдельные таксономические единицы в относительно близкий к нам исторический период и вследствие этого имеющие достаточно много общих черт.

Виды эволюционно отдаленные – виды, принадлежащие к разным крупным таксономическим единицам (отрядам у животных и порядкам у растений, классам, типам, царствам).

Вирулентность – степень, мера *патогенности* микроорганизмов. В отличие от патогенности является свойством того или иного штамма (культуры). Определяется совокупностью факторов патогенности. Штаммы того или иного вида микроорганизмов могут быть подразделены по этому признаку на высоко-, умеренно-, слабо-вирулентные и авирулентные. Высоковирулентные штаммы обычно обладают способностью вызывать более тяжелые заболевания и распространяться быстрее среди микропопуляций людей и животных, чем слабовирулентные.

Вирус – инфицирующий комплекс, состоящий из РНК (РНК-вирусы, ретровирусы и др.) или ДНК (ДНК-вирусы, аденовирусы, бакуловирусы и др.) и белковой оболочки (капсиды) и использующий для *репликации* метаболизм клетки-хозяина, что может привести к разрушению этой клетки.

Волонтарные (волонтерные) растения – частный случай сорных растений. Это культурные растения, которые каким-либо образом попадают в посевы другой, основной, культуры и приводят к снижению массы или качества ее урожая. Чаще всего волонтарными становятся растения предшествующей культуры, которая выращивалась на данном поле в предыдущую вегетацию.

Вредители – организмы, которые, по мнению человека, непосредственно негативно затрагивают его интересы.

Вставка (инсерция) – сегмент ДНК, встроенный в *клонировующий вектор*.

Выживаемость – способность сорного вида сохраняться в агросреде или природной среде даже в случае направленной борьбы с ним и препятствовать росту основной культуры или в случае волонтарных растений последующих культур.

Вырожденность генетического кода – соответствие нескольких *кодонов* одной *аминокислоте*.

Высвобождение ГИО в окружающую среду – санкционированное внесение генно-инженерных организмов в окружающую среду. Различают следующие виды преднамеренного высвобождения ГИО в окружающую среду: контролируемое высвобождение – ограниченные полевые испытания на изолированных участках (в том числе испытания на *биобезопасность*) с применением специальных мер ограничения *рисков*; запланированное высвобождение – высвобождение в окружающую среду без использования специальных мер ограничения *рисков* (в том числе сортоиспытания); широко-масштабное высвобождение – высвобождение ГИО при использовании в хозяйственной деятельности.

Гамета – половая (репродуктивная) клетка многоклеточного организма, содержащая *гаплоидный набор хромосом*.

Гаплоид – организм, у которого имеется один (гаплоидный) набор хромосом.

Гаплоидный набор хромосом – набор хромосом, который содержит по одной копии каждой *аутосомы* (не половой хромосомы) и одну половую хромосому. Гаплоидное число хромосом (*n*) является характеристикой *гамет*.

Гаплотип – комбинация *аллелей* на одной хромосоме диплоидного организма.

Ген – основная физическая и функциональная единица наследственности. Ген представляет собой специфическую последовательность *нуклеотидов* в ДНК, которая определяет последовательность *аминокислот* в определенной *белке* (кодирующая часть). В состав гена кроме кодирующей части входят участки, стоящие перед кодирующей последовательностью и после нее (лидерная и концевая области), и инсерционные последовательности (*интроны*).

Ген доминантный – ген, проявляющийся в фенотипе независимо от присутствия в геноме другого *аллеля* этого гена или подавляющий в гетерозиготном состоянии проявление другого (рецессивного) гена.

Ген маркерный – ген с известной хромосомной локализацией, имеющий четкое фенотипическое проявление (устойчивость к *антибиотикам* или гербициду, ферментативная активность и т.д.).

Ген репортерный – ген, кодирующий легко выявляемый продукт. Такие гены используют, например, для того, чтобы убедиться, что данная генетическая конструкция успешно введена в клетку, орган или ткань.

Ген структурный – ген, кодирующий какой-либо *белок*.

Генетическая инженерия (современная биотехнология, по терминологии Картахенского протокола) – получение новых комбинаций генетического материала путем проводимых вне клетки манипуляций с молекулами нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) и переноса созданных конструкций генов в реципиентный организм, в результате которого достигается их включение и активность в этом организме и у его потомства.

Генетическая нестабильность – изменение с высокой частотой локализации, структур и числа копий *генов* (или их частей) в *геноме* в течение жизни особей, что может быть обусловлено активностью *мобильных генетических элементов*.

Генетический код – система записи генетической информации в виде последовательности *нуклеотидов*, в которой каждые три нуклеотида, составляющие *кодон*, кодируют одну *аминокислоту*. Состоит из 64 кодонов, кодирующих все 20 аминокислот и три *терминирующих кодона*.

Генетический полиморфизм – наличие двух или более аллельных форм отдельных генов.

Генетический фон (генетическое окружение, генетическая среда) – все гены клетки или организма, учитываемые, но не являющиеся основным объектом проводимого анализа (в случае ГИО не являющиеся объектами трансгеноза).

Генетическое разнообразие – вариация генов или аллельного разнообразия генов внутри *популяции* и *вида*. Генетическое разнообразие является фундаментом видového разнообразия и стабильности *экосистем*, так как позволяет популяциям и виду в целом адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и выживать как в имеющихся на данный момент, так и в новых условиях существования.

Ген-мишень – 1) клонированный ген; 2) ген, подвергаемый специфическому воздействию; 3) ген, интересующий исследователя.

Генно-инженерная деятельность (ГИД) – деятельность, связанная с созданием, испытанием, использованием в хозяйственной деятельности, ввозом и вывозом ГИО.

Генно-инженерные (трансенные, генетически модифицированные) продукты – пищевые продукты, состоящие из ГИО, содержащие ГИО или полученные из ГИО; обработанные материалы, происходящие от ГИО и содержащие поддающиеся обнаружению, способные к воспроизводству молекулы ДНК, включающие *трансгены*.

Генно-инженерный (трансенный) организм (ГИО) – живой организм, содержащий новую комбинацию генетического материала, полученную с помощью *генетической инженерии*. ГИО является объектом изучения *биобезопасности*. В изданиях и документах ряда международных и национальных экологических организаций фигурируют также другие термины: генетически-модифицированные организмы (ГМО); живые измененные организмы (ЖИО), полученные с помощью современной биотехнологии; организмы с новыми признаками. Они представляются недостаточно самопоясняющимися, то есть значение этих терминов трудно понять без дополнительных определений и разъяснений. Явно неудачно и определение ГМО, получившее наиболее широкое распространение: «ГМО – это организмы, чей геном изменен таким образом, который маловероятно происходит в природе путем гибридизации и рекомбинации» (Директива ЕУ 2001/18/ЕС). С одной стороны, мы еще мало знаем, что может быть и чего не может быть в природе. Пример тому – агробактериальная трансформация, о механизме которой ничего не было известно всего несколько десятков лет назад. С другой стороны, при оценке безопасности ГИО имеют дело не с теми организмами, чей геном был непосредственно модифицирован, а с их потомством.

Генов картирование – определение положения данного гена на хромосоме относительно других генов.

Геном – совокупность генетического материала организма.

Геном ядерный – ДНК хромосом, находящихся в ядре и содержащих генетическую информацию.

Генотип – совокупность генов организма. В более широком смысле генотип – совокупность (система) всех наследственных задатков организма, его наследственная основа, включающая в себя ядерные и неядерные (цитоплазматические и пластидные) гены, находящиеся в сложном взаимодействии друг с другом.

Генофонд – разнообразие генов и аллелей, имеющих в популяции, которая размножается половым путем.

Ген-убийца (ген-самоубийца, «суицидальный ген») – ген, вызывающий при определенных условиях гибель собственной клетки.

Гены адаптивные – гены, способствующие успешному выживанию вида (популяции, организма) в определенных условиях окружающей среды.

Гены гемизиготные – гены, встречающиеся у особи не в форме пары аллелей, а в единственном числе (например, у гаплоидных организмов или в каждой из половых хромосом гетерогаметного пола).

Гены главные (основные) – гены с четко выраженным фенотипическим эффектом, т.е. кодирующие качественные признаки. Проявление главных генов не зависит от действия генов-модификаторов (усиливающих или ослабляющих действие неаллельного гена, но самостоятельно не влияющих на развитие данного признака).

Гены доместикационные (связанные с доместикацией) – гены, с действием которых связаны признаки, проявившиеся в процессе одомашнивания и селекции, направленной на улучшение полезных для человека качеств растений и животных и одновременно «уводившей» их от дикого (природного) фенотипа.

Гены летальные – гены, наличие которых, особенно в гомозиготном состоянии, приводит организм к гибели.

Гены обязательные (гены «домашнего хозяйства») – гены, кодирующие жизненно важные функции; экспрессируются в клетках всех типов.

Гетерозигота – особь с различными аллелями в каком-либо определенном генном локусе.

Гетерозис (гетерозисный эффект) – превосходство по какому-либо признаку или ряду признаков первого поколения гибридов (F₁) над их исходными родительскими формами. В природных популяциях гетерозисный эффект может проявляться в лучшей приспособляемости организмов к условиям окружающей среды, большей плодовитости и жизнеспособности гибридов.

Гетерохроматин – генетически неактивные участки хромосом, постоянно находящиеся в конденсированном состоянии.

Гибрид – особь, полученная в результате скрещивания между генетически различающимися родительскими типами. В широком смысле слова гибридом является любой гетерозиготный организм.

Гибридизация – скрещивание организмов, различающихся по своему генному или аллельному составу, а следовательно, и по каким-либо признакам и свойствам.

Гибридизация внутривидовая – см. *Скрещивание внутривидовое*.

Гибридизация ДНК – спаривание (отжиг) двух полинуклеотидных цепей, часто из разных источников, с образованием ДНК/РНК- или ДНК/ДНК-гибридов благодаря возникновению водородных связей между комплементарными нуклеотидами. Используется для выявления специфических нуклеотидных последовательностей в препарате ДНК.

Гибридизация отдаленная – см. *Скрещивание гетероспецифическое*.

ГИО – см. *Генно-инженерный организм*.

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) – повышенная чувствительность организма к аллергенам, обусловленная Т-лимфоцитами-эффекторами и лимфокинами. Индуцируется антигенами (инфекционными агентами и простыми химическими веществами), для которых характерна выраженная способность к адсорбции на мембранах клеток «шоковых» органов. В процессе иммунного ответа на такие антигены образуются Т-лимфоциты-эффекторы, которые с помощью производимых ими молекулярных медиаторов

(лимфокинов) вызывают повреждение клеток, содержащих на своей поверхности адсорбированные антигены. ГЗТ – воспалительный процесс пролиферативно-моноклеарного или пролиферативно-экссудативного типа.

Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) – повышенная чувствительность организма к *аллергенам*, обусловленная *антителами* и *медиаторами*. Характеризуется быстрым развитием после поступления в организм аллергена. *Иммунный ответ* на аллергены приводит к образованию антител классов IgE или IgG и связанному с этим переходу от нормальной реактивности организма к повышенной (*сенситизация*). При медиаторном типе ГНТ (I тип реакции) в фазе сенситизации образуются антитела IgE, адсорбирующиеся на тучных клетках и базофилах. Повторное проникновение аллергена в организм приводит к образованию иммунного комплекса аллерген-IgE на поверхности тучных клеток и быстрому выделению в кровь патологических количеств медиаторов, что и вызывает в конечном итоге симптомы аллергической реакции.

ГМИ – генетически модифицированные источники; см. *Генно-инженерные продукты*.

ГМО – см. *Генно-инженерный организм*.

Гомозиготность – наличие идентичных аллелей в одном или нескольких локусах. Клетка или организм с такими аллелями называется гомозиготой.

Гомозиготный организм – организм, у которого оба аллеля данного локуса идентичны. Если оба аллеля доминантны, то такой организм называют гомозиготным по доминантному гену, если рецессивны – гомозиготным по рецессивному гену.

Горизонтальная передача генов (трансгенов) – передача генетического материала от одного организма к другому путем, отличным от полового скрещивания/размножения.

Группа совместимости плазмид – *плазмиды*, которые не могут существовать в одной и той же бактериальной клетке.

Гуанин (Г), (G) – пуриновое основание, комплементарное цитозину. Одно из четырех азотистых оснований, входящих в состав ДНК и РНК.

Двуродительское наследование – проявление в потомстве генетических маркеров обоих родителей.

Дедифференциация – переход специализированных, неделящихся клеток к пролиферации и неорганизованному росту.

Дезоксирибоза – пятиуглеродный моносахарид, входящий в состав ДНК.

Дезоксирибонуклеаза I (ДНКаза I) – фермент, расщепляющий двухцепочечную ДНК. Используется для очистки препаратов РНК и бесклеточных экстрактов.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – носитель наследственной информации у живых организмов. Высокомолекулярный полимер, состоящий из четырех *нуклеотидов* (аденин, гуанин, цитозин и тимин), чередованием которых кодируется генетическая информация.

Делеции – удаление последовательности ДНК; области, фланкирующие удаленные участки, соединяются.

Денатурация – 1) расхождение цепей двухцепочечной молекулы ДНК или РНК; 2) нарушение нативной конформации биологических макромолекул (например, белковых) в результате разрушения нековалентных (водородных) связей.

Дикий тип – наиболее часто встречающийся в природной популяции *фенотип* с признаками, детерминируемыми «нормальными» (немутантными) аллелями.

Диплоид – организм, клетки которого содержат два *гомологичных набора хромосом*.

Диплоидный набор хромосом – набор хромосом, который содержит по две копии каждой *аутосомы* и две половые *хромосомы*.

Дифференциация – комплекс процессов, приводящих к различиям между дочерними клетками, а также между материнскими и дочерними клетками.

Дифференцировка – 1) необратимое развитие изначально однородных эмбриональных или неспециализированных клеток (например, меристемных клеток растений) в специализированные, образующие ткани и органы; 2) состояние специализации клеток, отличающее их от других клеток.

ДНК комплементарная (кДНК) – молекула ДНК, синтезированная на РНК-матрице с участием РНК-зависимой *ДНК-полимеразы* (обратной транскриптазы).

ДНК фрагментация – разрыв молекул ДНК под действием гидродинамических сил (например, при пропускании раствора ДНК через иглу шприца).

ДНК экзогенная (чужеродная) – ДНК, выделенная из организма-донора и встроенная в *вектор* или хромосомную ДНК организма-хозяина.

ДНК-зонд (ДНК-проба) – фрагмент ДНК, меченый тем или иным образом и использующийся для гибридизации со специфическим участком в молекуле ДНК. Позволяет идентифицировать комплементарные ему нуклеотидные последовательности.

ДНК-лигаза – фермент, катализирующий образование фосфодиэфирной связи между 3'-гидроксильной группой и 5'-фосфатом соседних нуклеотидов в месте одноцепочечного разрыва молекулы ДНК.

ДНК-полимераза – фермент, катализирующий синтез полинуклеотидной цепи из отдельных нуклеотидов с использованием другой цепи в качестве матрицы и ДНК-заправки со свободной 3'-ОН-группой.

Домен – в молекуле *белка* участок полипептидной цепи, выполняющий определенную функцию.

Доместикационный прессинг – потеря организмами в результате *доместикации* признаков, ценных в условиях диких местообитаний, и приобретение новых, которые полезны для человека, но снижают жизненный потенциал *вида* в отсутствие человеческого протекционизма.

Доместикация – все виды приручения, одомашнивания, сопровождающиеся появлением и развитием у животных и растений новых признаков (доместикационных признаков), как правило, полезных для человека.

Доминирование неполное – см. *Аллели кодоминантные*.

Доминирование, доминантность – участие только одного *аллеля* в определении признака (фенотипа по этому признаку) у *гетерозиготной* особи.

ЖИО – см. *Генно-инженерный организм*.

Заправка – короткая нуклеотидная последовательность (часто РНК), комплементарно взаимодействующая с одной из цепей ДНК. Образует свободный 3'-ОН-конец, используя который ДНК-полимераза начинает синтез дезоксирибонуклеиновой цепи.

Зигота – клетка, образующаяся при слиянии мужской и женской половых клеток и дающая начало развитию зародыша (эмбриона); оплодотворенная яйцеклетка. Образуется в результате слияния двух *гамет*.

Зона рекреации – природная зона, благотворным образом сказывающаяся на здоровье человека, предназначенная для восстановления здоровья или отдыха (как правило, живописные лесные зоны, парки, пляжи и т.п.).

Зонд (проба) – 1) соединение, меченное тем или иным способом и использующееся для выявления родственных биохимических молекул в сложном образце; 2) олигонуклеотид, использующийся для выявления комплементарных последовательностей с помощью гибридизации (ДНК-зонд).

Иммунный ответ – сложная, многокомпонентная, кооперативная реакция иммунной системы организма, индуцированная *антигенами* и направленная на их удаление. В иммунном ответе принимают участие центральные (костный мозг, тимус, селезенка) и периферические (лимфоузлы) органы системы иммунитета, иммунокомпетентные клетки (макрофаги, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, лейкоциты, тучные клетки и др.) и многочисленные молекулярные факторы (*антитела, медиаторы, цитокины, система комплемента* и пр.), продуцируемые клетками иммунной системы. Иммунный ответ протекает в несколько этапов: распознавание антигена; переработка и концентрация информации, содержащейся в антигене; передача информации клеткам иммунной системы, имеющим комплементарные антигену рецепторы; пролиферация и дифференцировка этих клеток с образованием клеток эффекторов (сенситивизированных лимфоцитов) и (или) молекул (антител, цитокинов), элиминирующих антигены.

Иммунологический анализ – метод, основанный на способности *антитела* узнавать специфический компонент в биологическом образце.

Иммунотерапия – использование *антител* или чужеродных белков, содержащих сайт связывания антител, для лечения больного или облегчения его состояния.

Инвазивность (растений) – способность *сорных видов* быстро распространяться в окружающей среде, осваивать новые места обитания, включая окультуренные участки и природные *экосистемы*.

Ингибирование конечным продуктом – способность конечного продукта метаболического пути ингибировать активность фермента, катализирующего одну из ранних реакций этого процесса.

Инициация – начало синтеза биополимера.

Инсектицид – вещество или живой организм, убивающий насекомых.

Интеграция (ДНК) – внедрение вирусной или иной последовательности ДНК в геном клетки-хозяина, приводящее к ковалентному соединению с последовательностью ДНК хозяина.

Интерлейкины – группа *цитокинов*, опосредующих активацию и взаимодействие иммунокомпетентных клеток в процессе *иммунного ответа*, а также регулирующих процессы миелопоэза и эритропоэза.

Интрогрессия гена – стабильное включение *гена* в новый генетический пул (разнообразие генов, характерное для данной популяции), обеспечивающее его длительное существование в этом пуле. По степени вероятности интрогрессии генов к диким родственным видам сельскохозяйственные культуры принято разделять на четыре категории – культуры высокого риска, среднего риска, низкого риска и очень низкого (или отсутствия) риска интрогрессии.

Интрон – транскрибируемый участок *гена*, не содержащий *кодонав*, который удаляется из состава транскрипта при *сплайсинге*. В результате последовательности, находящиеся по обе стороны от *интрона (экзоны)*, объединяются и формируются функциональная мРНК.

Каллюс – ткань, возникшая *in vivo* (обычно при поранении) или *in vitro* путем неорганизованной *пролиферации клеток* растений или *эксплантатов*.

Каллюсная культура – выращивание в длительной пересаживаемой культуре *in vitro каллюсов*, возникших в результате *дедифференциации* и *пролиферации клеток эксплантата*.

Канцерогенность – способность определенных факторов вызывать развитие опухолей. Канцерогенные факторы могут быть физической, химической, биологической природы.

Капсид (капсидная оболочка) – внешняя белковая оболочка вирусной частицы.

Клеточная селекция *in vitro* – отбор мутантных клеток и *соматоклональных вариаций* в культуре клеток растений с помощью селективных сред или условий выращивания.

Клон – популяция молекул, клеток или организмов, идентичных одной родоначальной молекуле, клетке или организму. Клоны организменного уровня получают путем *вегетативного размножения* у растений или дробления оплодотворенной яйцеклетки (*зиготы*) животных (или путем замены ядра яйцеклетки ядром соматической клетки).

Клонирование – искусственное создание генетически идентичных исходным клеткам, тканям, организмам.

Кодон – три соседних *нуклеотида* (триплет нуклеотидов), кодирующих определенную *аминокислоту* или терминирующий сигнал. Всего существует 64 сочетания нуклеотидов в кодонах; 61 из них кодирует 20 аминокислот, 3 являются нонсенс-кодонами.

Кодон иницирующий (сигнал инициации трансляции) – *кодон АУГ* в составе мРНК, кодирующий метионин (N-формилметионин у прокариот), с которого начинается (иницируется) синтез полипептидных цепей.

- Кодон терминирующий** – *кодон*, определяющий окончание (терминацию) синтеза полинуклеотидной цепи. Обычно это кодоны УАА, УАГ, УГА.
- Компетенция** – способность бактериальных клеток воспринимать трансформирующую ДНК (обычно *плазмиду*).
- Комплементарная цепь** – одна из цепей ДНК, используемая в качестве матрицы для синтеза РНК и комплементарная ей.
- Комплементарный гомополимерный «хвост»** – гомополимер из дезоксирибонуклеозидмонофосфатов, присоединяемый к 3'-ОН-концам обеих цепей фрагмента ДНК с тупыми концами. Создание комплементарных «хвостов» (например, поли-А во встраиваемом фрагменте ДНК и поли-Т в *векторе*) позволяет клонировать фрагмент в составе *рекомбинантной плазмиды*.
- Конкурентное доминирование** – преимущество организма (*популяции, вида*) в какой-либо сфере жизнедеятельности и данных условиях окружающей среды, которое ведет к расширению территории его обитания, дает преимущества в питании и размножении.
- Конкуренция** – взаимоотношения между организмами одного *вида* (внутривидовая конкуренция) или разных видов (межвидовая конкуренция), в ходе которых они соревнуются за одни и те же средства существования и условия размножения. Одна из сторон борьбы за существование. Наиболее острой является конкуренция между близкими видами. При изменении условий окружающей среды она может привести к вытеснению одного вида другим.
- Конъюгация** – форма полового процесса у бактерий; один из способов генетической *трансформации*, при котором в результате физического контакта (через *секс-пилы*) происходит односторонняя передача генетического материала (ДНК) от одной бактерии (донора) другой (реципиенту), причем и донор, и реципиент относятся к одному, редко к разным видам. Процесс конъюгации контролируется половой *плазмидой* (F+ фактор), находящейся в автономном или интегрированном с хромосомой бактерии состоянии. Реципиенты не имеют половой плазмиды (F-). При конъюгации бактерий происходит передача части хромосомы донора реципиенту с образованием неполной *зиготы*. В результате сегрегации, *рекомбинации* и восстановления соответствующих участков ДНК неполной зиготы образуется одна комбинированная хромосома.
- Корончатый галл** – опухоль растений, образование которой вызывают бактерии рода *Agrobacterium*.
- Космида** – *вектор*, объединяющий свойства *плазмидного вектора* и вектора, созданного на основе фага λ .
- Кроссинговер** – взаимный обмен участками *гомологических хромосом*, происходящий в процессе *мейоза*. Основан на разрыве-соединении хроматид и приводит к новой комбинации аллелей. Является основой генетической *рекомбинации*.
- Кроссинговер двойной** – кроссинговер, происходящий одновременно в двух точках пары *гомологических хромосом*.
- Ксенобиотик** – чужеродное вещество по отношению к конкретному виду организмов.
- Культура** – популяция клеток, микроорганизмов или растительных организмов, выращиваемых в контролируемых асептических условиях *in vitro*.
- Культуральная среда** – твердая или жидкая искусственная питательная среда, используемая для выращивания клеток, микроорганизмов или растений *in vitro*.
- Лектины** – белки и гликопротеины, способные к специфическому связыванию с углеводными компонентами макромолекул и клеточных структур. Лектины выделяются из семян растений, однако они обнаружены и у большинства животных организмов. Лектины обладают избирательной митогенной активностью в отношении различных субпопуляций лимфоцитов.
- Летальный эффект (среднесмертельная доза, LD₅₀)** – минимальная однократно вводимая доза токсина, вызывающая смертность у 50% особей экспериментальной лабораторной популяции животных.
- Лигирование** – соединение двух молекул ДНК, разделенных разрывом, с помощью *фосфодиэфирных связей*. *In vitro* катализируется ферментом ДНК-лигазой фага T4.
- Лидерная последовательность** – нетранслируемая последовательность мРНК, расположенная между 5'-концом и *инициирующим кодоном* АУГ (AUG).
- Лизис** – разрушение клеточных стенок под действием ферментов, содержащихся в лизосомах, или других агентов.
- Лимфоциты** – мононуклеарные клетки крови, лимфатических узлов и тканей, которые вместе с макрофагами обуславливают *иммунный ответ*. Дифференцируются на популяции В-, Т-, 0-, НК(ЕК)-клеток в зависимости от роли в иммунном ответе и набора поверхностных рецепторов. В-лимфоциты возникают из *стволовых клеток* костного мозга, размножаются в центрах репродукции и медуллярных тяжах лимфатических узлов, а также в красной пульпе селезенки. Циркулируют в крови и составляют 25–30% всего пула лимфоцитов. Под влиянием антигенного раздражения (опосредованного кооперативным действием других клеток системы иммунитета и медиаторов) В-лимфоциты соответствующего клона размножаются и дифференцируются в плазматические клетки, синтезирующие *антитела* против *антигена*, вызвавшего иммунный ответ, и в клетки памяти. Т-лимфоциты также берут начало из *стволовых клеток* и дифференцируются в тимусе в субпопуляции Th (хелперов), Ts (супрессоров), Tк (киллеров). Т-лимфоциты размножаются в паракортикальной зоне лимфатических узлов и белой пульпе селезенки. На них приходится около 55–60% всего пула лимфоцитов периферической крови. Т-лимфоциты в результате восприятия антигенной информации, действия *интерлейкинов* превращаются в сенсibiliзированные Т-лимфоциты, которые в зависимости от их типа обуславливают различные формы иммунного ответа.
- Линкер** – синтетический короткий двухцепочечный олигонуклеотид, содержащий сайты узнавания для одной или нескольких рестрикционных *эндонуклеаз*. Используется для соединения векторной и клонируемой ДНК, к концам которой по методу сшивания тупых концов присоединяются линкеры.

Липкие концы – взаимно комплементарные одноцепочечные участки ДНК, выступающие по концам двухцепочечной молекулы; образуются в результате ступенчатых разрезов в двухцепочечных молекулах ДНК.

Локус – место расположения отдельного гена на хромосоме. Локус может быть представлен любым аллелем данного гена.

Макромолекула – полимер с молекулярной массой от нескольких тысяч до сотен миллионов дальтон (белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды и т.д.).

Макрофаги – главный тип клеток системы мононуклеарных фагоцитов. Основная функция макрофагов – фагоцитоз, особенно фагоцитоз внутриклеточно размножающихся микроорганизмов. Кроме того, они в кооперации с Т- и В-лимфоцитами участвуют в процессах индукции, реализации и регуляции иммунного ответа.

Матричная цепь – цепь ДНК или другой полинуклеотид, использующийся ДНК-полимеразой в качестве матрицы для синтеза комплементарной цепи.

Медиаторы (аллергических реакций организма) – биологически активные молекулы, ответственные за реакции гиперчувствительности немедленного типа. Предсуществующие медиаторы – молекулы, которые уже накоплены в гранулах тучных клеток и базофилов и начинают секретироваться сразу после контакта с аллергеном (вазо-активные амины, хемотаксические факторы для гранулоцитов, энзимы, протеогликаны, хондроэтилсульфат). Вторичные медиаторы синтезируются *de novo* и представлены производными липидов (лейкотриены, фактор, активирующий тромбоциты).

Мезенхима – 4-й зародышевый листок, образующийся из мезодермы, дающий начало дерме, костям, хрящам и всей соединительной ткани организма.

Мезодерма – средний из 3 зародышевых листков эмбриона. Из мезодермы происходят: сердечно-сосудистая система, кровь, костный мозг, скелет, мышечные ткани, часть репродуктивной и выделительной систем.

Мейоз – два последовательных деления клеток (I и II мейотические деления), в результате которых исходное число хромосом $2n$ уменьшается до $1n$ в каждой из четырех образовавшихся клеток. Эти клетки созревают и превращаются в гаметы (сперматозоиды у животных или пыльцу у растений и яйцеклетки).

Менеджмент развития резистентности (управление фактором риска «развитие резистентности») – процесс приведения развития резистентности к источнику токсичности в популяциях вредителя в определенно-допустимое русло, т.е. его максимальное замедление и уменьшение вредоносного эффекта. Менеджмент развития резистентности не ставит своей задачей абсолютное предотвращение развития у патогенов резистентности к пестицидам или продуктам трансгена с пестицидными свойствами, так как полностью исключить постепенную адаптацию к источнику токсичности практически невозможно. В настоящее время предлагается пять основных стратегий, на которых в той или иной степени основывают менеджмент развития резистентности.

Меристема – ткань растений, обладающая способностью к активному делению. У молодых растений обычно находится у кончиков корней и побегов.

Метаболизм (обмен веществ) – совокупность химических реакций в организме, обеспечивающих его веществами и энергией для жизнедеятельности. Благодаря метаболизму происходит непрерывное самообновление организма. Своеобразие метаболизма каждого организма определяется набором ферментов, возможность синтеза которых закодирована в его геноме и контролируется регуляторными механизмами. Определенная последовательность химических превращений вещества в организме называется метаболическим путем, а образующиеся при этом продукты – метаболитами.

Метка – радиоактивный изотоп или идентифицируемый биохимическими либо иммунологическими методами лиганд, связывающийся с макромолекулой. Позволяет выявлять меченое вещество в образце.

Миграция (поток) гена – перемещение аллелей из одной популяции в другую в результате скрещивания между членами этих двух популяций. В случае миграции трансгена происходит его перемещение в новую популяцию в результате рассеивания генетического материала ГИО в виде пыльцы (или сперматозоидов животных) и/или семян и последующей интрогрессии трансгена в ходе гибридизации ГИО с организмом нетрансгенной популяции.

Микотоксины – токсические метаболиты микроскопических мицелиарных грибов (плесеней). Известно около 250 видов грибов, продуцирующих микотоксины, характеризующиеся высокой токсичностью для животных и человека. Микотоксины загрязняют пищевые продукты и корма. Особое значение в токсикозах людей и животных имеют афлатоксины и охратоксины, продуцируемые аспергилловыми грибами. Они вызывают микотоксикозы, которые не имеют строго очерченной клинической картины.

Микроинъекция – введение в изолированную эукариотическую клетку ДНК или других молекул с помощью тонкой иглы.

Митоз – непрямоe деление ядра, состоящее из четырех фаз, результатом которого является образование двух дочерних клеток с идентичным ядерным содержанием и почти одинаковым количеством цитоплазмы.

Митохондрия – полуавтономная самореплицирующаяся органелла, которая присутствует в цитоплазме всех клеток у большинства эукариот и выполняет функции окислительного фосфорилирования (участвует в процессе дыхания митохондрии клетки). Митохондрии содержат ДНК, несущие активные гены; особые, характерные именно для них рибосомы; информационную и транспортную РНК.

Мицелий – вегетативное тело гриба, состоящее из тонких ветвящихся нитей (гифов).

Мишень – в самом широком смысле – биологический объект (организм (микроорганизм), ткань, клетка, молекула), которая интересует исследователя.

Мобильный генетический элемент – участок ДНК, способный изменить свое положение в геноме. Среди таких элементов различают IS-элементы и транспозоны.

- Модификация ДНК или РНК** – изменения *нуклеотидов* после их включения в *полинуклеотидную* цепь.
- Мониторинг** – система наблюдения и контроля над состоянием окружающей среды, длительное слежение за определенным процессом, явлением путем непрерывной регистрации. Предпринимается для предупреждения возможных критических неблагоприятных для здоровья человека и окружающей среды ситуаций.
- Моногенный признак** – признак, определяемый одним геном.
- Мультипотентность** – способность *стволовой* клетки *дифференцироваться* в определенные типы клеток различных органов.
- Мутагенез** – искусственное введение *мутаций* в геном с помощью физических или химических агентов.
- Мутагены** – физические или химические факторы, повреждающие ДНК и ведущие к возникновению *мутаций*.
- Мутация** – спонтанное или индуцированное изменение структуры *гена*.
- Мутация индуцированная** – мутация, возникающая под действием мутагенного фактора.
- Мутация со сдвигом рамки** – мутация, связанная с появлением лишнего или потерей одного или нескольких (в числе, не кратном трем) *нуклеотидов*. Приводит к нарушению триплетного кода и синтезу совершенно другого белка (в случае, когда синтез не блокируется вообще).
- Мутация точковая** – изменение одной пары оснований ДНК.
- Независимое распределение генов** – распределение генов, локализованных на разных хромосомах, по разным *гаметам* с образованием всех возможных комбинаций генов. Лежит в основе закона Менделя о независимом распределении признаков.
- Неомицинофосфотрансфераза** – фермент, инактивирующий *антибиотики* неомицин и канамицин. Часто используется как *селективный маркер* для трансгенных растений.
- Несовместимость** – 1) у бактерий – невозможность существования в одной клетке определенных бактериальных *плазмид*; 2) у растений – невозможность прорастания пыльцы одного растения в пестике другого и достижения пыльцой яйцеклетки.
- Нецелевое действие трансгенного признака (трансгена)** – действие трансгенного признака, не предусмотренное при планировании генетической модификации. Как правило, речь идет о нецелевом воздействии трансгенных растений с пестицидными свойствами на организмы, не являющиеся *мишенями* действия эндогенного *пестицида*.
- Нозерн-блоттинг** – процедура переноса молекул РНК, подвергнутых *электрофорезу*, с геля на твердую подложку (нитроцеллюлозный или нейлоновый фильтр) с последующей ДНК-РНК-гибридизацией.
- Норма реакции** – максимально и минимально возможные проявления признака, связанные с действием *гена*.
- Нуклеаза S1** – фермент, специфически деградирующий одноцепочечную ДНК.
- Нуклеазы** – ферменты, разрывающие фосфоэфирные связи в *полинуклеотидных* цепях (в нуклеиновых кислотах). Нуклеазы, разрывающие предпочтительно внутренние связи, носят название *эндонуклеазы*, а те, что отщепляют концевые нуклеотиды, – *экзонуклеазы*.
- Нуклеозид** – пуриновое или пиримидиновое азотистое основание, ковалентно связанное с пятиуглеродным сахаром (пентозой). Если сахаром является рибоза, то мы имеем дело с рибонуклеозидом, а если дезоксирибоза, то с дезоксирибонуклеозидом.
- Нуклеотид** – *нуклеозид*, к которому присоединена одна или более фосфатных групп; присоединение происходит по 5'-углеродному атому сахарного кольца. Нуклеозиды, связанные с рибозой, называют рибонуклеозидами или рибонуклеозидтрифосфатами. Для нуклеозидов, связанных с дезоксирибозой, соответствующие названия таковы: дезоксирибонуклеозидомоно-, ди- и трифосфаты.
- Обратная транскриптаза** – фермент РНК-зависимая ДНК-полимераза, использующая молекулу РНК в качестве матрицы для синтеза комплементарной цепи ДНК.
- Одноцепочечный разрыв** – разрыв фосфоэфирной связи между соседними *нуклеотидами* в одной цепи ДНК.
- Окружающая среда** – совокупность компонентов природной среды, природных и природно-антропогенных объектов, а также антропогенных объектов.
- Олигонуклеотид (олигомер)** – короткий (6–10 нуклеотидов) сегмент одноцепочечной ДНК, получаемый обычно химическим путем.
- Онкоген** – *ген*, *экспрессия* которого приводит к неконтролируемой пролиферации (трансформации) клеток (раку).
- Оперон** – участок ДНК, содержащий несколько структурных генов, транскрибируемых с образованием одной мРНК.
- Опин** – продукт конденсации *аминокислоты* с кетокислотой и сахаром. Синтезируется растениями, зараженными *Agrobacterium tumefaciens*.
- Оплодотворение *in vitro*** – см. *Экстракорпоральное оплодотворение*.
- Организмы-мишени** – организмы, на которые непосредственно не нацелено воздействие трансгенного организма, связанное с генно-инженерной модификацией, но которые могут подвергнуться негативному действию проявления трансгенного признака прямым или косвенным образом.
- Органическое земледелие** – система земледелия, основанная на щадящей технологии обработки почвы, отказе от химических удобрений и средств защиты растений, отказе от сортов, имеющих генно-инженерное происхождение. Системой органического земледелия разрешается использование препаратов защиты растений бактериального происхождения, в частности содержащих Bt-токсина.
- Отжиг** – процесс образования двухцепочечных молекул (ДНК-ДНК или ДНК-РНК) из одиночных полинуклеотидных комплементарных цепей.
- Открытая рамка считывания** – последовательность нуклеотидов, не содержащая *терминирующих кодонов*. Кодирует полипептид или белок.

Пара оснований – (A-T или C-G) – партнеры в двойной цепи ДНК. Другие типы пар встречаются в определенных условиях в РНК. Количественно пар оснований (нуклеотидов) обычно измеряют длину нуклеотидной цепи (пары нуклеотидов – п.н., тысячи пар нуклеотидов – т.п.н.).

Паразитизм (паразитарные отношения) – форма взаимодействия между организмами, относимая к разным *видам*, из которых один (паразит) использует другого (хозяина) в качестве среды обитания и источника пищи, возлагая при этом (полностью или частично) на хозяина регуляцию своих взаимоотношений с внешней средой.

Партеногенез – развитие *эмбриона* без оплодотворения яйцеклетки. Технология, применяемая при терапевтическом *клонировании*.

Патоген – термин, используемый для обозначения инфекционного агента (патогенных бактерий, вирусов, грибов, простейших, гельминтов), которые обладают способностью вызывать инфекционный процесс у животных (в том числе у человека), растений, микроорганизмов. Синонимом термина «патоген» является термин «возбудитель».

Патогенность – видовой полидетерминантный признак возбудителя заболевания, обозначающий его потенциальную способность вызывать инфекционный (инвазионный) процесс у хозяина, т.е. проникать в организм хозяина, размножаться в нем и оказывать на него повреждающее действие. Для обозначения степени патогенности принят термин *вирулентность*. Материальные носители патогенности называются факторами патогенности. У бактерий к ним относят, например, адгезины, инвазины, агрессивины, экзотоксины, эндотоксины, ферменты-токсины, аллергены.

Пептид (полипептидная цепь) – короткая цепочка *аминокислот*, соединенная пептидными связями.

Пептидная связь – ковалентная связь между свободной карбоксильной группой при α-углеродном атоме одной аминокислоты и аминогруппой при таком же атоме соседней аминокислоты в *полипептидной цепи*.

Первичный транскрипт – молекула РНК, транскрибируемая с эукариотического структурного гена и не подвергшаяся *процессингу* (т.е. содержащая все *экзоны* и *интроны*).

Перенос ядра соматической клетки – основная технология терапевтического *клонирования*, заключающаяся в переносе *ядра соматической клетки* в яйцеклетку, у которой удалено ядро. В результате яйцеклетка оплодотворяется или развивается партеногенетически в *эмбрион*, из которого получают *эмбриональные стволовые клетки* с геномом исходной соматической клетки.

Пестициды – химические вещества, используемые для борьбы с *вредителями*. Включают в себя средства борьбы с вредителями трех основных типов: гербициды – используются для борьбы с сорными растениями; инсектициды – используются для уничтожения насекомых; фунгициды – предназначены для борьбы с болезнями, вызываемыми грибами.

Пили (фимбрии, ворсинки) – небольшие белковые трубочки, по внешнему виду напоминающие жгутики. В отличие от жгутиков пили толще, короче, имеют канал. Существует два класса пилей – половые (секс) пили и общие, которые называют фимбрии. Пили встречаются у грамотрицательных бактерий.

Пиримидины (пиримидиновые основания) – один из двух типов азотистых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. К пиримидинам относятся *тимин*, *цитозин* и *урацил*.

Пищевая цепь (пищевая пирамида, цепь питания) – перенос энергии через ряд организмов, где каждый последующий питается предыдущим, поставляющим ему сырье и энергию. Каждое звено пищевой цепи называют трофическим уровнем (уровнем питания). Организмы нижнего уровня обеспечивают питанием организмы более высокого трофического уровня, количество которых, как правило, зависит от численности организмов лежащего ниже уровня и всегда меньше, поэтому трофические уровни «складываются» в так называемую пирамиду питания или пищевую пирамиду. Фундаментом (первым уровнем) пищевой пирамиды являются автотрофные организмы (преобразующие в органическое вещество воду и неорганические вещества за счет энергии солнечного света (фотосинтезирующие) или химических реакций (хемосинтезирующие)). К автотрофным организмам относятся практически все растения, водоросли, включая прокариотические сине-зеленые, и одноклеточные водоросли фитопланктона, фотосинтезирующие и хемосинтезирующие бактерии. Остальные организмы называют гетеротрофными. Гетеротрофные организмы могут питаться как автотрофными, так и гетеротрофными более низкого порядка пищевой пирамиды.

Пищевые добавки – это чаще всего чужеродные для продуктов питания соединения естественного или искусственного происхождения, добавляемые в них с целью улучшения запаха, вкуса, формы и цвета, а также для придания пищевым продуктам новых свойств, отличных от существовавших ранее.

Пищевые отравления – острые, системные заболевания, возникающие в результате приема в пищу продуктов, массивно обсемененных токсичными микробами или содержащих ядовитые для человека вещества.

Плазмида – внехромосомный генетический элемент бактерий, способный к длительному автономному существованию в клетке. Обычно это двухцепочечная кольцевая ДНК длиной 1–200 т.п.н. и молекулярной массой 10^6 – 10^8 . Плазмиды локализованы в *цитоплазме* клетки (в свободном состоянии) или интегрированы в *хромосому* (эписомы). Свободные плазмиды способны к автономной от бактериальной хромосомы *репликации* (автономно реплицирующиеся структуры). Наиболее известны F-плазмида (половой фактор), R-плазмиды (факторы устойчивости к лекарственным препаратам), колициногенные плазмиды и ряд других.

Плазмида рекомбинантная – плазмида, измененная методами *генной инженерии*. Состоит из участков разных плазмид либо содержит сегменты ДНК других организмов.

Плазмиды мультикопийные – плазмиды, присутствующие в бактериальных клетках в количестве большем, чем одна на хромосому.

- Плазмиды однокопийные** – плазмиды, присутствующие в бактериальной клетке в виде единственной копии.
- Пластиды** – оргanelлы растительных клеток (например, хлоропласты). Многие пластиды имеют собственный геном.
- Плейотропия (плейотропное действие гена)** – способность гена оказывать влияние более чем на один признак (на признаки, которые непосредственно не связаны между собой).
- Плюрипотентность** – способность стволовой клетки дифференцироваться в несколько типов клеток различных органов.
- Подвид** – совокупность географически (реже экологически и геохронологически) обособленных популяций вида, в которых все или большинство особей отличаются одним или несколькими морфологическими признаками от особей других популяций того же вида. Таксономическая группа животных и растений рангом ниже, чем вид.
- Позитивный отбор** – отбор клеток по наличию в них маркерного гена, благоприятствующего росту на селективной среде (например, среде с антибиотиком).
- Полиаденилирование** – ферментативное присоединение остатков аденина к 3'-концу молекулы эукариотической мРНК. Этот богатый аденином 3'-конец называется поли-А хвост.
- Полигенный признак** – признак, контролируемый действием нескольких генов.
- Полилинкер** – искусственно синтезированный короткий участок ДНК, содержащий несколько уникальных сайтов узнавания для эндонуклеаз (рестриктаз).
- Полиморфизм** – одновременное существование в популяции нескольких аллельных вариантов какого-либо гена; обнаруживается либо по различию в фенотипах, соответствующих разным аллелям, либо по характеру рестрикции ДНК, несущей разные аллели.
- Полинуклеотид** – линейный полимер, состоящий из 20 и более нуклеотидов, соединенных друг с другом фосфодиэфирными связями. Полинуклеотидами являются, например, молекулы ДНК и РНК.
- Полипептид** – линейный полимер, состоящий из аминокислот, соединенных друг с другом пептидными связями. Полипептидом является, например, белковая молекула.
- Полиплоиды** – см. Виды полиплоидные.
- Популяции динамика** – изменение численности популяции в результате действия различных факторов. Может выражаться в популяционном росте (увеличении численности особей), деградации популяции (уменьшении численности особей популяции) или динамической стабильности числа особей.
- Популяции замещение** – процесс полной замены одной популяции другой в результате прессинга заменяющей популяции, которая имеет какие-либо конкурентные преимущества в данных условиях окружающей среды или приобрела их в изменившихся условиях существования. Скорость, с которой проходит процесс замещения, и степень замещения на данный момент времени выражает коэффициент замещения популяции (изменяющееся во времени соотношение особей исходной и сменяющей ее популяции).
- Популяция** – совокупность особей одного вида, более или менее длительно занимающая определенное пространство и воспроизводящая себя в течение большого числа поколений. Основной характеристикой популяции, определяющей ее центральное положение как основной единицы эволюционного процесса, является ее генетическое единство – следствие большой вероятности скрещивания особей внутри популяции, чем с особями других популяций из-за давления различных форм изоляции популяции от других популяций вида. Наряду с генетическим единством для особей популяции характерна и генетическая гетерогенность (в пределах единого генофонда популяции), которая определяет приспособленность популяции к различным условиям обитания и создает столь важный для эволюции резерв наследственной изменчивости.
- Популяция дикая (природная)** – популяция организмов, не претерпевшая изменений в связи с селекционной деятельностью человека.
- Посттрансляционные модификации** – изменение структуры белковых молекул после завершения их синтеза рибосомами. К таким модификациям относятся: фосфорилирование, гликозилирование, окисление цистеина, отщепление сигнальных последовательностей и т.д.
- Потенциальная принимающая среда** – экосистема или место обитания, включая человека и животных, которые могут вступить в контакт с ГИО после их высвобождения.
- Праймер** – короткий олигонуклеотид, который гибридизируется с ДНК-матрицей и служит заправкой при ее копировании.
- Прокариоты** – одно из двух надцарств органического мира. Прокариотам свойственны следующие основные отличительные признаки: 1) генетический аппарат типа нуклеоида, состоящий из двойной замкнутой цепи ДНК; хромосома одна, не парная, не отделена мембраной от цитоплазмы; гистоны и митотический аппарат отсутствуют; 2) мембранная система представлена только цито-плазматической мембраной с инвагинациями, выполняющими функцию генераторов энергии, фотосинтеза, фиксации азота; 3) у рибосом прокариот иная, чем у эукариот, молекулярная масса (коэффициент седиментации 70S), они распределены по цитоплазме и не имеют связи с мембраной; 4) отсутствуют оргanelлы клетки (митохондрии, эндоплазматическая сеть, лизосомы). К прокариотам относятся все бактерии, а также вирусы, сине-зеленые водоросли.
- Пролиферация клеток** – увеличение числа клеток какой-либо ткани вследствие их размножения.
- Промотор** – участок молекулы ДНК, с которым связывается РНК-полимераза, что сопровождается инициацией транскрипции соответствующих генов. Обычно находится перед 5'-концом регулируемого гена.
- Протеиназы (протеолитические ферменты)** – ферменты, расщепляющие пептидные связи в белковых молекулах.
- Протопласт** – бактериальная, дрожжевая или растительная клетка, стенка которой разрушена ферментативным или химическим путем; клетка, лишенная оболочки.

- Профаг** – ДНК *бактериофага*, интегрированная в геном бактериальной клетки-хозяина и *реплицирующаяся* вместе с ней.
- Процессинг** – совокупность процессов образования зрелых молекул РНК и белков в клетке. Включает ряд последовательных расщеплений молекулы-предшественника *эндонуклеазой* или *протеиназами*.
- Пурины (пуриновые основания)** – один из двух типов азотистых оснований, входящих в состав *нуклеиновых кислот*. К пуринам относятся *аденин* и *гуанин*.
- Радиоавтография** – обнаружение радиоактивно меченных молекул по их способности оставлять след на фотографической пленке.
- Рамка считывания** – один из трех возможных способов считывания *нуклеотидной последовательности* в виде триплетов. Открытая рамка считывания не содержит *терминирующих кодонов* и может *транслироваться* в белок.
- Раса** – группа организмов, обособившаяся в экологическом или иногда в географическом отношении внутри *вида* или *подвида*. Особи, составляющие расу, имеют сходные морфофизиологические и экологические особенности, связанные с районом их распространения.
- Регуляторный белок** – белок, включающий и включающий *транскрипцию*.
- Резистентность (устойчивость)** – способность организма противостоять экстремальным факторам среды, возбудителям болезней, вредителям.
- Резистентность патоген-зависимая** – резистентность живых организмов, обуславливаемая жизнедеятельностью *патогена*, например накоплением *капсидных белков вирусов* (продуктов деятельности вирусных генов), которое препятствует проникновению в организм-носитель новых вирусов.
- Рекомбинантная ДНК** – молекула ДНК, полученная объединением *in vitro* разнородных, вместе нигде в природе не существующих фрагментов ДНК.
- Рекомбинантный белок** – белок, кодируемый клонированной *рекомбинантной ДНК*.
- Рекомбинация частота** – число рекомбинантов (или рекомбинантных *хромосом*) по отношению к общему числу потомков (или *хромосом*).
- Рекомбинация естественная** – один из видов генетической изменчивости у живых организмов, заключающийся в обмене генетической информацией между особями одного, реже разных видов. Суть рекомбинации – получение новых комбинаций *генов* у потомков по сравнению с родительскими формами. Рекомбинация у *эукариот* в основном происходит в процессе образования половых клеток (в *мейозе*) путем обмена участками ДНК между *гомологичными хромосомами (кроссинговер)*.
- Ренатурация** – воссоединение цепей двухцепочечной ДНК, разошедшихся при *денатурации*.
- Репарация (ДНК)** – восстановление дефектов ДНК, возникших в результате *мутации, рекомбинации*. Репарация осуществляется системой репаративных ферментов.
- Репликационная вилка** – точка, в которой цепи родительской двухцепочечной ДНК расходятся для того, чтобы могла произойти *репликация*.
- Репликация** – процесс точного самовоспроизведения молекул *нуклеиновых кислот*.
- Репликон** – единица *генома*, способная к автономной *репликации* ДНК; содержит точку инициации репликации.
- Репрессия** – один из двух альтернативных (наряду с индукцией) механизмов регуляции генов. Состоит в подавлении *транскрипции* или *трансляции* путем связывания белка-*репрессора* с оператором или *промотором*.
- Репрессор** – белок, связывающийся с оператором или *промотором* данного гена и блокирующий связывание с этими элементами *РНК-полимеразы*.
- Репродуктивное клонирование** – клонирование с целью создания нового организма, генетически идентичного исходному.
- Рестриктазы (рестрикционные эндонуклеазы)** – класс бактериальных ферментов, расщепляющих предпочтительно внутренние *фосфодиэфирные связи* в двухцепочечных молекулах ДНК. Действие рестриктаз ограничено весьма специфическими нуклеотидными последовательностями, обладающими симметрией второго порядка относительно определенной оси (*сайты рестрикции*).
- Ретровирусы** – группа *РНК-вирусов*, содержащих *обратную транскриптазу*; синтезированная на РНК-матрице двухцепочечная ДНК может встраиваться в хромосому инфицированной этим вирусом клетки.
- Реципиент** – 1) в генетике – организм, который воспринимает генетическую информацию от другого организма (донора) в процессах *конъюгации, трансдукции, трансформации*. В *генетической инженерии* – организм, в который вследствие его трансформации переносят нужный генетический материал (*трансгены*); 2) в медицине – организм, который получает от другого организма (донора) органы, ткани, клетки, например кровь. В широком смысле слова реципиент – организм, воспринимающий какое-либо вещество.
- Рибоза** – пятиуглеродный моносахарид. Входит в состав РНК.
- Рибонуклеиновая кислота (РНК)** – нуклеиновая кислота, состоящая из рибонуклеотидов, у которых сахаром является рибоза, а одним из *пиримидинов* – *урацил* (вместо *тимина*).
- Рибосома** – клеточная органелла, рибонуклеотидная частица, при участии которой осуществляется синтез белка (*трансляция*). Состоит из двух субъединиц: большой и малой.
- Рибулозо-1,5-бифосфат-карбоксилаза** – наиболее распространенный фермент, присутствующий в тканях всех зеленых растений и ответственный за связывание диоксида углерода на начальном этапе фотосинтеза.
- Ризосфера** – слой почвы (2–3 мм), прилегающий к корням растений и характеризующийся повышенным содержанием микроорганизмов.
- Риск** (в биобезопасности ГИД) – вероятность осуществления нежелательного (нецелевого) воздействия ГИО на здоровье человека и окружающую среду вследствие функционирования или передачи *трансгенов* другим организмам.
- РНК матричная (мРНК)** – молекула РНК, в которой заключена информация об аминокислотной последовательности определенной белковой молекулы.

РНК рибосомальная (рРНК) – РНК, входящая в состав *рибосом*.

РНК транспортная (тРНК) – молекула РНК, выступающая в роли адаптера при специфическом переносе *аминокислот* к растущей *полипептидной цепи* в процессе *трансляции*.

РНК-полимераза – фермент, осуществляющий синтез РНК из рибонуклеозидтрифосфатов. Матрицей может служить ДНК или РНК. Соответствующие полимеразы называют ДНК- или РНК-зависимыми.

Сайт встраивания (клонирования) – специфический участок векторной молекулы, в который встраивают фрагмент чужеродной ДНК. Очень часто это уникальный *сайт рестрикции*.

Сайт рестрикции – нуклеотидная последовательность в молекуле ДНК, узнаваемая *рестриктазой*.

Самообновление стволовой клетки – способность *стволовой клетки* поддерживать себя в недифференцированном (незрелом, «стволовом») состоянии за счет микроокружения и влияния специфических ростовых факторов.

Самореплицирующийся элемент – внехромосомная молекула нуклеиновой кислоты, способная к независимой от хромосомной ДНК (автономной) *репликации*. Примером такого элемента является *плазида*.

Саузерн-блоттинг – процедура переноса денатурированной ДНК из агарозного геля на нитроцеллюлозный фильтр для последующей *гибридизации* с комплементарными *нуклеотидами*.

Севооборот – научно обоснованное чередование сельскохозяйственных культур на полях и во времени, способствующее восстановлению и повышению плодородия почвы и препятствующее накоплению *вредителей* сельскохозяйственной культуры на территории ее возделывания.

Секретия – выделение веществ из клетки во внешнюю среду.

Селективный фактор – какой-либо фактор окружающей среды, оказывающий влияние на выживание и отбор в *популяции* определенных *генотипов*.

Селекционный процесс – процесс создания *сортов* растений, пород животных и *штаммов* микроорганизмов с нужными человеку признаками. Основными этапами селекционного процесса являются: обоснование цели и задач селекции, создание и подбор исходного материала, разработка схемы селекции (с использованием разнообразных методов селекции), сортоиспытание.

Селекция – 1) наука о методах создания сортов растений, пород животных и *штаммов* микроорганизмов с нужными человеку признаками; 2) процесс отбора *генотипов* в *популяции*, в наибольшей степени отвечающих (положительный отбор, ведущий к увеличению числа таких генотипов) или не отвечающих (негативный отбор, ведущий к уменьшению числа таких генотипов) имеющимся условиям существования.

Сенсибилизация (организма) – процесс формирования специфической, индуцированной предшествующим попаданием (введением) *аллергена* повышенной чувствительности организма немедленного или замедленного типа.

Серотип – антигенная характеристика клетки (бактерий, клеток крови и т.д.), установленная на основе ее взаимодействия с *антителами*.

Сигнальная последовательность – нуклеотидная последовательность в гене, служащая местом связывания белка (фактора *транскрипции*), который регулирует транскрипцию.

Симбиоз (симбионтные отношения) – сожительство особей двух *видов*, при котором оба партнера непосредственно взаимодействуют с окружающей средой, при этом регуляция этих взаимодействий осуществляется совместными усилиями обоих организмов. Как правило, симбионтные отношения являются полезными для обоих организмов или полезными для одного и нейтральными для другого.

Синдром – совокупность ряда симптомов (признаков), характерных для данного заболевания.

Синергизм – комбинированное действие двух или более различных *вирусов*, одновременно заразивших растение, имеющее больший поражающий эффект, чем при заражении каждым из вирусов в отдельности. В трансгенном растении синергизм возможен при взаимодействии РНК или протеина, являющихся продуктами трансгена, с вирусом другого типа (не родственного трансгену), заражающего трансгенное растение.

Система земледелия – комплекс взаимосвязанных технологических (агротехнических), мелиоративных и организационных мероприятий по использованию земли, повышению и восстановлению плодородия почвы. Система земледелия включает ряд взаимосвязанных элементов – организацию земельной территории, систему обработки почвы, севооборот, внесение удобрений, борьбу с сорняками, вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений, семеноводство, защиту почвы от эрозии, создание защитных полос и т.д.

Система скрещивания – способ осуществления организмами половой (вертикальной) передачи наследственности своему потомству: путем родственных *скрещиваний* (инбридинга) или неродственных скрещиваний (аутбридинга). У растений система скрещивания включает тип *совместимости* с индивидуумами своего вида и способы переопыления (перекрестное опыление или самоопыление), необходимые для гарантированного получения потомства.

Склероции – плотные образования у некоторых грибов (например, у спорыньи), обеспечивающие их сохранение в неблагоприятных условиях среды и представляющие собой переплетение гифов, снабженных толстыми оболочками.

Скрещивание – половая передача наследственной информации потомству. Является одним из методов *селекции* растений и животных и применяется для получения *гибридов*, представляющих исходный материал для отбора и получения новых *сортов* растений и пород животных.

Скрещивание беккроссное (возвратное), беккросс – *скрещивание гибрида* с одной из родительских форм (обозначается как ВС, например, ВС₁ – первое беккроссное поколение, ВС₂ – второе беккроссное поколение и т.д.).

Скрещивание внутривидовое – скрещивание *подвидов*, сортов растений или пород животных.

- Скрещивание гетероспецифическое (отдаленное)** – скрещивание с участием особей, принадлежащих к разным систематическим группам. Обычно происходит между особями, принадлежащими к разным *видам* одного рода, иногда между представителями разных родов.
- Скрининг** – метод (или комплекс методов) идентификации единичного объекта (особи в популяции, клетки с искомыми свойствами, участка нуклеотидной последовательности и т.д.) путем перебора большого числа объектов.
- Совместимость организмов** – способность организмов эффективно скрещиваться с образованием жизнеспособного потомства.
- Совместимость постзиготная** – генетические механизмы, обеспечивающие развитие зародыша и созревание семени, способного прорасти и развиваться в жизнеспособное растение.
- Совместимость презиготная** – генетические и физиологические механизмы, обеспечивающие доставку мужской половой клетки к женской (у растений – прорастание пыльцы в пестике реципиента) и оплодотворение яйцеклетки.
- Соматональные вариации и варианты** – фенотипическое выражение непостоянства ядерного и органелльного геномов культивируемых *in vitro* клеток растений. От *точковых* генных мутаций отличаются большей частотой возникновения и комплексностью изменений (изменения в структуре *генов, хромосом, геномов*).
- Соматическая клетка** – любая неполовая клетка многоклеточного организма.
- Соматический эмбриогенез** – процесс образования зародышеподобных структур (*эмбриоидов*) в культуре клеток и тканей растений.
- Сообщество** – совокупность взаимодействующих *популяций* (живой компонент *экосистемы*), занимающих определенную территорию и функционирующих как динамическая единица с различными уровнями питания, через которую проходит поток энергии и совершается круговорот питательных веществ.
- Сорный вид** – вид, не свойственный данному *биоценозу*, способный сохраняться в этом биоценозе и служить источником угнетения других видов. В случае растений сорными (сорняками) являются все растения, произрастание которых на данном участке нежелательно.
- Сорт** – совокупность культурных растений, созданная путем *селекции* и обладающая определенными наследственными, морфологическими, биологическими и хозяйственными признаками и свойствами. Как правило, сорт относится к установленной ботанической разновидности определенного *вида*, но не является ботанической систематической единицей, так как к одной и той же разновидности может принадлежать очень много сортов.
- Сорт местный** – сорт, созданный в результате длительного естественного отбора и простейших приемов искусственного отбора (народная селекция) при возделывании той или иной культуры в определенной местности.
- Сортосмена** – в общем случае замена старых, возделываемых в производстве *сортов* новыми районированными сортами, более урожайными и ценными по техническим качествам. Сортосмена в контексте *менеджмента резистентности* – замена сортов, являющихся определенным *селективным фактором* для популяции *вредителя*, на сорта, не являющиеся таким фактором или представляющие собой селективный фактор иного свойства.
- Сплайсинг** – процесс вырезания из предшественника мРНК *интронов* и ковалентное соединение *экзонов* с образованием зрелых молекул мРНК.
- Споры (бактерий)** – покоящиеся формы жизненного цикла бактерий. Образуются внутри *цитоплазмы* вегетативных клеток в неблагоприятных условиях существования. Споры отличаются от вегетативной формы существования репрессией *генома*, почти полным отсутствием обмена веществ, малым количеством свободной воды в цитоплазме, образованием дополнительных оболочек, препятствующих проникновению веществ из внешней среды. Споры характеризуются большой устойчивостью к воздействию повреждающих факторов, способностью длительное время сохранять жизнеспособность.
- Стволовая клетка** – недифференцированная клетка, способная к самообновлению и *дифференцировке* в специализированные клетки.
- Стволовые клетки** – митотически активные клетки, в результате деления и дифференциации которых происходит замещение погибших специализированных клеток в многоклеточном организме.
- Стрессовые факторы абиотические** – неблагоприятные факторы окружающей среды, не связанные с влиянием живых организмов (климатические – холод, жара и т.п.; связанные с водным балансом – засуха или периодическое затопление; связанные с минералогическими особенностями почвы – накопление тяжелых металлов, засоление; токсикогенные – влияние *пестицидов*).
- Стрессовые факторы биотические (биологические)** – живые организмы, способные оказывать неблагоприятное влияние на другие организмы (*вредители*, болезни, вызываемые различными *патогенами*, организмы с токсическими для других организмов свойствами и т.п.).
- Стрессовый фактор** – фактор, негативным образом влияющий на благосостояние и жизнедеятельность организма (*популяции, вида*).
- Сублетальный эффект (сублетальная доза) (EC₅₀)** – минимальная однократно вводимая доза токсина, вызывающая ингибирование роста и развития организма у 50% особей экспериментальной лабораторной популяции.
- Субстрат** – вещество, превращение которого катализируется специфическим ферментом.
- Супрессия** – восстановление утраченной генетической функции, обусловленное подавлением эффекта одной *мутации* под действием второй.
- Супензионная культура клеток** – выращивание отдельных клеток растений или их небольших групп во взвешенном состоянии в жидкой питательной среде при использовании аппаратуры, обеспечивающей их аэрацию и перемешивание.
- Таксономический статус (таксономия) вида (организма)** – принадлежность *вида* (организма) к определенной таксономической группе (виду, роду, семейству, порядку растений или отряду животных, классу, типу животных или отделу растений, царству, а также промежуточным таксонам – подвиду, трибе, подотряду и т.д.).

T-ДНК – фрагмент *Ti*-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*, который встраивается в ядерную ДНК клетки-хозяина и стабильно наследуется ею. Вызывает образование опухоли у растений (*корончатый галл*).

Терапевтическое клонирование – клонирование с целью получения клонов специализированных клеток, использующихся в клеточной терапии. Применяется в технологии оплодотворения *in vitro*, переноса ядра соматической клетки, партеногенеза.

Терминатор – последовательность ДНК, находящаяся на конце транскрипта и ответственная за прекращение транскрипции.

Терминация – остановка синтеза макромолекулы.

Технология рекомбинантных ДНК – методы получения новых последовательностей ДНК путем соединения *in vitro* (в пробирке) двух или более негомологичных молекул ДНК и внедрения их в клетки живых организмов, где они могут реплицироваться.

Тимин (Т) – пиримидиновое основание, одно из четырех азотистых оснований, входящих в состав ДНК.

Токсины (яды) – химические вещества экзогенного происхождения (синтетические или природные), которые после проникновения в организм вызывают структурные или функциональные изменения, сопровождающиеся развитием характерных патологических состояний.

Токсичность – мера несовместимости вещества с жизнью, величина, обратная абсолютному значению среднесмертельной дозы ($1/LD_{50}$) или концентрации ($1/LC_{50}$).

Толерантность – снижение чувствительности к токсину или фармакологическому препарату, постепенное привыкание к токсину в результате воздействия малых доз.

Тотипотентность – неограниченная способность дифференцировки: во все типы клеток, тканей и органов. Важнейшее свойство эмбриональных стволовых клеток.

Трансен – ген, взятый из одного организма и перенесенный в другой организм или клетку, генно-инженерная конструкция, включающая ген(ы), который(е) предполагается передать реципиентному организму, и генетические элементы, необходимые для его (их) переноса, инкорпорации в геном ядра или клеточных органелл и активности в этом организме и у его потомства.

Трансгенез – введение чужеродного гена в растительную или животную клетку и его передача в ряду поколений.

Трансдукция – перенос генетического материала из одной бактериальной клетки в другую с помощью бактериофага. Фаг, осуществляющий этот перенос, носит название трансдуцирующего. Его геном содержит как собственные гены, так и гены клетки-хозяина.

Транскапсидация (гетерокапсидация) вирусов – замена капсидной белковой оболочки одного типа вируса на капсидную оболочку другого, что может привести к передаче этой способности от первого типа вирусов, способных распространяться от растения к растению посредством растительных насекомых, ко второму типу, не обладающему такой способностью. Рассматривается как способ расширения числа потенциальных носителей вирусов, которые

раньше были ограничены в выборе хозяина из-за невозможности переноса растительными насекомыми. В случае с трансгенными вирусостойчивыми растениями РНК вируса, заражающего трансгенное растение, может приобрести новую белковую оболочку (энкапсидироваться), кодируемую СР-трансгеном (трансгеном капсидного белка) этого растения.

Транскрипция – процесс синтеза РНК, катализируемый РНК-полимеразой, в котором в качестве матрицы используется одна из цепей ДНК.

Транслокация – хромосомная перестройка, заключающаяся в переносе участка хромосомы в новое положение на той же или другой хромосоме.

Трансляция – синтез полипептидной цепи рибосомой с использованием в качестве матрицы мРНК.

Транспозоны – мобильные генетические элементы (последовательности ДНК), несущие структурные гены, которые детерминируют функции, не связанные с самим процессом перемещения (например, гены устойчивости к антибиотикам). Структурные гены ограничены с обеих сторон мобильного элемента идентичными инсерционными последовательностями, которые обеспечивают транспозону способность перемещаться из одного локуса хромосомы в другие; с бактериальной хромосомы на плазмиду и наоборот.

Трансфекция – введение в клетки генетической конструкции (ген + вектор).

Трансформации частота – доля клеток в клеточной популяции, получивших чужеродную ДНК; выражается числом трансформантов к общему числу клеток.

Трансформации эффективность – число клеток, получивших чужеродную ДНК, отнесенное к количеству трансформирующей ДНК. Выражается числом трансформантов на 1 мкг ДНК.

Трансформация – перенос генетической информации в бактериальные клетки с участием плазмид или без них, но всегда без участия вируса. Часто приводит к изменению фенотипа реципиентной клетки. В последнее время термин используется более широко в качестве синонима трансгенеза.

Тупой конец – конец двухцепочечной молекулы ДНК, у которого не выступает ни одна из цепей.

Унипотентность – способность дифференцироваться только в один тип клеток, например в базальные клетки эпидермиса.

Урацил (У), (U) – пиримидиновое основание. Одно из четырех азотистых оснований, входящих в состав РНК.

Факторы неопределенности – неизвестные факторы, которые могут изменить биохимические характеристики или экологическое поведение ГИО и тем самым изменить вероятность возникновения неблагоприятных последствий для здоровья человека и/или окружающей среды и/или степень их проявления. К факторам неопределенности относятся также характеристики самого ГИО, не известные ранее и не имеющие аналогов.

Фенологические события – изменения экологического поведения организмов (популяций, видов) в зависимости от сезонных изменений в природе.

- Фенотип** – совокупность всех признаков организма, формирующаяся в процессе взаимодействия его *генотипа* и внешней среды.
- Ферментация** – в промышленной микробиологии крупномасштабное культивирование микроорганизмов в специальных емкостях (ферментерах, биореакторах).
- Фертильность** – способность организмов приносить жизнеспособное потомство.
- Филогенез (филогения)** – процесс исторического (эволюционного) развития организмов.
- Фитогормон** – вещество, стимулирующее рост растений или другие процессы (среди фитогормонов можно назвать такие вещества, как ауксины, цитокинины, этилен, гибберелловая кислота и др.).
- Фитопатогены** – организмы (грибы, бактерии, вирусы), вызывающие болезни растений.
- Фосфодиэфирная связь** – связь между фосфатными группами при 3'- и 5'-углеродных атомах соседних *нуклеотидов* одной *полинуклеотидной цепи*.
- Фотосинтез** – процесс превращения клетками высших растений энергии видимого света в энергию химических связей, сопровождаемый образованием органических соединений и кислорода из диоксида углерода (углекислого газа) и воды.
- Хромосомы** – основной материальный носитель наследственной информации. Самовоспроизводящиеся структуры, представляющие комплекс конденсированной ДНК и белков в клеточных ядрах эукариотических организмов или *цитоплазме прокариот*. В каждой хромосоме содержится по одной молекуле ДНК. Способны к воспроизведению с сохранением структурно-функциональной индивидуальности в ряду поколений. Количество хромосом для каждого вида высших организмов представлено строго определенной постоянной величиной и, как правило, является четным. Во время деления ядра и клетки поведение хромосом подчиняется определенным закономерностям.
- Хромосомы гомологичные** – парные хромосомы, у которых одинаковые локусы расположены в одной и той же линейной последовательности. Гомологичными также называют хромосомы, происходящие из одного источника и имеющие одинаковое эволюционное происхождение.
- Целлюлоза** – высокомолекулярный линейный полисахарид, состоящий из остатков β-D-глюкозы, соединенных (1,4)-связями. Участвует в образовании структурного скелета (прежде всего оболочек) растительных клеток.
- Центры происхождения культурных видов** – географические области, из которых происходят те или иные сельскохозяйственные культуры и в которых сохранились дикие родоначальники культурных форм и их родственные *виды*. В центрах происхождения, как правило, наблюдается наибольшее разнообразие *подвидов* и *рас* вида и *местных сортов* культурных разновидностей вида. Таким образом, они одновременно являются и центрами наибольшего генетического разнообразия сельскохозяйственных культур.
- Цитозин (Ц), (С)** – одно из четырех азотистых оснований, входящее в состав ДНК и РНК.
- Цитокинины** – растительные гормоны, индуцирующие деление клеток.
- Цитокины** – молекулярные *медиаторы* белковой природы, регулирующие *иммунный ответ* на всех этапах его развития.
- Цитоплазма** – протоплазма клетки без клеточного ядра, в которой происходит большинство клеточных процессов. Состоит из эндоплазматической сети и ряда других органелл, расположенных в основной, внутренней, среде клетки.
- Цитоплазматическое наследование** – наследование признаков, определяемых митохондриальными *генами*, генами, локализованными в хлоропластах (или в любых других неядерных органеллах).
- Штамм** – культура генетически однородных микроорганизмов.
- Эволюционные изменения** – генетические и фенотипические изменения *популяции* и *вида* в целом, определяемые наследственной изменчивостью, борьбой за существование, естественным и/или искусственным отбором. Приводят к формированию *адаптации* (приспособления) популяций к условиям их существования и генетического состава популяций, образованию новых или вымиранию менее приспособленных видов, преобразованию *биогеоценозов* и биосферы в целом.
- Эволюционный (селективный) прессинг** – воздействие различных факторов среды обитания, которое приводит к *эволюционным изменениям популяции* и *вида*.
- Экзон** – участок гена, входящий в состав первичного транскрипта, который остается в нем после *процессинга* (вырезания *интронов*). Вместе с другими экзонами образует зрелую мРНК.
- Экологическая ниша** – место, занимаемое *видом (популяцией)* в сообществе других живых организмов (*биоценозе*). Экологическая ниша определяет характер взаимодействий данного вида (*популяции*) с партнерами по сообществу, в которое он входит в качестве сочлена, его место в круговороте веществ, обусловленном пищевыми и конкурентными взаимосвязями в биоценозе.
- Экологическая стабильность (пластичность)** – 1) способность организма (*популяции*) быстро адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды; 2) в отношении *сортов* сельскохозяйственных растений – способность формировать стабильный урожай вне зависимости от имеющихся условий окружающей среды (условий выращивания).
- Экологические связи (экологические взаимоотношения)** – система взаимоотношений и взаимодействий организма (*популяции, вида* и т.д.) с другими организмами *экосистемы*. Экологические связи организма могут быть внутривидовыми (территориальная и пищевая конкуренция) и межвидовыми (межвидовая конкуренция, *симбионтные отношения*, отношения хищник–жертва и хозяин–паразит).
- Экологический риск** – фактор, связанный с деятельностью человека, в частности с *генно-инженерной деятельностью*, который может стать источником неблагоприятных последствий для окружающей среды. По характеру действия экологические риски могут быть локальными или глобальными, временными или постоянными, прямыми или опосредованными (неяв-

- ными), быстро проявляющимися или пролонгированными (отложенными, неявными).
- Экологический стрессовый фактор** – см. *Стрессовый фактор*.
- Экология вида (экологическое поведение вида)** – способ существования и жизнедеятельности вида, определяющий взаимодействие и взаимоотношения вида с другими элементами *экосистемы* биотического и абиотического свойства.
- Экосистема (биогеоценоз)** – природный комплекс, образованный живыми организмами (*биоценоз*) и средой их обитания (атмосфера, почва, водные ресурсы и т.п.), связанными между собой обменом веществ и энергии.
- Экосистема окультуренная (агросреда)** – экосистема, подвергшаяся значительному изменению в результате хозяйственной деятельности человека и испытывающая воздействие этой деятельности постоянно или периодически. Это возделываемые поля или другие используемые человеком территории (сенокосы, пастбища, зеленые насаждения, придорожные полосы, взлетно-посадочные полосы аэродромов, стадионы, водные каналы и др.), а также промышленные посадки леса.
- Экосистема природная** – экосистема, не измененная или незначительно измененная в результате деятельности человека и не подвергающаяся или подвергающаяся в малой степени воздействию человека.
- Экосистемы засорение** – попадание в сложившуюся экосистему несвойственного ей вида, способное привести к угнетению и даже вытеснению других видов экосистемы и тем самым нарушающее ее стабильность и продуктивность. Засорение экосистемы может быть первичным (сорный вид впервые попадает в экосистему и действует там негативным образом) и вторичным (сорный вид возвращается в экосистему за счет сохранения в *банке семян* или из-за пределов экосистемы после намеренной и успешной борьбы с ним).
- Эксплантат** – фрагмент ткани или органа растения, помещенный на питательную среду для получения культуры клеток или регенерации целого растения.
- Экспрессия гена** – *транскрипция* и *трансляция гена*.
- Экстракорпоральное оплодотворение (оплодотворение *in vitro*, фертилизация *in vitro*)** – репродуктивная технология, заключающаяся в оплодотворении *in vitro* (вне организма). Технологии и материал экстракорпорального оплодотворения (яйцеклетки) используются при терапевтическом клонировании и получении *эмбриональных стволовых клеток*.
- Эктодерма** – самый верхний (удаленный) из примитивных зародышевых листков *эмбриона*. Из него происходят кожа, нервная система и сетчатка глаза.
- Электропорация** – образование пор в клеточных мембранах под действием электрического тока. Через поры в клетки проникает чужеродная ДНК.
- Электрофорез** – метод разделения заряженных молекул (ДНК, РНК или белков), основанный на разной скорости их перемещения в электрическом поле в зависимости от молекулярного веса.
- Элонгация** – последовательное присоединение мономеров к полимерной цепи.
- Эмбрион (зародыш)** – организм, развивающийся из яйцеклетки в период эмбрионального развития (в процессе развития зародыша из *зиготы*) в теле матери у млекопитающих (до момента окончания органогенеза), в скорлупе яйца или яйцевой оболочке у других животных, в зрелом семени растений. Эмбрион растений развивается в новое растение после прорастания семени.
- Эмбриональные стволовые клетки** – клетки из *эмбрионов* на стадии *бластоцисты*, способные к *дифференцировке* в любые типы клеток, в том числе в клетки зародышевой линии при введении в другой эмбрион на стадии *бластоцисты*; стволовые клетки, возникающие при развитии эмбриона, способные развиваться во все клетки взрослого организма и к эмбриогенезу (т.е. обладающие *тотипотентностью*).
- Эндодерма** – зародышевый внутренний листок развивающегося эмбриона. Дает начало дыхательной системе, желудочно-кишечному тракту, печени, поджелудочной железе, мочевому пузырю.
- Эндонуклеаза** – фермент, гидролизующий внутренние *фосфодиэфирные связи* и расщепляющий молекулы ДНК и РНК. Эндонуклеазы участвуют в *рекомбинации, репарации* и *рестрикции*; в последнем случае эндонуклеазы называются *рестриктазами* (рестрикционными эндонуклеазами).
- Эндосперм** – триплоидные питательные клетки, окружающие и питающие *эмбрион* в семенах покрытосемянных растений.
- Эндотоксин** – *токсин*, не выделяемый клеткой в окружающую среду, входящий в состав клеточной стенки.
- Энтеротоксин** – бактериальный белок, который, попадая в кишечник, вызывает диарею.
- Энхансер** – специфический участок ДНК, многократно увеличивающий уровень *транскрипции генов*, расположенных на той же молекуле ДНК.
- Эпигенетические изменения** – изменения *фенотипа* особи без изменения ее *генотипа*.
- Эпидермис** – наружный слой кожи животного и человека, развитие которого осуществляется за счет зародышевого листка – *эктодермы*.
- Эпитоп (антигенная детерминанта)** – участок *антигена*, определяющий специфичность *иммунного ответа* (с которым взаимодействуют антитела или рецепторы эффекторных клеток системы иммунитета).
- Эпитоп конформационный** – обладающий третичной структурой и составляющий часть общей пространственной организации *антигена*.
- Эпитоп линейный** – образован последовательностью поверхностных *аминокислот* молекулы *антигена*, контактирующих с *антителом* или рецептором лимфоцитов. Обычно число аминокислот, составляющих линейный эпитоп, равно 6–8 мономерам.
- Этилен** – газ, действующий как растительный гормон. Способствует созреванию плодов, сохранению цветков, прорастанию семян, образованию корней; участвует в ответе растения на стрессовые воздействия.

Эукариоты – одно из двух надцарств организмов. Для эукариот характерны следующие особенности: 1) истинное *ядро* с парными линейными *хромосомами*, содержащими *белки-гистоны*; нуклеоплазма отделена от *цитоплазмы* ядерной мембраной; 2) мембранная система сложна и многообразна; имеются самостоятельные мембранные структуры и органеллы (*митохондрии*, *хлоропласты*, *эндоплазматическая сеть*), выполняющие специфические функции; 3) *рибосомы* двух типов (цитоплазматические – 80S и митохондриальные, хлоропластные – 70S). К эукариотам относятся животные, растения, грибы, некоторые водоросли.

Эффект положения – изменение *экспрессии гена* в результате *транслокации* в новый участок генома; например, ранее активный *ген* при перемещении в *гетерохроматиновый* район может быть инактивирован.

Ядро – органелла эукариотических клеток, окруженная двойной мембраной (ядерной оболочкой) с порами и содержащая *хромосомы* в форме хроматина, связанные с многочисленными белками.

Ядрышко – обособленная часть ядра, образуемая при транскрипции генов рРНК.

Научное издание

Ермишин Александр Петрович
Подлиских Валерий Евгеньевич
Воронкова Елена Васильевна
Аношенко Борис Юрьевич
Зарьков Виктор Михайлович

БИОТЕХНОЛОГИЯ. БИОБЕЗОПАСНОСТЬ.
БИОЭТИКА

Редактор Я. Мартынович
Корректор И. Юхневич
Макетирование Н. Апанасевич
Художественное оформление К. Кислейко, В. Котович
Технический редактор С. Довгалов

НПК «Тэхналогія»



Электронная версия:
Корректор Е.В. Воронкова
Художественное оформление и макетирование: Б.Ю. Аношенко

«Национальный координационный центр биобезопасности»

