

УДК 658.56:577.21

doi 10.37143/0371-4365-2021-75-76-06

ТЕХНІКА ГМО-АНАЛІЗУ НА ОСНОВІ ПЛР МЕТОДИК**А. М. Саєнко, М. Ю. Пека, В. М. Балацький, С. М. Корінний, О. М. Церенюк**¹Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН України
вул. Шведська Могила, 1, м. Полтава, Україна, 36013

Використання генетично-модифікованих організмів (ГМО) є перспективними для подолання дефіциту харчових продуктів у світі та вирішення проблеми голоду, що виникає у різних регіонах. В той же час, використання ГМО стало причиною дискусій, оскільки безпечність споживання продуктів з ГМО для здоров'я людини залишається недоведеною. Ризики, пов'язані з ГМО, викликають занепокоєння у суспільстві, що стало причиною обмеження використання ГМО та продуктів з них у багатьох країнах та спричинило потребу у постійному контролі їх вмісту у продуктах харчування. У даній роботі використовуються методи засновані на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР), такі як Real-time ПЛР та ПЛР з електрофоретичним розділенням ампліфікатів, що є загальноприйнятими у ГМО-аналізі. З метою контролю наявності ГМО у харчовій сировині, кормах і готовій продукції рослинного і тваринного походження проводиться скринінг на наявність найбільш поширених генно-інженерних конструкцій, що використовуються під час створення ГМО: CaMV 35S промотору та термінатора NOS. Як Real-time ПЛР, так і ПЛР з електрофоретичним розділенням ампліфікатів, дозволяють встановити наявність ГМО з високою точністю, а Real-time ПЛР також використовується для визначення концентрації ГМО у досліджуваних зразках. У роботі представлений типовий електрофорез із візуалізацією отриманих фрагментів ПЛР, які потребували електрофоретичного розділення так і фрагментів, які були синтезовані у реакції Real-time ПЛР, визначено приблизні розміри отриманих фрагментів відносно маркера молекулярної маси pBR322 DNA-MspI. Охарактеризований у даній роботі підхід, заснований на використанні ПЛР методик, може бути успішно використаний для ГМО-аналізу усіх груп сировини та готової продукції тваринного і рослинного походження, а також добре адаптується для виявлення різних генно-інженерних конструкцій, не обмежуючись CaMV 35S промотором і термінатором NOS, що дозволяє підвищувати ефективність такого аналізу і продовжувати його застосування щодо нових генно-інженерних конструкцій, що використовуються під час створення ГМО.

Ключові слова: генетично-модифіковані організми (ГМО), ПЛР методи, ГМО-аналіз, сировина і готова продукція рослинного і тваринного походження.

Вступ. Розвиток науки в останні десятиліття дозволив вносити зміни в геном

Саєнко Артем Михайлович, к. с.-г. н., ст. наук. співр. лаб. генетики,

e-mail: saenko_artem@meta.ua,<https://orcid.org/0000-0002-0527-5367>

Пека Микита Юрійович, мол. наук. співр. лаб. генетики

e-mail: pekapoltava@gmail.com,<https://orcid.org/0000-0003-0612-1164>

Балацький Віктор Миколайович, д. с.-г. н., професор, зав. лаб. генетики,

e-mail: vnbalatsky@gmail.com,<https://orcid.org/0000-0002-6034-3852>

Корінний Сергій Миколайович, к. с.-г. н., с. н. с., ст. наук. співр. лаб. генетики,

e-mail: korinny_sergey@ukr.net,<https://orcid.org/0000-0002-1649-3079>

Церенюк Олександр Миколайович, доктор с.-г. н., доцент, в.о. директора Інституту,

e-mail: tserenyuk@gmail.com,<https://orcid.org/0000-0003-4797-9685>

організмів у штучних умовах. Цей напрям став відомим у світі як генетична інженерія, а організми, створені шляхом редагування генів - як генно-модифіковані організми або ГМО. Серед ГМО є представники різних систематичних груп, зокрема бактерії, рослини і тварини. Під час створення ГМО гени вихідних організмів спрямовано змінюються для того, щоб ГМО володіли новими цінними властивостями. Створення ГМО значно прискорило селекційний процес, і сьогодні вони широко використовуються у фармацевтичній промисловості, сільському господарстві та наукових дослідженнях. Завдяки генетичній інженерії вдалося значно підвищити господарські якості сортів рослин і порід тварин, а з мікроорганізмів зробити суперпродуцентів лікарських речовин [1, 2].

У сільському господарстві та харчовій промисловості ГМО є потужним джерелом харчової сировини, оскільки ГМ-рослини є стійкими до шкідників та бур'янів і дозволяють збирати надзвичайно великі врожаї, а ГМ-тварини менш вразливі до хвороб і володіють значною продуктивністю. ГМО є перспективними для подолання дефіциту харчових продуктів у світі та вирішення проблеми голоду, що виникає у різних регіонах. В той же час, використання ГМО стало причиною дискусій, оскільки безпечність споживання продуктів з ГМО для здоров'я людини залишається недоведеною. Ризики, пов'язані з ГМО, викликають занепокоєння у суспільстві, що стало причиною обмеження використання ГМО та продуктів з них у багатьох країнах та спричинило потребу у постійному контролі їх вмісту у продуктах харчування [1, 2].

Мета досліджень. Характеристика та порівняння заснованих на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) методів визначення ГМО у харчовій сировині і готовій продукції.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктом дослідження була сировина і готова продукція рослинного і тваринного походження, щодо якої проводилось експериментальне визначення вмісту ГМО:

- харчова сировина (сільськогосподарські культури, борошно, крохмаль; молоко сухе, сироватка молочна, яєчний порошок, м'ясо свинини, м'ясо яловичини, субпродукти);
- корми (кормові культури, суміш концентратів кормових, макуха соєва кормова);
- готова харчова продукція (хлібобулочні, макаронні, кондитерські, молочні, м'ясні вироби, олійно-жирові продукти, плодо-овочеві продукти, консерви різного складу).

ДНК-діагностику зразків для визначення наявності ГМО проводили на основі стандартних методик ПЛР та Real-time ПЛР [3], що передбачало підготовку аналітичних проб сировини, кормів та готової продукції, екстрагування ДНК із аналітичних проб (за допомогою смоли «Chelex-100» [4] та за допомогою набору ДНК-сорб-В); проведення ПЛР з оцінкою наявності ГМО (ПЛР з електрофоретичним розділенням ДНК, Real-time ПЛР). Всі дослідження проводились відповідно до стандартів ДСТУ ISO 21569:2008 [5], ДСТУ ISO 21570:2008 [6], ДСТУ ISO 21571:2008 [7].

Результати дослідження та їх обговорення. У ГМО-аналізі загальноприйнятими є методи, засновані на ПЛР. Багато в чому це пов'язано із здатністю ампліфікувати специфічні фрагменти ДНК з високо оброблених матеріалів, таких як харчові продукти [8].

При створенні ГМО на сьогоднішній день використовуються різні генетично-інженерні конструкції, такі як промотори, термінатори та гени (інсектицидних білків *Bacillus thuringiensis*, толерантності до гербіцидів або антибіотиків тощо) [9].

Загалом, провести ПЛР-тести для всіх таких генетично-інженерних під час виявлення ГМО неможливо. Тому звичайною практикою є загальний скринінг невеликої кількості мішеней, спільних для багатьох ГМО [10]. Під час аналізу на ГМО у даному дослідженні проводилось виявлення двох найбільш поширених генетичних послідовностей нуклеотидів:

– промотор гена 35S РНК вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV 35S), що використовується у генетичній інженерії разом з цільовими трансформаційними генами для їх конститутивної експресії у багатьох видах рослин (включно, еволюційно далеких від тих, що є ареалом вірусу цвітної капусти) [11];

– термінатор гена нопалінсинтази (NOS) *Ti*-плазміді бактерії *Agrobacterium tumefaciens* – у природних середовищах дана бактерія інфікує рослини та переносить ген нопалінсинтази до клітин рослин, що дозволило широко використовувати NOS у складі трансформаційних конструкцій під час створення ГМО [12].

Існуючі дані статистичного аналізу вказують на те, що CaMV 35S промотор і термінатор NOS є найбільш широко використовуваними мішенями для ГМО-аналізу: 65,7 % схвалених комерційних ГМ-рослин містять CaMV 35S промотор, 53,49 % термінатор NOS і 81,4 % будь-який або обидва з них у своїх трансгенних конструкціях [8]. Таким чином, використання цих двох мішеней дозволяє проводити ГМО-аналіз у харчовій, сировині, кормах та готовій продукції рослинного походження з високою достовірністю. Що стосується сировини і продукції тваринного походження, то для них використання CaMV 35S промотор і термінатор NOS у якості мішеней під час досліджень, дозволяє виявити генно-інженерні конструкції, які гіпотетично можуть передаватися з рослинною їжею, яку споживають ці тварини.

Враховуючи, що даний підхід дозволяє виявити переважну більшість, але не абсолютно всі ГМО, у протоколах випробувань на кожний вид продукції зазначаються наступні результати:

- не виявлено послідовність ДНК промотору 35S та/або термінатора NOS;
- виявлена послідовність ДНК промотору 35S та/або термінатора NOS.

У разі проведення кількісного аналізу на виявлення послідовностей ДНК промотору 35S та/або термінатора NOS наводиться дані про їх вміст у відсотках (%).

Для ДНК-діагностики зразків на визначення ГМО була виконана оптимізація умов ПЛР-ампліфікації. Праймери використані для синтезу CaMV 35S промотору:

F : 5'-CCACGTCTTCAAAGCAAGTGG-3' ;

R : 5'-TCCTCTCCAAATGAAATGAACTTCC-3'

Для синтезу термінатора NOS:

F : 5'- GCATGACGTTATTTATGAGATGGG -3'

R : 5'- GACACCGCGCGGATAATTTATCC -3' .

Так, для визначення умови ПЛР для Real-time ампліфікатора «ДТ-322» («НПФ ДНК-Технологія») для детекції у режимі реального часу проводили згідно наведеного у таблиці 1, а для термоциклера «Терцик-2» («НПФ ДНК-Технологія») режим ампліфікації встановлювали відповідно до наведеного в таблиці 2.

Таблиця 1. Режим ампліфікації на ампліфікаторі «ДТ-322»

№ п/п	Температура	Час	Кількість циклів
1.	80 °C 94 °C	30 с 1 хв 30 с	1
2.	94 °C 64 °C	30 с 15 с	5
3.	94 °C 64 °C	10 с 15 с	45
4.	10 °C	Зберігання	

Таблиця 2. Режим ампліфікації на ампліфікаторі «Герцик-2»

№ п/п	Температура	Час	Кількість циклів
1.	94 °C	1 хв 30 с	1
2.	94 °C 64 °C 67 °C	20 с 5 с 5 с	5
3.	94 °C 64 °C 67 °C	1 с 5 с 5 с	40
4.	10 °C	Зберігання	

Детекція у реальному часі дає можливість моніторингу проведення ПЛР на всьому проміжку часу її проходження. По закінченню роботи програми ПЛР автоматично формується бланк протоколу дослідження, який може бути використаний дослідником для подальшого аналізу (рис. 1).

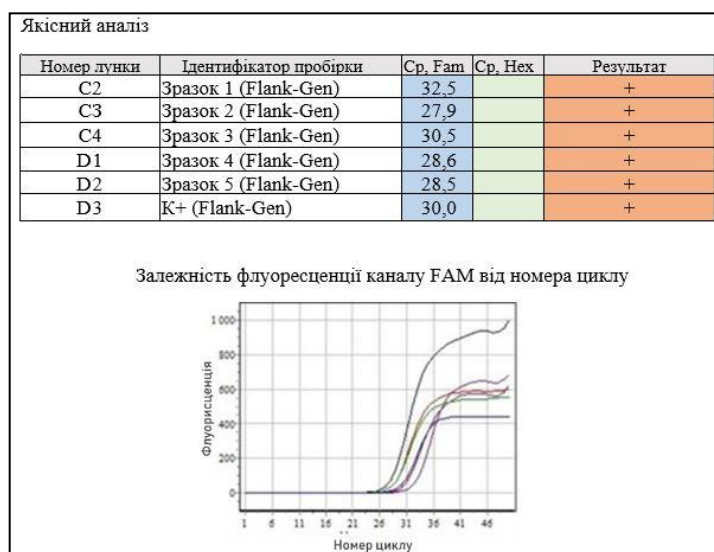


Рис. 1. Протокол результатів досліджень зразків із ГМО

Таблиця 3. Перелік харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів (Наказ МОЗ від 09.11.10 № 971)

I. Соя (та продукти її переробки)	X. Ріпак (та продукти його переробки)
II. Кукурудза (та продукти її переробки)	XI. Льон (та продукти її переробки)
III. Картопля (та продукти її переробки)	XII. Бавовна (та продукти її переробки)
IV. Томати (та продукти їх переробки)	XIII. Пшениця (та продукти її переробки)
V. Кабачки (та продукти їх переробки)	XIV. Рис (та продукти його переробки)
VI. Диня (та продукти її переробки)	XV. Продукти дитячого харчування та сировина для їх виготовлення
VII. Папая (та продукти її переробки)	XVI. Харчові продукти для спеціального дієтичного споживання, функціональні харчові продукти, дієтичні добавки, виготовлені з використанням харчових продуктів інших груп зазначених у Переліку
VIII. Цикорій (та продукти його переробки)	XVII. Харчові добавки, виготовлені з використанням харчових продуктів, інших груп, зазначених у Переліку
IX. Цукровий буряк (та продукти його переробки)	XVIII. Закваски, дріжджові культури та продукти, що їх містять

При цьому на сьогоднішній день, для всіх інших харчових продуктів, які не внесені до цього Переліку, відсутні чіткі законодавчі вимоги щодо необхідності їх контролю на вміст ГМО. Законодавством України передбачено лише обов'язковість маркування харчових продуктів позначкою «З ГМО», у разі частки ГМО у продукті понад 0,9 % [16]. В іншому разі маркування позначкою «Без ГМО» є добровільним, а відсутність даних від постачальників про наявність в інгредієнтах харчового продукту ГМО є достатнім підтвердженням для нанесення такої позначки на харчовий продукт.

Охарактеризований у даній роботі підхід, заснований на використанні ПЛР методик, може бути успішно використаний для ГМО-аналізу усіх груп сировини та готової продукції тваринного і рослинного походження, а, отже, задовольняє вимоги, встановлені законодавством України. Крім того, даний підхід добре адаптується для виявлення різних генно-інженерних конструкцій, не обмежуючись CaMV 35S промотором і термінатором NOS, що дозволяє підвищувати ефективність такого аналізу і продовжувати його застосування щодо нових генно-інженерних конструкцій, що використовуються під час створення ГМО.

Висновки: 1. Питання контролю ГМО є одним із найбільш важливих для безпеки харчової сировини і готової продукції. Ефективно для проведення ГМО-аналізу використовують методи дослідження, засновані на ПЛР.

2. Для того, щоб контролювати наявність ГМО у харчовій сировині, кормах і готовій продукції рослинного і тваринного походження проводиться скринінг на наявність найбільш поширених генно-інженерних конструкцій, що використовуються під час створення ГМО: CaMV 35S промотор та термінатор NOS.

3. Методики ПЛР ГМО-аналізу передбачають проведення Real-time ПЛР або ПЛР з електрофоретичним розділенням фрагментів, кожна з яких дозволяє встановити наявність ГМО з високою точністю. Real-time ПЛР, крім того, дозволяє визначити концентрації ГМО у досліджуваних зразках.

Перспективи подальших досліджень. Необхідно продовжити дослідження на вміст ГМО у переліку харчових продуктів, щодо яких такий контроль є обов'язковим, оскільки контроль ГМО у харчовій сировині і готовій продукції спрямований на попередження ризиків, які пов'язані із обігом ГМО. При проведенні ГМО-аналізу доцільно продовжувати збір інформації щодо виявлених ГМ-продуктів на ринку України. Особливо важливим це є з огляду на те, що в Україні не було зареєстровано жодних ГМО, обіг яких був би дозволений.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Игнатъев И., Тромбицкий И., Лозан А. Генетически модифицированные организмы и обеспечение биологической безопасности. Кишинев: Экоспектр-Бендеры, 2007. 60 с.

2. Дудин М. Н. Трансгенные организмы (ГМО) в сельском хозяйстве: объективная необходимость в целях обеспечения глобальной продовольственной безопасности или способ увеличения прибыли ТНК АПК. *Продовольственная политика и безопасность*. 2020. Т. 7. № 2. С. 107–120.

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

4. Walsh P. S., Metzger D. A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 1991 Vol. 10. № 4. P. 506–513.

5. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21569:2005, IDT) : ДСТУ ISO 21569:2008 [Чинний з 01.01.2010]. Київ: Держспоживстандарт України, 2009. 54 с.

6. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21570:2005, IDT) : ДСТУ ISO 21570:2008 [Чинний з 01.07.2009]. Київ: Держспоживстандарт України, 2009. 90 с.

7. Продукти харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти (ISO 21571: 2005, IDT) : ДСТУ ISO 21571:2008 [Чинний з 01.07.2009]. Київ: Держспоживстандарт України, 2009. 36 с.

8. Development of a general method for detection and quantification of the P35S promoter based on assessment of existing methods / Y. Wu et al. *Scientific reports*. 2014. Vol. 4. 7358. doi: 10.1038/srep07358

9. Eugster A., Murmann P., Kaenzig A., Breitenmoser A. Development and Validation of a P-35S, T-nos, T-35S and P-FMV Tetraplex Real-time PCR Screening Method to Detect Regulatory Genes of Genetically Modified Organisms in Food. *Chimia*. 2014. Vol. 68. № 10. P. 701–704. doi: 10.2533/chimia.2014.701

10. Seternes T., Tonheim T. C., Myhr A. I., Dalmo R. A. A plant 35S CaMV promoter induces long-term expression of luciferase in Atlantic salmon. *Scientific reports*. 2016. Vol. 6. 25096. doi: 10.1038/srep25096
11. Transcription of Cauliflower mosaic virus DNA: detection of promoter sequences, and characterization of transcripts / H. Guilley et al. *Cell*. 1982. Vol. 30. № 3. P. 763–773. doi: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90281-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90281-1)
12. Bevan M., Barnes W. M., Chilton M.-D. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic acids research*. 1983. Vol. 11. № 2. P. 369–385. doi: 10.1093/nar/11.2.369
13. Державний реєстр генетично-модифікованих організмів – джерел харчових продуктів, кормів, кормових добавок та ветеринарних препаратів, які містять такі організми або отримані з їх використанням. *Портал відкритих даних*. URL: <https://data.gov.ua/dataset/dc3313b6-12a7-4d00-acd1-d132d34105be> (дата звернення 14.05.2021).
14. Закон України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні, транспортуванні та використанні генетично модифікованих організмів» : від 31.05.2007 № 1103-V. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16#Text> (дата звернення 25.04.2021).
15. Наказ МОЗ «Про затвердження Переліку харчових продуктів, щодо яких здійснюється контроль вмісту генетично модифікованих організмів» : від 09.11.10 № 971. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1248-10#Text> (дата звернення 25.04.2021).
16. Постанова КМУ «Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або вироблені з їх використанням та вводяться в обіг» : від 13.05.2009 № 468. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/468-2009-п#Text> (дата звернення 25.04.2021).

REFERENCES

1. Ignat'ev, I., Trombickij, I., & Lozan, A. (2007). *Geneticheski modifitsirovannye organizmy i obespechenie biologicheskoy bezopasnosti* [Genetically modified organisms and ensuring biological safety]. Kishinev: Ekospekt-Bendery [in Russian].
2. Dudin, M. N. (2020). Transgennyye organizmy (GMO) v sel'skom hozyaystve: ob'ektivnaya neobhodimost' v celyah obespecheniya global'noy prodovol'stvennoy bezopasnosti ili sposob uvelicheniya pribyli TNK APK [Transgenic organisms (GMOs) in agriculture: an objective necessity to ensure global food security or a way to increase the profits of agro-industrial complex's TNCs]. *Prodoval'stvennaya politika i bezopasnost'*, 7(2), 107–120 [in Russian].
3. Glazko, V. I., Shul'ga, E. V., Dyman', T. N., & Glazko, G. V. (2001). *DNK-tehnologii i bioinformatika v reshenii problem biotekhnologiy mlekopitayushchikh* [DNA technologies and bioinformatics in solving the problems of mammalian biotechnologies]. Belaja Cerkov': Izdatel'stvo BGAU [in Russian].
4. Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4), 506–513.
5. *Produkty kharchovi. Metody vyavleniia henetychno modyfikovanykh orhanizmv i produktiv z yikhnim vmistom. Yakisni metody na osnovi analizuvannia nukleinoi kysloty (ISO 21569:2005, IDT)* [Foodstuffs. Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. Qualitative nucleic acid based methods] (2009): DSTU ISO 21569:2008 from 1st January 2010. Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy [in Ukrainian].

6. *Produkty kharchovi. Metody vyivlennia henetychno modyfikovanykh orhanizmiv i produktiv z yikhnim vmistom. Kilkisni metody na osnovi analizuvannia nukleinoi kysloty (ISO 21570:2005, IDT)* [Foodstuffs. Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. Quantitative nucleic acid based methods] (2009): DSTU ISO 21570:2008 from 1st July 2009. Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy [in Ukrainian].

7. *Produkty kharchovi. Metody vyivlennia henetychno modyfikovanykh orhanizmiv i produktiv z yikhnim vmistom. Ekstrahuvannia nukleinoi kysloty (ISO 21571: 2005, IDT)* [Foodstuffs. Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. Nucleic acid extraction (ISO 21571: 2005, IDT)]. (2009). DSTU ISO 21571:2008 from 1st July 2009. Derzhspozhyvstandart Ukrainy [in Ukrainian].

8. Wu, Y., Wang, Y., Li, J., Li, W., Zhang, L., Li, Y., Li, X., Li, J., Zhu, L., & Wu, G. (2014). Development of a general method for detection and quantification of the P35S promoter based on assessment of existing methods. *Scientific reports*, 4, 7358. doi: <https://doi.org/10.1038/srep07358>

9. Eugster, A., Murmann, P., Kaenzig, A., & Breitenmoser, A. (2014). Development and Validation of a P-35S, T-nos, T-35S and P-FMV Tetraplex Real-time PCR Screening Method to Detect Regulatory Genes of Genetically Modified Organisms in Food. *Chimia*, 68(10), 701–704. doi: 10.2533/chimia.2014.701

10. Seternes, T., Tonheim, T. C., Myhr, A. I., & Dalmo, R. A. (2016). A plant 35S CaMV promoter induces long-term expression of luciferase in Atlantic salmon. *Scientific reports*, 6, 25096. doi: 10.1038/srep25096

11. Guilley, H., Dudley, R. K., Jonard, G., Balázs, E., & Richards, K. E. (1982). Transcription of Cauliflower mosaic virus DNA: detection of promoter sequences, and characterization of transcripts. *Cell*, 30(3), 763–773. doi: 10.1016/0092-8674(82)90281-1

12. Bevan, M., Barnes, W. M., & Chilton, M. D. (1983). Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic acids research*, 11(2), 369–385. doi: 10.1093/nar/11.2.369

13. *Derzhavnyi reiestr henetychno-modyfikovanykh orhanizmiv - dzherel kharchovykh produktiv, kormiv, kormovykh dobavok ta veterynarnykh preparativ, yaki mistiat taki orhanizmy abo otrymani z yikh vykorystanniam* [Law of Ukraine «State register of genetically modified organisms - sources of food products, feed, feed additives and veterinary drugs that contain such organisms or are obtained with their use»]. *Portal vidkrytykh danykh*. Retrived from <https://data.gov.ua/dataset/dc3313b6-12a7-4d00-acd1-d132d34105be>

14. Zakon Ukrainy «On the State System of Biosafety at the Time of Creating, Testing, Transporting, and Using Genetically Modified Organisms» from May 5 2007, № 1103-V. (2007). Retrived from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1103-16#Text>

15. Nakaz Ministerstva okhorony zdorovia «Pro zatverdzhennia Pereliku kharchovykh produktiv, shchodo yakykh zdiisniuietsia kontrol vmistu henetychno modyfikovanykh orhanizmiv» [Order of the Ministry of Health «On approval of the List of Food Products Subject to Control of the Content of Genetically Modified Organisms»] from November 9 2010, № 971 (2010). Retrived from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1248-10#Text>

16. Postanova Kabinetu Ministriv Ukrainy «Pro zatverdzhennia Poriadku etyketuvannia kharchovykh produktiv, yaki mistiat henetychno modyfikovani orhanizmy abo vyroboleni z yikh vykorystanniam ta vvodiatsia v obih» [Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine «On approval of the Procedure for Labeling Food Products

Containing Genetically Modified Organisms or Produced with Their Use and Introduced into Market»] from May 13 2009, № 468. (2009). Retrived from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/468-2009-p#Text>

GMO ANALYSIS TECHNIQUE BASED ON PCR AND REAL-TIME PCR METHODS

A. M. Saienko, M. Y. Peka, V. N. Balatsky, S. M. Korinnyi, O. M. Tsereniuk
*Institute of Pig Breeding and Agroindustrial Production of NAAS of Ukraine
Shvedska Mohyla Str., 1, Poltava, Ukraine, 36013*

The use of genetically modified organisms (GMOs) is promising for overcoming the shortage of food products in the world and solving the problem of hunger arising in various regions. At the same time, the use of GMOs has become a cause of debate, as the safety of consuming GMO products for human health remains unproven. The risks associated with GMOs cause public concern, which has led to the restriction of the use of GMOs and their products in many countries and the need for constant control of their content in food products. This study describes methods based on the polymerase chain reaction (PCR), such as Real-time PCR and PCR with electrophoretic separation of amplificates, which are generally accepted in GMO analysis. In order to control the presence of GMOs in food raw materials, feed and finished products of plant and animal origin, screening is carried out for the presence of the most common genetic engineering structures used during the creation of GMOs: CaMV 35S promoter and NOS terminator. Both Real-time PCR and PCR with electrophoretic separation of amplificates allow to establish the presence of GMOs with high accuracy, and Real-time PCR is also used to determine the concentration of GMOs in the studied samples. The work presents a typical electrophoresis with visualization of the obtained PCR fragments that required electrophoretic separation and fragments that were synthesized in the Real-time PCR reaction, and determined the approximate sizes of the obtained fragments relative to the pBR322 DNA-MspI molecular weight marker. The approach described in this study, based on the use of PCR techniques, can be successfully used for GMO analysis of all groups of raw materials and finished products of animal and plant origin, and is also well adapted for the detection of various genetic engineering structures, not limited to the CaMV 35S promoter and terminator NOS, which makes it possible to increase the efficiency of such analysis and continue its application in relation to new genetic engineering structures used during the creation of GMOs.

Keywords: *genetically modified organisms (GMOs), PCR methods, GMO analysis, raw materials and finished products of plant and animal origin.*