



УДК 577.21

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ В КРАБОВЫХ ПРОДУКТАХ

*Н.М. Головченко, Г.П. Погосян, А.Н. Асланова, К.Г. Ли*

*dr.hadron@mail.ru*

Карагандинский государственный университет им. Е. А. Букетова, г. Караганда  
Лаборатория ДНК-диагностики «Здравница Дипнера», г. Караганда

В статье изложено изучение крабовых палочек различных фирм-производителей на предмет обнаружения в них генетически модифицированных организмов с использованием трех тест-систем: ПЛАНТ-СКРИН, терминатор Nos и ГМ-соя-40-3-2. В качестве метода применен ПЦР-анализ. В результате исследований выявлена трансгенная соя в 6-ти продуктах из 9-ти изученных.

Во всем мире рынок продуктов питания наводнен товарами, содержащими генетически модифицированные организмы. В сельских хозяйствах многих ведущих стран-экспортеров растительных продуктов питания и растительного сырья уже давно выращиваются растения с измененным генетическим кодом. Получение все новых трансгенных растений считается на данный момент одним из перспективных и наиболее развивающихся направлений биотехнологии в сфере агропроизводства [1, 2].

Трансгенными называют те виды растений, в которых успешно функционирует ген (или гены), пересаженные из других видов растений или животных [3].

Посевные площади под ГМ-растения ежегодно увеличиваются примерно на 60%. Очевидно, сейчас они превышают 50 млн. га, что составляет около 3-5% от площади всех занятых под посевы земель. В производстве пищевых продуктов используются 70% ГМ-сои, 25% ГМ-кукурузы, а также картофель, рис, рапс, томаты, сахарная свекла. Основной производителем продукции с содержанием ГМО – США 68%, 12% ГМ-продуктов производит Аргентина, 6% – Канада, 5% – Бразилия, 4% – Китай [web 13, 14, 15].

На данный момент нет достоверной научной информации, свидетельствующей о какой-либо опасности, присущей генетически модифицированным организмам (ГМО). Однако это не доказывает полное отсутствие рисков, связанных с

повсеместным внедрением ГМО. Противники ускоренного внедрения ГМ-организмов заявляют, что последствия от употребления в пищу таких продуктов имеют долгосрочный характер и проявляются через несколько поколений. В качестве доказательств приводятся опыты на животных, с ошеломляющими результатами. Учитывая огромное количество населения, потребляющих ГМ-сою, кукурузу, рис, картофель и др. растения, замедленные эффекты могут привести к массовым нежелательным последствиям [4, 5, 6].

Большая часть генетически модифицированных продуктов используется на экспорт. Однако в настоящее время все больше стран принимают законы об обязательной маркировке таких товаров и даже о запрете их ввоза на определенные территории [16].

В Казахстане вопросом ГМО обеспокоены лишь некоторые организации. Исследования, проводимые в этой области, ничтожно малы и не идут за пределы выявления ГМО в продуктах питания. Хотя и эти тесты дают результаты. К примеру, установлено, что 60-75% всех импортируемых в страну продуктов питания содержат ГМ-компоненты [web 17]. Отсутствие же необходимого оборудования в стране препятствует другим видам исследования.

Изложенное выше подтверждает необходимость изучения пищевых продуктов на предмет присутствия в них ГМО.



На сегодняшний день наиболее эффективным методом контроля наличия ГМО в продуктах питания является метод ПЦР, позволяющий не только выявить наличие ГМО в продуктах, но и определять их количество [7, 8].

**Целью** данного исследования было тестирование крабовых продуктов, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), на наличие в них ГМИ в трех тест-системах: «ПЛАНТ-СКРИН», «Терминатор Nos» и «ГМ-соя-40-3-2».

**Критериями** отбора продуктов служили: доступность цен; распространенность

на рынке продуктов питания; отсутствие маркировки на содержание ГМИ.

**Результаты** настоящей работы могут быть использованы для информирования населения о наличии ГМИ в крабовых продуктах.

### Материалы и методы

**Материалы.** В качестве исследуемых продуктов выбрали группу крабовых продуктов, широко представленную в местной розничной торговле. Наименование продуктов, а также список марок (компаний-изготовителей) представлены в таблице 1.

Таблица 1

#### Тестируемые образцы

№	Название продукта	Марка (Компания-изготовитель)
1	Снежный краб	«VICI» ООО «Вичюнай Русь»
2	Краб Крабыч	Россия, Калининградская обл., г. Советск,
3	Сочные	ул. Маяковского, 3б, тел.: 8-401-61-3-68-68
4	Оранжевый краб	
5	Мистер Краб	«ЗАРИНА ИМПЕКС» ТОО «Зарина Импекс» Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Бурундайская, 93б, тел.: (7272) 35-83-89
6	Crab STICKS	«SURIMI» завод АЙЕ ШАНЬ Китай
7	Крабовые палочки	«ВЛМ Карельский Комбинат» филиал ООО «Фирма МИР», 186790, Россия, р. Карелия, г. Сортавала, ул. Промышленная, 8, тел.: (921) 404-25-00
8	Крабовые палочки. Сочные	«ХЛАДОЛЕН» по заказу ТОО «Хладоленд» Республика Казахстан, г. Уральск, пр. Абулхаир Хана, 6А, тел.: (7112) 53-17-38
9	Палочки крабовые. Замороженные	«МОРЕСКО» СП «Санта Беримор» Республика Беларусь, г. Брест, ул. Катин Бор, 10б, тел.: +375-162-29-90-29

**Методы.** В качестве метода молекулярно-генетического анализа на предмет обнаружения ГМИ применяли полимеразную цепную реакцию (ПЦР), позволяющую выявить ничтожно малые фрагменты ДНК с помощью многократной их амплификации.

Выделение ДНК из описанных продуктов осуществляли с применением комплекта «ДНК-сорб-С» вариант 50. В настоящей процедуре использовали сорбент универсальный для осаждения молекул ДНК.

Амплификацию последовательности промотора 35S, а также генов сои и кукурузы проводили с использованием комплекта «АмплиСенс вариант 50-R ПЛАНТ-СКРИН», последовательности терминатора Nos осуществляли с применением набора «АмплиСенс вариант 50-R Терминатор Nos»,

последовательности ДНК генетически-модифицированной сои линии 40-3-2, с помощью набора реактивов «АмплиСенс вариант 50-R ГМ-соя 40-3-2».

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР в агарозном геле проводили с помощью комплекта «ЭФ вариант 300». Все наборы реактивов произведены «ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора».

Анализ результатов электрофореза проводили обрабатывая полученные данные с помощью компьютерной системы Totallab.

### Результаты и обсуждение

Для скрининга на наличие ГМИ первоначальные эксперименты проводили с применением тест-системы «ПЛАНТ-



СКРИН». После выделения ДНК из всех тестируемых образцов ставили реакции амплификации в соответствующем режиме. Число циклов составляло 42. По окончании ПЦР продукты амплификации анализировали процедурой электрофореза в агарозном геле. Применяли положительный и отрицательный контрольные образцы (ПКО и ОКО соответственно). В данной тест-системе применяли 2 варианта ПКО для выявления генетически модифицированной сои (ПКО 1) и кукурузы (ПКО 2). Для достоверности полученных результатов эксперимент повторяли по три раза с каждым образцом. Фотография электрофореза представлена на рисунке 1.

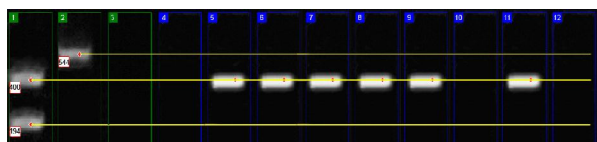


Рис. 1. Электрофореграмма ДНК, амплифицированных с применением тест-системы «ПЛАНТ-СКРИН»

1. ПКО 1 соя 400 и 194 п.н.
2. ПКО 2 кукуруза 544 п.н.
3. ОКО.
4. Снежный краб. «VICI»
5. Краб Крабыч. «VICI»
6. Сочные. «VICI»
7. Оранжевый краб. «VICI»
8. Мистер Краб. «ЗАРИНА ИМПЕКС»
9. Crab STICKS. «SURIMI»
10. Крабовые палочки. «ВЛМ Карельский Комбинат»
11. Крабовые палочки. Сочные «ХЛАДОЛЕН»
12. Палочки крабовые. Замороженные «МОРЕСКО»

Исходя из результатов исследования, с помощью данной тест-системы обнаружены фрагменты ДНК, размером 400 п.н., что соответствует длине амплифицированных фрагментов ДНК генома сои в 6 исследуемых образцах: Краб Крабыч. «VICI», Сочные. «VICI», Оранжевый краб. «VICI», Мистер Краб. «ЗАРИНА ИМПЕКС», Crab STICKS. «SURIMI», Крабовые палочки. Сочные «ХЛАДОЛЕН».

Не обнаружено фрагментов ДНК размером 544 и 194 п.н., соответствующих геному кукурузы и промотору 35S соответственно. Отсутствие каких-либо флуоресцирующих полос ДНК в дорожке 3, соответствующей ОКО, доказывает достоверность полученных результатов. Следовательно, 6 из 9 проанализированных продуктов содержали ГМИ линий сои, наличие которых обнаруживается применением данной тест-системы.

Следуя рекомендациям «Инструкции АмплиСенс-50-R», при получении отрицательного результата в тест-системе «ПЛАНТ-СКРИН», необходимо проверить исследуемые продукты с комплектом реагентов «Терминатор NOS» и «ГМ соя 40-3-2». Все исследуемые объекты тестировали в описанных системах.

Процедуру выделения ДНК материала из исследуемых образцов проводили без изменений. С выделенными ДНК образцами ставили ПЦР с использованием тест-системы «Терминатор NOS» в соответствующем режиме с количеством циклов амплификации 42. По окончании реакций проводили детекцию продуктов в электрофорезном геле. Результаты приведены на рисунке 2.

В настоящем электрофорезе не использована дорожка 3. Такую нумерацию использовали для сохранения последовательности объектов, приведенных в таблице 1. В ходе анализа полученных результатов ни в одном исследуемом продукте не были выявлены искомые фрагменты ДНК, соответствующие ПКО данной тест-системы (180 п.н.).



Рис. 2. Электрофореграмма ДНК, амплифицированных с применением тест-системы «Терминатор NOS».

1. ПКО 180 п.н.
2. ОКО
3. -----
4. Снежный краб. «VICI»
5. Краб Крабыч. «VICI»



6. Сочные. «VICI»
7. Оранжевый краб. «VICI»
8. Мистер Краб. «ЗАРИНА ИМПЕКС»
9. Crab STICKS. «SURIMI»
10. Крабовые палочки. «ВЛМ Карельский Комбинат»
11. Крабовые палочки. Сочные «ХЛАДОЛЕН»
12. Палочки крабовые. Замороженные «МОРЕСКО»

После скрининговых исследований рекомендуется использовать другие тест-системы, позволяющие определить конкретные линии генетически модифицированной сои, возможно, использованной в производстве данного продукта. Последующие эксперименты проводили с применением тест-системы «ГМ соя 40-3-2» с целью выявления фрагментов генетически модифицированной сои линии «40-3-2».

Процедуру выделения ДНК, постановку реакции амплификации, электрофорез, а также его детекцию и анализ с помощью компьютерной системы проводили без изменений. Картина электрофореза амплифицированных фрагментов ДНК приведена на рисунке 3.

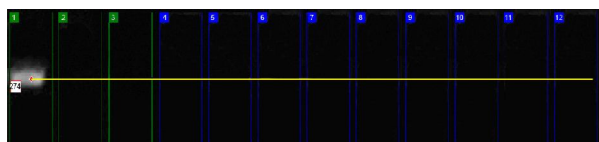


Рис. 3. Электрофореграмма ДНК, амплифицированных с применением тест-системы «ГМ соя 40-3-2».

1. ПКО 274 пн.
2. ОКО
3. -----
4. Снежный краб. «VICI»
5. Краб Крабыч. «VICI»
6. Сочные. «VICI»
7. Оранжевый краб. «VICI»
8. Мистер Краб. «ЗАРИНА ИМПЕКС»
9. Crab STICKS. «SURIMI»
10. Крабовые палочки. «ВЛМ Карельский Комбинат»
11. Крабовые палочки. Сочные «ХЛАДОЛЕН»

12. Палочки крабовые. Замороженные «МОРЕСКО»

В этом эксперименте положительный результат, соответствующий размерам амплифицированных фрагментов ДНК 274 п.н., не показал ни один из исследуемых образцов.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об отсутствии ГМ-сои линии 40-3-2 во всех исследуемых образцах крабовых продуктов в данной тест-системе.

Сводные данные о результатах исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

### Результаты исследования

№	Название продукта	Марка	П-С	NOS	ГМ
1	ПКО Соя		+	-	+
2	ПКО Кукуруза		+	+	-
3	ОКО		-	-	-
4	Снежный краб	«VICI»	-	-	-
5	Краб Крабыч		+	-	-
6	Сочные		+	-	-
7	Оранжевый краб		+	-	-
8	Мистер Краб	«ЗАРИНА ИМПЕКС»	+	-	-
9	Crab STICKS	«SURIMI»	+	-	-
10	Крабовые палочки	«ВЛМ Карельский Комбинат»	-	-	-
11	Крабовые палочки. Сочные	«ХЛАДОЛЕН»	+	-	-
12	Палочки крабовые. Замороженные	«МОРЕСКО»	-	-	-

В настоящее время продолжают исследования крабовых продуктов на предмет содержания в них генетически модифицированных компонентов. Дальнейшие исследования предполагают расширение спектра изучаемых объектов, а также тестирование других мясопродуктов с целью обнаружения в их составе трансгенных растений (соя, кукурузы и др.).

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. С применением скрининговой тест-системы «ПЛАНТ-СКРИН» обнаружены фрагменты ДНК размером 400 п.н., что



соответствует длине амплифицированных фрагментов ДНК генома сои в 6 исследуемых образцах: Краб Крабыч. «VICI», Сочные. «VICI», Оранжевый краб. «VICI», Мистер Краб. «ЗАРИНА ИМПЕКС», Crab STICKS. «SURIMI», Крабовые палочки. Сочные «ХЛАДОЛЕН». Не обнаружены фрагменты ДНК размерами 194 и 544 п.н.

2. С использованием тест-системы

«Терминатор NOS» искомые фрагменты ДНК размерами 180 п.н., соответствующие ПКО генома кукурузы линии GA-21, не обнаружены ни в одном из исследуемых образцов.

3. Не обнаружены компоненты трангенной сои линии 40-3-2 при анализе с применением тест-системы «ГМ соя 40-3-2» ни в одном из тестируемых образцов.

## Литература

1. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. – М.: Наука, 1988. – 304 с.
2. ГМО – зона повышенного риска / Под ред. Е. Климова. – Алматы: Спектр, 2003. – 52 с.
3. Андреева А.П. Биотехнология. – Караганда: Изд-во КарГУ, 2004. – 191 с.
4. Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – №6. – С. 3-8.
5. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
6. Копейкина В.Б. ГМО: контроль над обществом или общественный контроль. – М.: Эремурус, 2005.
7. Лихтенштейн К., Дрейпер Дж. Генетическая инженерия растений // Клонирование ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера. – М.: Мир, 1988. – С. 315-380.
8. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. – Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2004. – 496 с.
9. Картахенский протокол по биобезопасности к Конвенции о биологическом разнообразии 29 февраля 2000 года.
10. Лаутова А.А. Генетическая инженерия растений: свершения и надежды // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – №10. – С. 10-17.
11. Дейнеко Е.В., Загорская А.А., Шумный В.К. Т-ДНК – индуцированные мутации у трансгенных растений // Генетика. – 2007. – Т. 43, №1. – С. 5-18.
12. J.G. Carrau, R.C. Lopez The GMO regulation in the EU and the commercial conflict with the United States report on 10 congress EAAE, Exploring Diversity in the European Agri-Food System, Zaragoza, Spain, 28-31 August 2002.
13. <http://www.biotechnolog.ru>
14. <http://www.greenpeace.org>
15. <http://www.antigreen.org>
16. <http://www.biogene.ru>
17. <http://www.biosafety.ru>
18. <http://gmobelarus.by>
19. <http://www.nkj.ru>

## Түйін

Мақалада ПЛАНТ-СКРИН, терминатор Nos және ГМ-соя-40-3-2 тест-жүйелері қолдануымен әртүрлі фирма-өндірушілерінің краб таяқшаларында генетикалық модификацияланған ағзалардың бар болуының зерттеуі мазмұндалған. Әдіс ретінде ПШР-талдауы қолданылған. Зерттеулер нәтижесінде тоғыз (9) талданған өнімдердің ішінен алтауында (6) трансгендік соя табылған.

## Summary

Researching of crab's stick of different firms for detection genetically modified organisms is described in this article. Three test-systems was used in these experiments: PLANT-SCREEN, terminator Nos and GM-soy-40-3-2. PCR-analysis was used as a method of investigation. Nine kinds of crab's stick was researched. Transgenic soy was detected in the six products.