

Институт генетики и цитологии Национальной  
академии наук Беларуси

# Молекулярная и прикладная генетика

Научные труды Том 4,

2006

Минск 2006

УДК 577.21 (082) ББК 28.04

я43

M75

**Редакционная коллегия:**

Главный редактор: **А.В. Кильчевский.**

Заместители главного редактора: **И.Д. Волотовский, Н.А. Картель.**

Ответственный секретарь: **В.А. Лемеш.**

Члены редколлегии: **А.С. Владыко, О.Г. Давыденко, А.Н. Евтушенко,**

**А.Г. Лобанок, В.Н. Решетников, С.А. Усанов, Л.В. Хотылева.**

**Молекулярная и прикладная генетика : науч. тр. Т. 4 / M75**  
ред.кол.: А.В. Кильчевский [и др.]. - Минск, 2006. - 68 с.

В сборник включены статьи, написанные по тематике докладов, представленных на Республиканском научно-практическом семинаре «Генетическая инженерия для сельского хозяйства», Минск, 22 марта 2006 г.

УДК 577.21 (082) ББК  
28.04 я43

Тексты публикуются в авторской версии без редакционных изменений Articles are publishing in author's version without editorial changes

## Оглавление/ Contents

### Оглавление / Contents

Гусаков В.Г. Новые возможности генетической инженерии по использованию в сельском хозяйстве .....	4
Картель Н.А. Генетически модифицированные растения.....	9
Урбанович О.Ю. Использование днк-маркеров в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных растений .....	19
Михайлова М.Е. Генетическое маркирование хозяйственно-полезных признаков сельскохозяйственных животных с помощью днк-технологий .....	32
Ермишин А.П. Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности в республике Беларусь .....	43
Правила для авторов .....	65

# НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

В.Г. Гусаков

Отделение аграрных наук

Национальная академия наук Беларуси

220072, Минск, пр. Независимости, 66,

E-mail: gro@presidium.bas-net.by

Генетическая инженерия, как известно, открывает принципиально новые возможности по использованию живых организмов в интересах человека. Начало работ по созданию трансгенных растений относится к 70-м годам истекшего века. Первое трансгенное растение - табак было получено в 1981 году, а первые коммерческие сорта этой культуры – в 1994–1996 гг. американской фирмой Монсанто. К настоящему времени мировой наукой и практикой уже получены важные результаты в области создания генетически модифицированных или так называемых трансгенных организмов – растений, животных, микроорганизмов. Например, перечень допущенных к использованию в хозяйственной деятельности трансгенных сортов сельскохозяйственных культур уже более 50, и среди них преобладают сорта кукурузы, сои, рапса, хлопчатника, томатов. Из зерновых культур трансгенные сорта пока созданы по рису и пшенице.

Достижения генетической инженерии, применение ДНК-технологий в настоящее время уже

становятся объектом широкого практического использования. Так, посевные площади под трансгенными культурами в мире стремительно расширяются. В 2005 году они перешагнули рубеж 90 млн. га. К 2010 году прогнозируется увеличение посевов трансгенных (биотехнологических) культур до 150 млн. примерно в 30 странах. Рыночная стоимость растениеводческой продукции на основе ДНК технологий к 2010 году будет оцениваться в размере 30–40 млрд. долл. США.

В большинстве стран генетическая инженерия стала рассматриваться как одно из наиболее перспективных направлений в науке, призванное в значительной степени решить традиционные проблемы сельского хозяйства, медицины, экологии, национальной безопасности. Освоение наукоемких ДНК-биотехнологий открывает новые возможности для решения проблем борьбы с голодом и болезнями, улучшения экологического состояния хозяйственных территорий, и не только за счет существенного повышения

урожайности новых сортов, а в силу улучшения качества и безопасности продуктов питания, разработки и внедрения новых экологически безвредных ресурсосберегающих методов организации производства.

В то же время, в связи с бесспорной новизной этого направления, сравнительно небольшими сроками практического использования достижений современной биотехнологии, имеет место (и это вполне объяснимо) элемент научной неопределенности относительно возможных неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности для окружающей среды, то есть сохранения биологического разнообразия, а также, в некоторой степени, для здоровья человека. Поэтому, во избежание некоторых негативных явлений необходимы действенные меры регулирования генно-инженерной деятельности на государственном и межгосударственном уровне, а также комплексная оценка генно-инженерных организмов, высвобождаемых в окружающую среду на их безопасность.

Среди потенциальных рисков для здоровья человека, связанных с использованием генно-инженерных организмов, рассматриваются в основном такие, как синтез новых для реципиентного организма белков-продуктов трансгенов, которые могут быть токсичными и/или аллергенными; изменение активности отдельных генов живых организмов под влиянием вставки

чужеродной ДНК, в результате которого может произойти ухудшение потребительских свойств продуктов питания, получаемых из этих организмов; горизонтальная передача трансгенов другим организмам, в частности, маркерных генов устойчивости к антибиотикам от генетически модифицированных организмов (ГМО) к микроорганизмам, которые находятся в пищеварительной системе человека.

В качестве потенциальных неблагоприятных последствий высвобождения генно-инженерных организмов в окружающую среду часто рассматривают изменение естественных биоценозов в результате переноса трансгенов диким видам, появление новых, более агрессивных патогенов, сорняков, поражение организмов, не являющихся мишенями трансгенных признаков и др.

Хотя до настоящего времени документально не зарегистрировано ни одного случая неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности для здоровья человека и окружающей среды, эта деятельность, в соответствии с принятым в международной практике принципом предосторожности, все более целенаправленно регулируется на государственном и межгосударственном уровне. В большинстве развитых стран функционирует специальное законодательство, касающееся биобезопасности, а также созданы

соответствующие органы, которые контролируют его соблюдение. Например, вопросы трансграничного перемещения ГМО регулирует Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии, который вступил в силу 11 сентября 2003 года. Его участниками в настоящее время является 119 государств.

Присоединение Республики Беларусь к Картахенскому протоколу и принятие Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» (он принят 9 января 2006 года) являются весьма важными мерами по его регулированию в республике. С одной стороны, они стали основой для создания в стране национальной системы безопасности генно-инженерной деятельности, отвечающей международным стандартам. С другой – открыли перспективы для развития генетической инженерии и практической реализации установок на повышение эффективности селекционного процесса в растениеводстве и животноводстве, которые определены в приоритетах развития аграрного производства на 2006–2010 годы.

В Беларуси, в силу известных причин, использование ДНК-технологий пока не получило достаточного развития. Но учитывая особую значимость этого направления, принята и успешно выполняется Государственная программа «Разработка и

использование генно-инженерных биотехнологий в интересах сельского хозяйства и медицины» («Генетическая инженерия») на 2002-2006 гг. Цель программы – обеспечение ускоренного развития и использования в стране молекулярно-генетических исследований и современных генно-инженерных биотехнологий при решении задач обеспечения продовольственной и экологической безопасности, а также развития экспортного потенциала страны. Исполнителями программы стали научные учреждения – из числа отделений биологических и аграрных наук НАН Беларуси, Министерства здравоохранения, Белгосуниверситета, Минского медицинского университета.

В ходе реализации программы уже создан значительный методический материал, необходимый для ускоренного развития и внедрения в практику достижений современной биотехнологии. Активно ведутся исследования по выведению трансгенных растений картофеля, устойчивых к некоторым вирусам и грибным болезням, а также растений зерновых культур, толерантных к гербицидам. Разрабатываются эффективные методики регенерации *in vitro* и создания трансгенных растений голубики высокой и клюквы крупноплодной с улучшенными вкусовыми качествами, трансгенных растений березы, способных расти на

загрязненных тяжелыми металлами почвах.

Так, в Институте картофелеводства НАН Беларуси совместно с Центром генетической инженерии Российской Академии Наук (РАН) получены трансгенные линии картофеля, иммунные к наиболее опасным вирусам. Данные линии готовы для использования в селекции вирусостойчивых сортов картофеля.

В Институте генетики и цитологии НАН Беларуси созданы трансгенные линии картофеля с геном хитиназы. Начаты работы по их оценке на устойчивость к грибным болезням. Проведены первые успешные опыты по трансформации ячменя с использованием баллистического метода и получены трансгенные линии, устойчивые к некоторым гербицидам. Созданы векторные конструкции с бактериальными генами, синтезирующими рамнолипиды. Полученные трансгенные растения табака и арабидопсиса с данными генами характеризуются высокой устойчивостью к тяжелым металлам и способны нейтрализовать нефтепродукты.

В совместных исследованиях Института генетики и цитологии НАН Беларуси и Института общей генетики РАН проводятся работы по созданию трансгенных растений картофеля, устойчивых к колорадскому жуку.

В этом Институте разработан метод ДНК-паспортизации сортов сельскохозяйственных культур,

позволяющий с высокой точностью идентифицировать сорта и определять их чистоту. Разработаны молекулярные маркеры генов, ответственных за отдельные хозяйственно-ценные признаки (устойчивость к болезням, качество муки, короткостебельность), применение которых позволяет проводить селекцию по этим признакам в лабораторных условиях.

В Белгосуниверситете на биологическом факультете ведутся работы по клонированию бактериальных генов, которые предполагается использовать для создания трансгенных растений, устойчивых к ряду болезней.

Принята государственная программа «ДНК-технологии в интересах промышленности, сельского хозяйства, медицины и охраны окружающей среды», основная задача которой состоит в максимально эффективном использовании новых методов и технологий в названных областях народно-хозяйственного комплекса страны.

Важнейшие достижения в генетической инженерии в сельском хозяйстве и направления развития генетики в Беларуси должны быть согласованы с теми разработками, которые можно использовать уже в ближайшее время, прежде всего, в целях повышения эффективности селекции растений и животных. Во-первых, это собственно создание генетически модифицированных организмов – принципы и методы конструирования новых

сельскохозяйственных растений. Во-вторых, – использование ДНК-маркеров для существенного ускорения традиционных методов селекции растений и животных. Следует отметить, что в большинстве стран Запада ДНК-маркирование сортов и пород стало уже рутинным методом, позволяющим не только ускорить селекционный процесс, но и защитить авторские права разработчиков от возможного

противоправного использования так называемых методов «карманной селекции».

Взаимодействие ученых биологических и аграрных отделений по использованию ДНК-технологий в сельском хозяйстве позволяет повысить эффективность селекции растений и животных, создать новые организмы и на их основе создавать биотехнологии для сельского хозяйства.

# ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТЕНИЯ, ПРИНЦИПЫ ИХ СОЗДАНИЯ

Н.А. Картель

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

220072, Минск, ул. Академическая, 27,

E-mail: n.kartel@igc.bas-net.by

## Мировые тенденции в развитии генно-инженерных биотехнологий

По-видимому, ни одна из наук не вызвала такой огромный научный и общественный резонанс в мире как генетическая инженерия, заявившая о себе и бурно развивающаяся в последние 20-30 лет. И это вполне естественно, поскольку методология генетической инженерии таит в себе огромные возможности для целенаправленного преобразования живых существ, создания различных новых биотехнологий, которые позволяют выходить на совершенно новый уровень развития многих отраслей хозяйственной деятельности человека. Появились новые возможности в производстве лекарственных веществ, в методах диагностики и лечения болезней, селекции сельскохозяйственных культур, охране окружающей среды.

Что касается биологии, то здесь наиболее продуктивными направлениями использования методологии генетической инженерии в настоящее время является:

- использование ДНК технологий в изучении геномов организмов, в маркировании отдельных генов растений, животных и человека;

- создание и использование генетически модифицированных организмов.

Если говорить о генетически модифицированных растениях, то здесь уже имеется значительный мировой опыт по созданию трансгенных растений, устойчивых к гербицидам, некоторым грибным и вирусным болезням, насекомым-вредителям, абиотическим факторам среды. Все шире используются растения в качестве биореакторов, т.е. «аппаратов», способных продуцировать для промышленных целей различные ценные вещества. Например, созданы трансгенные растения рапса с повышенной продукцией лауриловой жирной кислоты, которая используется для производства моющих средств, шампуней, косметических препаратов [1,2]. Созданы растения табака и других культур, продуцирующие моноклональные антитела, вакцины, белки человека (лактоферин, интерферон и др.), сорт риса, так называемый «золотой» рис, синтезирующий  $\beta$ -каротин или провитамин А [3,4].

Согласно публикациям в Европейском союзе готовится проект, по которому будет финансироваться производство фармацевтических веществ растениями табака и кукурузы

против СПИДа, диабета, туберкулёза, антител к туберкулёзу. Стоимость проекта - 12 млн. евро.

С каждым годом все более широко используются для выращивания на больших площадях в качестве продуктов питания и для промышленных целей созданные трансгенные сорта кукурузы, сои, хлопчатника, рапса и других сельскохозяйственных культур.

Так, если в 1997 году площадь посевов под трансгенными сортами в мире была 11 млн. га, то уже в 2003 году она составила 67,7 млн. га, а в 2004 году – 81 млн. га, что

составило 5% общемировых посевов сельскохозяйственных культур. В 2005 году площадь посевов продолжала расти и составила уже 90 млн. га (рис. 1).

Предполагается, что в 2006 году эта площадь увеличится до 140 млн. га за счет планируемых посевов трансгенного (Bt) риса в Китае [5].

Наибольшие площади, занятые посевами трансгенных культур, находятся в США (49,8 млн. га), Аргентине (17,1 млн. га), Канаде (5,8 млн. га), Бразилии (9,4 млн. га) и Китае (3,3 млн. га).

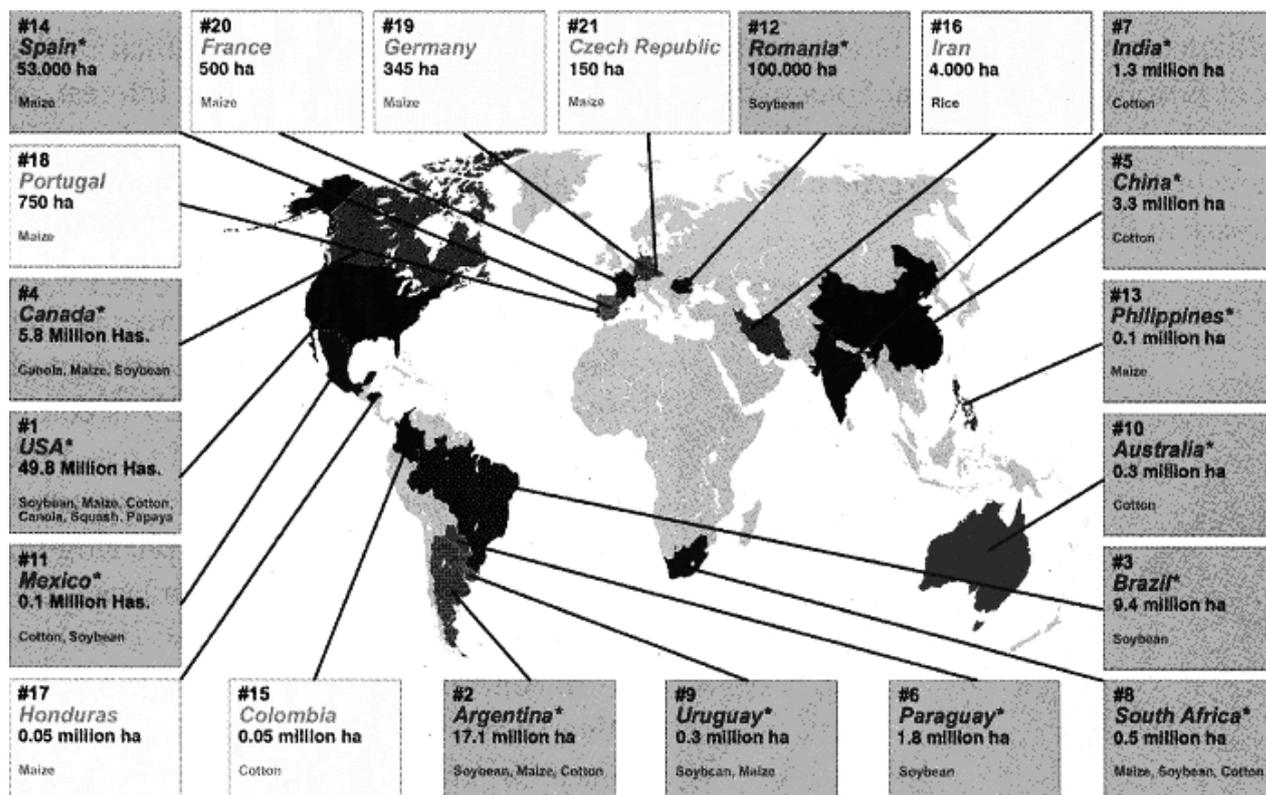


Рисунок 1 – Площади, занимаемые посевами трансгенных растений в мире

В 2005 году трансгенные культуры высевались в 21 стране. Наибольший удельный вес в посевах занимает соя – 55%, хлопчатник – 21%, рапс – 16% и кукуруза – 11%. В Европе трансгенные сорта высеваются лишь в нескольких

странах (Испания, Португалия, Румыния, Франция, Германия) и на незначительных площадях.

Однако следует отметить, что в ЕС последнее время наблюдается определенный сдвиг в сторону генетически модифицированных

организмов (ГМО), выращивания и использования генетически модифицированных растений. Так, отменен мораторий 1998 года на ввоз в страны ЕС некоторых сортов кукурузы для использования в качестве продуктов питания и скармливания скоту. Еврокомиссия одобрила для выращивания в 25 странах ЕС 17 сортов кукурузы, устойчивых к насекомым-вредителям [5].

В Швеции начинаются полевые испытания ГМ картофеля, устойчивого к грибу *Phytophthora infestans*, в Чехии Институт экспериментальной ботаники ЧАН объявил о планируемом высвобождении в окружающую среду (полевых испытаниях) ГМ картофеля с повышенным содержанием сахара в клубнях [5].

Таким образом, несмотря на многие проблемы, связанные с использованием ГМО, создаются новые ГМ сорта сельскохозяйственных культур, площади посевов их расширяются, и, несомненно, за ними будущее. Вместе с тем, следует подчеркнуть, что создание ГМ организмов, в т.ч. и сортов растений, довольно сложный, трудоемкий и дорогостоящий процесс.

В этой связи мне хотелось бы в данной статье ознакомить читателей с ГМ растениями, остановиться на тех проблемах, которые возникают при их создании.

### **Методология создания ГМ растений**

Процесс создания ГМ или трансгенных растений включает несколько основных этапов:

- поиск, идентификация, клонирование целевых генов;
- создание специальных векторных конструкций для переноса целевых генов в растение-реципиент;
- генетическую трансформацию, включающую:

а) культивирование клеток или тканей и регенерацию растений *in vitro*,

б) перенос векторной конструкции с целевым геном в клетки трансформируемого растения (эксплант),

в) молекулярно-генетический анализ регенерировавших на селективной среде растений,

г) получение стабильных трансформантов, экспрессирующих целевой ген,

д) биотестирование – продукция целевого белка, признака, свойства.

Каждый из указанных этапов, как правило, требует значительных предварительных исследований. Несомненно, ключевым моментом при создании ГМ растений является выбор целевого гена и его наличие. Существует несколько подходов к получению целевых генов: проведение специальных экспериментов, использование банков генов, получение кДНК на основе иРНК, получение генов из других лабораторий и др.

В настоящее время выделено и используется в экспериментах, а также в коммерческих сортах значительное количество ценных

генов, выделенных из бактерий и высших организмов – растений и животных.

Однако сложность в их практическом использовании другими исследователями связана с тем, что практически все гены и конструкции векторов с ними запатентованы.

Важным, можно сказать ключевым, в технологии получения ГМО является создание или

конструирование специальных молекулярных структур, так называемых векторов для переноса целевых генов в клетки реципиентного организма.

Существуют векторы различного происхождения и назначения. Для трансформации растений широкое распространение получили векторы на основе Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*.

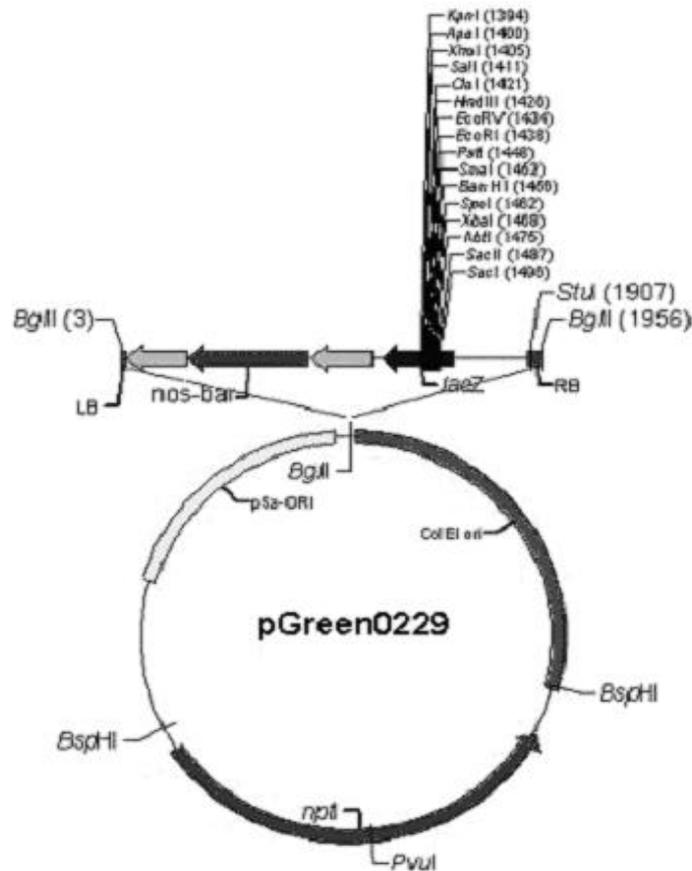


Рисунок 2 - Схема плазмиды pGreen0229.

Типичная плаزمид-вектор (рис. 2) включает в себя ген устойчивости к антибиотику (например, канамицину) для отбора самого вектора, небольшие фрагменты ДНК от Ti-плазмиды – левую и правую пограничные области, которые очень важны для встраивания трансгена в геном

реципиента. Имеется также так называемый полилинкер – несколько уникальных сайтов рестрикции - в который встраивается трансген и его регуляторные элементы, и ori ген, необходимый для репликации вектора.

В такой вектор по одному из сайтов рестрикции встраивается

целевой ген, селективный ген и такие последовательности ДНК, как промоторы, терминаторы, лидерная

последовательность, энхансер (рис. 3).

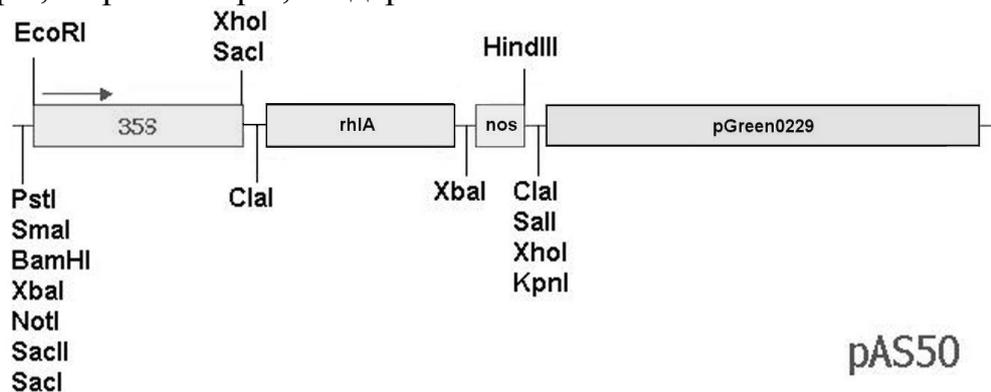


Рисунок 3 - Схема плазмиды pAS50: 35S – промотор вируса мозаики цветной капусты, rhIA – ген биосинтеза рамнолипидов; nos – терминатор нопалин-синтетазы.

Промотор - это последовательность ДНК, которая находится перед геном и обеспечивает его транскрипцию [6]. Промоторы бывают конститутивного действия, индуцибельные и тканеспецифичные.

В генетической инженерии растений наиболее широко применяется конститутивный промотор 35S *CaMV* (VI гена мозаики цветной капусты). От правильно выбранного промотора зависит в последующем экспрессия гена. Поэтому исследователи всегда стремятся выбрать наиболее «сильный» промотор.

Трансформационное событие, т.е. встройка трансгена в геном реципиента довольно редкое событие. Поэтому для отбора клеток или тканей, в которых произошла трансформация, в вектор вводят еще один ген под своим промотором и терминатором, который позволяет на селективной среде отбирать трансформанты. Это значительно сокращает объем работы и повышает

эффективность отбора предположительных трансформантов.

Наибольшее распространение получил маркер *npt II* гена, который проявляет резистентность к антибиотику канамицину. В качестве селективного маркера могут также использоваться гены устойчивости к гербицидам, например, ген *bar*, обеспечивающий устойчивость к фосфинотрицину – действующему началу гербицида Баста.

Часто используют также так называемые репортерные гены. Такие гены позволяют наблюдать визуально, идет экспрессия трансгена в растении или нет. Например, ген  $\beta$ -глюкоуронидазы (GUS), или ген флуоресцирующего белка (GFP) и др.

Чтобы ген правильно трансформировался, в конце рамки считывания обязательно должна быть вставлена последовательность ДНК, называемая терминатором, которая содержит стоп-кодон.

Важное значение для экспрессии трансгена имеет

присоединяемая к нему лидерная последовательность, которая обеспечивает доставку синтезированного белка в нужное место в клетке.

### Собственно трансформация

Создав, таким образом, векторную конструкцию (или приобретя ее из другой лаборатории), можно приступать к подбору соответствующего реципиента (линии, сорта той или иной

культуры), в который предполагается интегрировать целевой ген.

Эта стадия работы также требует, как правило, специальных исследований – изучить какие органы растения проявляют наиболее высокую регенерационную способность в культуре *in vitro* и могут быть использованы в качестве эксплантов, подобрать соответствующие культуральные среды.

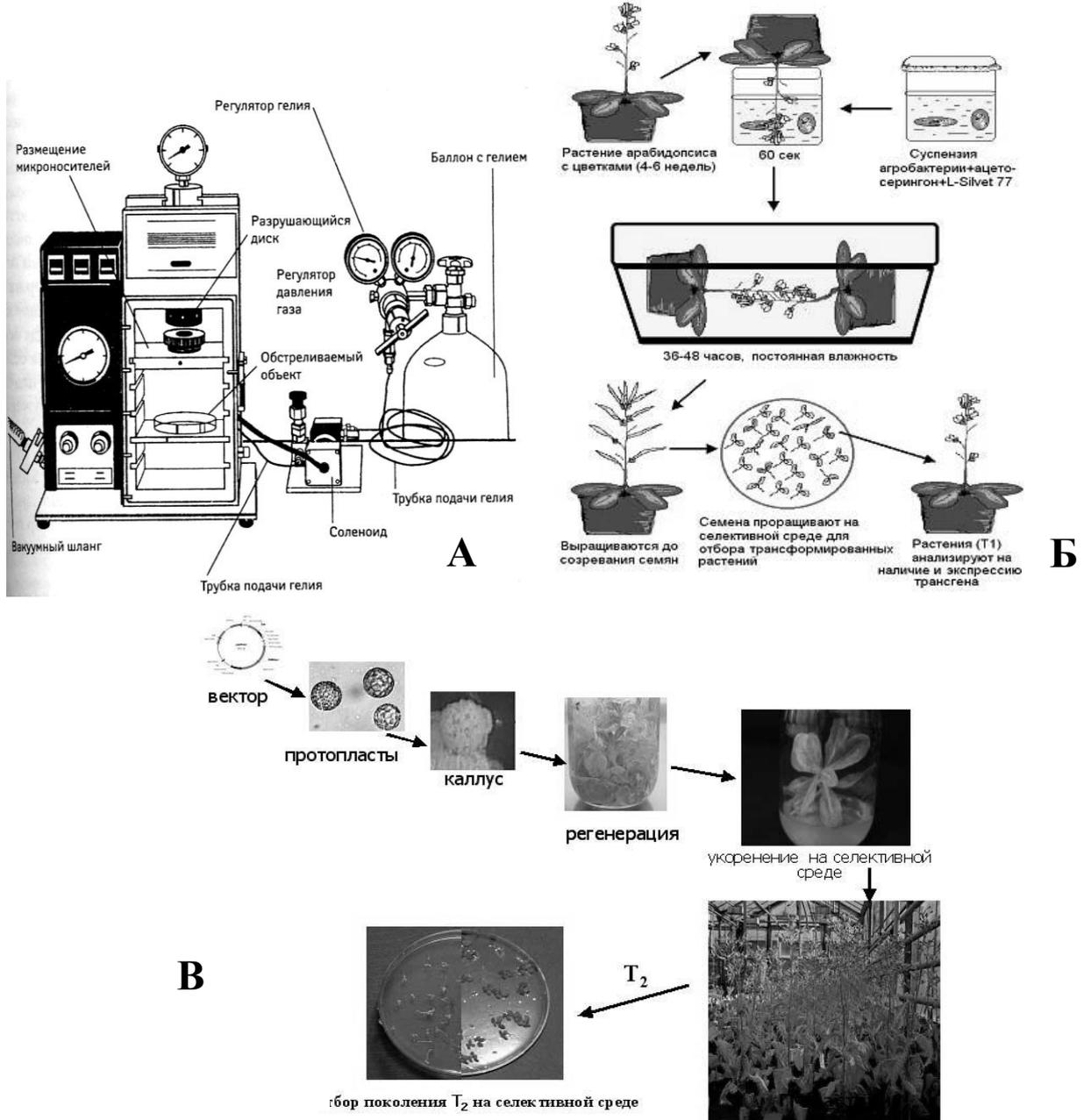


Рисунок 4 - Методы трансформации: А – биобаллистический метод, Б – трансформация *in planta*, В - прямой перенос векторной ДНК в протопласты растительных клеток (кокультурация).

В качестве эксплантов в зависимости от вида растений могут использоваться незрелые зародыши (зерновые культуры), листовые диски (картофель), гипокотили (рапс) и др.

Существует значительное количество методов переноса трансгена в реципиентное растение. Однако наибольшее распространение в настоящее время получили:

- агробактериальная трансформация с помощью бинарного вектора на основе *Agrobacterium tumefaciens* (кокультивация эксплантов);

- обстрел микрочастицами из золота или вольфрама, на которые нанесена ДНК. Обстрел эксплантов осуществляется с помощью специальной пушки (рис. 4А). Метод применим для широкого спектра растений;

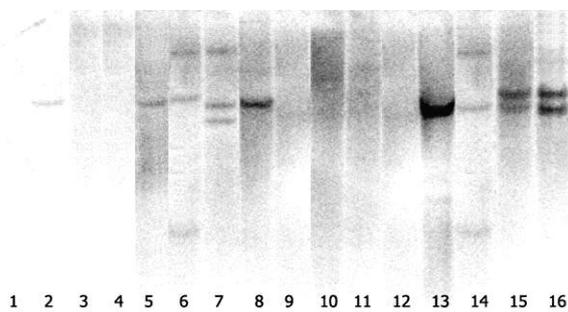
- прямой перенос векторной ДНК в протопласты растительных клеток (кокультивация). Метод очень эффективен для растений, способных успешно регенерировать

из протопластов целые растения (рис. 4В);

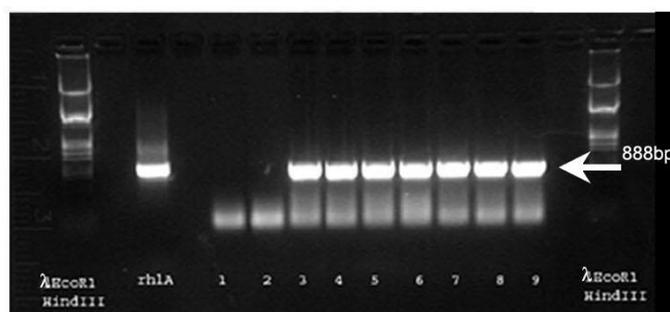
- трансформация *in planta* (рис. 4Б). Метод широко применяется для культур, дающих большие соцветия и множество семян (например, арабидопсис).

После переноса тем или иным способом целевого гена в реципиент экспланты выращиваются на специальных средах с соответствующим селективным агентом.

На таких средах должны успешно регенерировать те экспланты, в геном которых встроился и начал экспрессироваться селективный ген. Как правило, это указывает на интеграцию и экспрессию также и целевого гена. Однако это не всегда бывает так. Поэтому в обязательном порядке полученные предположительно трансгенные растения должны быть подвергнуты детальному молекулярно-генетическому анализу. Для этого используют такие методы как ПЦР-анализ, ОТ-ПЦР-анализ, Саузерн гибридизация и др. (рис. 5).



**А**



**Б**

Рисунок 5 – Молекулярно-генетический анализ трансгенных растений табака с введенным геном биосинтеза рамнолипидов. А – Саузерн гибридизация, Б – ОТ-ПЦР-анализ.

Если получено подтверждение об истинности трансформантов,

приступают к изучению эффективности экспрессии целевого

гена и, в последующем, к биотестированию.

Проблема экспрессии гетерологичного гена в новом хозяине (реципиенте) является наиболее сложной при создании ГМ организмов.

Как известно, у эукариот экспрессия генов контролируется и регулируется на разных этапах и уровнях организации генома [3]:

- хроматина – конформационное состояние (доступность ДНК для РНК-полимеразы, метилирование);
- транскрипции генов (промоторы конститутивные или индуцибельные, наличие энхансеров, терминаторы);
- РНК модификаций (альтернативный сплайсинг, транспорт, интроны и др.);
- трансляции (наличие 5' кэпов и 3' поли(А)хвостов в РНК и других сигналов);
- посттрансляционные модификации (сигнальные пептиды, фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование);
- обновление белков.

В регуляции экспрессии важную роль играют также фитогормоны и внешние факторы.

Таким образом, экспрессия конкретного гена может контролироваться на многих стадиях

клеточного цикла, прежде чем будет синтезирован целевой белок и сформирован тот или иной признак или свойство.

В случае создания ГМ растений проблема экспрессии гетерологичного гена еще более усложняется. Как правило, для гетерологичных генов микробного или животного происхождения в геноме растения-хозяина наблюдаются различия в нуклеотидном составе ДНК, отсутствуют многие регуляторные элементы.

Чтобы чужеродный ген эффективно и стабильно экспрессировался в геноме реципиентного растения, его транскрипт должен правильно процессироваться и транслироваться в белок, который, в свою очередь, должен соответствующим образом модифицироваться и быть доставлен в соответствующий компартмент клетки. Для этого и требуется конструирование специальных экспрессионных векторов с включением в них регуляторных элементов, промоторов, лидерных последовательностей и других элементов, о чем говорилось выше.

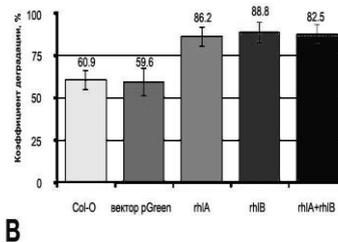
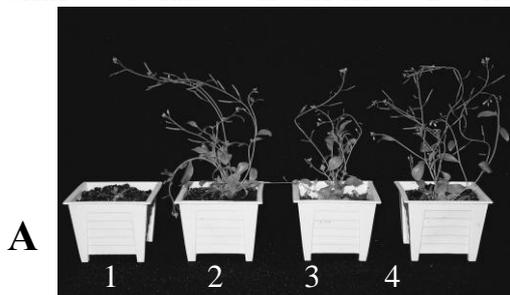
Для адаптации векторных систем к геному реципиентного организма с помощью компьютерных программ проводят дизайн систем экспрессии гетерологичных генов. Путем сравнения нативной и гетерологичной ДНК добиваются оптимизации ряда параметров: нуклеотидного состава в трансгене (при необходимости определенные последовательности

модифицируются), введение нужных лидерных последовательностей, промоторов, сайтов полиаденилирования и др [7].

Наряду с экспрессией гетерологичного гена для синтеза целевого продукта часто очень важно также наличие в клетке

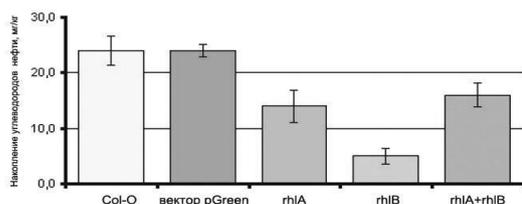
соответствующих метаболитов-предшественников, субстратов.

Как видим, получение генетически модифицированных растений с хозяйственно ценными генами довольно сложный и наукоемкий процесс.

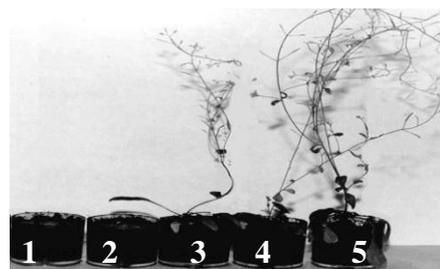


А - растения на почве, загрязненной 2,4% нефти: 1 - контрольное, 2-с rhIA геном, 3-с rhIB геном, 4-с rhIA+rhIB генами.

В - оценка деградации 2,4% нефти арабидопсисом в почве за 45 дней



Накопление углеводородов нефти в тканях арабидопсиса на почве, загрязненной 2.4% сырой нефти



Растения арабидопсиса в почве (1800 мг Cu на 1 кг сухой почвы). 1 - контроль; 2 - растение с вектором pGreen0229; 3 - с геном rhIA, 4 - с геном rhIB, 5 - с генами rhIA+rhIB.

Рисунок 6. Тестирование трансгенных растений арабидопсиса с генами биосинтеза рамнолипидов

В настоящее время в рамках ГП «Генетическая инженерия» мы ведем работу по созданию генетически модифицированных растений таких культур как картофель, ячмень, рапс, табак. Так, получены ГМ растения табака и арабидопсиса (рис. 6) с генами рамнолипидов (*rhIA+rhIB*),

толерантные к некоторым тяжелым металлам и способные к деградации нефтепродуктов [8], растения картофеля с геном хитиназы (*chiA*), которые в лабораторных тестах показали высокую устойчивость к таким грибным патогенам как *Alternaria* и *Fusarium* (рис. 7).



Поражение листьев картофеля патогеном *Alternaria solani*.  
А – контроль, В – трансгенный генотип.

Ингибирование роста патогена *Fusarium oxysporum* экстрактом трансгенного картофеля (В). А – контроль.

Рисунок 7 - Биотестирование трансгенных растений картофеля, экспрессирующих бактериальный ген хитиназы (*chiA*) на устойчивость к грибным фитопатогенам.

Эти исследования будут продолжены и расширены в рамках ГПОФИ «Селекция, семеноводство и генетика» (2006-2010гг), а также в формирующейся новой ГП «Биотехнология» (2007-2011гг).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. D.J. Murphy. Engineering oil production in rapeseed and other oil crops. *Trend Biotechnol.* 1996. 14. P. 206-213.
2. Кучук Н.В. Генетическая инженерия высших растений. Киев, Наукова думка, 1997. С.152.
3. Картель Н.А., Кильческий А.В. Биотехнология в растениеводстве. Мн., Технология, 2005г. С. 309.
4. A. Slater, N.W. Scott, V.R. Fowler. *Plant Biotechnology. The Genetic Manipulation of Plants.* Oxford University Press. 2004. P. 346.
5. Expansion of agri-biotech slows down. *J. European Biotechnology News.* 2006. N1-2, V5. P.6.
6. Картель Н.А., Макеева Е.Н., Мезенко А.М. Генетика: энциклопедический словарь. Мн., Технология, 1999, С. 290.
7. Сотченков Д.В., Голденкова И.В., Мирахоли А., Волкова Л.В. Модификации последовательности гена дефензина SD2 из подсолнечника и его экспрессия в бактериальных и дрожжевых клетках. *Генетика.* 2005. Т. 41, № 11. С. 1453-1461.
8. G.G. Brychkova, A.P.Sorokin, N.A. Kartel. *Bioremediation with Ecologically Safe Plants. Genomics for Biosafety in Plant Biotechnology.* JOS Press. 2004. P. 147-158.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

О.Ю. Урбанович

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

220072, Минск, Академическая, 27,

E-mail: O.Urbnovich@igc.bas-net.by

Технология молекулярных маркеров получила широкое распространение за относительно небольшое время. В ее основе лежит мощная методическая база и обширные теоретические знания в области организации и функционирования геномов живых организмов. Она направлена на решения широкого круга как теоретических, так практических задач, среди которых идентификация генотипов растений на молекулярном уровне, построение генетических карт, установление мест локализации отдельных последовательностей и генов на хромосомах, выявление и клонирование нужных фрагментов генома, в том числе содержащих хозяйственно ценные гены и др. В настоящее время многие достижения в исследовании генома растений получены с использованием тех или иных молекулярных маркеров.

Молекулярные маркеры разделяют на несколько типов,

среди которых наиболее известными являются:

Restriction fragment length polymorphism – RFLP

Random amplified polymorphic DNA – RAPD

Amplified fragment length polymorphism - AFLP

Sequence characterized amplified region – SCAR

Simple sequence repeat - SSR

RFLP маркеры были созданы одними из первых. Это эффективные маркеры, применимые к любым объектам. Однако они предполагают использование радиоактивной метки и требуют большего времени для получения результатов. Постепенно им на смену пришли маркеры, выявляемые в результате полимеразной цепной реакции (ПЦР). Они могут ограничивать как случайные последовательности генома (RAPD и AFLP маркеры), так и последовательности с известными местами локализации на хромосомах и структурой (SSR и SCAR).

Молекулярные маркеры должны обладать свойством отличать один биологический объект от другого, т.е. быть полиморфными. Уровень полиморфизма молекулярных маркеров зависит от того, какие последовательности генома они ограничивают. Наиболее полиморфными являются AFLP маркеры, позволяющие выявить до ста и выше фрагментов в результате одной реакции. Высоким уровнем полиморфизма характеризуются SSR маркеры. В зависимости от целей, которых необходимо достигнуть, можно выбрать разные типы молекулярных маркеров или их комбинацию.

Для паспортизации сортов сельскохозяйственных растений наиболее удобными являются SSR-маркеры. Они ограничивают так называемые простые или микросателлитные

повторы генома, в которых размер повторяющейся единицы составляет от 1 до 10 пар нуклеотидов (рис. 1). Простые повторы расположены по всей длине хромосом растений и быстро изменяются в процессе эволюции. Метод основан на определении длины повторяющейся последовательности, т.е. длины аллелей, в конкретном участке хромосомы. Экспериментальные данные показали, что сорта сельскохозяйственных растений отличаются друг от друга по длине аллелей в отдельных локусах. Определив длины аллелей в конкретных локусах, можно идентифицировать сорта на молекулярном уровне, представив его в виде уникальной комбинации аллелей.

ATCTTCGAAGTC....(AC)<sub>6</sub>.....TGCAATGGCTA генотип 1  
 ATCTTCGAAGTC....(AC)<sub>7</sub>.....TGCAATGGCTA генотип 2  
 ATCTTCGAAGTC....(AC)<sub>9</sub>.....TGCAATGGCTA генотип 3

Рис. 1. Схема структуры микросателлитного повтора.

SSR-маркеры созданы для многих сельскохозяйственных культур. Так, например, на объединенной карте пшеницы (*Triticum aestivum* L.) представлено 1235 микросателлитных локуса, покрывающих 2 569 сМ, со средней дистанцией между

маркерами 2.2 сМ [1]. Более тысячи SSR-маркеров создано для зерновых культур, томатов, картофеля, перца и др.

SSR-маркеры были использованы нами для идентификации генотипов картофеля. Для проведения SSR-анализа отобраны

праймеры, ограничивающие высокополиморфные ди-, три -, тетрануклеотидные повторы [2, 3]. Выбраны локусы с высоким уровнем полиморфизма, большим разнообразием длины

аллелей. Работа проводилась на коллекции, представленной 37 сортами селекции Нидерландов, Германии, России и других стран и включала сорта белорусской селекции.

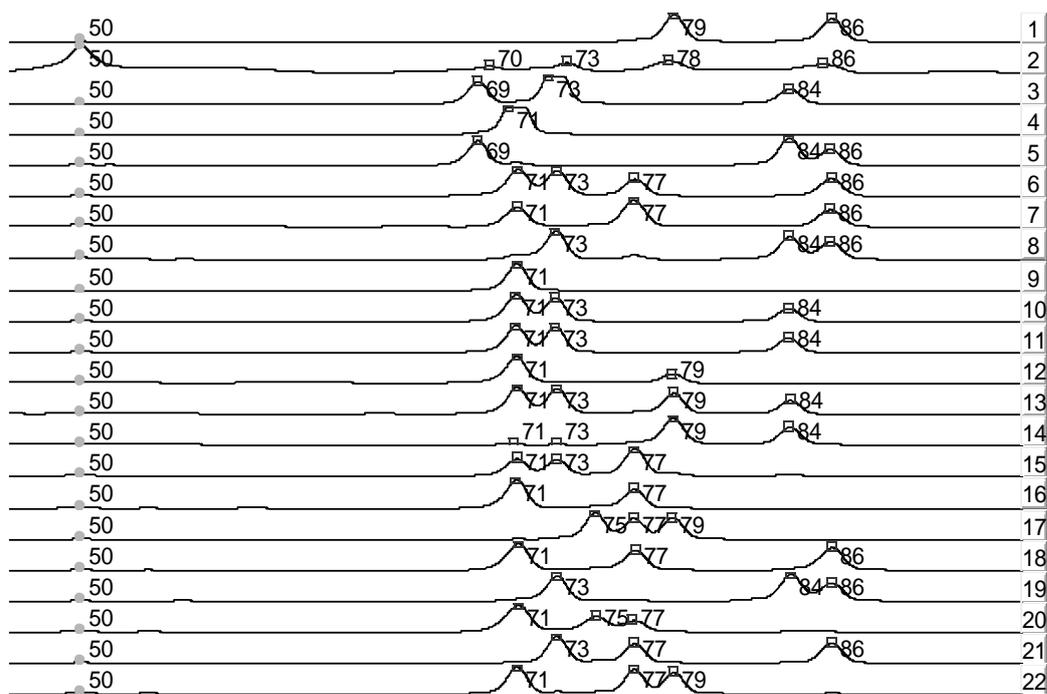


Рис. 2. Результаты разделения в акриламидном геле продуктов амплификации ДНК сортов картофеля с праймером STM0037 (хромосом XI). Цифрой 50 обозначена длина маркера мол. веса в п.н. Цифры на рисунке соответствуют длине аллелей в п.н. Справа обозначены номера сортов. Нумерация соответствует нумерации в таблице.

Из листового материала выделяли ДНК, проводили реакцию амплификации с соответствующими праймерами и разделяли продукты амплификации высокоточным методом электрофореза в акриламидном геле (Рис.2). Таким методом были определены длины аллелей в

14 локусах микросателлитных последовательностей, расположенных на различных хромосомах картофеля.

На основании полученных результатов составлены паспорта сортов, в которых генотип отдельного сорта представлен в виде комбинации аллелей. Фрагмент паспорта

представлен в таблице 1. Как документируются.  
видно из таблицы, данные легко

Таблица 1. Фрагмент паспорта сортов картофеля.

	Сорт	Происхождение	Хромосома I STM1049	Хромосома II STM2022	Хромосома III STM1053	Хромосома IV STM3023	Хромосома V STPoAc58
1	Аксамит	bys	190	175, 190	171	177, 187, 198	229, 237
2	Альпинист	bys	190	190	171	198	229, 244
3	Арника	bys	180, 190	190	168, 171	177, 179, 198	229
4	Блакит	bys	180, 190	190	171	198	229
5	Верас	bys	190	175, 190, 232	171	177, 179	229
6	Выток	bys	190	175, 190	168, 171	177	229
7	Добро	bys	190	190	168, 171	177, 179, 198	229
8	Дубрава	bys	190	175, 190	171	187, 198	229
9	Журавинка	bys	190	190	168, 171	177, 179	229, 244
10	Каприз	bys	190	190	171	177	229
11	Колорит	bys	180, 190	190	171	177	229
12	Лазурит	bys	180, 190	190	171	198	229, 244
13	Ласунак	bys	190	190	168, 171	177	229
14	Лошицкий	bys	190	190	171	198	229
15	Луговской	bys	190	190	168, 171	177, 179	229
16	Нептун	bys	180, 190	190	168, 171	177, 179, 198	229
17	Орбита	bys	190	175, 190	171	177, 198	229, 244
18	Пригожий	bys	180, 190	175, 190	168, 171	177	229, 244
19	Промень	bys	190	175, 190	171	187, 198, 200	229
20	Ореса	bys	180, 190	175, 190	171	177, 190	229, 237
21	Сузорье	bys	190	190	171	177, 198	229
22	Невский	rus	190	190	171	177, 198	229
23	Резерв	rus	190	175, 190, 232	171	177, 179, 198, 200	229, 244
24	Adora	nld	180, 190	190	171	177, 179, 181	229, 244
25	Anosta	nld	180, 190	175, 190	168, 171	177, 179, 198, 200	229
26	Aula	deu	180, 190	175, 190	171	177, 198	229
27	Binella	nld	180, 190	190	171	177, 198	229
28	Fresco	nld	180, 190, 202	190	171	177, 179	229, 244
29	Impala	nld	180	190	171	177, 179, 198	229
30	Lemhe Russet	usa	190	175, 190	168, 171	177	229
31	Liu	deu	190	190	171	198	229, 244
32	Nadejda	bgr	180, 190	175, 190	168, 171	177	229, 244
33	Planta	deu	180	175, 190, 232	171	177	229, 244
34	Russet Burbank	usa	180	175, 190	168, 171	177, 179	229, 244
35	Sussy	nld	180, 190	175, 190	171	198	229
36	Svatava	czn	190	175, 190	171	179, 198	229
37	Umatilla Russet	Itl	180, 190	175, 190	168	177, 179, 198	229, 244

По такому паспорту можно:

- Определить уникальность сорта
- Оценить степень родства данного сорта с известными сортами из базы данных

• Выявить аллели, сцепленные с хозяйственно важными признаками

- Провести анализ однородности сорта
- Определить соответствие образца известному стандарту

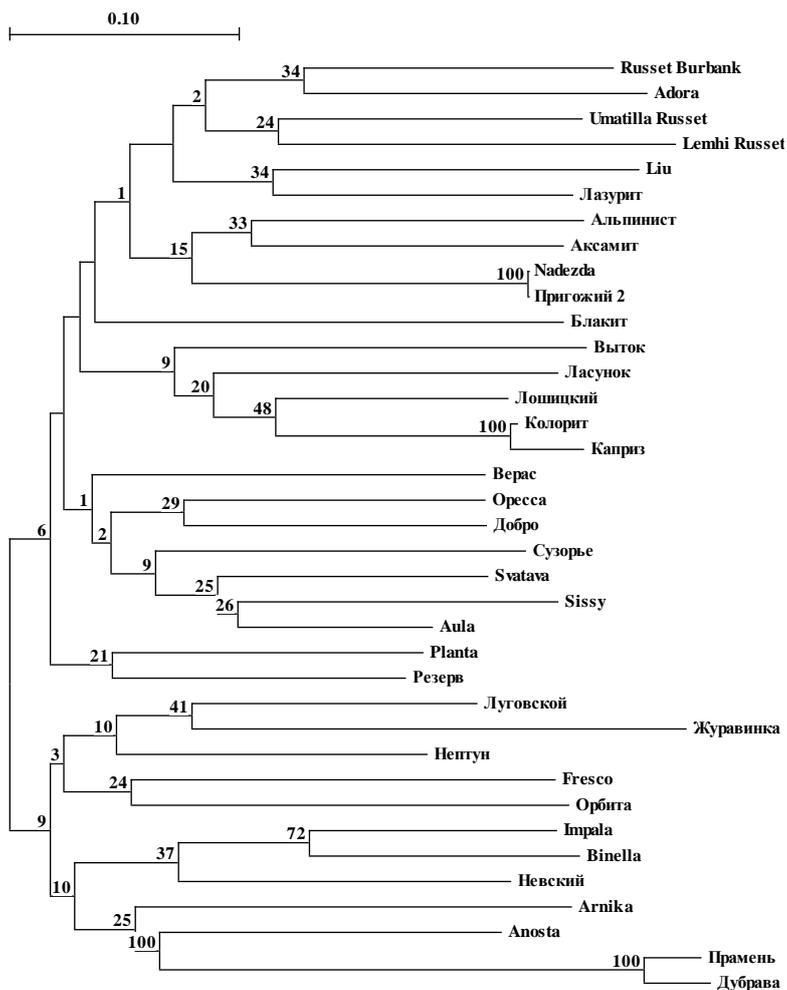


Рис. 3. Дендрограмма филогенетического сходства сортов картофеля, построенная на основе SSR метода.

Кроме того, на основании состава аллелей легко установить степень генетического сходства сортов (Рис. 3). На представленной дендрограмме показана степень генетического сходства сортов картофеля. Сорта, близкие в генетическом отношении, расположены в отдельных кластерах.

Количество полиморфных локусов, выявляемых с

помощью SSR-маркеров, значительно превышает количество морфологических признаков, по которым традиционно описываются сорта. Эти свойства делают SSR-маркеры прекрасным инструментом для идентификации и паспортизации сельскохозяйственных растений. Для идентификации сортов картофеля

традиционными методами используют такие признаки как форма, размер и окраска клубней. Количество морфологических признаков не велико по сравнению с количеством имеющихся сортов (известно более 50 тысяч сортов картофеля, и ежегодно создаются сотни новых сортов), что затрудняет идентификацию сортового материала. Вместе с тем наличие четкой системы идентификации и паспортизации сортов необходимо для охраны авторских прав, семеноводства, оценки чистоты сорта, при закупке и продажи сортов и других видах деятельности. Такую систему можно создать на основе молекулярных маркеров, которые обеспечивают возможность идентифицировать неограниченное количество сортового материала точным и надежным методом.

В представленном примере паспортизации сортов картофеля рассмотрено 14 локусов. Их оказалось достаточно, чтобы разделить все взятые для исследования генотипы на молекулярном уровне. Если увеличить количество рассматриваемых локусов, количество возможных комбинаций длин аллелей будет возрастать в геометрической прогрессии. Таким образом,

метод позволяет описывать и документировать не только уже имеющиеся сорта, но и такое количество сортов, создать которое практически не возможно.

Молекулярные методы идентификации и паспортизации сельскохозяйственных растений признаны самыми надежными и эффективными. В ряде стран они уже сегодня используются при регистрации сортов и дальнейшей работе с ними. Наша страна только приступает к разработке молекулярных методов идентификации сельскохозяйственных растений. Так, в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси проведена работа по паспортизации сортов пшеницы [4]. Разрабатываются молекулярные методы паспортизации сортов томатов, льна, сахарной свеклы, яблони. Имеющаяся в Институте база позволяет приступить к разработке методов паспортизации многих других сельскохозяйственных культур.

Свойство молекулярных маркеров идентифицировать генотипы успешно может быть использовано при создании генетических банков и коллекций. В частности, Европейское сообщество поддерживает программы, предусматривающие

использование молекулярных маркеров для сохранения генетических ресурсов и биологического разнообразия видов растений [5,6]. Молекулярные маркеры позволяют точно и надежно отобрать уникальные генотипы или, наоборот, устранить повторяющиеся образцы. Они обеспечивают возможность различать генотипы, основываясь на структуре и организации генома, не требуют фенотипического проявления признаков, выявляют скрытую изменчивость вида (Рис. 4).

В настоящее время большая часть молекулярных маркеров ограничивает последовательности с неизвестной пока функцией, а иногда даже и структурой. Вместе с тем на передний план выходит необходимость маркировать хозяйственно ценные признаки, такие как урожайность, качество зерна, устойчивость к болезням. Постепенно маркеры к этим признакам появляются, в первую очередь для видов, имеющих важное сельскохозяйственное значение.

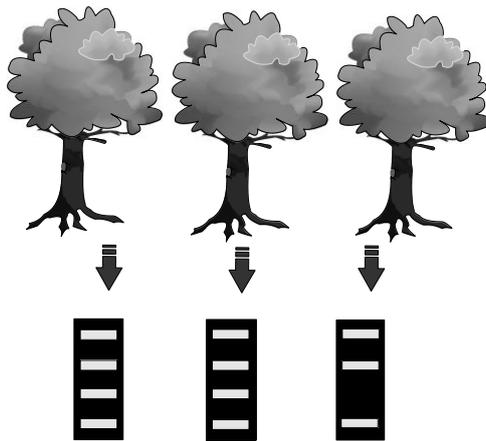


Рис. 4. Идентификация генотипов с помощью молекулярных маркеров.

Легче поддаются маркированию признаки, контролируемые одним геном, такие как гены устойчивости к болезням. Для их идентификации обычно используются SCAR маркеры. Создание SCAR маркеров длительный и трудоемкий процесс. Однако когда такие маркеры созданы, они

позволяют быстро и точно идентифицировать нужный ген. Примером таких маркеров может служить маркер к гену устойчивости к парше яблони.

Парша является одним из основных заболеваний яблони в Беларуси. Она наносит большой урон урожаю, приводит к поражению листьев, побегов, цветов и плодов. Наиболее

широко используемым источником устойчивости к парше является ген *Vf*, идентифицированный в дикой яблоне *Malus floribunda* клон 821 [7,8]. Первым коммерческим сортом с этим геном была Prima. Сейчас десятки устойчивых к парше сортов несут этот ген [9].

На молекулярном уровне ген *Vf* можно идентифицировать с помощью нескольких маркеров, например AL07 и AM19 [10]. Ценностью этого маркера является то, что

он позволяет выявить гомозиготный и гетерозиготный устойчивый, и гомозиготный чувствительный генотип. Ген выявляется в результате ПЦР с соответствующими праймерами и последующим разделением фрагментов амплификации методом электрофореза в агарозном геле. Гену *Vf* соответствуют фрагменты амплификации длиной 466 и 526 п.н. Фрагмент длиной 724 п.н. соответствует *vf* гену (рис. 5).

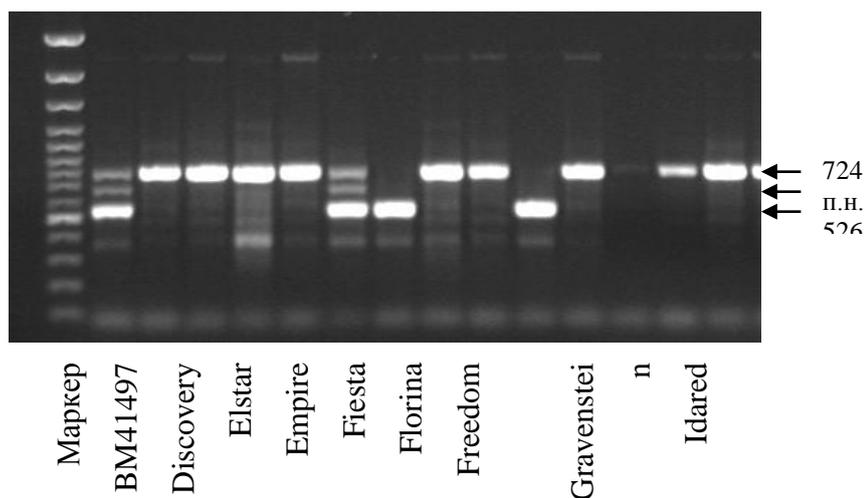


Рис. 5. Результаты разделения методом электрофореза в 1% агарозном геле продуктов амплификации ДНК сортов яблони с праймерами AL07 и AM19. В качестве маркера использовали 100bp DNA Ladder Plus (Fermentas). Фрагмент длиной 466, 526 п.н. соответствует доминантному гену *VfVf*, длиной 466, 526, 724 п.н - *Vfvf*, длиной 724 п.н. - *vfvf*.

С помощью молекулярного маркера ген был обнаружен в отдельных сортах селекции Франции, США, Польши, России и Беларуси (таб. 2) [11]. Сорта Freedom и Jonafree

содержат ген *Vf* в гомозиготной доминантной форме. В остальных устойчивых сортах ген гетерозиготен.

Сравнение полученных результатов с родословной

сортов яблони позволило определить, что источником гена *Vf* в сортах белорусской селекции Белорусское сладкое, Дарунак, Надзейны, Память Коваленко, Поспех была линия VM41497. Она, в свою очередь, унаследовала ген от *M. floribunda* 821.SSR маркеры также позволяют выявить хозяйственно важные гены. Для этого необходимо определить место расположения гена на хромосоме, а затем выявить аллель, сцепленную с ним.

Например, нами для тестирования гена *Lr34* в геноме пшеницы был использован SSR маркер GWM295 [12]. Ген *Lr34* обеспечивает устойчивость пшеницы к бурой ржавчине, заболеванию, которое в отдельные годы может приводить к потере до 30% урожая. Ген не является расспецифичным и идентификация его традиционными способами затруднена. Присутствие гена обеспечивает комплексную устойчивость на протяжении вегетационного периода. Кроме того, в его присутствии усиливается действие других генов устойчивости.

Ген *Lr34* расположен на хромосоме 7DS. Близко к нему расположено несколько микросателлитных локусов.

Наиболее тесно сцеплен с геном локус GWM295. В результате анализа сортов пшеницы было показано, что сорта, в которых представлен ген *Lr34*, несут аллель длиной 254 п.н. [13]. Эта аллель идентифицирована в 4 сортах белорусской селекции.

Информация о содержании отдельных генов в геноме сортов документируется и может быть использована для выявления сортов, содержащих высокоэффективные гены, прогнозирования уровня устойчивости сорта характеристики сорта, создании базы данных, отбора сортов, содержащих ценные гены, для дальнейшей селекционной работы.

Молекулярные методы идентификации генов имеют ряд существенных преимуществ. Они позволяют идентифицировать хозяйственно ценные гены непосредственно в геноме растений с высокой точностью. Они просты и удобны в использовании. Молекулярные методы не требуют фенотипического проявления признака, не зависят от условий окружающей среды и могут применяться на любой стадии онтогенеза растения. Для проведения исследований достаточно небольшого количества любой ткани.

Таблица 2. Распределение гена *Vf* среди сортов яблони.

	Название сорта	Страна происхождения	Ген		Название сорта	Страна происхождения	Ген
1	BM41497		<i>Vf/vf</i>	21	Антей	Беларусь	<i>vf/vf</i>
2	Discovery	Great Britain	<i>vf/vf</i>	22	Антоновка обыкновенная	Россия	<i>vf/vf</i>
3	Elstar	Netherlands	<i>vf/vf</i>	23	Белорусский синап	Беларусь	<i>vf/vf</i>
4	Empire	USA	<i>vf/vf</i>	24	Белорусское малиновое	Беларусь	<i>vf/vf</i>
5	Fiesta	Sweden	<i>vf/vf</i>	25	Белорусское сладкое	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
6	Florina	France	<i>Vf/vf</i>	26	Боровинка	Беларусь	<i>vf/vf</i>
7	Freedom	USA	<i>Vf/Vf</i>	27	Весялина	Беларусь	<i>vf/vf</i>
8	Gravenstein	Germany	<i>vf/vf</i>	28	Дарунак	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
9	Idared	USA	<i>vf/vf</i>	29	Елена	Беларусь	<i>vf/vf</i>
10	Jonafree	USA	<i>Vf/Vf</i>	30	Имант	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
11	Kent	Great Britain	<i>vf/vf</i>	31	Имрус	Россия	<i>Vf/vf</i>
12	Lawfam	Canada	<i>vf/vf</i>	32	Коваленковское	Беларусь	<i>vf/vf</i>
13	McIntosh	Canada	<i>vf/vf</i>	33	Минское	Беларусь	<i>vf/vf</i>
14	Pinova	Germany	<i>vf/vf</i>	34	Надзейны	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
15	Red Boskoop	Holland	<i>vf/vf</i>	35	Память Коваленко	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
16	Redfree	USA	<i>Vf/vf</i>	36	Память Сябаровой	Беларусь	<i>vf/vf</i>
17	Sawa	Poland	<i>Vf/vf</i>	37	Пепин литовский	Беларусь	<i>vf/vf</i>
18	SR0523		<i>vf/vf</i>	38	Поспех	Беларусь	<i>Vf/vf</i>
19	Wealthy	USA	<i>vf/vf</i>	39	Чаравница	Беларусь	<i>vf/vf</i>
20	Witos	Poland	<i>Vf/vf</i>	40	Чулановка	Россия	<i>vf/vf</i>

Время анализа занимает несколько дней.

С помощью молекулярных маркеров можно выявить источники ценных генов в коллекционном материале и проследить наследование нужного гена в селекционных образцах, т.е. проводить направленную селекцию по выбранному признаку. Особую ценность молекулярные маркеры приобретают, когда сорт содержит несколько генов устойчивости к болезни, и идентификация генов традиционными способами может быть затруднена.

Вовлекая в скрещивание сорта с разными генами устойчивости, можно добиться получения сортов, содержащих одновременно несколько таких генов. Это обеспечит сортам более длительную защиту от патогенов. Эта стратегия получила название пирамидизации, и осуществить ее без молекулярных маркеров сложно.

Сейчас исследователи располагают возможностью выявлять только часть генов, представляющих интерес для создания высокоурожайных, конкурентоспособных сортов

сельскохозяйственных растений. Однако молекулярная генетика растений не стоит на месте. Ежемесячно в научных журналах появляются десятки статей, касающихся маркирования, выделения, клонирования генов растений. Например, для пшеницы и ячменя обозначены регионы хромосом, ответственных за такие сложные, контролируемые многими генами признаки, как морозостойкость, урожайность

[14, 15]. Это значит, что в ближайшем будущем можно будет на молекулярном уровне выявлять ценные генотипы, несущие указанные признаки и вводить их во вновь создаваемые сорта, т.е. проводить направленную селекцию с помощью молекулярных маркеров. Молекулярные маркеры позволят за более короткий промежуток времени создавать сорта с комплексом ценных качеств.

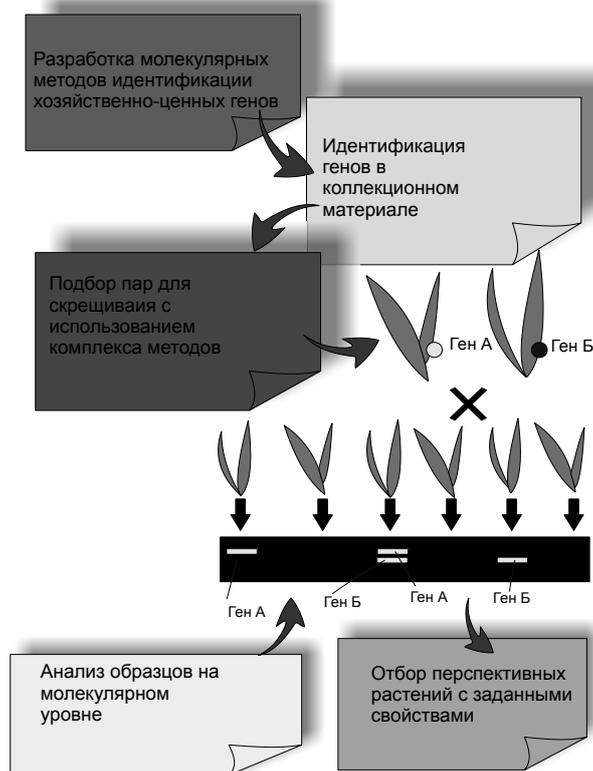


Рис. 6. Этапы селекции с помощью молекулярных маркеров.

Разрабатывается новый подход в создании сортов сельскохозяйственных растений, получивший название marker-assisted selection (MAS). Он, в

частности, предполагает разработку надежных методов идентификации генов, накопление информации о содержании отдельных генов в сортах

сельскохозяйственных растений. Располагая такой информацией, можно целенаправленно вводить нужные гены во вновь создаваемые сорта, проводить отбор интересных генотипов (Рис. 6).

Программы по развитию направленной селекции сельскохозяйственных растений с помощью молекулярных маркеров принимаются в США, Германии и других странах. Ведущие селекционные фирмы начинают использовать достижения молекулярной генетики. Появились первые коммерческие сорта, при создании которых использовались молекулярные маркеры. Направлению исследований, включающее разработку и использование молекулярных маркеров для важнейших сельскохозяйственных культур, уделяется огромное внимание в мире.

В заключение хочется подчеркнуть, что технология молекулярных маркеров приобретает большое значение не сама по себе, а в комплексе с традиционными методами селекции. Она призвана придти на помощь селекционному процессу, повысить его эффективность и точность, и сократить время, необходимое для создания сортов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Somers D.J., Isaac P., Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2006. V.109. P. 1105-1114.
2. Milbourne D., Meyer R.C., Collins A.J., Ramsay L.D., Gebhardt C., Waugh R. Isolation, characterization and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Mol. Gen. Genet.* 1998. V. 259. P. 233-245.
3. Ghislain M., Spooner D.M., Rodriguez F., Villamon F., Nunez J., Vasquez C., Waugh R., Bonierbale M. Selection of highly informative and user-friendly microsatellites (SSRs) for genotyping of cultivated potato. *Theor Appl Genet.* 2004. V. 108. P. 881-890.
4. Малышев С.В., Урбанович О.Ю., Долматович Т.В., Картель Н.А. Создание и анализ SSR-базы данных белорусских сортов пшеницы // “Современные проблемы генетики”. Материалы междунар. научн. конф., Минск, 17 – 18 ноября 2005 г. 2005. С. 96.
5. См.: <http://www.fao.org>.
6. См.: <http://www.ipgri.cgiar.org/publications/pdf/1110.pdf>.
7. Parisi L., Lespinasse Y., Guillaumes J., Kruger J. A new race of *Venturia inaequalis* virulent to apples with resistance due to the Vf gene. *Phytopathology.* 1993. V. 83. P. 533-537.
8. Vinatzer B., Patocchi A., Gianfranceschi L., Tartarini S., Zhang H., Gessler C., Sansavini S. Apple contains receptor-like genes homologous to the *Cladosporium fulvum* resistance gene family of tomato with a cluster of genes cosegregating with Vf apple scab resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions.* 2001.V. 14. P. 508 – 515.

9. MacHardy. Apple Scab Biology, Epidemiology and Management. 1996. St Paul, MN, USA. APS Press.
10. Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S., Gessler C. Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple. Plant Breedind. 1999. V. 118. P. 183-186.
11. Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Козловская З.А., Картель Н.А. Современные молекулярные методы выявления генов устойчивости к патогенам в геноме яблони. Материалы междунар. научн. конф. «Методическое обеспечение устойчивого развития современного плодоводства», Самохваловичи Минской обл., 6-8 сентября 2006 г. С. 62-67.
12. Roder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.-H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. Genetics. 1998. V. 149. P. 2007-2023.
13. Урбанович О.Ю., Малышев С.В., Долматович Т.В., Картель Н.А. Определение генов устойчивости к бурой ржавчине в сортах пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием молекулярных маркеров. Генетика. 2006. т. 42. № 5. С. 1-9.
14. Tondelli A., Francia E., Barabaschi D., Aprile A., Skinner J.S., Stockinger E.J., Stanca A.M., Pecchioni N. Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley. Theor. And Appl. Genet. 2006, V. 112. P. 445-454.
15. Marza F., Bai G.H., Carver B.F., Zhou W.-C. Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840xClark. Theor. And Appl. Genet. 2006, V. 112. P. 688-698.

# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ МАРКИРОВАНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ С ПОМОЩЬЮ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ

М.Е. Михайлова

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27

M.Mickailova@igc.bas-net.by

Известно, что основными слагаемыми успешного хозяйствования в животноводстве являются:

1) современные технологии содержания животных; 2) использование генетических маркеров продуктивности, что позволяет улучшить показатели племенной работы и воспроизводства; 3) сбалансированное кормление и 4) высокий уровень менеджмента. Современные молекулярно-генетические методы ДНК-диагностики играют важную роль в оценке генетического потенциала животного. Генотипирование особей с помощью ДНК-маркеров позволяет найти корреляции между аллельными вариантами генов и хозяйственно-полезными признаками и целенаправленно вести селекцию на выявление и закрепление в популяции ценных аллелей.

В лаборатории генетики животных ИГиЦ НАН Беларуси проводятся научные исследования по молекулярной генетике животных в рамках научных программ: ГКПНИ "Биологическая инженерия и биобезопасность»; ГПОФИ «Ресурсы растительного и животного мира».

## 1. ДНК-диагностика наследственного заболевания крупного рогатого скота, обусловленного точковой

### мутацией в гене CD18

#### (врожденный иммунодефицит)

Обмен генетическим материалом между разными странами сопровождается распространением различных заболеваний, вызываемых редкими мутациями, возникающими у выдающихся представителей коммерческих пород черно-пестрого скота. Экономический ущерб в результате распространения таких мутаций приводит к необходимости строгого генетического контроля импортируемого материала. ДНК-диагностика VLAD рассматривается как хорошая модель эффективного контроля заболеваний крупного рогатого скота (КРС), вызванных генетическими нарушениями (точковая мутация). VLAD — это болезнь дефекта иммунной системы (бычий дефицит лейкоцитарной адгезии).

Проявление иммунодефицита или VLAD-синдрома:

■ Животные с мутантным аллелем (гетерозиготный генотип *TL/BL*) — здоровые, но являются скрытыми носителями мутации.

■ Болезнь фенотипически проявляется только у гомозиготных по мутантному гену особей (рецессивный гомозиготный генотип *BL/BL*).

■ Больные животные имеют замедленный рост, тусклую

взъерошенную шерсть, язвы в ротовой полости, шаткость зубов, а из-за низкой резистентности и нарушения иммунитета телята гибнут в 2-7 месячном возрасте от инфекционных болезней (диарея, пневмония и др.).

Впервые это заболевание, сопровождающееся большой потерей телят от инфекций обнаружили при исследовании прямых потомков знаменитых американских быков – родоначальников голштинской породы: Осборндэйла Айвенго, Карлин М.Айвенго Белл, Пайсент Айвенго Стар. В США в 1992 г. носителями VLAD-синдрома было 15,6 % быков и 6 % маточного поголовья, а экономический ущерб был оценен в 5 млн. долларов [1]. Интересно, что Япония буквально за 4 года (1992-1996 гг.) после проведения ДНК-диагностики иммунодефицита снизила частоту встречаемости мутации VLAD с 13,4 до 0,31 % [2]. В Россию и Украину VLAD был завезен с потомками его внука — Айвенго Белла [3,4]. Научных данных о распространении VLAD в Беларуси – нет, но так как в животноводстве республики используется искусственное осеменение, закупаемой за рубежом спермой и завозятся быки-производители, несомненно, что ситуацию по распространению мутации VLAD следует держать под контролем.

Единственным существующим к настоящему времени методом, позволяющим безошибочно выявить носительство мутаций, является ДНК-диагностика. Молекулярной основой VLAD является точковая замена (аденин-гуанин) в положении 383

кДНК *CD18*, что приводит к аминокислотной замене в молекуле белка (вместо аспарагиновой кислоты синтезируется глицин). В результате точковой мутации *CD18* нарушается вся цепочка экспрессии  $\beta$ -интегрина, поверхностного белка нейтрофилов (разновидность лейкоцитов) и как результат этого лейкоциты теряют активность и неспособны выполнять защитную фагоцитарную функцию. Развивается иммунодефицитное состояние (Рис.1).

Нами проведено ДНК-тестирование на носительство мутации VLAD 15 быков-производителей «Гомельплемпредприятия», закупленных в последние годы в Швеции. Выявлено несколько животных — носителей мутации в гене *CD18* (гетерозиготный генотип TL/BL). В основном животные с гетерозиготным генотипом TL/BL — здоровые, но являются скрытыми носителями мутации. Так как болезнь фенотипически проявляется только у гомозиготных по мутантному гену особей (генотип BL/BL), необходимо индивидуально подходить к их использованию, а именно, при подборе родительских пар исключить возможность получения рецессивных BL/BL — гомозигот.

## **2. Генотипирование племенного скота по ценным аллельным вариантам одного из основных генов молочной продуктивности — каппа-казеина (CSNS)**

На сегодняшний день одной из кардинальных проблем фундаментальных и прикладных исследований в животноводстве является увеличение выхода белка

животного происхождения как незаменимого фактора питания человека. Содержание белка в молоке в большей степени, чем содержание жира влияет на экономическое состояние молочных предприятий, так как от этого показателя зависит выход и ассортимент изготавливаемой продукции. Поэтому, с целью

улучшения качественных и количественных показателей заготавливаемого молока, перед селекционерами республики ставится задача улучшения селекционно-племенной работы по выявлению генотипов животных с высокими показателями основных компонентов молока, прежде всего белка [5].

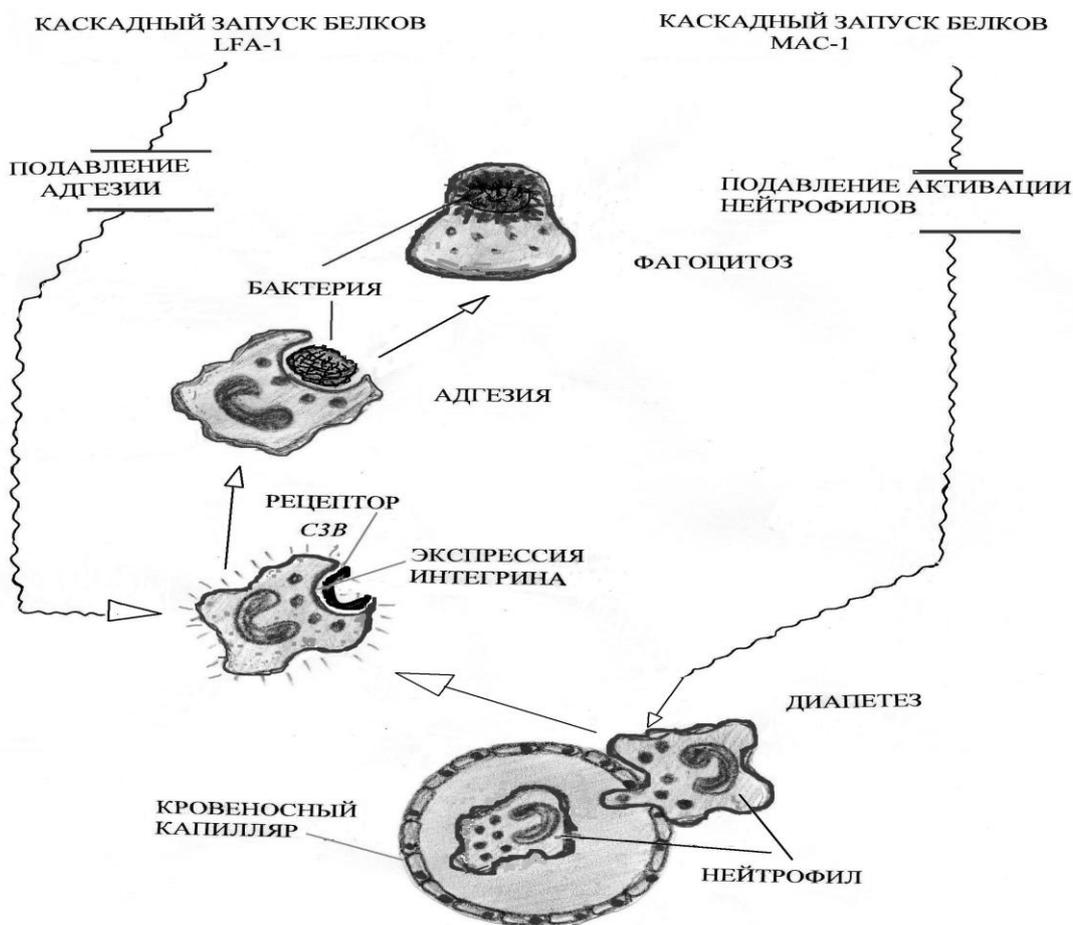


РИС. 1- Схема развития врожденного иммунодефицита, обусловленного точковой мутацией гена CD18

Опыт развитых стран в области производства молочной продукции

показывает, что оптимальное соотношение сыра и масла при

переработке должно составлять 3:1. В РБ в 2003 г. на производство масла пошло 49 % молока и только 16 % — на изготовление твердых сыров. В России менее 10 % заготавливаемого молока переработано для производства сыров [6]. Недостаточные объемы выработки сыра в значительной степени определяются низким качеством заготавливаемого молока. Сыроделие из всех отраслей молочной промышленности предъявляет наиболее высокие требования к качеству молока. Поэтому, одной из задач, поставленной перед мясомолочной отраслью Беларуси на 2006-2010 гг. — выход на производство в год не менее 200 тыс. тонн твердых сыров высокого качества, которые всегда будут востребованы как на внутреннем, так и на внешнем рынках [7].

Известно, что изготовление твердых сыров из молока от коров с улучшенным генотипом только по одному гену — каппа-казеину, дает увеличение выхода сыра на 6 % [8]. Казеин (CSN3) — основной белок коровьего молока, представленный несколькими фракциями (альфа, бета, каппа и гамма). На долю казеина приходится чуть более 80 % всего молочного белка. Известно семь аллельных вариантов каппа-казеина КРС: А, В, С, Е, F, F, G, H. Из этого спектра выделяют В-аллельный вариант, который ассоциируется с более высоким содержанием белка в молоке и более высоким выходом творога и сыра, а также лучшими коагуляционными свойствами молока [9]. Это особенно важно в сыроделии, так как использование молока, содержащего В-вариант каппа-

казеина позволяет улучшить консистенцию и композицию твердых сыров. Практика показывает, что твердые сыры, отвечающие мировым стандартам, можно приготовить только из молока коров с ВВ-генотипом по каппа-казеину. Нами проводится генотипирование крупного рогатого скота по гену каппа-казеину, полиморфизм которого связан с основными показателями молочной продуктивности, что позволит выявить ценные для селекции генотипы животных (генотипы АВ-*CSN3* и ВВ-*CSN3*).

### **3. Идентификация скрытых носителей точковой мутации в гене RYR1, детерминирующей стрессчувствительность свиней**

Основными направлениями развития свиноводства являются повышение мясности животных и улучшение качества свинины. При выведении новых мясных типов свиней используют генофонд супермясных пород (пьетрен, ландрас, дюрок и т.д.). Но в процессе интенсивного отбора животных по мясным качествам особенно остро возникла проблема стресс-синдрома свиней. Как оказалось, селекция на мясность сопровождается и определенными негативными последствиями: появлением у животных гормональной и вегетативно-нервной неустойчивости, высокой нервной возбудимости и чувствительности сердечно-сосудистой системы. Повышенная предрасположенность некоторых пород мясного направления к стрессам, сопровождавшаяся снижением естественной резистентности, или

адаптации, получила наименование – синдром плохой адаптации, или стрессовый синдром свиней (PSS). [10,11,12]. Стресс – это защитная реакция организма на воздействия внешней и внутренней среды, которая детерминируется множеством факторов, в том числе и наследственностью [10].

Исследования галотанового локуса с помощью методов молекулярной биологии позволили выявить точковую мутацию в рианодин-рецепторном гене (*RYR1*) [12]. Ген рецептора рианодина скелетных мышц отвечает за синтез рианодин рецепторного белка, который находится в саркоплазматическом ретикулуме мышечного волокна. Точковая мутация в гене *RYR1* в позиции 1843, заменяющая цитозин на тимин, приводит к замене аргенина на цистеин в позиции 615 рианодин-рецепторного белка. Это ведет к нарушению основной функции белка: регуляции обмена кальция в скелетных мышцах и приводит к развитию злокачественной гипертермии (MHS). То есть, точковая мутация в гене *RYR1* вызывает ряд биохимических изменений, приводящих к снижению адаптационных качеств животных и значительному ухудшению качества мяса (Рис.2). У современных пород, линий, гибридов свиней, отселектированных на улучшенные мясные качества, отмечена высокая частота встречаемости стресс-синдрома (до 15,1 %) [11,13,14].

Нами проведено ДНК-тестирование 34 хряков-производителей и 67 свиноматок РУП «с/к «Заря», Гомельской области на стрессчувствительность по *RYR1*-

гену. Все проанализированные хряки-производители имеют стрессустойчивый генотип (NN) и мутантного аллеля *RYR1*-гена не обнаружено.

Тестирование свиноматок на носительство мутации в гене *RYR1* выявило нескольких особей, несущих мутантную аллель (генотип *RYR<sup>Nn</sup>*). Ранее нами были проанализированы гибридные животные (220 шт.), полученные при различных сочетаниях скрещиваний следующих пород: крупная белая, эстонская беконная, дюрок, белорусская черно-пестрая, ландрас, белорусская мясная. Все исследованные животные являются стрессустойчивыми (генотип NN-*RYR1*). Частота N-аллеля *RYR1*-гена равнялась 1,0. Но в 2005 г. в систему межгибридного скрещивания привлечены свиноматки – скрытые носители мутации, что и привело к увеличению частоты Nn-гетерозиготного генотипа до 4,47 %. Известно, что в основном животные с Nn-генотипом являются уникальными и характеризуются высокими показателями мясной продуктивности, поэтому необходимо индивидуально подходить к определению направления их использования, а именно, при подборе родительских пар исключить возможность получения рецессивных (nn) гомозигот. Бесконтрольное использование такого материала в племенных целях представляется нам небезопасным.

#### **4. Генотипирование свиней по ценным аллельным вариантам гена (H-FABP), детерминирующего отложение внутримышечного жира**



Присутствие жировых прожилок в постном мясе (так называемое «мраморное мясо») дает возможность получить изысканный букет готового мясного продукта в ассоциации с нежными вкусовыми качествами и сочностью мяса. Поэтому такие гены как *Adipocyte-FABP* (*A-FABP*) и *Heart-FABP* (*H-FABP*) изучаются как гены-кандидаты, оказывающие основное влияние на отложение внутримышечного жира у свиней. Установлено, что предпочтительными с точки зрения селекции является генотип *H-FABP<sup>ddHH</sup>* [15]. Показана достоверная ассоциация аллельных вариантов *ddHH* и *DdHH* гена *H-*

*FABP* с такими показателями как толщина «мышечного глазка» и шпика, прирост живой массы и др. [16]. Мы изучали генную систему *Heart-FABP* у свиней основных пород в хозяйствах «Борисовский», «Заря», «Северный». Результаты ДНК-диагностики пород свиней, использующихся в селекции по гену *H-FABP* представлены в таблице 1. Следует отметить, что такие породы как белорусская мясная и дюрок имеют наибольшую частоту предпочтительного *d*-аллеля, определяющего лучшие показатели содержания внутримышечного жира (0,62 и 0,61 соответственно).

Таблица 1. Частота генотипов и аллелей по гену, детерминирующему содержание внутримышечного жира (*H-FABP*)

Порода	Количество проанализированных особей	Частота генотипов локуса <i>H-FABP</i> , %			Частота аллелей локуса <i>H-FABP</i>	
		<i>DD</i>	<i>Dd</i>	<i>dd</i>	<i>D</i>	<i>d</i>
Крупная белая	54	14,8	63,0	22,2	0,46	0,54
<b>Белорусская мясная</b>	<b>39</b>	<b>20,5</b>	<b>33,3</b>	<b>46,1</b>	<b>0,38</b>	<b>0,62</b>
Эстонская беконная	35	28,6	34,3	37,1	0,45	0,55
Немецкий ландрас	28	25,0	42,9	32,1	0,46	0,54
<b>Дюрок</b>	<b>44</b>	<b>12,5</b>	<b>54,2</b>	<b>33,3</b>	<b>0,39</b>	<b>0,61</b>
Белорусская черно-пестрая	12	25,0	50,0	25,0	0,5	0,5

Мы продолжаем эти исследования, однако уже сейчас следует отметить, что ген *H-FABP* должен быть использован для MAS-селекции свиней по улучшению мясо-откормочных показателей. Анализ животных с предпочтительным генотипом по гену *H-FABP* показал достоверную тенденцию к увеличению прироста живой массы, снижению толщины шпика и повышению мясности туш на 10-13 %.

ДНК-диагностика в раннем возрасте племенных животных и ремонтного молодняка на стрессустойчивость по *RYR*-гену и гену *H-FABP*, контролирующего содержание внутримышечного жира, способствует увеличению откормочной и мясной продуктивности свиней. В условиях промышленного производства свинины в республике это дает возможность получить дополнительную продукцию в объеме 15,0 тыс. тонн, при этом ожидаемый

экономический эффект составит около 20,0 млн. долларов.

### **5. ДНК-диагностика предрасположенности свиней к возбудителям колибактериоза (ген рецептора E.coli (ECR))**

В Республике остро стоит проблема повышения жизнеспособности новорожденного молодняка, так как наибольший процент падежа приходится на период новорожденности и может продолжаться до 3-4 месячного возраста. Для повышения сохранности поросят ветеринарная служба требует применения импортных и отечественных лекарственных и стимулирующих препаратов, витаминов, макро- и микроэлементов, биодобавок и др., а это дополнительные денежные затраты. Выявлен полиморфизм гена рецептора E.coli (ECR), который ответственен за устойчивость и восприимчивость животных к колибактериозу [17]. Показано, что восприимчивость поросят к

энтеропотагену кишечной палочки имеет доминантный тип наследования, то есть животные, несущие нежелательный аллель, как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии, восприимчивы к колибактериозу. Также у таких восприимчивых животных проявляются побочные дефекты развития: отставание поросят по темпам роста в период от рождения до 3-х месяцев; уменьшение среднесуточных привесов в период от рождения до отъема [17]. К сожалению, ДНК-диагностика в ветеринарной медицине еще мало используется, несмотря на то, что угрожающее состояние заболеваемости сельскохозяйственных животных требует применения методов быстрой и точной диагностики.

Проанализируем наши результаты ДНК-диагностики племенных животных по нескольким генам, отвечающих за проявление хозяйственно ценных признаков (табл.2).

Таблица 2. Генотипы племенных животных, выявленные с помощью ДНК-диагностики стрессчувствительности(*RYR 1*), содержания внутримышечного жира (*H-FABP*), устойчивости к колибактериозу (*ECR*) в хозяйстве КУСХП «Северный», Витебская область

№ особи	Порода свиней	Генотипы животных		
		по гену <i>RYR1</i>	по гену <i>H-FABP</i>	по гену <i>ECR</i>
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
1.	Ландрас	<b>Nn</b>	Dd	AG
2.	Ландрас	NN	Dd	GG
3.	Ландрас	NN	dd	GG
4.	Эстонская беконная	NN	Dd	AG
5.	Эстонская беконная	NN	DD	GG
6.	Эстонская беконная	NN	Dd	GG
7.	Эстонская беконная	NN	Dd	AG
8.	Эстонская беконная	NN	dd	GG
9.	Эстонская беконная	NN	Dd	GG
10.	Крупная белая	NN	Dd	GG
11.	Крупная белая	NN	DD	GG

1	2	3	4	5
12.	Крупная белая	NN	Dd	GG
13.	Крупная белая	NN	DD	GG
14.	Крупная белая	NN	Dd	GG
15.	Крупная белая	NN	dd	AG
16.	Крупная белая	NN	Dd	AG
17.	Крупная белая	NN	Dd	GG
18.	Крупная белая	NN	Dd	GG
19.	Дюрок	NN	dd	AG
20.	Дюрок	NN	Dd	GG
21.	Дюрок	NN	Dd	AA
22.	Дюрок	NN	DD	GG
23.	Белорусская черно-пестрая	NN	dd	GG
24.	Белорусская черно-пестрая	NN	dd	GG

**ДНК-диагностика стрессчувствительности** (ген *RYR I*): устойчивый к стрессу генотип – NN; скрытый носитель мутации гетерозиготный генотип Nn.

**ДНК-диагностика содержания внутримышечного жира** (ген *H-FABP*): предпочтительные для селекции генотипы — dd, Dd.

**ДНК-диагностика предрасположенности и устойчивости к колибактериозу** по маркерному гену *ESR*: генотип GG — особи с этим генотипом предрасположены к колибактериозу; Устойчивость к колибактериозу — генотип AA. Генотип AG — занимает промежуточное положение, также как и генотип AA имеет преимущество в привесах и сохранности поросят.

По результатам ДНК-диагностики следует, что из всех проанализированных особей животные №№4, 7, 15 и 21 имеют ценные генотипы, детерминирующие устойчивость к стресс-фактору и к колибактериозу, а также пониженную сальность. Эти производители более

предпочтительны для использования в селекционном процессе.

Таким образом, ДНК-диагностика сельскохозяйственных животных позволяет:

- \* проводить строгий генетический контроль импортируемых животных и выявлять скрытых носителей мутантного аллеля и контролировать распространение мутации в популяции;

- \* снизить затраты производства животноводческой продукции до 18%;

- \* способствует интенсификации селекции по созданию высокопродуктивных животных на 15-20 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Shuster D.E., Kehrl M.E., Ackermann M.R., Gilbert R.O. Identification and prevalence of genetic defect that causes leukocytes adhesion deficiency in Holstein cattle // Proc. Natl. Acad. Sci.–USA, 1992, vol. 89. P.9225-9229.

2. Nagata H., Miura T Tagaki K.e.a. Prevalence and allele frequency estimation of bovine leukocyte adhesion deficiency estimation of

bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Holstein-Friesian cattle in Japan // J. Vet. Med. Sci., 1997, vol.59. P.233-238.

3. Марзанов Н.С., Турбина И.С., Ескин Г.В. и др. Скрининг гена дефицита лейкоцитарной адгезии у черно-пестрого голштинизированного скота. // Сельхоз.биология. 2003, №6. С.23-36.

4. Глазко В.И., Шульга Е.В., Дымань Т.Н., Глазко Г.В. ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих. Белая Церковь. - 2001. 487с.

5. Шуляк Т.В., Алексеенко А.А., Шингарева Т.И. Физико-химические показатели молока сырьевых зон Беларуси. // Белорусское сельское хозяйство, 2005, №6 (38). С.44-45.

6. Лабинов В.В. Принципы ценообразования на молочную продукцию в новых экономических условиях Российской федерации. М. Пищевая промышленность. 2003. С.24.

7. Русак Л.В. Специализация молочного скота – путь интенсификации отрасли. // Белорусское сельское хозяйство, 2005, №8 (40). С.3-6.

8. Стрекозов Н.И., Сивкин Н.В., Иолычев Б.С. Белковый состав молока и биохимический полиморфизм его фракций // Вестник РАСХН, 1996, №1. С.52-53.

9. Сулимова Г.Е., Туркова С.О., Хатами С.Р. Мониторинг генетической структуры пород и популяций крупного рогатого скота России по локусам хозяйственно-

полезных признаков // Молекулярная генетика, геномика и биотехнология: Материалы Межд. молекулярной конференции. Минск, 24-26 ноября 2004 г. / Ред. кол.: Н.А. Картель и др. — Минск, 2004. С.98-100.

10. Преображенский Д.И. Стресс и патология размножения сельскохозяйственных животных. М.: Наука, 1993. С. 22-25.

11. Рыжова Н., Калашникова Л. ДНК-диагностика стрессчувствительности свиней // Животноводство в России, 2003. №9. С.46.

12. Калашникова Л.А., Дунин И.М., Глазко В.И. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий.— 2-е изд. испр. и доп. Московская область, Лесные поляны, ВНИИплем. 2001. – 34с.

13. Шейко И.П., Елишко Т.И., Шейко Р.И. и др. Детерминация продуктивности свиней белорусской мясной породы, обусловленная геном RYR1. // Молекулярная генетика, геномика и биотехнология: Материалы Межд. молекулярной конференции. Минск, 24-26 ноября 2004 г. / Ред. кол.: Н.А. Картель и др. — Минск, 2004. С.63-65.

14. Михайлова М.Е., Беззубов В.И., Анкудович Г.И. и др. Анализ генетической структуры популяций свиней, полученных при различных комбинациях скрещиваний по гену RYR1, ответственного за повышенную стрессчувствительность животных. // Актуальные проблемы генетики, биотехнологии и селекции: Материалы Национальной (юбилейной) конференции

Кишинэу, 17-18 февраля 2005 г. — Кишинэу, 2005. С.281-285.

15. F.Gerbtns, J.H.Veerkamp, E.van Stenderbergen et al. Fatty acid-Binding proteins: their role in intramuscular fat deposition in pigs // *Animal genetics*, 2004. vol.11. P.1124-1126.

16. Шейко И.П., Лобан Н.А., Василюк О.Я. Разработка методов молекулярной генной диагностики и их использование в свиноводстве

Беларуси. // *Весці НАНБ, Серыя аграрных навук*, 2005. №1. С.62-65.

17. Коновалова Н.В., Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А. Исследование гена рецептора E.coly F18 во взаимосвязи с хозяйственно-полезными признаками свиней. // *Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных*. Дубровицы, 2003. С.112-117.

# ГОСУДАРСТВЕННОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

А.П.Ермишин

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»  
Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая,27

Бурное развитие генетической инженерии и широкое внедрение в практику ее достижений в последней четверти XX-столетия вывело вопросы обеспечения безопасности генно-инженерной деятельности (биобезопасности) на первые роли. Практическое использование современных биотехнологий потребовало правового урегулирования этой достаточно новой сферы общественных отношений, принимая во внимание риски возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровья человека и состояние окружающей среды.

В большинстве развитых стран мира принято и эффективно функционирует специальное законодательство, касающееся биобезопасности, а также созданы соответствующие компетентные органы, которые претворяют его в жизнь. Важнейшим соглашением, регулирующим межгосударственные отношения в этой сфере, является Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии [1], который вступил в силу 11 сентября 2003 г. Республика Беларусь присоединилась к Картахенскому протоколу 6 мая 2002 г. [2]. Его Сторонами в настоящее время является более 130 государств.

Развитие генно-инженерных биотехнологий в научных исследованиях, появление на рынке продуктов, полученных из генно-инженерных организмов, выполнение международных обязательств в области биобезопасности обусловили необходимость разработки и создания национальной системы безопасности генно-инженерной деятельности в Республике Беларусь. Концепция государственного регулирования биобезопасности в Республике Беларусь разрабатывалась специалистами Национального координационного центра биобезопасности при участии ведущих юристов страны, международных экспертов. Она прошла широкое обсуждение на национальных конференциях, семинарах, в процессе согласования проектов правовых актов в заинтересованных министерствах и ведомствах.

Для выбора модели государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности очень большое значение имеет адекватная оценка преимуществ и возможных неблагоприятных эффектов использования достижений современной биотехнологии. Недооценка или преувеличение последних может привести к

существенному снижению эффективности модели.

Разработчики взяли за основу научно-обоснованное, подтвержденное на практике представление о генетической инженерии как новом методе селекции, позволяющем существенно расширить возможности традиционной селекции за счет использования всего разнообразия ценных генов, существующих в природе. С помощью методов генетической инженерии можно добавлять сорту растений, породе животных, штамму микроорганизмов строго определенные гены, не изменяя при этом остальные его генетические характеристики. Риски для здоровья человека и окружающей среды, связанные с генно-инженерной деятельностью, не отличаются в принципе от таковых при использовании традиционных селекционных технологий [3]. Они могут быть выявлены и оценены на ранних этапах селекционного процесса или даже во время планирования экспериментов. Это дает возможность избежать возможных неблагоприятных последствий генно-инженерной деятельности, или свести их к минимуму.

При разработке модели государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности к ней предъявлялись следующие требования:

*Во-первых*, она должна обеспечить безопасность человека и окружающей среды при осуществлении генно-инженерной деятельности и использовании её

результатов, одновременно создавая благоприятные условия для развития генетической инженерии как одного из приоритетных научных направлений.

*Во-вторых*, при формировании системы биобезопасности государство должно избегать существенного изменения действующего законодательства, создания новых государственных структур, которые лягут дополнительным бременем на республиканский бюджет и рядового налогоплательщика. Надо использовать уже существующие структуры, наделив их, если в этом есть необходимость, соответствующими полномочиями.

*В-третьих*, в новом законодательстве в области биобезопасности важно использовать нормы и процедуры, которые можно выполнить с минимальными затратами ресурсов и средств. А сами процедуры должны быть простыми и понятными для граждан.

*В-четвертых*, общество имеет право получать полную и достоверную информацию о результатах генно-инженерной деятельности и осуществлять общественный контроль. Поэтому в создаваемой системе биобезопасности должен быть предусмотрен механизм информирования и участия общественности в принятии решений в этой области.

В основу концепции государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности в Республике

Беларусь положен имеющийся опыт ряда ведущих стран, существующее законодательство Республики Беларусь и сложившаяся в стране система государственного управления, ее обязательства по международным соглашениям. Важнейшие ее положения нашли отражение в Законе Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» [4], который был принят 9 января 2006 г. Настоящий закон в совокупности с актами действующего законодательства, а также рядом правовых документов, разработанных в его развитие, составляет основу нормативно-правовой базы формирующейся национальной системы биобезопасности.

### **1. Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности»**

Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» (далее – Закон) устанавливает правовые и организационные основы обеспечения безопасности генно-инженерной деятельности и направлен на охрану здоровья человека и окружающей среды, выполнение Республикой Беларусь международных обязательств в области безопасности генно-инженерной деятельности. Он включает преамбулу и 7 глав, в которых содержится 29 статей.

Прежде всего, необходимо отметить, что в Законе впервые раскрыто содержание важнейших понятий, которые имеют значение

для правильного формирования и развития нормативно-правовой базы в этой области отношений (статья 1). Считаем целесообразным привести следующие определения:

**генно-инженерная деятельность** — деятельность, связанная с созданием генно-инженерных организмов, высвобождением их в окружающую среду для проведения испытаний, использованием в хозяйственных целях, ввозом в Республику Беларусь, вывозом из Республики Беларусь и транзитом через ее территорию генно-инженерных организмов, их хранением и обезвреживанием;

**безопасность генно-инженерной деятельности** — состояние защищенности, достигаемое посредством выполнения мер, направленных на предотвращение или снижение до безопасного уровня возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду при осуществлении генно-инженерной деятельности;

**генно-инженерный организм (генетически измененный (модифицированный, трансгенный) организм)** — живой организм, содержащий новую комбинацию генетического материала, полученного с помощью генетической инженерии;

**генетическая инженерия** — технология получения новых комбинаций генетического материала путем проводимых вне клетки манипуляций с молекулами нуклеиновых кислот и переноса

созданных конструкций генов в живой организм, в результате которого достигаются включение и активность их в этом организме и у его потомства;

использование генно-инженерных организмов в хозяйственных целях — выращивание (культивирование) и (или) разведение сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов для производства сельскохозяйственной и микробиологической продукции.

В Законе однозначно закреплено, что его положения не распространяются на отношения, связанные с применением генетической инженерии к человеку, его органам и тканям, обращением с фармацевтическими препаратами, продовольственным сырьем и пищевыми продуктами, кормами для животных, полученными из генно-инженерных организмов или их компонентов (статья 2). Они регулируются специальным законодательством о здравоохранении.

В статье 3 Закона сформулированы основополагающие принципы, на которых построена система биобезопасности в Республике Беларусь:

принятие мер предосторожности при осуществлении генно-инженерной деятельности;

научно обоснованный, интегрированный и

индивидуальный подходы при оценке риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду;

независимость государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов;

доступ к информации в области безопасности генно-инженерной деятельности.

Важным для функционирования предлагаемой модели государственного регулирования является закрепление в качестве объектов данной сферы отношений генно-инженерных организмов, а также права на осуществление генно-инженерной деятельности. В качестве субъектов этой деятельности могут выступать государственные органы, осуществляющие государственное регулирование и контроль, физические и юридические лица, занимающиеся генно-инженерной деятельностью, эксперты, проводящие государственную экспертизу безопасности генно-инженерных организмов, граждане и общественные объединения, осуществляющие общественный контроль в области биобезопасности (статья 4).

Указанные выше принципы положены в основу системы обеспечения безопасности генно-инженерной деятельности (статья 5), которая согласно Закону достигается путем:

принятия (издания) нормативных правовых актов, утверждения и введения в действие

технических нормативных правовых актов в области безопасности генно-инженерной деятельности и их реализации;

выдачи специально уполномоченными республиканскими органами государственного управления в области безопасности генно-инженерной деятельности разрешений на ввоз, вывоз или транзит условно патогенных и патогенных генно-инженерных организмов, а также разрешений на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний;

проведения аккредитации замкнутой системы для осуществления работ второго, третьего и четвертого уровней риска генно-инженерной деятельности;

проведения государственной регистрации сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов;

осуществления учета генно-инженерных организмов в соответствии с законодательством;

установления и соблюдения требований безопасности генно-инженерной деятельности;

планирования и выполнения мероприятий по обеспечению безопасности генно-инженерной деятельности;

проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов;

осуществления контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности;

установления ответственности за нарушение требований законодательства о безопасности генно-инженерной деятельности;

осуществления иных мер безопасности генно-инженерной деятельности в соответствии с законодательством.

Всякая модель государственного регулирования конкретной деятельности требует наделения достаточными полномочиями государственных органов с целью создания целостной управленческой системы. В статье 6 Закона закреплен перечень государственных органов, наделенных компетенций в данной области отношений, а в статьях 7-11 определены основные функции государственного управления, которые они обязаны осуществлять в силу закона. Порядок реализации предоставленных законом полномочий подробно регламентируется в статьях о регулировании отдельных направлений генно-инженерной деятельности. Система республиканских органов государственного управления, осуществляющих надведомственные полномочия в области генно-инженерной деятельности, включает Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды, Министерство здравоохранения, Министерство сельского хозяйства и

продовольствия. Дополнительные права и обязанности в этой сфере возлагаются на названные министерства также в связи с решением Совета Министров о выполнении международных обязательств республики (Постановление Совета Министров Республики Беларусь № 734 от 5 июня 2002 г. «О мерах по реализации положений Картахенского протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» [5]).

В главе 3 Закона определены обязанности лиц, осуществляющих генно-инженерную деятельность, а также сформулированы требования безопасности при осуществлении отдельных видов генно-инженерной деятельности. При проведении работ с генно-инженерными организмами установлены следующие уровни риска генно-инженерной деятельности:

первый уровень риска — работа с непатогенными генно-инженерными организмами;

второй уровень риска — работа с условно патогенными генно-инженерными организмами;

третий уровень риска — работа с патогенными генно-инженерными организмами, способными вызывать опасные инфекционные заболевания и распространять инфекцию, для которых имеются эффективные меры профилактики и лечения;

четвертый уровень риска — работа с патогенными генно-инженерными организмами, которые являются возбудителями

особо опасных инфекционных заболеваний, обладающих способностью быстро распространяться, и для которых неизвестны эффективные меры профилактики и лечения.

Индивидуальные предприниматели имеют право осуществлять генно-инженерную деятельность только первого уровня риска, то есть деятельность, связанную с непатогенными генно-инженерными организмами. Генно-инженерная деятельность второго, третьего и четвертого уровней риска осуществляется исключительно государственными юридическими лицами.

Законом определены требования безопасности при осуществлении следующих основных видов генно-инженерной деятельности, сложившихся в мировой практике: а) осуществление генно-инженерной деятельности в замкнутой системе, т.е. в научно-исследовательских лабораториях (статья 14); б) высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, т.е. для оценки и отбора полезных и безопасных для человека улучшенных сортов растений и пород животных на специально обустроенных участках (статья 15); в) использование полученных сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов в хозяйственных целях (статья 16); г) перемещение различных генно-инженерных организмов через границу

Республики Беларусь, т.е. ввоз, вывоз и транзит, например, семян сельскохозяйственных культур, клубней картофеля и др. (статья 18). Также сформулированы требования безопасности при транспортировке и обезвреживании генно-инженерных организмов (статья 17 и 19).

Отдельная глава Закона посвящена организации государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, которая проводится с целью определения допустимости их высвобождения в окружающую среду для проведения испытаний или использования в хозяйственных целях на основе идентификации генно-инженерных организмов и изучения материалов по оценке риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду. В соответствии с Законом государственной экспертизе подлежат непатогенные генно-инженерные организмы при их первом высвобождении в окружающую среду для проведения испытаний и при государственной регистрации сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов, предназначенных для использования в хозяйственных целях. В статье 21 подробно описывается процедура осуществления государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов.

Значительное внимание в Законе уделено вопросам информационного обеспечения в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также учету и государственной статистической отчетности в этой области. Как показывает мировая практика, без отлаженного механизма обмена информацией между отдельными органами государственного управления, международными организациями решение проблемы обеспечения биобезопасности оказывается неэффективным. Ответственным за информационное обеспечение в области безопасности генно-инженерной деятельности определен Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, на который ранее были возложены обязанности Национального координационного центра биобезопасности [6], а также координационного центра, ответственного за связь с секретариатом Картахенского протокола по биобезопасности [5].

В Законе закреплено право граждан и общественных объединений на получение полной, своевременной и достоверной информации в области безопасности генно-инженерной деятельности. Специально уполномоченные республиканские органы государственного управления в этой области, а также юридические лица и индивидуальные предприниматели, осуществляющие генно-инженерную деятельность, обязаны, в соответствии с Законом,

по просьбе заинтересованных граждан и общественных объединений предоставлять информацию в области безопасности генно-инженерной деятельности.

Глава 6 Закона посвящена организации контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности. Государственный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляется в целях проверки соблюдения нормативных правовых актов и технических нормативных правовых актов, а также выполнения мероприятий по обеспечению безопасности этой деятельности. Ведомственный контроль в этой области осуществляется республиканскими органами государственного управления, местными исполнительными и распорядительными органами и иными организациями в целях обеспечения выполнения подведомственными им организациями требований законодательства о безопасности генно-инженерной деятельности и охраны окружающей среды. Юридические лица и индивидуальные предприниматели, осуществляющие генно-инженерную деятельность, организуют и осуществляют производственный контроль в целях проверки соблюдения требований безопасности генно-инженерной деятельности, установленных нормативными правовыми актами и техническими нормативными правовыми актами в области безопасности генно-

инженерной деятельности. Общественный контроль в области безопасности генно-инженерной деятельности осуществляется гражданами и общественными объединениями в соответствии с законодательством.

Глава 7 определяет порядок вступления Закона в силу, согласно которой это должно произойти через шесть месяцев после его официального опубликования. За этот срок Совет Министров, согласно статье 29, обязан обеспечить приведение актов законодательства Республики Беларусь в соответствие настоящим Законом, а также обеспечить принятие нормативных правовых актов, необходимых для его реализации.

Таким образом, рассмотренный выше Закон Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» устанавливает правовые и организационные основы в данной области. Настоящий закон в совокупности с актами действующего законодательства, а также рядом правовых документов, разработанных в его развитие, составляет основу нормативно-правовой базы формирующейся национальной системы биобезопасности. При осуществлении конкретных видов генно-инженерной деятельности необходимо руководствоваться, помимо настоящего Закона, также действующим законодательством Республики Беларусь, в том числе правовыми актами, разработанными в связи с

принятием данного Закона. Ниже, в качестве примера, рассматривается порядок государственного регулирования безопасности генно-инженерной деятельности, связанной с созданием, испытанием и использованием в хозяйственных целях новых сортов генно-инженерных растений.

## **2. Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности по созданию новых сортов генно-инженерных растений, осуществляемой в замкнутых системах**

Работы по созданию новых сортов генно-инженерных растений, в соответствии с Законом «О безопасности генно-инженерной деятельности», относятся к генно-инженерной деятельности первого уровня риска, то есть к работам с непатогенными генно-инженерными организмами, которые не представляют угрозы для здоровья людей. Однако такие работы сопряжены с определенными экологическими рисками, которые связаны с возможным высвобождением неизученных, непроверенных генно-инженерных организмов в окружающую среду. В связи с этим, основное требование безопасности к замкнутым системам при работе с непатогенными генно-инженерными организмами состоит в обеспечении условий, исключающих несанкционированное высвобождение в окружающую

среду генно-инженерных организмов.

Важнейшим нормативным правовым актом, регламентирующим осуществление работ с непатогенными генно-инженерными организмами, являются «Требования безопасности к замкнутым системам при осуществлении работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности и субъектам, осуществляющим создание генно-инженерных организмов», которые утверждены постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь (Минприроды) [7]. Этим документом установлены определенные требования к помещениям, лабораториям, оборудованию, персоналу, организации работ, которые должны предотвратить несанкционированное высвобождение генно-инженерных организмов. Органом государственного управления, контролирующим выполнение названного нормативного правового акта, является Минприроды и его территориальные органы.

## **3. Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности по созданию новых сортов генно-инженерных растений, связанной с высвобождением генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний**

Полученные в лабораторных условиях новые генотипы генно-инженерных растений могут проходить первичную оценку и отбор в условиях закрытого грунта, отвечающих требованиям выше названного документа Минприроды [7]. Однако раньше или позже встанет вопрос об испытании отобранных лучших генотипов в полевых условиях с целью определения их селекционных и потребительских свойств, о передаче их в государственное сортоиспытание. Первое высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду – очень ответственный шаг, поскольку контролировать возможные взаимодействия и контакты генно-инженерных организмов с людьми, элементами окружающей среды весьма сложно. Поэтому, прежде чем осуществлять высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду, необходимо провести их всестороннее изучение по показателям биобезопасности, провести скрупулезную оценку риска возможных неблагоприятных эффектов генно-инженерных организмов на здоровье человека и состояние окружающей среды.

Нормативными правовыми документами, регламентирующими порядок оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека и окружающую среду, является инструкция о порядке проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека, утвержденная

постановлением Главного санитарного врача Республики Беларусь [8], а также инструкция о порядке проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на окружающую среду, утвержденная Минприроды [9]. Для осуществления оценки риска создателям генно-инженерных организмов рекомендуется опираться на международные документы, разрабатываемые такими организациями, как Программа ООН по окружающей среде (UNEP), Организация Экономического сотрудничества и развития (OECD), Всемирная Организация Здравоохранения (WHO), Организация ООН по сельскому хозяйству и продовольствию (FAO), Международным центром генной инженерии и биотехнологии (ICGEB). Также рекомендуется использовать пособия по оценке риска, изданные за рубежом и в нашей стране. В частности, может быть полезной монография «Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика», подготовленная сотрудниками Национального координационного центра биобезопасности [10].

В соответствии со статьей 15 Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности» высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний осуществляется при наличии разрешения на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду, выдаваемого

Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь. Порядок выдачи разрешений на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний определен Советом Министров Республики Беларусь [11]. Требования этого документа распространяются на любые генотипы генно-инженерных растений, созданные в Республике Беларусь и предназначенные для высвобождения в окружающую среду для проведения испытаний, а также на сорта генно-инженерных растений, завозимые в Республику Беларусь с целью их государственного сортоиспытания и дальнейшего выращивания на территории Республики Беларусь. На высвобождение в окружающую среду для проведения испытаний генно-инженерных организмов, выведенных методами традиционной селекции с использованием в качестве исходного материала генно-инженерных сортов растений, прошедших процедуру государственной регистрации в Республике Беларусь, разрешения Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды не требуется.

Разрешение на высвобождение выдается при наличии положительного заключения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов. Разрешение, полученное при первом высвобождении непатогенных генно-инженерных

организмов, действует и при последующих высвобождениях в окружающую среду генно-инженерных организмов определенного генотипа. Однако оно может быть аннулировано в случае нарушения юридическими лицами законодательства Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также в случае получения дополнительной достоверной информации о неблагоприятном воздействии данных генотипов генно-инженерных организмов на здоровье человека и состояние окружающей среды, невозможности применения мер регулирования риска таких воздействий при осуществлении последующих высвобождений генно-инженерных организмов для проведения испытаний (например, государственного сортоиспытания) или их использовании в хозяйственных целях.

Процедура проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, заключение которой является основанием для выдачи или невыдачи разрешения на высвобождение генно-инженерных организмов в окружающую среду, подробно описана в статье 21 Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности». В соответствии с ней проведение государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов осуществляется на основании заявления заинтересованного лица, поданного в Минприроды и организуется

экспертным советом по безопасности генно-инженерных организмов Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды. Государственная экспертиза безопасности генно-инженерных организмов проводится экспертами, которыми могут быть ведущие в соответствующей области знаний научные организации Республики Беларусь, ученые и специалисты, являющиеся гражданами Республики Беларусь. В качестве экспертов не могут привлекаться заинтересованные лица, в том числе работники инициатора проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов.

Положения Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности», касающиеся проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов, конкретизированы в таких актах законодательства, как «Положение о порядке проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и примерных условиях договоров, заключаемых для ее проведения» [12], утвержденное Советом Министров Республики Беларусь, и «Положение об экспертном совете по безопасности генно-инженерных организмов Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь» [13], утвержденное Минприроды. Следует отметить, что эксперты, осуществляющие государственную

экспертизу безопасности генно-инженерных организмов, как и создатели генно-инженерных организмов, заявители руководствуются одними и теми же нормативными правовыми актами, регламентирующими порядок оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов для здоровья человека и окружающей среды [8,9].

В соответствии со статьей 15 Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности», испытания непатогенных генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду должны проводиться на опытных полях и других объектах, специально оборудованных для предотвращения возможных вредных воздействий этих организмов на окружающую среду. Требования безопасности к таким опытным полям, а также порядок проведения испытаний регламентированы нормативными правовыми актами Минприроды [14,15]. Следует подчеркнуть, что требование, согласно которому испытания генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду должны проходить в контролируемых условиях специально оборудованных и охраняемых опытных полей, относится не только к генно-инженерным растениям, созданным в Республике Беларусь, но и к сортам генно-инженерных растений зарубежной селекции, ввозимых в Республику Беларусь для сортоиспытания и

последующего использования в хозяйственных целях. Это обусловлено тем, что, несмотря на то, что ввозимые сорта прошли всестороннюю оценку безопасности и официально зарегистрированы в стране экспорта, имеет место элемент научной неопределенности относительно их безопасности при выращивании в новых условиях окружающей среды.

По результатам проведения испытаний при первом высвобождении генно-инженерных организмов в окружающую среду заявитель обязан предоставить в Минприроды отчет, который фактически определяет дальнейшие перспективы выращивания конкретных генотипов генно-инженерных растений. Если в результате испытаний будут получены данные о неблагоприятном воздействии данных генотипов генно-инженерных организмов на здоровье человека и состояние окружающей среды, или сделан вывод о невозможности применения мер регулирования риска таких воздействий при осуществлении последующих их высвобождений, то разрешение на высвобождение будет аннулировано. Положительные результаты испытаний сохраняют в силе разрешение на высвобождение, в соответствии с которым сорт генно-инженерных растений может быть передан в государственное сортоиспытание.

#### **4. Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности при использовании сортов генно-инженерных растений в хозяйственных целях**

Сорта генно-инженерных растений в соответствии с Законом Республики Беларусь «О патентах на сорта растений» [16] относятся к категории сортов, существенным образом наследующих признаки другого сорта (статья 7). В связи с этим, любой сорт генно-инженерных растений, представляющий селекционный интерес, должен пройти процедуру патентования в соответствии с вышеназванным законом, чтобы быть включенным в Государственный реестр охраняемых сортов растений Республики Беларусь и получить, таким образом, правовую защиту.

В соответствии с Законом Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» допускается использование в хозяйственных целях только тех сортов генно-инженерных растений, которые прошли процедуру государственной регистрации. Государственная регистрация осуществляется при наличии положительного заключения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и положительных результатов испытаний генно-инженерных организмов при их высвобождении в окружающую среду (статья 16). Порядок государственной регистрации

сортов генно-инженерных растений, а также пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов, установлен Советом Министров Республики Беларусь [17].

Государственную регистрацию осуществляет Министерство сельского хозяйства и продовольствия (Минсельхозпрод) путем внесения соответствующих сведений, в Государственный реестр сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов. Среди прочих документов, которые предоставляются в Минсельхозпрод для государственной регистрации новых сортов генно-инженерных растений, обязательно должны быть: сведения о положительных результатах государственного испытания сорта; заключение государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов; рекомендация экспертного совета Минприроды о включении заявляемого сорта в вышеназванный реестр. При регистрации новых сортов генно-инженерных растений, выведенных методами традиционной селекции с использованием в качестве исходного материала ранее зарегистрированных в Беларуси сортов предоставление этих документов не требуется.

В соответствии с Законом Республики Беларусь «О семенах» [18] семена сортов и древесно-кустарниковых пород могут

использоваться на посевные цели только после того, как они включены в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород или признаны перспективными и если иное не предусмотрено настоящим Законом и другими актами законодательства Республики Беларусь. В связи с принятием Закона Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» эта норма Закона «О семенах» была дополнена положениями, касающимися семян сортов генно-инженерных растений, которые, соответственно, должны быть включены в Государственный реестр сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов.

Для определения хозяйственно ценных и других свойств сортов и древесно-кустарниковых пород с целью рекомендации их для использования в производстве в Республике Беларусь проводится государственное сортоиспытание. Обеспечение проведения государственного сортоиспытания в Республике Беларусь возлагается на государственное учреждение «Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений», которая руководствуется Положением о сортоиспытании, утвержденном постановлением Совета Министров Республики Беларусь [19]. Результаты государственного сортоиспытания учитываются, с одной стороны, при патентной экспертизе заявки на сорт (в

соответствии с Законом о патентах на сорта растений), с другой стороны – они являются основанием для включения или не включения сортов в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь.

Сорта генно-инженерных растений проходят государственное сортоиспытание на общих основаниях. Следует только иметь в виду, что при подаче документов на сортоиспытание как отечественных, так и зарубежных сортов генно-инженерных растений необходимо предоставить копию разрешения на их высвобождение в окружающую среду для проведения испытаний, которую выдает Минприроды [19]. Соответственно, результаты их государственного сортоиспытания учитываются при принятии решения о включении или не включении в Государственный реестр сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных организмов. Для сортов генно-инженерных растений, созданных методами традиционной селекции (гибридизация, беккросс) с использованием в качестве исходного материала сортов, ранее включенных в Государственный реестр сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов, при передаче их в государственное сортоиспытание разрешение на высвобождение в окружающую среду не требуется.

Отдельного внимания заслуживает проблема государственной регистрации и оборота генно-инженерных сортов растений, предназначенных для непосредственного использования в качестве пищевого сырья, продуктов питания, кормов или для переработки (то есть завозимых из-за рубежа семян сортов, высвобождение которых в окружающую среду не предполагается). Специальная процедура государственной регистрации таких сортов в существующем законодательстве не предусмотрена. В соответствии с этим их ввоз в Республику Беларусь осуществляется в соответствии с требованиями статьи 11 Картахенского протокола по биобезопасности [1] и требованиями законодательства Республики Беларусь, регулирующего ввоз пищевого сырья, продуктов питания и кормов.

5. Государственное регулирование безопасности генно-инженерной деятельности при ввозе генно-инженерных растений на территорию Республики Беларусь и их вывозе с территории Республики Беларусь

С точки зрения правового режима, живые организмы представляют собой движимое имущество и являются товаром в соответствии с положениями статьи 18 Таможенного кодекса Республики Беларусь [20]. Ввоз и вывоз живых организмов определяется как фактическое

перемещение товаров через таможенную границу Республики Беларусь.

Согласно статье 19 Таможенного кодекса все лица на равных основаниях имеют право на ввоз - вывоз товаров, ограничения реализации данного определяющего принципа могут быть закреплены в указанном кодексе либо в иных законодательных актах Республики Беларусь. В частности, запрет ввоза-вывоза отдельных товаров допускается «с целью обеспечения государственной безопасности ... жизни и здоровья человека, защиты животных и растений, охраны окружающей природной среды ... Республики Беларусь и зарубежных стран, защиты права собственности, в том числе на объекты интеллектуальной собственности, защиты интересов белорусских потребителей ввозимых товаров и исходя из других интересов Республики Беларусь на основании актов законодательства Республики Беларусь и международных договоров Республики Беларусь». Ограничения на ввоз - вывоз товаров могут устанавливаться также в интересах выполнения международных обязательств Республики Беларусь и по иным достаточно важным основаниям в соответствии с законодательством Республики Беларусь и международными договорами Республики Беларусь.

Таким образом, Таможенный кодекс закрепляет принцип свободы ввоза и вывоза товара, в том числе живых организмов, а

запреты и ограничения в осуществлении данных видов деятельности установлены в иных актах таможенного законодательства и в ином специальном законодательстве. В частности, постановлением Совета Министров Республики Беларусь «Об установлении запретов и ограничений на перемещение вещей через таможенную границу Республики Беларусь» утверждены перечни вещей, запрещенных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь, и перечень вещей, ограниченных к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь. В связи с принятием Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности» в эти перечни были включены и генно-инженерные организмы [21].

В соответствии с Законом Республики Беларусь «О безопасности генно-инженерной деятельности» [4] ввоз в Республику Беларусь и транзит через ее территорию генно-инженерных организмов допускается при условии, что страна-экспортер (страна, осуществляющая транзит) является участницей Картахенского протокола по биобезопасности. Трансграничные перемещения генно-инженерных организмов между Республикой Беларусь и государствами, не являющимися Сторонами Картахенского протокола могут осуществляться на основании двусторонних, региональных и многосторонних соглашений (статья 24 Картахенского протокола [1]).

Ввоз в Республику Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов, предназначенных для высвобождения в окружающую среду для проведения испытаний, допускается при наличии разрешения на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, выданного Минприроды (см. выше), а ввоз в Республику Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов, предназначенных для использования в хозяйственных целях, допускается при наличии свидетельства об их государственной регистрации. В случае несанкционированного ввоза генно-инженерных организмов лицо, осуществляющее ввоз, удаляет их с территории Республики Беларусь за свой счет в порядке, установленном законодательством. Транзит через территорию Республики Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов допускается после уведомления перевозчиком Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь в порядке, установленном этим министерством. Вывоз из Республики Беларусь непатогенных генно-инженерных организмов допускается при наличии разрешения на ввоз, выданного специально уполномоченным органом (организацией) страны назначения.

Закон Республики Беларусь «О семенах» [18] регламентирует особые правила ввоза-вывоза

семян, согласно которому семена могут быть ввезены в Республику Беларусь из других государств при условии, что: Государственная карантинная инспекция Республики Беларусь (в настоящее время - Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений) дала разрешение на их ввоз на территорию республики; семена имеют фитосанитарный сертификат, выданный государственными органами по карантину растений государства-экспортера; семена относятся к сорту, который прошел государственное сортоиспытание и внесен в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород или признан перспективным.

Семена сортов, не внесенные в вышеназванный государственный реестр или признанные неперспективными, могут быть ввезены в Республику Беларусь из других государств только для целей проведения научно-исследовательских работ, государственного сортоиспытания и экспонирования, а также, если их размножение предусмотрено международным договором для реализации за пределы Республики Беларусь или если относительно сорта и древесно-кустарниковой породы принято специальное решение соответствующим министерством, другим республиканским органом государственного управления, в компетенцию которого входят вопросы производства, заготовки, реализации, использования семян. Семена, ввозимые на территорию

Республики Беларусь и вывозимые за ее пределы для научных целей и государственного сортоиспытания, не облагаются таможенной пошлиной, таможенными сборами и налогами.

В связи с принятием Закона «О безопасности генно-инженерной деятельности» в Закон «О семенах» добавлена отсылочная норма, согласно которой особенности ввоза семян сортов генно-инженерных растений определены в законодательстве Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности.

В частности, в соответствии с «Инструкцией о порядке выдачи разрешений на ввоз в Республику Беларусь и вывоз за ее пределы семян сортов и древесно-кустарниковых пород и сортов генно-инженерных растений» [22] организация и проведение работ по приему и рассмотрению документов для получения разрешений на ввоз и вывоз семян, в том числе семян сортов генно-инженерных растений, возложены на государственное учреждение «Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений» и его территориальные организации в областях республики. При поставке семян сортов генно-инженерных растений для получения разрешения на ввоз помимо прочих документов необходимо представить копию свидетельства о государственной регистрации сорта. Если сорт ввозится для проведения испытаний, необходимо представить копию разрешения на высвобождение

непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний, выданного Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды [4, 11, 17]. Разрешение на ввоз и вывоз выдается на каждый представленный контракт (договор) на срок действия импортных карантинных разрешений, выдаваемых в порядке, установленном Положением о порядке осуществления государственного фитосанитарного контроля в пунктах пропуска через Государственную границу Республики Беларусь и (или) в местах назначения [23].

Таким образом, вступившее силу в 2006 году специальное законодательство Республики Беларусь в области безопасности генно-инженерной деятельности, а также соответствующие акты действующего законодательства и международные договоры, к которым присоединилась Республика Беларусь, четко регламентируют вопросы биобезопасности от создания генно-инженерных организмов до их официального допуска к использованию в хозяйственных целях. При этом предусмотрена многоступенчатая, с каждым этапом все более сложная и скрупулезная процедура испытаний генно-инженерных организмов на предмет их безопасности для здоровья человека и окружающей среды. В результате для использования в хозяйственных целях допускаются только те сорта

генно-инженерных растений, породы генно-инженерных животных, штаммы непатогенных генно-инженерных микроорганизмов, относительно которых получены убедительные доказательства их безопасности.

### Литература

1. Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии. Текст и приложения. Монреаль. 2000. 40 с.
2. Закон Республики Беларусь от 6 мая 2002 г. «О присоединении Республики Беларусь к Картахенскому Протоколу по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии» //Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2002, № 53, 2/846.
3. Международные руководящие принципы техники безопасности ЮНЕП в области биотехнологии. ЮНЕП, 1996. 40 с.
4. Закон Республики Беларусь от 9 января 2006 г. «О безопасности генно-инженерной деятельности»// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, № 2, 2/1193.
5. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 5 июня 2002 г. №734 «О мерах по реализации положений Картахенского Протокола по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии»// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2002 , № 67, 5/10573.
6. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 июня 1998 г. № 963 «О создании Национального координационного центра биобезопасности», //Собрание декретов, указов Президента и постановлений Правительства Республики Беларусь. 1998, №18. С. 492.
7. Постановление Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды от 17 августа 2006 г. №50 «О требованиях безопасности к замкнутым системам при осуществлении работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности и субъектам, осуществляющим создание генно-инженерных организмов»// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, №144, 8/14952.
8. Инструкция о порядке проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на здоровье человека. Утверждена постановлением Главного санитарного врача

- Республики Беларусь от 25 августа 2006 г. №076-086.
9. Инструкция о порядке проведения оценки риска возможных вредных воздействий генно-инженерных организмов на окружающую среду. Утверждена постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 22 августа 2006 г. №55 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2006, № 150, 8/15002.
10. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика. /Под ред. А.П. Ермишина / А.П. Ермишин, В.Е. Подлиских, Е.В. Воронкова, Б.Ю. Аношенко, В.М. Зарьков. Мн.: Тэхналогія. 2005. – 430 с.
11. Положение о порядке выдачи разрешений на высвобождение непатогенных генно-инженерных организмов в окружающую среду для проведения испытаний. Утверждено постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 8 сентября 2006 г. № 1160 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2006, № 151, 5/22922.
12. Положение о порядке проведения государственной экспертизы безопасности генно-инженерных организмов и примерных условиях договоров, заключаемых для ее проведения. Утверждено постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 8 сентября 2006 г. № 1160 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2006, № 151, 5/22922.
13. Положение об экспертном совете по безопасности генно-инженерных организмов Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь. Утверждено постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 17 августа 2006 г. №52 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2006, № 145, 8/14954.
14. Постановление Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 29 августа 2006 г. № 56 «О требованиях безопасности к опытным полям и другим объектам, предназначенным для проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов при их первом высвобождении в окружающую среду»// Национальный реестр правовых актов Республики

- Беларусь. 2006, №151, 8/14993.
15. Инструкция о порядке проведения испытаний непатогенных генно-инженерных организмов при их высвобождении в окружающую среду. Утверждена постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 29 августа 2006 г. № 57// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, №151, 8/14994.
16. Закон Республики Беларусь от 13 апреля 1995 г. «О патентах на сорта растений» (изменения и дополнения 14 июня 2004 г.)// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2004. №103, 2/1040.
17. Положение о порядке государственной регистрации сортов генно-инженерных растений, пород генно-инженерных животных и штаммов непатогенных генно-инженерных микроорганизмов. Утверждено постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12 сентября 2006 г. №1195// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, № 149, 5/22920.
18. Закон Республики Беларусь «О семенах» от 1 февраля 1997 г.// Ведомости Национального собрания Республики Беларусь, 1997, № 9. С.191; Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006. №122, 2/1257.
19. Положение о сортоиспытании. Утверждено постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 5 сентября 2006 г. №1135 // Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, № 149, 5/22894.
20. Таможенный кодекс Республики Беларусь от 6 января 1998 г.// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2004, № 180, 2/1081.
21. Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 13 мая 2006 г. №608 «О внесении изменений в постановление Совета Министров Республики Беларусь от 8 марта 1997 г. № 218 «Об установлении запретов и ограничений на перемещение вещей через таможенную границу Республики Беларусь»// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, № 76, 5/22299.
22. Инструкция о порядке выдачи разрешений на ввоз

в Республику Беларусь и вывоз за ее пределы семян. Утверждена постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 19 сентября 2006 г. № 61// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь.2006, № 164, 8/15089.

23.Положение о порядке осуществления государственного

фитосанитарного контроля в пунктах пропуска через Государственную границу Республики Беларусь и (или) в местах назначения. Утверждено постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 14 июля 2006 г. № 881// Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. 2006, №123, 5/22635.

*В сборнике «Молекулярная и прикладная генетика. Сборник трудов» публикуются оригинальные результаты экспериментальных и теоретических исследований в области общей и молекулярной генетики, биотехнологии, биоинформатики, а также аналитические обзоры по указанным направлениям.*

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. Статья сопровождается направлением института, в котором выполнено исследование.

2. Объем статьи (текст, литература, аннотации на русском и английском языках на одной странице с Ф. И. О. авторов и названием статьи на английском языке, подписи к рисункам, таблицы) не должен превышать 10 стр. (количество рисунков — не больше 3), аналитического обзора — 20 стр.

3. Все материалы представляются распечатанными на белой бумаге в 2 экз. через 1 интервал, шрифт Times New Roman, кегль 14 (рисунки тоже, фотографии — на белой глянцевой бумаге) и на дискете стандартного формата. Электронный вариант сообщения должен быть набран в Word под Windows, для формул — формульный редактор Word или Mathtape. Формульным редактором в Word пользоваться только для набора сложных формул (например  $C_4^2$ ). Вставку символов выполнять через меню «Вставка\Символ». Выключку вверх и вниз ( $C^2$ ,  $C_4$ ) выполнять через меню «Формат\Шрифт\Верхний индекс»,

«Формат\Шрифт\Нижний индекс». Греческие символы должны быть прямыми, латинские буквы набираются курсивом. Греческие буквы и другие математические знаки брать из гарнитуры «Symbol», а не «Times New Roman». Математические формулы ( $\lim$ ,  $\sum$ ,  $\ln$ ,  $\sin$ ,  $\operatorname{Re}$ ,  $\operatorname{Im}$  и т. д.) и цифры набираются прямым начертанием. Химические символы ( $N$ ,  $C1$ ) и 0 (ноль) на бумаге отмечаются простым карандашом квадратной скобкой снизу. Индексы на бумаге отмечаются знаками  $\overset{\sim}{}$ ,  $\overset{\wedge}{}$ . Рукописные буквы и буквы других нестандартных гарнитур желательно помечать на бумаге, какой гарнитурой они набраны.

Рисунки даются в виде отдельных файлов в формате TIF (для IBM) или в форматах, созданных в пакетах Photoshop, Coreldraw, Adobe Illustrator (IBM, Macintosh). Текст па рисунках должен быть набран гарнитурой Arial, светлый курсив. Размер кегля соизмерим с размером рисунка (желательно 8-й кегль). Площадь рисунка должна быть в диапазоне 100—150 см<sup>2</sup>. Сформированный в

Word рисунок объединить в группу или сделать его через опцию создания рисунка. Подписи к рисункам должны быть распечатаны на отдельной странице. На обороте рисунков указываются фамилии авторов, название статьи и номер рисунка.

4. Статьи принимаются редакцией и издаются на русском, белорусском или английском языках в зависимости от того, на каком языке сданы авторами. Экспериментальная статья должна иметь индекс по Универсальной десятичной классификации (УДК), рубрики «Введение», «Материалы (объекты) и методы исследования», «Результаты и их обсуждение», «Заключение». Для теоретических статей и аналитических обзоров обязательными являются только рубрики «Введение» и «Заключение». Заключение должно содержать четко сформулированные выводы. В названии статьи необходимо давать на латыни типовое название вида растения или животного. Латынь в тексте статьи набирается курсивом. В конце текста (во втором экз.) указываются фамилия, имя, отчество автора и адрес, номер телефона и полное название института. Приводятся также слова «дата поступления статьи в редакцию». Статья должна быть подписана всеми авторами.

5. Цитированная литература приводится общим списком на отдельной странице, ссылки в тексте даются порядковым номером в квадратных скобках (например, [5]). Список литературы оформляется так:

для книг — фамилия и инициалы автора, полное название книги, место (издательство) и год издания, страницы ссылки (от — до);

для журнальных статей — фамилия и инициалы автора, название журнала, год издания, том, номер, страницы ссылки. Например: Иванов И.И., Петров П.П. Молекулярные механизмы рекомбиногенеза. // Весці НАН Беларусь. Сер. біял. навук. 2001. № 3. С. 72—79.

Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

6. По решению редколлегии статья направляется на рецензию, затем визируется членом редколлегии. Возвращение статьи автору на доработку не означает, что она принята к печати. Переработанный вариант статьи снова рассматривается редколлегией. Датой поступления считается день получения редакцией окончательного варианта статьи.

7. Редакция может принять решение о публикации статьи без рецензирования, если качество представленного исследования дает

достаточно оснований для такой оценки, а также высказать свое мнение об издании статьи в полном объеме или предложить ее депонировать. Основным критерием целесообразности публикации является новизна и информативность статьи.

8. Привлечение внештатных специалистов к рецензированию статей не освобождает редакцию от необходимости дать личную оценку этим статьям. Статьи не по профилю сборника возвращаются авторам после заключения редколлегии.

*Научное издание*

**Молекулярная и прикладная генетика**

**Научные труды  
Том 4, 2006**

Дизайн и верстка Е.А. Кильчевская

Подписано в печать 22.11.2006. Формат 60x84 1/8  
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.  
Печать трафаретная.  
Усл.печ. л. 3,76. Уч.-изд. л. 3,36.  
Тираж 100 экз. Заказ 120.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
г. Минск, ул. Академическая, 27.

Отпечатано на ризографе  
УП Камет, г. Минск, ул. Кульман, 27-6а.