



**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
(Минсельхоз России)

П Р И К А З

от 30 ноября 2020 г.

№ 716

Москва

Об утверждении Методики производства молекулярно-генетического исследования генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации, Методики производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации

В соответствии с пунктом 13 Правил государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы, включая указанную продукцию, ввозимую на территорию Российской Федерации, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 г. № 839 (Собрание законодательства Российской Федерации, 2013, № 39, ст. 4991),
п р и к а з ы в а ю:

1. Утвердить:

Методику производства молекулярно-генетического исследования генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации, согласно приложению № 1 к настоящему приказу;

Методику производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации, согласно приложению № 2 к настоящему приказу.

2. Настоящий приказ вступает в силу с 1 сентября 2021 г. и действует до 1 сентября 2027 г.

Министр



Д.Н. Патрушев

М Е Т О Д И К А
**производства молекулярно-генетического исследования генно-
инженерно-модифицированных растений, используемых для
разведения и (или) выращивания на территории
Российской Федерации**

1. Настоящая Методика устанавливает порядок проведения молекулярно-генетического исследования генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации (далее – исследование, ГИМР соответственно).

2. Исследование проводится организацией (испытательной лабораторией), аккредитованной в национальной системе аккредитации в области аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике.

3. Результаты исследования ГИМР оформляются заключением о результатах исследования, составляемым на основании протоколов испытаний, которое должно содержать следующие сведения:

наименование заключения;

полное наименование и адрес в пределах места нахождения организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение исследования;

наименование ГИМР с указанием его таксономического статуса;

полное наименование, адрес в пределах места нахождения, идентификационный номер налогоплательщика юридического лица, осуществляющего на территории Российской Федерации генно-инженерную деятельность в целях создания ГИМР (далее – заявитель);

полное наименование и адрес в пределах места нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), адрес места жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГИМР, представленных для проведения исследования;

вид предполагаемого целевого использования ГИМР;

сведения о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГИМР, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создано ГИМР, в отношении которого проведено исследование (в случае если ГИМР создано на основе иного (иных) ГИМР), либо информацию об отсутствии такого свидетельства;

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГИМР для иного целевого использования (при наличии) либо информацию об отсутствии такого свидетельства;

сведения о регистрации ГИМР за рубежом (при наличии);

оценку полноты представленных заявителем документов и данных;

краткое содержание документов и данных, представленных заявителем;

описание представленных заявителем для проведения исследования образцов ГИМР и исходного организма-реципиента с указанием их количества, а также оценку их пригодности для проведения исследования;

перечень исследований ГИМР с указанием их результатов;

выводы о результатах исследования: о молекулярно-генетической структуре ГИМР, об отсутствии или наличии незаявленных генетических последовательностей в геноме ГИМР; об эффективности метода идентификации ГИМР, сведения о соответствии генетической модификации природным (естественным) процессам;

фамилии, имена, отчества (при наличии) лиц, проводивших исследование, ученые степени, ученые звания (при наличии), адрес места их работы и должности;

дату и номер заключения;

подпись руководителя организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение исследования.

4. К заключению о результатах исследования ГИМР должны прилагаться протоколы испытаний, на основании которых оно составлено, подписанные лицами, проводившими исследования.

5. В случае если заявителем не представлены документы и данные, предусмотренные пунктом 6 настоящей Методики, и (или) необходимые образцы, пригодные для проведения исследований, исследование не проводится. Заявителю должен быть выдан мотивированный отказ в проведении исследования, подписанный руководителем организации (испытательной лаборатории), аккредитованной в национальной системе аккредитации в области аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике, в которую обратился заявитель для проведения исследования.

6. В рамках исследования ГИМР осуществляется рассмотрение представленных заявителем документов и данных:

а) наименования ГИМР с указанием его таксономического статуса; полного наименования и адреса в пределах места нахождения, идентификационного номера налогоплательщика заявителя; полного наименования и адреса в пределах места нахождения юридического лица либо фамилии, имени, отчества (при наличии), адреса места жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГИМР, представленных для проведения исследования; вида предполагаемого целевого использования ГИМР; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГИМР, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создано ГИМР, в отношении которого проведено исследование (в случае если ГИМР создано на основе иного (иных) ГИМР) либо информации об отсутствии такого свидетельства; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГИМР для иного целевого использования (при наличии) либо информации об отсутствии такого свидетельства;

б) сведений об исходном организме-реципиенте (таксономическая характеристика: род; родственные виды, в том числе виды вредных организмов, способных нанести вред растениям или продукции растительного происхождения¹; морфологическое описание; природные токсины; генотип; скрещиваемость с родственными видами, в том числе в предполагаемых районах выращивания ГИМР; источник получения

¹ Пункт 6 статьи 2 Федерального закона от 21 июля 2014 г. № 206-ФЗ «О карантине растений» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2014, № 30, ст. 4207).

(полное наименование и адрес в пределах места нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), адрес места жительства физического лица – владельца исходного организма-реципиента); ссылка на используемые определители);

в) сведений о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

г) описания структуры генетической конструкции (внесенной или удаленной) и места ее локализации, характеристик встроенных или измененных генов;

д) информации о генетической модификации: описания метода модификации, структуры вектора, структуры вставки, расположения рекомбинантной дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее – ДНК) (хромосома, плазида, мобильные элементы), включая фланкирующие последовательности, включения в состав мобильных генетических элементов;

е) описания последовательностей ДНК и методов, использованных для введения этих последовательностей в геном растения, включая сведения о структурном соответствии интегрированного гена природному гену; числе вставок (числе генетических локусов); числе копий гетерологичных ДНК в каждом генетическом локусе; месте интеграции экзогенной ДНК (целостности вставки); отсутствии или наличии гетерологичной ДНК вне границ т-ДНК и (или) вне клонируемой вставки; селективных маркерных и (или) репортерных генах; данных о молекулярной структуре вставки, необходимых для ее идентификации в структуре интегрированной ДНК, в том числе о бордер-специфичных праймерах (при наличии таких праймеров);

ж) информации об организмах – донорах вносимых генов (с указанием группы патогенности при наличии);

з) описания методики, позволяющей идентифицировать генетическую модификацию с описанием нуклеотидных последовательностей, используемых праймеров, зондов и условий полимеразной цепной реакции (далее – ПЦР);

и) данных секвенирования вставки ГИМР и бордерных последовательностей, не менее 100 нуклеотидов по флангам генома реципиента (при наличии).

Заявителем для исследования представляются образцы ГИМР и исходного организма-реципиента.

7. В рамках исследования должны быть проведены следующие испытания ГИМР и исходного организма-реципиента:

а) проверка (валидация) методики идентификации ГИМР, в том числе оценка чувствительности и специфичности данной методики в соответствии с критериями эффективности, указанными в приложении к настоящей Методике;

б) подтверждение присутствия (отсутствия) заявленной генетической модификации в геноме ГИМР;

в) подтверждение присутствия (отсутствия) незаявленных генетических последовательностей в геноме ГИМР.



Приложение
к Методике производства молекулярно-
генетического исследования
генно-инженерно-модифицированных
растений, используемых для
разведения и (или) выращивания
на территории Российской Федерации,
утвержденной приказом Минсельхоза
России от 30.11.2020 г. № 716

Критерии эффективности методики идентификации ГИМР

| № | Характеристика | Описание характеристики | Критерий | Методы оценки критерия |
|----------|-----------------------|--|--|---|
| 1 | Специфичность ПЦР | Способность ПЦР-тест-системы выявлять только целевую ДНК | ПЦР-тест-система должна выявлять целевую ДНК. ПЦР-тест-система не должна давать ложноположительных результатов, в том числе выявлять ДНК близкородственных и неродственных биологических видов, в 100% проводимых исследований | Для оценки специфичности используются контрольные панели образцов. В состав панели должны входить образцы, содержащие целевую ДНК и не содержащие целевую ДНК |
| 2 | Чувствительность ПЦР | Наименьшее содержание копий целевой ДНК, которое может быть определено с использованием данной ПЦР-методики в зависимости от свойств используемых праймеров и зондов | Чувствительность должна быть не ниже 100 копий целевой ДНК в одной ПЦР-реакции | Проводятся исследования ряда десятикратных разведений целевой ДНК с известной концентрацией в двух повторах каждое. Определяется максимальное разведение, при котором ДНК воспроизводимо выявляется (в двух повторах) |

| № | Характеристика | Описание характеристики | Критерий | Методы оценки критерия |
|---|-------------------|--|---|---|
| 3 | Эффективность ПЦР | Прирост матрицы на каждом цикле амплификации | <p>Эффективность ПЦР должна быть не ниже 90%.</p> <p>Это соответствует значению наклона линейной области зависимости C_t от логарифма концентрации ДНК-матрицы (slope): не ниже -3,6 (приемлем диапазон slope 3,1 - 3,6)</p> | <p>Для оценки эффективности ПЦР проводится амплификация с рядом десятикратных разведений целевой ДНК (пункт 2 настоящей таблицы) в двух повторах каждое.</p> <p>По результатам амплификации строится график зависимости C_t от логарифма концентрации ДНК матрицы.</p> <p>Определяется наклон линейной области (slope).</p> <p>Эффективность ПЦР оценивается по уравнению: $E = [10(-1/slope)] - 1$, в идеальном случае - при удвоении количества ПЦР продукта за один цикл: $E = 100\%$, (slope = -3,32)</p> |

| № | Характеристика | Описание характеристики | Критерий | Методы оценки критерия |
|---|---|--|---|--|
| 4 | Предел обнаружения ПЦР-тест-системы (LOD) | Минимальное количество биологического искомого объекта в исследуемом образце, которое может достоверно обнаружить данный метод | Чем меньше искомого биологического объекта способен выявить метод, тем выше его чувствительность. Предел обнаружения ПЦР-тест-системы (LOD) должен составлять не более 0,1% | Готовится ряд модельных образцов с разным содержанием целевой матрицы. Готовятся образцы целевого ГИМП-ингредиента (от 5% до 0,001% содержания) в соответствующей матрице. Приготовленная панель исследуется с использованием ПЦР-методики. Определяется минимальное содержание ГИМП-ингредиента в тотальной ДНК организма, при котором ГИМП воспроизводимо выявляется (в десяти повторях) |
| 5 | Предел количественного определения (LOQ) | Наименьшее количество (концентрация) вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной прецизионностью | Предел должен быть не более 0,1%. На пределе чувствительности относительное стандартное отклонение (RSD) не должно превышать 20%. Истинное значение измеряемой величины должно входить в полученный при измерениях доверительный интервал | Исследуется 10 повторов 0,1% ГИМП-стандарта по ПЦР-методике. Рассчитывается среднее значение содержания ГИМП в образце и относительное стандартное отклонение (RSD). Сравнивается рассчитанное стандартное отклонение (RSD) с критерием 20%. Также оценивается вход истинного значения в доверительный интервал полученного среднего значения |

| № | Характеристика | Описание характеристики | Критерий | Методы оценки критерия |
|---|---------------------------------------|---|---|--|
| 6 | Аналитическая область (dynamic range) | Интервал определяемых аналитических характеристик, в котором получаемые результаты имеют приемлемый уровень правильности и прецизионности, приемлем диапазон 0,1% - 5% | Диапазон 0,1% - 5% экспериментальных данных, должен удовлетворять линейной модели (пункт 7 настоящей таблицы) | Проводятся исследования образцов с различным содержанием ГИМР. Оценивается линейность зависимости аналитического сигнала |
| 7 | Линейность | Наличие линейной зависимости аналитического сигнала в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики. Оценивается как R2 коэффициент корреляции, определяющий верность модели линейной зависимости Ct от логарифма концентрации калибровочных образцов | R2 коэффициент для калибровочных образцов должен быть не менее 0,98% | Исследуется в двух повторях 0,1%, 1,0% и 5% калибровочные ГИМР-стандарты по ПЦР-методике. Строится калибровочная прямая (dCt от lgC), оценивается коэффициент корреляции данных с линейной зависимостью (R2) |

| № | Характеристика | Описание характеристики | Критерий | Методы оценки критерия |
|---|----------------|--|---|---|
| 8 | Правильность | Отклонение среднего результата определений от значения, принимаемого за истинное | Методика дает корректные результаты, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике | Готовятся образцы из калибровочных стандартов 0,1%, 1,0% и 5% с добавлением матриц различного происхождения, для чего стандарты смешиваются с другими ингредиентами (сухим молоком, мясным фаршем, рыбной мукой). Исследуются образцы по ПЦР-методике в двух повторах. Оценивается вход истинного значения в диапазон погрешности полученного среднего значения для каждого образца |



Приложение № 2

к приказу Минсельхоза России
от 30.11.2020 г. № 716

МЕТОДИКА
производства экспертиз (исследований) биологической
безопасности генно-инженерно-модифицированных растений,
используемых для разведения и (или) выращивания на территории
Российской Федерации

I. Общие положения

1. Настоящая Методика устанавливает порядок проведения экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных растений, используемых для разведения и (или) выращивания на территории Российской Федерации (далее – экспертиза, ГИМР соответственно).

2. Экспертиза проводится организацией (испытательной лабораторией), аккредитованной в национальной системе аккредитации в области аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике.

3. Результаты экспертизы оформляются заключением о результатах экспертизы, составленным на основании протоколов исследований ГИМР, которое должно содержать следующие сведения:

наименование заключения;

полное наименование и адрес в пределах места нахождения организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы;

наименование ГИМР с указанием его таксономического статуса;

полное наименование, адрес в пределах места нахождения, идентификационный номер налогоплательщика юридического лица, осуществляющего на территории Российской Федерации генно-инженерную деятельность в целях создания ГИМР (далее – заявитель);

полное наименование и адрес в пределах места нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), адрес места

жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГИМР, представленных на экспертизу;

вид предполагаемого целевого использования ГИМР;

сведения о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГИМР, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создано ГИМР, в отношении которого проведена экспертиза (в случае если ГИМР создано на основе иного (иных) ГИМР), либо информацию об отсутствии такого свидетельства;

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГИМР для иного целевого использования (при наличии) либо информацию об отсутствии такого свидетельства;

сведения о регистрации ГИМР за рубежом (при наличии);

оценку полноты представленных заявителем документов и данных;

краткое содержание документов и данных, представленных заявителем;

перечень исследований ГИМР с указанием их результатов;

описание представленных заявителем на экспертизу образцов ГИМР и исходного организма-реципиента с указанием их количества, а также оценку их пригодности для проведения исследований;

выводы о результатах экспертизы: о наличии или отсутствии негативного воздействия ГИМР на окружающую среду;

специальные условия использования ГИМР (при наличии);

срок действия свидетельства о государственной регистрации ГИМР (в случае отсутствия сведений о негативном воздействии ГИМР на окружающую среду);

фамилии, имена, отчества (при наличии) лиц, проводивших экспертизу, ученые степени, ученые звания (при наличии), адрес места их работы и должности;

дату и номер заключения;

подпись руководителя организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы.

4. К заключению о результатах экспертизы должны прилагаться протоколы исследований ГИМР, на основании которых оно составлено, подписанные лицами, проводившими исследования.

5. В случае если заявителем не представлены документы и данные, предусмотренные пунктом 6 настоящей Методики, и (или) необходимые образцы, пригодные для проведения исследований в случаях, если протоколы исследований не представлены заявителем, экспертиза не проводится. Заявителю должен быть выдан мотивированный отказ в проведении экспертизы, подписанный руководителем организации (испытательной лаборатории), аккредитованной в национальной системе аккредитации в области аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике, в которую обратился заявитель для проведения экспертизы.

II. Экспертиза ГИМР

6. В рамках экспертизы ГИМР осуществляется рассмотрение представленных заявителем документов и данных:

а) наименования ГИМР с указанием его таксономического статуса; полного наименования, адреса в пределах места нахождения, идентификационного номера налогоплательщика заявителя; полного наименования и адреса в пределах места нахождения юридического лица либо фамилии, имени, отчества (при наличии), адреса места жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГИМР, представленных на экспертизу; вида предполагаемого целевого использования ГИМР; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГИМР, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создано ГИМР, в отношении которого проводится экспертиза (в случае если ГИМР создано на основе иного (иных) ГИМР), либо информации об отсутствии такого свидетельства; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГИМР для иного целевого использования либо информации об отсутствии такого свидетельства;

б) сведений об исходном организме-реципиенте (таксономическая характеристика: род; родственные виды, в том числе виды вредных

организмов, способных нанести вред растениям или продукции растительного происхождения¹; морфологическое описание; природные токсины; генотип; скрещиваемость с родственными видами, в том числе в предполагаемых районах выращивания ГИМР; тип размножения; система опыления (для опыляемых растений); время цветения, в том числе цветения родственных видов растений (для цветковых растений); тест-объекты, чувствительные к организму-реципиенту; источник получения (полное наименование и адрес в пределах места нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), адрес места жительства физического лица – владельца исходного организма-реципиента), ссылка на используемые определители);

в) описания структуры генетической конструкции (внесенной или удаленной) и места ее локализации, характеристики встроенных или измененных генов;

г) сведений о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

д) сведений:

о месте (местах) выращивания образцов ГИМР, представленных заявителем;

о культурально-морфологических, физиолого-биохимических (ферментативных), антигенных, биологических свойствах и генетических особенностях ГИМР;

об условиях культивирования: наименование питательных сред, рН среды, температуре и продолжительности выращивания, сроке хранения и периодичности пересева культуры ГИМР в нативной форме;

о применяемом способе и условиях хранения ГИМР: продолжительности выращивания на питательной среде (возраст культуры), составе защитной среды, титре клеточной суспензии, режиме высушивания (в случае лиофилизации) или скорости замораживания (град/мин) (в случае криоконсервации), температуре хранения, сроке хранения;

о дислокации культуры в зависимости от метода хранения (описание морфологических типов колоний на конкретной среде с подробным описанием типа, сохраняющего полезный или диагностический признак);

¹ Пункт 6 статьи 2 Федерального закона от 21 июля 2014 г. № 206-ФЗ «О карантине растений» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2014, № 30, ст. 4207).

- о родственных видах растений и способности ГИМР к скрещиванию;
- о типе размножения ГИМР;
- о системе опыления ГИМР (для опыляемых ГИМР);
- о времени цветения ГИМР и родственных видов растений (для цветковых растений);
- о среде, на которой изготовителем представляется ГИМР;
- о количестве, дате приготовления и сроке годности образцов ГИМР;
- е) информации о вносимых генах (для организмов-доноров указывается название, таксономический статус, данные о вирулентных, аллергенных и патогенных свойствах);
- ж) описание свойств, приобретенных ГИМР в результате модификации;
- з) характеристики различий ГИМР с исходным организмом-реципиентом, в том числе описания способа размножения, распространения, схемы культивирования, новых фенотипических свойств, биологических преимуществ ГИМР по сравнению с исходным организмом-реципиентом;
- и) описания методик, позволяющих подтвердить таксономический статус ГИМР и характеристику генетической модификации, описания нуклеотидных последовательностей, используемых праймеров, зондов, состава и свойств стандартных образцов;
- к) результатов изучения стабильности ГИМР, в том числе при переносе генов, введенных в исходный организм-реципиент с использованием методов генной инженерии;
- л) информации о путях и возможности передачи генов ГИМР не генно-инженерно-модифицированным организмам, в том числе иных видов;
- м) информации о потенциальной выживаемости ГИМР и его потомства на территории Российской Федерации;
- н) информации о результатах токсикологических исследований ГИМР и рекомбинантных аминокислотных последовательностей, определяющих проявление заданных признаков у ГИМР, о биоинформатическом анализе, поиске гомологии рекомбинантного белка с аминокислотными последовательностями токсических белков, белков, обладающих фармакологической или иной биологической активностью, при использовании специализированных баз данных;

о) информации о результатах аллергологических исследований, в том числе о потенциальной аллергенности ГИМР, о потенциальной аллергенности рекомбинантных аминокислотных последовательностей или небелковых веществ, полученных с использованием ГИМР-продуцентов в иммунохимических исследованиях;

п) информации о регистрации ГИМР и (или) продукции, изготовленной из них или их содержащих, в государствах – членах Евразийского экономического союза, иных государствах или об отсутствии такой регистрации, а также о наличии либо отсутствии фактов о негативных последствиях применения ГИМР;

р) копий заключения о результатах молекулярно-генетического исследования ГИМР;

с) информации о государственной регистрации ГИМР и видов продукции, содержащих ГИМР или полученных с его использованием (при наличии);

т) информации о антагонистическом, синергическом или другом влиянии ГИМР на не генно-инженерно-модифицированные организмы (при наличии);

у) сведения о государственной регистрации пестицидов, применяемых при выращивании ГИМР;

ф) молекулярной характеристики векторов и методов клонирования;

х) протоколов исследований, указанных в пункте 7 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

7. В отношении ГИМР должны быть проведены следующие исследования:

а) токсикологические исследования ГИМР на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности;

б) аллергологические исследования ГИМР на лабораторных животных;

в) исследование стабильности генетического материала ГИМР;

г) исследование способности передачи генетического материала ГИМР в потенциальную принимающую среду;

- д) исследование жизнестойкости ГИМР на объектах окружающей среды, в том числе после термической обработки;
- е) исследование инвазивности ГИМР.

Исследования, указанные в подпунктах «а», «б», «д», «е» данного пункта настоящей Методики, должны проводиться в сравнении с исходным организмом-реципиентом.

8. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «х» пункта 6 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы ГИМР и исходного организма-реципиента. Исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертизы.

9. Если ГИМР соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 10 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГИМР на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГИМР.

III. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГИМР

10. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГИМР:

а) токсикологические исследования ГИМР на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности должны проводиться на двух поколениях крыс линии Вистар в течение 180 календарных дней.

Токсикологические исследования ГИМР на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности должны включать изучение репродуктивной функции крыс поколения F0, изучение эмбриотоксического и тератогенного действий, регистрируемых в пре- и постнатальном периодах развития потомства поколения F1, а также оценку физиолого-биохимических показателей крыс поколения F0, F1. Эксперимент проводится на самцах и самках крыс (исходный возраст – 25 – 30 дней). Животные должны быть разделены на 2 равные группы: группа «контроль» и группа «опыт». Группа «контроль» должна получать рацион с включением исходного организма-реципиента; группа «опыт»

должна получать рацион с включением исследуемого ГИМР. Обе группы животных должны получать одинаковый по объему и составу рацион, за исключением включенного исследуемого ГИМР или исходного организма-реципиента. Исследуемый ГИМР и исходный организм-реципиент должен быть включен в состав корма в равном количестве. Количество животных в группах в начале эксперимента должно составлять 55 самок и 25 самцов. Животные должны иметь доступ к корму и воде; содержаться в помещении с системой отопления и регулируемым микроклиматом.

Должны оцениваться показатели состояния животных:

общее состояние животных (внешний вид, двигательная активность, состояние шерстного покрова) – каждые 2 календарных дня; поедаемость корма - ежедневно; масса тела – каждые 7 календарных дней;

гематологические показатели крови: концентрация гемоглобина; гематокрит; общее количество эритроцитов; средний объем эритроцита (СОЭ); среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССЭ); средняя концентрация гемоглобина в эритроците (СКЭ); общее количество тромбоцитов; общее количество лейкоцитов; дифференцированный подсчет лейкоцитов (нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы, моноциты, базофилы);

биохимические показатели крови: аланинаминотрансфераза (АЛТ); аспартатаминотрансфераза (АСТ); желчные кислоты; фосфатаза щелочная; билирубин общий; билирубин прямой; белок общий; альбумин; глобулин; креатинин; глюкоза; альфа-амилаза; липаза; лактатдегидрогеназа; общие липиды; триглицериды; холестерин; холинэстераза; мочевины; хлориды; натрий; фосфор; калий;

общий анализ мочи: цвет и прозрачность; относительная плотность; рН; белок; глюкоза; креатинин.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови, персистенции и показателей мочи должны проводиться на 90-й календарный день опыта у половины животных из каждой группы. По окончании восстановительного периода (10-й календарный день со дня окончания дачи рациона с ГИМР, 101-й календарный день опыта) должны проводиться те же исследования у второй половины животных каждой группы.

На 90-й и 180-й календарные дни эксперимента (плановый забой 15 крыс на группу) должны выполняться макроскопические

и микроскопические исследования, обзорные гистологические исследования, морфометрический анализ, определения массы внутренних органов (головного мозга, сердца, селезенки, легких, тимуса, гипофиза, печени, почек, надпочечников, матки, яичников и семенников). Для погибших в течение эксперимента животных должны проводиться морфологические исследования кожи, головного мозга, сердца, аорты, селезенки, легких. В случае если невозможно установить причину смерти, дополнительно должны проводиться морфологические исследования лимфатических узлов, тимуса, щитовидной железы, гипофиза, желудка, тонкой и толстой кишки, печени.

Токсикологические исследования ГИМР на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности на двух поколениях крыс линии Вистар (F0 и F1) должны быть продолжены на третьем поколении (F2) и четвертом поколении (F3) указанных лабораторных животных в случаях, если:

в результатах исследований между группой «опыт» и группой «контроль» наблюдаются различия в диапазоне между погрешностью эксперимента и величиной двукратной погрешности (статистически значимое различие) по исследуемым показателям;

между группой «опыт» и группой «контроль» наблюдаются различия по следующим показателям: пигментация, отклонение в поведении, появление нехарактерных физиологических, анатомических, биохимических признаков;

в процессе проведения экспертизы (исследования) получены данные из научных источников о негативном влиянии исследуемого ГИМР на окружающую среду.

Скармливание животным рациона, содержащего ГИМР, не должно вызывать клинических изменений (показатели крови, мочи, общего состояния животных, персистенции и выделения ГИМР не должны отклоняться от показателей группы «контроль»), не должны выявляться патологоанатомические изменения при вскрытии;

б) аллергологические исследования ГИМР на лабораторных животных должны проводиться на крысах линии Вистар. Животные должны быть разделены на 2 равные группы: группа «контроль» и группа «опыт». Группа «контроль» должна получать рацион с включением исходного организма-реципиента; группа «опыт» должна получать рацион

с включением исследуемого ГИМР. Обе группы животных должны получать одинаковый по объему и составу рацион, за исключением включенного исследуемого ГИМР или исходного организма-реципиента. Исследуемый ГИМР и исходный организм-реципиент должен быть включен в состав корма в равном количестве. Рацион не должен содержать яичный белок. Животные должны иметь доступ к корму и воде; содержаться в помещении с системой отопления и регулируемым микроклиматом.

На 1-й, 3-й, 5-й календарный день опыта крысам внутрибрюшинно должен вводиться пищевой антиген – овалбумин куриного яйца (далее – ОВА), а на 21-й календарный день эксперимента должна вводиться доза ОВА, уменьшенная в 10 раз в сравнении с дозами, введенными ранее. Кормление рационами необходимо продолжать до 29-го календарного дня эксперимента и, затем необходимо ввести внутривенно ОВА, после чего должны быть оценена на протяжении 24 часов тяжесть развивающейся реакции анафилаксии по величине анафилактического индекса. Непосредственно перед внутривенным введением разрешающей дозы у крыс должна отбираться кровь в количестве 0,1 – 0,2 мл из хвостовой вены для иммуноферментного определения уровня специфических антител к ОВА.

Тяжесть реакции анафилактического шока в каждой из групп животных должна оцениваться по анафилактическому индексу, учитывающему тяжесть реакции анафилаксии, и проценту летальных реакций анафилаксии.

Вычисление анафилактического индекса должно проводиться по формуле:

$$\frac{(N \times 4) + (N_1 \times 3) + (N_2 \times 2) + (N_3 \times 1) + (N_4 \times 0)}{N + N_1 + N_2 + N_3 + N_4},$$

где:

N – число животных, у которых наступила смерть;

N₁ – число животных, у которых развился тяжелый анафилактический шок (асфиксия, общие судороги, при которых животное теряет способность удерживаться на лапах, не погибает);

N₂ – число животных, у которых развился умеренный анафилактический шок (судороги, при которых животное не теряет способность удерживаться на лапах, бронхоспазм);

N3 – число животных, у которых развился слабый анафилактический шок (беспокойство, учащенное дыхание, почесывание мордочки, непроизвольное мочеиспускание, дефекация, шерсть взъерошена);

N4 – животные, у которых анафилактический шок не наступил.

Анафилактический индекс и процент летальных реакций анафилаксии группы «опыт» не должен превышать анафилактический индекс и процент летальных реакций анафилаксии группы «контроль». Уровень антител к ОВА у группы «опыт» не должен отличаться от уровня антител к ОВА группы «контроль»;

в) исследование стабильности генетического материала ГИМР должно осуществляться путем пассирования исследуемых ГИМР на жидких и плотных питательных средах с тестированием фенотипических (биохимических) свойств через шесть последовательных пассажей. Молекулярно-генетическими методами должен исследоваться исходный генетический материал ГИМР и генетический материал ГИМР после шестикратного пассирования. Стабильными являются ГИМР, не изменившие фенотипических (биохимических) свойств и сохранившие генетическую структуру после проведения шестикратного пассирования. ГИМР должны демонстрировать стабильность фенотипических (биохимических) свойств и генетической структуры;

г) исследование способности передачи генетического материала ГИМР в потенциальную принимающую среду должно проводиться в течение 3 вегетативных периодов не менее, чем на 8 опытных полях, или в течение меньшего числа вегетативных периодов (1 или 2 по данным заявителя), если заявителем указана нестабильность генетического материала ГИМР в течение менее 3 вегетативных периодов. Для проведения исследования способности передачи генетического материала ГИМР в потенциальную принимающую среду опытные поля должны засеиваться в равном количестве ГИМР, исходным организмом-реципиентом и не генно-инженерно-модифицированным растением родственного вида (одно опытное поле может быть засеяно одним видом не генно-инженерно-модифицированного растения), сведения о котором представлены заявителем в соответствии с подпунктом «д» пункта 6 настоящей Методики. ГИМР считаются способными передавать генетический материал в потенциальную окружающую среду при выявлении потомства ГИМР.

ГИМР не должны иметь способность передачи генетического материала в потенциальную принимающую среду;

д) исследование жизнестойкости ГИМР на объектах окружающей среды, в том числе после термической обработки должно проводиться с использованием питательных сред, культур клеток или иных тест-объектов, чувствительных к исходному организму-реципиенту, согласно информации, представленной заявителем в соответствии с подпунктом «б» пункта 6 настоящей Методики. Эксперименты должны проводиться с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия экспериментов для исходного организма-реципиента и ГИМР должны совпадать. Жизнестойкость ГИМР в окружающей среде не должна превышать жизнестойкость исходного организма-реципиента;

е) исследование инвазивности ГИМР должно проводиться на 8 опытных полях в течение 3 вегетативных периодов. Для проведения исследования инвазивности ГИМР опытные поля делятся на 2 равные группы «контроль» и «опыт». В первый вегетативный период опытные поля группы «опыт» засеваются ГИМР, опытные поля группы «контроль» засеваются исходным организмом-реципиентом в равном количестве. Во второй и третий вегетативные периоды опытные поля группы «контроль» и группы «опыт» засеваются в равном количестве не генно-инженерно-модифицированными растениями родственных видов (одно опытное поле может быть засеяно одним видом не генно-инженерно-модифицированного растения), сведения о которых представлены заявителем в соответствии с подпунктом «д» пункта 6 настоящей Методики.

Условия культивирования для исходного организма-реципиента и ГИМР должны совпадать. По истечении третьего вегетативного периода проводится анализ всхожести не генно-инженерно-модифицированных растений родственных видов на опытных полях группы «контроль» и группы «опыт», а также по периметру 300 метров вокруг указанных опытных полей. ГИМР считается инвазивным, если количество взошедших не генно-инженерно-модифицированных растений родственных видов на опытных полях группы «контроль» и по периметру 300 метров вокруг них превышает количество указанных взошедших растений на опытных полях группы «опыт» и по периметру 300 метров вокруг них. ГИМР не должны быть инвазивными.

11. Исследования ГИМР на опытных полях, предусмотренные подпунктами «г», «е» пункта 10 настоящей Методики, должны проводиться с одновременным применением следующих мер безопасности:

а) пространственная изоляция опытных полей от родственных видов сельскохозяйственных растений: для ветроопыляемых культур – не менее 800 метров; для насекомоопыляемых культур – не менее 1500 метров; для самоопыляемых культур – не менее 50 метров; для вегетативно-размножающихся культур – не менее 5 метров;

б) защитные посевы растений того же вида вокруг опытных полей: для пропашных культур не менее 4 рядов; для плодовых, ягодных, древесных декоративных и лесных культур – не менее 1 ряда; для культур сплошного сева не менее 3,6 метров;

в) размещение опытных полей на расстоянии не менее 500 метров от населенных пунктов и береговых линий поверхностных водных объектов²;

г) размещение опытных полей на расстоянии не менее 1500 метров от границ особо охраняемых природных территорий³, лечебно-оздоровительных местностей и курортов⁴.



² Части 2-4 статьи 5 Водного кодекса Российской Федерации (Собрание законодательства Российской Федерации, 2006, № 23, ст. 2381).

³ Пункты 2, 3 статьи 2 Федерального закона от 14 марта 1995 г. № 33-ФЗ «Об особо охраняемых природных территориях» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1995, № 12, ст. 1024; 2013, № 52, ст. 6971).

⁴ Пункт 1 статьи 3 Федерального закона от 23 февраля 1995 г. № 26-ФЗ «О природных лечебных ресурсах, лечебно-оздоровительных местностях и курортах» (Собрание законодательства Российской Федерации, 1995, № 9, ст. 713; 2008, № 30, ст. 3616).