



ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ПИЩИ

Г.Ф. Мухаммадиева¹, Д.О. Каримов¹, О.В. Долгих², А.В. Кривцов², А.А. Мазунина²

¹Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека, Россия, 450106, г. Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94

²Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

Целью исследования явился генетический анализ качества продуктов питания российского происхождения на присутствие генетически модифицированных компонентов, преимущественно сои, с установлением оптимального перечня генетических модификаторов колбасной продукции и соевых продуктов для задач мониторинга незаявленных генно-модифицированных организмов (ГМО) и обеспечения биологической безопасности пищи. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выполнен анализ ряда пищевых продуктов (колбасы, соевые продукты) на содержание комплекса генетически модифицированных организмов. Проведена идентификация генов ГМО: промоторов (*p35SCaMV*, *P-SSuAra*, *Ubi1*, *ract1*, *hsp70*, промотора *TA29* табака), терминаторов (*nos3*, *T-E9*, *T-g7*, *T-OCS*), репортерных генов (*prill*, *qHptFP308*, *bar*, *pat_10-P*), биопестицидов *Bacillus Thuringensis* (*Bt*) или *Cry*-токсинов (*CryIAb/Ac*), репортерного гена β -глюкуронидазы (*GUS*-ген). Анализ ряда образцов колбас позволил идентифицировать гены ГМО – *CryIAb/Ac*, *P-FMV*, *P-nos*, *bar*, *gus_9-P*, *T-nos3*, *prtii*, *P-TA29*, *T-E9*, *T-g7*, *T-OCS*. Проведенное исследование продуктов питания выявило наличие ГМО в 56 % анализируемых образцов колбасной продукции. При этом к особенностям генетической модификации анализируемой пищевой продукции следует отнести комплекс идентифицированных генов: гены промотора *P-FMV*, терминаторов (*nos3*, *T-g7*, *T-OCS*), эндотоксина *CryIAb/Ac*, репортера *bar* генно-модифицированных организмов. Рекомендованы к использованию в качестве маркерных генов контроля безопасности пищевых продуктов по критерию содержания ГМО кандидатные гены содержания ГМ-сырья в пищевой продукции *CryIAb/Ac*, *P-FMV*, *P-nos*, *bar*, *gus_9-P*, *T-nos3*, *prtii*, *P-TA29*, *T-E9*, *T-g7*, *T-OCS*, свидетельствующие о произведенных генетических модификациях.

Ключевые слова: генетически модифицированные организмы, гены, промоторы, терминаторы, безопасность пищевых продуктов, полимеразная цепная реакция, ДНК.

В настоящее время генетически модифицированные растения выращиваются в 28 странах мира, особенно широко – в США, Бразилии, Аргентине, Индии и Канаде. Основными культурами являются соя, картофель, кукуруза, сахарная свекла, томаты, тыква, рапс. Ежегодный прирост территорий, занятых под генно-инженерно-модифицированные культуры, составляет в среднем 15–18 %. Ежегодно в мире проходят полевые испытания более 4000 генетически модифицированных культур. Уже более 60 % производимой в мире сои, 15 % картофеля, 7 % кукурузы являются генно-инженерно-модифицированными. Ряд продуктов и блюд в США сегодня уже полностью ориентированы на изготовление с применением

технологий генной инженерии (гамбургеры, салаты, картофель-фри и др.) [1–3].

В России посевов трансгенных культур для коммерческого применения не существует. Имеют место лишь закрытые экспериментальные поля при различных исследовательских центрах. В Российской Федерации с целью испытаний на биобезопасность осуществляются посадки генетически модифицированных культур: картофеля (Москва и Московская область, Тамбов, Краснодар, Дальний Восток), сои (Краснодарский край), сахарной свеклы (Московская область, Тамбов, Краснодарский край, Дальний Восток), кукурузы (Московская область, Тамбов, Краснодарский край, Дальний Вос-

© Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Долгих О.В., Кривцов А.В., Мазунина А.А., 2018

Мухаммадиева Гузель Фанисовна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований отдела токсикологии и генетики (e-mail: ufniimt@mail.ru; тел.: 8 (347) 255-19-48; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7456-4787>).

Каримов Денис Олегович – кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики (e-mail: karimovdo@gmail.com; тел.: 8 (347) 255-19-48; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>).

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Кривцов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7986-0326>).

Мазунина Алена Александровна – младший научный сотрудник отдела иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3579-4125>).

ток). С целью сортоиспытания выращивают трансгенный картофель (в 18 регионах), с целью переработки и употребления – сахарную свеклу и сою (Московская область и другие территории). В связи с отсутствием в России моратория на ввоз из-за рубежа трансгенной пищевой продукции и значительным увеличением ее производства в мире, она все в больших количествах поступает на российский продовольственный рынок [4, 5].

Система контроля за генетически модифицированными организмами (ГМО), применяемая в России, основана на выявлении регуляторных последовательностей (промотора 35S и терминатора NOS). Однако развитие геной инженерии привело к появлению ГМО второго поколения, которые не содержат данных регуляторных последовательностей. Подобные культуры потенциально могут присутствовать на российском продовольственном рынке и оставаться неидентифицированными [6, 7].

Актуальным для обеспечения биологической безопасности пищевых продуктов для населения является идентификация не заявленных генетически модифицированных источников пищи, а также комбинаций ГМО. Одной из важнейших задач в рамках решения проблемы обеспечения качества и безопасности продуктов питания является разработка оптимальной диагностической комбинации генетических маркеров (тест-систем) для каждого вида пищевой продукции. Эффективным методом анализа нуклеиновых кислот является полимеразная цепная реакция в реальном времени [8–12].

Цель работы – генетический анализ качества продуктов питания российского происхождения на присутствие генетически модифицированных компонентов (преимущественно сои) с установлением оптимального перечня генетических модификаторов колбасных изделий и соевых продуктов для задач мониторинга незаявленных ГМО и обеспечения биологической безопасности пищи.

Материалы и методы. Всего было исследовано 47 образцов пищевых продуктов, реализуемых на территории Республики Башкортостан и Пермского края, на присутствие генов как трансгенной, так и нетрансгенной сои. В структуре проанализированных проб преобладали колбасные изделия и мясные деликатесы (45 проб): колбасы (вареные, полукопченые, варено-копченые), копчености (ветчина, карбонат), сосиски, паштеты. Также исследованы соевые продукты (две пробы): тофу твердый, молоко соевое.

Количественное определение 35S промотора вируса мозаики цветной капусты в ДНК генетически модифицированной сои включало: отбор и подготовку проб; экстракцию ДНК из образцов продуктов питания; амплификацию фрагментов ДНК и гибридно-флуоресцентную детекцию, которая

производится непосредственно в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием зондов TaqMan.

Помимо количественного определения маркера 35S промотора вируса мозаики цветной капусты проводилась качественная ПЦР-реалтайм для скрининга других маркеров генетической модификации [13–20], которая включала в себя¹:

- ◆ выявление промоторов, используемых при трансфекции растений: p35SCaMV, Act1, Ubi1, hsp70, промотора TA29 табака – как правило, эти промоторы являются универсальными при использовании создателями ГМО;

- ◆ выявление терминаторов: pos3, T-E9, T-g7, T-OCS;

- ◆ выявление репортерных генов: nptII, hpt, bar, dhfr, epsps, cp4;

- ◆ выявление MARS.

Экстракцию ДНК из образцов осуществляли с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-С» (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва), предназначенного для выделения ДНК из клинического материала, продуктов питания и кормов для животных.

Амплификацию проводили, используя набор реагентов «АмплиКвант ГМ соя-FL», предназначенный для обнаружения следующих фрагментов ДНК: последовательность промотора 35S вируса мозаики цветной капусты (P-35S *CamV*) и эндогенный контроль (ЭК) сои, то есть ген, специфичный как для трансгенной сои, так и для нетрансгенной. Такой подход позволил определять присутствие ДНК сои в исследуемом образце. Полимеразную цепную реакцию проводили на приборе Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия) и на приборе CFX96 Real Time System с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени. Для флуоресцентной детекции продуктов ПЦР были использованы каналы FAM/Green – рекомбинантная ДНК промотора 35S и JOE/Yellow – ген сои (эндогенного контроля).

Согласно методике определения ГМО параллельно осуществлялась постановка контролей: положительного (заведомо содержащая ГМ-сырье проба, линия сои MON89788) и отрицательного (заведомо не содержащая ГМ-сырье проба).

Осуществлялся пострегистрационный мониторинг на содержание ГМ-сырья, который включал в себя экспертизу документов на генетически модифицированные источники (ГМИ) и готовые продукты и контроль маркировки ГМИ-продукции.

Экспертиза документации основывалась на анализе перечня ГМИ, разрешенного к применению в РФ, и перечне ГМИ, выпускаемых в мире в промышленных объемах (этот перечень включает

¹ Маркерные гены пищевых продуктов, свидетельствующие о произведенных генетических модификациях: информационно-методическое письмо №11132 от 14.12.2017. – Пермь: Управление Роспотребнадзора по Пермскому краю, 2017.

81 ГМИ – соя, кукуруза, рапс, картофель, кабачки, папайя, томаты, рис, сахарная свекла, мускатная дыня, лен и др.). Контроль маркировки обеспечивался для всей пищевой продукции, полученной из ГМИ и содержащей в своем составе более 0,9 % компонентов из ГМИ.

Результаты и их обсуждение. Проведен лабораторный контроль пищевой продукции на качественное и количественное определение содержания ГМИ в соответствии с ГОСТ и МУК МУК².

При исследовании продуктов питания на выявление генетически модифицированных источников наличие 35S промотора вируса мозаики цветной капусты во всех образцах обнаружено не было. Из 47 проанализированных проб продуктов в 38 установлено присутствие нетрансгенной сои. При этом в пяти образцах пищевой продукции в их составе наличие сои не было указано.

Скрининговые качественные исследования 16 образцов пищевой продукции (колбаса, салями, сырокопченая, сервелат) показали, что ряд образцов содержали генно-модифицированные ингредиенты (рисунок).

Проведенный нами анализ 16 образцов пищевой продукции, преимущественно колбасных изделий (таблица), по идентификации генов ГМО: промоторов (p35SCaMV, P-SSuAra, Ubi1, ract1, hsp70, TA29 табака), терминаторов (nos3, T-E9, T-g7,

T-OCS), репортерных генов (nptII, qHptFP308, bar, pat_10-P), генов биопестицидов *Bacillus Thuringensis* (Bt) или Cry-токсина (Cry1Ab/Ac), репортерного гена β-глюкуронидазы (GUS-ген), выявил их отсутствие в семи анализируемых образцах пищевой продукции на фоне положительного и отрицательного контролей. Однако девять образцов колбас содержа-

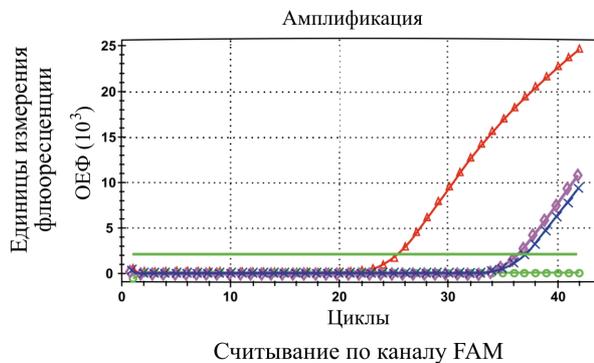


Рис. Полимеразная цепная реакция на приборе CFX96 Real Time System с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени. Кривые амплификации двух образцов пищевой продукции (колбасы сырокопченая «Банкетная», варено-копченая «Мускатная») с идентификацией гена P-FMV

Результаты исследования проб пищевой продукции на содержание ГМО

№ пробы	CaMV P-35S	Cry1Ab/Ac gene	P-FMV	P-nos	T-nos	bar	FMV34S	gus_9-P	qHptFP308	NOS3-Taq	nptII	P-ract	P-SSuAra	P-TA29	pat_10-P	T-E9	T-g7	T-OCS
1	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
2	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
3	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
4	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
5	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
6	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
7	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
8	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
9	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
10	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
11	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.
12	Отр.	Отр.	+	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
13	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	+	Отр.
14	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
15	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
16	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	+	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.
K+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K-	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.

²ГОСТ Р 53244-2008. Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: [http:// docs.cntd.ru/document/1200073607](http://docs.cntd.ru/document/1200073607) (дата обращения: 21.08.2018); ГОСТ Р ИСО 21571-2014. Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200114752> (дата обращения: 15.08.2018); МУК 4.2.2304-07. Методы идентификации и количественного определения генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/437120957> (дата обращения: 06.08.2018); МУК 4.2.3390-16. Детекция и идентификация ГМО растительного происхождения методом полимеразной цепной реакции в матричном формате [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/456058289> (дата обращения: 10.08.2018).

ли различные комбинации генов ГМО - Cry1Ab/As, P-FMV, P-nos, bar, gus_9-P, T-nos3, nptii, P-TA29, T-E9, T-g7, T-OCS.

Выводы. Проведенные исследования не выявили наличие генетически модифицированной сои по маркеру 35S промотора вируса мозаики цветной капусты в пищевых продуктах. Одновременно в пяти образцах колбасных изделий выявлено нарушение заявленного состава продукта. Обнаруженный в пробах соевый белок дает основание говорить о факте фальсификации пищевой продукции.

Пострегистрационный мониторинг на содержание ГМ-сырья продуктов питания выявил наличие нерегламентированных нормативной документацией маркеров ГМО в 56 % анализируемых образцов колбасной продукции. Анализ образцов колбасной продукции позволил идентифицировать кандидатные гены генно-модифицированных организмов: промото-

тора P-FMV, терминаторов (nos3, T-g7, T-OCS), эндотоксина Cry1Ab/As, репортера bar.

Генетический анализ качества продуктов питания российского происхождения на присутствие генетически модифицированных компонентов позволил рекомендовать к использованию службой в качестве маркерных генов контроля и обеспечения безопасности пищевых продуктов по критерию содержания ГМО следующие гены ГМ-сырья в пищевой продукции, свидетельствующие о произведенных генетических модификациях: Cry1Ab/As, P-FMV, P-nos, bar, gus_9-P, T-nos3, nptii, P-TA29, T-E9, T-g7, T-OCS.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Bawa A.S., Anilakumar K.R. Genetically modified foods: safety, risks and public concerns-a review // *J. Food Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 50, № 6. – P. 1035–1046. DOI: 10.1007/s13197-012-0899-1
2. Development and application of a general plasmid reference material for GMO screening / Y. Wu, J. Li, Y. Wang, X. Li, Y. Li, L. Zhu, J. Li, G. Wu // *Plasmid.* – 2016. – Vol. 87–88. – P. 28–36. DOI: 10.1016/j.plasmid.2016.08.001
3. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014 // *ISAAA Brief.* – ISAAA: Ithaca, NY, 2014. – № 49. – P. 10–15.
4. Донник И.М., Воронин Б.А. Правовое регулирование генно-инженерной деятельности в Российской Федерации // *Аграрный вестник Урала.* – 2017. – Т. 156, № 2. – С. 4.
5. Нормативно-правовые аспекты регулирования генетически модифицированных продуктов на территории Таможенного союза / А.А. Муратов, Н.В. Московенко, С.Л. Тихонов, Н.В. Тихонова, А.В. Курдюмов // *Агропродовольственная политика России.* – 2017. – Т. 63, № 3. – С. 78–83.
6. Тутельян В.А. Обеспечение безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов для производства пищевых продуктов // *Вестник Российской академии наук.* – 2017. – Т. 87, № 4. – С. 342–347. DOI: 10.7868/S0869587317040090
7. Тышко Н.В. Контроль за генно-инженерно-модифицированными организмами растительного происхождения в пищевой продукции: научное обоснование и методическое обеспечение // *Вопросы питания.* – 2017. – Т. 86, № 5. – С. 29–33.
8. Чернышева О.Н., Сорокина Е.Ю. Методы аналитического контроля пищевой продукции, произведенной из генно-инженерно-модифицированных растений // *Вопросы питания.* – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 53–60.
9. Diagnostics of Early Changes in the Immune System Due to Low Concentration of N-Nitrosamines in the Blood / N.V. Zaitseva, T.S. Ulanova, O.V. Dolgikh, T.V. Nurislamova, O.A. Mal'tseva // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 164, № 3. – P. 334–338. DOI: 10.1007/s10517-018-3984-2
10. Gerdes L., Busch U., Pecoraro S. GMOfinder – a GMO screening database // *Food Analytical Methods.* – 2012. – Vol. 5, № 6. – P. 1368–1376. DOI: 10.1007/s12161-012-9378-6
11. GMOseek: a user friendly tool for optimized GMO testing / D. Morisset, P.K. Novak, D. Zupanič, K. Gruden, N. Lavrač, J. Žel // *BMC Bioinformatics.* – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 258. DOI: 10.1186/1471-2105-15-258
12. JRC GMO-Matrix: a web application to support Genetically Modified Organisms detection strategies / A. Angers-Loustau, M. Petrillo, L. Bonfini, F. Gatto, S. Rosa, A. Patak, J. Kreysa // *BMC Bioinformatics.* – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 417. DOI: 10.1186/s12859-014-0417-8
13. Alasaad N., Alzubi H., Kader A.A. Data in support of the detection of genetically modified organisms (GMOs) in food and feed samples // *Data Brief.* – 2016. – Vol. 7. – P. 243–252. DOI: 10.1016/j.dib.2016.02.035
14. Debode F., Janssen E., Berben G. Development of 10 new screening PCR assays for GMO detection targeting promoters (pFMV, pNOS, pSSuAra, pTA29, pUbi, pRice actin) and terminators (t35S, tE9, tOCS, tg7) // *Eur. Food Res. Technol.* – 2013. – Vol. 236, № 4. – P. 659–669. DOI: 10.1007/s00217-013-1921-1
15. Detection by real-time PCR and pyrosequencing of the cry1Ab and cry1Ac genes introduced in genetically modified (GM) constructs / F. Debode, E. Janssen, C. Bragard, G. Berben // *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* – 2017. – Vol. 34, № 8. – P. 1398–1409. DOI: 10.1080/19440049.2017.1317925
16. Development of a qualitative, multiplex real-time PCR kit for screening of genetically modified organisms (GMOs) / H.H. Dörries, I. Remus, A. Grönwald, C. Grönwald, K. Berghof-Jäger // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 396, № 6. – P. 2043–2054. DOI: 10.1007/s00216-009-3149-2
17. Gu K., Mao H., Yin Z. Production of marker-free transgenic *Jatropha curcas* expressing hybrid *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin Cry1Ab/1Ac for resistance to larvae of tortrix moth (*Archips micaceanus*) // *Biotechnol. Biofuels.* – 2014. – Vol. 7. – P. 68. DOI: 10.1186/1754-6834-7-68
18. Randhawa G.J., Singh M. Multiplex, construct-specific, and real-time PCR-based analytical methods for Bt rice with cry1Ac gene // *J. AOAC Int.* – 2012. – Vol. 95, № 1. – P. 186–194.

19. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda* / C.S. Hernandez-Rodriguez, P. Hernandez-Martinez, J. Van Rie, B. Escriche, J. Ferre // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e68164. DOI: 10.1371/journal.pone.0068164.

20. Validation of a newly developed hexaplex real-time PCR assay for screening for presence of GMOs in food, feed and seed / C. Bahrtdt, A.B. Krech, A. Wurz, D. Wulff // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 396, № 6. – P. 2103–2112. DOI: 10.1007/s00216-009-3380-x

Особенности генетической идентификации генетически модифицированных источников пищи / Г.Ф. Мухаммадиева, Д.О. Каримов, О.В. Долгих, А.В. Кривцов, А.А. Мазунина // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 4. – С. 75–80. DOI: 10.21668/health.risk/2018.4.08

UDC 338.45: 616.2: 613.6.02

DOI: 10.21668/health.risk/2018.4.08.eng

Read
online



GENETICALLY MODIFIED FOOD PRODUCTS: PECULIARITIES OF GENETIC IDENTIFICATION

G.F. Mukhammadiyeva¹, D.O. Karimov¹, O.V. Dolgikh², A.V. Krivtsov², A.A. Mazunina²

¹Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 94 Stepan Kuvykin Str., Ufa, 450106, Russian Federation

²Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation

*Our research goal was to perform a genetic analysis of food stuffs produced in Russia in order to determine whether genetically modified components, predominantly soya, occurred in them. We also set a task to draw up an optimal list of genetic modifiers for sausages and soya products; this list was to be applied as a tool for monitoring of undeclared GMO and for providing biological safety of food stuffs. We applied polymerase chain reaction in real-time mode to analyze certain food products (sausages and soya products); the analysis was to reveal genetically modified organisms. The task was to identify the following GMO genes: promoters (p35SCaMV, P-SSuAra, Ubi1, ract1, hsp70, TA29 tobacco promoter), terminators (nos3, T-E9, T-g7, T-OCS), reporter genes (nptII, qHptFP308, bar, pat_10-P), bio-pesticides *Bacillus Thuringensis* (Bt) or Cry-toxins (CryIAb/Ac), reporter gene of β -glucuronidase (GUS-gene). Analysis of some sausage samples allowed us to identify the following GMO genes: CryIAb/Ac, P-FMV, P-nos, bar, gus_9-P, T-nos3, nptii, P-TA29, T-E9, T-g7, T-OCS. The research performed on food products revealed GMO in 56 % of the analyzed sausage samples. Genetic modification of the analyzed food samples had its peculiarities; a set of identified genes that included promoter genes P-FMV, terminators (nos3, T-g7, T-OCS), CryIAb/Ac endotoxin, and a reporter of GMO bar was one of them. We recommend to use the following candidate genes for GMO contents in food products: CryIAb/Ac, P-FMV, P-nos, bar, gus_9-P, T-nos3, nptii, P-TA29, T-E9, T-g7, T-OCS. They all are evidence that genetic modifications took place and they all can be applied as marker genes for control over food products safety as per GMO contents criterion.*

Key words: *genetically modified organisms, genes, promoters, terminators, food products safety, polymerase chain reaction, DNA.*

© Mukhammadiyeva G.F., Karimov D.O., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Mazunina A.A., 2018

Guzel F. Mukhammadiyeva – Candidate of Biological Sciences, Head of the Molecular and Genetic Research Laboratory at Toxicology and Genetics Department (e-mail: ufniiimt@mail.ru; tel.: + 7 (347) 255-19-48; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7456-4787>).

Denis O. Karimov – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department for Toxicology and Genetics (e-mail: kari-movdo@gmail.com; tel.: + 7 (347) 255-19-48; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>).

Oleg V. Dolgikh – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department for Immune-Biological Diagnostics (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Alexandr V. Krivtsov – Candidate of Medical Sciences, Head of the Immune-Genetics Laboratory (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7986-0326>).

Alena A. Mazunina – Junior Researcher at the Department for Immune-Biological Diagnostics (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3579-4125>).

References

1. Bawa A.S., Anilakumar K.R. Genetically modified foods: safety, risks and public concerns—a review. *J Food Sci. Technol.*, 2013, vol. 50, no. 6, pp. 1035–1046. DOI: 10.1007/s13197-012-0899-1
2. Wu Y., Li J., Wang Y., Li X., Li Y., Zhu L., Li J., Wu G. Development and application of a general plasmid reference material for GMO screening. *Plasmid*, 2016, vol. 87–88, pp. 28–36. DOI: 10.1016/j.plasmid.2016.08.001
3. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014. *ISAAA Brief*. ISAAA: Ithaca, NY, 2014, no. 49, pp. 10–15.
4. Donnik I.M., Voronin B.A. Legal regulation of genetic engineering in agriculture in the Russian Federation. *Agrarnyi vestnik Urala*, 2017, vol. 156, no. 2, pp. 4 (in Russian).
5. Muratov A.A., Moskoventko N.V., Tikhonov S.L., Tikhonova N.V., Kurdyumov A.V. Normativno-pravovye aspekty regulirovaniya geneticheskii modifitsirovannykh produktov na territorii Tamozhennogo soyuza [Regulatory aspects of the regulation of genetically modified products in the territory of the Customs Union]. *Agroprodovol'stvennaya politika Rossii*, 2017, vol. 63, no. 3, pp. 78–83 (in Russian).
6. Tutel'yan V.A. Obespechenie bezopasnosti genno-inzhenerno-modifitsirovannykh organizmov dlya proizvodstva pishchevykh produktov [Ensuring the safety of genetically engineered and modified organisms for food production]. *Vestnik Rossiiskoi akademii nauk*, 2017, vol. 87, no. 4, pp. 342–347. DOI: 10.7868/S0869587317040090 (in Russian).
7. Tyshko N.V. Control over genetically-modified sources of plant origin in food: scientific basis and methodical maintenance. *Voprosy pitaniya*, 2017, vol. 86, no. 5, pp. 29–33 (in Russian).
8. Chernysheva O.N., Sorokina E.Yu. Analytical methods for control of foodstuffs made from bioengineered plants. *Voprosy pitaniya*, 2013, vol. 82, no. 3, pp. 53–60 (in Russian).
9. Zaitseva N.V., Ulanova T.S., Dolgikh O.V., Nurislamova T.V., Mal'tseva O.A. Diagnostics of Early Changes in the Immune System Due to Low Concentration of N-Nitrosamines in the Blood. *Bull Exp Biol Med.*, 2018, vol. 164, no. 3, P. 334–338. DOI: 10.1007/s10517-018-3984-2
10. Gerdes L., Busch U., Pecoraro S. GMOfinder – a GMO screening database. *Food Analytical Methods*, 2012, vol. 5, no. 6, pp. 1368–1376. DOI: 10.1007/s12161-012-9378-6
11. Morisset D., Novak P.K., Zupanič D., Gruden K., Lavrač N., Žel J. GMOseek: a user friendly tool for optimized GMO testing. *BMC Bioinformatics*, 2014, vol. 15, no. 1, pp. 258. DOI: 10.1186/1471-2105-15-258
12. Angers-Loustau A., Petrillo M., Bonfini L., Gatto F., Rosa S., Patak A., Kreysa J. JRC GMO-Matrix: a web application to support Genetically Modified Organisms detection strategies. *BMC Bioinformatics*, 2014, vol. 15, no. 1, pp. 417. DOI: 10.1186/s12859-014-0417-8
13. Alasaad N., Alzubi H., Kader A.A. Data in support of the detection of genetically modified organisms (GMOs) in food and feed samples. *Data Brief*, 2016, vol. 7, pp. 243–252. DOI: 10.1016/j.dib.2016.02.035
14. Debode F., Janssen E., Berben G. Development of 10 new screening PCR assays for GMO detection targeting promoters (pFMV, pNOS, pSSuAra, pTA29, pUbi, pRice actin) and terminators (t35S, tE9, tOCS, tg7). *Eur Food Res Technol.*, 2013, vol. 236, no. 4, pp. 659–669. DOI: 10.1007/s00217-013-1921-1
15. Debode F., Janssen E., Bragard C., Berben G. Detection by real-time PCR and pyrosequencing of the cry1Ab and cry1Ac genes introduced in genetically modified (GM) constructs. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2017, vol. 34, no. 8, pp. 1398–1409. DOI: 10.1080/19440049.2017.1317925
16. Dörries H.H., Remus I., Grönewald A., Grönewald C., Berghof-Jäger K. Development of a qualitative, multiplex real-time PCR kit for screening of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal Chem.*, 2010, vol. 396, no. 6, pp. 2043–2054. DOI: 10.1007/s00216-009-3149-2
17. Gu K., Mao H., Yin Z. Production of marker-free transgenic *Jatropha curcas* expressing hybrid *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin Cry1Ab/1Ac for resistance to larvae of tortrix moth (*Archips micaceanus*). *Biotechnol Biofuels*, 2014, vol. 7, pp. 68. DOI: 10.1186/1754-6834-7-68
18. Randhawa G.J., Singh M. Multiplex, construct-specific, and real-time PCR-based analytical methods for Bt rice with cry1Ac gene. *J. AOAC Int.*, 2012, vol. 95, no. 1, pp. 186–194.
19. Hernandez-Rodriguez C.S., Hernandez-Martinez P., Van Rie J., Escriche B., Ferre J. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 7, pp. e68164. DOI: 10.1371/journal.pone.0068164
20. Bahrtdt C., Krech A.B., Wurzl A., Wulff D. Validation of a newly developed hexaplex real-time PCR assay for screening for presence of GMOs in food, feed and seed. *Anal Bioanal Chem.*, 2010, vol. 396, no. 6, pp. 2103–2112. DOI: 10.1007/s00216-009-3380-x

Mukhammadiyah G.F., Karimov D.O., Dolgikh O.V., Krivtsov A.V., Mazunina A.A. Genetically modified food products: peculiarities of genetic identification. *Health Risk Analysis*, 2018, no. 4, pp. 75–80. DOI: 10.21668/health.risk/2018.4.08.eng

Получена: 19.09.2018

Принята:

Опубликована: 30.12.2018