

Abstract

A. G. Dyachenko,
A. O. Zagrebelna,
Sumy State University,
2 Rimsky-Korsakov st.,
40007, Sumy, Ukraine

GENETICALLY MODIFIED PLANTS AND HUMAN HEALTH

Genetically modified (GM) plants attracted in recent years much public attention. Although consumers remain largely unaware of what GM crops really are, what the advantages and disadvantages of existing technologies are, and in what areas of economy these technologies and their products can be used, the company overall adjusted negatively in relation to the prospects for their use as food. The spread of GMO-phobia is demonstrated by at least the presence of the label "GMO" on almost all commercial products, including mineral water and salt. Moreover this marking occurs on non-food items, such as kitchen utensils and even (!) the bags of cement, which once again testifies to a woefully low level of awareness about the subject. Moreover, parliaments of several countries, such as Russia, have introduced laws prohibiting the cultivation of GM plants and animals and the importation of them from abroad. At the same time a priori denial of the possible problems associated with the use of GM crops would also be wrong. Actually with the advent of the first generation of such crops two major concerns have emerged: the risk to the environment and risk to human health. Since the introduction of the GM-lines of plants and animals will steadily increase, we can predict a corresponding increase in public concern about potential risks. So, we tried to analyze scientific evidence about the possible impact of GM plants on human health both directly – through their participation in the human diet and farm animals and in the production of recombinant medicines, and indirectly, through the impact on the environment.

Indeed, for the discrimination of GM products being transformed with the gene of interest selective marker genes are often used (e.g., kanamycin, which kills normal cells non-GM plants). According to opponents, this increases the risk of antibiotic resistance (ABR) spreading in the bacterial population. But it is well known that the ABR genes were originally isolated from soil bacteria which are widely distributed in nature. Studies have shown that the probability of ABR transmission from plants to bacteria is extremely low. Getting selectable markers that do not use resistance to AB, as well as procedures that remove the marker from the plant genomes at the end of transformation, almost completely takes off fears this kind.

The second problem related to GM technology was the transfer to the plant genomes of the unnecessary, redundant DNA and it was also successfully solved. A minimal gene cassette was developed, which houses a well-defined DNA fragment.

The third problem relates to the possible increase of the level of natural mutations result in lowering the stability of the genome, which can cause certain undesirable effects. Generally, in the process of tissue culture may appear in the so-called somoclonal variations and possible rearrangement of the endogenous DNA around the integrated transgene. In practice, however, these effects are not registered. It should be empha-

sized that the appearance of GM crops on the market is preceded by a variety of large-scale tests.

Keywords: transgenic food, genetically modified organisms, GMO.

Corresponding author: ag_dyachenko@list.ru

Резюме

А. Г. Дьяченко,
А. О. Загребельна,
Сумський державний
університет, ул. Римського-
Корсакова, 2, Суми, Україна,
40007

ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНІ РОСЛИНИ ТА ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ

Генетично модифіковані (ГМ) рослини останніми роки привертають велику увагу громадськості. Хоча споживачі здебільшого не мають уявлення, що таке ГМ-культури насправді, які переваги та недоліки є в існуючих технологіях і в яких сферах економіки ці технології та їх продукти використовуються, суспільство в цілому налаштоване негативно щодо перспектив їх використання як продуктів харчування. Більше того, парламенти деяких країн, наприклад РФ, ухвалюють закони, що забороняють вирощування ГМ-рослин і тварин і ввезення їх з-за кордону. У той самий час априорне заперечення можливих проблем, пов'язаних із використанням ГМ-культур, було б також неправильним. Насправді з появою першого покоління подібних культур виникли дві основні проблеми: ризик для довкілля та ризик для здоров'я людини. Оскільки впровадження ГМ-ліній рослин і тварин буде неухильно зростати, можна прогнозувати відповідне підвищення суспільної стурбованості у зв'язку з потенційними ризиками. Оскільки ЗМІ подають інформацію, що базується найчастіше на ненадійних та нерепрезентативних даних, а іноді й зовсім позбавлену ознак наукового дослідження, метою цього огляду є аналіз наукових даних про можливий вплив ГМ-рослин на здоров'я людини як безпосередньо – через їх участь у харчуванні людини і сільськогосподарських тварин і у виробництві рекомбінантних лікарських засобів, – так і побічно, через вплив на навколишнє середовище.

Ключові слова: трансгенні продукти, генетично модифіковані організми, ГМО.

Резюме

А. Г. Дьяченко,
А. О. Загребельная,
Сумский государственный
университет, ул. Римского-
Корсакова, 2, Сумы, Украина,
40007

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТЕНИЯ И ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Генетически модифицированные (ГМ) растения в последние годы привлекают большое внимание общественности. Хотя потребители остаются в основном в неведении относительно того, что собой представляют ГМ-культуры на самом деле, каковы преимущества и недостатки существующих технологий и в каких сферах экономики эти технологии и их продукты могут использоваться, общество в целом настроено негативно в отношении перспектив их использования в качестве продуктов питания. Более того, парламены ряда стран, например РФ, принимают законы, запрещающие выращивание ГМ-растений и животных и ввоз их из-за рубежа. В то же время априорное отрицание возможных проблем, связанных с использованием ГМ-культур, было бы также неправильным. На самом деле с появлением первого поколения подобных культур возникли две основные проблемы: риск для окружающей среды и риск для здоровья человека. Поскольку внедрение ГМ-линий растений и животных будет неуклонно возрастать, можно прогнозировать соответствующее повышение общественной озабоченности в связи с



потенциальными рисками. Так как СМИ представляют информацию, основанную зачастую на ненадежных и нерепрезентативных данных, а то и вовсе лишенную признаков научного исследования, целью настоящего обзора является анализ научных данных о возможном влиянии ГМ-растений на здоровье человека как напрямую – через их участие в питании человека и сельскохозяйственных животных и в производстве рекомбинантных лекарственных средств, – так и косвенно, через воздействие на окружающую среду.

Ключевые слова: трансгенные продукты, генетически модифицированные организмы, ГМО.

Автор, відповідальний за листування: ag_dyachenko@list.ru

Вступ

Растения с полезными потребительскими характеристиками выводятся тысячи лет с помощью обычных методов селекции. Желательные характеристики с/х культур выбираются, комбинируются и размножаются посредством повторного полового кроссингвера совместимых в этом отношении видов (подвидов) в течение множества поколений. Как правило, требуется не менее 15 лет, чтобы получить новую разновидность (сорт) [26]. Генная инженерия позволяет не только резко ускорить процесс, но и сделать его высоко целенаправленным путем введения небольшого количества соответствующих генов. Она позволяет также преодолеть барьер половой несовместимости между видами растений и значительно увеличить размер имеющегося генофонда [26].

Распространенный, хотя и не вполне научный термин *трансгенные* (ГМ) применяется в отношении тех организмов (в данном контексте растений), у которых геномы модифицированы с использованием рекомбинантных ДНК-технологий. Они могут экспрессировать гены, не входящие в геном данного растения, или модифицированные эндогенные гены. Функция (белок), кодируемая таким геном, придает растению определенный признак, способствующий его выживанию или повышению продуктивности. Учитывая быстрое развитие технологий манипуляций с генетическим материалом, термин *трансгенные* в научной литературе принято использовать в отношении тех растений, в геномы которых была внесена экзогенная информация, полученная от неродственных, часто весьма удаленных видов, в отличие от *сингенных* растений, полученных в результате внутривидового переноса аллелей соответствующих генов или в пределах близкородственных видов, обладающих половой совместимостью. Нако-

нец, для получения *интрагенных* растений перенос гена(ов) вообще не требуется, их собственная наследственная информация лишь определенным образом модифицируется. С помощью генно-инженерных технологий можно повысить сопротивляемость растений к абиотическим (засуха, экстремальные температуры, высокая соленость почвы) и биотическим (насекомые, болезнетворные микроорганизмы) стрессам, которые причиняют огромный ущерб сельскому хозяйству, а также повысить продуктивность и питательную ценность сельхозкультур. Согласно осторожным оценкам ФАО себестоимость производства ГМ-культур как минимум на 20 % ниже обычных. Именно это определяет повсеместное быстрое их распространение: в 23 странах мира в течение 20 лет ежегодный прирост площадей биотехнологических зерновых составлял примерно 12 % [6]. Основными зерновыми ГМ-культурами являются соя и кукуруза, хотя выращивание ГМ-сортов хлопка, рапса и риса также резко увеличилось. Любопытно, что площади под генетически модифицированными культурами в ЕС составляют лишь несколько тыс. га (0,03 % мирового производства), что является, вероятно, отражением европейской оппозиции этой технологии. В то же время значительная часть комбикормов, используемых в Европе, производится из импортного растительного материала и содержит ГМ-продукты. В отличие от Европы, в США отсутствуют ограничения к применению ГМ-растений, по крайней мере в качестве корма для животных. Аналогичным образом технические ГМ-растения, например хлопок, широко используются в легкой и других отраслях промышленности. Новые поколения ГМ-культур разрабатываются для производства рекомбинантных медикаментов, таких как моноклональные антитела, вакцины, а также пластмасс и биотоплива.



Генетическая модификация растений

В настоящее время в качестве вектора для переноса рекомбинантной ДНК в растительную клетку наиболее часто используется бактерия *Agrobacterium tumefaciens*, обладающая естественной способностью переносить участки ДНК в растительный геном, и "генная пушка", которая "стреляет" наночастицами золота, покрытыми рекомбинантными фрагментами ДНК. Далее отдельные растительные клетки, содержащие модифицированный геном, выращиваются в зрелые генетически модифицированные растения с использованием техники культуры тканей. Три аспекта этой технологии несут возможные риски в отношении здоровья человека: использование селективных маркеров для идентификации трансформированных клеток; перенос избыточной чужеродной ДНК в растительный геном; возможное увеличение мутаций в ГМ-растениях по сравнению с природными культурами.

Действительно, для дискриминации ГМ-продуктов в процессе котрансформации вместе с интересующим геном часто используют селективные маркерные гены, которые обеспечивают устойчивость к антибиотикам (например, канамицин, который убивает нормальные клетки не-ГМ-растений). По мнению оппонентов, это повышает риск распространения антибиотикорезистентности в бактериальной популяции в почве или в кишечнике человека при употреблении ГМ-продуктов. Не следует, однако, забывать, что гены резистентности к АБ были первоначально изолированы из почвенных бактерий, широко распространенных в природе. Кроме того, канамицин вообще имеет статус GRAS (Generally Regarded As Safe, т. е. безопасный) и уже более 20 лет используется в животноводстве без каких-либо известных проблем. Исследования показали, что вероятность передачи резистентности к АБ от растений бактериям чрезвычайно низка, а возможный вследствие такого переноса риск представляется в худшем случае незначительным [9]. Получение селективных маркеров, не использующих устойчивость к АБ, а также процедуры, удаляющие маркер из растительного генома по завершении трансформации, практически полностью снимают опасения данного рода [10].

Вторая связанная с ГМ-технологиями проблема – перенос в геном растения ненужной, избыточной ДНК в ходе процесса трансформации – также была успешно решена: была разра-

ботана минимальная генная кассета, в которой размещается лишь строго определенный фрагмент ДНК [8].

Наконец, третья проблема связана с возможным повышением уровня естественных мутаций в результате снижения стабильности генома, что может вызвать те или иные нежелательные последствия. В принципе, в процессе культивирования тканей могут появляться так называемые соматические вариации, возможна и реаранжировка эндогенной ДНК вокруг интегрированного трансгена [15]. На практике, однако, эти явления не зарегистрированы. Следует подчеркнуть, что появлению на рынке ГМ-культур предшествуют разнообразные и масштабные испытания.

Применение ГМ-растений

Сегодня в мире около 1 млрд человек хронически недоедают, потребляя менее 8000 кДж/день (2000 ккал/день). Примерно 1,3 млрд человек живут менее чем на 1 долл. США в день и не имеют доступа к безопасной еде. Многие из них занимаются сельским хозяйством для их собственного существования и полностью зависят от него. Как правило, эти люди не могут позволить себе ирригацию своих культур, обработку их гербицидами или пестицидами, что приводит к низким урожаям и высокой их пораженностью вредителями. Кроме того, по прогнозам, население планеты удвоится в течение следующих 40–50 лет, причем более 95 % из них родится в развивающихся странах. Таким образом, для решения продовольственной проблемы в глобальных масштабах производство продуктов питания необходимо увеличить, по крайней мере, на те же 40–50 %, причем в условиях сокращения площади плодородных земель и водных ресурсов. ГМ-технологии являются одним из наиболее эффективных способов решения продовольственной проблемы через резкое повышение урожайности с/х культур или увеличение содержания в них питательных веществ.

Повышение питательной ценности пищевых продуктов

Известно, что в обеспеченных странах мира питательная ценность пищи соответствует потребностям вследствие высокого разнообразия потребляемых продуктов питания. В развивающихся странах зачастую один (зерновой) продукт доминирует в рационе, вызывая (особенно у детей) дефицит не только белка, но и разнообразных витаминов. Наиболее широко распро-



странен в развивающихся странах дефицит витамина А, который, по оценкам, приводит к гибели примерно 2 млн детей в год. Он же является ведущей причиной слепоты у детей. Организм человека может синтезировать витамин А из предшественника β -каротина, широко распространенного в растительном царстве, но отсутствующего в зерновых культурах. ГМ-технологии позволяют решить некоторые из этих проблем. Показательным примером потенциала этой технологии является проект «Золотой рис». Стратегия проекта заключалась во внедрении в геном риса ряда последовательных метаболических этапов, обеспечивающих синтез β -каротина. В 2000 г. Уе и соавт. сконструировали рис, содержащий умеренный уровень β -каротина [33]. Через несколько лет появился улучшенный вариант «Золотой рис 2» [18]. Подсчитано, что 72 г сухой крупы «Золотой рис 2» обеспечивает 50 % рекомендуемой суточной нормы витамина А для 1–3-летнего ребенка. Проект «Золотой рис» является прекрасным примером использования биотехнологий для решения сложных задач.

Биотехнологии и повышение продуктивности земледелия

Урожайность с/х культур, полученных средствами классической селекции, под действием патогенных микроорганизмов, паразитов и насекомых по всему миру постепенно снижается. Для сохранения и повышения урожайности чрезвычайно важно повысить сопротивляемость культур к воздействию паразитов и патогенов. Одним из успешных примеров является устойчивая к насекомым кукуруза, экспрессирующая *bt* ген (из бактерии *Bacillus thuringiensis*). В США этой культурой засеяна площадь в 10,6 млн га, что составляет 35 % всех площадей, занятых в стране кукурузой. Однако основной причиной снижения продуктивности земледелия является абиотический стресс, особенно засоленность почвы, засуха и резкие перепады температуры. Ожидается, что засаливание почвы и засухи приведут к резкому сокращению пахотных земель к 2050 г. Проводящиеся в настоящее время исследования могут помочь решить эту проблему.

Безопасны ли ГМ-продукты?

Использование ГМ-культур регулируется несколькими правительственными органами. Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов (EFSA, European Food Safety Authority) и отдельные государства ЕС приняли

подробные требования для полной оценки риска, связанного с применением ГМ-растений и произведенными из них пищевыми продуктами и кормами для животных. Несколько федеральных агентств (FDA, Food and Drug Agency и другие) принимают участие в разрешении использования ГМ-культур. Это означает, что ГМ-растения должны пройти тщательную проверку на безопасность до их коммерческого применения. Аналогичные правительственные органы имеются и в других странах. Наконец, при ООН существует Организация по питанию и сельскому хозяйству (FAO), занимающаяся изучением этих вопросов. Авторитетные научные сообщества (Академии наук США, Китая, РФ) выступили с однозначным заявлением о безопасности применения ГМ-продуктов. Не удивительно, что Еврокомиссия разрешила доступ на рынки ЕС 19 новых генетически модифицированных продуктов.

Продукты, полученные из генетически модифицированных сельскохозяйственных культур, употребляют сотни миллионов людей по всему миру в течение двух десятилетий. Тот же «Золотой рис 2» ежедневно употребляют от 0,3 до 1 млрд человек. За все время использования ГМ-продуктов не было сообщений о каких-либо неблагоприятных для здоровья человека последствиях.

Строгие научные исследования также не обнаружили токсичности ГМ-культур. Единственное исключение было опубликовано в 1999 г. Авторы утверждали, что у крыс, которых кормили рекомбинантными томатами, развилось поражение слизистой кишечника [4]. Однако вскоре Королевское общество заявило, что исследование «является ошибочным по многим аспектам дизайна, выполнения и анализа» и что «никакие выводы не должны быть взяты из него». Например, авторы использовали слишком мало животных в эксперименте, чтобы получить статистически значимый результат.

Имеются ли априорные основания полагать, что ГМ-культуры могут быть вредными для потребителей? На самом деле наличие чужеродных последовательностей ДНК в пищевых продуктах не несет никаких рисков для здоровья человека. И это понятно, ведь любые продукты, которые человек употребляет в пищу в течение всей жизни и всего периода эволюции, содержат значительные количества гетерогенных нуклеиновых кислот из разных источников, которые потребляются в диапазоне от 0,1 до 1,0 г в день.



Существует потенциальная возможность того, что белковый продукт трансгена может быть токсичным, если трансген кодирует токсин. Такая потенциальная токсичность белка является важным компонентом оценки безопасности, которая должна быть выполнена до внедрения новой ГМ-культуры.

Аллергенность ГМ-продуктов в отличие от токсичности, в принципе, вполне возможна [15], тем более, что аллергия на природные растительные продукты широко распространена. Для оценки риска появления аллергических реакций в результате применения трансгенной культуры используются различные тесты, включая модельные эксперименты на животных. Известны примеры запрета таких культур по причине аллергенности [20]. Любопытно, что те же ГМ-технологии можно использовать для идентификации и удаления аллергена из продукта [11]. Однако основной причиной аллергии в современном мире является широкое применение в земледелии минеральных удобрений, стимуляторов роста и разнообразных средств защиты растений. Эти сложные органические вещества часто содержат атомы ртути, галогенов, нитро- и сульфгидридные группы, что делает их высокотоксичными и для человека. Для борьбы с поступающими с пищей подобными ксенобиотиками организму приходится активировать все гомеостатические системы, в том числе иммунную, что и приводит к пищевой аллергии. ГМ-культуры, напротив, по определению, гораздо более устойчивы к вредителям и недостатку питательных веществ в почве, что позволяет ограничить применение удобрений и пестицидов, а то и вовсе от них отказаться, что снижает вероятность возникновения аллергических реакций на произведенные в таких условиях продукты питания.

Непищевое применение ГМ-растений

Широчайшие потенциальные возможности генно-инженерных технологий находят свое применение не только в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, но и за их пределами, например, в лесном хозяйстве, в производстве бумаги и биотоплива. В области медицины главным направлением является конструирование ГМ-растений, способных продуцировать рекомбинантные фармпрепараты. Первый такой препарат – человеческий сывороточный альбумин – был получен еще в 1990 г. [25]. С тех пор список таких продуктов включает антитела, компоненты крови, гормоны, вакцины и др.

[28]. Некоторые из них уже достигли стадии коммерческого применения (например, инсулин, рекомбинантный человеческий врожденный фактор, используемый при дефиците витамина В₁₂), другие только готовятся к этому. К тому же использование ГМ-растений в качестве платформы для получения различных фармпрепаратов имеет весомые преимущества перед традиционными биоинженерными технологиями, поскольку дает возможность получать сложные мультимерные белки, такие как антитела, которые невозможно получить в микробных системах, причем в любых количествах и по очень низкой цене, что особенно важно для развивающихся стран. Например, производимая в настоящее время ГМ-дрожжами вакцина против гепатита В не может удовлетворить потребности ни по количеству, ни по цене [3]. А вот годовой урожай продуцирующих антиГВ вакцину ГМ-томатов с 250 акров парников может полностью удовлетворить потребности в вакцине всей Ю.-В. Азии [3, 14]. Еще одно важное преимущество растительной ГМ-фармацевтики – переход от приема традиционных лекарственных форм к потреблению пищи, содержащей необходимые препараты.

ГМ-растения и окружающая среда

Любое нежелательное воздействие на окружающую среду в результате масштабного применения ГМ-растений может косвенно воздействовать на человека. Предполагаются следующие потенциальные риски воздействия на природу:

- ГМ-растения могут образовывать половые гибриды с дикими растениями через их опыление ГМ-пыльцой;
- ГМ-растения могут сами распространяться неконтролируемым образом;
- условия, необходимые для роста ГМ-растений, могут локально воздействовать на природные сообщества.

Существует теоретическая возможность неконтролируемой дисперсии ГМ-культур посредством семян или опыления ГМ-пыльцой диких растений. К этому же результату могут привести и неадекватный дизайн процедуры получения ГМ-культуры, и ошибки при ее проведении. В 2001 г. появилось сообщение, что трансгены из ГМ-кукурузы перекрестно опыляются с дикой кукурузой, произрастающей в Мексике [21]. Дальнейшие исследования не смогли подтвердить распространения трансгенов в дикой природе Мексики [17]. В 2002 г. компания



Prodigene была оштрафована за нарушение био-безопасности, когда ГМ-кукуруза была найдена в урожае сои, предназначенном для потребления людьми [7]. Одним из последствий этого стало предложение ограничить молекулярное земледелие непищевыми культурами, такими как табак. В литературе можно найти еще несколько публикаций, авторы которых обнаруживали токсическое воздействие ГМ-растений (в основном *Bt* кукурузы) на те или иные виды животных, однако последующие тщательные исследования дезавуировали эти утверждения. Чрезвычайно сомнительной кажется также возможность диссеминации в дикой природе трансгенных растений при их широком культивировании, поскольку встроенные гены не дают селективных преимуществ гибриду и, следовательно, не поддерживаются естественным отбором. Любому селекционеру хорошо известно, что без соблюдения ряда правил прицельно выведенные полезные свойства гибридных сортов со временем теряются. Следует, однако, признать, что оценить воздействие (особенно отдаленные эффекты) ГМ-культур на окружающую дикую природу чрезвычайно трудно.

Если неблагоприятный эффект на дикую природу со стороны ГМ-растений представляется лишь гипотетически возможным, то позитивная роль для окружающей среды вполне реальна. Так, уже сконструированы растения, способные удалять различного рода контаминанты (соли тяжелых металлов, летучие соединения) из почвы и воздуха [1]. Такая фитореабилитация позволяет не только очищать почву и атмосферу от загрязняющих веществ, но и может в будущем послужить сырьевой базой извлечение этих веществ.

Перенос генов в окружающую среду

Перенос рекомбинантных генов в окружающую среду хотя и не несет катастрофических последствий, но нежелателен. Важно отметить, что речь идет лишь о тех ГМ-культурах, которые используются в промышленности и фармацевтике. Возможны две стратегии, ограничивающие нежелательное распространение ГМ-культур: физическое разграничение и генетические манипуляции. Первое предусматривает изоляцию выращиваемых культур, недопущение перекрестного опыления, тщательное удаление остатков семян после сбора урожая и т. п. Генетические манипуляции направлены на ограничение переноса пыльцы, что влияет на фертильность и образование семян (GURTS, Genetic Use

Restriction Technologies) [16]. Другая генетическая стратегия предусматривает встраивание чужеродных генов в геном хлоропластов, поскольку у очень многих растений хлоропласты наследуются по материнской линии и не содержатся в пыльце.

Как отмечается в докладе Генерального директората Европейской комиссии по науке и информации: «Главный вывод, вытекающий из усилий более чем 130 научно-исследовательских проектов, охватывающих 25 лет исследований и проведенных с участием более чем 500 независимых исследовательских групп, состоит в том, что биотехнологии и, в частности, ГМО как таковые не более опасны, чем, например, традиционные технологии селекции растений». Можно не сомневаться, что строгие научные аргументы заставят общество преодолеть иррациональные фобии для своего же блага.

Интра- и цис-генез

В настоящее время для многих видов растений, в том числе основных зерновых культур, таких как рис, соевые бобы, кукуруза, хлопок, рапс, картофель, маниока, папайя, арахис, масличные культуры, многочисленные овощи и плоды получены ГМ-сорты. Массовое внедрение трансгенных культур в с/х, а их продуктов – в пищевой рацион человека вызвало опасения общества по поводу их безопасности и воздействия на здоровье и окружающую среду. Эти опасения связаны с двумя основными моментами трансгенной технологии: встраивание в геном растений экзогенных генов других видов (бактерий, насекомых), включая маркерные гены, пограничные и связующие последовательности, и случайный характер сайтов вставки, что может иметь непредсказуемый побочный эффект.

Недавний прогресс в области генных технологий привел к появлению пулов множества аллелей/генов близкородственных видов растений, способных к перекрестному опылению, т. е. обладающих половой совместимостью. Такие гены принято называть цис-генами. Увеличение числа цис-генов и разработанные новые протоколы трансформации, исключающие использование маркерных генов, позволили перейти к модификации геномов растений без переноса экзогенных чужеродных генов и не меняя расположения генов в хромосоме. Этот новый подход получения ГМ-культур получил название цис-генез [23]. А цис-генные растения опреде-



ляются как «растения, модифицированные одним или несколькими генами, выделенными из перекрестно совместимого растения-донора». С научной точки зрения, цис-генез описывается как специфические аллели/гены пула генов, встроенные в геном новой разновидности без дополнительных связующих последовательностей. Напротив трансгенные растения получают ген(ы) от нерастительных организмов или от растения-донора, не имеющего половой совместимости с растением-реципиентом [5]. Например, введение гена *R1*, первого гена устойчивости к поздней гнили, от дикого типа картофеля (*Solanum demissum*) в геном культурного картофеля (*S. tuberosum*) является цис-генезом, в то время как перенос гена *Bt* от бактерий *Bacillus thuringiensis* в геном хлопка с целью выработки устойчивости к вредителям является типичным трансгенезом.

Предполагается, что цис-генные растения будут более приемлемыми для общественности, нежели трансгенные растения. По данным опроса, проведенного в США, 55–77 % участников готовы употреблять цис-генные овощи (в зависимости от количества и источника генов), в то время как только 17–25 % из них будут есть овощи, содержащие гены микроорганизмов или животного. В другом опросе, в Миссисипи, 81 % респондентов утверждают, что они будут есть цис-генные овощи, но только 14–23 % из них готовы употреблять трансгенные овощи, содержащие гены из нерастительных источников [31]. В ЕС, как ожидается, цис-генные растения также будут более приемлемыми для потребителей [13].

Еще одним новым инструментом биотехнологий стал интрагенез, т. е. манипуляции с собственными генами растения. Возможности этой технологии также впечатляют. Вот лишь один пример. Группа американских и китайских исследователей, изучая томаты, установила, что размер меристемы растения, а следовательно, и плодов контролируется генами *WUS* и *CLV*. Рецептор последнего, *CLV1*, связывается с лигандом *CLV3*, состоящим из пептида и сахара арабинозы. Контроль размера меристемы/плода возможен лишь при полном арабинозилровании *CLV3*. Появление мутаций в гене арабинозилтрансферазы приводит к гигантизму этих частей растений. В результате получены плоды томатов размеров в среднюю дыню [32]. Поскольку подобные системы генов существуют и у других растений, открываются огромные воз-

можности для увеличения урожайности и других культур.

Цис-генез резко повышает эффективность использования избранных аллелей

Главной проблемой при выведении новых сортов растений является низкое сродство между диким и культивируемым сортами, поэтому в традиционной селекции для получения желаемых характеристик необходимо применять весьма сложные методы, позволяющие преодолеть указанное препятствие. При этом выведение нового сорта растягивается на годы и даже десятилетия. К примеру, Hermsen и Ramanna [12] понадобилось 30 лет для выведения с помощью приемов традиционной селекции устойчивого к поздней гнили сорта картофеля “Biogold”. В наше время van der Vossen и др. [29, 30], применив технологию цис-генеза, успешно клонировали и представили три новых сорта устойчивого к вредителю культурного картофеля в течение всего лишь нескольких лет.

Еще одним препятствием в традиционной селекции является связь генов, определяющих желаемые и нежелательные характеристики растений. Проблема усугубляется для культур с длительным периодом генерации, а также тем, что для длительной устойчивости необходимо накопление нескольких генов из разных источников. Примером является разведение яблок, устойчивых к парше (*Venturia inaequalis*). Внедрение гена устойчивости к парше *Vf* от *Malus floribunda* 821 в товарные яблочные культуры высокого качества началось в 50-х годах прошлого века и продолжалось более 50 лет. Использование цис-генеза позволяет выполнить эту работу за 2–3 года.

Новые технологии повышают возможности цис-генеза в использовании генетических ресурсов

Узким местом в современной селекции растений является ограниченная генетическая вариабельность любых видов культур, так как в процессе селекции растений отбираются только лучшие генотипы с резко сниженной генетической вариабельностью [27]. Такие ограничения генетических вариаций культур являются серьезной проблемой, поскольку это может привести к большим потерям урожайности и качества продукции при появлении нового патогена или в случаях необычных абиотических стрессов. Внедрение новых аллелей из природного генетического пула, которые придают устойчивость к возбудителю, позволяют уменьшить эту гене-



тическую уязвимость [2]. Массовое секвенирование растительных геномов, начатое в 1995 г., позволило создать огромный пул доступных для манипуляций генов, ассоциированных с экономически важными характеристиками растений [19], а изобретение новых технологий выделения и клонирования генов способствует повышению генетической вариабельности, в том числе за счет неродственных видов.

Почему так важно различать цис-генные и трансгенные растения?

Получение генетически модифицированных растений в настоящее время регулируется для предотвращения каких-либо негативных последствий для окружающей среды или здоровья человека. Эти правила ориентированы исключительно на трансгенные организмы и не различают трансгенных растений от цис-генных. Это означает, что ГМ-правила для трансгенов (генов от неродственных видов) также применяются для цис-генов (гены от близких видов). Однако цис-генез гораздо больше, чем трансгенез, похож на традиционное селекционирование растений. Хотя обе технологии используют те же самые методы генетической модификации для внедрения гена(ов) в растительный геном, при цис-генезе вводят только гены того же вида или близкородственных видов, причем эти гены могут быть также перенесены традиционными методами селекции. Таким образом, цис-генез не отличается от традиционной селекции. Нечто подобное происходит и в природе. Это означает, что цис-генные растения не создают какого-либо риска ни для окружающей среды, ни для человека.

К сожалению, действующие международные правила регулирования ГМО по-прежнему не отличают цис-генные растения от трансгенных, что серьезно затрудняет их использование. Лишь в нескольких странах (Канада, Австралия) система регулирования основана на продукте, а не процессе его получения, что дает юридическую возможность контролировать цисгенные растения менее строго, чем трансгенные. В Австралии, например, как указано в Положении о регулировании генных технологий, "мутантный организм, в котором мутационное событие не включает введение любой экзогенной нуклеиновой кислоты" не классифицируется как ГМО

[22]. Приближается к этому пониманию и ЕС: согласно докладу комиссии по безопасности пищевых продуктов (EFSA) опасности, возникающие в результате цис-генеза, аналогичны таковым при традиционной селекции [5].

В Украине Закон № 1103–V, 2007 «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» определяет генетически модифицированный организм (ГМО) как «любой живой измененный организм, в котором генетический материал был изменен при помощи искусственных приемов переноса генов, которые не происходят в природных условиях». Такая редакция Закона не только резко сужает возможности отечественных селекционеров использовать весь современный арсенал биотехнологических приемов, включая интрагенез и цисгенез, но и ограничивает, точнее запрещает использование в пищевых и не только целях полученные при помощи этих технологий ГМ-продукты. К сожалению, в Украине до сих пор отсутствует Реестр ГМ-растений, а значит, зарегистрированных (разрешенных) ГМ-культур нет. Отсутствует также нормативная база по проведению контроля пищевых продуктов и сырья на предмет наличия чужеродных/модифицированных генов. В то же время имеется сеть адекватно оснащенных лабораторий, способных выполнять необходимые исследования. Так, в Сумской области эту работу осуществляет лаборатория Госсанэпидслужбы Украины, аттестованная НААУ в соответствии с требованиями ISO/ISE 17025:2006. Все исследования проводятся исключительно в инициативном порядке и за счет заказчика. Ассортимент и объем исследований небольшой: в основном определяется наличие последовательностей 35S FMV и терминатора NOS. Кроме рапса, контролируются также наличие и содержание ГМ-сои и кукурузы. За 2012–2014 гг. был проведен анализ свыше 4500 образцов, включая 1560 образцов кукурузы, 342 – рапса, 183 – сои. Качественный анализ показал наличие чужеродного генетического материала в 41 пробе. При количественном анализе в 10 пробах (в основном сои) была обнаружена гетерологичная ДНК.



References (список літератури)

- Banuelos G, Leduc DL, Pilon-Smits EAH, Terry N. Transgenic Indian mustard overexpressing selenocysteine lyase or selenocysteine methyltransferase exhibit enhanced potential for selenium phytoremediation under field conditions. *Environ Sci Tech.* 2007; 41:599–605.
- Cox TS, Wood D. The nature and role of crop biodiversity. In *Agrobiodiversity: Characterization, Utilization, and Management*, eds D. Wood and J.M. Lenne. Wallingford, UK: CABI Publishing, 1999: 35–57.
- EMBO Reports. Molecular farming for new drugs and vaccines. *EMBO Reports.* 2005;6:593–9.
- Ewen SWB, Pusztai A. Effects of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus Nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet.* 1999; 354:1353–4.
- European Food Safety Authority. Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA J.* 2012; 10:2561.
- Executive summary of Global Status of Commercialised Biotech/GM crops: 2007. *ISAAA Briefs No. 37.* Ithaca, NY ISAAA, 2007.
- Fox JL. Puzzling industry response to Prodigene fiasco. *Nat Biotech.* 2003;21:3–4.
- Fu XD, Duc LT, Fontana S. et al. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate low-copy-number GM plants with simple integration patterns. *Transgenic Res.* 2000;9:11–19.
- Gay PB, Gillespie SH. Antibiotic resistance markers in genetically modified plants; a risk to human health. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:637–646.
- Hare PD, Chua NH. Excision of selectable marker genes from GM plants. *Nat Biotech.* 2002;20:575–580.
- Herman E. Soybean allergenicity and suppression of the immunodominant allergen. *Crop Sci.* 2005;45:462–467.
- Hermsen JG, Ramanna MS. Double bridge hybrids of *Solanum bulbocastanum* and cultivars of *Solanum tuberosum*. *Euphytica.* 1973;2:457–466. doi: 10.1007/BF00036641.
- Herzog U. Cisgenesis: A Report on the Practical Consequences of the Application of Novel Techniques in Plant Breeding, 2012. Available at: http://bmg.gv.at/cms/home/attachments/6/6/0/CH1052/CMS1352183689337/cisgenesis_20121105.pdf.
- Kapusta J, Modelska A, Figlerowicz M. et al. A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus. *FASEB J.* 1999;13:1796–1799.
- Latham JR, Wilson AK, Steinbrecher RA. The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed Biotech.* 2006;1–7: Article ID 25376.
- Mascia PN, Flovell RB. Safe and acceptable strategies for producing foreign materials in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 2004;7:189–195.
- Ortiz-Garcia S, Ezcurra E, Schoel B, Acevedo F, Soberon J, Snow AA. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003–2004). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:12338–12343.
- Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, et al. Improving the nutritional content of Golden Rice through increased provitamin A content. *Nat Biotechnol.* 2005;23:482–487.
- Pereira A. Atransgenic perspective on plant functional genomics. *Transgenic Res.* 2000;9:245–260. doi: 10.1023/A:1008967916498.
- Prescott VE, Campbell PM, Moore A et al. Transgenic expression of bean α -amylase inhibitor in peas results in altered structure and immunogenicity. *J Agric Food Chem.* 2005;53:9023–9030.
- Quist D, Chapela JH. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature.* 2001;414:541–543.
- Russell AW, Sparrow R. The case for regulating intragenic GMOs. *J. Agr. Environ. Ethic.* 2008;21:153–181. doi: 10.1007/s10806-007-9074-5.
- Schouten HJ, Krens FA, Jacobsen E. Do cisgenic plants warrant less stringent oversight? *Nat. Biotech.* 2006; 24:753–753. doi: 10.1038/nbt0706-753.
- Scientific opinion addressing the safety assessment of plants developed through cisgenesis and intragenesis. *EFSA J.* 2012;10:2561.
- Sijmons PC, Dekker BM, Schranmeijer B, Verwoerd TC, van den Elzen PJ, Hoekema A. Production of correctly processed human serum albumin in GM plants. *Biotechnology.* 1990;8:217–221.



26. Southgate EM, Davey MR, Power JB, Merchant R. Factors affecting the genetic engineering of plants by microprojectile bombardment. *Biotechnol. Adv.* 1995;13:631–657.
27. Tanksley SD, McCouch SR. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science.* 1997;277:1063–1066. doi: 10.1126/science.277.5329.1063.
28. Twyman RM, Schillberg S, Fischer R. Transgenic plants in the biopharmaceutical market. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2005;10:185–218.
29. Van der Vossen EA, Gros J, Sikkema A. et al. The Rpi2blb2 gene from *Solanum bulbocastanum* is an Mi21 gene homolog conferring broad spectrum late blight resistance in potato. *Plant J.* 2005;44:208–222. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02527.x.
30. Van der Vossen EA, Sikkema A, Hekkert B et al. An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato. *Plant J.* 2003; 36:867–869. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01934.x.
31. Viswanath V, Strauss SH. Modifying plant growth the cisgenic way. *Inform. Syst. Biotechnol. News Rep.* 2010;1–4.
32. Xu C, Liberatore KL, MacAlister CA et al. A cascade of arabinosyltransferases controls shoot meristem size in tomato. *Nature Genetics.* 2015; doi:10.1038/ng.3309.
33. Ye XD, Al-Babili S, Klott A et al. Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science.* 2000;287:303–305.

(received 25.11.2015, published online 28.03.2016)

(одержано 25.11.2015, опубліковано 28.03.2016)

