
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК

CAC/GL 68-2008

РАЗДЕЛ 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1. Настоящие методические указания соответствуют принципам анализа рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методами современной биотехнологии. В них рассматриваются аспекты безопасности и питательных свойств пищевых продуктов, получаемых от животных, традиционно являвшихся безопасным источником пищи и модифицированных методами современной биотехнологии с целью получения новых или изменения существующих признаков.¹

2. Выведение, выращивание и использование животных для потребностей человека, и в частности для употребления в пищу, поднимает целый ряд вопросов, не ограничивающихся безопасностью пищевых продуктов. Не затрагивая вопросов легитимности и значимости методов рекомбинантной ДНК, а также вопроса о том, способно ли применение этих методов для выведения животных, от которых предполагается получать пищевые продукты, повлиять на эти вопросы, и каким образом, настоящие указания затрагивают только вопросы безопасности пищевых продуктов и вопросы питания. Соответственно, в них не рассматриваются такие вопросы, как:

- защита животных;
- этические, моральные и социально-экономические аспекты;
- экологические риски, связанные с попаданием продовольственных животных с рекомбинантной ДНК в живую природу;
- безопасность кормовых животных с рекомбинантной ДНК, или безопасность животных, получающих корм, приготовленный из животных, растений и микроорганизмов с рекомбинантной ДНК.

3. Сформулированные Кодексом принципы анализа рисков (в частности, принципы оценки рисков) применимы преимущественно к отдельным химическим соединениям, таким как пищевые добавки и остатки пестицидов, или к конкретным химическим или микробным загрязняющим примесям, несущим в себе определенные опасности и риски. Однако они не предназначены для применения непосредственно к пищевым продуктам. Действительно, лишь немногие пищевые продукты, независимо от их происхождения, получили научную оценку, полностью охарактеризовавшую все сопряженные с их употреблением риски. Более того, во многих пищевых продуктах содержатся вещества, которые с большой долей вероятности были бы признаны вредными при проверке на безопасность, выполняемой традиционными методами. Таким образом, при рассмотрении вопроса о безопасности самого пищевого продукта требуется более целенаправленный подход.

4. Настоящий подход предлагает оценивать безопасность пищевых продуктов, полученных от животных новых линий (в том числе с рекомбинантной ДНК) путем сопоставления с обычными аналогами, которые традиционно считаются безопасными, с учетом как предполагаемых, так и непредусмотренных эффектов. Вместо того чтобы пытаться выявить все опасности употребления того или иного пищевого продукта, предполагается выявлять новые или изменившиеся факторы риска по сравнению с обычным аналогом.

5. Такой подход к оценке безопасности соответствует концепции оценки риска, рассмотренной в разделе 3 документа «Принципы анализа рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методами современной биотехнологии». Если во время оценки безопасности будут выявлены новые опасности, изменения в факторах риска, проблемы, касающиеся питательных свойств или другие проблемы безопасности пищевых продуктов, сначала нужно будет оценить сопряженные с ними риски на предмет существенности для здоровья человека. По итогам оценки безопасности (и, при необходимости, дальнейшей оценки риска) в отношении пищевого продукта будут приняты меры по управлению риском, предусмотренные документом «Принципы анализа рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методами современной биотехнологии», прежде чем рассматривать возможность его коммерческого распространения.

6. При выполнении оценки риска могут быть полезны такие меры по управлению рисками, как послепродажный мониторинг влияния продукта на здоровье потребителей. Эти меры рассмотрены в документе «Принципы анализа рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методами современной биотехнологии» (п. 20).

¹ Настоящие методические указания разработаны в первую очередь для животных, несущих наследуемые конструкции рекомбинантной ДНК.

7. В настоящих методических указаниях описан рекомендуемый подход к оценке безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, у которых существуют обычные аналоги, и определены данные, которые в общем случае следует учитывать при проведении такой оценки.² Подход к оценке безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, должен учитывать все нижеперечисленные аспекты:

- А) характер конструкции рекомбинантной ДНК и продуктов ее экспрессии, если таковые имеются;
- В) состояние здоровья животного с рекомбинантной ДНК;
- С) состав пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, включая основные питательные вещества.

Хотя настоящие методические указания составлены для пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, описанный в них подход в целом применим и к пищевым продуктам, полученным от животных, модифицированных другими методами³.

8. Для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов используются самые разные виды животных (например, млекопитающие, птицы, пелагические рыбы и моллюски), которые могут быть модифицированы с помощью методов нуклеиновых кислот *in vitro*. Ввиду совокупного воздействия генетического разнообразия, содержания и условий выращивания или сбора таких животных, безопасность пищевых продуктов следует оценивать в индивидуальном порядке с учетом основных положений, изложенных в настоящих методических указаниях.

РАЗДЕЛ 2. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

9. В настоящем документе применяются следующие определения:

Животное с рекомбинантной ДНК. Животное, генетический материал которого изменен с помощью методов модификации нуклеиновых кислот *in vitro*, в том числе с применением рекомбинантной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и прямого введения нуклеиновой кислоты в клетки или органеллы.

Обычный аналог. Порода животных, традиционно используемая в качестве безопасного источника пищи, из которой была выведена линия животных с рекомбинантной ДНК, а также партнеры по размножению, используемые для выведения животных, в конечном итоге употребляемых в пищу, и (или) пищевые продукты, полученные от таких животных⁴.

РАЗДЕЛ 3. ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ. ВВЕДЕНИЕ

10. По сложившейся традиции пищевые продукты, полученные от животных, выведенных путем традиционной селекции или полученных от диких видов, не проходят систематическую всестороннюю оценку химических, токсикологических и питательных свойств перед поступлением в продажу. Таким образом, хотя новые породы животных часто оцениваются селекционерами по фенотипическим свойствам, их не подвергают строгим комплексным процедурам проверки безопасности пищевых продуктов, в частности, валидированным исследованиям токсичности на подопытных животных, которые обычно проводят для оценки безопасности присутствующих в пищевых продуктах химических веществ, например пищевых добавок или загрязняющих примесей. Вместо этого пища, полученная от животного с известным и приемлемым состоянием здоровья, обычно считается пригодной для потребления человеком.

11. Использование животных моделей для оценки токсикологических конечных точек является основным элементом оценки риска многих соединений, в том числе пестицидов. Однако в большинстве случаев анализируемое вещество хорошо описано, имеет известную чистоту, не обладает особой пищевой ценностью, а его воздействие на человека относительно невелико. Поэтому относительно простой способ исследования

² Подход к оценке безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, впервые был озвучен в 1991 году на совместной консультации экспертов ФАО/ВОЗ по вопросам стратегий оценки безопасности пищевых продуктов, произведенных с помощью методов биотехнологии. Дальнейшая разработка рекомендованного подхода была предпринята в 2003 году на совместной консультации экспертов ФАО/ВОЗ по оценке безопасности пищевых продуктов, полученных из генетически модифицированных животных, включая рыбу.

³ Оценка безопасности пищевых продуктов, полученных от животных, несущих ненаследуемые конструкции, может потребовать рассмотрения особых факторов, например, опасностей, определенных на Совместной консультации экспертов ФАО/ВОЗ по оценке безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, проходившей в 2007 г.

⁴ Следует отметить, что в обозримом будущем пищевые продукты, полученные методами современной биотехнологии, не будут использоваться в качестве традиционных аналогов.

заключается в скармливании таких соединений животным в дозах, на несколько порядков превышающих ожидаемое потребление человеком, чтобы выявить какие-либо потенциальные неблагоприятные последствия для здоровья, представляющие интерес для человека. Как правило, этот способ позволяет определить уровень воздействия, при котором не наблюдается неблагоприятных последствий, и установить безопасные уровни потребления с учетом соответствующих коэффициентов безопасности.

12. Однако такой подход к испытаниям на подопытных животных не вполне подходит для оценки риска употребления пищевых продуктов как таковых, поскольку пищевые продукты представляют собой сложные смеси соединений, зачастую весьма неоднородного состава и питательной ценности. Объем пищевых продуктов и их влияние на насыщение обычно не позволяют скармливать их подопытным животным в количестве, превышающем предполагаемое потребление человеком более чем в несколько раз. Кроме того, ключевым фактором, который необходимо учитывать при проведении подобных испытаний на животных, является питательная ценность и сбалансированность используемых рационов. В противном случае могут возникать неблагоприятные эффекты, не связанные непосредственно с испытуемым материалом. Таким образом, выявить какие-либо потенциальные неблагоприятные эффекты и однозначно связать их с конкретными свойствами пищевого продукта может быть крайне сложно. Если характеристика пищевого продукта показывает, что имеющихся данных для проведения тщательной оценки безопасности недостаточно, можно заказать проведение надлежащим образом спланированного исследования самого пищевого продукта на подопытных животных. Еще одним соображением при определении необходимости исследований на животных является вопрос о том, целесообразно ли подвергать подопытных животных исследованиям, которые вряд ли позволят получить значимую информацию.

13. В связи с трудностями применения традиционных методов токсикологического исследования и оценки риска к самим пищевым продуктам и с учетом опыта оценки безопасности пищевых продуктов, оценка безопасности пищевых продуктов животного происхождения (в том числе полученных от животных с рекомбинантной ДНК) требует более целенаправленного подхода. Эта проблема была решена путем разработки междисциплинарного подхода к оценке безопасности с учетом как предполагаемых, так и непредусмотренных изменений, которые могли произойти в животном или в полученных от него пищевых продуктах, основанного на концепции существенной эквивалентности.

14. Концепция существенной эквивалентности является ключевым этапом в процессе оценки безопасности. Однако сама по себе она не является оценкой безопасности и, скорее, представляет собой отправную точку для построения плана оценки безопасности нового пищевого продукта относительно обычного аналога. Эта концепция используется для выявления сходств и различий между новым пищевым продуктом и его обычным аналогом⁵. Она помогает выявить потенциальные проблемы безопасности и проблемы, связанные с питательными свойствами, и считается наиболее подходящей на сегодняшний день стратегией оценки безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК. Данный способ оценки безопасности рассматривает не абсолютную безопасность нового продукта, а безопасность всех выявленных различий, чтобы понять, можно ли считать новый продукт безопасным по сравнению с обычным аналогом.

НЕПРЕДУСМОТРЕННЫЙ ЭФФЕКТ

15. Придание растению конкретных признаков (предполагаемый эффект) путем введения определенных последовательностей ДНК в некоторых случаях может привести к появлению дополнительных признаков или к утрате или изменению существующих признаков (непредусмотренный эффект). Возможность возникновения непредусмотренных эффектов не ограничивается применением методов модификации нуклеиновых кислот *in vitro*. Скорее это изначальное и общее явление, которое может иметь место как при обычной селекции, так и в контексте вспомогательных репродуктивных технологий, применяемых в настоящее время. Непредусмотренные эффекты могут быть вредными, полезными или нейтральными для здоровья животного или безопасности получаемых от него пищевых продуктов. У животных с рекомбинантной ДНК непредусмотренные эффекты могут также возникать в результате вставки последовательностей ДНК и (или) в результате последующей традиционной селекции. При проведении оценки безопасности необходимо учитывать данные, позволяющие снизить вероятность того, что пищевой продукт, полученный от животного с рекомбинантной ДНК, окажет неожиданное неблагоприятное воздействие на здоровье человека.

16. Непредусмотренные эффекты могут возникнуть в результате случайной вставки последовательностей ДНК в геном животного, что может привести к нарушению или выключению существующих генов, активации молчащих генов или изменению экспрессии существующих генов. Непредусмотренные эффекты могут также привести к образованию новых или изменению существующих моделей метаболитов.

⁵ Концепция существенной эквивалентности, описанная в отчете по итогам совместных консультаций экспертов ФАО/ВОЗ 2000 г. (документ WHO/SDE/PHE/FOS/00.6, ВОЗ, Женева, 2000 г.). Работа над концепцией существенной эквивалентности была продолжена в контексте сравнительной оценки безопасности в 2003 году на совместной консультации экспертов ФАО/ВОЗ по оценке безопасности пищевых продуктов, полученных от генетически модифицированных животных, включая рыбу.

17. Возникающие в результате применения методов модификации нуклеиновых кислот *in vitro* непредусмотренные эффекты подразделяют на «предсказуемые» и «неожиданные». Многие непредусмотренные эффекты в значительной степени предсказуемы с учетом вводимого признака и его метаболических связей или места вставки. Расширение знаний о геномах животных и дальнейшее освоение методов модификации нуклеиновых кислот *in vitro* может упростить прогнозирование непредусмотренных эффектов конкретной модификации. Так, в некоторых случаях гомологичная рекомбинация обеспечивает точное размещение генов и, таким образом, может уменьшить возникновение нежелательных эффектов, связанных со случайной интеграцией. Для анализа изменений на уровне транскрипции и трансляции, способных вызвать непредусмотренные эффекты, также можно использовать молекулярно-биологические и биохимические методы. Все они должны рассматриваться в индивидуальном порядке.

18. Оценка безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, включает методы выявления и обнаружения таких непредусмотренных эффектов и процедуры оценки их биологической значимости и потенциального влияния на безопасность. Для оценки непредусмотренных эффектов необходимо большое количество разнообразных данных, поскольку ни один отдельный тест не может выявить всех возможных непредусмотренных эффектов или с уверенностью выделить среди них те, которые могут иметь значение для здоровья человека. Утверждать, что пищевой продукт, скорее всего, не окажется вредным для здоровья, можно только после рассмотрения совокупности всех этих данных. Оценка непреднамеренных эффектов учитывает фенотипические свойства животного, которые обычно отслеживаются селекционерами в процессе выведения и улучшения поголовья. Эти наблюдения обеспечивают первый уровень отбора животных с рекомбинантной ДНК, проявляющих непредусмотренные признаки. Животные с рекомбинантной ДНК, прошедшие этот отбор, подвергаются оценке безопасности, описанной в разделах 4 и 5.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

19. Оценка безопасности представляет собой поэтапный процесс рассмотрения существенных факторов, в том числе:

- A) общее описание животного с рекомбинантной ДНК;
- B) описание животного-реципиента до модификации⁶ и его употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов;
- C) описание организма-донора или другого источника (источников) введенной рекомбинантной ДНК;
- D) описание генетических модификаций, включая конструкции, использованные для введения рекомбинантной ДНК;
- E) описание методов, используемых для получения исходного животного⁷ с рекомбинантной ДНК, и процессов получения животного с рекомбинантной ДНК, предназначенного для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов;
- F) Описание генетических модификаций в животном с рекомбинантной ДНК, предназначенном для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов.
- G) оценку безопасности:
 - a) состояние здоровья животного с рекомбинантной ДНК;
 - b) экспрессированные вещества (помимо нуклеиновых кислот);
 - c) анализ состава основных компонентов;
 - d) хранение и переработка пищевых продуктов;
 - e) предполагаемое изменение питательных свойств;
- H) другие факторы.

20. В некоторых случаях характеристики пищевого продукта могут потребовать сбора дополнительных данных для изучения вопросов, которые являются уникальными для рассматриваемого продукта.

21. Эксперименты, нацеленные на получение данных для оценки безопасности, следует проводить в соответствии со здоровыми научными концепциями и принципами, а также, при необходимости, с надлежащей лабораторной практикой. Первичные данные следует предоставлять регулирующим органам по запросу.

⁶ Не путать с суррогатной матерью.

⁷ Первое животное, полученное в результате введения конструкции рекомбинантной ДНК. Иногда его называют животным-основателем.

Данные должны быть получены с помощью надежных научных методов и проанализированы с использованием соответствующих статистических приемов. Аналитические методы должны быть описаны в документации.⁸

22. Целью каждой оценки безопасности является обеспечение уверенности в том, что, в свете последних научных знаний, при приготовлении, использовании и (или) употреблении по назначению пищевой продукт не причиняет вреда. Оценка безопасности должна затрагивать аспекты здоровья всего населения, включая людей с ослабленным иммунитетом, младенцев, пожилых людей и людей с гиперчувствительностью к пище. Ожидаемым выводом такой оценки будет заключение о том, является ли новый пищевой продукт столь же безопасным, что и его обычный аналог, с учетом влияния на рацион любых изменений в содержании питательных веществ или ценности пищевого продукта. По сути, результатом процесса оценки безопасности является определение рассматриваемого продукта таким образом, чтобы специалисты по управлению рисками смогли определить необходимость принятия каких-либо мер для защиты здоровья потребителей и вынести обоснованные и приемлемые решения в этой связи.

РАЗДЕЛ 4. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

ОБЩЕЕ ОПИСАНИЕ ЖИВОТНОГО С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК

23. Необходимо дать описание животного с рекомбинантной ДНК, представленного для оценки безопасности. Это описание должно определять введенную рекомбинантную ДНК, метод, с помощью которого рекомбинантная ДНК вводится животному-реципиенту, и животное с рекомбинантной ДНК, предназначенное для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов, а также цель модификации. Следует учитывать возможный риск занесения патогенных элементов (например, элементов, ответственных за передающиеся губчатые энцефалопатии и другие инфекционные заболевания), происходящих из биологических материалов, используемых в качестве источников или в процессе производства. Описание должно быть достаточным для понимания природы и типа пищевого продукта, представленного для оценки безопасности.

ОПИСАНИЕ ЖИВОТНОГО-РЕЦИПИЕНТА ДО МОДИФИКАЦИИ И ЕГО УПОТРЕБЛЕНИЯ В ПИЩУ ИЛИ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

24. Необходимо дать полное описание животного-реципиента до модификации. Помимо прочего, в нем должны присутствовать следующие данные:

- А) общепринятое или бытовое название; научное название; таксономическая классификация;
- В) история селекции, в частности выявление признаков, способных отрицательно повлиять на здоровье человека;
- С) информацию о генотипе и фенотипе животного, имеющую отношение к вопросам безопасности, включая любую известную токсичность или аллергенность, симбиоз с организмами, вырабатывающими токсины, потенциал колонизации патогенами человека;
- Д) информацию о влиянии корма, физических нагрузок и условий выращивания на пищевые продукты;
- Е) историю безопасного употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов.

25. Соответствующие фенотипические данные должны быть представлены не только в отношении животного-реципиента до модификации, но и в отношении животных родственных линий, а также животных, которые оказали или могут оказать существенное влияние на генетическое окружение животного-реципиента до модификации, если применимо.

26. История использования может включать информацию о размножении и росте животных, о способе получения пищевых продуктов (например, урожай, убой, доение), и об условиях, в которых эти пищевые продукты становятся доступными для потребителя (например, хранение, транспортировка, переработка). Следует также учитывать, в какой степени пищевые продукты обеспечивают важными питательными компонентами конкретные подгруппы населения и какие важные питательные макро- или микроэлементы они вносят в рацион.

ОПИСАНИЕ ОРГАНИЗМА-ДОНОРА ИЛИ ДРУГИХ ИСТОЧНИКОВ ВВЕДЕННОЙ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК

27. Необходимо предоставить следующую информацию:

- А) была ли рекомбинантная ДНК синтезирована и не происходит ли она из известного природного источника;
- В) если ДНК получена из другого организма:

⁸

См. «Общие критерии выбора методов анализа» в Руководстве по процедурам Кодекса Алиментариус.

- i. общепринятое или бытовое название этого организма;
- ii. научное название;
- iii. таксономическую классификацию;
- iv. исторические факты, представляющие интерес с точки зрения безопасности употребления в пищу;
- v. информацию о токсинах природного происхождения и аллергенах;
- vi. для микроорганизмов — дополнительную информацию о патогенности (для человека или животного) и связи с известными патогенами человека или животных;
- vii. для доноров животного или вирусного происхождения — информацию об использованном исходном материале (например, культуре клеток) и его происхождении;
- viii. информацию о пищевом применении в прошлом и в настоящем и о путях воздействия, отличных от предполагаемого способа употребления в пищу (например, возможное присутствие примесей).

Особенно важно определить, вызывают ли последовательности рекомбинантной ДНК патогенность или образование токсинов, или обладают ли они другими свойствами, способными повлиять на здоровье человека (например, аллергенностью).

ОПИСАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ, ВКЛЮЧАЯ КОНСТРУКЦИИ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК

28. Необходимо представить достаточные сведения о генетической модификации, позволяющие идентифицировать весь генетический материал, потенциально переданный животному-реципиенту, а также необходимую информацию для анализа данных, подтверждающих характеристику ДНК, введенной животному с рекомбинантной ДНК, предназначенному для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов.

29. Описание процесса введения и встраивания (при необходимости) рекомбинантной ДНК в организм животного-реципиента должно включать:

- A) информацию о конкретных методах трансформации;
- B) если применимо, информацию о ДНК, используемой для модификации животного (например, гены, кодирующие белки, используемые для упаковки векторов), включая источник, идентификацию и ожидаемую функцию в организме животного:
 - если использовались вирусные векторы или известные зоонозные организмы, информацию об их естественных хозяевах, органах-мишенях, способе передачи, патогенности и потенциале рекомбинации с эндогенными или экзогенными патогенами;
- C) информацию о промежуточных организмах-хозяевах, включая организмы (например, бактерии), используемые для производства или обработки ДНК, используемой для получения исходного животного с рекомбинантной ДНК.

30. Необходимо представить информацию о вводимой ДНК, в том числе:

- A) первичную последовательность ДНК, если рекомбинантная ДНК была синтезирована и не происходит из известного природного источника;
- B) характеристику всех генетических компонентов, включая маркерные гены, регуляторные и другие элементы, влияющие на экспрессию и функцию ДНК;
- C) размер и идентификацию;
- D) расположение и ориентацию последовательности в конечном векторе/конструкции;
- E) функцию.

ОПИСАНИЕ МЕТОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИСХОДНОГО ЖИВОТНОГО С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК, И ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ ЖИВОТНОГО С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ УПОТРЕБЛЕНИЯ В ПИЩУ ИЛИ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

31. Необходимо предоставить информацию о различных методах и процессах, которые используются для введения рекомбинантной ДНК с целью получения исходного животного с рекомбинантной ДНК. Примеры возможных методов могут включать трансформацию гамет, микроинъекцию ранних эмбрионов, ядерный перенос трансгенных клеток.

32. Необходимо дать описание методов, используемых для демонстрации наследственности, в том числе описание того, как достигается наследственность (например, разведение мозаичных животных для получения истинных инсерций, передающихся с первичными клетками).

33. Хотя исходные животные с рекомбинантной ДНК обычно не предназначены для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов, знание метода получения этих животных может быть полезным для выявления опасностей.

34. Также необходимо предоставить информацию о том, как от исходного животного с рекомбинантной ДНК получают животное, предназначенное для употребления в пищу или применения в производстве пищевых продуктов. Если применимо, эта информация должна включать сведения о партнерах по размножению или суррогатных матерях, включая генотип и фенотип, условия разведения, содержания и заготовления.

35. История использования пищевых продуктов от животных, использованных для получения животных, в конечном итоге использованных для производства пищевых продуктов от исходного животного с рекомбинантной ДНК (например, партнеров по размножению, суррогатных матерей), может включать информацию о размножении и росте животных, о способе получения пищевых продуктов (например, урожай, убой, доение), и об условиях, в которых эти пищевые продукты становятся доступными для потребителя (например, хранение, транспортировка, переработка).

ОПИСАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ В ЖИВОТНОМ С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК, ПРЕДНАЗНАЧЕННОМ ДЛЯ УПОТРЕБЛЕНИЯ В ПИЩУ ИЛИ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

36. Для того чтобы обеспечить четкое понимание влияния генетических модификаций на состав и безопасность пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, необходимо дать всестороннюю молекулярную и биохимическую характеристику генетической модификации.

37. Необходимо представить информацию о ДНК-вставках в геном животного, в том числе:

- А) характеристику и описание вставленных генетических материалов. Сюда следует включить анализ возможностей мобилизации или рекомбинации любого используемого конструкционного материала;
- В) количество сайтов вставки;
- С) организацию вставленного генетического материала в каждом сайте вставки, включая число копий и данные о последовательности вставленного материала и окружающей области, достаточные для идентификации любых веществ, экспрессированных в результате вставки материала, или, если это более уместно с научной точки зрения, другую информацию, такую как анализ транскриптов или продуктов экспрессии для идентификации любых новых веществ, которые могут присутствовать в пищевом продукте;
- Д) идентификацию любых открытых рамок считывания во вставленной ДНК или созданных вставками со смежной геномной ДНК животных, включая те, которые могут привести к образованию слитых белков.

38. Необходимо представить информацию обо всех новых экспрессированных веществах у животного с рекомбинантной ДНК, в том числе следующее:

- А) генные продукты (например, белок или нетранслируемую РНК) или другую информацию, такую как анализ транскриптов или продуктов экспрессии для идентификации любых новых веществ, которые могут присутствовать в пищевом продукте;
- В) функцию генных продуктов;
- С) фенотипическое описание новых признаков;
- Д) уровень и место экспрессии генных продуктов у животного, а также содержание метаболитов этих продуктов в пищевом продукте;
- Е) по возможности, количество продукта целевого гена, если функция экспрессируемой последовательности / гена заключается в изменении накопления конкретной эндогенной мРНК или белка.

39. Кроме того, необходимо дать ответы на следующие вопросы:

- А) сохранилось ли расположение использованного для вставки генетического материала, или же после интеграции произошли существенные преобразования;
- В) приводят ли преднамеренные модификации аминокислотной последовательности экспрессируемого белка к изменениям в его посттрансляционной модификации и затрагивают ли они участки, критически важные для его структуры или функции;

- С) достигнут ли предполагаемый эффект модификации и все ли выраженные признаки стабильны и выражены так, как ожидалось. Здесь может потребоваться исследование механизма наследования самой ДНК-вставки или экспрессии соответствующей РНК, если фенотипические характеристики нельзя определить напрямую;
- Д) проявляются ли вновь экспрессированные признаки в соответствии с ожиданиями в соответствующих тканях, таким образом и в таком количестве, которые отвечают соответствующим регуляторным последовательностям, управляющим экспрессией соответствующего гена;
- Е) обнаружены ли указания на то, что процесс трансформации затронул один или несколько генов животного с рекомбинантной ДНК;
- Ф) кроме того, необходимо подтвердить идентификацию и экспрессию любых новых слитых белков.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЖИВОТНОГО С РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ УПОТРЕБЛЕНИЯ В ПИЩУ ИЛИ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Состояние здоровья животного с рекомбинантной ДНК

40. В отличие от растений, животные, традиционно используемые в качестве безопасного источника пищи, как правило, не содержат генов, кодирующих токсичные вещества. В связи с этим здоровье обычных животных традиционно используется в качестве эффективного индикатора безопасности получаемых из них пищевых продуктов. Практика допуска в пищу человека только животных с известным и приемлемым состоянием здоровья была и остается важной мерой обеспечения безопасности пищевых продуктов.

41. Оценка состояния здоровья животного является одним из важнейших этапов обеспечения безопасности пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК. При проведении такой оценки важно сравнить состояние здоровья животного с рекомбинантной ДНК с состоянием здоровья подходящего обычного аналога на соответствующей стадии развития.

42. Оценка должна включать следующее:

- А) общие показатели здоровья и функционирования, включая поведение, рост и развитие, общую анатомию и репродуктивную функцию, по мере необходимости;
- В) физиологические показатели, включая клинические и аналитические параметры;
- С) при необходимости — другие специфические для данного вида факторы.

Экспрессированные вещества (помимо нуклеиновых кислот)

Оценка возможной токсичности или биоактивности

43. Под действием ДНК, введенной методом модификации нуклеиновых кислот *in vitro*, в организме животного с рекомбинантной ДНК может произойти синтез новых веществ. В качестве таких веществ могут выступать обычные компоненты пищевых продуктов животного происхождения (например, белки, жиры, углеводы и витамины), которые являются новыми применительно к данному животному с рекомбинантной ДНК. К новым веществам также могут относиться новые метаболиты, возникающие под действием ферментов, образовавшихся при экспрессии введенной ДНК.

44. Следует отметить, что оценка состояния здоровья животных с рекомбинантной ДНК может дать информацию о возможной токсичности и биоактивности экспрессированных веществ. Однако по-прежнему предполагается, что оценка безопасности должна включать анализ этих веществ.

45. Оценка безопасности должна учитывать химическую природу и функцию вновь экспрессированного вещества и определять концентрацию данного вещества в съедобных тканях и других пищевых продуктах, полученных от животного с рекомбинантной ДНК, с учетом отклонений и средних значений. Следует также учитывать текущее пищевое воздействие и возможное влияние на отдельные подгруппы потребителей.

46. Необходимо представить доказательства того, что гены, кодирующие известные токсины или антипитательные вещества, присутствующие в организмах-донорах (если применимо), не будут перенесены животным с рекомбинантной ДНК, которые обычно не проявляют эти токсичные или антипитательные свойства. Это особенно важно в случаях, когда процессы переработки пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, отличаются от процессов переработки продуктов, полученных из организма-донора, поскольку обычные приемы кулинарной и технологической обработки донорских организмов могут дезактивировать, разрушать или устранять антипитательные вещества или токсиканты.

47. По причинам, изложенным в разделе 3, если вещество или близкородственное вещество с учетом его функции и воздействия признано безопасным для употребления в пищу, обычные токсикологические исследования не являются необходимыми. В противном случае может потребоваться проведение соответствующих обычных токсикологических или иных исследований нового вещества.

48. Для белков оценка потенциальной токсичности должна быть сосредоточена на выявлении сходства аминокислотных последовательностей белка с известными белковыми токсинами, а также устойчивости к нагреву или кулинарной обработке и к распаду в репрезентативных модельных системах желудочно-кишечного тракта. Если выявленный в пищевом продукте белок не похож на белки, признанные безопасными для употребления в пищу, может возникнуть необходимость в проведении исследования токсичности при пероральном воздействии⁹ с учетом биологической функции данного белка в организме животного, если она известна.

49. Потенциальную токсичность небелковых веществ, безопасность употребления которых в пищу неизвестна, следует оценивать в индивидуальном порядке с учетом типа, идентификации и биологической функции конкретного вещества в организме животного, а также пищевого воздействия. Может потребоваться проведение исследований метаболизма, токсикокинетики, субхронической токсичности, хронической токсичности/канцерогенности, репродуктивной и онтогенетической токсичности в соответствии с традиционным токсикологическим подходом.

50. В случае вновь экспрессированных биологически активных веществ, животных с рекомбинантной ДНК следует проверить на предмет потенциального воздействия этих веществ в рамках общей оценки здоровья животных. Возможно, что такие вещества могут быть активными в организме человека. Поэтому следует рассмотреть возможные риски, связанные с пищевым воздействием такого вещества, вероятность того, что вещество останется биологически активным после потребления, и потенциал оказания воздействия на человека, если вещество остается активным.

51. Для выполнения оценки потенциальной токсичности новое вещество нужно будет либо выделить из организма животного с рекомбинантной ДНК, либо синтезировать или получить из альтернативного источника, показав, что биохимические, структурные и функциональные свойства испытуемого материала эквивалентны свойствам вещества, образованного в организме животного с рекомбинантной ДНК.

Оценка возможной аллергенности (белки)

52. Если белок, полученный в результате вставки гена, присутствует в пищевом продукте, его необходимо обязательно проверить на потенциальную аллергенность. Комплексный поэтапный дифференцированный подход, используемый при оценке потенциальной аллергенности каждого вновь экспрессированного белка, должен опираться на сочетание различных критериев (поскольку ни один отдельный критерий не является достаточно надежным для определения аллергенности или неаллергенности). Как уже говорилось в пункте 21, данные должны быть получены с использованием надежных научных методов. Подробное изложение подлежащих рассмотрению вопросов содержится в приложении к настоящему документу¹⁰.

53. Следует избегать переноса генов из заведомо аллергенных пищевых продуктов в отсутствие документального подтверждения того, что перенесенный ген не кодирует аллерген.

Анализ состава основных компонентов

54. Результаты анализа концентраций основных компонентов¹¹, полученных от животного с рекомбинантной ДНК, в особенности тех, которые характерны для данного пищевого продукта, следует сопоставлять с результатами эквивалентного анализа обычного аналога, выведенного и выращенного в тех же условиях. В зависимости от вида (и характера модификации) может быть необходимо провести сравнение между продуктами, полученными от животных с рекомбинантной ДНК, и от подходящих обычных аналогов, выращенных с соблюдением нескольких типичных условий содержания. Статистическую значимость любых наблюдаемых различий следует оценивать в контексте диапазона естественных для данного параметра вариаций, чтобы определить его биологическую значимость. Однако следует признать, что, особенно в случае некоторых видов животных, доступное количество образцов будет ограниченным, и, скорее всего, с существенной неоднородностью, даже среди выведенных и выращенных в одних и тех же условиях содержания. Компараторы, используемые в данной оценке, в идеале должны быть сопоставимы по условиям содержания и выращивания, породе, возрасту, полу, паритету, лактации или яйценоскости (в соответствующих

⁹ На международных форумах были разработаны рекомендации по проведению исследований токсичности при пероральном воздействии, например «Методические указания ОЭСР по проведению испытаний химических веществ».

¹⁰ При разработке приложения к настоящему документу был использован отчет по итогам консультаций экспертов ФАО/ВОЗ за 2001 г., в котором содержится ссылка на несколько деревьев решений.

¹¹ Основные питательные вещества — это компоненты конкретного пищевого продукта, способные оказывать существенное влияние на рацион в целом. Они могут быть представлены основными компонентами (питательные — жиры, белки и углеводы, антипитательные — ингибиторы ферментов) или второстепенными соединениями (минералы, витамины). Основные токсиканты — это токсикологически значимые соединения, которые изначально присутствуют в организме, например соединения, токсическая активность и содержание которых могут быть значимыми для здоровья, и аллергены. У животных токсиканты встречаются редко, в то время как присутствие аллергенов для некоторых видов является обычным явлением.

случаях). На практике это может быть не всегда выполнимо, и в этом случае следует выбрать как можно более близкий обычный аналог. Цель такого сравнения в сочетании с оценкой воздействия, если это необходимо, состоит в том, чтобы установить, что вещества, важные с точки зрения питания или способные повлиять на безопасность пищевых продуктов, не были изменены таким образом, чтобы оказать неблагоприятное воздействие на здоровье человека.

Хранение и переработка пищевых продуктов

55. Следует также учитывать возможное влияние процессов кулинарной и технологической обработки (включая домашнее приготовление) на продукты, полученные от животных с рекомбинантной ДНК. Например, генетическая модификация может изменить термостабильность токсиканта или биодоступность важного питательного вещества после обработки. Поэтому необходимо представить информацию об условиях кулинарной или технологической обработки, необходимой для получения пищевого ингредиента от животного.

56. Если модификация предназначена для изменения условий хранения или срока годности, следует оценить влияние модификации на безопасность пищевых продуктов и (или) их питательные свойства.

Предполагаемое изменение питательных свойств

57. Обязательная для всех животных с рекомбинантной ДНК оценка возможного изменения состава основных питательных веществ уже рассматривалась в разделе «Анализ состава основных компонентов». Однако пищевые продукты, полученные от животных с рекомбинантной ДНК, подвергнутых модификации с целью намеренного изменения питательных или потребительских свойств, должны быть подвергнуты дополнительной оценке питательных свойств для выявления последствий таких изменений, а также того, приведет ли введение таких продуктов в рацион к изменению потребления питательных веществ.

58. При проведении оценки вероятного потребления пищевого продукта, полученного от животного с рекомбинантной ДНК, необходимо учитывать данные об известных моделях использования и потребления пищевых продуктов и их производных. Данные о предполагаемом потреблении продукта следует использовать для оценки последствий изменения набора питательных веществ как при обычном, так и при максимальном уровне потребления. Проведение оценки с учетом максимально возможного уровня потребления дает уверенность в том, что любые возможные нежелательные воздействия питательных веществ будут обнаружены. Следует обратить внимание на особые физиологические характеристики и метаболические потребности отдельных групп населения, например младенцев, детей, беременных и кормящих женщин, пожилых людей и людей с хроническими заболеваниями или ослабленной иммунной системой. Исходя из анализа воздействия на питание и потребностей в питании конкретных подгрупп населения, могут потребоваться дополнительные оценки питательных свойств. Также важно установить, насколько модифицированное питательное вещество биодоступно и остается стабильным с течением времени, при переработке и при хранении.

59. Селекция животных, в том числе с использованием нуклеиновых кислот *in vitro*, с целью изменения содержания питательных веществ в животных пищевых продуктах может существенно изменить набор питательных веществ двумя способами. Планируемая модификация животных компонентов может изменить общий набор питательных веществ животного пищевого продукта, и это изменение может повлиять на алиментарный статус его потребителей. Аналогичный эффект могут иметь и неожиданные изменения в питательных веществах. Хотя компоненты, полученные от животных с рекомбинантной ДНК, по отдельности могут расцениваться как безопасные, необходимо определить влияние изменений на общий набор питательных веществ.

60. Когда в результате модификации получается пищевой продукт, состав которого существенно отличается от состава обычного аналога, в качестве компараторов для оценки воздействия продукта на рацион целесообразно использовать дополнительные обычные пищевые продукты или компоненты (т. е. пищевые продукты или компоненты, питательный состав которых ближе к составу пищевого продукта, полученного от животного с рекомбинантной ДНК).

61. Из-за географических и культурных различий в структуре потребления пищевых продуктов изменения питательных свойств конкретного продукта могут иметь большее влияние в одних географических районах или в одних культурных группах населения, чем в других. Некоторые животные пищевые продукты служат основным источником определенного питательного вещества для отдельных групп населения. Необходимо определить такие питательные вещества и затрагиваемые группы потребителей.

62. Для некоторых пищевых продуктов могут потребоваться дополнительные испытания. Например, для пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК с предполагаемыми изменениями в биодоступности питательных веществ, а также для пищевых продуктов, состав которых не сопоставим с обычными, могут потребоваться исследования на животных. Кроме того, для пищевых продуктов, предназначенных для здорового питания, могут потребоваться специальные диетологические, токсикологические или другие соответствующие исследования. Если характеристика пищевого продукта показывает, что имеющихся данных для проведения тщательной оценки безопасности недостаточно, можно заказать проведение надлежащим образом спланированного исследования самого продукта питания на животных.

РАЗДЕЛ 5. ПРОЧИЕ ФАКТОРЫ

ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ИЛИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ ИЛИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИМЕЮЩИХ СУЩЕСТВЕННОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

63. Некоторые животные с рекомбинантной ДНК могут проявлять признаки, которые могут привести к потенциальному изменению накопления или распределения ксенобиотиков (например, остатков ветеринарных препаратов, металлов), что может повлиять на безопасность пищевых продуктов. Аналогичным образом, возможность изменения колонизации и выделения патогенов человека или нового симбиоза с организмами, производящими токсины, у животных с рекомбинантной ДНК может повлиять на безопасность пищевых продуктов. При оценке безопасности следует учитывать возможность таких изменений, а в случае выявления таких изменений необходимо проанализировать потенциальное воздействие на здоровье человека с использованием обычных процедур установления безопасности.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРНЫХ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

64. В будущем, при выведении животных с рекомбинантной ДНК следует использовать альтернативные технологии трансформации, которые не приводят к появлению маркерных генов устойчивости к антибиотикам в пищевых продуктах (как только такие технологии появятся и продемонстрируют свою безопасность).

65. Считается, что вероятность переноса генов от животных и из животных пищевых продуктов в микрофлору кишечника или клетки человека крайне невелика, поскольку это возможно лишь при стечении множества сложных и маловероятных обстоятельств в строго определенной последовательности. Тем не менее, такую вероятность нельзя исключить полностью¹².

66. При оценке безопасности пищевых продуктов, содержащих маркерные гены устойчивости к антибиотикам, необходимо учитывать следующие факторы:

- А) применение и значение данного антибиотика в клинической и ветеринарной практике;
(Некоторые антибиотики являются единственным средством лечения некоторых заболеваний (например, ванкомицин, применяемый для лечения некоторых стафилококковых инфекций). Маркерные гены, кодирующие устойчивость к таким антибиотикам, не должны использоваться у животных с рекомбинантной ДНК).
- В) будет ли присутствие в пище фермента или белка, кодируемого геном-маркером устойчивости к антибиотикам, снижать терапевтическую эффективность перорального применения антибиотика;
(В ходе этой оценки необходимо определить приблизительное количество перорально принятого антибиотика, которое может быть разрушено присутствием фермента в пище, с учетом таких факторов, как дозировка антибиотика, остаточное содержание в пище фермента после воздействия пищеварительной среды, в том числе в условиях нейтральной или пониженной кислотности, а также потребность в кофакторах фермента (например, АТФ) для ферментативной активности и предполагаемая концентрация таких факторов в пище.)
- С) безопасность генного продукта (как и в случае с любым другим экспрессированным генным продуктом).

67. Если оценка данных и информации позволяет предположить, что присутствие маркерного гена устойчивости к антибиотикам или генного продукта представляет риск для здоровья человека, данные маркерный ген или генный продукт не должны присутствовать в пищевых продуктах. Используемые в производстве пищевых продуктов гены устойчивости к антибиотикам, кодирующие устойчивость к антибиотикам, применяемым в клинической практике, не должны присутствовать в пищевых продуктах.

¹² Если в естественной среде присутствует большое количество устойчивых к антибиотику бактерий, вероятность передачи такой устойчивости от одних бактерий другим бактериям на несколько порядков выше, чем вероятность того, что бактерии приобретут устойчивость к антибиотику в результате взаимодействия с пищевыми продуктами в ходе пищеварительных процессов.

ПЕРЕСМОТР ОЦЕНОК БЕЗОПАСНОСТИ

68. Целью оценки безопасности является заключение о том, является ли новый пищевой продукт столь же безопасным, что и его обычный аналог, с учетом влияния любых изменений в питательном составе или ценности пищевого продукта на рацион. Тем не менее оценка безопасности подлежит пересмотру при появлении новой научной информации, которая ставит под сомнение выводы первоначальной оценки.

ПРИЛОЖЕНИЕ. ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОЙ АЛЛЕРГЕННОСТИ

РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ

1. Все вновь экспрессированные белки¹³ в организме животных с рекомбинантной ДНК, которые могут присутствовать в конечном пищевом продукте, подлежат исследованию на предмет потенциальной способности вызывать аллергические реакции. Такое исследование должно включать рассмотрение вопроса о том, является ли вновь экспрессированный белок известным аллергеном, а также о вероятности того, что новый белок, не употреблявшийся ранее в пищу, может вызывать аллергические реакции.
2. Поскольку тестов, позволяющих с уверенностью прогнозировать появление аллергической реакции на вновь экспрессированный белок, в настоящее время не существует, для оценки возможной аллергенности вновь экспрессированных белков рекомендуется использовать комплексный поэтапный индивидуальный подход, как описано ниже. Этот подход учитывает доказательства, полученные на основе нескольких видов данных, поскольку ни один критерий не является достаточно надежным для прогнозирования.
3. Конечной точкой оценки является заключение о вероятности того, что белок является пищевым аллергеном.

РАЗДЕЛ 2. СТРАТЕГИЯ ОЦЕНКИ

4. На начальных этапах оценки возможной аллергенности любых вновь экспрессированных белков определяют: источник введенного белка; любое значительное сходство между аминокислотной последовательностью белка и последовательностью известных аллергенов; а также его структурные свойства, в том числе восприимчивость к ферментативному распаду, термостабильность и (или) кислотно-ферментативную обработку.
5. Поскольку не существует единого теста, способного спрогнозировать вероятный IgE-ответ человека на пероральное воздействие, первым шагом для характеристики вновь экспрессированных белков должно быть сравнение аминокислотной последовательности и определенных физико-химических характеристик вновь экспрессированного белка с характеристиками установленных аллергенов по методу весомости доказательств. Для этого все новые экспрессированные белки нужно будет либо выделить из организма животного с рекомбинантной ДНК, либо синтезировать или получить из альтернативного источника, показав, что структурные, функциональные и биохимические свойства испытуемого материала эквивалентны свойствам вещества, образованного в организме животного с рекомбинантной ДНК. Особое внимание следует уделить выбору носителя экспрессии, поскольку посттрансляционные модификации различных носителей (т. е. эукариотические и прокариотические системы), могут влиять на аллергенный потенциал белка.
6. Важно выяснить, является ли источник заведомо аллергенным. В отсутствие научно подтвержденных данных об обратном следует считать, что гены, полученные из заведомо аллергенных источников, кодируют аллерген.

РАЗДЕЛ 3. ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ОЦЕНКА

РАЗДЕЛ 3.1. ИСТОЧНИК БЕЛКА

7. В качестве составной части данных, подтверждающих безопасность пищевых продуктов, полученных от животных с рекомбинантной ДНК, информация должна включать любые сообщения об аллергенности, связанной с организмом-донором. Аллергенные источники генов следует определять как организмы, в отношении которых имеются обоснованные доказательства наличия IgE-опосредованной оральной, респираторной или контактной аллергии. Знание источника введенного белка позволяет определить инструменты и соответствующие данные, которые необходимо учитывать при оценке аллергенности. К ним относятся: наличие сывороток для скрининга; документально подтвержденные тип, тяжесть и частота аллергических реакций; структурные характеристики и аминокислотная последовательность; физико-химические и иммунологические свойства (при наличии) заведомо аллергенных белков из данного источника.

РАЗДЕЛ 3.2. ГОМОЛОГИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

8. Целью сравнения гомологии последовательностей является оценка степени сходства структуры вновь экспрессированного белка с известным аллергеном. Эта информация может указывать на то, обладает ли данный белок аллергенным потенциалом. Необходимо искать гомологии последовательностей, сравнивая структуру всех вновь экспрессированных белков со всеми известными аллергенами. Поиск следует вести с использованием различных алгоритмов прогнозирования общего структурного сходства, таких как FASTA или BLASTP. Для выявления последовательностей, которые могут представлять собой линейные эпитопы,

¹³ Эта стратегия неприменима для оценки пищевых продуктов, в которых генные продукты регулируются в сторону уменьшения в целях гипоаллергенности.

могут также применяться такие стратегии, как пошаговый поиск смежных идентичных аминокислотных сегментов. Длина последовательности смежных аминокислот при поиске должна быть научно обоснована, чтобы свести к минимуму возможность получения ложноотрицательных или ложноположительных результатов.¹⁴ Для получения биологически значимых результатов следует использовать проверенные процедуры поиска и оценки.

9. Вероятность возникновения перекрестной IgE-реактивности между вновь экспрессированным белком и известным аллергеном необходимо рассматривать при совпадении в сегменте из 80 или более аминокислот более чем на 35% (ФАО/ВОЗ 2001 г.) или с учетом других научно обоснованных критериев. Вся информация, полученная в результате сравнения гомологии последовательностей между вновь экспрессированным белком и известными аллергенами, должна быть представлена для проведения дифференцированной научно обоснованной оценки.

10. Поиск по гомологии последовательностей имеет определенные ограничения. В частности, сравнение ограничено последовательностями известных аллергенов в общедоступных базах данных и в научной литературе. Возможность использования таких сравнений для выявления несмежных эпитопов, способных специфически связываться с IgE-антителами, также ограничена.

11. Отрицательный результат гомологии последовательностей указывает на то, что вновь экспрессированный белок не является известным аллергеном и вряд ли будет перекрестно реагировать с известными аллергенами. Результат, указывающий на отсутствие существенной гомологии последовательностей, должен рассматриваться при оценке аллергенного потенциала вновь экспрессированных белков в совокупности с другими данными, описанными в рамках этой стратегии. При необходимости следует выполнить дополнительные исследования (см. также разделы 4 и 5). Положительный результат гомологии последовательностей указывает на то, что вновь экспрессированный белок, вероятно, является аллергеном. Если продукт нуждается в дальнейшем рассмотрении, его следует оценить, с использованием сыворотки, полученной от лиц, сенсibilизированных к идентифицированному источнику аллергена.

РАЗДЕЛ 3.3. УСТОЙЧИВОСТЬ К ПЕПСИНУ

12. У нескольких пищевых аллергенов наблюдается устойчивостью к перевариванию пепсином, что позволяет говорить о существовании корреляции между устойчивостью к перевариванию пепсином и аллергенным потенциалом.¹⁵ Соответственно, устойчивость белка к разложению в присутствии пепсина в соответствующих условиях указывает на необходимость проведения дальнейшего анализа для определения вероятности того, что вновь экспрессированный белок является аллергеном. Создание последовательного и хорошо проверенного протокола разложения пепсина может повысить эффективность этого метода. Однако следует также учесть, что отсутствие устойчивости к пепсину не исключает аллергенности вновь экспрессированного белка.

13. Вместе с настоятельной рекомендацией проведения испытаний на устойчивость к пепсину, следует отметить, что существуют и другие протоколы восприимчивости к ферментам. При наличии адекватного обоснования допускается использование альтернативных протоколов¹⁶.

РАЗДЕЛ 4. СКРИНИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ

14. Для тех белков, которые происходят из заведомо аллергенного источника, или имеют гомологию последовательностей с известным аллергеном, при наличии сывороток необходимо провести иммунологические тесты. Для проверки специфического связывания с антителами класса IgE данного белка в анализах *in vitro* можно использовать сыворотку, полученную от лиц с клинически подтвержденной аллергией на источник белка. Важнейшим условием тестирования должно быть наличие человеческой сыворотки, полученной от достаточного количества людей.¹⁷ Кроме того, для получения достоверных результатов теста качество сыворотки и процедура анализа должны быть стандартизованы. Для белков из источников, которые не являются заведомо аллергенными и не имеют гомологии последовательностей с известными аллергенами, может быть рассмотрена возможность проведения целевого скринингового исследования сыворотки, как описано в пункте 17, если такие тесты доступны.

¹⁴ Следует отметить, что по итогам консультации экспертов ФАО/ВОЗ 2001 г. было предложено вести поиск по 6, а не по 8 идентичным аминокислотным сегментам. Чем короче пептидная последовательность, используемая в пошаговом сравнении, тем выше вероятность выявления ложноположительных результатов, и наоборот, чем длиннее пептидная последовательность, тем выше вероятность ложноотрицательных результатов, что уменьшает полезность сравнения.

¹⁵ При установлении корреляции использовался метод, описанный в Фармакопее США (1995 г.). (Astwood *et al.* 1996).

¹⁶ Отчет по итогам совместных консультаций экспертов ФАО/ВОЗ по аллергенности продуктов, полученных методами биотехнологии (2001). Раздел 6.4 «Устойчивость к пепсину».

¹⁷ Согласно Отчету по итогам совместных консультаций экспертов ФАО/ВОЗ по аллергенности пищевых продуктов, полученных методами биотехнологии (22–25 января 2001 г., Рим, Италия), для достижения 99%-ной уверенности

15. В случае вновь экспрессированного белка, полученного из заведомо аллергенного источника, отрицательный результат иммуноанализа *in vitro* не может считаться достаточным, а должен стать поводом для проведения дополнительного тестирования, например возможного использования кожного теста и протоколов *ex vivo*.¹⁸ Положительный результат таких тестов указывает на наличие потенциального аллергена.

РАЗДЕЛ 5. ПРОЧИЕ ФАКТОРЫ

16. Абсолютное воздействие вновь экспрессированного белка и влияние соответствующей кулинарной и технологической обработки помогут сделать общий вывод о потенциальном риске для здоровья человека. В связи с этим необходимо учитывать природу предназначенного для потребления пищевого продукта при определении предполагаемых типов обработки и их влияния на присутствие белка в конечном пищевом продукте.

17. По мере развития научных знаний и технологий, при оценке потенциала аллергенности вновь экспрессированных белков в рамках стратегии оценки могут применяться другие методы и инструменты. Эти методы должны быть научно обоснованными и могут включать целевое скрининговое исследование сыворотки (т. е. оценку связывания с IgE в сыворотке людей с клинически подтвержденной аллергической реакцией на родственные (в широком смысле) категории пищевых продуктов); создание международных банков сыворотки; использование животных моделей; а также исследование вновь экспрессированных белков на наличие Т-клеточных эпитопов и структурных мотивов, связанных с аллергенами.

в том, что новый белок не является аллергеном, в случае основного аллергена требуется не менее 8 соответствующих сывороток. Аналогичным образом, для достижения такого же уровня уверенности в случае второстепенного аллергена требуется не менее 24 соответствующих сывороток. Следует отметить, что такое количество сывороток может оказаться недоступным для целей тестирования.

¹⁸ Процедура *ex vivo* определяется как тестирование на аллергенность с использованием клеток или культуры тканей людей с аллергией (Отчет по итогам совместных консультаций экспертов ФАО/ВОЗ по аллергенности пищевых продуктов, полученных методами биотехнологии).