

РОЗРОБЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО ПОРТАЛУ ДАНИХ ЩОДО ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ РОСЛИН «GENETICALLY MODIFIED PLANTS GATEWAY»

В останнє десятиліття створення та культивування нових генетично модифікованих (ГМ) культур відзначається стійким зростанням інтересу до них [1, 2]. Збільшення посівних площ і кількості країн, де вирощуються сільськогосподарські ГМ культури, супроводжується запровадженням сортів рослин із цілком новими характеристиками, а також комбінуванням різних ГМ характеристик в одному організмі. Зростання складності комбінування цих характеристик і генетична їх диверсифікація у ГМ-культурах створює виклики для аналітичного контролю і здійснення обов'язкового маркування генетично модифікованих організмів (ГМО), харчових продуктів і кормів у тих випадках, де воно є обов'язковим. Імовірність випадкової присутності сторонніх ГМ-сортів у харчових ланцюгах потребує необхідності запровадження чітких правил відслідковування їх присутності у будь-якій товарній продукції та прозорих систем управління їх поширення [2–5].

На сьогодні законодавство ЄС передбачає чітко прописані вимоги кількісного визначення генетично модифікованих компонентів у рослинній сировині та продуктах їх переробки. Оскільки одним із головних зовнішньополітичних пріоритетів нашої держави є повна економічна інтеграція у європейський економічний простір, відповідно до цього Україна має запроваджувати та розвивати законодавчі та лабораторні інструменти контролю ГМ компонентів згідно з вимогами та стандартами ЄС. При цьому слід зазначити, що об'єм світового ринку ГМ продукції неупинно збільшується, тому головною проблемою аналітичних та моніторингових лабораторій детекції ГМ компонентів є складність та висока собівартість аналізу ГМО відповідно до вимог законодавства та європейських стандартів. Частково зменшення собівартості ідентифікації ГМ компонентів може бути досягнуто шляхом оптимізації етапу вибору відповідних методик на під-

ставі інформації, що вже існує. Саме тому доступ до достовірної інформації про методи виявлення, ідентифікації та кількісного визначення ГМО має принципове значення для заходів регулювання і контролю.

Для вирішення цього питання створено ряд інформаційних ресурсів, присвячених методам аналізу ГМО: European Union Database of Reference Methods for GMO Analysis (<http://gmocr.l.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/>), Living Modified Organism (LMO) Registry як складова частина Biosafety Clearing-House (BCH), створеного для реалізації Картаженського протоколу з біобезпеки Конвенції з біологічного різноманіття ООН (<http://bch.cbd.int/database/lmo-registry/>), GMO Detection Method Database (GMDD) як складова частина Шанхайської платформи (<http://gmdd.shgmo.org/>), GMO Compass (<http://www.gmo-compass.org/eng/gmo/db/>), CropLife International Detection Methods Database (<http://www.detection-methods.com/>), GM Crop Database (Center for Environmental Risk Assessment, CERA) (<http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>).

Дві з цих баз даних, (CropLife International Detection Methods Database та GMO Detection Method Database), безумовно, можуть бути корисними інструментами для лабораторій, які працюють в галузі виявлення ГМО, але вони містять інформацію про методи детекції ГМО в узагальненому вигляді, без критеріїв відбору придатності і поправок на ефективність кожного окремого методу в якихось конкретних умовах його використання. Але такий нестандартизований аналітичний підхід для виявлення ГМО може перешкодити комерційному застосуванню цих методів під час торгівельних взаємовідносинах, а також породити суперечки, які можуть мати міжнародні правові наслідки. Водночас одна з вище перелічених база даних – European Union Database of Reference Methods for GMO Analysis (GMOMETHODS) – фокусується на розробці

еталонних методів детекції ГМО відповідно до прийнятих на міжнародному рівні стандартних протоколів, що має вирішальне значення для забезпечення глобального застосування їх у вирішенні питань біобезпеки і міжнародної торгівлі. Слід також зазначити, що на сьогодні більшість подібних баз даних мають будову, яка дуже незручна для відповідного аналізу та ускладнює вибір необхідного методу детекції ГМ компонентів в окремому зразку. Тому створення бази даних, яка дозволила б полегшити прийняття оптимальної процедури аналізу ГМО на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) або ПЛР у реальному часі, є вкрай необхідним.

Саме тому метою нашої роботи була розробка та впровадження спеціалізованої бази даних як інструменту оптимізації та зменшення собівартості аналізу на наявність ГМ компонентів у насінні, продуктах харчування та кормах.

Матеріали і методи

З технічної точки зору, для реалізації проекту з розробки спеціалізованої бази для виявлення ГМО та методів їх визначення було розроблено веб-додаток на основі Grails – високопродуктивного програмного каркасу для веб-розробки на платформі Java. Мовою програмування слугував Groovy, заснований на Java. Рівень object relational mapping (ORM) було побудовано на основі Hibernate. Поведінковий рівень – на основі Spring MVC. Окрім того, також у роботі були застосовані пакети NCBI BLAST2 і BioPerl для можливості запровадження функцій BLAST для всіх екзогенно інтродукованих послідовностей.

Інформаційна система складається з двох частин – інформаційного шлюзу і сховища. Шлюз агрегує та впорядковує інформацію із зовнішніх баз даних, яка після валідації згодом переходить до сховища, де може бути у подальшому доповнена новими даними та інформацією від українських дослідників.

Результати та обговорення

Структура українського інформаційного ГМ порталу

На сьогоднішній день сертифікація ГМ культур рослин запроваджена у 40 країнах: Аргентина, Австралія, Бангладеш, Болівія, Бразилія, Буркіна-Фасо, Канада, Чилі, Китай, Колумбія, Коста-Ріка, Куба, Єгипет, Європейський Союз, Гондурас, Індія, Індонезія, Іран, Японія, Малайзія, Мексика, М'янма, Нова Зеландія, Норвегія, Пакистан, Панама, Парагвай, Філіппіни,

Росія, Сінгапур, Південна Африка, Південна Корея, Судан, Швейцарія, Тайвань, Таїланд, Туреччина, Сполучені Штати Америки, Уругвай, В'єтнам. Слід зазначити, що в цьому переліку Європейський Союз держав виступає як єдиний представник від усіх країн-членів.

Основним об'єктом даних, який описує генетично модифікований організм, є «подія», що містить інформацію про базовий вид і інтродуковану конструкцію, включаючи характеристики маркера і введеного гена(ів). Серед інших характеристик можна відзначити компанію, яка провела модифікацію і новонабуту ознаку організму. На сьогодні момент 57 організацій та приватних компаній провели вдалі розробки, випробування та комерціалізацію ГМ рослин. Загалом на сьогоднішній день із метою комерційного використання генетичної модифікації зазнало 29 видів рослин (табл.). База даних містить відомо-

Таблиця

Перелік ГМ рослин, створених з метою комерційного використання

Назва	Наукова (латинська) назва
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>
Apple	<i>Malus x domestica</i>
Argentine canola	<i>Brassica napus</i>
Bean	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Carnation	<i>Dianthus caryophyllus</i>
Chicory	<i>Cichorium intybus</i>
Cotton	<i>Gossypium hirsutum</i> L.
Creeping bentgrass	<i>Agrostis stolonifera</i>
Eggplant	<i>Solanum melongena</i>
Eucalyptus	<i>Eucalyptus</i> sp.
Flax	<i>Linum usitatissimum</i> L.
Maize	<i>Zea mays</i> L.
Melon	<i>Cucumis melo</i>
Papaya	<i>Carica papaya</i>
Petunia	<i>Petunia hybrida</i>
Plum	<i>Prunus domestica</i>
Polish canola	<i>Brassica rapa</i>
Poplar	<i>Populus</i> sp.
Potato	<i>Solanum tuberosum</i> L.
Rice	<i>Oryza sativa</i> L.
Rose	<i>Rosa hybrida</i>
Soybean	<i>Glycine max</i> L.
Squash	<i>Cucurbita pepo</i>
Sugar beet	<i>Beta vulgaris</i>
Sugarcane	<i>Saccharum</i> sp.
Sweet pepper	<i>Capsicum annuum</i>
Tobacco	<i>Nicotiana tabacum</i> L.
Tomato	<i>Lycopersicon esculentum</i>
Wheat	<i>Triticum aestivum</i>

сті про усталену назву (наприклад, люцерна – *Alfalfa*), наукову назву (*Medicago sativa*), звичайну назву англійською мовою (*Lucerne*), а також інформацію про біологічний вид і короткий опис конкретної культури.

Створена база даних містить інформацію щодо 113 генів, які були інтродуковані до тих чи інших культур для отримання нових корисних ознак, а саме інформацію про назву гена, організм-джерело цього гена, його продукт, функцію цього гена у геномі і організмі та ознаку, за наявності якої відповідає конкретний ген.

На сьогодні існує близько сотні методів виявлення ГМО, і їх кількість зростає з кожним днем [5–10]. Для побудови ефективної системи контролю ГМО розроблено або знаходиться в процесі розробки ряд методів, що базуються на аналізі білкових продуктів та нуклеотидних послідовностей генів, що їх кодують, а саме ELISA, індикаторні смужки (*lateral flow strip*), ПЛР, мікрочіпи та інші. Серед них ПЛР є найбільш популярним методом для детекції ГМО завдяки своїй універсальності (як для скринінгу, так і для ідентифікації), специфічності, високій пропускну здатності та ефективності [5–11]. Основними характеристиками, що описують певний метод виявлення ГМ матеріалу, що базується на ПЛР, є послідовність праймера, елемент, тип методу та тип зонду.

Водночас більшість методів базуються на аналізі наявності певних білків, що дозволяє реалізувати такий підхід у вигляді комерційних тест-наборів [5, 10]. Тому існує необхідність відстежувати як відкриті, так і комерційні набори та інші засоби для аналізу. Це є причиною того, що, наприклад, GMDD охоплює як комерційні набори, так і методи, які не є частиною таких комплектів. Джерелом інформації про методи детекції ГМ організмів є опубліковані наукові статті, звіти перевірки Community Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed (CRL-GMFF), національні та міжнародні стандарти, зокрема китайські і Міжнародної організації зі стандартизації (ISO) та інші.

Основними документальними даними, що пов'язані з подією-модифікацією, є статус валідації та звіт із валідації, а також звіт про оцінку ризику за умов його наявності. Для нашої бази даних інформація про подію генетичної модифікації і характеристики методів виявлення отримуються з бази даних GMO Detection method Database (GMDD). Дані про стан оцінки ризиків та сертифікацію ГМ культур і затвердження в ЄС надходять з EU Reference Laboratory for GM Food & Feed.

Веб-інтерфейс Українського порталу даних щодо генетично модифікованих рослин «Genetically Modified Plants Gateway».

The screenshot shows the GMPlantsGW website interface. The header includes the logo and the text "GMPlantsGW - Український шлюз до інформації по ГМ рослинам". The main content area is titled "Події ГМ" (GM Events) and displays a table of events. The table has columns for OECDUI, Name, Trade Name, Species, Culture, Developer, Traits, Genes, and Methods. Two entries are visible in the table.

OECDUI	Назва	Назва 2	Торгова назва	Вид	Культура	Розробник	Ознаки	Гени	Методи ГМ
MON-ØØ1Ø1-8 x MON-ØØ163-7	J101 x J163	J101, J163	Roundup Ready Alfalfa	Medicago sativa (Alfalfa)	Medicago sativa (Alfalfa)	Monsanto Company and Forage Genetics International	[Glyphosate herbicide tolerance]	cp4 epsps (aroA:CP4)	[Conventional breeding - cross hybridization and selection involving transgenic donor(s)]
MON-ØØ1Ø1-8	J101	J101, J163	Roundup Ready Alfalfa	Medicago sativa (Alfalfa)	Medicago sativa (Alfalfa)	Monsanto Company and Forage Genetics International	[Glyphosate herbicide tolerance]	cp4 epsps (aroA:CP4)	[Agrobacterium tumefaciens-mediated plant transformation]

Рис. Веб-інтерфейс Українського порталу даних про генетично модифіковані рослини “Genetically Modified Plants Gateway”

Розроблений Український портал даних щодо ГМ рослин “Genetically Modified Plants Gateway” (GMPlantsGW) знаходиться за адресою <http://gmpgw.ifbg.org.ua:8080/gmodb>.

У лівій частині міститься меню, яке дозволяє переглянути списки подій генетичної модифікації, ГМ культур, інтродукованих генів, новонабутих ознак, комерційних переваг, розробників генетичних модифікацій, країн, де сертифіковано ГМ культури та методи інтродукції чужерідних генів (рис.). Таблиця у кожному представленні дозволяє динамічний пошук даних за усіма колонками. Точний запит дозволяє швидко знайти конкретні події або переглянути список схожих записів.

Під час перегляду класифікаційних даних – ГМ культур, інтродукованих генів, новонабутих ознак, комерційних переваг, інформації про розробників генетичних модифікацій та країн, де сертифіковано ГМ культури, та методів інтродукції генів відображається список усіх пов’язаних ГМ-подій. Таким чином, це є основним критерієм пошуку події генетичної модифікації. Деталізований перегляд події містить детальні дані щодо генетичної модифікації і вставки, а саме інформації про вектор, промотор, кодуєчий регіон, джерело кодуєчого регіону, термінатор та інше.

Таким чином, за допомогою Українського порталу даних про ГМ рослини можна вирішити такі завдання:

- актуалізація інформації щодо ГМ видів та сортів сільськогосподарських культур, які можуть вирощуватися на території України;
- доповнення інформації первинних джерел даними, які отримані вітчизняними дослідниками;
- збір інформації щодо методів визначення ГМ сортів із різних джерел – патентні організації, спеціалізовані лабораторії, наукові стат-

ті і протоколи валідації, національні бюро з біобезпеки, державні та наддержавні організації та інші бази даних;

- наведення детальної інформації про переважну більшість наявних методів виявлення ГМО, в тому числі базову інформацію щодо ознаки ГМ організмів та трансформації, а також чітко класифіковану інформацію щодо методів виявлення ГМ організмів з функціями доповнення новими дослідницькими даними. Портал GMPlantsGW також є ефективною платформою для співпраці дослідників у галузі аналізу та детекції ГМ продукції рослинництва. Вона дозволяє полегшити розробку та впровадження нових методів детекції ГМ компонентів, прискорити процес обрання дослідниками методів, найбільш придатних для детекції ГМ компонентів в певних умовах, отримати вичерпну інформацію щодо нуклеотидних послідовностей вставок, методів їх детекції і посилань на регуляторні документи та дані з біобезпеки.

Висновки

Розроблено Український портал даних про генетично модифіковані рослини “Genetically Modified Plants Gateway”, що постійно оновлюється сертифікованими методиками та протоколами для аналізу вмісту генетично модифікованих компонентів у продуктах на основі рослинної сировини, адреса <http://gmpgw.ifbg.org.ua:8080/gmodb>.

Робота виконана в рамках науково-технічного проекту НАН України «Завершення розробки та впровадження спеціалізованої бази даних, інтегрованої в європейську мережу, для аналізу наявності генетично модифікованих компонентів у продуктах харчування, кормах та насінні», № Держреєстрації 0115U001643 (2015 р.).

ЛІТЕРАТУРА

1. James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops// ISAAA Brief. – ISAAA: Ithaca, NY, 2014. – № 49.
2. Kozub N.O., Pilipenko L.A., Sozinov I.O., Blume Ya.B., Sozinov O.O. Genetically modified plants and plant protection problems: progress and estimation of potential risks // Cytol. Genet. – 2012. – 46, № 4. – P. 251–262.
3. Novozhylov O.V., Blume Ya.B. Preliminary risk assessment of the transgenic plant use in Ukraine // AgBioForum. – 2014. – 17, № 3. – P. 191–196.
4. Корховий В.І., Смець А.І., Яцишин В.Ю. Методи відбору проб і підготовки зразків для детекції та визначення ГМО у сільськогосподарських рослинах і продуктах харчування, вироблених із них [Електронний ресурс] // Наукові доп. Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2015. – № 8 (57). – Режим доступу: http://nd.nubip.edu.ua/2015_8/15.pdf.
5. Miraglia M., Berdal K.G., Brera C. et al. Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain // Food Chem. Toxicol. – 2004. – 42. – P. 1157–1180.
6. García-Cañas V., Mondello M., Cifuentes A. Simultaneous detection of genetically modified organisms by multiplex ligation-dependent genome amplification and capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence // Electrophoresis. – 2010. – 31. – P. 2249–2259.

7. Nadal A., Coll A., La Paz J.L., Esteve T., Pla M. A new PCR-CGE (size and color) method for simultaneous detection of genetically modified maize events // *Electrophoresis*. – 2006. – 27. – P. 3879–3888.
8. Elenis D.S., Kalogianni D.P., Glunou K., Christopoulos T.K. Advances in molecular techniques for the detection and quantification of genetically modified organisms // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2008. – 392. – P. 347–354.
9. Блюм Я.Б., Банникова М.О., Карпов П.А., Комарницький І.К., Кучук М.В., Сорочинський Б.В. Впровадження методів оцінки наявності та вмісту генетично модифікованих компонентів у продуктах харчування, кормах і парфюмерно-косметичних виробках // *Наука та інновації*. – 2008. – 4, № 2. – С. 40–48.
10. Секан А.С., Сорочинський Б.В. Сучасні методи молекулярного аналізу генетично модифікованих рослин // *Біотехнологія*. – 2011. – 4, № 1. – С. 106–114.
11. Сорочинський Б.В., Бурлака О.М., Науменко В.Д., Секан А.С. Непередбачені ефекти генетичних модифікацій рослин та методи їхнього аналізу // *Цитологія и генетика*. – 2011. – 45, № 5. – С. 65–75.

SPIVAK S.I., YEMETS A.I., PIRKO Y.V., PYDIURA M.O., KARPOV P.A., ISAYENKOV S.V., BLUME Y.B.

Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine,

Ukraine 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2A, e-mail: Svetlana_spivak@ukr.net

DEVELOPMENT OF UKRAINIAN DATA PORTAL «GENETICALLY MODIFIED PLANTS GATEWAY»

Aim. Development of a specialized database as a tool for optimization and cost reduction of GM detection analysis in seeds, food and feed. **Methods.** The project is implemented as online application based on Grails – high-performance software framework for the Java platform web development. The language of programming is Groovy, based on Java. **Results.** The Ukrainian portal «Genetically Modified Plants Gateway» was developed. The developed online database is constantly updated by certified methodologies and protocols for GM content analysis in products originated from plants. A collection and integration of data and information related to authorized and commercial products containing GM from various types of sources and international databases was conducted. The information sources for the database comprise Centre for Biosafety and Sustainability, Centre for environmental risk assessment, existing databases Asian region and CIS countries. **Conclusions.** The Ukrainian data portal «Genetically Modified Plants Gateway» was developed. This database is constantly updated by certified methodologies and protocols for GM content analysis of genetically modified components in products developed from plants.

Keywords: database, PCR, genetically modified plant, detection.