МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧУВАННЯ ТА ТОРГІВЛІ

ТОВАРОЗНАВСТВО ТА ЕКСПЕРТИЗА ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ, ОДЕРЖАНИХ ІЗ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Опорний конспект лекцій

за напрямком 030510 «Товарознавство і торговельне підприємництво»
для студентів спеціальностей:
8.030510.01 «Товарознавство та комерційна діяльність»
8.030510.02 «Товарознавство та експертиза в митній справі»
8.030510.03 «Експертиза товарів та послуг»
8.030510.04 «Управління якістю та безпечністю товарів»

Харків
2011

Розповсюдження і тиражування без офіційного дозволу ХДУХТ заборонено

Опорний конспект розглянуто та схвалено на методичному семінарі кафедри товарознавства та експертизи товарів, протокол № від грудня 2010р.

Зав. кафедри к.т.н., професор Дубініна А.А.

Рекомендовано науково-методичною комісією товарознавчого факультету, протокол № від «___» _____ 2010 р.

Голова комісії к.т.н., доцент Упатова О. І.

ВСТУП

Науковою основою сучасної стратегії виробництва їжі є винахід нових ресурсів, що забезпечували б оптимальне співвідношення для організму людини хімічних компонентів (білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, ферментів, мінеральних солей, харчових волокон, смакових та екстрактивних речовин, біофлаваноїдів, індолів, антоціанів, ізофлавонів та ін.), тобто виробництво їжі із заданим хімічним складом.

В останні роки погляд дослідників прикований до можливості використання мікроорганізмів у якості компонентів харчових продуктів завдяки можливості генетичного програмування хімічного складу цих продуктів, його вдосконалення, що безпосередньо визначає їх харчову цінність та перспективу використання.

Таким чином, сьогодні виробництво не зможе обійтися без використання сучасних технологій, а саме без використання біотехнологій та генної інженерії.

Метою навчальної дисципліни «Товарознавство та експертиза харчових продуктів, одержаних із генетично модифікованих джерел» є формування у студентів системи спеціальних теоретичних та практичних знань щодо інтеграції та систематизації даних за різними проблемами створення та безпеки харчових продуктів, які одержані із генетично модифікованих організмі рослинного, тваринного та мікробного походження, добре знати і уміти користуватися законодавчою базою, нормативно-технічними вимогами, які регулюють безпечність та якість продовольчих товарів, що необхідно для професійної діяльності експерта.

Для досягнення мети навчальною дисципліною «Товарознавство та експертиза харчових продуктів, одержаних із генетично модифікованих джерел» передбачається рішення наступних завдань:

- надання студентам глибоких знань предмета, визначення мети і завдання;
- опанування основних категорій, понять харчових продуктів, одержаних із генетично модифікованих джерел;
- проаналізувати причини виникнення та розвитку біотехнології та генної інженерії ;
- дослідити обсяги виробництва та продажу генетично модифікованих продуктів у світі;
- опанування сутності, механізму та завдання генної інженерії ;
- вивчення основних напрямків у створенні генетично модифікованих джерел рослинного, тваринного та мікробного походження;
- визначити основні питання безпеки генетично модифікованих джерел;
- проаналізувати законодавчу базу, щодо регулювання продажу генетично модифікованих продуктів в Україні;
- набути вміння щодо методів виявлення генетично модифікованих

організмів та їх похідних;

- набуття вмінь щодо документального оформлення результатів експертизи;
- аналіз основних питань, які мають бути вирішені в Україні щодо поводження з генетично модифікованими організмами.

Вивчення навчальної дисципліни перш за все базується на теоретичному матеріалі – лекціях.

Опорний конспект лекцій містить матеріал, який науково обґрунтовує завдання, виконує практичні уміння та навички професійної діяльності майбутнього фахівця в межах спеціальностей «Товарознавство і комерційна діяльність», «Товарознавство та експертиза в митній справі», «Експертиза товарів та послуг», «Управління якістю та безпечністю товарів».

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ 1

Тема 1.1. Загальні положення, основні напрямки та завдання генної інженерії. Історія створення та світове виробництво ГМД

План.

1. *Історичні аспекти виникнення та основні поняття щодо біотехнології та генної інженерії.*

Донедавна високопродуктивні сорти сільськогосподарських рослин і нові породи тварин одержували головним чином шляхом спрямованої селекції. Однак цей підхід, що вимагає для своєї реалізації багато часу (як правило, 10—15 років), поступився місцем методам, заснованим на генній інженерії вищих організмів. Тепер гени, що обумовлюють специфічні ознаки, можуть уводитися в клітини рослин і тварин і успадковуватися наступними поколіннями.

Таким чином, у цей час поряд із традиційними технологіями збільшення врожайності сільськогосподарських рослин, підвищення стійкості до хвороб, шкідників і бур'янам, значиме місце займає генетична інженерія й біотехнологія.

Історичний період	Вчені, що працювали на питанням	Досягнення у цій області науки
1865 р.	Грегор Іоган Мендель (1322— 1884)	Використав статистичні методи для аналізу результатів гібридизації сортів гороху, році відкрив можливість спадковості різних властивостей і ознак організму.
1857-1927	Вільгельм Людовик Іогансен	Ввів терміни «ген», «генотип», «фенотип»
1910-і роки	Т.Х.Морган	Обґрунтував хромосомну теорію спадковості
1953 р.	Френсіс Крік і Джеймс Уотсон	Показали, що біологічна функція ДНК— відтворення, копіювання і передавання спадкової інформації — обумовлена її просторовою будовою і хімічним складом
1970-1972 рр.		Виникнення генної інженерії як нового напряму біотехнології
1982—1983 рр.	Вчені бельгійського Гентського державного університету разом з вченими Кельнського Інституту рослинництва ім. М. Планка (Німеччина) та вченими Вашингтонського університету	Створили перші транс-генні рослини
З 1986 по 1988 рр.	Вчені у 45 країнах (72 % з них у США і Канаді)	Проведено більше 25 тис. польових випробувань знайдено 66 різних сортів і гібридів генномодифікованих рослин.
1994 рік	Вчені США	Були зареєстровані трансгенні томати, придатні для споживання, а у 1999 році було отримано більше 120 видів трансгенних рослин.

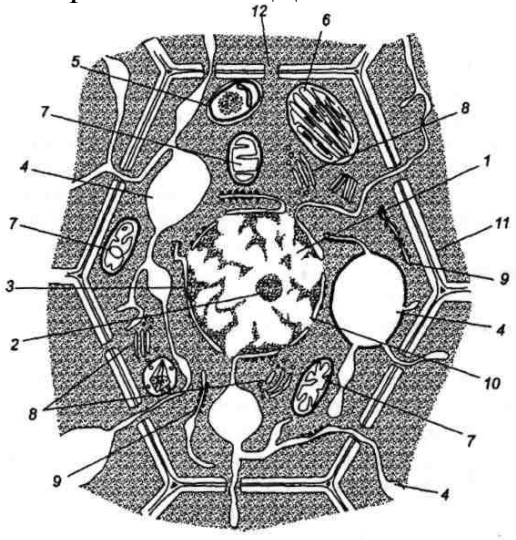
Перші ГМ-культури сільськогосподарських рослин з'явилися більш 20 років тому, коли американська фірма «Monsanto», що робить гербіциди, почала поставляти на ринок і стійкі до них сорту трансгенних рослин сої.

Біотехнологія сьогодні досягла великих успіхів: виведено (нові сорти зернобобових, овочів, фруктів, які стійкі до дії мікроорганізмів, шкідників і володіють високими споживними властивостями та бездоганною якістю. Одним із складників сучасної біотехнології є генна інженерія.

Безліч визначень, які розкривають суть генної інженерії, у підсумку зводяться до того, що вона базується на принципах традиційної селекції рослин, за допомогою якої від однієї рослини до іншої передається нова властивість через багаточисельність її генів.

Інформація про склад і будову всіх білків клітини, порядку їх утвору в ході розвитку організму, тобто вся спадкоємна інформація організму, закодована в молекулах ДНК. В еукаріотичних організмів ДНК утримується в хромосомах, у кожній хромосомі по одній молекулі ДНК. Кількість хромосом для кожного виду вищих організмів є строго певною постійною величиною. Наприклад, у людини 46 хромосом, у пшениці — 42. Поява додаткових хромосом або відсутність якої-небудь хромосоми може приводити до серйозних порушень в організмі.

Найважливіша властивість клітин — здатність ділитися таким чином, що кожна з, що утворювалися дочірніх клітин нічим не відрізняється по хромосомному складу одна від іншої й від материнської клітини. Це досягається завдяки тому, що напередодні розподілу кожна із хромосом подвоюється: у них утворюється друга молекула ДНК, абсолютно ідентична наявної. Цей процес називається реплікацією ДНК.



2.

Рис. 1. Схема будови клітини рослин: 1 — ядро; 2 — ядерце; 3 — ядерна оболонка; 4 — вакуоля; 5 — лейкопласт із крохмальним зерном, що утворюється в ньому; б — хлоропласт; 7 — мітохондрія; 8 — апарат Гольджи; 9 — ендоплазматична мережа; 10 — ядерна пора; // — оболонка клітини; 12 — пора в оболонці клітини

Рис. 2. Схема будови клітини бактерій

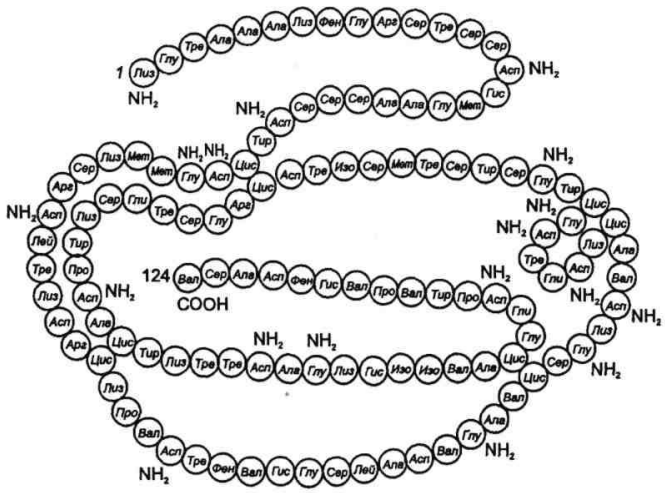


Рис. 3. Структура макромолекули білка (ферменту нуклеази). Лиз, Глу, Тре і т.д. — скорочені назви амінокислот лізина, глутамина, треоніна і т.д.

Окремі молекули амінокислот з'єднані між собою водневими зв'язками в ланцюжок — поліпептид. Молекула білка може включати крім амінокислот і інші молекули й атоми, наприклад металів (заліза, магнію, сірки і т.д.)

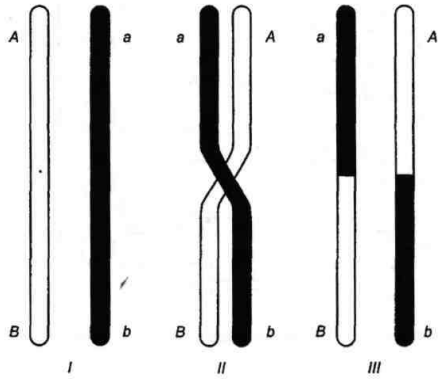


Рис. 4. Спрощена схема кроссінговера. / — вихідні гомологічні хромосоми; // — дві гомологічні хромосоми при кон'югації розриваються в крапці контакту й ділянки їх возз'єднуються в іншій комбінації, у результаті утворюються дві хромосоми (///), кожна з яких містить ділянки обох вихідних хромосом

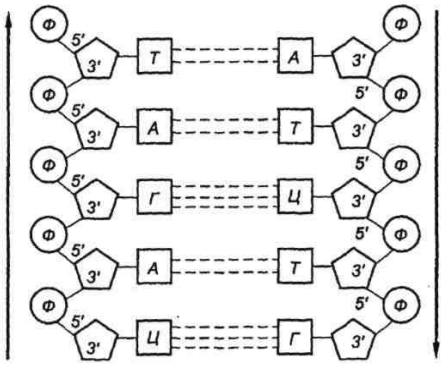


Рис. 5. Схема відрізка двунитної молекули ДНК.

Азотисті підстави аденін (А), гуанін (Г), цитозин (Ц) і тимин (Т) з'єднані водневим зв'язком із цукром дезоксирибозой, атоми 3' і 5' дезоксирибози з'єднані фосфатними зв'язками (Ф), утворюючи ланцюжка нуклеотидов — окремі нитки молекули ДНК. Нитки з'єднуються між собою водневими зв'язками, які встановлюються між окремими азотистими підставами ниток. При цьому А завжди з'єднується з Т (подвійним водневим зв'язком), а Г — із Ц (потрійним зв'язком). Таким чином, комбінація нуклеотидов у нитках комплементарно один одному

2. Мета та завдання біотехнологічних експериментів при створення генетично модифікованих джерел.

Основною метою біотехнологічних експериментів є створення нових сортів культурних рослин для задоволення потреб людину в їжі, ліках, джерелах енергії і т.д.

Насамперед велика увага приділяється:

- підвищенню ефективності боротьби із хворобами рослин;
- створення стійких до хвороб сортів сільськогосподарських рослин.

При цьому використовуються два підходи.

- виділені, клоновані й перенесені в генетичний матеріал рослин численні гени, зв'язані зі стимуляцією неспецифічного (тобто не спрямованого проти певного патогена) імунітету рослини. Для цього застосовують гени ферментів амілаз, хитиназ, полифенолоксидаз, пероксидаз, а також фитоалексинов і лизозимов, лектинов.

- виділенні й клонуванні потужних генів стійкості до хвороб від диких видів.

- селекція сортів, стійких до стресових факторів середовища: посусі, жарі, холоду, підвищеному засоленню ґрунту.

- робота над виділенням, клонуванням і переносом у рослини трансгенів, що кодують утвір різних осмопротекторів (іонів, протеїнів, амінокислот, Цукрів, поліамінів), що регулюють зміст ненасичених жирних кислот у мембранах клітин і т.д.

- ведуться роботи й отримані обнадійливі результати по створенню кава без кофеїну, тютюну без нікотину, арахісу, що не містить характерних

для нього алергенів. Великий резонанс у суспільстві викликала розробка швейцарських учених, присвячена створенню так званого «золотого» рису. Їм удалося одержати й перенести в рослини рису генетичну конструкцію, що містить відразу три гени від різних організмів, необхідних для біосинтезу каротину (провітаміну А): гени фитоендесатурази й ликопин р-циклази від нарциса й ген каротиндесатурази від бактерій. У результаті рослини рису придбали здатність синтезувати каротин, концентрація якого в зерні досягала 1,6—2 мікрограмів на грам сирої маси. Звичайно, цього недостатньо, щоб повною мірою розв'язати проблему ослабленого зору дітей Південно-Східної Азії, викликану дефіцитом вітаміну А в продуктах харчування. Для цього дітям 4 — 6 років необхідно щодня з'їдати порядку 1,2 кілограма «золотого рису», що нереально. Проте перший крок у цьому напрямку зроблений, і отримані результати дійсно відкривають широкі перспективи в рішенні даної проблеми.

Ідея використання трансгенних рослин у якості «біореакторів» для виробництва різних коштовних фармацевтичних з'єднань, так званих рекомбінантних протеїнів, постійно привертає увагу вчених.

- японським дослідникам удалося одержати рослини картоплі й тютюну із вбудованим геном людського інтерферону альфа, який застосовують для лікування людини від гепатиту С и деяких форм раку.

- створені рослини тютюну з людським інтерлейкіном 10 (стимулятор імунітету), рослини арабідопсіса, що синтезують вітамін Е.

- великий інтерес представляє використання трансгенних рослин з метою одержання їстівних вакцин для підвищення стійкості організму людину до небезпечних захворювань.

3. Відмінні особливості, переваги та недоліки генної інженерії рослин, тварин та мікроорганізмів.

У цей час отримано кілька десятків видів трансгенних (ТГ) рослин, що володіють ознаками, які детермінуються генами, уведеними в їхній геном генно-інженерними методами. До таких ознак належать:

- ♦ здатність синтезувати інсектициди;
- ♦ стійкість до вірусних інфекцій;,
- ♦ стійкість до гербіцидів;
- ♦ підвищена харчова цінність плодів, насінь і т.д.;
- ♦ змінені строки дозрівання плодів і ін.

Дослідження в області генетичної інженерії тварин у порівнянні з рослинами не настільки успішні. В основному вони стосуються вивчення механізмів виникнення хвороб людину в трансгенних мишей, які використовуються в якості модельної системи. Учені працюють зі ссавцями, птахом, рибами. Відомі приклади практичного застосування ГМ-тварин організмів у сільськогосподарській практиці. Відомі усьому світу «ягничка Доллі» і «теля містер Джефферсон» не є ГМ-організмами як такими, оскільки

отримані із соматичних клітин організмів-донорів, що не зазнали генетичним маніпуляціям.

Генетично модифіковані мікроорганізми використовуються як продуценти ферментних препаратів і застосовуються в хлібопеченні, пивоварстві, сироварінні й інших галузях харчової промисловості.

Найбільші успіхи в створенні ГМ-організмів і їх практичнім застосуванні досягнуті в області рослин. Великомасштабне промислове виробництво ГМ-рослин почалося в 1996 р. Площа, засіяна ТГ-культурами в той рік, становила 1,7 млн га, через шість років, в 2002 р., — уже 58,7 млн га, а в 2007 р. — більш 110 млн га.

У цей час ТГ-культури вирощуються в 22 країнах: США, Аргентина, Бразилія, Канада, Індія, Китай, Парагвай, Південна Африка, Уругвай, Філіппіни, Австралія, Румунія, Мексика, Іспанія, Колумбія, Франція, Іран, Гондурас, Чеська республіка, Португалія, Німеччина, Словаччина. Лідерами є США — 54% від усіх площ, що засіваються, Аргентина — 18%, Бразилія — 11% і Канада — 6%. У цей час налічується більш 50 видів ГМ-рослин, багато з яких є коштовними господарськими культурами:

Таблиця 1.

Арахіс	Льон	Просо
Баклажан	Лілія	Пшениця
Банан	Цибуля-Латук	Рис
Батат	Лотос	Жито
Виноград	Люцерна	Буряк цукровий
Гвоздика	Морква	Очерет цукровий
Горох	Овес	Солодець
Груша	Овсяница	Сорго
Ялина	Овсяница червона	Спаржа
Ялина канадська	Огірок	Соя
Суниця	Орхідея	Тютюн
Канола	Папайя	Томат
Капуста	Персик	Тополя
Картопля	Петунія	Квасоля
Ківі	Півонія	Бавовна
Журавлина	Подорожник	Яблуня
Кукурудза	Соняшник	Ячмінь

Найбільші площі, що засіваються ТГ-культурами, займають соя, кукурудза, бавовна (табл. 2)

Таблиця 2

Площі оброблення ТГ-культур у світі, млн га

Рік	Соя		Кукурудза		Бавовна		Рапс		Усього	
	Площа	%	Площа	%	Площа	%	Площа	%	Площа	%
1997	0,5	18	0,3	10	0,8	27	0,1	5	1,7	100
1998	5Д	40	3,2	25	1,4	11	1,2	10	11,0	100
1999	14,5	52	8,3	30	2,5	9	2,4	9	27,8	100
2000	21,6	54	11.1	28	3,7	9	3,4	9	39,9	100
2001	25,8	58	10,3	23	5,3	12	2,8	6	44,2	100
2002	33,3	63	98	19	6,8	13	2,7	5	52,6	100
2003	36,5	62	12,4	21	6,8	12	3,0	5	58,7	100

Прихильники трансгенної інженерії вважають, що сучасні її технології відкривають великі перспективи, тому що рослини стають стійкішими до захворювань, шкідників, перепадів температур, пестицидів тощо.

Визначено завдання генної інженерії рослин (рис.1).

Сьогодні структура промислового вирощування рослин у світі за стійкістю така: частка стійких до гербіцидів становить 74 %, до шкідників — 17 %, до вірусів, бактерій і грибків — менше 1 %.

За цими даними значну увагу було приділено контролю рослин, стійких до гербіцидів. Були клоновані гени, стійкі "до п'яти гербіцидів, і за їх допомогою отримано трансгенні сою, кукурудзу, бавовник, картоплю тощо.

Прибічники трансгенних рослин вважають, що їх виробництво і використання має великі переваги і перспективи (рис. 2).

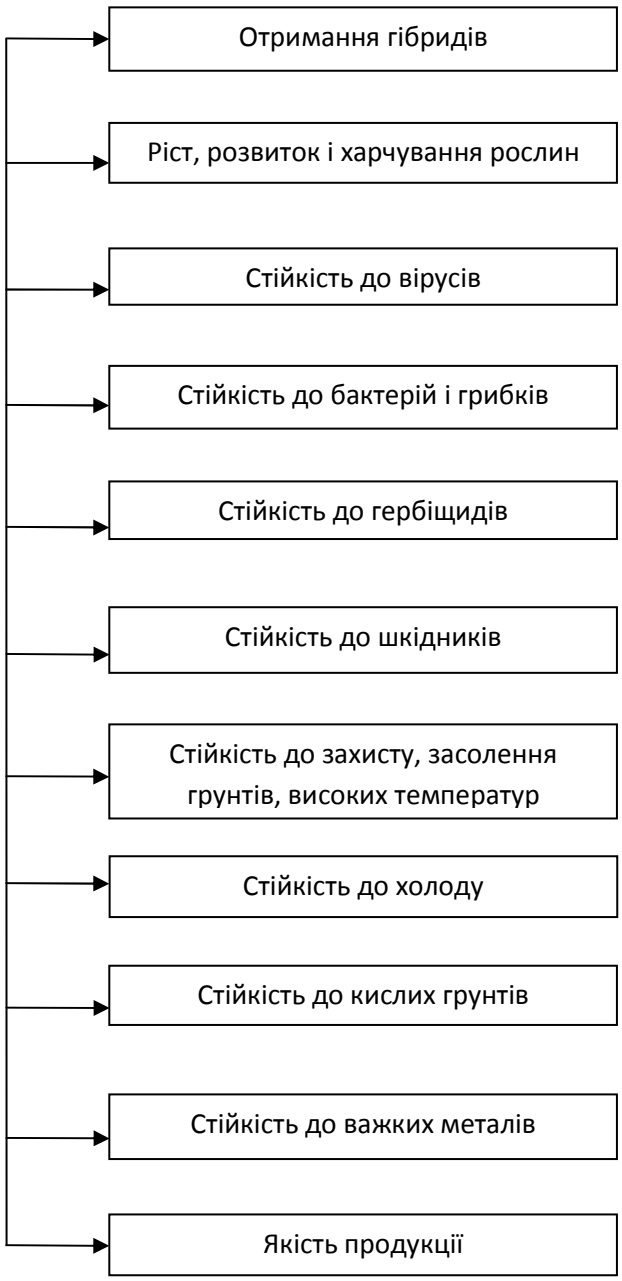


Рис. 1. Основні завдання генної інженерії рослин

По-перше, трансгенна продукція високоврожайна, тому можуть збільшуватися ресурси продовольства для населення. По-друге, під час вирощування трансгенних культур можна значно зменшити кількість пестицидів, що зараз використовуються у сільському господарстві, і, одночасно, захистити людський організм від їх шкідливої дії і довкілля від забруднення.

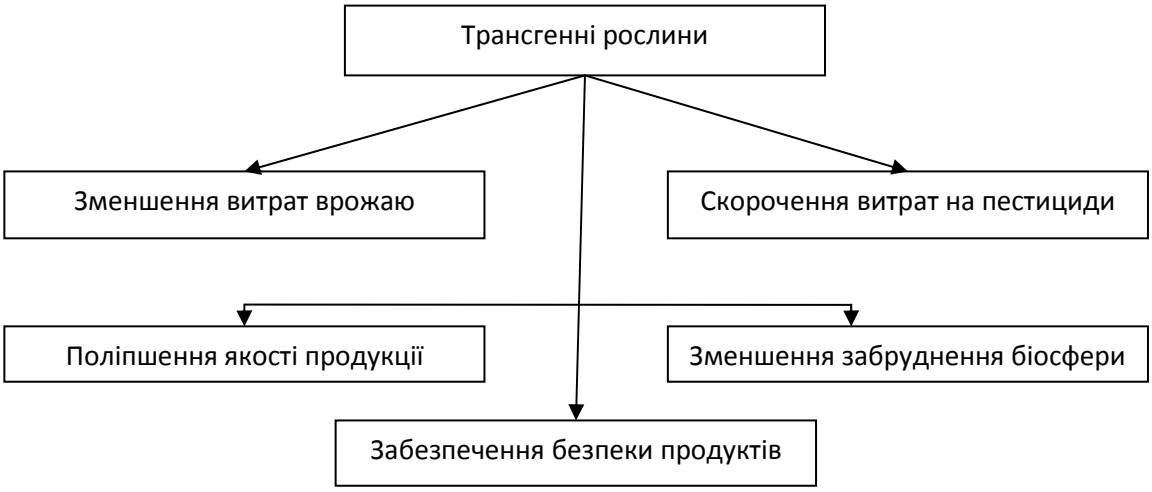


Рис. 2. Переваги використання трансгенних рослин

Ці ГМ-рослини і продукти, виготовлені з їх використанням, належать до першого покоління. Сьогодні такі продукти вирощують вже в промислових масштабах. Друге покоління починає свій розвиток. Продукти цього покоління характеризуються поліпшеною споживною цінністю та якістю завдяки змінам кількості і складу мікроелементів, жирно-кислотного складу жирів, інших продуктів, смаку, запаху, кольору, амінокислотного складу білків тощо (рис. 3).

Незважаючи на те що перші трансгенні тварини були отримані більш 20 років тому, дотепер на ринку немає жодного генетично модифікованого тварини для використання в господарській діяльності. Це пов'язане з певними технічними (складності одержання й розмноження), фінансовими, а іноді й етичними проблемами. Проте успіхи в генетичній інженерії тварин очевидні. Розроблені різні методи переносу генів у генетичний матеріал тварин і отримані трансгенні особини в ссавців, нижчих хребетних і в безхребетних тварин. Створені ефективні технології клонування, засновані на заміні ядер у запліднених яйцеклітин. Учені навчилися не тільки переносити в генетичний матеріал тварин окремі гени, але й «виключати» або заміняти деякі конкретні гени.

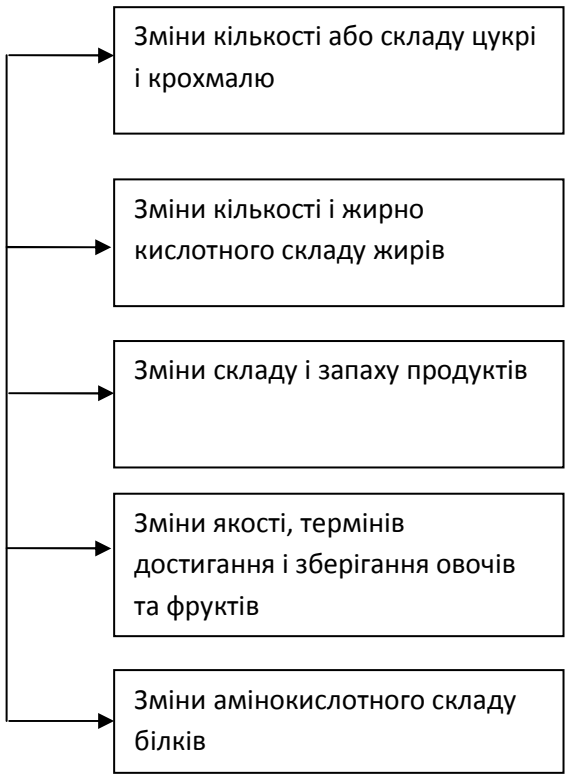


Рис.3. Поліпшення якості харчової і біологічної цінності харчування і продовольчої сировини.

Безумовно, основним напрямком досліджень в області генетичної інженерії тварин є виведення порід з підвищеною продуктивністю, стійкістю до хвороб, з яких можна одержувати продукцію з новими, привабливими для споживача якісними характеристиками. У цьому напрямку вже створені трансгенні форми різних видів риб, у геном яких доданий ген, що кодує біосинтез гормону росту. Завдяки цьому риби швидше ростуть, ефективніше, використовують корми. Трансгенні свині з доданим геном гормону росту більш мускулисті й менш жирні. Тобто з туші трансгенного кабанчика можна одержати більше м'яса, чому зі звичайного, і менше сала.

Свині з доданим геном фитази (один з ферментів переварювання їжі) ефективніше засвоюють корму за рахунок кращої засвоюваності фосфору, що виражається в посиленні їх росту. До того ж це дає можливість меншою мірою забруднювати навколишнє середовище фосфатами. Трансгенні свиноматки з доданим їм геном р-лактальбуміну більш ефективно вигодовують своїх поросят.

Ряд проектів має на меті поліпшення споживчих властивостей продуктів, вироблюваних тваринами або із тварин. Мова, зокрема, іде про поліпшення якості вовни овець, про виведення за допомогою генетичної інженерії порід великої рогатої худоби, у молоці якого знижена концентрація р-лактоглобуліна, основного його алергену, або змінене співвідношення окремих його білків (казеїнів і сироваткових протеїнів). Інший підхід полягає в модифікації окремих генів для поліпшення фізико-хімічних властивостей відповідних протеїнів молока з метою підвищення змісту в ньому кальцію,

зміни співвідношення окремих амінокислот, одержання молока, сир з якого дозріває в більш короткий термін. Усе це повинне суттєво поліпшити споживчі й технологічні властивості коров'ячого молока. Виграють від цього й самі тварини, оскільки поліпшене молоко — немаловажний фактор здоров'я, що вигодовують їм телят. Багато із цих підходів уже реалізовані на модельних об'єктах (лабораторних мишах).

Поліпшення здоров'я свійських тварина, підвищення їх стійкості до хвороб за допомогою методів генетичної інженерії має велике практичне й соціальне значення. Це не тільки дозволить підвищити їхня продуктивність, зменшити витрати на лікування тварин (на що йде до 10 — 20% від загальної суми витрат), але й знизить рівень уживання антибіотиків для їхнього лікування, імовірність переносу інфекцій від тварин до людині. Для рішення даної проблеми використовуються три основні генно-інженерні підходи: (1) добавка генів, що підвищують стійкість до хвороб, (2) «видалення» генів сприйнятливості до хвороб (knockout) і (3) заміна окремих генів тварину на аналогічні гени, але в більшій мері сприятливі активному протистоянню хвороби (knockin). У цілому дослідження із цих трьом основним напрямкам зі змінним успіхом проводяться на лабораторні тварин. До обнадійливих результатів на сільськогосподарські тварин справа поки не дійшла.

У той же час конкретного практичного виходу слід очікувати вже найближчим часом у такому важливому напрямку генетичної інженерії, як використання тварин у якості «біореакторів» для виробництва фармацевтичних препаратів. Перспективи цього напрямку генетичної інженерії стосовно до рослин обговорювалися вище. Незважаючи на те що й рослини, і тварини на відміну від мікроорганізмів ставляться до царства еукаріот, проте біологія рослинної й тваринної клітин все-таки суттєво різниться. Тому для виробництва деяких тварин рекомбінантних протеїнів більш доцільно все-таки використовувати тваринні організми, ніж рослинні. У цей час переконливе доведене, що за допомогою молочних залоз трансгенні тварини здатні робити всілякі протеїни, такі, як різні фактори крові, ферменти, моноклональні антитіла, коллаген, фібриноген, шовк павуків і т.д. Розробляються й інші системи виробництва рекомбінантних білків, зокрема, більші перспективи зв'язують із системою яєчного білка курей.

Рекомендована література до вивчення теми: [1, 2, 3, 8, 13]

Тема 1.2. Основні напрямки створення ГМД

План.

1. *Трансгенні сорти сільськогосподарських рослин, толерантні до гербіцидів, стійкі до комах-вередунів, до вірусних захворювань, з поліпшеними якісними характеристиками.*

ГМ-рослини, що є сировиною для одержання продуктів харчування, по характеру змін, внесених у їхній геном, умовно можна розділити на дві групи.

У першу групу входять культури з поліпшеними агрономічними властивостями. Вони містять гени стійкості до гербіцидів (соя, рапс, пшениця й ін.)» а також гени ґрунтової бактерії Bacillus thuringiensis, що забезпечують захист рослин від комах-шкідників (картопля, бавовна, кукурудза, томати й ін.).

Друга група поєднує рослини, генетична модифікація яких дозволила поліпшити певні властивості одержуваних з них продуктів: живильні — соя, рапс; технологічні — картопля, томати; органолептичні - виноград і ряд інших.

Рослини, стійкі до комах-шкідникам. Донедавна для боротьби з комахами-шкідниками застосовували хімічні інсектициди. Їхнє промислове виробництво почалося ще в 1940-і роки. У цей час ринок інсектицидів величезний. Щорічно на їхнє виробництво в усьому світі витрачається більш 4 млрд. дол. США. Широкомасштабне застосування хімічних інсектицидів показало, що крім безсумнівного ефективного впливу на комах-шкідників вони мають поруч украй небажаних для людини властивостей:

- ♦токсичний вплив на людину, тварин і екосистеми в цілому;
- ♦тривалий строк присутності в навколишньому середовищі (деякі інсектициди зберігаються в природі до 20 років);
- ♦постійне нагромадження в середовищі в усі зростаючих концентраціях;
- ♦біоаккумуляція в тканинах багатьох організмів і передача по харчових ланцюгах;
- ♦неспецифічність дії (поряд зі шкідниками вони знищують і корисних комах, серед яких є їхні природні вороги);
- ♦необхідність багаторазової обробки рослин протягом вегетаційного періоду;
- ♦високі витрати на виробництво.

З обліком цього останні 20 років проводилися інтенсивні пошуки альтернативних способів контролю чисельності комах-шкідників. Метою досліджень було виявлення природних, інсектицидів, синтезованих різними мікроорганізмами й рослинами. У порівнянні з хімічними інсектицидами природні, як правило, високоспецифічні й зазнають швидкої біодеградації. На жаль, вони не дуже ефективні, а їх одержання обходиться дуже дорого, що обмежує можливість їх широкого застосування. Однак якщо витягти гени, що кодують біосинтез природних інсектицидів, і впровадити їх у рослину,

воно саме може захистити себе від шкідників. Найбільш перспективної в цьому напрямку є ґрунтова бактерія Bacillus thuringiensis, яка виробляє токсин білкової природи, що пагубно діє на комах. Унікальність цієї бактерії полягає в тому, що різні її штами продуцирують токсини, специфічні відносно певних комах (табл. 3).

Таблиця 3.

Деякі штами Bacillus thuringiensis і продуцируємі ними токсини

Штам	Клас токсичності	Комахи-Мішені
Berliner	Cry I	Чешуєкрилі
Entomocidus 6.01	Cry I	Чешуєкрилі
Kurstaki HD-1	Cry II	Чешуєкрилі, двокрилі
Tenebrionis (san diego)	Cry III	— « —
Israelensis	Cry IV	Двокрилі

Наприклад, B. thuringiensis subsp. kurstaki токсичний для личинок чешуєкрилих, у тому числі моли й метеликів. B. thuringiensis subsp. israelensis знищує двокрилих: комарів і мошок. B. thuringiensis subsp. tenebrionis, також відомий як san diego, ефективний у відношенні жорсткокрилих, у тому числі колорадського жука й бавовняного довгоносика.

Інсектицид B. thuringiensis перебуває в бактеріальній клітині у вигляді параспорального кристала — структури, яка утворюється під час споруляції. Токсин у кристалі перебуває в неактивній формі[1], але після заковтування комахам він активізується в кишечнику й під дією специфічних травних протеіназ перетворюється в активний токсин. У такому виді він вбудовується в мембрану епітеліальних клітин кишечнику комаху й утворює іонний канал, через який, як починають, відбувається витік значної частини клітинного АТФ. Приблизно через 15 хв клітинний метаболізм блокується, комаха перестає харчуватися, відбувається зневоднювання організму й в остаточному підсумку наступає смерть.

Для створення рослин, стійких до комахвшкідникам, у клітини рослини вводять інсектицидний ген B. thuringiensis. Експресія такого гена приводить до синтезу в рослинній клітині бактеріального білкового токсину, і рослина стає «неїстівним» для комах. Розпорошувати інсектициди в цьому випадку не потрібно, токсини не потраплять у навколишнє середовище, термін дії такої «захисту» триває весь вегетаційний період і не залежить від дії зовнішніх факторів (температура, опади, сонячна радіація). Трансгенна рослина повинна синтезувати активну форму бактеріального токсину в кількості, достатньому для захисту рослини від шкідників. Для здійснення цього завдання був сконструйований ген токсину, який містив лише послідовність нуклеотидів і кодував активний токсин (646 N-Кінцевих амінокислотних залишків молекули протоксина, загальна довжина якої становить 1156 амінокислот). Для підвищення рівня експресії цей ген був постачений сильним рослинним ЗбБ-Промотором вірусу мозаїки кольорової

капусти. Крім того, був проведений сайтеспецифічний мутагенез ділянок генів токсину, відповідальних за ефективність транскрипції або трансляції в рослині-хазяїні. Трансгенні рослини, у яких експрессировався такий «слабко» модифікований ген, синтезували в 10 раз більше токсину, чому рослини, трансформовані геном дикого типу. Надалі була синтезована хімічними методами «повністю» змінена форма гена токсину. Внесені зміни дозволили значно підвищити рівень експресії в рослині. Так, трансгенні рослини, трансформовані сильно зміненим геном протоксина, синтезували в 100 раз більше токсину, чому рослини, трансформовані геном дикого типу.

Ще одним способом підвищення ефективності синтезу бактеріального інсектицидного токсину є впровадження гена в хлоропластну ДНК. По-перше, ген токсину присутній у великій кількості копій, тому що на одну клітину доводиться багато хлоропластів (у середньому 10—30, але буває й до 1000), а на один хлоропласт — багато копій хлоропластної ДНК (наприклад, у клітинах тютюну — 20 копій ДНК). По-друге, немає ризику переносу бактеріального гена токсину з пилком на інші рослини, тому що хлоропласти в пилку відсутні й передаються тільки через яйцеклітину, тобто рослини успадковують хлоропластну ДНК по материнській лінії.

Таким чином, у цей час отримані такі стійкі до комах-шкідникам трансгенні рослини, як томати, тютюн, картопля, рис, кукурудза, яблуня, баклажан, рапс, люцерна, горіх, бавовна й деякі інші. Наприклад, створені й використовуються в сільськогосподарському виробництві трансгенні рослини картоплі, що несуть синтетичний ген на основі гена інсектицидного токсину B. thuringiensis subsp. tenebrionis, високо-стійкі до колорадського жука — основному шкідникові картоплі.

Існують і інші підходи в створенні рослин, стійких до комах-шкідникам. Відомо, що деякі рослини синтезують інгібітори протеіназ, які, потрапляючи в кишечник комахи, блокують гідроліз рослинних білків. Якщо виділити рослинний ген інгібітору протеіназ і постачити його сильним промотором, то можна створити трансгенні сільськогосподарські культури, здатні синтезувати інгібітор протеіназ у кількості, достатньому для захисту від комах-шкідників. У такий спосіб були створені трансгенні рослини тютюну, стійкі до совку (Heliothis virescens), рослини рису, стійкі до рожевого стеблевому точильникові (Sesamia infer ens), основному шкідникові цієї культури, рослини гороху, стійкі до зерновки (Callosobrichus maculatus) і довгоносикові (C.chinensis).

Рослини, стійкі до гербіцидів. Для захисту сільськогосподарських полів від бур'янів і, таким чином, для збільшення врожаю застосовують спеціальні хімічні препарати — гербіциди. На їхнє виробництво в усьому світі щорічно витрачається 10 млрд дол. США. При цьому багато гербіцидів виявляють вплив не тільки на бур'яни, але й на ті рослини, для захисту яких їх використовують. Крім того, гербіциди накопичуються в навколишньому середовищі і являють певну загрозу для живих організмів, у тому числі й людини. Таким чином, існує проблема захисту хазяйновито коштовних культур від несприятливого впливу на них гербіцидів. Для її рішення

створені трансгенні рослини, що володіють стійкістю до цих хімічних препаратів. Першою такою рослиною була соя, з якої й почалося промислове впровадження трансгенних рослин у сільськогосподарське виробництво. Були отримані трансгенні рослини тютюну, томатів, картоплі, сої, стійкі до гербіциду гліфосату. Гліфосат є інгібітором 3-фосфатсинтетази (EPSPS) — ферменту, що відіграє важливу роль у синтезі ароматичних амінокислот у бактерій і рослин. Із глифосатустойчивого штаму E. coli був виділений ген, що кодує EPSPS, і після створення на його основі спеціальної генетичної конструкції, що забезпечує експресію цього гена, уведений у рослинні клітини. Трансгенні рослини, що синтезували EPSPS у кількості, достатньому для заміни інгібированого гербіцидом рослинного ферменту, були стійкі до гліфосату, тобто при обробці їм не гинули.

Інший спосіб придбання стійкості — інактивація гербіциду. У цьому випадку створили трансгенні рослини бавовни й тютюну, стійкі до бромоксинилу — гербіциду, який інгібує фотосинтез. Стійкі рослини створювали шляхом уведення в їхній геном бактеріального гена, що кодує нітрилазу, яка інактивирує бромоксинил ще до того, як він починає діяти. Трансгенні рослини синтезували активну нітрилазу й були стійкі до бромоксинилу.

У цей час створені трансгенні рослини, стійкі до наступних груп гербіцидів: тріазини, імідазолиноли, арилоксифен-ксипропионати, циклогександіони, гліфосати, бромоксинил, феноксикарбоксильні кислоти, глюфозинат (фосфинотрицин), ціанамід, далапон.

Рослини, стійкі до вірусів. Віруси рослин (фітовіруси) заподіюють значний збиток рослинам і суттєво знижують урожай. Відомо, що обробка рослин генами, що кодують білки оболонки вірусу або антисмисловими послідовностями вірусної РНК (більшість фітовірусів є РНК-утримуючими), дозволяє одержувати рослини, стійкі до вірусних інфекцій. Створення трансгенних рослин, що несуть у своєму геномі ген білка оболонки вірусу, дозволяє значно обмежити здатність вірусу проникати в рослину й поширюватися в ньому. Крім того, виявлене, що ген білка оболонки одного вірусу іноді забезпечує стійкість до широкого кола неспоріднених вірусів. Оскільки сільськогосподарські культури найчастіше піддано декільком вірусним інфекціям (наприклад, картопля інфікується вірусом тютюнової мозаїки, X-, Y-, S-, M- Вврусами картоплі, вірусом скручування листів картоплі й ін.), бажане, щоб трансгенні рослини були стійка одночасно до декільком вірусам. Для цього в рослинний геном уводять відразу кілька генів, що кодують білки оболонки різних вірусів. При цьому ефективність захисту рослин від вірусної інфекції підвищується]. У цей час отримані трансгенні рослини, стійкі до різних вірусів:

Трансгенна рослина	**Джерела генів білка оболонки**
Картопля	Вірус скручування листів картоплі, X-, Y-, S- віруси картоплі

Люцерна	Вірус мозаїки люцерни
Огірок	Вірус мозаїки огірка
Папайя	Вірус кільцевої плямистості папайї
Рис	Вірус смугастості рису
Тютюн	Вірус бронзовості томатів Вірус гравірування тютюну Вірус мозаїки огірка Вірус мозаїки сої Вірус погремковости тютюну Вірус тютюнової мозаїки Х-вірус картоплі
Томати	Вірус мозаїки люцерни Вірус мозаїки томатів Вірус тютюнової мозаїки
Гарбуз	Вірус мозаїки кавуна Вірус жовтої мозаїки кабачків

Рослини, що протистоять старінню. Серйозною проблемою при транспортуванні фруктів і овочів є їхнє передчасне дозрівання й розм'якшення. Установлене, що при дозріванні плодів у рослинах активуються специфічні гени, що кодують ферменти целлюлази й полігалактуронази. Якщо придушити експресію цих генів, то дозрівання може початися пізніше. Відомо також, що етилен ініціює експресію безлічі генів, відповідальних за дозрівання й старіння плодів. Передчасне старіння плода можна запобігти, блокуючи синтез етилена. Таким чином, сповільнити дозрівання плодів можна інгібіруванням відповідних генів.

Для інактивації генів, що кодують целлюлазу й полігалактуроназу, були створені трансгенні рослини томатів, у яких синтезувалися анти-значеннєві РНК-версії цих генів. При введенні таких генів у геном рослин томатів кількість відповідної мРНК і активність ферментів зменшувалися на 90%. Ці томати знайшли широке застосування в сільськогосподарському виробництві США.

Для придушення синтезу етилена були отримані трансгенні рослини томатів, що синтезують антизначеннєві мРНК ферментів, необхідні для синтезу етилену. Також у промислових масштабах вирощується генетично модифікована мускатна диня з уповільненим дозріванням. Таким чином, завдяки зниженню синтезу етилену в цих рослин його зміст був набагато нижче, чим у звичайних рослинах, і вони мали більш тривалий строк зберігання.

Зміна харчової цінності рослин. Генетична модифікація рослин може змінювати якість і підвищувати врожайність самих різних сільськогосподарських культур. Причому генно-інженерні технології дозволяють не тільки прискорити процес одержання рослин з поліпшеними властивостями, але й створювати сорту з новими ознаками, які неможливо

було б передати рослинам за допомогою традиційних методів схрещування. Уже отримані культури з поліпшеними харчовими якостями (кукурудза, горох), створені сорти олійних культур зі зміненим жирнокислотним складом насінь, а також сорту плодових і фруктових культур з поліпшеним смаком плодів.

Генно-інженерні методи використовують для поліпшення біологічної цінності запасних білків насінь. Як правило, у цих білках відсутні деякі незамінні амінокислоти (звичайно лізин або метіонін), що робить їх біологічно неповноцінними. Змінивши нуклеотидну послідовність генів запасних білків насінь, можна синтезувати білок з потрібним амінокислотним складом. При вкрай низькому змісті незамінних амінокислот у білку збільшити їхню кількість можна шляхом регуляції біосинтезу. Таким шляхом були отримані трансгенні рослини сої й рапсу, у насіннях яких зміст вільного лізина було в 100 раз, а зміст лізина в складі білків — в 2 рази (у сої) і в 5 раз (у рапсу) більше, чим у вихідних рослинах. У цей час подібні роботи ведуться з кукурудзою, яка, як відомо, широко використовується не тільки як харчовий продукт, але і як корм для худоби. Збагачення білків кукурудзи лізиному дозволило б значно підвищити її біологічну цінність.

Зміна жирнокислотного складу ліпідів олійних культур. Основними сільськогосподарськими культурами, використовуваними для виробництва масел, є соя, канола (рапс), пальма й соняшник. До складу одержуваних з них масел входять головним чином пальмітинова, стеаринова, олеінова, ліноленова й лінолева жирні кислоти. Перші дві з них є насиченими жирними кислотами, інші три — ненасиченими. Як відомо, найбільшу цінність представляють ненасичені жирні кислоти. Так, у маслиновім маслі втримується переважно олеінова кислота — 82% і лише незначні кількості пальмітинової — 9, стеаринової — 2 і лінолевої — 4%. Масла деяких рослин містять специфічні жирні кислоти. Наприклад, масла рапсу й гірчиці включають від 42 до 55% ненасиченої ерукової кислоти.

За допомогою методів генної інженерії можна змінювати ступінь ненасиченості й довжину ланцюгів цих жирних кислот. Була створена й випробувана безліч трансгенних сортів рапсу, які синтезували масла зі зміненим жирнокислотним складом (табл. 4). Кожний трансгенний сорт містив один додатковий ген. Наприклад, рослини, що синтезують у великій кількості стеаринову кислоту, містили у своєму геномі антизначеннєву копію гена ферменту стеаратдесатурази капусти. У результаті експресія гена каноли пригнічувалася й накопичувалася стеаринова кислота, яка перетворювалася в олеінову. Цей підхід дозволяє створювати нові сорти олійних культур із заданим набором жирних кислот. Зараз на ринку є різні сорти сої, рапсу й інших олійних культур з високим змістом олеінової кислоти.

Зміна смаку. У цей час для поліпшення смаку харчових продуктів додають сіль, цукор, ароматизатори, інші харчові добавки, найчастіше штучного походження. Безсумнівно, було б економічно вигідніше і безпечніше для здоров'я людини, якби вихідна сировина безпосередня містило речовини, що надають майбутньому продукту необхідний смак.

Таблиця 4. Трансгенні сорти каноли (рапсу) зі зміненим жирнокислотним складом насінь

Жирна кислота	Зміст жирної кислоти в рапсовім маслі (%)	продукти, що виготовляються
Насичені:		
стеаринова	40	Маргарин, шоколадне масло
лаурінова	40	Детергенти
лаурінова	60	Детергенти
миристинова	40	Детергенти, мила, предмети особистої гігієни
Ненасичені:		Харчові продукти, чорнило
олеінова	80	Косметика, чорнило, фармацевтичні препарати, полімери
ерукова	90	Детергенти, полімери
летрозелинова	-	Косметика, фармацевтичні препарати, пластифікатори, мастильні препарати
рицинолеінова	-	

Інші напрямки генетичної модифікації рослин. Крім одержання сировини із заданими властивостями генетична інженерія рослин дозволяє використовувати їх як «біореактори» — організми, у яких здійснюється суперпродукція тих або інших необхідних для людини речовин.

Донедавна в якості таких «біореакторів» використовувалися винятково «рекомбинантні» мікроорганізми, які синтезували для людини лікарські препарати, гормони, антибіотики й інші з'єднання. Зараз робляться спроби замінити мікроорганізми рослинами, які мають у порівнянні з ними ряд переваг. По-перше, рослини мають значну біомасу. По-друге, культивування рослин, як правило, економічно вигідніше і не вимагає створення специфічних виробництв і залучення висококваліфікованих фахівців. І, нарешті, генетична модифікація рослинного генома є досить стабільної, у той час як мікроорганізми в процесі тривалого культивування можуть втрачати плазмідну ДНК, у складі якої й перебувають необхідні гени.

Уже створені експериментальні установки по одержанню за допомогою рослин моноклональних антитіл, функціональних фрагментів антитіл, а також полімерів р-гидроксибутирата, з яких можна виготовляти пластик, підданий біодеградації. У майбутньому можливе одержання за допомогою рослин різних лікарських препаратів і матеріалів, необхідних для господарської діяльності людини.

2. *Генетично модифіковані джерела тваринного походження.*

Якщо трансгенні культури сільськогосподарських рослин досить широко використовуються в якості сировини для виробництва продуктів харчування, то роботи з одержання трансгенних тварин перебувають поки на стадії експериментального відпрацьовування створення схем уведення й ефективної експресії чужорідних генів (трансгенів). Трансгенні технології можуть бути використані для виведення поліпшених порід свійських тварина й птахів: корів з більш високою удійністю, овець із якісною вовною, курей з підвищеною яйценосністю й т.п.

Експерименти по введенню чужорідних генів у клітини ссавців і можливість створення генетично ідентичних тварин шляхом переносу ядра з ембріональної клітини в яйцеклітину з вилученим ядром (клонування) дозволили включати в хромосомну ДНК вищі тварин функціональні гени або їх кластери. Використовувана стратегія полягає в наступному:

1. Клонований ген уводять у ядро заплідненої яйцеклітини.
2. Інокульовані запліднені яйцеклітини імплантують у реципієнтну жіночу особину. Успішне завершення розвитку ембріона ссавців в інших умовах неможливо.
3. Відбирають нащадків, які розвилися з імплантованих яйцеклітин і містять клонований ген у всіх клітинах.
4. Схрещують тварин, які несуть клонований ген у клітинах зародкової лінії й одержують нову генетичну лінію.

Трансгенні технології розроблялися на мишах. За 20 років досліджень у різні лінії мишей були введені сотні генів. У результаті були вивчені механізми генної регуляції й розвитку пухлин, природа імунологічної специфічності, молекулярна генетика росту й розвитку, інші фундаментальні біологічні процеси, а також створені трансгенні лінії, що дозволяють моделювати різні генетичні хвороби людини.

Трансгенна велика рогата худоба. Метою трансгеноза великої рогатої худоби є зміна змісту різних речовин — білків, ферментів і інших, у молоці. Наприклад, уведення трансгена білка донказеїну в клітини молочної залози і його наступна гіперекспресія приведе до підвищення кількості цього білка в молоці. Використання такого молока як сировини при виробництві сиру дозволить значно збільшити вихід готового продукту. Уведення й експресія гена ферменту лактази, каталізуючого гидролітичне розщеплення молочного цукру лактози, дасть можливість одержувати молоко, придатне для людей, в організмі яких порушений синтез цього ферменту.

Іншою метою трансгеноза є створення свійських тварина, стійких до інфекцій і паразитарним інвазіям.

Іншою метою трансгеноза є створення свійських тварина зі спадкоємною стійкістю до бактеріальних і вірусних інфекцій, а також до паразитарних інвазій.

Для створення трансгенних корів використовували схему трансгеноза методом мікроін'єкцій ДНК (мал. 2).

На першому етапі робили збір ооцитів (жіночих полових клітин) у корів, забитих на бойні. Ці яйцеклітини поміщали in vitro в умови, у яких відбувалося їхнє дозрівання до стадії повної зрілості. Після цього їх запліднювали бичачою спермою. Потім робили центрифугирование запліднених яйцеклітин для концентрування жовтка, щоб він не заважав спостерігати за подальшими маніпуляціями. Після цього методом мікроін'єкції ДНК здійснювали введення трансгена в чоловічий пронуклеус (ядро сперматозоїда); запліднені яйцеклітини з генетично модифікованим геномом поміщали в спеціальні умови in vitro, у яких починається процес ембріонального розвитку, і культивували до стадії бластоцисти. Ембріон, що розвився до стадії бластоцисти, імплантували нехірургічним шляхом у матку реципієнтної корови, де відбувалося його подальший ембріональний розвиток. Після народження дитинчат проводили скринінг їх ДНК на наявність трансгена. На заключному етапі робили схрещування трансгенних особин для одержання гомозиготної лінії трансгенних тварин.

Слід зазначити, що ефективність одержання трансгенних тварин цим методом дуже низька (мал. 3). Так, в експериментах з 2407 ооцитів були отримані всього два трансгенних теляти. Дослідження в області вдосконалення методів трансгеноза тривають.

Трансгенні вівці, кози й свині. Метою трансгеноза овець, кіз і свиней є перетворення молочних залоз цих тварин в «біофабрики» по виробництві білкових продуктів, що використовуються в медицині. За допомогою трансгенних конструкцій, що містять гени людини, були створені трансгенні вівці й кози, у молоко яких секретировались білки людини. Ці білки мали активність, близьку до активності білків, що синтезуються в організмі людини. Експресія трансгенів у клітинах молочних залоз овець і кіз не виявляла ніяких побічних дій ні на самок у період лактації, ні на потомство, що вигодовує.

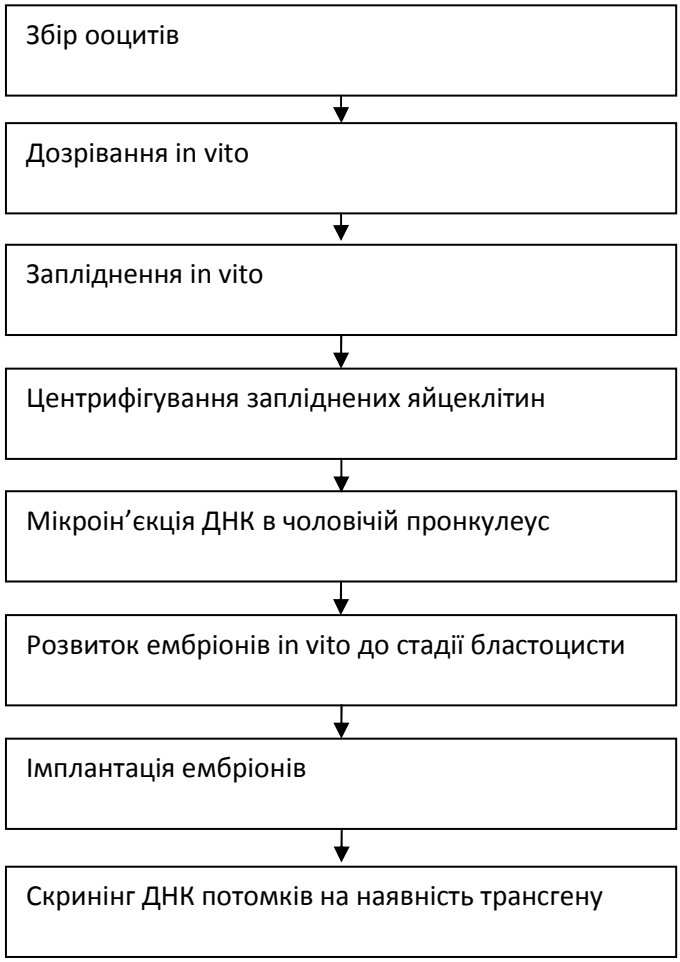


Рис. 2. Схема одержання трансгенних корів

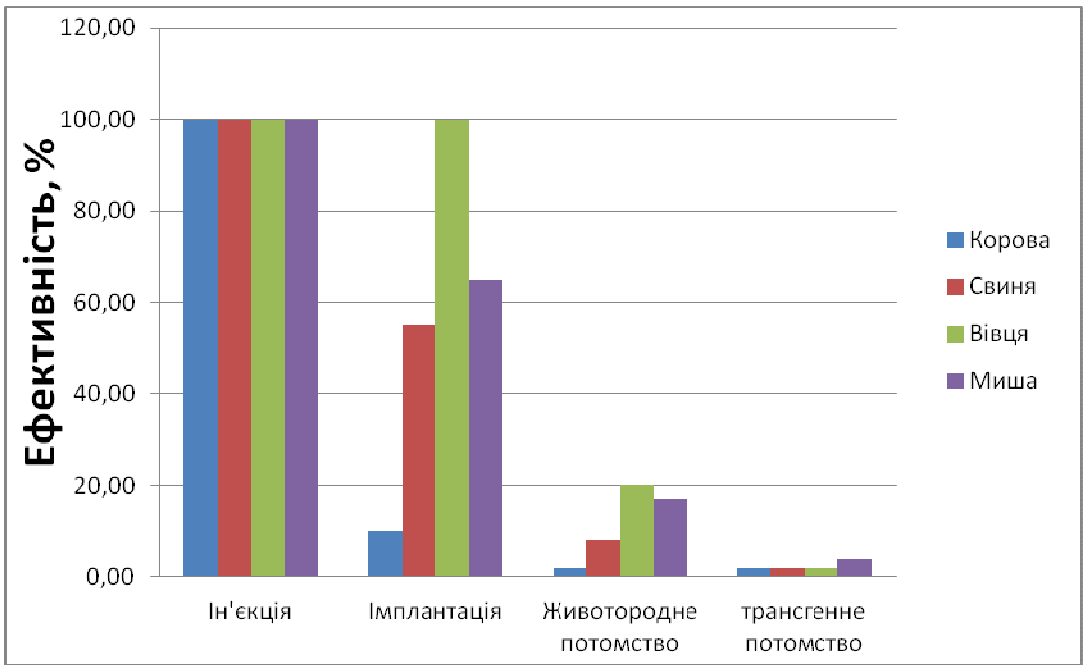


Рис. 3. Сумарна ефективність трансгеноза методом мікроін'єкцій ДНК

Однак трансгенні свині, що несуть трансген бичачого гормону росту, швидко додавали у вазі. У той же час у цих тварин відзначалися виразка

шлунку, ниркова недостатність, кульгавість, зменшення рухливості суглобів і інші патології, причина яких не встановлена.

Були створені трансгенні вівці з підвищеною швидкістю росту вовни й трансгенні свині, у клітинах крові яких у великій кількості синтезувався людський гемоглобін. Гемоглобін, продуцируемій трансгенними свинями, мав такі ж хімічні властивості, що й природний людський. Незважаючи на те що отриманий таким способом людський гемоглобін має певні побічні ефекти при використанні й більш низьку ефективність у переносі кисню, ці результати вказують на принципову можливість заміни цільної крові, використовуваної при трансфузії, людським гемоглобіном, отриманим методом трансгеноза.

Нижче наведені трансгенні конструкції, що містять гени людини, і реципиєнтні організми:

Трансген	Організм-Реципієнт
Ген активатора плазминогена тривалої дії	Коза
Ген otjсантитрипсину	Вівця
Ген фактора IX системи згортання крові	— « —
Ген лактоферрина	Корова
Ген интерлейкина-2	Кролик

Трансгенні риби. Дослідження в області одержання трансгенних риб стосуються встановлення впливу трансгена гормону росту на швидкість росту організму. Із цією метою в яйцеклітини атлантичного лосося був уведений трансген ген, що містить, гормону росту лосося й регуляторну послідовність американскої білка американської бельдюги. Як правило, трансгенні лососі були крупніше й швидше додавали у вазі, чому контрольні трансформовані особини. В іншому експерименті однорічні трансгенні особини нерки, отримані в результаті введення в яйцеклітини генетичної конструкції гормону росту, важили приблизно в 11 раз більше, чим нетрансгенні.

Технологія одержання трансгенних риб розроблена для коропа, форелі, лосося й інших видів риб і полягає в наступному. Трансгени вводять у запліднені яйцеклітини мікроін'єкцією ДНК або електропорацією. Подальший ембріогенез протікає у воднім середовищі, поза організмом, у резервуарах з регульованими умовами. Виживаність ембріонів риб після ін'єкцій становить від 35 до 80%, а частка трансгенних нащадків — від 10 до 70% . Таким чином, ефективність трансгеноза риб досить велика.

Передбачається, що в майбутньому в риб будуть уведені гени стійкості до хвороб, стресових впливів навколишнього середовища й ін.

Трансгенні птахи. Ціль створення трансгенних птахів - поліпшення генотипу вже існуючих порід. Серед переданих трансгенозом ознак можуть бути такі, як стійкість до вірусних інфекцій і захворюванням, підвищення ефективності засвоєння їжі, зниження рівня жиру й холестерола в яйцях, підвищення якості м'яса. Крім того, яйце можна використовувати в якості

джерела білкових продуктів для фармацевтичної промисловості. Однак одержання трансгенних птахів обмежується відсутністю технології трансгеноза для цієї групи тварин. Метод мікроін'єкції ДНК у запліднені яйця, широко використовуваний для ссавців і риб, не може бути застосований у цьому випадку через особливості відтворення й розвитку птахів. Використання вірусних векторів на основі ретровирусів також проблематично, особливо у зв'язку з погрозою пташиного грипу. У цей час найбільш перспективним представляється метод з використанням рекомбінантних ембріональних клітин (мал. 4).

1. Виділяють клітини бластодерми з курячого ембріона.
2. Трансфіцирують їх за допомогою ліпосом, пов'язаних із транс генної ДНК.
3. Уводять трансфицированні клітини бластодерми в під зародкову область свіже-відкладених яєць.
4. З курчат, що вилупилися, відбирають химерні організми (тварини, які несуть трансген).
5. Проводять кілька раундів схрещування химерних птахів.
6. У результаті одержують лінії трансгенних тварин.

Рис. 4. Одержання трансгенних курчат трансфекцією ізольованих клітин бластодерми

Таким чином, у цей час отримані трансгенні корови, вівці, свині, птаха й риби. Трансгени дозволяють поліпшувати генотип порід домашньої худоби й виводити породи тварин з новими ознаками. Крім того, можливо, що трансгенних свійських тварина можна використовувати в якості «біофабрик» для одержання продуктів клонованих генів, секретируємих у молоко.

3. *Генетично модифіковані джерела мікробного походження.*

Генетично модифіковані мікроорганізми (ГММ), або трансгенні мікроорганізми — це мікроорганізми (бактерії, дріжджі, синьо-зелені водорості, віруси й ін.), у яких генетичний матеріал (дезоксирибонуклеінова кислота) змінений з використанням методів генної інженерії.

Мікроорганізми, що мають генетично модифіковані аналоги (МГМА) — це мікроорганізми, що традиційно використовуються в харчовій промисловості, для яких, згідно з офіційною інформацією й науковим публікаціям, є аналогічні представники роду й виду, піддані генетичним змінам методами генної інженерії й потенційно придатні для використання у виробництві харчових продуктів.

Можливе застосування ГММ. Учені припускають, що трансгенні мікроорганізми зможуть застосовуватися для наступних цілей:

♦ зупинка настання пустель і відновлення родючості тих земель, які вже стали пустелями (за допомогою штамів трансгенів, здатних ефективно поглинати й зв'язувати вологу атмосфери);

♦ підвищення врожайності сільськогосподарських рослин (трансгенні азотфиксатори, продуценти БАВ і ін.);

♦ придушення сільськогосподарських шкідників і фітопатогенів (трансгенні біопестициди);

♦ підвищення біологічної продуктивності планктонів Світового океану;

♦ очищення ґрунтів і водойм від забруднюючих речовин (трансгенні штами-деструктори);

♦ одержання живих пероральних трансгенних вакцинних штамів, використовуваних в охороні здоров'я й ветеринарії.

♦ поліпшення виробництва їжі й кормів (трансгенні дріжджі, молочнокислі бактерії, целлюлолітичні гриби й ін., що попадають у навколишнє середовище й/або в організм людини й тварин).

За допомогою ГМ-мікроорганізмів отримані наступні продукти харчування і їх компоненти:

—бактеріальні харчові ферменти;

—гриби й дріжджі, використовувані у виноробстві й при виробництві сирів;

—дріжджі для хлібопекарської й пивоварної промисловості;

—сири, пиво, молочна продукція, копчені ковбаси.

Деякі ферменти, отримані за допомогою генетично Змінених бактерій, використовують при випічці хліба, при цьому борошно освітляється, а хліб стає більш пишним.

У Німеччині за допомогою ГМ-мікробів одержують транс генні пектинази для виробництва соків, причому показане, що в готових соках і винах ці пектинази відсутні.

Генетична модифікація використовувалася для додання пивним дріжджам ряду нових властивостей — наприклад, здатності розкладати різні вуглеводи й білки, привносити в метаболічні процеси зміни, що позначаються на смаку пива (дріжджі зі зниженим продукуванням диацетила, сірководню, двоокиси сірки, диметил сульфід а), змінювати флоккул яционну здатність дріжджів під час шумування й деяких інших.

Так, були створені пивні дріжджі, здатні використовувати широкий спектр вуглеводів. Трансформація дріжджів геном глюкоамілази з Aspergillus niger дозволила їм збраживати декстрини сусла й робити на 1% про. більше етанолу. Відомі також спроби сконструювати дріжджові штами, які можуть робити гібридний фермент, що виконує одночасно функції азамілази й глюкоамилази, і тим самим здійснювати повну деградацію крохмалю в збраживаємі цукор. Донорами генів з'явилися Aspergillus niger і A. awamory. Уведення в дріжджі генів р-глюконази з Bacillus subtilis дозволило значно поліпшити фильтруємість пива й тим самим знизити утворення каламуті й осаду.

У цей час список ГММ і харчових продуктів на основі ГММ, що мають офіційний дозвіл на застосування в харчовій промисловості у світі, нараховує більш 50 найменувань.

Рекомендована література до вивчення теми: [1, 2, 3, 4, 5, 12, 21].

Тема 1.3. Технологія створення генетично модифікованих рослин

План

1. *Основні аспекти прямої генетичної дії на рослинний організм.*

Як ми вже відзначали, у практиці створення нових або поліпшених сортів сільськогосподарських рослин усе більше значення набуває прямий генетичний вплив на рослинний організм. У результаті такого втручання виходить трансгенний організм, геном якого містить чужорідний генетичний матеріал .

Загальна схема створення трансгенних рослин представлена на мал. 5.

Основні етапи цього процесу включають:

1) одержання цільових генів, призначених для введення в рослину, і конструювання касети експресії;

2) конструювання вектора, що несе цільовий ген;

3) трансформацію рослинних клітин;

4) регенерацію цілої рослини із трансформованої клітини;

5) детектирования трансформованих рослин серед регенерантов.

Одержання цільових генів. На першому етапі необхідно одержати ген, який буде вводитися в реципиєнтну клітину рослини-хазяїна. Для цього існує кілька можливостей.

Якщо розшифрована нуклеотидна послідовність ДНК і картировані гени донорного організму (тобто відомо, які фрагменти цієї ДНК кодують ті або інші ознаки), то потрібний ген може бути вирізаний спеціальними ферментами рестриктазами з геномної ДНК донора. Іншим способом одержання цільового гена є хімічний або ферментативний синтез потрібного фрагмента ДНК. І, нарешті, шукану нуклеотидну послідовність можна одержати ферментативним синтезом ДНК із матричної РНК — кДНК. Таким чином, у результаті реалізації того або іншого способу одержують фрагмент ДНК, що несе ген, що кодує необхідна ознака.

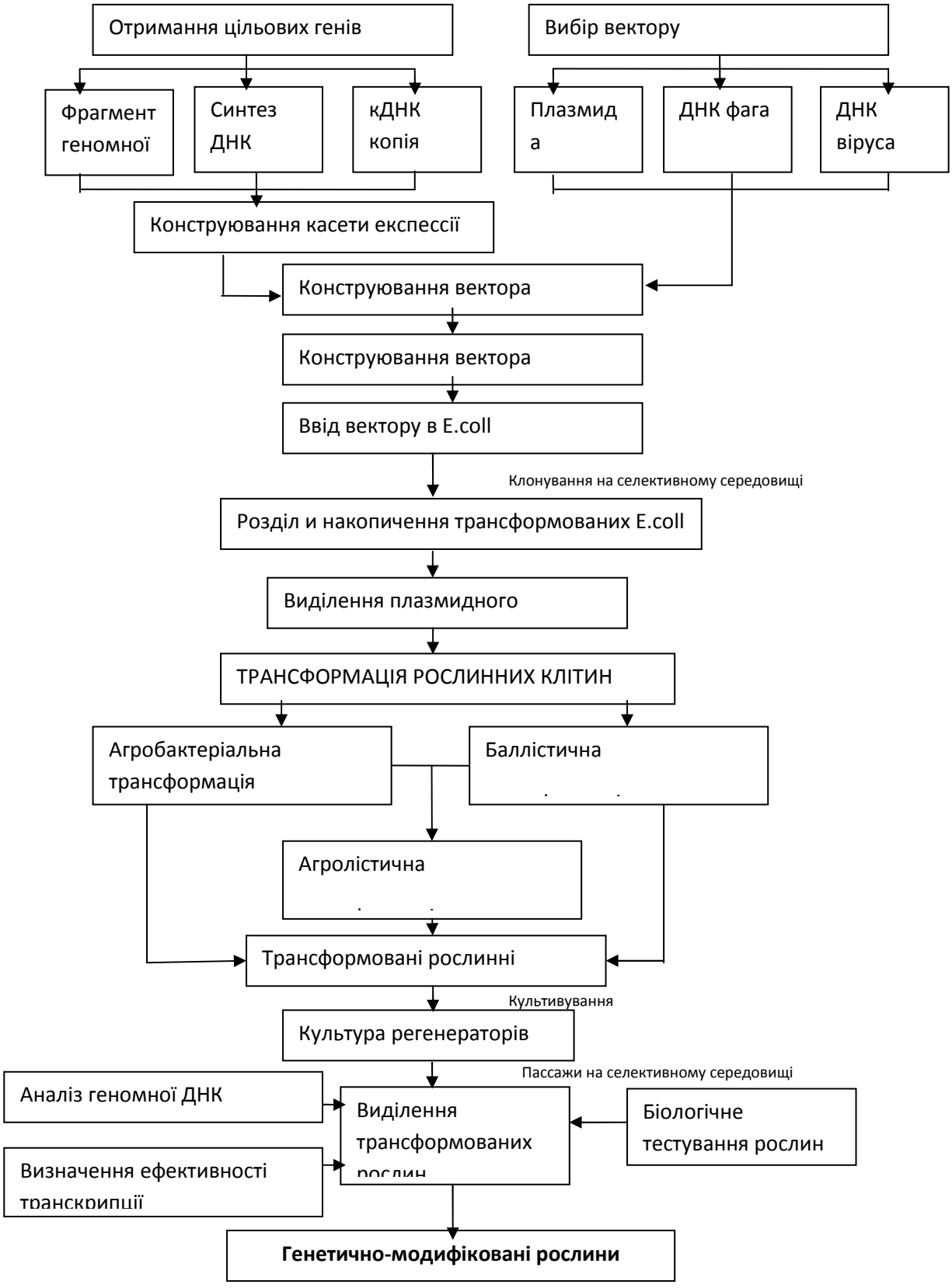


Рис. 5. Схема створення генетично модифікованих рослин

Для того щоб ген після введення його в організм нового хазяїна експрессувався, тобто працював, і, як результат цього, у клітині синтезувався відповідний білок, необхідно постачити його регуляторними елементами.

Регуляторні елементи являють собою певні послідовності нуклеотидів, які дозволяють гену функціонувати. Обов'язковими компонентами регуляторних елементів є:

♦ промотор — ділянка молекули ДНК, з яким зв'язується РНК-полімеразу (фермент, каталізуючий синтез мРНК), що супроводжується ініціацією транскрипції гена;

♦ термінатор — ділянка молекули ДНК, що визначає закінчення синтезу молекули мРНК.

У якості промотору найчастіше використовують сильний промотор 35S вірусу мозаїки кольорової капусти. Він ставиться до конститутивних промоторів, тобто таким, які працюють протягом усього життя рослини. Іноді потрібні специфічні промотори — такі, які активні в окремих клітинах, тканинах, органах або лише на певних стадіях життя рослин. Наприклад, є промотори, які працюють тільки в бульбах картоплі й ніколи не будуть працювати в його листах. Нарешті, існують індуцибельні промотори, які активуються тільки під впливом певних факторів — хімічних речовин, температури й ін. Залежно від того, який ген повинен бути перенесений у рослину й у який період він повинен експрессироватися, для створення вектора вибирають той або інший промотор.

Таким чином, касета експресії являє собою групу функціонально зв'язаних ділянок ДНК, до складу якої входять промотор, цільовий ген і термінатор.

Конструювання вектора. Сама по собі касета експресії не може потрапити в клітину-реципієнт і інтегруватися (впровадитися) у хромосоми рослини-хазяїна. Для цього потрібний вектор — спеціальна молекула ДНК, яка може проникати в клітини рослин і там саморепліцироватися, або вбудовуватися в ДНК хазяїна й репліцироватися разом з нею.

У якості вектора звичайно використовують ДНК вірусу або бактеріофага, а також плазміди бактерій (кільцеві молекули ДНК, що несуть невелику кількість генів і присутні в бактеріальній клітині поряд із хромосомної ДНК). Саме плазміди найчастіше застосовуються для трансформації рослин.

Перші спроби створення таких векторних систем ґрунтувалися на використанні Ті-плазмиди (від англ. tumor-inducingplasmid) ґрунтової бактерії Agrobacterium tumefaciens. A. tumefaciens — фітопатоген, який інфікує клітини рослин, що приводить до утвору пухлини — корончатого галла, що порушує нормальний

ріст рослини (мал. 6). Причому, ця бактерія може вражати тільки клітини двочасткових рослин.

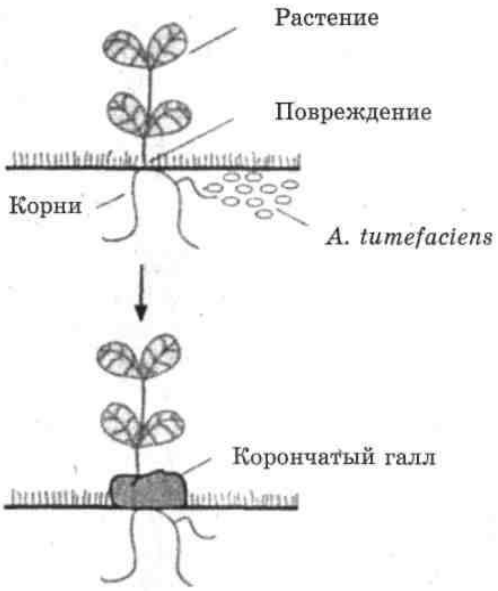


Рис. 6. Інфікування рослин A. tumefaciens і утворення корончатого галла

Утвір корончатого галла є результатом трьох взаємозалежних процесів:

1. Проникнення бактерії в клітину рослини.
2. Інтеграція в геном рослинної клітини специфічного сегмента плазмідною ДНК бактерії — Т-ДНК (від англ. transferred DNA — частина плазміди, індуцируючої розвиток пухлини).
3. Експресія окремих генів Т-ДНК.

Інфекційний процес починається із прикріплення

A. tumefaciens до клітин рослини в місці ушкодження, найчастіше в підстави стебла. Ушкоджена рослина виділяє специфічні фенольні з'єднання, які активують гени вірулентності (vir-гени), локалізовані в ділянці Ті-плазміди за межами Т-ДНК (рис. 7).

Продукти vir-генів необхідні для транспорту й інтеграції Т-ДНК у геном рослинної клітини. Після активації vir-генів Т-ДНК транспортується в клітину. При [4] цьому вона перебуває в одноцепочечній формі, і саме в такій формі відбувається її вбудовування в хромосомну ДНК рослини.

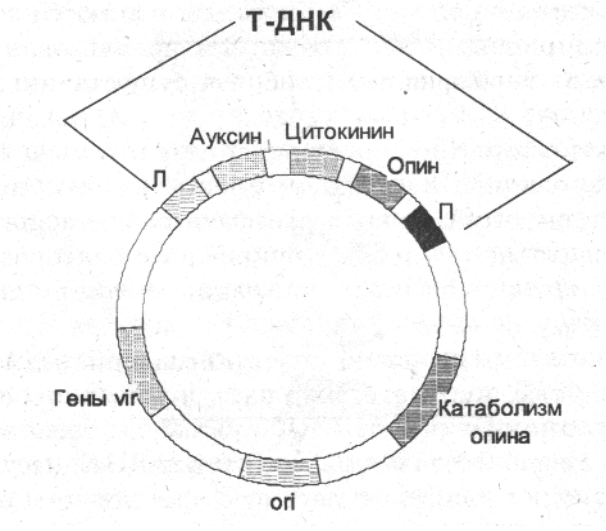


Рис. 7. Генетична карта Ті-плазмиди (масштаб не дотриманий). Т-ДНК містить гени ауксину, цитокинина й опина, які транскрибуються й транслюються тільки в рослинних клітинах За межами Т-ДНК перебуває кластер vir-генів гени, що кодують ферменти катаболізму опина, і сайт ініціації реплікації (oir), який забезпечує стабільна підтримка плазмвди в A. tumefaciens Л и П - ліва й права фланкуючі послідовності відповідно

Більшість генів Т-ДНК активуються тільки після її інтеграції в хромосомну ДНК рослини. Їхні продукти й викликають утвір корончатого галла. Це відбувається в результаті експресії плазмідних генів, що кодують ферменти, що забезпечують синтез рослинних гормонів ауксину (ІУК — індолілуксусна кислота) і цитокінинов. Ауксин і цитокиніни регулюють ріст і розвиток рослинної клітини, але, присутствуя в надлишку, можуть викликати в рослин утвір пухлин.

При використанні Ті-плазмиди в якості вектора для генетичної трансформації рослин касету експресії, що містить Цільовий ген, вбудовують у Т-ДНК, а потім такий модифікованої плазмидою, поміщеної в бактерію A. tumefaciens, інфікують клітини рослин.

Незважаючи на те що Ті-плазмиди є ефективними природними векторами, їх використання має деякі обмеження. Найбільш істотні з них наступні:

1. Ауксин і цитокинини, синтезовані трансформованими Ті-плазмидами клітинами, пригнічують регенерацію зрілих рослин із цих клітин. Отже, при конструюванні векторів на основі Ті-плазмид гени ауксину й цитокинина повинні бути вилучені.

2.Ті-плазмиди мають дуже великий розмір (200— 800 тис. нуклеотидних пара), а для експериментів з рекомбинантними ДНК потрібні вектори меншого розміру. Отже, ділянки ДНК, несуттєві для клоуючого вектора, повинні бути вилучені.

3.Ті-плазмиди не реплицируються в кишковій бактерії Escherichia coli (саме в цих бактеріях роблять клонування створеного вектора для одержання безлічі його копій, які надалі й будуть використовувати для трансформації рослинних клітин). Отже, при конструюванні векторів необхідно ввести в них сайт ініціації реплікації, що забезпечує їхнє відтворення в E. coli. Крім маніпуляцій, пов'язаних з видаленням з Ті-плазмид певних ділянок ДНК і введення в них сайту ініціації реплікації кишкової бактерії,' у вектор включають спеціальний ген, який дозволяє ідентифікувати трансформовані клітини. Він дає можливість виявити клітини рослин, що несуть чужорідну ДНК у складі геномної ДНК трансформованого рослини. Ці гени дозволяють або проводити добір трансформованих клітин — у цьому випадку вони називаються селективними маркерними генами, або оцінювати активність кодуємого ними ферменту — регуляторні гени. Випробувано кілька десятків генів, які можна використовувати як селективні маркерні гени, і репортерних

генів, чий білковий продукт можна виявити за допомогою спеціальних методів (табл. 5).

Як правило, у якості репортерних використовують бактеріальний плазмидний ген ферменту, який забезпечує стійкість трансформованих рослинних клітин до того або іншому антибіотику. Найчастіше це ген неомицинфосфотрансферази, що забезпечує стійкість до канамицину. У якості селективних маркерних генів використовують гени, які кодують ферменти, що забезпечують стійкість рослинних клітин до антибіотиків або гербіцидів. Так, у присутності канаміцина виживають тільки ті клітини, які синтезують активну неомицинфосфотрансферазу. Оскільки цей ген бактеріальний (прокариотический) і не може експрессироватися в рослинах, його ставлять під контроль рослинних (еукариотических) сигналів регуляції транскрипції, у тому числі промотору й термінатора. Це забезпечує ефективну експресію гена в трансформованих рослинних клітинах. Однак слід зазначити, що, на думку експертів-біотехнологів, присутність деяких генів і їх продуктів може приводити до забруднення комерційного продукту. У зв'язку із цим краще не вводити гени стійкості до антибіотиків у сільськогосподарські рослини.

Таблиця 5. Системи репортерних і селективних маркерних генів рослинних клітин

Фермент	Використання у якості селективного маркерного гена	Використання у якості репортерного гена
Неомицинфосфотрансфераза	так	так
Гигромицинфосфотрансфераза	так	так
Хлорамфениколацетилтрансфераза	так	так
Гентамицинацетилтрансфераза	так	так
Нопалинсинтаза	немає	так
Октопинсинтаза	немає	так
β-Глюкуронидаза	немає	так
β-Галоктозидаза	немає	так
Ацетолактатсинтаза	так	немає
Бромоксинилнитрилаза	так	немає

Таким чином, здійснивши всі необхідні модифікації Ті-плазмид, одержують вектор, придатний для трансформації клітин рослин.

Усі вектори на основі Ті-плазмид організовані подібним образом і крім касети експресії містять наступні елементи:

♦ селективний маркерний ген, який забезпечує стійкість трансформованих клітин до антибіотиків;

♦ сайт ініціації реплікації, який дозволяє плазмиді реплицироватися в E. coli. Деякі вектори містять також і сайт ініціації реплікації A. tumefaciens;

♦ права фланкуюча послідовність Т-ДНК, яка абсолютно необхідна для інтеграції Т-ДНК у клітинну ДНК рослин;

♦ полілінкер (множинний сайт клонування) для вбудовування гена в ділянку між границями Т-ДНК.

Тому що клонуючі вектори не містять vir-генів, то вони самі не можуть проникати в клітини рослини й інтегруватися в їхній геном. Існують два способи рішення цієї проблеми.

У першому випадку використовують бінарну векторну систему. Бінарний клониручий вектор містить сайти ініціації реплікації (ori) і для E. coli і для A. tumefaciens, але не несе vir-генів (рис. 8, А). Усі стадії клонування проводять в E.coli, а потім вектор уводять в A. tumefaciens, яка несе модифіковану неонкогенну Ті-плазмиду. Ті-плазмида містить vir-гени, але з неї вилучена Т-ДНК. Таким чином, бактерія не може транспортуватися в клітину рослини, але може забезпечити синтез продуктів vir-генів, які сприяють вбудовуванню Т-ДНК із бінарного клонирующего вектора в хромосомну ДНК рослини. Тобто, вона виконує роль помічника інтеграції Т-ДНК у геном рослинної клітини.

У другому випадку використовують коінтегративную векторну систему (мал. 8, Б). Коінтегративний клонирующий вектор, що несе потрібний ген, містить сайт ініціації реплікації (ori) тільки для E. coli і не може автономно існувати в A. tumefaciens. Він також несе бактеріальний селективний маркерний ген, праву фланкуючу послідовність Т-ДНК (П), без якої неможлива інтеграція в чужий геном, і фрагмент Ті-плазмиди, гомологічній ділянці Т-ДНК неонкогенної Ті-плазмиди. Неонкогенна Ті-плазмида містить ліву фланкуючу послідовність (Л), vir-гени й сайт ініціації реплікації A. tumefaciens (ori). Після рекомбінації коинтегративного клонирующего вектора й неонкогенної Ті-плазмиди утворюється рекомбінантна плазмида, Т-ДНК якої, що несе клонований ген, може трансформувати клітини рослин.

Після нагромадження клонируючих векторів в E. coll у потрібній кількості і їх виділення із цих бактерій можливе використання рекомбінантних ДНК для трансформації рослинних клітин.

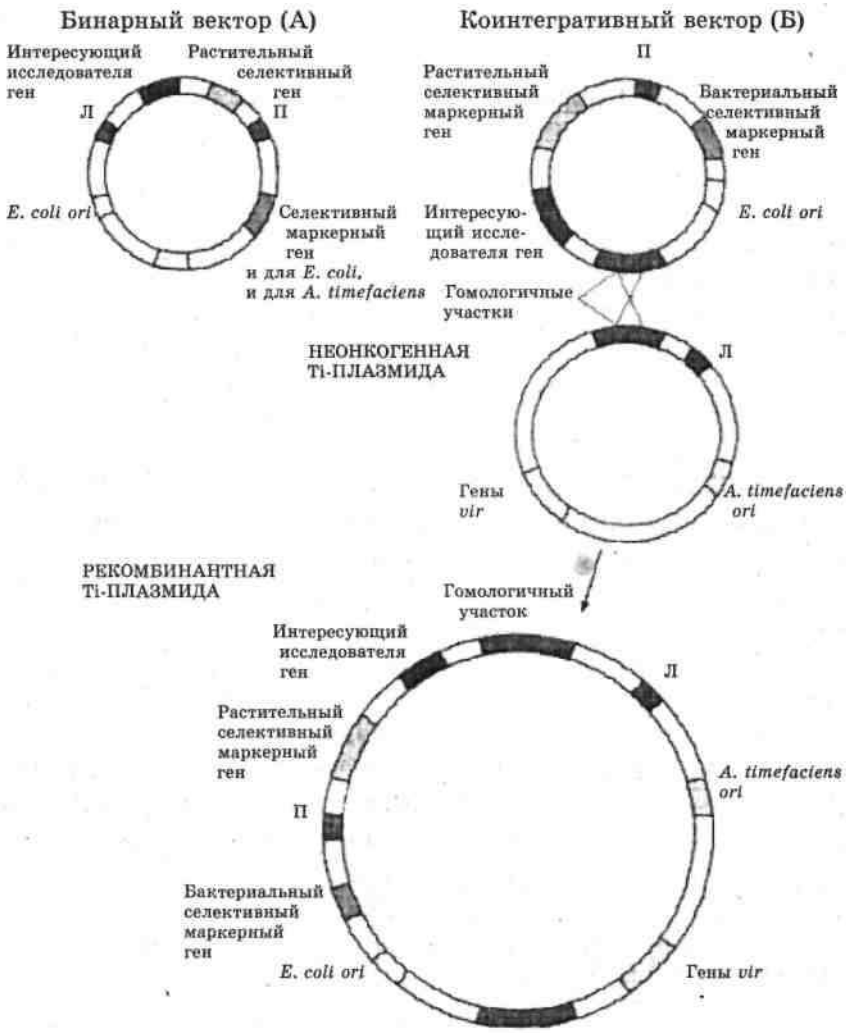


Рис. 8. Дві векторні системи на основі Ті-плазмид.
А- бінарний, Б - коинтегративний вектори

2. *Методи введення ДНК у рослинні клітини.*

Трансформація рослинних клітин. Для трансформації рослинних клітин був розроблений ряд методів: використання Ті-плазмид, бомбардування мікрочастинками, використання векторів на основі вірусів, мікроін'єкції, електропорація й ін. (табл. 6).

Таблиця 6. Методи введення ДНК у клітини рослин

Метод	Ефективність застосування й перспективи використання
Використання Ті-плазмид	Високоефективна система. Застосовна не для всіх видів рослин
Бомбардування мікрочастинками	Високоефективна система. Може використовуватися для широкого кола рослин і тканин
Використання векторів на основі вирусів	Неефективний спосіб доставки ДНК у рослинні клітини

Мікроін'єкції	Застосування обмежується тим, що ін'єкція одночасно може бути зроблена тільки в одну клітину
Електропорація	Застосування можливе для введення генів тільки в протопласти, причому рослин тих видів, із протопластів яких можуть бути регенеровані життєздатні рослини
Злиття ліпосом	— « —
Пряме введення генів у протопласти	— « —

Як вказувалося вище, такими способами були трансформовані більш 50 різних видів рослин. Однак у цей час для виробництва трансгенних культур у промислових масштабах в основному застосовують агробактеріальний (за допомогою Ті-плазмид) і балістичний (бомбардування мікрочастинками) способи модифікації рослинного генома.

Використання агробактерій, що містять клонуючий вектор, — досить високоефективна система, незважаючи на те, що частота трансформації становить 1 з 10 000 рослинних клітин. Крім того, як ми вже відзначали, вони можуть бути застосовані тільки для переносу генів у двочасткові рослини. Однодольні рослини, включаючи основні зернові культури (рис, пшениця, кукурудза), практично не трансформуються A. tumefaciens. Тому для трансформації клітин однодольних найчастіше застосовують балістичний спосіб. Для бомбардування використовують золоті або вольфрамові сферичні частки діаметром 0,5—2 мкм, покриті рекомбінантної ДНК. Цим часткам за допомогою електричного розряду або стисненим газом надається швидкість 300—600 м/с, у результаті чого вони пробивають клітинну стінку й клітинну мембрану. Потрапивши в клітину, рекомбінантна ДНК інтегрується в рослинну ДНК. Ефективність методу дуже висока — до 15% . Метод бомбардування мікрочастинками дозволяє трансформувати рослини самих різних видів, у тому числі однодольні й хвойні. Нижче зазначені трансгенні рослини, отримані балістичним способом:

Рослина	Джерело клітин для бомбардування мікрочастинками
Кукурудза	Суспензія зародкових клітин, незрілі зародки
Рис	Незрілі зародки, зародковий каллус
Ячмінь	Суспензія клітин, незрілі зародки
Пшениця	Незрілі зародки
Жито	Меристема
Банан	Суспензія зародкових клітин
Горох	Зиготичні зародки
Огірок	Зародковий каллус
Боби	Зиготичні зародки
Виноград	Суспензія зародкових клітин

Виділення трансформованих рослин. Трансформовані тем або іншим способом рослинні клітини культивують в умовах in vitro на спеціальних середовищах, що сприяють регенерації з них рослинок. Таким чином, з однієї трансформованої клітини можна виростити повноцінну фертильну рослину, усі клітини якого несуть чужорідну ДНК.

Культивування регенерантів включає кілька серій пасажів («пересаджень») на селективних середовищах, що містять антибіотик або гербіцид, завдяки чому клітини, у яких немає маркерного гена стійкості до цих речовин, а отже, немає й чужорідної ДНК, гинуть.

Надалі за допомогою певних маніпуляцій домагаються елімінації (видалення) маркерних генів з геномів рослинок-регенерантов, оскільки присутність цих генів у культурах продуктів, що використовуються в якості сировини для виробництва, харчування, небажане.

Відібрані регенеранти використовують для аналізу геномної ДНК, який дозволяє визначити присутність цільового гена й число його копій, інтегрованих у геном.

Заключний етап лабораторного тестування ТГ-рослин включає біологічні дослідження, що визначають стабільність прояву цільової ознаки.

Таким чином, з використанням описаних вище технологій до теперішнього часу створені й випробувані в польових умовах ГМ-форми багатьох сільськогосподарських рослин. Так, отримана значна кількість ГМ-форм томатів (більш 260), сої (більш 200), бавовнику (більш 150), гарбузових (більш 80), а також пшениці, рису, соняшника, яблунь і ін. Однак зареєстроване й допущене до промислового виробництва лише незначна кількість ГМ-форм рослин (наприклад, у США — не набагато більше 100 ліній ГМ-рослин, в інших країнах— ще менше). У Росії на сьогоднішній день у державному реєстрі зареєстровано 17 видів продовольчої сировини із ГМИ й 5 видів ГММ. Це пов'язане з тим, що перш ніж потрапити на ринок, продукція, що містить ГМ-компоненти, повинна пройти експертизу якості й безпеки. Ці питання докладно висвітлюються в другій частині посібника.

3. Сучасне альтернативне землеробство.

Для вирішення проблеми охорони довкілля має бути залучена вся державна машина, починаючи від депутата місцевої ради і до посадових осіб найвищих державних органів. Це можливе тоді, коли будуть створені такі економічні умови, за яких виробникам буде невигідно надмірно використовувати природні ресурси і забруднювати довкілля. Крім цього, доцільно розробити і створити систему економічного тиску, яка буде примушувати підприємства вкладати кошти у впровадження нових, екологічно безпечних технологій.

Необхідно вжити заходів щодо впровадження екологічних технологій вирощування сільськогосподарської продукції.

Замість традиційного сільськогосподарського виробництва, яке має за пріоритети максимальний врожай за найменших затрат праці, необхідно впроваджувати альтернативне рослинництво та тваринництво.

Існує декілька альтернативних землеробств.

Біологічне землеробство передбачає відмову від застосування мінеральних добрив, пестицидів та інших хімічних препаратів. Родючість грунту забезпечується за рахунок органічних добрив, які обов'язково компостуються і закладаються в ґрунт лише поверхнево. Засобами боротьби з шкідниками є біопрепарати: відвари кропиви, полину, хвощів, тютюну, водні настої листя горіху тощо.

Органічне землеробство — це варіант біологічного землеробства, але заборона мінеральних добрив обмежується тільки роком, який передує збору врожаю на даному полі.

Органо-біологічне землеробство передбачає біологізацію виробництва за рахунок максимального стимулювання діяльності ґрунтової мікрофлори, для чого сівозміни насичуються бобовими культурами та кормовими злаками. Гній та дозволені для застосування несинтетичні добрива (томас-шлак, доломіт, вапняки) закладаються в ґрунт поверхнево.

Біодинамічне землеробство. Воно зорієнтовано передусім на використання біоритмів, властивих Землі та космічному простору, і врахування циклів Місяця. Біодинамічне землеробство розвивається в країнах Західної Європи і дає непогані результати. Рекомендують під час використання цього виду землеробства застосовувати для підживлення ґрунту борошно з водоростей, яке містить велику кількість мікроелементів, а також біодинамічні компостні препарати із кропиви, гіижми, хвощів, валеріани. Заготовляють рослини та виготовляють ці препарати в терміни, що визначаються певним розташуванням небесних тіл, що забезпечують їх «активізацію». Ця частина біодинамічного землеробства піддається сумніву у прихильників традиційних технологій.

Адаптивне землеробство передбачає використання індустріальних сільськогосподарських систем з високою продуктивністю, що не перевищує екологічну рівновагу, спирається на використання адаптивних сортів нового типу і скорочене використання мінеральних добрив.

На відміну від інтенсивних сортів адаптивні сорти характеризуються великою екологічною пластичністю (дають врожай за широкої амплітуди умов, що змінюються), скоростиглістю, стійкістю до шкідників, хвороб, конкурентною здатністю щодо бур'янів, врожайністю, реакцією на поліпшення умов проростання, придатністю до вирощування в суміші з іншими сортами або навіть з іншими культурами.

Компромісне землеробство передбачає внесення до способів, що використовувалися, впливу на поле та сільськогосподарські рослини засобів, які б запобігали чи сповільнювали темпи втрати ріллею родючості ґрунту й не призводили б до деградації природного середовища в атмосфері.

Пріоритетними напрямами розвитку "харчової промисловості повинно бути використання високоякісної екологічно чистої сировини, сучасних

технологій виробництва продовольчих товарів, які запобігають потраплянню і утворенню шкідливих речовин у продуктах харчування.

У США стають популярними так звані «органічні» продукти, які виробляються без використання пестицидів, антибіотиків чи гормонів росту і мають природний хімічний склад, без різних ксенобіотиків. Під впливом фермерів, захисників довкілля, споживачів американський департамент сільського господарства у листопаді 2002 р. в обов'язковому порядку затвердив етикетки для всіх продуктів, які свідчать про те, що цей продукт вирощений за традиційною органічною технологією без залишків різних хімічних інгредієнтів.

Продукти, які не містять жодних хімікатів або на 95 % є органічними, позначаються етикеткою зі словом «органічні»; продукти, які є органічними на 70 % і нижче — етикеткою зі словами «містить посторонні інгредієнти». Таке запровадження етикеток є великим кроком у США за останні 100 років у сільськогосподарському виробництві, і, як вважають прихильники цього нововведення, все більше споживачів погоджуються переплачувати за природний хімічний склад таких продуктів.

Безпечні продукти, вироблені в умовах біологічного та органічного (різновид біологічного) землеробства, в деяких країнах прийнято називати «органічні» (США), в інших — «біо-продукти», «економічні продукти» (країни Європейського Союзу).

Постановою ради Європейського Економічного Союзу №2092/91 про екологічне землеробство і відповідне маркування сільськогосподарської продукції та продуктів харчування до екологічних продуктів висунуто низку визначень, вимог і приписів, зокрема:

—забороняється використання хімічно-синтетичних засобів захисту рослин і легко розчинних мінеральних добрив;

—забороняється опромінення біопродуктів;

—передбачається надання тваринам достатньої площі, світла і свіжого повітря;

—передбачається годування тварин екологічними кормами без використання антибіотиків і гормональних препаратів;

—зменшується кількість дозволених до використання добавок (біологічні продукти — 36 добавок, продукти, виготовлені традиційним способом — 300 добавок);

—забороняється використання, генної технології в будь-якій формі.

Етикетки на таких продуктах захищені директивою ЕС-ЕКО (Постанова ради ЄЕС №2092/91) таким чином: «БІО/ЕКО»; «біологічно/екологічний»; «контрольований біологічно/екологічний»; «біологічно/екологічне землеробство»; «біологічно-динамічний», «біологічно-органічний».

Таке маркування (етикетки) використовуються тільки в тому випадку, коли 95 % всіх складників продукту вироблені в умовах екологічного землеробства.

Риба, водорості із ставків, а також продукти мисливства не підпадають під дію цієї постанови.

З 1 вересня 2001 р. в Європейському Союзі введено маркування екологічно/біологічних продуктів спеціальним знаком. Це невеликий шестикутний значок з надписом «БЮ», який служить гарантією якості і безпечності продукту: «біо» зовні = «біо» всередині (рис. 9).

Рис. 9. Знак, яким маркують екологічні продукти

У Німеччині продаються такі біопродукти: яблука всіх сортів, банани, лимони, томати, морква, масло, яйця. Овочі, фрукти, хліб, хлібобулочні вироби, м'ясні, ковбасні вироби виробляють 9540 підприємств, інші продукти — 21341 підприємство.

Частка (%) біопродуктів у таких групах товарів: гарячі напої — 12,7; хліб і хлібобулочні вироби — 12,0; трави і прянощі — 10,3; м'ясні і ковбасні вироби — 10,1; борошно, крупа манна, пшениця — 5,8; овочі — 5,1; солодощі і печиво — 4,8.

Рекомендована література до вивчення теми: [1, 6, 11].

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ 2

Тема 2.1. Основні питання безпеки ГМД

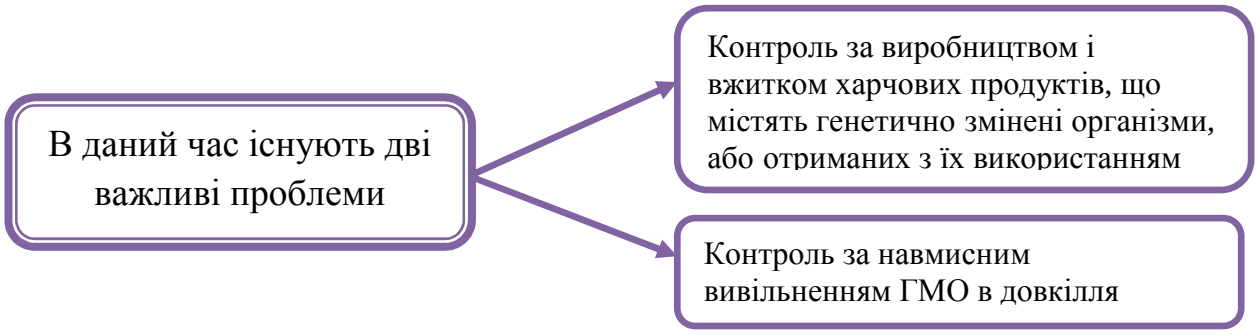
План

1. *Оцінки ризику негативних ефектів ГМД на здоров'я людини.*

Безпека продуктів, отриманих за допомогою генетичної інженерії - досить важлива проблема, яка виникла перед суспільством у зв'язку із широким впровадженням у сільськогосподарське виробництво ГМ- культур рослин, що є сировиною для одержання харчових продуктів.

Ще в 1973 р., коли об'єктом генно-інженерних дослідженнях були переважно мікроорганізми, були висловлені серйозні сумніви по приводу безпеки технологій рекомбінантних ДНК. Перші директиви, що регламентують проведення всіх експериментів з рекомбінантними ДНК, були надзвичайно строгими. Наприклад, в директиви Національного інституту охорони здоров'я США 1976 р. жорстко обмовлялися умови роботи з рекомбінантними ДНК і висувалися вимоги, щоб як господарі для чужорідної ДНК використовувалися мікроорганізми, нездібні розмножуватися поза стенами лабораторії і передавати свою ДНК іншим мікроорганізмам. З часом вимоги до заходів безпеки для більшості

експериментів були істотно пом'якшені, і технологія рекомбінантних ДНК стала швидко розвиватися.

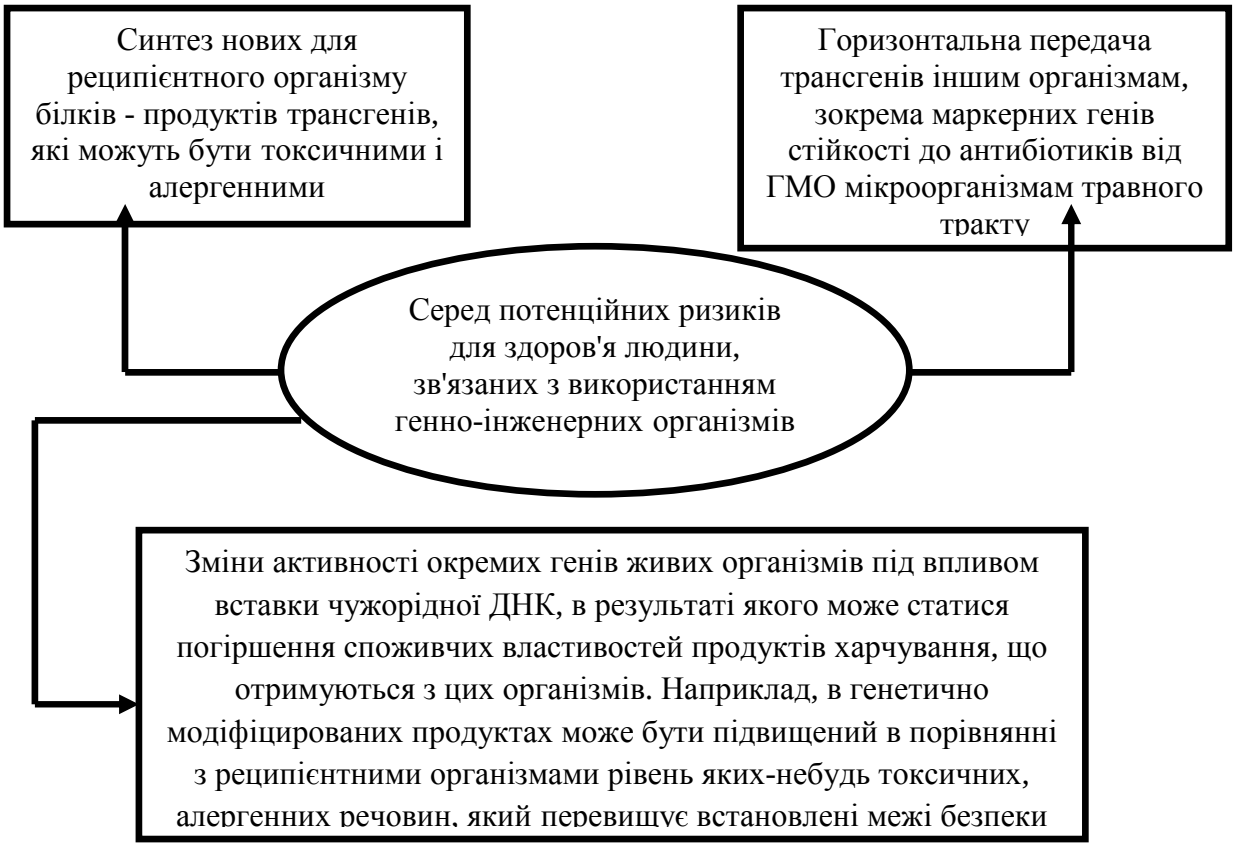


Не дивлячись на те що більшість створених трансгенних рослин відрізняються від вихідного батьківського сорту наявністю лише модифікованої ДНК і експрессиро-ванного білка, що визначає нову ознаку, харчова продукція з ГМІ відноситься до категорії «нової».

Присутність в харчових продуктах трансгенної ДНК само по собі не представляє небезпеки для здоров'я людини. Проте функціональні здібності трансгенної ДНК пов'язані з можливим проникненням ділянки ДНК в клітки мікрофлори кишечника, зокрема перенесення генів стійкості до антибіотиків, які, як вказувалося вище, широко використовуються як селективні маркерні гени при створенні ГМ-рослин. Можна передбачити, що природна мікрофлора кишечника в цьому випадку або пригнічуватиметься, або, навпаки, зростати. Проте навряд чи це побоювання слід розглядати як серйозну проблему, оскільки ДНК, що поступає з їжею, піддається руйнуванню в травному тракті, і маловірогідне збереження цілісної генетичної конструкції (що включає і цільовий ген, і регуляторні компоненти), здібної до самостійного функціонування в кишечнику.

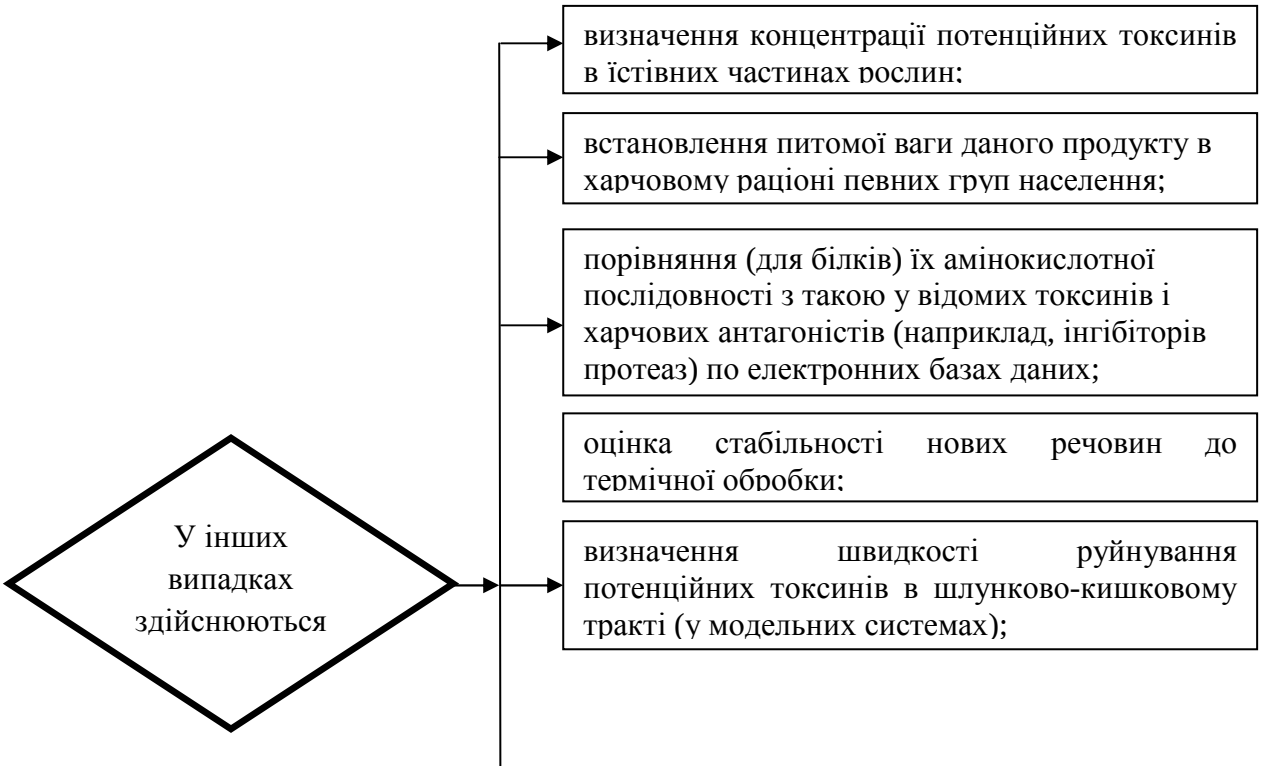
Набагато більші побоювання пов'язані з можливою зміною експресії генів модифікованої ДНК і відповідно новими білками, які можуть зробити вплив на якість і безпеку харчових продуктів. Не виключено, що введені в ДНК рослин гени можуть викликати несподівані побічні ефекти:

- ♦ зміна споживчих властивостей продукту (зниження харчової цінності, зміна хімічного складу і тому подібне);
- ♦ синтез компонентів, що викликають алергічні реакції або що володіють токсичними, мутагенними, канцерогенними ефектами, надають дію на людину, безпосередньо що вживає трансгенну їжу, а також на його подальші покоління.



Стратегія оцінки безпеки генетично модифікованих продуктів харчування заснована на принципі «істотної еквівалентності», розроблені OECD (Організацією економічного співробітництва і розвитку). Згідно з цим принципом, оцінюється не рівень безпеки нових продуктів харчування як такий, а його зміна порівняно з традиційними харчовими аналогами, що мають тривалу історію безпечного використання.

Стратегія оцінки потенційної токсичності нових продуктів харчування полягає в наступному. Якщо досліджувана відмінна від аналога речовина є відомим компонентом рослинної їжі, що має тривалу історію безпечного використання, дослідження токсичності нових продуктів не є обов'язковими.



→ аналіз рівня токсичності нових речовин в модельних системах (культура кліток in vitro);

→ аналіз токсичності в експериментах по примусовому згодовуванню лабораторною або домашньою твариною їжі, що містить продукти, отримані з генетично модифікованого організму, що вивчається, або її нових компонентів протягом довгого часу (хронічний експеримент — тривалість 1 — 2 роки);

→ або протягом короткого часу, але з використанням високих концентрацій продуктів, що вивчаються (гострий експеримент — тривалість близько двох тижнів, концентрація продукту трансгена, що вивчається, до 5 грамів на кілограм ваги тварини).

Для оцінки *алергенного потенціалу продуктів трансгенів* користується схема (набір і послідовність аналітичних експериментів), розроблена експертами ВОЗ (Всесвітній організації охорони здоров'я) і ФАО (Організації ООН по продовольству і сільському господарству) (рис. 1.1).

Рис.1.1. Схема ВОЗ-ФАО оцінка алергенності продуктів транс генів

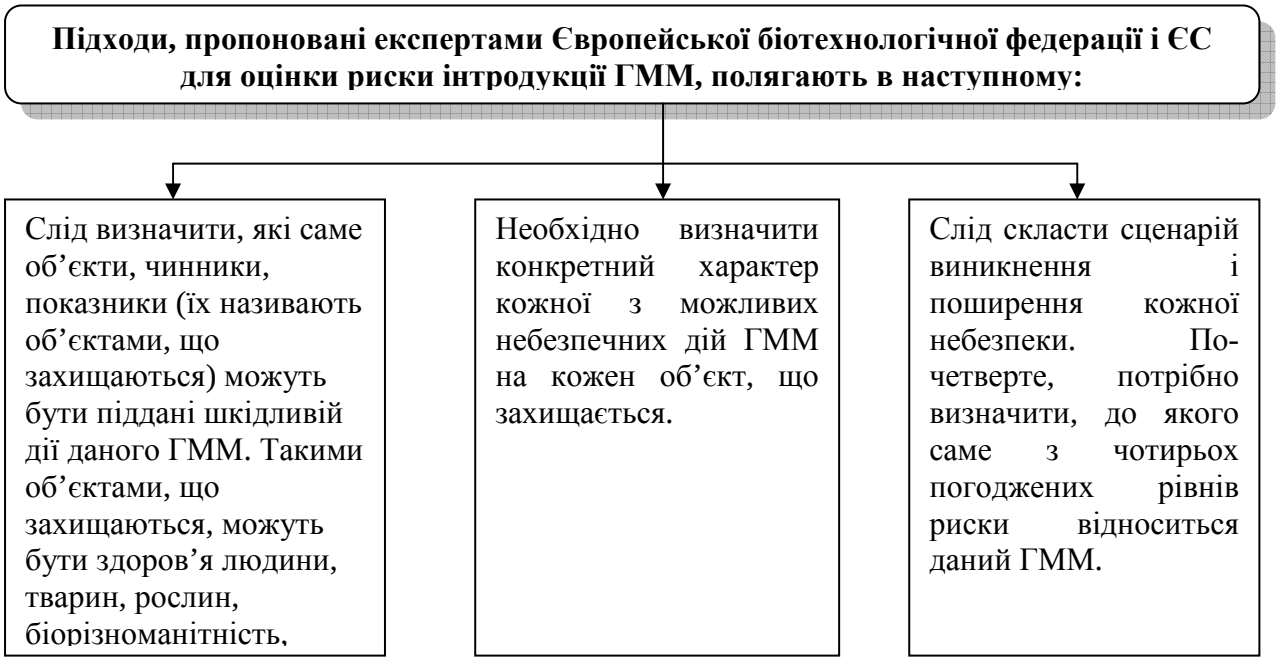
Оцінка вірогідності потенційного погіршення харчової цінності і засвоєння живильних речовин. На практиці зазвичай отримують велику кількість трансгених форм, з яких в ході подальшої традиційної селекції відбирають зразки без видимих мутацій. Потім ретельним чином вивчають безпеку відібраних форм для здоров'я людини і довкілля. Зокрема, аналізують вміст в рослинній сировині як живильних (білки, жири, вуглеводи, мінеральні елементи, вітаміни і тому подібне) так і потенційно небезпечних для здоров'я речовин.

Наступним чинником, який розглядається як потенційний несприятливий ефект генетично модифікованих організмів на здоров'ї людини, є горизонтальне перенесення трансгенів (перш за все генів стійкості до антибіотиків) від ГМО мікрофлорі травного тракту людини і тварин. До складу будь-якої трансгенної конструкції, як правило, входить окрім власного трансгену і його регуляторних елементів і так званий селективний (або маркерний) ген, необхідний для відбору трансформованих кліток. Як селективні гени зазвичай використовують гени стійкості до антибіотиків (канаміцину, ампіциліну, стрептоміцину), які вже втратили своє значення як антимікробні препарати із-за широко поширеної стійкості мікроорганізмів до цих антибіотиків.

Принципи і методи оцінки ризику потенційних небезпек вживання ГММ. Існують два різні принципи оцінки потенційної риски інтродукції ГММ.

Перший принцип називають «*орієнтованим на продукт*» генетичної модифікації. При цьому враховується лише безпека готового продукту — результату генетичної модифікації, наприклад цільового білка. Якщо продукт генетичної модифікації сам по собі безпечний, а також якщо і 46н.46пієнт ний і донорський штами початково були безпечними, то вірогідність того, що із-за даної генетичної модифікації штам може стати небезпечним, не розглядається (ігнорується). Причому не поважно, яким саме методом створена генетична модифікація: традиційною генетичною селекцією, схрещуваннями або генною інженерією. Такий підхід до оцінки ризику реалізований в США, Канаді, Мексиці і ряду інших американських країн.

Другий принцип оцінки ризику прийнято називати *«орієнтованим на процес»* генетичної модифікації і на його наслідки. Окрім визначення потенційної небезпеки продукту модифікації він заснований на всесторонній оцінці того, чи не придбав ісхідний безпечний штам в процесі або в результаті генетичних модифікацій яких-небудь потенційно небезпечних властивостей. Цього підходу дотримуються країни — члени ЄС і Європейська біотехнологічна федерація.



Під рівнем (мірою) ризику (R) в даному випадку розуміється інтегральна оцінка вірогідності (P) настання небажаних наслідків і тягаря (S) цих наслідків: $R = S \times P$. Експерти пропонують вірогідні ризики від впровадження ГММ по мірі небезпеки розділити на 4 рівні (таблиця 1.1).

Таблиця 1.1.

Характеристика рівнів ризику від впровадження ГММ

Рівень ризику	Вірогідність настання шкідливих наслідків	Оцінка ГММ по мірі небезпеки
1	2	3
1	Шкідливих наслідків немає або очевидно,що вони можуть бути	Безпечний для впровадження
2	Можливі шкідливі дії, але очевидно, що вони представлятимуть серйозну небезпеку для об'єктів, що захищаються	Необхідний подальший спеціальний аналіз доцільності впровадження
3	Можливі локальні серйозні шкідливі дії на об'єкти, що захищаються	Краще відмовитися від впровадження
4	Очікуються серйозні впровадження дії на об'єкти, що захищаються, які відбуватимуться як в місці інтродукції, так і за її межами	Не повинен упроваджуватися ні за яких обставин

Конкретні методи оцінки ризику полягають в оцінці по мірі схожості з відомим штамом і в оцінці ризику в модельних експериментах. У першому випадку необхідно:

1. Показати, що планований для інтродукції ГММ схожий з «відомим».

2. Провести розумну екстраполяцію, щоб з'ясувати, чи буде ГММ настільки ж безпечним, як інтродукція схожого «відомого» штаму.

У другому випадку така оцінка повинна проводитися спочатку в умовах, що ізолюють експериментальну систему від довкілля. Якщо в попередніх експериментах не виявлено небезпечних наслідків культивування ГММ, то подальші дослідження доцільні в дрібномасштабному польовому експерименті. Ризик повинен оцінюватися на основі таких вимірюваних параметрів, як здатність ГММ конкурувати з аборигенними мікробними популяціями, здібність до горизонтальної передачі трансгенів, можливості реалізації екологічного моніторингу ГММ і управління ходом процесу їх інтродукції.

Експертами ЄС розроблений стандартний формат опису характеристик ГММ, необхідних для всесторонньої оцінки їх безпеки. З врахуванням характеристик донорного і реципієнтного організмів складається звідна інформація, необхідна для оцінки безпеки ГММ. У описі вказують наступні дані:

1. Загальні характеристики донорного і реципієнтного організмів (таксономія, ідентифікація, джерело, культура).
2. Генетичні характеристики донорського і реципієнтного організмів.
3. Патогенетичні і фізіологічні властивості реципієнтного організму.
4. Характеристики створеного організму.
5. Інформацію, що має значення для охорони здоров'я людини.
6. Міра небезпеки для довкілля і сільського господарства.
7. Цілі вживання сконструйованого організму в довкіллі.
8. Виживання, розмноження і поширення сконструйованого організму в довкіллі.
9. Взаємодія сконструйованого організму з біологічними системами.
10. Екосистемні ефекти.

На підставі результатів всіх проведених дотримань виноситься загальний висновок про рівень безпеки створеного ГММ.

2. *Оцінки ризику негативних ефектів ГМД навколишнє середовище.*

Для визначення ризику можливих несприятливих ефектів, пов'язаних з вивільненням ГМО в довкілля, розроблена спеціальна методика, що дозволяє проводити комплексну усесторонню оцінку їх безпеки. Ця методика застосовується у всіх країнах, де вирощують ГМО, основні її положення закріплені у ряді міжнародних угод, що робить її вживання обов'язковою процедурою для країн, до них що приєдналися. Методика добре зарекомендувала себе на практиці. По суті не відомо жодного випадку негативної дії генетично модифікованих організмів на довкілля багато в чому завдяки ретельній оцінці безпеки всіх ГМО, які вивільняють в довкілля.

При оцінці ризику можливих несприятливих екологічних наслідків вивільнення ГМО в довкілля в першу чергу беруть до уваги інформацію, що стосується біологічних особливостей реципієнтного і донорного організмів:

- систематичне положення, спосіб розмноження і розсіювання, виживаність в довкіллі;
- географічне поширення, опис місць природного зростання;
- потенційно значима взаємодія з організмами, відмінними від рослин (токсичність).

Особлива увага приділяється інформації, що відноситься до характеру генно-інженерної модіфікаціі:

- опису вбудованого в геном (плазмон) реципієнтного організму фрагмента ДНК (розмір і джерело, передбачувана функція кожного складового елементу або району вбудованої ДНК, включаючи регуляторні і інші елементи, що впливають на функціонування трансгенів);
- даним про структуру і функціональну відповідність вбудованого фрагмента ДНК, присутності в нім відомих потенційно небезпечних послідовностей, локалізації вставки і стабільності інкорпорації, кількості копій трансгенів.

Усесторонньому розгляду піддається інформація, що стосується біологічних особливостей ГМО і характеру взаємодії його з довкіллям, а саме:

- дані про нові ознаки і характеристики, які стали виявлятися або перестали виявлятися в генетично модифікованого організму в порівнянні з реципієнтним організмом, особливо ті, які можуть робити вплив на виживаність, розмноження і поширення в потенційному приймаючому середовищі;
- зведення про генетичну стабільність ГМО, мірі і рівні експресії трансгена(ів);
- активність і властивості протеїну(ів), що кодується(их) трансгеном (нами);
- здібність до перенесення генетичної інформації (наявність в потенційному приймаючому середовищі диких або культурних родинних видів, здібних до гібридизації з ГМО, вірогідність перенесення трансгенів від ГМО до таких організмів);
- вірогідність конкурентної переваги генетично модефіцированного організму в порівнянні з інтактним реципієнтним організмом, різкого збільшення чисельності популяції ГМО в потенційному приймаючому середовищі;
- відомості про організми-мішені і організми-немішені, передбачуваний механізм і результат взаємодії ГМО з ними.

Остаточний висновок про безпеку ГМО для оточуючого середовища робиться з врахуванням перерахованої вище інформації і характеристики потенційного приймаючого середовища:

- географічного положення ділянки, де здійснюватиметься вивільнення, близькості його до заповідників і інших природоохраняємих об’єктів та територій; його розміру і обработанності, кліматичною, геологічною і почвоведческой характеристики, флори і фауни.

3. Характеристика компаній, що використовують генетично модифіковані інгредієнти для виробництва харчових продуктів.

За даними Глобальної мережі Internet в Росію постачають продукти, для виробництва яких використовують генетично модифіковану сировину, такі компанії-виробники:

Компанія-виробник Kellog's
Com Flakes (пластівці)
Frosted Flakes (пластівці)
Rice Krispies (пластівці)
Smacks (пластівці)
Froot loops (кольорові пластівці-кільчики)
Apple Jacks (пластівці-кільчики зі смаком яблука)
All-bran Apple Cinnamon|Blueberry (висівки зі смаком яблука, кориці, буяхів)
Chocolate Chip (шоколадні чіпси)
Pop Tarts (печево з начинкою, всі смаки)
Nutri-grain (тости з наповнювачами, всі види)
Crispix (печево)
Smart Start (пластівці)
All-Bran (пластівці)
Just Right Fruit@Nut (пластівці)
Honey Crunch Corn Flakes (пластівці)
Raisin Bran Crunch (пластівці)
Cracklin Oat Bran (пластівці)

Компанія-виробник Heinz
Ketchup (regular@nosalt)
Chili Sauce
Heinz 57 Steak Sauce

Компанія-виробник Hellman s
Real Mayonnaise (майонез)
Light Mayonnaise (майонез)
Low-Fat Mayonnaise (майонез)

Компанія-виробник Coco-Cola
Coco-Cola
Sprite
Cherry Cola
Minute Maid Orange
Minute Maid Grape

КомпаніявиробникMars
M@M s
Snickers
Milky Way
Twix
Nestle
Crunch (шоколадно-рисові пластівці)
Milk Chocolate Nestle (шоколад)
Nesquik (шоколадний напій)
Cadbury (Cadbury|Herchev s)
Fruit@Nut

КомпаніявиробникHershey s
Toblerone (шоколад, всі види)
Mini Kisses (цукерки)
Kit-Kat (шоколадний батончик)
Kisses (цукерки)
Semi-Sweet baking Chips (печево)
Milk Chocolate Chips (печево)
Reese s Peanut Butter Cups (арахісова олія)
Special Dark (темний шоколад)
Milk Chocolate (молочний шоколад)
Chocolate Syrup (шоколадний сироп)
Special Dark Chocolate Syrup (шоколадний сироп)
Strawberry Syrop (суничний сироп)

Компанія-виробник Pepsi Co
Pepsi
Pepsi Cherry
Mountain Dew

Компанія-виробник Frito-Lay|Pepsi Co
Генетично модифіковані компоненти можуть міститись в олії та інших інгредієнтах

За даними «Грінпіс) такі відомі у світі компанії, як Нестле, Кока-Кола, Данон, Проктер енд Гембл, Келлогс, Юнілевер, Хаєнц Фудс, Хьоршис, Макдональдс, Марс, Пепсі-кола використовують генетично модифіковані добавки: рибофлавін (Е 101, Е 101А), вугілля рослинне (Е 153), лікопін (Е 160α), криптосантин (461 с), лецитин (Е 322), моно- та дигліцериди жирних кислот (Е 471), змішані ефіри гліцерину, винної, оцтової та жирної кислот (Е 472f), ефіри цукрози та жирних кислот (Е 475), ефіри пропіленгліколя та жирних кислот(Е 477), жирні кислоти (Е570), глютамінову кислоту L (+) (Е 620), глутамінат натрію l-заміщений (Е 621), глутамінат калію l-заміщений (Е 622), глутамат калію (Е 623), глутамат амонію l-заміщений (Е 624), глутамат магнію (Е625).

На ринок України можуть потрапити сировина і продукти харчування, які містить ГМД, безпосередньо з підприємств компаній-виробників, а також інших постачальників з Російської Федерації, з якою Україна має торговельні відносини. Відомо, що одні і ті ж компанії постачають сировину і продукти харчування в Російську Федерацію і в Україну.

Всі ці товари є на ринку Росії та України і користуються популярністю переважно серед молоді і дітей різного віку.

Рекомендована література до вивчення теми: [1,2,3,4,5,8, 9,12,13,15,17].

Тема 2.2. Порядок проведення досліджень генетично модифікованих продуктів на якість та біобезпечність

План

1. *Концепція композиційної еквівалентності.*

Незважаючи на те, що більшість трансгенних рослин відрізняються від своїх аналогів наявністю тільки зміненого білка, харчова продукція з цих рослин належить до категорії «нова їжа». Звідси виникала необхідність розроблення критеріїв і методичних підходів до медико-біологічної оцінки такої їжі, над якими працювали вчені різних країн. Спочатку була розроблена концепція.

Сьогодні загальноприйнятою є сучасна концепція композиційної еквівалентності, яка грунтується на порівнянні генетично модифікованих джерел їжі з їх традиційними аналогами за фенотипом, вмістом ключових харчових і антиаліментарних речовин, токсинів, які нормуються в харчових продуктах, алергенів і біологічно активних компонентів, характерних для цього виду продукції. Крім того, враховується те, в якому вигляді цей продукт традиційно використовується в їжу і як він реагує на технологічне оброблення. При цьому аналізується хімічний склад кінцевої продукції, його харчова та енергетична цінність. Програма досліджень визначається для кожного конкретного продукту індивідуально і за системою, схваленою ФАО/ВООЗ (рис. 2.1.)

В Україні екологічну експертизу генетично-модифікованих організмів, призначених для використання у відкритій системі, здійснює Управління з питань екології та природних ресурсів.

Міністерство охорони здоров'я України здійснює державну санітарно-епідеміологічну експертизу генетично модифікованих, організмів, які використовуються у відкритих системах для обгрунтування висновку щодо її біологічної і генетичної безпечності стосовно людини з метою їх державної реєстрації.

Міністерство охорони» здоров'я здійснює державну реєстрацію генетично модифікованих організмів і харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або отримані з їх використанням. Воно також затверджує перелік харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту таких організмів і перелік відповідних методик їх розкриття та ідентифікації.

Програма досліджень генетично модифікованих рослин може визначатись для кожної конкретної рослини індивідуально. При цьому враховується, в якому вигляді продукт традиційно використовується в їжу та як реагує на технологічну обробку. З основу досліджень має бути покладена система оцінки якості і безпечності рослин, схвалена ФАО/ВООЗ.

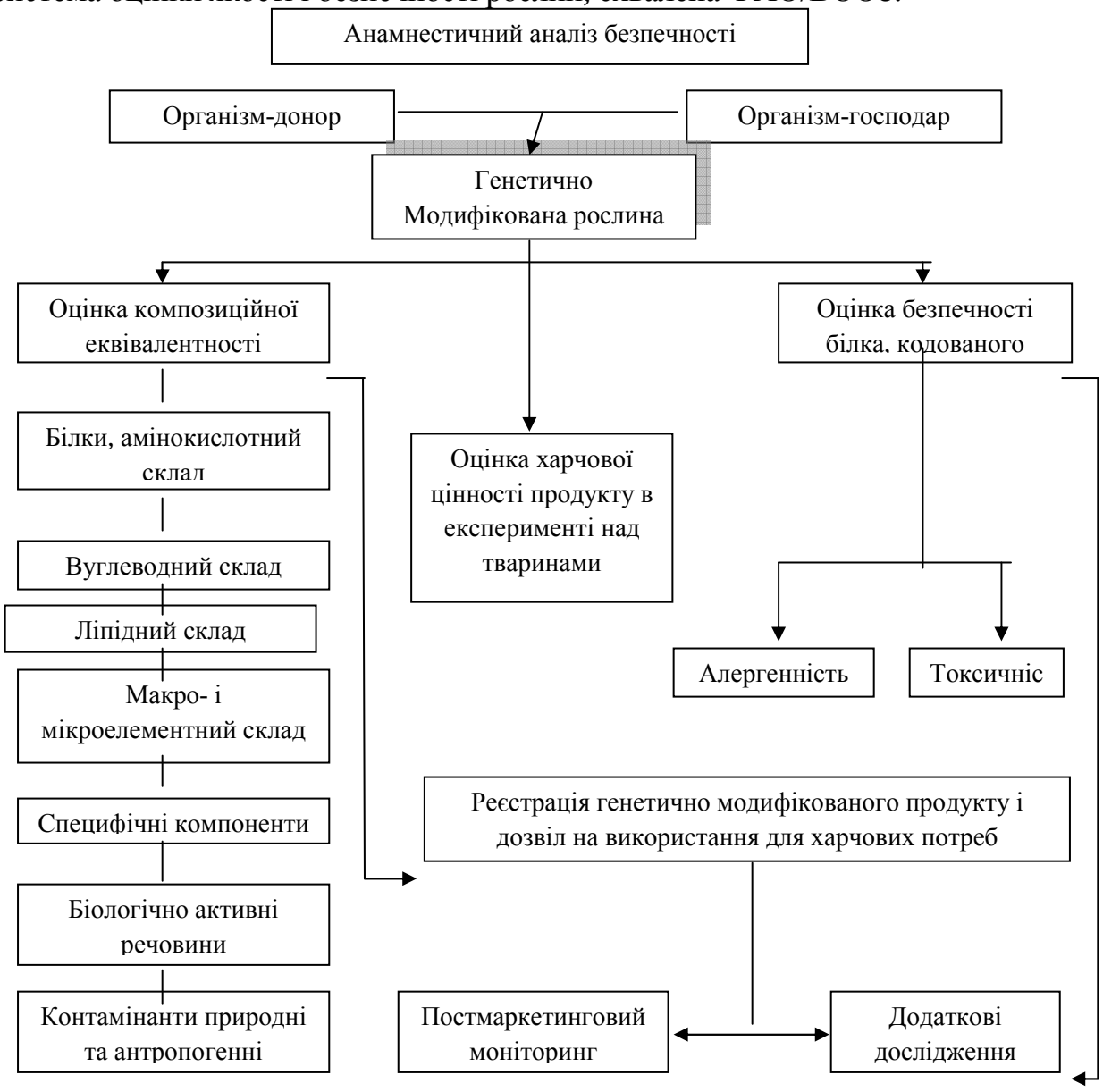


Рис. 2.1. Система оцінки якості і безпечності генетично модифікованих джерел, схвалена ФАО/ВООЗ

З метою вивчення впливу генетичної модифікації на харчову цінність продукту виникає необхідність аналізу вмісту не тільки білків, жирів і вуглеводів, але й складу вітамінів і макро- і мікроелементів. Якщо внаслідок проведення досліджень не виявлено відмінностей від традиційного аналогу за композицією, за винятком наявності генетично зміненого білка, і не виявляється токсичність і алергенність цього білка, то генетично модифіковане джерело їжі визнається еквівалентним традиційному аналогу і щодо безпечності.

У разі відсутності композиційної еквівалентності генетично модифікованих джерел їжі традиційному аналогу оцінка безпечності повинна продовжуватись. Наступні етапи передбачають вивчення харчової цінності продукту, квот у раціоні людини, способів використання в харчуванні, засвоюваності, оцінки надходження окремих нутрієнтів (якщо очікуване надходження нутрієнта перевищує 15 % від добової потреби), впливу на мікрофлору кишківника (якщо генетично модифіковані джерела містять живі мікроорганізми).

Токсикологічна оцінка містить аналіз токсикокінетики тих хімічних речовин, які є тільки в тестованому генетично модифікованому джерелі їжі і відсутні в його традиційному аналізі; оцінку генотоксичності генетично модифікованих джерел їжі або його окремих компонентів, що відрізняють його від традиційного аналога; вивчення алергенності.. Якщо в продукті містяться живі мікроорганізми, в тому числі генетично змінені, оцінюється потенційна колонізація в шлунково-кишковому тракті і патогенність. За умови виявлення в продукті генотоксичності необхідні тривалі дослідження на канцерогенність.

2. Досвід інших країн світу з питань екологічної експертизи генетично модифікованих організмів, як продуктів харчування.

Завданням Управління з охорони навколишнього середовища (EPA) у Сполучених Штатах Америки є проведення токсикологічних досліджень генетично модифікованих організмів як продуктів харчування, зокрема на гостру пероральну токсичність, токсичність для нецілевих організмів, імуногенність, харчову алергенність.

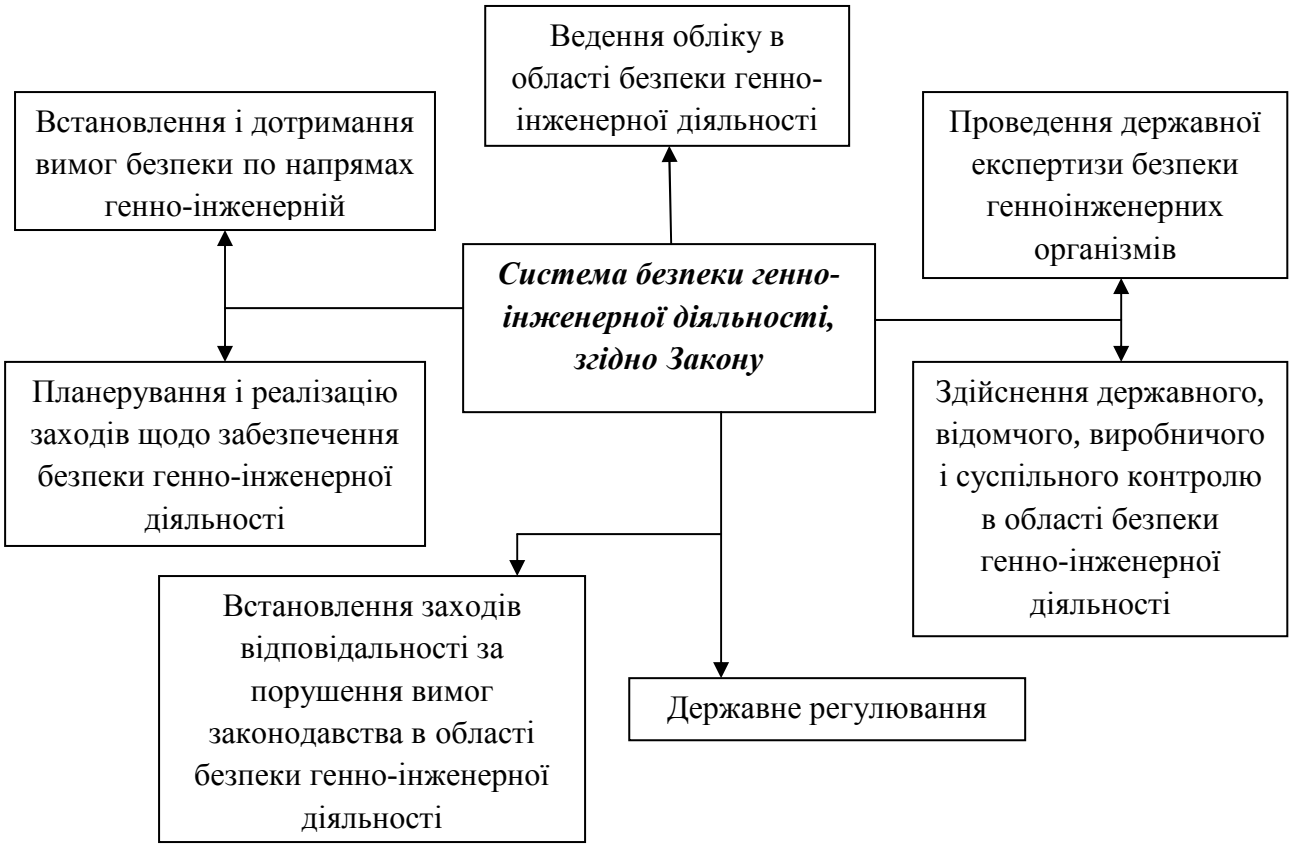
Ці дослідження охоплюють харчову і дермальну токсичність, гомологію амінокислот алергенів і їхню стабільність під час перетравлення їжі або теплової обробки. Якщо рослини генетично сконструйовані для вироблення летких пестицид-них компонентів, їхня дія на легені ссавців може бути значною і без використання їх у їжу. Дермальна токсичність виявляється у негативній дії на шкіру і визначається за допомогою тесту на її проколювання. Це може стати підставою для прийняття рішення про неможливість використання генномодифікованої рослини як продовольчої культури. Крім цього, генномодифіковані організми, в яких був виявлений алерген, перенесений з

організму-постачальника ДНК, не може бути комерціалізованим без його чіткої ідентифікації.

У Білорусії в даний час система біобезпеки знаходиться на етапах формування. Першим кроком в її побудові було створення відповідно до Постанови Ради Міністрів Республіки Білорусь № 963 від 19 червня 1998 року Національного координаційного центру біобезпеки. Центр успішно функціонує як структурний підрозділ Інституту генетики і цитології НАН Білорусі з 1 січня 1999 року.

Згідно з постановою, в обов'язки Центру входить:

- Збір, аналіз і систематизація інформації про законодавство, наукові дослідження, польові випробування, ввезення/вивіз, комерційному використанні генно-інженерних організмів і продуктів на їх основі в Білорусі;
- Створення, підтримка і поповнення національної бази даних по біобезпеці;
- Надання інформації по біобезпеці зацікавленим міністерствам і іншим органагосударственного управління, засобам масової інформації;
- Обмін інформацією по біобезпеці з координаційними центрами інших країн, міжнародними організаціями;
- Забезпечення проведення наукової експертизи безпеки ГМО, використання яких передбачається на території Республіки Білорусь;
- Надання консультативних послуг міністерствам і іншим республіканським органам державного управління в розробці законодавчих актів і керівництва по біобезпеці;
- Надання консультативних послуг міністерствам і іншим республіканським органам державного управління в підготовці пропозицій по висновку двосторонніх і регіональних погоджень, в розробці міжнародних угод по біобезпеці;



Приклад системи безпеки генно-інженерної діяльності від етапу створення генно-інженерних організмів до моменту їх офіційної реєстрації як сорти сільськогосподарських рослин, яка дає право використовувати їх в господарській діяльності, показаний в таблиці (таб.2.1.).

Таблиця 2.1.

Система забезпечення безпеки відповідно до проекту Закону Республіки Білорусь «Про безпеку генно-інженерної діяльності» (на прикладі генно-інженерних сортів сільськогосподарських рослин)

Рівні	Виконавець
I рівень. *Створення генно-інженерних організмів*	
1. Вибір генів для трансгеноза, вивчення їх властивостей і властивостей протеїнів — продуктів цих генів, порівняння їх з відомими небезпечними генами, аналіз можливих несприятливих ефектів майбутніх генно-інженерних організмів, що містять відібрані трансгени, на здоров'ї людину і довкілля 2. Створення генно-інженерних організмів, оцінка їх біобезпеки	Розробник генно-інженерних організмів
3. Підготовка досьє про безпеку генно-інженерних організмів для здоров'я людини і довкілля (по визначеній законодавством формі)	Розробник генний інженер них організмів
II рівень. *Вивільнення генно-інженерних організмів в довкілля для проведення випробувань.*	
1. Державна експертиза безпеки генно-інженерних організмів для здоров'я людини і довкілля	Експерти, Експертна рада при Міністерстві природних ресурсів і охорони довкілля

2. Видача дозволу на вивільнення генно-інженерних організмів в довкілля 3. Випробування генно-інженерних організмів в умовах контрольованого вивільнення (тобто з дотриманням заходів, обмежуючих поширенням генно-інженерних організмів в довкіллі) 4. Державне сортовипробування відібраних по комплексу позитивних ознак форм	Міністерство природних ресурсів і охорони довкілля Розробник під контролем Мінприроди (його територіальних органів) Комітет з державного випробування і охорони сортів рослин при Мінсільгосппроді
III рівень. *Державна реєстрація генно-інженерних сортів рослин*	
1. Включення форм, що виділилися за результатами сортовипробування, в список сортів — кандидатів на занесення в Державний реєстр сортів і древесно-чагарникових порід 2. Державна експертиза безпеки для здоров'я людини генно-інженерних сортів, які можуть бути використані в господарській діяльності як продовольча сировина (тести на токсичність і алергенність, істотну еквівалентність). Підготовка експертного висновку 3. Ухвалення рішення про включення генно-інженерного сорту в Державний реєстр сортів і древесно-чагарникових порід	Комітет з державного випробування і охорони сортів рослин при Мінсільгосппроді. Експерти, акредитовані лабораторії, Експертний сонет при Міністерстві розсудливо-охорони. Комітет з державного випробування і охорони сортів рослин при Мінсільгосппроді.

У системі міжнародних відносин питання біобезпеки вийшли останнім часом на перший план. У 2000 році країнами - Сторонами Конвенції про біологічну різноманітність (Білорусь є Стороною цієї Конвенції) прийнятий Картахенський протокол по біобезпеці, основна мета якого — «сприяння забезпеченню належного рівня захисту в області безпечної передачі, звернення і використання живих змінених організмів, що є результатом сучасної біотехнології, здатних надавати несприятливу дію на збереження і стійке використання біологічної різноманітності, з обліком також рисок для здоров'я людини і з приділенням особливої уваги трансграничному переміщенню» (Картахенський протокол, стаття 1).

Основне положення Протоколу полягає у вимозі використовувати процедуру завчасної обґрунтованої згоди до першого трансграничного переміщення ГМО, призначених для навмисного вивільнення в довкілля країни імпорту. Це означає, що будь-яка юридична або фізична особа, має намір ввезти в країну генетично модифікований організм (наприклад, насіння сільськогосподарських культур, предназначене для посіву), повинні завчасно інформувати про це компетентні органи країни імпорту, надавши відповідну інформацію про ГМО, місце і час його вивільнення. Ввезення ГМО здійснюється лише в разі здобуття експортером дозволу країни імпорту, яке видається після ретельного аналізу рисок можливих несприятливих наслідків висвобожденія ГМО для здоров'я людини і довкілля. Живі організми, що попали в довкілля, не визнають кордонів між державами. Тому є можливість для неумисного трансграничного переміщення ГМО. У зв'язку з цим Сторони Протоколу беруть на себе зобов'язання вживання заходів по регулюванню

рисок можливих несприятливих наслідків вивільнення ГМО в довкілля. У число таких заходів входить перш за все висунення вимоги відносно проведення оцінок рисок до першого вивільнення в довкілля ГМО, створених в країні. Крім того, в Протоколі детально описані дії Сторін в разі неумисного вивільнення ГМО, які можуть надати значні несприятливі дії на здоров'ї людину і довкілля як в самій країні, так і в сусідніх країнах при переміщенні в них таких ГМО. Кожна Сторона приймає необхідні правові, адміністративні і інші заходи для виконання своїх зобов'язань, передбачених в рамках Протоколу.

3. *Комплексна оцінка якості харчової продукції, одержаної із ГМД в Росії*

У Російській Федерації розроблені і введені в дію нормативно-правові документи, що визначають порядок експертизи продуктів з ГМІ:

а)порядок гігієнічної експертизи і реєстрації харчової продукції, отриманої з ГМІ, на підставі постановлення №7 від 06.04.99 г. Головної державної санітарної лікарки Російської Федерації;

б)порядок проведення санітарно-епідеміологічної експертизи харчових продуктів, що отримуються з ГМІ.

Рис. 2.2. Комплексна оцінка харчової продукції, отриманої з ГМІ

Порядок проведення гігієнічної експертизи ГМІ їжі полягає в наступному. Організація, підприємство або фірма представляє в Центр санітарно-епідеміологічного нормування, гігієнічної сертифікації і експертизи Мінздраву Россі комплект документації з ГМІ (що вперше поступає на ринок), що включає:

- матеріали, що відображають медико-генетичну оцінку харчової продукції, отриманої з ГМІ, включаючи ту, що вноситься послідовність генів, маркерні гени антибіотиків, стабільність ГМІ-організмів впродовж декількох поколінь з врахуванням стабільності і рівня вираження генів і др.;
- матеріали за медико-біологічною оцінкою харчової продукції, отриманої з ГМІ, включаючи санітарно-хімічні показники якості і безпеки, результати токсикологічних досліджень на лабораторних тваринах, оцінку алергенних властивостей продуктів, можливих мутагенних і канцерогенних ефектів продукту, його впливу на функцію відтворення, результати спостережень на функцію відтворення, результати спостережень на добровольцях і епідеміологічних досліджень;
- матеріали, що характеризують технологічні властивості харчової продукції, отриманої з ГМІ: органолептичні, фізико-хімічні властивості, збереження і вплив генетичної модифікації на технологічні параметри продукції.

Результати експертизи основних видів продовольчої сировини, отриманої з ГМІ, обговорюються Робочою групою по правових питаннях здобуття і використання їжі з трансгенних джерел при Міжвідомчій комісії по генно-інженерній діяльності. За результатами експертизи представленою документами і зразків харчової продукції Центр санітарно-епідеміологічного нормування, гігієнічної сертифікації і експертизи Мінздравсоцрозвитку Росії оформляє бланк реєстраційного посвідчення (або мотивована відмова), яке підписує Головна державна санітарна лікарка РФ. Термін дії реєстраційного посвідчення - до трьох років.

Медико-генетична оцінка харчової продукції, отриманої з ГМІ, проводиться відповідно до МУК 2.3.2.970-00. Необхідність проведення тих або інших досліджень по даному розділу і для кожного конкретного виду харчової продукції по цьому пункту визначає експерт Центру «Біоінженерія» РАН. Обов'язковими при цьому є методи:

- ♦ Rapd-аналіз генотипів, визначення наявності трансгенною ДНК, полімеразна ланцюгова реакція. Як додаткові застосовують визначення загальних властивостей генетичної вставки і оцінку функціональної вставки;
- ♦ кількісний вміст ГМІ рослинного походження в харчовій продукції визначають відповідно до методичних вказівок МУК 4.2.1913-04 «Методи кількісного визначення генетично модифікованих джерел (ГМІ) рослинного походження в продуктах живлення», які призначені для вживання в лабораторіях установ Госсанепіднадзора, виконуючих контроль за якістю продовольчої сировини і харчових продуктів, у тому числі і з ГМІ.

Оцінка харчової продукції, отриманої з ГМІ, по функціонально-технологічних властивостях. Необхідність проведення тих або інших

досліджень по цьому розділу визначається експертом Московського державного університету прикладної біотехнології.

У життєдіяльності людського організму очолюючи роль грає білок. Тому дуже поважно простежити, чи не зазнає він яких-небудь змін в процесі генетичної модифікації.

Оскільки в процесі генетичної модифікації генома організму накопичуються компоненти, забезпечує його стійкість до зовнішньої несприятливої факторі — захворювань, комах-шкідників, гербіцидам і так далі, то не виключено, що в певних концентраціях ці компоненти можуть бути небезпечними для здоров’я людини. Тому в процесі промислової переробки такої сировини можуть потрібно зміни в існуючих технологіях, що забезпечують мінімальний залишковий вміст небезпечних для здоров'я компонентів. Такі зміни в технології можуть позначитися на якісних показниках (функціонально-технічних властивостях) білкових препаратів, вироблюємих з ГМ-сировини. Окрім цього, передбачається цілеспрямована зміна амінокислотного складу білків, що виділяються з генетично модифікованої харчової продукції, для підвищення їх харчової цінності. Це неминуче спричинить зміну функціонально-технологічних властивостей комерційних білкових препаратів і відіб'ється на якості харчових продуктів, в яких вони використовуються, що, у свою чергу, може привести до необхідності внесення змін в технологічні процеси, що використовують ці препарати. Отже, необхідний моніторинг найбільш важливих функціональних властивостей білків, таких як розчинність, здатність стабілізувати емульсії і піни, утворювати гелі, утримувати жир і вологу і безпосередньо пов'язаних з характеристиками готових харчових продуктів.

Санітарно-хімічні показники. Санітарно-хімічні дослідження для кожного виду продукції, отриманої з ГМІ, проводяться відповідно до «Гігієнічних вимог безпеки і харчової цінності харчових продуктів» СанПін 2.3.2.1078-01. Їх необхідність визначається експертом з врахуванням хімічного складу вихідної аналогічної продукції, отриманої традиційним способом без використання генної інженерії.

При санітарно-хімічному дослідженні визначаються:

♦ показники безпеці: цинк, мідь, свинець, миш'як і інші метали; пестициди; вуглеводні, патулін і т.п.;

♦ показники якості: загальний білок, ліпіди, вуглеводи, вітаміни, нуклеїнові кислоти і т.п.;

♦ радіологічні показники безпеки.

Оцінка безпеки харчової продукції, отриманої з ГМІ, проводиться на лабораторних тваринах за визначними схемами. Під час проведення експерименту у тварин вивчають наступні показники:

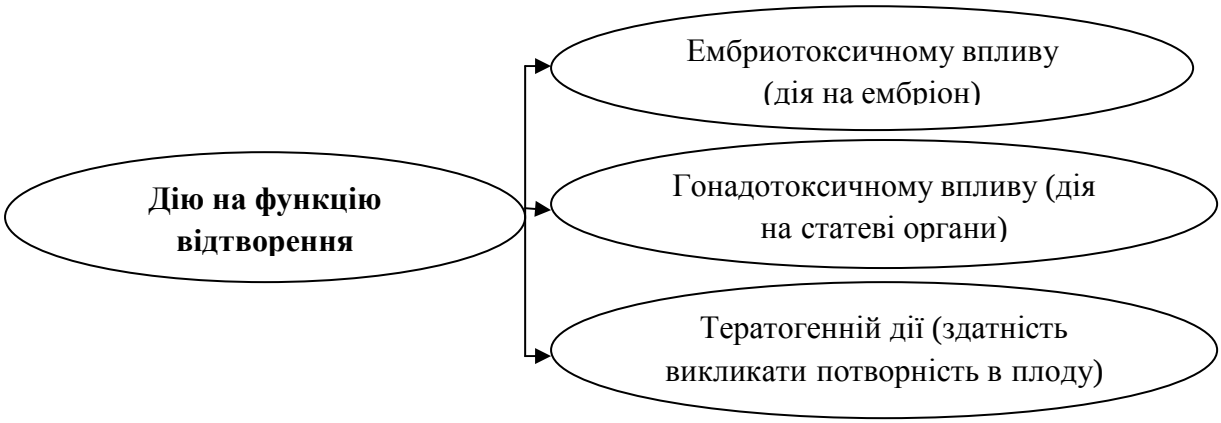
♦ інтегральні — загальний стан тварин, який оцінюють щодня (контроль маси тіла, на забої визначають абсолютну і відносну масу тіла);

♦ біохімічні — визначаються при забої тварин (загальний білок, глюкоза, сечовина, холестерин, мінеральний склад і ін.).

♦ гематологічні гемоглобін, загальна кількість лейкоцитів, еритроцитів і др.;

♦ морфологічні (всі тварини, загиблі в ході експерименту, розкриваються, і складається протокол розтину). Досліджують всі внутрішні органи мікроскопічно; печінку, нирки, селезінку, серце, шлунок і інші органи вивчають додатково оглядовими гістологічними методами; проводять додаткові морфологічні дослідження (вивчення жирових включень в клітці, виявлення жирних кислот, холестерину, РНК і ін.).

В деяких випадках проводять спеціальні дослідження, необхідність яких визначається експертом Інституту живлення РАМН. До спеціальних досліджень відносяться вивчення можливої мутагенної дії продуктів, отриманих з ГМІ, їх алергенності, впливу на функцію відтворення.



Імунологічні дослідження також проводять в експериментах на тваринах (на щурах і мишах). Дослідження проводяться за схемою хронічного експерименту за тих же умов годування і вмісту. Через 1 і 6 міс. від початку експерименту визначають показники гуморальної, клітинної ланки імунітету, неспецифічні чинники імунітету.

Визначення "біологічної цінності і засвоюваності. Біологічну цінність білків визначають хімічними і біологічними методами, а засвоюваність — лише біологічним.

Відповідно до рекомендацій ФАО/ВІЗ для визначення біологічної цінності білків хімічним методом використовують метод розрахунку амінокислотного швидка (АС) з корекцією на засвоюваність, заснованого на аналізі і зіставленні вмісту незамінних амінокислот в досліджуваних білках відносно їх рівня у довідковій амінокислотній шкалі з подальшою корекцією отриманих величин на коефіцієнт засвоюваності.

Клінічні випробування нового вигляду харчової продукції, отриманої з ГМІ. У клінічних дослідженнях на добровольцях використовують три рівні дозувань:

♦ нормальний дієтичний рівень — кількість харчового продукту, яка типово споживається людиною;

♦ максимальний дієтичний рівень — максимальна кількість харчового продукту, яке може бути використане для щоденного вжитку протягом тривалого терміну спільно з іншою їжею;

♦ максимально здійсниме введення — максимальна кількість харчового продукту, яку можна спожити протягом короткого терміну (зазвичай обмежується фізіологічною місткістю шлунково-кишкового тракту).

Умови проведення клінічних випробувань: випробування проводяться на двох групах здорових добровольців по 10-20 чоловік в кожній групі в умовах стаціонару. Випробовувана група споживає продукт, отриманий з ГМІ, контрольна група — аналогічний продукт з традиційного джерела. Спочатку поступово доводять кількість споживаного продукту харчування до максимально можливого об'єму введення. Якщо не спостерігається проявів непереносимості або інших проявів, то вжиток на цьому рівні зберігають протягом 48 ч, контролюючи загальний стан добровольців, фізіологічні параметри, біохімічні показники крові і так далі Інструментальні і лабораторні методи дослідження використовуються по розсуду лікарки. В разі виявлення серйозних негативних проявів випробування закінчується до з'ясування причин.

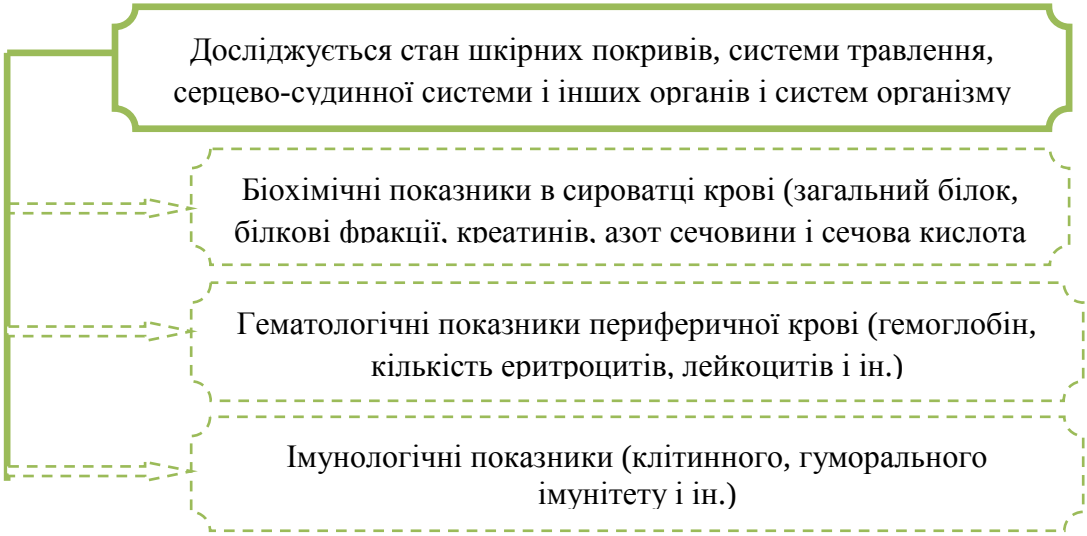
Якщо не спостерігалися негативні прояви, то дозування знижується до максимального дієтичного рівня, і випробування продовжується 90 днів з проведенням наступних видів досліджень:

♦ оцінка органолептичних властивостей продуктів;

♦ оцінка переносу продуктів.

Вивчення органолептичних властивостей продуктів здійснюється анкетно-опитувальним методом, оцінюються їх смак, запах, консистенція.

Переніс продуктів оцінюється дорогою клінічного спостереження по суб'єктивних і об'єктивних ознаках.



В якості додаткових досліджень пропонується:

1. Проведення досліджень впродовж 6 місяців. Спостерігаються від 100 до 500 добровольців, споживаючих новий продукт на максимальному

дієтичному рівні. Контролюється загальний стан добровольців, фізіологічні параметри, біохімічні показники крові і так далі

2. Проведення тривалих популяціях дослідження, які дозволять оцінити довготривалі послідовні впливи вжитку нових продуктів харчування на велику кількість людей і ідентифікувати маленькі субпопуляції (менш ніж 0,1% населення), які можуть мати особливі проблеми з новими продуктами харчування. Залежно від природи (характеру) продукту харчування випробування проводять на 1000—3000 добровольцях, одержуючи нові продукти харчування на нормальних дієтичних рівнях протягом 1,5—2 років. На додаток до контролю життєво важливих ознак, фізіологічних параметрів, біохімічних показників крові і так далі також необхідно забезпечити збір інформації відносно впливу цієї продукції на дітородіння і кількість онкологічних захворювань. На підставі постанови Головної санітарної лікарки РФ № 80 від 30 11.2007 р. затверджені МУ 2.3.2.2306-07 «Медико-біологічна оцінка безпеки генно-інженерно-модифіцированних організмів рослинного походження».

Директор Інституту харчування Російської академії медичних наук, академік РАМН В. О. Тутелян розробив технологію медико-біологічної оцінки продукції, отриманої з генетично модифікованих джерел. Вона охоплює оцінку композиційної еквівалентності генетично модифікованих джерел традиційному аналогу як початкового етапу досліджень. Він вважає обов'язковим незалежно від встановленого ступеня еквівалентності проведення хронічних токсикологічних досліджень на лабораторних тваринах з включенням в їх раціон харчового продукту в кількості, яка разом з тим не порушує збалансованості раціону за вмістом макро- і мікронутрієнтів та калорійності. Біохімічні, морфологічні і гематологічні дослідження мають проводитись через 1 і 6 місяців від початку експерименту.

Запропонована В. О. Тутеляном система оцінки якості і безпечності модифікованої продукції використовується в Росії (рис 2.3.

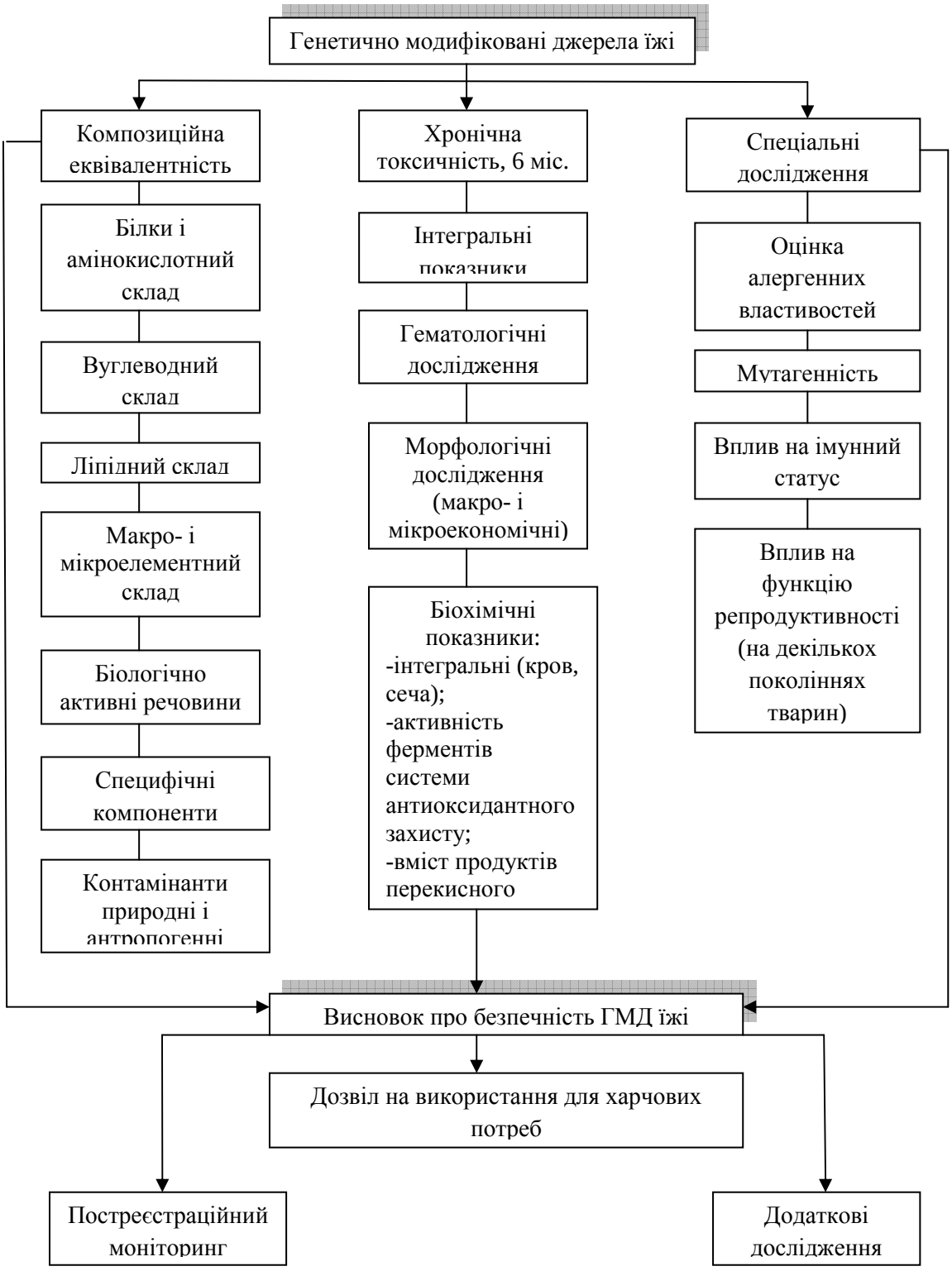


Рис. 2.3. Система оцінки якості і біобезпечності генетично модифікованих джерел їжі, що використовується в Російській Федерації

Результати проведеної експертизи розглядаються на експертній раді Головного випробувального центру харчової продукції ГУ НДІ харчування РАМН. Висновок передається у Міністерство охорони здоров'я, Департамент Держепідемнагляду, який реєструє продукт і дає дозвіл на використання його харчових потреб (рис.2.4).

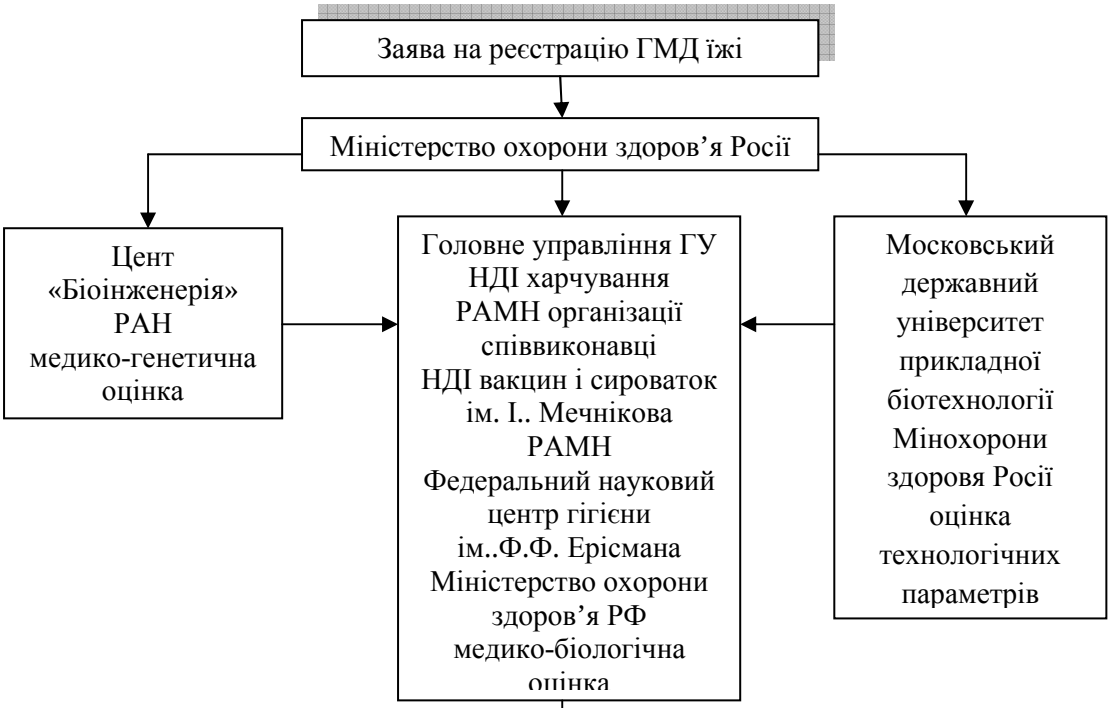


Рис. 2.4. Система оцінки якості і безпечності генетично модифікованих джерел їжі в

Рекомендовані літературні джерела до вивчення теми: [1,2,6,7,10,12,13,14,16,19,20]

Тема 2.3. Методи виявлення ГМО та їх похідних

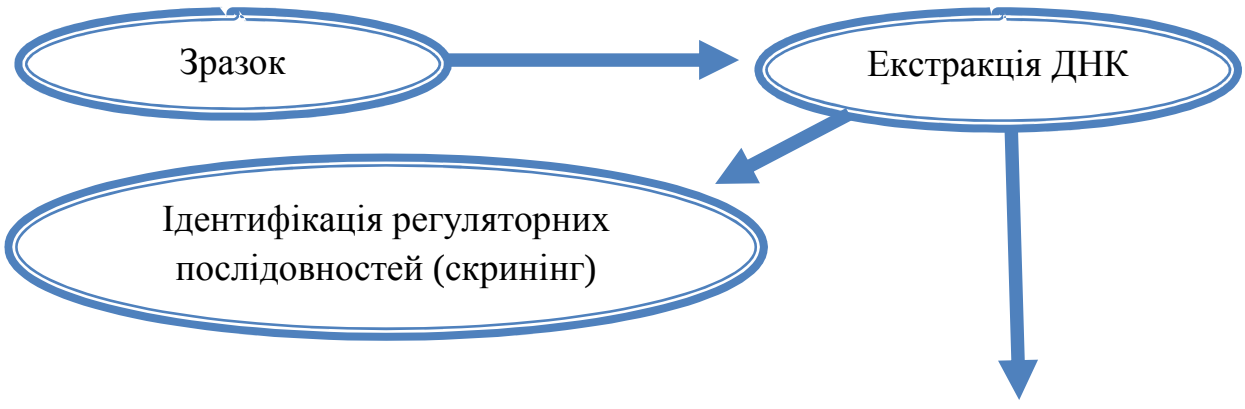
1. *Багатоступеневий аналіз генетично модифікованих джерел.*

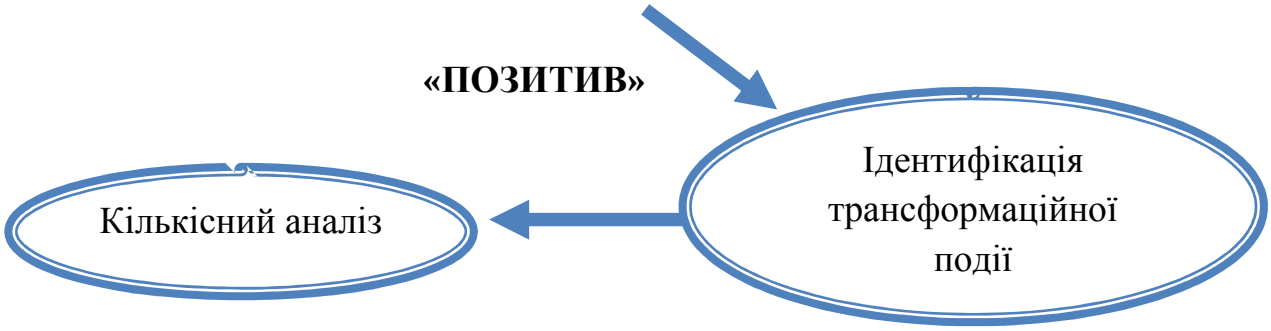
Для в… сировині та харчових пр… дентифікації, нормативна, матеріально-технічна база і кадрове супроводження.

Для вирішення завдань виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з них використовується схема (рис. 3.1.) багатоступеневого аналізу, яка дає можливість визначити і кількісно охарактеризувати генетично модифіковані джерела незалежно від складу зразка.

Рис. 3.1.

Схема визначення ГМО в харчових продуктах





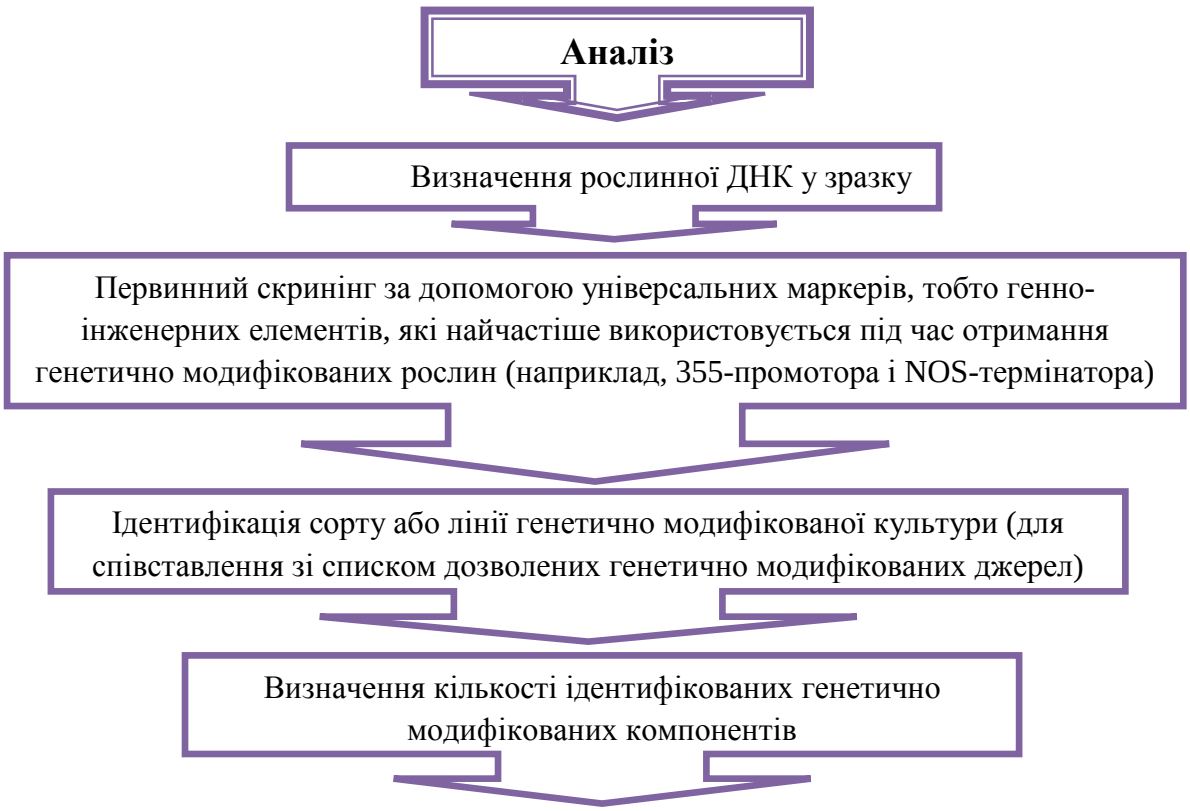
Методи визначення ГМО:

ІФА - дозволяє виявити наявність білка - продукту модифікації певного гена організму, шляхом скріплення його специфічними до даного білка антитілами, експрес-тест на стріпах ("-" - ЛО і ЛП результати, лише для сировини, лише якісний).

ВЕЖХ/ГХ, спектральні методи - визначення змінного хімічного складу ГМ продукту (н-р жирних кислот і тригліцерідов в ГМ рапсу, структура волокон в ГМ сої) ("+" аналіз небілкових продуктів, "-" - трудомісткість, лише якісний, обмежене число ГМО міняється хімічно відчутно, лінії не ідентіфіцируються).

ПЦР по кінцевій крапці - детекція після завершення процесу ампліфікації в акріламідном гелі з якісне визначення, можливість контамінації, бромистий етідій.

Основним методом для проведення досліджень є полімерна ланцюгова реакція (плр).



Real-time PCR - це технологія, що дозволяє стежити за кількість напрацьованого продукту реакції в реальному часі після (і в течії) кожного циклу ПНР. Для цього використовуються технології типа Такман, молекулярні буї, скорпіони (всі ці технології засновані на присутності двох флуорофорів в реакції - наприклад зонд мічений з двох сторін, як в такмане), або можна використовувати фарбник SYBR-Gren (тут не треба внутрішнього зонда). При виборі машин ПЦР реального часу необхідно в першу чергу звернути увагу на оптику і детекторну систему, можливість роботи в малтіплексовом режимі, швидкість реакції (рампінг) і можливість використання реактивів різних компаній.

Real-time PCR - це сімейство методик кількісного PCR з наступними властивостями:

- Побудова за цими даними кінетичної кривої PCR.
- Автоматична детекція накопичення продукту реакції після кожного циклу ампліфікації, безпосередньо в процесі реакції.
- Визначення відносної концентрації субстрата на підставі аналізу цієї кривої.

Загальний принцип real-time PCR

- Для виявлення продуктів ампліфікації в режимі реального часу використовують ДНК-зонди. До складу ДНК-зонда входить флуоресцентна мітка і гаситель флуоресценції. В ході ПЦР відбувається роз'єднання флуоресцентної мітки і гасителя, що приводить до появи свічення прямо пропорційного кількості ПЦР-продукту - репортерної флуоресценції. Механізми генерації репортерної флуоресценції розрізняються залежно від типа real-time PCR;
- Для постановки ПЦР в реальному часі необхідний спеціальний ампліфікатор, відмітною особливістю якого є можливість детектувати флуоресценцію.

1.метод ПЦР в реальному часі як для якісних, так і для кількісних тест-систем значно знижує ризик контамінації, витрати на додаткове приміщення, устаткування і персонал для стадії електрофорезу, а також час аналізу

2.широкий перелік тест-систем для аналізу будь-яких об'єктів **(27найменованій)**

3.полний комплекс реактивів : виділення ДНК, видова ідентифікація рослин, якісний аналіз ГМО, ідентифікація ліній, кількісний аналіз.

4.удобная форма випуску - повністю готові пробірки, в які потрібно додати лише зразок ДНК, що знижує ризик помилки оператора і контамінації при розкопуванні суміші, а також час підготовки реакції

5.налічие реакції ВПК для виключення псевдонегативних результатів

6.полная комплектність, що включає всі необхідні контролі для якісного і калібрувальні зразки для кількісно аналізу.

7.нізкая вартість тест-систем, порівняння з наборами для аналізу ГМО з детекцією методом електрофорезу

Метод ампліфікації in vitro за допомогою ДНК-полімерази нуклеотидних послідовностей з використанням олігонуклеотидних ДНК-приманок, комплементі послідовності протилежних ланцюгів ДНК на кордонах амплифіцируємого ділянки. ПЦР є серією з трьох реакцій (20-30 циклів) - денатурація ДНК, відпал ДНК-приманок і синтез ДНК з кожною з приманок назустріч один одному з використанням протилежних ланцюгів ДНК як матриці. Після закінчення кожного циклу кількість синтезованого продукту подвоюється і відбувається збільшення кількості аналізованою ДНК в геометричній прогресії. ПЦР дозволяє ампліфіцировать будь-які послідовності завдовжки до 5-6 тис. нуклеотидів, що робить можливим використовувати її для секвенування, молекулярної ДНК-діагностики, картірованія генів (як зонди для гібридизації in situ).

Переваги Real-time PCR перед звичайною PCR:

• Аналіз результатів реакції відбувається одночасно з самою реакцією, в тій же самій пробірці і в тому ж приладі

• Скасовується етап реакційного для поста аналізу продуктів реакції.

• Швидше.

• Дозволяє виробляти кількісний аналіз матриці.

• Одночасний аналіз декількох різних мішеней в одній пробірці.

• Оцінювати генетичний поліморфізм мішені.

Існує декілька методів генетично модифікованих джерел. Перевагу надають методу визначення транс генної ДНК. Будова ДНК однакова у всіх клітинах організму, тому будь-яка частина рослини може бути використана для ідентифікації генетично модифікованих джерел, що неможливо в разі визначення модифікованого білка, оскільки білок експресується не у всіх частинах рослин. Методи ідентифікації трансгенної ДНК охоплюють декілька етапів вилучення ДНК з продукту, ампліфікацію специфічної ДНК, електрофорез продуктів полимеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і візуалізацію результатів електрофорезу.

Метод вилучення ДНК з продуктів рослинного походження складається з декількох стадій: руйнування клітин хімічними агентами, найчастіше аніонними детергентами, з метою вилучення ДНК у розчин; видалення білків та інших компонентів з розчину преципітацією: селективне відділення ДНК осадженням спиртом. У подальшому ДНК може бути очищена з використанням желатинових агентів, які вилучають компоненти, що осаджені спиртом разом з ДНК. При переході від сирої необробленої сировини до високо обробленої харчової продукції виникає проблема вилучення ДНК в необхідній кількості і відповідної якості. ДНК може руйнуватися під дією надмірної температури, опромінення ультрафіолетовим світлом, обробкою кислоти і ферментами, які специфічно діють на ДНК. Встановлено, що ДНК не визначається в харчових продуктах, які були піддані значній технологічній обробці: гідролізовані рослинні білки, високо рафіновані олії та крохмаль, соєвий соус, цукор і етиловий спирт з генетично модифікованої картоплі.

Методи, які ґрунтуються на виявленні трансгенної ДНК, мають переваги — це можливість використання скринінгових аналізів, які дозволяють визначити регуляторні послідовності, що використовуються приблизно в 80 % трансгенних рослин, які створені сьогодні: промотор 355, отриманий з вірусу мозаїки цвіт очної капусти, і термінатор № 03 Agrobacterium tumofaciens. Використання скринінгових методів дає можливість виявити не дозволені для використання ГМД їжі, якщо при створенні їх використовувались ці регуляторні послідовності. Оскільки послідовності ДНК (промотор 355 і термінатор № 05) зустрічаються в природі, то виявлення однієї з них необов'язково (але з великою часткою вірогідності) свідчить про наявність ГМД в харчових продуктах, і для повної достовірності результату необхідно визначити дві послідовності.

2. *Міжнародна практика виявлення генетично модифікованої ДНК.*

Міжнародна практика виявлення генетично модифікованої ДНК у продуктах харчування і сировини рослинного походження ґрунтується на

якісному і кількісному аналізі. Якісний аналіз полягає у виявленні найбільш розповсюджених регуляторних елементів і цільових генів, наприклад, 355-промотора, № 05-термінатора, гена ср4 стійкості до гербіциду раундап, генів Cryla і Cryilia стійкості до комах та ін. Якщо виявлено ці гени, аналіз зразка продовжують і здійснюють кількісний аналіз. За допомогою метода полімеразної ланцюгової реакції визначають і аналізують співвідношення між ДНК генно-інженерної вкладенки і не модифікованої ДНК цього рослинного компонента.

У Росії багатоступеневого аналізу сировини і продуктів харчування в абсолютній більшості випадків реалізується неповністю: аналіз завершується на стадії первинного скринінгу без ідентифікації виявлених генетично модифікованих джерел.

Останнім часом Федеральний центр Розпоживнагляду затвердив методичні рекомендації ООО «Компанія Біоком» з проведення якісного та кількісного аналізу на ГМД методом ПЛР в режимі реального часу.

3. *Методи виявлення та ідентифікації ГМО та їх похідних, що дозволено в Україні*

В Україні сьогодні відсутній контроль за оборотом продуктів, які містять генетично модифіковані організми. Причин декілька: правове забезпечення порівняно з іншими передовими країнами світу приймається з великим запізненням, наприклад, Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» прийнято тільки 32 травня 2007 р. Закони України «Про забезпечення санітарного та епідеміологічного благополуччя населення» № 3037-ИІ від 07.02.2002 р. в частині генетично модифікованих організмів і Положення про державний санітарно-епідеміологічний нагляд, затверджені Постановою КМ України № 217 від 19.08.2002 р. в частині пріоритетних завдань санітарної служби, зокрема видачі дозволів на виробництво продуктів з рекомбінаційними молекулами ДНК, виробництво, зберігання, транспортування, використання, захоронення, знищення та утилізацію продуктів біотехнології та інших біологічних агентів практично не діють. Не діє також Постанова КМ від 1 серпня 2007 р. № 985, якою передбачалося обов'язкове маркування харчових продуктів, що містять більше як 0,9 % генетично модифікованих організмів. Також практично не діє введений постановою КМ України «Тимчасовий порядок ввезення, державного випробування, реєстрації та використання трансгенних сортів рослин». Питання про випробування та використання генетично модифікованої сировини і продуктів харчування в Україні практично не вирішуються.

Проблема створення лабораторій не вирішується, а отже, переноситься на невизначений термін маркування продуктів, які містять генетично модифіковані добавки. Надзвичайна важливість цієї проблеми не дозволяє зволікати з її вирішенням. Сьогодні всі виробники харчових продуктів в Україні, навіть найчесніші і найпопулярніші, не маючи власної системи контролю своєї продукції, не можуть дати гарантій, що в ній не міститься ГМО. Разом з тим,

згідно зі статтею 18 Закону України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використання генетично модифікованих організмів» особи, які приховують інформацію, що могло спричинити або спричинило загрозу здоров'ю, в разі використання продукції, отриманої з використанням незареєстрованих ГМО, несуть цивільну, адміністративну, дисциплінарну або кримінальну відповідальність.

Згідно зі статтею 50 Конституції України «Кожен має право на безпечне для життя і здоров'я довкілля та на відшкодування завданої порушенням цього права шкоди. Кожному гарантується право вільного доступу до інформації про стан довкілля про якість харчових продуктів і предметів побуту, а також право на її поширення. Така інформація ніким не може бути зосереджена», а згідно зі статтею 16 Закону України «Про захист прав споживачів» від 1991 р. «Споживач має право на те, щоб товар (роботи, послуги) за звичайних умов їх використання, зберігання і транспортування, були безпечними для його життя, здоров'я, навколишнього природного середовища, а також не завдавали шкоди його майну».

Рекомендована література до вивчення теми: [1,3,6,7,10,12,13,14,16,19,20, 25-29].

Тема 2.4. Маркування харчових продуктів із ГМД. Державний моніторинг за оборотом харчової продукції, яка одержана із ГМД

План

1. *Регулювання генетично-інженерної діяльності в Україні.*

Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» регулює відносини між органами виконавчої влади, виробниками, продавцями (постачальниками) генетично модифікованих організмів та продукції, виробленої за технологіями, що передбачають їх розробку, створення, випробування, дослідження, транспортування, імпорт, експорт, розміщення на ринку, вивільнення у навколишнє середовище та використання в Україні із забезпеченням біологічної і генетичної безпеки. Він складається з 6 розділів. У розділі 1 «Загальні положення» в статті 1. «Терміни та їх визначення» наведені терміни: біологічна безпека, генетична безпека, організм, живий організм, генетично модифікований організм, продукція, отримана з використанням ГМО, генетично-інженерна діяльність, замкнена система, відкрита система, ризик, державна реєстрація ГМО.

Стаття 2 згаданого Закону розглядає законодавство України в галузі генетично-інженерної діяльності та поводження з ГМО.

Законодавство України у сфері генетично-інженерної діяльності та поводження з ГМО складається з цього Закону, інших законодавчих актів України, що приймаються відповідно до нього, а також відповідних міжнародних договорів, згоду на обов'язковість яких надано Верховною Радою України.

У статті 3 наведені основні принципи державної політики в галузі поводження з ГМО та завдання цього Закону.

Основними принципами державної політики в галузі генетично-інженерної діяльності та поводження з ГМО є:

- пріоритетність збереження здоров'я людини і охорони навколишнього природного середовища порівняно з отриманням економічних переваг від застосування ГМО;
- забезпечення заходів щодо дотримання біологічної і генетичної безпеки під час створення, дослідження та практичного використання ГМО для господарських потреб;
- контроль за ввезенням на митну територію України ГМО та продукції, отриманої з їх використанням, їх реєстрацією та обігом;
- загальнодоступність інформації про потенційні ризики від застосування ГМО, які передбачається використовувати у відкритій системі, та заходи щодо дотримання біологічної і генетичної безпеки;
- державна підтримка генетично-інженерних досліджень та наукових і практичних розробок у галузі біологічної і генетичної безпеки під час створення, дослідження та практичного використання ГМО для господарських потреб.

У статті 4 визначені суб'єкти регулювання.

Положення цього Закону застосовуються на території України до юридичних та фізичних осіб, які здійснюють діяльність, пов'язану з поводженням з ГМО. Юридичні та фізичні особи України та інших держав, а також особи без громадянства рівні у своїх правах та обов'язках, визначених цим Законом.

Якщо міжнародним договором України встановлено інші правила, ніж передбачені цим Законом, то застосовуються правіла міжнародного договору.

У статті 5 визначені сфери діяльності, що підлягають регулюванню під час поводження з ГМО.

Регулюванню цим Законом підлягають:

- генетично-інженерна діяльність, що здійснюється у замкненій системі;
- генетично-інженерна діяльність, що здійснюється у відкритій системі;
- державна реєстрація ГМО та продукції, виробленої з їх використанням;
- введення в обіг ГМО та продукції, виробленої з їх використанням;
- експорт, імпорт та транзит ГМО.

У розділі II «Забезпечення виконання закону» і статті 6 визначено суб'єкти, що забезпечують виконання цього Закону.

У статті 7 викладено повноваження. Кабінету Міністрів України.

Кабінет Міністрів України:

—забезпечує державне регулювання і контроль у сфері поводження з ГМО та генетично-інженерної діяльності;

—забезпечує здійснення заходів щодо державної підтримки генетично-інженерної діяльності;

—спрямовує і координує роботу центральних органів виконавчої влади та інших органів виконавчої влади в галузі поводження з ГМО та генетично-інженерної діяльності;

—організовує міжнародне співробітництво з метою забезпечення безпечного поводження з ГМО та розвитку наукових знань у цій галузі;

—затверджує порядок державної реєстрації ГМО та продукції, отриманої з їх використанням;

—затверджує порядок ввезення ГМО. джерел харчових продуктів, кормів і харчових продуктів та кормів, вироблених із ГМО;

—затверджує порядок надання дозволу на транзитне переміщення ГМО через територію України;

—затверджує порядок ліцензування генетично-інженерної діяльності у замкненій та відкритій системах;

—затверджує порядок проведення державної апробації (випробовувань) ГМО у відкритій системі та отримання дозволу на їх проведення;

—затверджує критерії безпеки поводження з ГМО у замкненій системі.

У статті 8 визначені повноваження центральною органу виконавчої влади з питань освіти і науки.

Центральний орган виконавчої влади з питань освіти і науки:

- забезпечує розвиток наукового і науково-технічного потенціалу в галузі генетично-інженерної діяльності;
- забезпечує захист міжнародних і національних патентів та інших видів інтелектуальної власності в галузі поводження з ГМО, генетичної інженерії та генетично-інженерної діяльності;
- розробляє критерії безпеки поводження з ГМО та генетично-інженерної діяльності у замкнених системах;

- розробляє та вдосконалює систему контролю за дотриманням правил безпеки генетично-інженерної діяльності;
- здійснює ліцензування генетично-інженерної діяльності у замкнених системах;
- з урахуванням результатів державної екологічної та державної санітарно-епідеміологічної експертиз щодо біологічної і генетичної безпеки ГМО, які здійснюються відповідно до міжнародних договорів України, надає дозволи на ввезення незареєстрованих ГМО, якщо вони використовуються тільки з науково-дослідного метою у замкнених та відкритих системах, а також з метою їх державних випробувань.

У статті 9 визначено повноваження центрального органу державного управління виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів.

Центральний орган виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів:

- здійснює державну екологічну експертизу ГМО, призначених для використання у відкритій системі;
- на основі наукових принципів та міжнародного досвіду розробляє критерії оцінки ризику потенційного впливу ГМО на навколишнє природне середовище;
- здійснює державну реєстрацію засобів захисту рослин, отриманих з використанням ГМО;
- здійснює державний нагляд і контроль за дотриманням заходів біологічної і генетичної безпеки щодо біологічних об'єктів природного середовища під час створення, дослідження та практичного використання ГМО у відкритій системі;
- надає дозволи на вивільнення ГМО у відкритій системі. У статті 10 визначено повноваження центрального органу виконавчої влади з питань охорони здоров'я.

Центральний орган виконавчої влади з питань охорони здоров'я:

- на основі наукових принципів та міжнародного досвіду розробляє критерії оцінки ризику потенційного впливу на здоров'я людини ГМО та продукції, отриманої з використанням ГМО, у тому числі харчових продуктів;
- здійснює державну санітарно-епідеміологічну експертизу ГМО, які використовуються у відкритих системах, для обґрунтування висновку щодо їх біологічної і генетичної безпеки стосовно людини з метою їх державної реєстрації;
- здійснює державний нагляд і контроль за дотриманням заходів біологічної і генетичної безпеки стосовно людини під час створення, дослідження та практичного використання ГМО у відкритій системі;
- здійснює державну санітарно-епідеміологічну експертизу продукції, отриманої з використанням ГМО, для обґрунтування висновку щодо її безпечності для здоров'я і життя людини;

- здійснює державну реєстрацію ГМО джерел харчових продуктів, а також державну реєстрацію харчових продуктів, косметичних засобів, лікарських засобів, які містять ГМО або отриманих з їх використанням;
- затверджує перелік харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту ГМО та перелік відповідних методик детекції та ідентифікації ГМО;
- здійснює моніторинг харчових продуктів, отриманих із застосуванням ГМО, за критерієм наявності в них тільки зареєстрованих ГМО джерел.

У статті 11 визначено повноваження центрального органу виконавчої влади з питань аграрної політики.

Центральний орган виконавчої влади з питань аграрної політики:

- забезпечує державну апробацію (випробовування) та державну реєстрацію створених на основі ГМО сортів сільськогосподарських рослин, порід тварин, мікробіологічних сільськогосподарських і ветеринарних препаратів;
- здійснює державний нагляд і контроль за дотриманням заходів біологічної і генетичної безпеки щодо сільськогосподарських рослин і тварин під час створення, дослідження та практичного використання ГМО у відкритих системах на підприємствах, в установах і організаціях агропромислового комплексу незалежно від їх підпорядкування і форми власності;
- здійснює державну реєстрацію ГМО джерел кормів, а також реєстрацію кормових добавок та ветеринарних препаратів, які містять ГМО, або отриманих з їх використанням;
- затверджує перелік кормів, в яких здійснюється контроль вмісту ГМО, та перелік відповідних методик детекції та ідентифікації ГМО;
- здійснює моніторинг кормів, отриманих із застосуванням ГМО, за критерієм наявності в них тільки зареєстрованих ГМО джерел.
- У статті 12 викладено матеріал про регулювання генетично-інженерної діяльності в установах, організаціях та на підприємствах.
- Генетично-інженерна діяльність у замкненій системі підлягає ліцензуванню.
- Ліцензування такої діяльності здійснюється на підставі оцінки ризику під час поводження з ГМО у замкненій системі.
- Порядок такого ліцензування затверджується Кабінетом Міністрів України за поданням центрального органу виконавчої влади в галузі освіти і науки.
- Підприємства, установи та організації, які здійснюють генетично-інженерну діяльність (далі — установи), створюють при установі Комісію з біологічної та генетичної безпеки проведення генетично-інженерних робіт (далі — Комісія). Завданням Комісії є проведення попередньої оцінки ризику під час планування та підготовки генетично-інженерних робіт.

- Типове Положення про Комісію з біологічної та генетичної безпеки проведення генетично-інженерних робіт затверджується центральним органом виконавчої влади з питань освіти і науки.

- У випадках, коли генетично-інженерна діяльність здійснюється фізичними особами або чисельний склад установи не дозволяє сформувати Комісію при установі, то такі особи або установи прикріплюються до однієї з комісій за погодженням з центральним органом виконавчої влади з питань освіти і науки.

2. *Державна реєстрація, використання, ввезення та транзит, зберігання, транспортування, утилізація ГМО.*

Генетично модифіковані організми, що використовуються у відкритій системі, повинні відповідати вимогам біологічної та генетичної безпеки за умови дотримання передбаченої технології використання.

Обов'язковою умовою використання ГМО у відкритій системі є наявність методів і методик їх ідентифікації, розроблених за міжнародними стандартами та затверджених в установленому порядку в Україні.

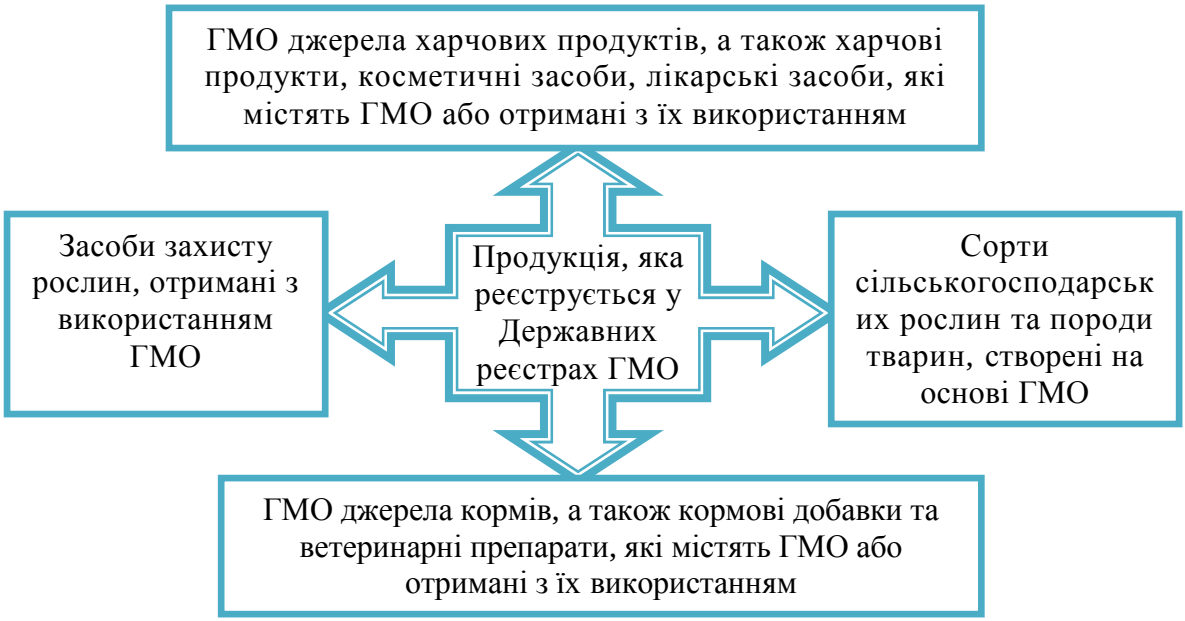
Забороняється вивільнення в навколишнє природне середовище ГМО до їх державної реєстрації.

До державної реєстрації вивільнення в навколишнє природне середовище ГМО можливе тільки з метою державної апробації (випробовувань). Проведення державної апробації (випробовувань) ГМО у відкритій системі здійснюється тільки на підставі дозволу, який видається центральним органом виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів. Дозвіл видається одноразово на проведення державної апробації (випробовувань) конкретно визначеного ГМО.

Порядок отримання такого дозволу та його форма затверджуються Кабінетом Міністрів України за поданням центрального органу виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів. У дозволі зазначаються конкретні умови та терміни проведення державної апробації (випробовувань) ГМО.

Дозвіл на проведення державних апробацій (випробовувань) ГМО у відкритій системі може бути скасованим у випадках отримання науково обґрунтованої інформації, яка може призвести до переоцінки ризику щодо впливу ГМО на здоров'я людини та навколишнє природне середовище у бік його підвищення, а також порушення умов дозволу.

Центральні органи виконавчої влади ведуть Державні реєстри ГМО та продукції, виробленої з їх застосуванням, розміщують їх на власних офіційних веб-сайтах та регулярно публікують у засобах масової інформації.



Державна реєстрація здійснюється строком на п'ять років на безоплатній основі. Перереєстрація здійснюється у тому ж порядку, що і реєстрація.

У державній реєстрації ГМО та продукції, виробленої з їх застосуванням, може бути відмовлено в разі отримання науково обґрунтованої інформації щодо їх небезпеки для здоров'я людини або навколишнього природного середовища під час використання за цільовим призначенням.

До генетично модифікованих сортів рослин можуть бути застосовані обмеження щодо їх вирощування на землях, перелік яких визначається центральним органом виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів.

Забороняється ввезення на митну територію України ГМО, а також продукції, виробленої із застосуванням ГМО, до їх державної реєстрації, за винятком таких, що призначені для науково-дослідних робіт або держаних апробацій (випробовувань).

Дозвіл на ввезення ГМО, призначених для науково-дослідних робіт або держаних апробацій (випробовувань), надається центральним органом виконавчої влади з питань освіти і науки в порядку, встановленому Кабінетом Міністрів України.

Ввезення харчових продуктів, косметичних засобів, лікарських засобів, кормових добавок та ветеринарних препаратів, які містять ГМО або отримані з їх використанням, для безпосереднього вживання за призначенням можливе тільки за умови державної реєстрації відповідних ГМО джерел та переліченої у цій частині продукції.

Порядок такого ввезення встановлюється Кабінетом Міністрів України.

Дозвіл на транзитне переміщення незареєстрованих в Україні ГМО надається центральним органом виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів у порядку, встановленому Кабінетом Міністрів України.

Обліковий матеріал ГМО, одержаний під час випробувань, непридатні або заборонені до використання ГМО, а також тара від них підлягають

утилізації, знищенню та знешкодженню в порядку, що встановлюється центральним органом виконавчої влади з питань освіти і науки та центральним органом виконавчої влади з питань екології та природних ресурсів.

Порушення вимог Закону і прийнятих на його основі нормативно-правових актів тягне за собою цивільну, адміністративну, дисциплінарну або кримінальну відповідальність згідно із законом.

Відповідальність несуть особи, які винні у:

— приховуванні або перекрученні інформації, що могло спричинити або спричинило загрозу життю та здоров'ю людини чи навколишньому природному середовищу;

— недотриманні або порушенні вимог стандартів, регламентів, санітарних норм і правил використання, транспортування, зберігання, реалізації ГМО;

— використанні незареєстрованих ГМО або продукції, отриманої з їх використанням (за винятком науково-дослідних робіт);

— порушенні правил утилізації та знищення ГМО;

— невиконанні законних вимог посадових осіб, які здійснюють державний нагляд і контроль.

Законом може бути встановлена відповідальність і за інші види порушень законодавства України в галузі генетично-інженерної діяльності.

Дозволи на ввезення незареєстрованих ГМО для науково-дослідних робіт у замкненій та відкритій системах, а також з метою проведення їх державних апробацій (випробовувань); на ввезення продукції, отриманої з використанням ГМО, призначеної для науково-дослідних робіт; на транзитне переміщення не зареєстрованих в Україні ГМО; на вивільнення ГМО у відкритій системі надаються на безоплатній основі центральними органами виконавчої влади відповідно до їх повноважень, в порядку, встановленому Кабінетом Міністрів України.

У видачі дозволу може бути відмовлено в разі отримання науково обґрунтованої інформації щодо їх небезпеки для здоров'я людини або навколишнього природного середовища під час використання за цільовим призначенням.

Інформація щодо потенційного впливу ГМО на здоров'я людини та навколишнє природне середовище не може розглядатися як конфіденційна та таємна.

У країна укладає міжнародні договори, бере участь у міжнародному обміні інформацією з метою подальшого розвитку і зміцнення міжнародного співробітництва в галузі біологічної та генетичної безпеки під час здійснення генетично-інженерної діяльності та поводження з ГМО відповідно до чинного законодавства.

Україна приєдналась до Картахенського протоколу, прийнявши Закон від 12.09.2002 р. № 152-IV. Цим Законом Україна засвідчила свою позицію щодо підтримання необхідності вжиття скоординованих заходів з метою забезпечення належного рівня захисту в галузі біобезпечної передачі, обігу, оброблення, переміщень через кордон, використання генетично

модифікованих організмів, які отримані внаслідок генетичної трансформації і можуть вплинути на біорізноманіття й здоров'я людини і майбутні покоління. Україна має концептуально визначитися із засадами державної політики у сфері біобезпеки генетично модифікованих організмів і, зокрема, визначитись із довгостроковими механізмами її реалізації. Тому необхідно на законодавчому рівні визначитися, яким принципом стосовно регулювання ГМО керуються в Україні — принципом «суттєвої еквівалентності» (як у США, Канаді, країнах Латинської Америки), чи принципом «запобігання ризикам», як цього вимагає Картахенський протокол і як усталилося в Європейському Союзі, а вже після цього вводити чи не вводити обов'язкове маркування ГМП.

Визначено чотири основні наукові проблеми, пов'язані із встановленням еквівалентності:

- токсичні властивості модифікованих білків;
- потенційні зміни в загальній біодоступності модифікованого білка, зокрема властивостей досягти і подолати слизові кишкові бар'єри, особливо в імунологічно непошкодженій формі;
- потенціал горизонтальної генної передачі до організмів іншого виду (наприклад, збільшення антибіотичної стійкості бактерій шлунково-кишкового тракту внаслідок можливого перенесення до бактеріального геному специфічних генів стійкості, яка притаманна новій генетичній конструкції);
- потенціал плейотронних незапланованих ефектів від дії нової генетичної конструкції.

3. *Контроль за створенням, використанням, передачею та реєстрацією ГМО у США, Росії і Україні.*

Кожна країна має свої правила такого контролю. У США існує своя система контролю (табл.4.1.).

Таблиця 4.1.

Система контролю отримання, використання і передачі генетично модифікованих організмів у США залежно від господарської ознаки

Господарська ознака	Контролююча організація	Спрямування контролю
Стійкість до вірусів і комах	USDA	Безпечність вирощування
	EPA	Безпечність до довкілля
	EDA	Харчова безпечність
Стійкість до гербіцидів	USDA	Безпечність вирощування
	EPA	Нове використання гербіциду
	EDA	Харчова безпечність
Змінена кількість олії в продовольчій культурі	USDA	Безпечність вирощування
	EDA	Харчова безпечність
Зміна забарвлення клітки декоративної культури	USDA	Безпечність вирощування
Модифіковані ґрунтові бактерії, що розкладають забруднювачі	EPA	Безпечність до довкілля

Примітка:

USDA *(United States Department of Agriculture) – Міністерство сільського господарства;*

EPA *(Environment Protection Agency) – Управління з охорони довкілля;*

EDA *(Food and Drug Administration) – Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів.*

Оцінювання генетично модифікованого організму за критеріями безпеки в кожній країні складається з двох основних напрямів: дослідження біобезпеки генетично модифікованих організмів і визначення їх харчової безпеки. Тому для прискорення комерційного використання трансгенних рослин у різних країнах система отримання дозволу на їх випробування спрощується, якщо росина вже зареєстрована в іншій країні.

Відповідно до рекомендацій міжнародних організацій ВООЗ (Всесвітня організація охорони здоров'я), ФАО (Продовольча і сільськогосподарська організація ООН), ОЕСР (Організація економічного співробітництва і розвитку) і законодавства Російської Федерації (Федеральні закони від 02.01.2000 р. № 29-ФЗ «Про якість і безпечність харчових продуктів» і від 30.03.1999 р. № 52-ФЗ «Про санітарно-епідеміологічне благополуччя населення») харчова продукція з генетично модифікованих джерел належать до категорії «нова їжа» і на цій підставі підлягає обов'язковому оцінюванню на безпеку з наступним моніторингом за обертанням. (Моніторинг — спеціально організований систематичний нагляд за станом об'єктів, явищ або процесів з метою їх оцінки, контролю і прогнозування).

У Росії проблемою безпечності отримання, використання, передачі і реєстрації генетично модифікованих організмів займаються відповідні організації (рис. 4.1.).

Взаємовідносини між цими організаціями і установами регулюються правилами, розробленими на основі Федеральних законів Російської Федерації «Про державне регулювання в галузі генно-інженерної діяльності», «Про селекційні досягнення», «Про санітарно-епідеміологічне благополуччя населення», «Про екологічну експертизу», «Про охорону навколишнього середовища», міжнародних керівних принципів техніки безпеки ЮНЕП в галузі біотехнології», Конвенції Картахенського протоколу з безпеки і біологічного різноманіття, нормативно-правових актів Міністерств і відомств Російської Федерації).

Одним з елементів державного регулювання постачання і реалізації генетично модифікованих продуктів харчування є їх маркіровка. Маркіровка трансгенних продуктів харчування введена сьогодні в 130 країнах світу. У різних країнах існують різні підходи до маркіровки харчових продуктів з ГМ-компонентамі. За законодавством США етикетка повинна показувати всі істотні для даного продукту факти (наприклад, значні зміни в харчовій цінності) і повинна також інформувати споживачів про будь-які наслідки, до яких може привести використання продукту. вводяться в картоплю, те етикетування потрібне для того, щоб споживач, чутливий до клейковини, міг уникнути вживання цієї картоплі і продуктів, що його містять. Але історично

FDA (Food and Drug Administration — Управління по санітарному нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США) не розглядає спосіб здобуття нових сортів рослин як істотну інформацію, яку слід виносити на етикетку. Тому в США продукти з ГМІ не маркіруються.

У Канаді і Аргентині дані продукти також не маркіруються.

Європейський союз вважає, що всі продукти, вагомі генетично модифіковані інгредієнти, мають бути чітко маркіровані для інформації споживачів, що відбите у ряді офіційних документів, основною з яких є Резолюція Ради ЄС.

Резолюція передбачає обов'язкове етикетування деяких харчових продуктів, отриманих з ГМІ, не передбачених раніше виданими документами, і стосується випуску на ринок ЄС харчових продуктів і їх компонентів, які раніше не використовувалися в значній мірі в країнах ЄС.

Резолюція ЄС не поширюється на наступні продукти:

- харчові продукти, білок, що не містять, або ДНК з генетично модифікованих джерел — в цьому випадку харчові продукти і їх інгредієнти не є генетично модифікованими і не відрізняються від продуктів, отриманих із звичайних культур;
- харчові добавки і ароматизатори, використовувані в харчовій промисловості;
- продукти, офіційно вироблені і анкетовані в ЄС, а також офіційно завезені в ЄС і дозволені для вільного продажу до 01.09.98;
- продукти, що поступили на ринок до 01.03.99, якщо інформація про наявність в них генетично модифікованого матеріалу була викладена в іншому формулюванні, чим пропонується зараз (відповідно до Резолюції ЄС);
- побічні продукти переробки, наприклад ферменти;
- продукти, в яких білок або ДНК, отриману з генетично модифікованих джерел, руйнуються в ході переробки — такі продукти і їх інгредієнти вважаються еквівалентними звичайним продуктами не підпадають під обов'язкове етикетування.

В основному в країнах ЄС прийнятий однопроцентний по-роговий бар'єр вмісту ГМ-компонентів в продуктах, в Японії і Австралії — п'ятивідсотковий рівень.

У РФ питання маркіровки і етикетування харчових продуктів відбиті у ряді законодавчих і нормативних актів.

ПОНАМАРЬОВ (рис. 4.1.) и (рис. 4.2.)

Рекомендована література до вивчення теми: [1,2,3,4,5,17,19,22-24].

ГЛОСАРІЙ

Антипаралельна орієнтація — протилежна спрямованість (5"→ 3" і 3"→5") ланцюгів в двоціпкових молекулах нуклеїнових кислот.

«Антисмислова» РНК — РНК-послідовність, комплемент якійсь ділянці або всій молекулі специфічної мРНК.

Безпека харчових продуктів — полягання обґрунтованої упевненості в тому, що харчові продукти за звичайних умов їх використання не є шкідливими і не представляють небезпеки для здоров'я нинішнього і майбутніх поколінь.

Безпека генно-інженерної діяльності, безпека в біотехнології (біобезпека) - — стан захищеності, що досягається за допомогою використання системи заходів, направлених на запобігання або зниження до безпечного рівня несприятливих дій ГМО на здоров'ї людину і довкілля при здійсненні генно-інженерної діяльності.

Вивільнення ГМО в довкілля — санкціоноване внесення ГМО до довкілля. Розрізняють наступні види навмисного вивільнення ГМО в довкілля: контрольоване вивільнення — обмежені польові випробування на ізольованих ділянках — полігонах (у тому числі випробування на біобезпеку) із застосуванням спеціальних заходів обмеження рисок; заплановане вивільнення — вивільнення в довкілля без використання спеціальних заходів обмеження рисок (у тому числі сортоїспитанія); широкомасштабне вивільнення — вивільнення ГМО при використанні в господарській діяльності.

Вертикальна передача генів (трансгенів) - — передача генетичного матеріалу в поколіннях статевим дорогою.

Генетичний код — система запису генетичної інформації у вигляді послідовності нуклеотидів, в якій кожні три нуклеотиди, складові кодон, кодують одну амінокислоту. Складається з 64 кодонів, кодовані всі 20 амінокислот і три кодони, що термінують.

Ген-мішень — 1. Клонований ген. 2. Ген, що цікавить дослідника.

Генетично модифіковані джерела — сировина і харчові продукти (компоненти), використовувані людиною в натуральному або переробленому вигляді, отриманих з генетично модифікованих організмів або що містять їх в своєму складі.

Генетично модифіковані джерела їжі — використовувані людиною в їжу в натуральному або переробленому вигляді харчові продукти (компоненти),., отримані з генетично модифікованих організмів.

Генетично модифіковані мікроорганізми (ГММ) — мікроорганізми (бактерії, дріжджі і ін.), в яких генетичний матеріал (дезоксирибонуклеїнова кислота) змінений з використанням методів генної інженерії.

Мікроорганізми, що мають генетично модифіковані аналоги (МГМА), — мікроорганізми, що традиційно використовуються в харчовій промисловості, для яких, згідно з офіційною інформацією і науковими

публікаціями, є аналогічні представники роду і вигляду, піддані генетичним змінам методами генної інженерії і потенційно придатні для використання у виробництві харчових продуктів.

Генетично модифікований організм або генно-інженерно модифікований організм (ГМО) — організм або декілька організмів, будь-які неклітинні, одноклітинні або багатоклітинні утворення, здібні до відтворення або передачі спадкового генетичного матеріалу, відмінні від природних організмів, отримані із застосуванням методів генної інженерії і такі, що містять генно-інженерний матеріал, у тому числі гени, їх фрагменти або комбінацію генів.

ГМ-продукти другого класу — продукти, що містять комплекс чужорідних генів.

ГМ-продукти першого класу — продукти, що містять один чужорідний ген.

Генно-інженерна діяльність — діяльність, здійснювана з використанням методів генної інженерії і генно-інженерно-модифікованих (генно-модифікованих) організмів.

Геном — сукупність генів галоїдного набору хромосом даного організму.

Генотип — генетична конструкція організму, набір всіх його алелей.

Ген-репортер — ген, виявляється продукт, що кодує легко. Такі гени використовують, наприклад, для того, щоб переконатися, що дана генетична конструкція успішно введена в клітку.

Гібридизація — відпал два полінуклеотідних ланцюгів, часто з різних джерел, з утворенням ДНК/ РНК- або ДНК/ДНК-гібрида, що стабілізується водневими зв'язками.

Гібридизація ДНК — спаровування двох молекул ДНК, часто з різних джерел, завдяки утворенню водневих зв'язків між нуклеотидами комплементу. Використовується для виявлення специфічних нуклеотидних послідовностей в препараті ДНК.

Гібридний білок — продукт клонованих спільно два або більш кодуючи послідовностей з різних генів. Є одним поліпептидним ланцюгом.

Гібридний ген — ген, що складається з частин два або декількох генів і експресирующих як єдине ціле з утворенням гібридного білка.

Ген — основна фізична і функціональна одиниця спадковості. Ген є специфічною послідовністю нуклеотидів в ДНК, яка встановлює послідовність амінокислот в певному білку.

Гомологічні хромосоми — парні хромосоми, в яких однакові локуси (місце розташування окремого гена на хромосомі) розташовані в одній і тій же лінійній послідовності.

Генно-інженерний організм (ГИО) — живий організм, що містить нову комбінацію генетичного матеріалу, отриману за допомогою генетичної інженерії. У літературі використовують для позначення таких організмів і інші терміни: • «генетично модифікований організм» (ГМО), «генно-інженерно-модифікований організм» (ГИМО), «організм з новими ознаками»

(ОНП), «трансгенний організм». У Картахенському протоколі по біобезпеці використовується термін «живий змінений організм, що є результатом вживання сучасної біотехнології», або просто «живий змінений організм» (ЖІО).

Генетична інженерія (сучасна біотехнологія, по термінології Картахенського протоколу) — технологія здобуття нових комбінацій генетичного матеріалу шляхом маніпуляцій, що проводяться поза кліткою, з молекулами нуклеїнових кислот (ДНК або РНК) і перенесення створених конструкцій генів в реципієнтний організм, в результаті якого досягається їх включення і активність в цьому організмі і в його потомства.

Горизонтальна передача генів (трансгенів) — передача генетичного матеріалу від одного організму до іншого дорогою, відмінною від статевого схрещування/розмноження. Таким чином може відбуватися перенесення генів від дуже віддалених систематичних груп організмів: від бактерій до рослин, від вірусів до тварин, рослинам і тому подібне

Генно-інженерна діяльність — діяльність, пов'язана із створенням, випробуванням, використанням, ввезенням і вивозом ГМО.

ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) — носій спадкової інформації в живих організмів. Високомолекулярний полімер, що складається з чотирьох нуклеотидів (аденін, гуанін, цитозін і тимін), чергуванням яких кодується генетична інформація.

Двухцистроний вектор — клонуючий вектор, призначений для експресії двох генів в одній клітці ссавців. Гени знаходяться під контролем одного промотору і сигналу поліаденілірованія.

ДНК-зонд — фрагмент ДНК, що мітиться тим або іншим чином і що використовується для гібридизації із специфічною ділянкою в молекулі ДНК. Дозволяє ідентифікувати комплемент йому нуклеотидні послідовності.

ДНК-полімераза — фермент, що каталізу синтез полінуклеотідного ланцюга з окремих нуклеотидів з використанням іншого ланцюга як матриця і ДНК-приманка з вільною 3'-ОН-групою.

Експрессирующий вектор — плазмідний вектор, сконструйований так, щоб клонований ген експресировался лише в певній фазі клітинного циклу і лише протягом певного часу. Для цього в плазміду вбудовують сильний регульований промотор.

Експресія — транскрипція і трансляція гена.

Електропорація — утворення пір в клітинних мембранах під дією електричного струму. Через ці пори в клітки проникає чужорідна ДНК.

Електрофорез — метод розділення заряджених молекул (ДНК, РНК або білків), заснований на різній швидкості їх переміщення в електричному полі.

Ембріональні стволові клітини, es-клітки — клітки з ембріонів на стадії бластоцисти, здібні до диференціювання в будь-яких типів кліток, у тому числі і в клітки зародкової лінії, при введенні в інший ембріон на стадії бластоцисти.

Еукаріоти — організми, в яких: 1) є ядро, де містяться хромосоми;

2) у цитоплазмі присутні різні органели — мітохондрії, хлоропласти і так далі До еукаріотам відносяться тварини, рослини, гриби, деякі водорості.

Ініціація — початок синтезу біополімера.

Інсектицид — речовина або живий організм, що вбивають комах. Інтеграція — вбудовування чужорідної ДНК (зазвичай за допомогою гомологічної рекомбінації) в хромосому господарської клітки.

Інтегруючий вектор — вектор, спеціально сконструйований для того, щоб з його допомогою можна було вбудовувати (інтегрувати) клоновану ДНК в геном клітки-господаря.

Картірованіє генів — визначення положення даного гена на хромосомі відносно інших генів.

Клітки зародкової лінії — клітки, що поступово перетворюються на гамети (від первинних статевих кліток до власне гамет) .

Клітковаа лінія — група кліток, підтримувана в культурі шляхом пересівань.

Клон — популяція кліток або молекул, ідентичних одній родоначальній клітці або молекулі.

Клонування — сукупність процедур, що використовуються для здобуття клонів. Клонування багатоклітинних організмів, наприклад, включає пересадку ядер соматичних кліток в запліднене яйце з видаленим пронуклеусом.

Клонування генів — система методів, що використовується для здобуття клонованої ДНК: виділення потрібного гена з якого-небудь організму, вбудовування його в плазміду (вектор), введення в клітку організму-господаря, багатократна реплікація.

Клонуючий вектор — молекула ДНК (плазмідная або вірусна ДНК), призначена для клонування ДНК-мішені.

Коінтегративна векторна система — двоплазмідная система, що використовується для перенесення клонуючих генів в рослинні клітки. Клонуючий вектор несе ділянка Т-ДНК, що містить клонований ген. Після введення в клітку Agrobacterium він піддається гомологічній рекомбінації з резидентною «роззброєною» (неонкогенною) Ті-плазмідой з утворенням однієї плазміди, що несе генетичну інформацію, необхідну для перенесення генетично зміненої області Т-ДНК в рослинну клітку.

ДНК комплементарна, кДНК — молекула ДНК, синтезована на РНК-матриці за участю залежної для РНК ДНК-полімерази (зворотної транскриптази).

Комплементарна нуклеотидна послідовності — полінуклеотидні послідовності, які взаємодіють між собою відповідно до правил спаровування азотистих підстав: аденін (А) утворює пару з тиміном (Т) або урацилом (У) в РНК, гуанін (Г) — з цитозіном (Ц).

Конститутивний синтез — що постійно відбувається в клітці або в цілому організмі синтез РНК або якого-небудь білка.

Корончатий галл — пухлина рослин, утворення якої викликають бактерії роду Agrobacterium.

Культура — популяція кліток або мікроорганізмів, що вирощуються в контрольованих умовах in vitro.

Линкер — синтетичний олігонуклеотид, що містить сайт рестрикції. Використовується для з'єднання векторної і клонованої ДНК, до кінців якої по методу зшивання тупих кінців приєднані лінкори.

Маркерний ген — ген з відомою хромосомною локалізацією, що має чіткий фенотипічний прояв (стійкість до антибіотика, ферментативна активність; і так далі) .

Мітка — радіоактивний ізотоп або що ідентифікується біохімічними або імунологічними методами ліганд (наприклад, флуорофор), що зв'язується з мак-ромолекулой. Дозволяє виявити мічену речовину в зразку.

Метод випадкових праймерів — спосіб здобуття мічених ДНК-зондів, заснований на вживанні синтетичних олігонуклеотидів, що містять всі можливі комбінації з шести нуклеотидів, і на їх гібридизації з денатурованою ДНК-мішенню. Олігонуклеотиди, комплемент останньою, злучаються з нею. У реакційну суміш додають всі чотири дезоксирібонуклеотіда (причому один з них мічений) і фермент, що каталізує синтез фрагментів ДНК з використанням ланцюгів ДНК-мішені як матриця, а гибридизирувавші фрагменти — як приманка.

Мікроін'єкція — введення в ізольовану еукаротичну клітку ДНК або інших молекул за допомогою тонкої голки.

Неоміцинфосфотрансфераза — фермент, інактівірующих антибіотики неоміцин і канаміцин. Часто використовується як селективний маркер для трансгенних рослин.

Нозерн-блоттінг — перенесення молекул РНК, підданих електрофорезу, з гелю на тверду підкладку (нітроцеллюлозний або нейлоновий фільтр) з подальшою ДНК-РНК-гібридизацією.

Нормативні документи — державні стандарти, санітарні і ветеринарні правила і норми, що встановлюють вимоги до якості і безпеки харчових продуктів, контролю їх якості і безпеки, умов їх виготовлення, зберігання, перевезень, реалізації і використання, утилізації або знищення неякісних, небезпечних харчових продуктів, матеріалів і виробів.

Олігонуклеотид — короткий (6—10 нуклеотидів) сегмент одноланцюжкової ДНК. Зазвичай отримують хімічним дорогою.

Оператор — ділянка ДНК, що безпосередньо примикає до структурного гена і регулюючий його транскрипцію за участю репресора або активатора.

Відпал — процес утворення дволанцюжкових молекул (ДНК—ДНК або ДНК—РНК) з одиночних полінуклеотідних ланцюгів комплементу.

Параспоральний кристал — щільно упаковані молекули токсину, Bacillus, що синтезуються, thuringiensis при утворенні спор.

Плазміда — поза хромосомний генетичний елемент, здібний до тривалого автономного існування і реплікації. Звичайно це дволанцюжкова кільцева ДНК завдовжки 1—200 тис. нуклеотідних пар (н.п.).

Плазміда-помічник — плазміда, що заповнює функції іншої плазміди в тій же клітці. Деякі плазміди-помічники сприяють перенесенню некон'югативних плазмід з донорної клітки в реципієнтную.

2 мкм-плазміда — дволанцюжкова кільцева плазміда, що існує в природних умовах, завдовжки 6318 н.п., виявлена в ядрі Saccharomyces cerevisiae. На її основі отримано багато плазмідниє векторів для дріжджових кліток.

План підготовки виробництва — технічний документ, що встановлює план підготовки виробництва з вказівкою конкретних заходів, термінів їх виконання і відповідальних виконавців.

Полімеразна ланцюгова реакція, ПЛР — метод ампліфікації специфічного сегменту ДНК за допомогою термостабільної ДНК-полімерази з використанням олігонуклеотидних ДНК-зондів, послідовностям протилежних ланцюгів комплементу ДНК, фланкирующім ампліфікований сегмент. Процес складається з серії реакцій, що циклічно повторюються: денатурації ДНК, відпалу зондів, синтезу ДНК.

Праймери — штучно синтезовані олігонуклеотиди, комплемент відповідним ділянкам ДНК-мішені і службовці приманкою при її копіюванні.

Посвідчення якості і безпеки харчових продуктів — документ, в якому виконавець засвідчує відповідність якості і безпеки кожної партії харчових продуктів вимогам нормативних, технічних документів.

Продовольча сировина — сировина рослинного, тварини, мікробіологічного, мінерального і штучного походження і вода, використовувані для виготовлення харчових продуктів.

Прокаріоти — організми, в яких немає обмежених мембранами ядра і органел. До прокаріотам відносяться всі бактерії.

Промотор — ділянка молекули ДНК, з яким зв'язується РНК-полімераза, що супроводить ся ініціацією транскрипції відповідних генів. Зазвичай знаходиться перед 5"-кінцем регульованого гена. Потенційне приймаюче середовище - екосистема або житло, включаючи людину і тварин, які можуть вступати в контакт з ГМО після їх вивільнення.

Рекомбінантна ДНК — молекула ДНК, отримана в результаті об'єднання in vitro чужорідних (у природі тих, що ніколи разом не існують) фрагментів ДНК з користуванням методів генної інженерії.

Рекомбінантна плазміда — плазміда, змінена методами генної інженерії. Складається з ділянок різних плазмід або містить сегменти ДНК інших організмів.

РНК-полімераза — фермент, що здійснює синтез РНК з рібонуклеозідфосфатов. Матрицею може служити ДНК або РНК, відповідні РНК-полімерази називають ДНК- або залежними для РНК

РНК — рибонуклеїнова кислота. Її молекула по будові аналогічна ДНК. На відміну від останньої вона складається з однієї нитки, в якій чергуються нуклеотіди аденін, гуанін, цитозін і урацил (замість тиміну). Як цукор в РНК входить рибоза. У функції мРНК (матричною, інформаційною

РНК) входить передача генетичної інформації від ДНК до місця «сборки»-білків — рибосом.

Реплікація — процес точного самовідтворення молекул нуклеїнових кислот.

Ризик - вірогідність здійснення небажаної (нецільового) дії ГМО на здоров'ї людини і що оточує середовище унаслідок функціонування або передачі трансгенів іншим організму.

Рекомбінація (природна) — здобуття нових комбінацій генів у нащадків в порівнянні з батьківськими формами. В основному відбувається в процесі утворення статевих кліток (мейозі) шляхом обміну ділянками ДНК між гомологічними хромосомами.

Санітарно-епідеміологічний висновок на продукцію — документ, який видається Федеральною службою по нагляду у сфері захисту прав споживачів і благополуччя людини виробляємо харчової продукції або іншому (уповноваженому) учасникові її звороту, в якому упевняється відповідність (невідповідність) продукції, що готується, державним санітарно-епідеміологічним правилам і нормам.

Саузерн-блоттінг — виявлення специфічних нуклеотидних послідовностей шляхом перенесення денатурованих молекул ДНК, підданої електрофорезу, з агарозного гелю на фільтр нітроцелюлози або нейлонового за рахунок капілярного ефекту і гібридизації з міченим зондом, комплементом шуканій послідовності.

Свідоцтво про державну реєстрацію — документ, який видається Федеральною службою по нагляду у сфері захисту прав споживачів і благополуччя людини виробника російської харчової продукції або постачальникові імпортній продукції, в якому свідчить, що дана продукція пройшла державну реєстрацію і внесена до Державного реєстру видів продукції, у тому числі харчових продуктів, пройшовши державну реєстрацію і дозволених для виготовлення на території Російської Федерації або ввезення на територію Російської Федерації і звороту..

Сигнал поліаденілірованія — нуклеотидная послідовність, відповідальна за закінчення транскрипції і детермінуюча ферментативне приєднання залишків аденіну до 3"-кінця молекули мРНК.

Скринінг — метод (або комплекс методів) ідентифікації одиничного об'єкту (особини в популяції, клітки з шуканими властивостями, ділянки нуклеотидної послідовності і так далі) шляхом перебору великого числа об'єктів.

Соматична клітка — будь-яка нестатева клітка багатоклітинного організму.

Стволові клітини — мітотичні активні клітки, в результаті ділення яких відбувається заміщення загиблих кліток в багатоклітинному організмі. Структурний ген — ген, що кодує який-небудь білок. Т-ДНК — фрагмент ti-плазміди, який вбудовується в ядерну ДНК клітки-господаря і стабільно успадковується нею. Викликає утворення пухлини в рослини (корончатого галла).

Термінация — зупинка синтезу макромолекули.

Технологічна мікрофлора — мікроорганізми (у тому числі ГММ), використовувані в технологіях виробництва харчових продуктів.

Технічні документи — документи (технічні умови, технологічні інструкції, рецептури і ін.), відповідно до яких здійснюються виготовлення, зберігання, перевезення і реалізація харчових продуктів, матеріалів і виробів. До даних документів вносяться вимоги до якості і безпеки конкретного продукту або декількох конкретних продуктів.

Технологічна інструкція — документ, що встановлює вимоги до процесів виготовлення, контролю, упаковки, маркіровки, зберігання і транспортування продуктів, всі вимоги до яких регламентовані нормативними і технічними документами, затвердженими в установленому порядку.

Трансген — штучно введений і такий, що інтегрувався в ДНК тварин чужорідний ген.

Трансгенез — процес перенесення і інтеграції чужорідної генетичної інформації в геном тварин.

Трансгенні тварини — індивідууми, в геном яких штучно введена генетична інформація; трансген або у вигляді окремої ділянки ДНК з власними регуляторними послідовностями, або сконструйований з різних молекул ДНК гібридний (рекомбінантний) ген.

Трансгенний організм — організм, геном якого містить чужорідний генетичний матеріал, включений методами генної інженерії.

Трансгеноз — введення чужорідного гена в рослинну або тваринну клітку і його передача у ряді поколінь.

Транскрипція — процес синтезу РНК, що каталізу РНК-полімеразой, в якому як матриця використовується один з ланцюгів ДНК.

Трансляція — синтез поліпептидного ланцюга рибосомою з використанням як матриця МНК.

Трансформація — перенесення генетичної інформації в бактерійні клітки за участю плазмід або без них, але завжди — без участі вірусів

Ті-плазміда — плазміда ґрунтової бактерії Agro-bacterium tumefaciens, Т-ділянка якої здатна включатися в їх ядерну ДНК, що приводить до утворення пухлин.

Тварина-засновник — організм, що несе чужорідний ген в клітках зародкової лінії, який при спаровуванні дає початок чистої лінії трансгенних організмів.

Фенотип — сукупність всіх ознак особини, що формується в процесі взаємодії її генотипу і зовнішнього середовища.

Ферментний іммуносорбентний аналіз, ELISA — метод виявлення специфічних молекул в зразку. Зразок фіксують на твердій обкладинці і додають антитіло, специфічне до маркерної молекули (перше антитіло). Молекули першого антитіла, що не зв'язалися, змивають і додають друге антитіло, що специфічно зв'язується з першим. До другого антитіла приєднаний фермент, що перетворює незабарвлений субстрат на забарвлений

продукт. Додають незабарвлений субстрат і проводять кількісне визначення забарвленого продукту.

Фертильність — здатність організмів приносити життєздатне потомство.

Хромосомний сайт інтеграції — місце в хромосомі, куди може вбудуватися чужорідна ДНК, часто без всяких наслідків для організму-господаря.

Хромосоми — основний матеріальний носій спадкової інформації. Структури, що само відтворюються, представляють комплекс ДНК і білків в ядрах еукаріоті чеських кліток (кліток вищих організмів, що мають клітинне ядро). У кожній хромосомі міститься по одній молекулі ДНК.

Штам — культура генетично однорідних мікроорганізмів.

Штами-продуценти — культура генетично однорідних мікроорганізмів, службовка джерелом здобуття харчових речовин або компонентів їжі.

Харчові продукти — продукти в натуральному або перероблену вигляді, що вживаються людиною в їжу (у тому числі пиво), безалкогольні напої, жувальна гумка, а також продовольча сировина, харчові добавки і біологічно активні добавки.

Якість харчових продуктів — сукупність характеристик харчових продуктів, здатних задовольняти потреби людини в їжі за звичайних умов їх використання.

МЕТОДИЧНЕ ЗАБЕСПЕЧЕННЯ ДИСЦИПЛІНИ

Основна література

1. Товароведение и експертиза пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников. Качествои безопасность: учеб. пособие / Т.К. Каленик, Л.Н. Федянина, Т.В. Танашкина – Ростов н/Д : Издательский центр «МарТ»; Феникс, 2010. – 224 с.
2. Пономарьов П.Х., Генетично модифікована сировина і харчові продукти, вироблені з її використанням: навч. посіб / П.Х. Пономарьов, І.В. Донцова – К.: Центр учбової літератури, 2009. – 126с.
3. Ермишин А.П., Генетически модифицированные организмы: мифы и реальность / А.П. Ермишин. – Мню: Тэхнология, 2004. – 119с.
4. Донченко Л.В. Безопасность пищевой продукции. Учеб. 2-е изд., перер. и. доп. / Л.В. Донченко, В.Д. Надикта – М.: Де Ли Принт, 2005. – 539 с.
5. Лавров И.Е. Генетически модифицированные продукты / И.Е. Лавров. – М.: АСТ; СПб: Сова, 2007. – 156 с.

Додаткова література

6. Глик Б., Пастернак Д. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение: пер. с англ. - М.: Мир, 2002. – 589 с.
7. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: Брандес-Медицина, 1998. – 298 с.
8. Генетически модифицированные источники пищи: оценка безопасности и контроль / Под ред. В.А. Тутельяна. М.: Издательство РАМН, 2007. – 444 с.
9. Екотрофологія. Основи екологічно безпечного харчування. Навч. посіб. / За наук. ред. Т.М. Димань, М.М. Барановський, Г.О. Білявський та ін.. – К.: Лібра, 2006. – 304 с.
10. Медико-гігієнічні проблеми генної інженерії та генетично модифікованої продукції / Р.І. Ладанівський, В.Р. Кокот, О.С. Матинова. – Львів: вид-во Сполом. – 2004. – 96 с.
11. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб. / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, . Дехтярёв и др.. – М.: Высшая школа, 1998. – 416 с.
12. Интодукция генетически модифицированных микроорганизмов в окружающую среду: перспективы и риск // Генетика. – 1994. – Т. 30. – № 5. – С. 581-592.
13. Онищенко Г.Г., Тутельян В.А., Петухов А.И., Королёв А.А., Аксюк И.Н. Современные подходы к оценке безопасности генетически модифицированных источников пищи. Опыт изучения соевых бобов линии 40-3-2 // Вопр. питани. – 1999. – № 5-6. – С. 3-7.

14. Онищенко Г.Г., Тутельян В.А., Петухов А.И. Генетически модифицированных источников пищи: медикобиологическая оценка // Врач. – 2000. – № 3. – С. 35-37.
15. Силаева Т.П., Кочетков А.А., Колеснов А.Ю. Трансгенные пищевые продукты: риск и перспективы // Пищ. пром-ть. – 1999. – № 10. – С. 14-15.
16. Сорокина Е.Ю., Чернышова О.Н. Современные методы идентификации ГМИ в пищевых продуктах // Пищ. пром-ть. – 2003. – № 6. – С. 20-21.
17. Тарасов М.Ю., Бондарев В.П., Максимов В.А., Поклонский Д.Л. Генетически модифицированные организмы: «за» и «против». Существует ли угроза безопасности России? // ВИНИТИ. Хим. и биол. безопасность. – № 3-4. – С. 15-16.
18. Тышко Н.В. ГМИ пищи: создание, мировое производство // Пищ. пром-ть. – 2003. – № 6. – С. 6-13. Н.Н.
19. Чернышова О.Н., Соркина Е.Ю., Анисимова О.В., Филатова Идентификация ГМИ в пищевых продуктах: результаты мониторинга // Пищ. пром-ть. – 2003. – № 6. – С. 23-25.
20. Сердобинский Л.А. Определение генетически модифицированных источников (ГМИ) в продуктах питания и пищевом сырье / Л.А. Сердобинский // Пищ. пром-ть. – 2007. – № 3. – С. 6-7.
21. Плотников В.Н. К вопросу о генно-модифицированных продуктах / В.Н. Плотников // Пищ. пром-ть. – 2007. – № 2. – С. 20-21.
22. Закон України «Про захист прав споживачів», від 15 грудня 1993 р., № 3682-XII.
23. Україна Закон Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів: від 21 травня 2007 року, № 1103-V, м. Київ.
24. Закон України «Про внесення змін до закону України. Про якість та безпеку харчових продуктів і продовольчої сировини» № 771/97-ВР» Документ 2809-15 від 06.09.2005 р.
25. ДСТУ CENT/TS 15568:2008 Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх похідних. Відбір проб – вперше.
26. ДСТУ ISO 21569:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх похідних. Якісний метод на основі аналізу нуклеїнової кислоти – вперше.
27. ДСТУ ISO 21570:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх похідних. Кількісний метод на основі аналізу нуклеїнової кислоти – вперше.
28. ДСТУ ISO 24276:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх похідних. Основні вимоги і визначення – вперше.
29. ДСТУ ISO 21571:2008 Продукти харчування. Методи виявлення генетично модифікованих організмів та їх похідних. Екстракція нуклеїнових кислот – вперше.

ЗМІСТ

Вступ			
Тема 1.1	Загальні положення, основні напрямки та завдання генної інженерії. Історія створення та світове виробництво генетично модифікованих джерел		
	1	Історичні аспекти виникнення та основні поняття щодо біотехнології та генної інженерії.	
	2	Мета та завдання біотехнологічних експериментів при створення генетично модифікованих джерел.	
	3	Відмінні особливості, переваги та недоліки генної інженерії рослин, тварин та мікроорганізмів.	
Тема 1.2	Основні напрямки створення ГМД		
	1	Трансгенні сорти сільськогосподарських рослин, толерантні до гербіцидів, стійкі до комах-вередунів, до вірусних захворювань, з поліпшеними якісними характеристиками.	
	2	Генетично модифіковані джерела тваринного походження.	
	3	Генетично модифіковані джерела мікробного походження.	
Тема 1.3	Технологія створення генетично модифікованих рослин		
	1	Основні аспекти прямої генетичної дії на рослинний організм.	
	2	Методи введення ДНК у рослинні клітини.	
	3	Сучасне альтернативне землеробство.	
Тема 2.1	Основні питання безпеки ГМД		
	1	Оцінки ризику негативних ефектів ГМД на здоров’я людини.	
	2	Оцінки ризику негативних ефектів ГМД навколишнє середовище.	
	3	Характеристика компаній, що використовують генетично модифіковані інгредієнти для виробництва харчових продуктів.	
Тема 2.2	Порядок проведення досліджень генетично модифікованих продуктів на якість та біобезпечність		
	1	Концепція композиційної еквівалентності.	
	2	Досвід інших країн світу з питань екологічної експертизи генетично модифікованих організмів, як продуктів харчування.	
	3	Комплексна оцінка якості харчової продукції, одержаної із ГМД в Росії	
Тема 2.3	Методи виявлення ГМО та їх похідних		
	1	Багатоступеневий аналіз генетично модифікованих джерел.	
	2	Міжнародна практика виявлення генетично модифікованої ДНК.	
	3	Методи виявлення та ідентифікації ГМО та їх похідних, що дозволено в Україні.	
Тема 2.4	Маркування харчових продуктів із ГМД. Державний моніторинг за оборотом харчової продукції, яка одержана із ГМД.		
	1	Регулювання генетично-інженерної діяльності в Україні.	
	2	Державна реєстрація, використання, ввезення та транзит, зберігання, транспортування, утилізація ГМО.	
	3	Контроль за створенням, використанням, передачею та реєстрацією ГМО у США, Росії і Україні.	
Методичне забезпечення дисципліни			

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

Укладачі:
ЯНЧЕВА Марина Олександрівна
ОЛЬХОВСЬКА Вікторія Сергіївна

ТОВАРОЗНАВСТВО ТА ЕКСПЕРТИЗА ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ, ОДЕРЖАНИХ ІЗ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

Опорний конспект лекцій
за напрямком 030510 «Товарознавство і торговельне підприємництво»
для студентів спеціальностей:
8.030510.01 «Товарознавство та комерційна діяльність»
8.030510.02 «Товарознавство та експертиза в митній справі»
8.030510.03 «Експертиза товарів та послуг»
8.030510.04 «Управління якістю та безпечністю товарів»

Підп. до друку 2010 р. Формат 60х84 1/16 Папір газ. Обл. вид. арк.
Умов. друк. арк. Тираж 50 прим. Зам.

Видавець та виготовлювач
Харківський державний університет харчування та торгівлі
вул. Клочківська, 333, Харків, 61051
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №2319 від 19.10.2005