РЕДАКТИРАНЕТО НА ГЕНИ:

Рискове за здравето и околната среда

Д-р Джанет Котер от Logos Environmental, Великобритания

Дана Перлс, Friends of the Earth U.S.

За Земята
Приятели на Земята България

Friends of the Earth

Признателност

Този доклад е изготвен въз основа на статията на Cotter, J. & Perls, D. (2018) Gene-edited organisms in agriculture: Risks and unexpected consequences. Friends of the Earth U.S.
http://foe.org/wp-content/uploads/2018/09/FOE_GenomeEditingAgReport_final.pdf.

Friends of the Earth

Приятели на Земята – САЩ, основана от Дейвид Брауър през 1969 г., е американският глас на най-голямото обединение на местни екологични групи в света с присъствие в 75 страни. Приятели на Земята работи за защита на околната среда и за по-здравословен и справедлив свят. Ние предоставихме решаващо лидерство в кампаниите, довели до важни екологични закони, безпрецедентни съдебни победи и революционни реформи на вътрешните и международните политики относно регулациите, корпоративните и финансовите институции.
Посетете www.foe.org, за да научите повече.

Автори на оригиналния доклад са д-р Джанет Котер от Logos Environmental, Великобритания и Дана Перлс, старши координатор на кампания „Храни и технологии“ към Приятели на Земята – САЩ / Friends of the Earth USA.

Докладът е преведен и се разпространява на български език от За Земята, Приятели на Земята България

Екипът на Приятели на Земята би искал да благодари на д-р Джонатан Латъм, Изпълнителен директор на Проект Bioscience Resource за неговата рецензия на доклада.

Logos Environmental

Компанията Logos Environmental е създадена през 2015 г. с цел да предоставя научни консултантски услуги на екологични неправителствени организации. За контакти: jcotter11@gmail.com.

За Земята
Приятели на Земята България

ЕС ЗА ЗЕМЯТА е независима, неправителствена организация, обединяваща усилията на хора, които работят за създаване на природосъобразен и равнопоставен живот на нашата планета без експлоатация на природата и хората. Повече за нас може да научите на: www.zazemiata.org

Всички грешки или пропуски в оригиналът на този доклад са отговорност на Приятели на Земята – САЩ, а тези, които може да са възникнали при превода – на За Земята.

© Запазени авторски права, септември 2018 г. Friends of the Earth U.S.

Съдържание

Предговор към българското издание ... 3

Обобщение ... 4

Общ преглед ... 8

Определение за генно инженерство ... 9

Какво представлява редактирането на гени? ... 9

Приложения за редактиране на гени в процес на разработка ... 10

Неочаквани ефекти при редактиране на гени ... 11

- Неочаквани ефекти „извън поставената цел“ ... 11
- Неочаквани ефекти „в целта“ ... 12
- Смущения в регулацията на гените ... 12
- Планирано и непреднамерено вмъкване на ДНК ... 13

Потенциални ефекти на генетично редактираните организми върху биоразнообразието и околната среда ... 14

Малки промени с големи ефекти? ... 15

Генетично насочване ... 15

Необходимостта от регулаторен надзор над генетично редактираните растения и животни в селското стопанство ... 16

- Регулирането и управлението са повече от наука ... 19

Заключение и препоръки ... 19

Предложения за допълнително четиво ... 20

Бележки под линия ... 21

Редактирането на гени създава ГМО. То е свързано с директна променя на генетичния материал, извършена от хората.

Предговор към българското издание

Темата за генетично модифицираните организми е изключително популярна в България, но към този момент за обществото ни липсва достатъчно информация относно новите технологии на генното инженерство. А малкото налична такава е изключително едностранчива и говори предимно за ползите от тях. Индустрията, която предлага продуктите на тези технологии, старателно избягва асоциирането на новите технологии с класическите способи за производство на ГМО и ги нарича най-често „нови техники за отглеждане“. Рекламира ги като изключително прецизни, безопасни и важни за човечеството до такава степен, че не можем без тях. С тях (и едва ли не само с тях) ще можем да изхраним човечеството, да се справим с предизвикателствата на климатичните промени, дори ще трансформираме селското си стопанство като го направим устойчиво и щадящо околната среда. Но дали трябва да вярваме на същите обещания, които ни предлагаха и продължават да ни предлагат относно класическите ГМО, та нали те бяха изключително прецизни и нали те щяха да изхранят човечеството?!

В отговор на това от За Земята решихме да преведем и публикуваме този доклад, издаден от колегите ни от Приятели на Земята САЩ. Избрахме него, защото успява да обясни новото поколение ГМО на един сравнително достъпен език, а в същото време е изключително издържан от научна гледна точка. В него може да се намери достатъчно информация, която да отговори на някои от най-важните въпроси. Какво означават „генетично редактиране“, „CRISPR“, „генетично насочване“ и други подобни термини, които малко по малко се появяват в медии, презентации, дискусии? Наистина ли те са толкова прецизни и безопасни? Следва ли да бъдат регулирани, както старото поколение ГМО или трябва да бъдат употребявани без контрол?

Следва да отбележим, че някои части от доклада отразяват контекста на дебата в САЩ, но решихме да не го променяме, защото в действителност, освен различният начин на регулация, останалите аспекти са релевантни и за нашето общество. А и не е лошо да сме информирани какво се случва оттатък океана. Относно това, как следва да бъдат регулирани новите ГМО в Европейският съюз, получихме еднозначен отговор през Юли 2018 г. Тогава Съдът на Европейският съюз реши, че те попадат под обхвата на съществуващите правила за ГМО. Т.е. преди пускането им на пазара за храна или фураж, както и за отглеждане в земеделските полета, те следва да бъдат проверени за безопасност, следвайки принципа на предпазливостта. Едва след получаване на разрешение могат да бъдат предлагани като храни или фуражи и следва да бъдат етикетирани като ГМО. Ние напълно споделяме това виждане.

За съжаление към момента на издаването на доклада на български език, Европейската комисия и националните правителства не успяват да приложат това решение. Засега няма контрол при вноса на храни и фуражи в Европейския съюз (и в частност в България) за наличието на продукти, съставени или съдържащи ГМО, получени с тези нови техники. Дори не е разработен метод за изследване на наличието им. До голяма степен това се дължи на дългото протакане от страна на Европейската комисия. А сега, почти година след решението на съда, вместо прилагането му, някои политици, подкрепени от индустрията и малка част от научната общност предлагат друго – да променим законодателството, така че ГМО2.0 да могат бързо и лесно да достигат на пазара за сметка на занижен контрол за безопасност. Ние, заедно със стотици граждански организации и хиляди граждани в Европа смятаме да не позволим това!

Приятно четене!

Обобщение

Генетично редактираните култури, които са заобиколили надзора на Администрацията по храните и лекарствата на САЩ: култивирана печурка, жито, соя, восъчна царевица

Компаниите в САЩ се надпреварват да внасят в продоволствената система генетично модифицирани организми (ГМО), произведени чрез използване на новите технологии на генното инженерство като CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – групирани равномерно разположени кратки палиндромни повторения) и други техники за „редактиране на гени“ (или „редактиране на генома“) в условия на слаби или напълно липсващи надзор и информиране на обществото, въпреки научните изследвания, които доказват наличието на потенциал за значителни непредвидени последици от това.

Например в скорошно проучване, публикувано в Nature Biotechnology, учени от Института Wellcome Sanger в Обединеното кралство установиха, че новите техники за генно инженерство като CRISPR могат да причинят „генетичен безпорядък“.[1] По-точно изследователите са открили непреднамерени големи заличавания и пренареждания на ДНК[2] в близост до целевото място.[3] Преди това изследване други две актуални независими проучвания (публикувани в Nature Medicine – едното от биотехнологичната компания Novartis, а другото от Karolinska Institute) откриват, че клетките, които са генетично модифицирани чрез CRISPR, „имат потенциал да пораждат тумори“[4] или могат да дадат начало на туморогенни мутации[5]. По-ранни проучвания установяват, че генно редактираните растения като соята имат нежелани ефекти, при които генното редактиране е настъпило на непредвидени места с ДНК последователности, подобни на целевото място[6]. Тези проучвания представляват малка извадка от растящия брой изследвания, доказващи непредвидените последици и изненадващите въздействия, които могат да произтекат от генетично модифицираните организми.

Новите техники на генното инженерство се предлагат за широк спектър от приложения: от фармацевтични продукти до генетична терапия за хора, както и в селското стопанство[7]. При предлаганите селскостопански приложения основната черта на генно редактираните растения е толерантността към хербициди[8]. Това предполага, че както и при генетично модифицираните култури, така и при прилагането на техники като CRISPR, ще се засилва химически интензивният подход в селското стопанство. Например първият пуснат на пазара продукт е SU CanolaTM на компанията Cibus, който е устойчив на хербицида сулфонилурея.

Неочакваните и нежелани ефекти на всички ГМО, независимо от това дали са били използвани „традиционни“ или генно редактиращи техники за генетично модифициране, са способни да причинят проблеми за околната среда и човешкото здраве.[9] Въпреки че някои проучвания

описват редактирането на гени с CRISPR като „прецизно“[10], повечето имат за цел да докажат дадена концепция, като разглеждат конкретни желани промени, които биха могли да бъдат постигнати. Но те не разглеждат съпътстващите ефекти от редактирането на гени като нежеланите промени в ДНК на други гени. Както показват текущите изследвания, прецизните редакции не винаги водят до прецизни резултати. Сред допълнителните опасения относно приложенията на генното редактиране в селското стопанство са повишената употреба на агрохимикали, ефектите върху опрашителите, въздействията от натрупване на генно модифицирани черти и генетичното замърсяване на дивите роднини на културите.

Доколкото последните проучвания предизвикват безпокойство относно нежеланите ефекти, е необходимо да се проучат повече последиците от CRISPR и другите инженерни техники върху нецелеви гени и околните екосистеми. Въпреки това хранителни продукти като гъби[11], модифицирани с CRISPR, се допускат на полето и на пазара в САЩ при липсата на достатъчни доказателства за тяхната безопасност[12], без регулаторен надзор и без да бъдат етикетирани като ГМО продукти.

Този доклад изтъква нежеланите ефекти и потенциалните рискове, свързани с приложенията на редактирането на гени в селското стопанство, според публикациите в научноизследователски проучвания, рецензирани от независими експерти. Авторите на доклада подчертават значителните пропуски в изследванията и анализа на данните относно начините, по които непредвидените генетични мутации, произтичащи от редактирането на гени, могат да повлияят на човешкото здраве и екосистемите. Настоящият доклад дава препоръки за по-нататъшни изследвания и изтъква липсата на регулаторен надзор в САЩ. Докладът разглежда също въпроса дали редактирането на гени е необходимо в селското стопанство, тъй като модерното конвенционално селектиране предлага алтернативна и вероятно по-добра възможност за разработването на нови сортове растения и животни.

Какво представлява редактирането на гени?

Редактирането на гени е набор от нови техники за генно инженерство с цел промяна на генетичния материал на растения, животни и микроорганизми, например бактерии, при които за разрязването на ДНК се използват „молекулярни ножици“, насочени към определено място в ДНК на организма. След това изрязаната ДНК се поправя чрез собствения механизъм за възстановяване на клетката.

Тези техники създават ГМО. Всяка изкуствена манипулация, която навлиза в живи клетки с цел да промени генома[13] по пряк начин, включително чрез редактиране на гени, представлява генно инженерство.

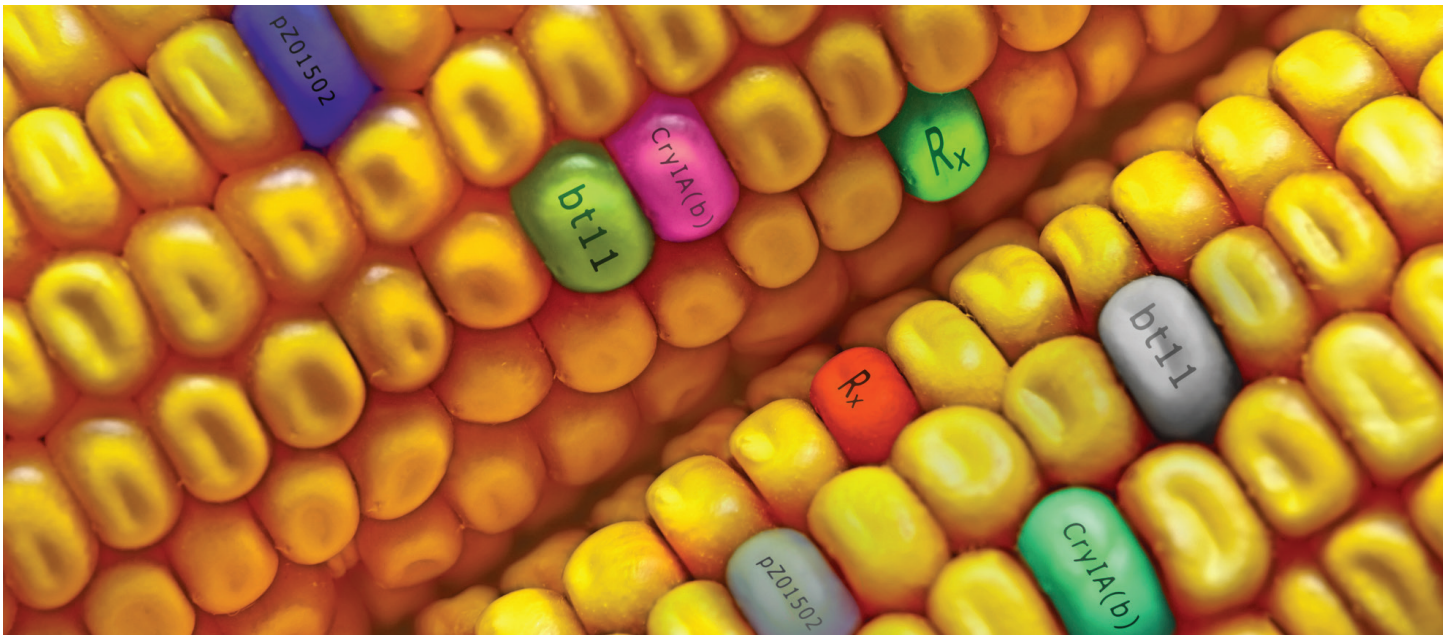
CRISPR

Една от най-популярните и най-нови технологии за редактиране на гени е CRISPR. Тя отрязва ДНК на определено място, използвайки молекулярни ножици, известни като насочена нуклеаза (SDN). След това определен ген се вмъква, изтрива или се променя по друг начин. Въпреки че CRISPR се рекламира с потенциала да бъде точен инструмент за генно инженерство, последните проучвания предупреждават, че използването на CRISPR може да има нежелани ефекти върху регулирането на ДНК и на гените и може да причини сериозни проблеми, например потенциално взаимодействие с гена за предотвратяване на рак в човешките клетки.[14]

Генетично насочване

За изменяне на генетиката на цели популации[15,16] се предлага т.нар. „генетично насочване“ (gene drives), което чрез CRISPR изкуствено налага предаването на определена черта през поколенията на даден вид, заобикаляйки хода на естествения подбор. Веднъж освободени, организмите подложени на генетично насочване не могат да бъдат изтеглени обратно и всички предизвикани от тях промени в генетичния състав на популацията по всяка вероятност са необратими. Следователно генетичните промени в популацията вероятно ще се запазят в продължение на много дълго време или дори вероятно за постоянно. Това може да доведе до дълбоки и непредсказуеми последици за обществото и околната среда.

Предложените приложения на генетичното насочване са все още в етап на „доказване на концепцията“. Сред тях са например генетичното модифициране на комари с цел предотвратяване на ефективното им възпроизводство, като по този начин се намалява популацията на комарите като вектор на болести;[17] или изменянето на гените на селскостопанските вредители, за да се намаляване на популациите им[18]. Макар че тези приложения сякаш обещават ползи за обществото, опасенията свързани с генетичното насочване са изключително сериозни. Предвид величината на риска 170 граждански организации от цял свят настояват за мораториум върху развитието на генетичното насочване.[19] Учени също предупреждават, че генетичното насочване би могло да способства широкомащабни вредни въздействия, ако възникнат нежелани ефекти.[20]



Генно-редактираните черти могат да се насложат върху други ГМО характеристики, което евентуално да засегне токсичността им към дивата природа.

Необходимостта от регулаторен надзор на генно редактираните растения и животни в селското стопанство

Първоначалните научни оценки на CRISPR и други нови техники за генно инженерство, както и високият потенциал за непредвидени последици показват колко са важни наличието на силна структура на управление и предпазливият подход към редактирането на гени.[21] Въпреки това настоящата регулаторна структура в САЩ е съвкупност от слаб надзор, разделен между Агенцията за защита на околната среда на САЩ (USEPA – United States Environmental Protection Agency), Министерството на земеделието на САЩ (USDA – United States Department of Agriculture) и Администрацията по храните и лекарствата на САЩ (USFDA – United States Food and Drug Administration). В следствие на това някои от най-често срещаните видове технологии за редактиране на гени като CRISPR могат да избегнат съществена регулация и оценка в Съединените щати. USEPA на практика не изисква никаква оценка на въздействието върху околната среда на генетично модифицираните организми, докато USDA регулира генно редактирани растения, само ако включват растителни вредители или самите те са растителни вредители.[22] USFDA не изисква задължителна оценка на безопасността на храните и въпреки че формално има пълномощие да оценява генетично редактирани животни, стандартите за това са неясни.[23] Веднъж пуснати на пазара в САЩ, генно редактираните продукти може да са неразпознаваеми за потребителите или търговците на дребно, тъй като настоящото предложение за регламент за етикетиране на ГМО в процес на разискване в САЩ може и да не обхваща генно редактираните организми.[24]

Предвид преобладаващите непредвидени последици от приложенията на генното инженерство, всички негови техники трябва да попадат в обхвата на правителствения регулаторен надзор върху генетичното инженерство и ГМО. През юли 2018 г. Европейският съд създаде важен прецедент, като заяви, че генно-инженерните технологии от „втората вълна“, като ODM (насочена мутагенеза чрез олигонуклеотид) и CRISPR, ще бъдат включени в европейските регламенти, разработени за първата вълна от технологии за генно инженерство.[25]

Конвенцията на ООН за биологичното разнообразие също води важен международен диалог за управлението на втората вълна в генетичното инженерство. Понастоящем Конвенцията обсъжда общи глобални препоръки за предпазни насоки за регулиране на генното инженерство, като отделя специално внимание на генетичното насочване.

Заключение

Изследванията и регулациите не успяват да бъдат в крак с развитието на генното инженерство. Новите технологии за генно инженерство като CRISPR изискват по-задълбочен анализ в контекста на селскостопанските екосистеми и хранителната система като цяло, за да се направи правилна оценка на потенциалните рискове и хипотетичните ползи. За да се преодоле-

ят значителните пропуски в научното познание, заедно с научно обоснованите оценки на рисковете за здравето и околната среда обхватът на анализа трябва да бъде разширен, така че да включва социални, културни и етични съображения, както и обширна обществена дискусия за определяне бъдещето на генното редактиране в селското стопанство. Необходими са по-солидни изследвания и регулации в областта на редактирането на гени в цялата международна общност, като следва да се обръща специално внимание на потенциалното въздействие върху здравето на хората и околната среда, наред с приобщаващ обществен дебат по темата.

Алтернативите на редактирането на гени вече се доказват като по-малко рискови и по-високо ефективни.[26] С помощта на подобреното разбиране на ДНК и геномите техниките като геномна селекция[27] и селекция с маркери могат да ускорят подбора на желаните черти чрез конвенционалното размножаване. Подобни подходи вече са постигнали успех в производството на устойчиви на болести култури[28] и в подобрено развъждане на едър рогат добитък, свине и пилета.[29] Подобни нови конвенционални възможности за развъждане трябва да бъдат допълнително проучени като жизнеспособно решение за разработване на една предпазваща, безопасна, устойчива и справедлива хранителна система.

Основни констатации

- Генно редактираните организми са склонни към непредвидени и неочаквани ефекти на молекулярно ниво, които могат да представляват заплаха за човешкото здраве и околната среда, ако ГМО бъдат пуснати на пазара без задължителна задълбочена оценка на безопасността и без надзор.
- Генетичните насочвания, предназначени да наложат определена черта сред цялата популация на даден вид, могат да имат дълбоки и непредвидими отрицателни последици за организмите и околната среда.
- Предлагането на предимно толерантни на хербициди генетично модифицирани растения[30] предполага, че приложенията за редактиране на гени допълнително ще засилят химически интензивния подход в селското стопанство.
- В САЩ настоящите регламенти допускат генно редактирани организми в околната среда и на пазара без оценка или етикетиране.
- Има пропуски в изследванията относно начините, по които непредвидените последици на генетично ниво могат да повлияят върху целия организъм или да взаимодействат със сложни фактори на околната среда. Необходими са по-задълбочени изследвания, по-специално относно потенциалното въздействие върху здравето на хората и околната среда.

Препоръки за международните и национални регулатори

- Всяко умишлено изкуствено манипулиране, което навлиза в живи клетки с цел да се промени геномът по определен начин, включително редактирането на гени, представлява генно инженерство. Всички техники за генно инженерство трябва да попадат в обхвата на правителствения регулаторен надзор върху генното инженерство и ГМО.
- Продуктите от всички техники на генното инженерство, включително редактирането на гени, трябва да бъдат регулирани като се използва принципът предпазливостта за опазване на човешкото здраве и околната среда.
- Продуктите от всички видове генно инженерство трябва да бъдат етикетирани и проследими, а надзорът и регулациите трябва да включват независима оценка за безопасността и други дългосрочни въздействия, преди тези продукти да бъдат пуснати на пазара или в околната среда.

Редактирането на гена може да предизвика големи заличавания и сложни пренареждания в ДНК на организма.

Общ преглед

Културите, модифициарни с CRISPR, не се считат за ГМО".[31] „Тази технология за редактиране на гени може да бъде прекалено опасна за разгръщане".[32] Новинарските заглавия относно новите техники за генно инженерство обиколиха целия свят. Въпреки че това са нови техники за генно инженерство, ГМО и свързаното с тях въздействие върху околната среда, като например увеличената употреба на базирания на глифозата хербицида Раундъп (Roundup)[33], са причина за безпокойство през последните 20 години. Сега отново се възхвалява генното инженерство, но с нова премяна, използвайки имена като редактиране на гени или редактиране на генома. Независимо от рекламирането на потенциалните му приложения в селското стопанство,[34] редактирането на гени предизвиква загриженост.

Редактирането на гени представлява генно инженерство, тъй като включва използването на лабораторни техники за промяна на ДНК.[35] Въпреки че се насърчава въз основа на до голяма степен неоснователни твърдения за специфичност и точност, техниките за редактиране на гени – както всички видове генно инженерство – могат да причинят неочаквани и непредсказуеми ефекти. Въпреки това генно редактираните растения заобикалят надзора на USDA (Американското министерство на земеделието).[36] Това означава, че, въпреки че биха могли да имат трайни последствия, тези генно редактирани култури не се подлагат на оценка за безопасност за околната среда.

Този доклад обсъжда проблемите, свързани с редактирането на гени, представени в публикувани научни изследвания, подчертава пропуските в научните оценки и посочва необходимостта от регулаторен надзор, който изисква оценка на безопасността на генно редактираните организми за здравето и околната среда. Много научни изследвания вече са изтъкнали определени генетични грешки, които могат да възникнат при редактирането на гени, включително така наречените „нецелеви" ефекти. Въпреки това все още не са проведени проучвания относно възможните последици от тези грешки по отношение на безопасността на храните и околната среда. Обхватът на публикуваните проучвания също говори за пропуски в широкия обществен диалог относно използването на генно редактирани растения и животни в селското стопанство, относно начина на тяхното оценяване, етикетиране и използване (ако се използват изобщо) в селското стопанство. Жизненоважно е да се извършват подробни изследвания за всеки генетично редактиран организъм преди да се допусне всякакво отглеждане на открито или навлизане в хранителната верига. Тези проучвания следва да оценят всяко потенциално отрицателно въздействие върху здравето на хората и животните, околната среда и биологичното разнообразие и всички те следва да бъдат взети под внимание от регулаторите в съответствие с принципа на предпазливостта.[37]

Проблеми с генетично редактираните организми

Технически

- Генетично редактираните организми са нов вид генно инженерство, водещо до създаването на ГМО.
- Генетичното редактиране е предразположено към генетични грешки, водещи до неочаквани ефекти в получения ГМО.
- Безопасността за околната среда и на храните може да бъде повлияна от неочакваните ефекти на генетичното редактиране.

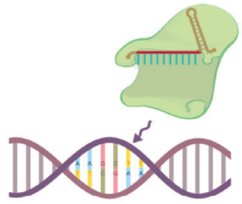
Обществени ценности

- Нормативната система не разглежда обществени ценности.
- Генетично редактираните организми в храните може да не бъдат етикетирани като ГМО (бел.пр. това твърдение е валидно за САЩ. Съгласно решението на Съда на Европейския съюз те следва да бъдат етикетирани).
- Генетично редактираните организми не са необходими за селското стопанство – иновативните конвенционални методи за размножаване предоставят нови сортове.

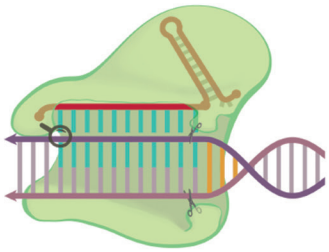
Регуалационни

- Генетично редактираните организми изискват внимателна оценка на всички генетични грешки и неочаквани ефекти.
- Празнини в американската регулаторна система позволяват ГМО да избегнат оценка на риска.
- Генетично редактираните организми подложат на оценка на риска в много други страни и региони по света, включително ЕС.

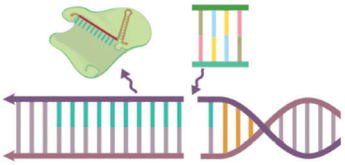
Как работи генетичното редактиране



"Молекулярни ножици" (нуклеази) са насочени към място (целево място) в ДНК на организма.



Молекулярният ножичен комплекс обхваща целевото място и пресича ДНК



Започва поправката на ДНК и се осъществява или с (SDN2) или без (SDN1) синтетичен шаблон за поправка. Алтернативно може да бъдат вмъкнати гени (SDN3).

ДНК вече е "редактирана". Обаче, в действителност, генетичното редактиране може да доведе до нецелени промени и грешки, които да доведат до неочаквани ефекти в генетично редактирания организъм.

Определение за генно инженерство

Съществуващите генетично модифицирани култури, например соя „Раундъп Реди" (Roundup Ready) и царевица Bt, са произведени чрез „стандартно" генно инженерство. Стандартното генно инженерство, възникнало през 70-те години на миналия век, вмъква гени (съставени от ДНК) на произволно място в собствената ДНК или генома на организма.[38] Ако тези гени са от друг организъм (често наричани „чужди" гени), полученият ГМО е трансгенен. Почти всички настоящи търговски генетично модифицирани култури са трансгенни, като внесеният (един или повече) ген обикновено произвежда протеин, който прави растението толерантно към определен хербицид (напр. соята сорт „Раундъп Реди") или токсичен за някои вредители (например Bt царевицата).

Генетичното инженерство е съвсем различно от обичайното развъждане. Конвенционалното развъждане се използва от земеделските стопани и животновъдите в продължение на хиляди години[39] за разработване на растителни и животински сортове с желани качества, като например зърно или мляко с по-добри качества или устойчивост срещу вредители и болести. При растенията и животните, конвенционалното размножаване се основава на обичайното чифтосване между мъжки и женски индивиди, за да се произведе потомство с желаните черти, които след това се подбират за по-нататъшно размножаване. За разлика от него, генното инженерство не разчита на чифтосване, за да получи желаните черти. Вместо това изследователите променят директно генетичния материал на даден организъм, използвайки лабораторни техники. Именно това директно изменяне на генетичния материал от хората определя генното инженерство в САЩ[40] и стои в основата на определението на ГМО в Обединените нации[41] и Европейския съюз[42].

Генното инженерство не разчита на чифтосване, за да получи желаните черти. Вместо това хората директно променят генетичния материал на даден организъм като използват лабораторни техники.

Какво представлява редактирането на гени?

Редактирането на гени (наричано също геномно редактиране) е набор от нови техники на генното инженерство за промяна на генетичния материал на растения, животни и микроби, например бактерии. Всички такива техники използват синтетично молекулярно насочване с цел промяна на ДНК, докато тя присъства в организма, т.е. *in situ*. Промяната в генетичния материал на организма се постига не чрез размножителния процес (както при конвенционалното развъждане), а директно и изкуствено от хората, като се използват същите или подобни лабораторни техники като при генното инженерство. Следователно както генното инженерство, така и редактирането на гени произвежда ГМО.

Както генното инженерство, така и редактирането на гени произвежда ГМО

Най-обсъжданата техника за редактиране на гени е CRISPR[43], но съществуват няколко техники за редактиране на гени, като всички те следват едни същи основни принципи. Молекулярните ножици се насочват към определено място в ДНК, където я разрязват. Тази изрязана ДНК след това се ремонтира от собствения механизъм за ремонт на клетката. Начинът на ремонта е ключов за класифицирането на организмите с редактирани гени. В зависимост от това как се постига ремонта (вж. карето), има три различни вида редактиране на гени: със или без синтетичен шаблон за ремонт и чрез вмъкване на (един или повече) гени.[44]

Принципната разлика между „стандартното" генно инженерство и редактирането на гени е, че не е задължително генът да се вмъква в организма, за да се получи нова черта,[45] въпреки че молекулярните ножици трябва да бъдат въведени в организма. Полученият генетично модифициран организъм би могъл да произведе или да не произведе нов протеин като част от новата характеристика, както е с повечето ГМО, които понастоящем се предлагат на пазара. Въпреки това, дори ако даден генно редактиран организъм не съдържа чужди гени и не проявява нов протеин, той не може да бъде считан за „безопасен" за околната среда или храната единствено въз основа на това. Освен това е възможно разработчикът да е въвел чужда ДНК и да не знае дали тази ДНК е все още там (вж. Планирано и непреднамерено вмъкване на ДНК по-долу). Както е обяснено в частта Неочаквани ефекти по-долу, подобно на стандартното генно инженерство, процесът на редактиране на гени може да доведе до неочаквани и непредвидими ефекти в произтичащия ГМО.

Дори ако генетично модифицираният организъм не съдържа чужди гени и не проявява нов протеин, той не може да бъде считан за „безопасен" за околната среда или храната единствено въз основа на това. …Както стандартното генно инженерство, процесът на генно редактиране може да доведе до неочаквани и непредвидими ефекти в произтичащия ГМО.

Приложения за редактиране на гени в процес на разработка

Редактирането на гени се предлага за широк спектър от потенциални черти. В научни списания са публикупоказващи приложимост както за растенията, така и вани пилотни проучвания за доказване на концепцията, за животните. При животните приложенията включват разработка на свине с резистентност към някои болести[51] и „двойно замускулени" говеда, които пораждат етични опасения, тъй като прекалено развитите мускули могат да причинят затруднения с дишането[52] и други здравни проблеми. Също така има изследвания върху генно редактирани насекоми за приложения в създава-

Различни видове редактиране на гени

Техниките за редактиране на гени като CRISPR, TALEN, ZFN и мегануклеаза46 насочват молекулярни ножици (известни като сайт-насочена нуклеаза, SDN) към мястото на генома, където е планирано да се извърши промяната на ДНК. В зависимост от техниката тези насочени молекулярни ножици са под формата на синтетични протеини или синтетични РНК-протеинови комбинации. Молекулярната ножица отрязва ДНК, която след това се подлага на поправка чрез собствения механизъм на клетката. Често се използва синтетичен ДНК шаблон за насочване на ремонта по такъв начин, че да се постигне определена промяна в ДНК.[47] Това води до различни видове генно редактиране:

1) Не се използва шаблон за ремонт (SDN тип 1 или SDN1)
2) Използва се шаблон за ремонт (SDN тип 2 или SDN2)
3) Поставят се гени по време на процеса на редактиране, които обикновено придават определена черта на организма, който се получава. Ако гените са от други видове, генното редактиране произвежда трансгенен организъм. (SDN тип 3 или SDN3).

Най-често срещаният тип молекулярна ножица, използвана с CRISPR, се нарича "Cas9", поради което често се говори за системата CRISPR-Cas9, но са възможни и други видове молекулярни ножици, напр. Cpf1.[48] Освен това в процес на разработка е и нова стратегия за CRISPR, наречена базова редакция. Базовата редакция използва молекулярни ножици, които не прерязват ДНК, а я „разплитат", което позволява да се извърши малка промяна в ДНК (на единична базова двойка).[49] Въпреки това, опасенията относно генетичните грешки, създадени по време на процеса на редактиране на гени, важи и за базовата редакция.

Технологията за редактиране на гени, известна като насочена мутагенеза чрез олигонуклеотид (ODM), не използва насочени молекулни ножици, а вместо това въвежда кратка верига от ДНК, която се прикрепя на определено място към ДНК на организма и предизвиква промяна в тази ДНК.[50]

Въпреки че често се описва като прецизно, генното инженерство, включително генетичното редактиране е податливо към създаване на генетични грешки.

нето на генетично насочване (виж раздел Генетично насочване). При растенията в процес на разработка са генно редактирани черти като поносимост към суша за царевицата, устойчивост на вируси за краставиците, променено време на цъфтеж на доматите и променен състав на соята.[53] Въпреки това преобладаващата черта при растенията е устойчивостта към хербициди. Това предполага, че като при настоящите генетично модифицирани култури, водещият интерес в редактирането на гени е насочен към разработване на култури с толерантност към хербициди.[54] Всъщност един от първите генно редактирани продукти, пуснати на пазара в Северна Америка, е устойчивата на хербицид рапица.[55]

Преобладаващата черта при растенията е устойчивостта към хербициди. Това предполага, че като при настоящите генетично модифицирани култури, водещият интерес в редактирането на гени е насочен към разработване на култури с толерантност към хербициди. Всъщност един от първите генно редактирани продукти, пуснати на пазара в Северна Америка, е устойчивата на хербицид рапица.

Неочаквани ефекти при редактиране на гени

Въпреки че техниките за редактиране на гени често се описват като „прецизни“[56] в сравнение със стандартното генно инженерство, тези техники, също като стандартното генно инженерство, могат да причинят неволни промени в генетичния материал (както е описано по-долу). Всъщност същата претенция за точност и специфичност бе в основата на стандартните техники за генно инженерство, за които сега се знае, че предизвикват грешки (вж. Планирано и непреднамерено вмъкване на ДНК).[57] Такива неволни промени или генетични грешки могат да доведат до неочаквани ефекти. Освен това, дори когато възникне предвидената промяна, е възможно да се появят и неочаквани ефекти, тъй като организмите, които са генно редактирани, могат да се държат в естествена среда по начин, различен от очакваното според лабораторните експерименти. Възможно е включване на тъканната култура в процеса на генно редактиране, както често се случва и при стандартните техники за генно инженерство, което може да доведе и до неочаквани промени (мутации на ДНК).[58] Въпреки че съществуват много изследвания за „доказване на концепцията“, които показват какви желани промени могат да се постигнат чрез редактирането на гени, напълно липсват проучвания относно възможните последствия за безопасността на храните и околната среда от неочакваните ефекти, произтичащи от процеса на редактиране на гени и/или от инженерно внесените черти.

Въпреки че съществуват много изследвания за доказване на концепцията, които показват какви желани промени могат да се постигнат чрез редактирането на гени, напълно липсват проучвания относно възможните последствия за безопасността на храните и околната среда от неочакваните ефекти, произтичащи от процеса на редактиране на гени и/или от инженерно внесените черти.

Неочаквани ефекти извън поставената цел

Един от основните начини, по които редактирането на гени може предизвиква неточности и генетични грешки, е произвеждането на „нецелеви” ефекти – промени в други гени, които не са нарочно предвидени. Нецелевите ефекти могат непреднамерено да изменят важни гени, което води до промени в химическия им състав или в производството на протеини – два важни фактора за безопасността на храните и околната среда. Повечето

проучвания на потенциалното използване на техники за редактиране на гени в селското стопанство разглеждат нецелевите ефекти като голямо предизвикателство и същевременно като причина за сериозни опасения.[59] Както е описано по-долу, много изследвания вече откриват такива ефекти в генно редактирани растения и животни.

Нецелевите ефекти възникват вследствие на процеса на генно редактиране и настъпват на едно или повече допълнителни непредвидени места с подобни ДНК последователности като планираното (целевото) място. По този начин генното редактиране причинява непреднамерена промяна на ДНК на непредвидено (нецелево) място.[60] Честотата на появяване на нецелевите ефекти зависи от използваната техника и точния протокол за генно редактиране,[61] но системата CRISPR-Cas9 изглежда е особено податлива на нецелеви ефекти.[62] Такива нежелани ефекти са открити от много проучвания върху генно редактирани растения, например ориз, соя[63] и пшеница[64]. Нецелевите ефекти също така са причина за безпокойство при генно редактираните селскостопански животни като прасета и едър рогат добитък[65], а такива ефекти са открити също и при генно редактирани клетки на мишки[66] и хора[67]. Въпреки това някои проучвания съобщават за липса на забележими нецелеви ефекти при генно редактираните животни.[68] Възможно е това да се дължи на факта, че въпреки че нецелевите ефекти може да са налице, е трудно те да бъдат разграничени от естествените генетични вариации.[69] За да се оценят всички потенциални рискове, свързани с което и да е генно редактирано растение или животно, което се отглежда в околната среда и/или е предназначено за храна, е важно всички нецелеви ефекти да бъдат напълно оценени, за да се определи дали са причинили някакви промени в химическия състав или в производството на протеини.

Повечето проучвания за потенциалното използване на техники за редактиране на гени в селското стопанство разглеждат нецелевите ефекти като голямо предизвикателство и същевременно като причина за сериозни опасения.

Неочаквани ефекти „в целта“

В допълнение към нецелевите ефекти редактирането на гени може да даде различен от очаквания резултат, дори когато планираната промяна се извършва на желаното целево място. Едно дребно вмъкване или заличаване на ДНК на даден ген, дори попаднало в целта, може да предизвика нежелани промени в начина, по който генът се „чете“ и преработва до протеини. По същество гените в ДНК се „четат“ при производството на междинен продукт (RNA[70]), който след това се преработва в протеини. Проучванията показват, че е възможно CRISPR неволно да предизвиква обширно заличаване и сложни реорганизации на ДНК.[71] Заличаването и пренареждането на ДНК, причинени от CRISPR, могат да доведат до пропускане на важни части от гена (отговорни за кодирането при производството на протеини) при „прочитането“ на ДНК.[72] Тази грешка в прочитането на ДНК има потенциала да произведе изменени протеини. Тъй като хранителните алергени са предимно протеини, изменените протеини могат да имат значителни последици за безопасността на храните.[73] Едно от важните опасения относно алергенността на протеините отдавна е в сила за ГМО, създадени чрез стандартните техники на генното инженерство. Например в САЩ генетично модифицираната царевица Starlink е одобрена само за храна на животни, а не за хора, поради опасения, че вмъкнатия устойчив на насекоми ген (Bt Cry9C) е потенциално алергенен. Когато се установява, че тя замърсява човешките хранителни запаси, царевицата е изтеглена от пазара.[74]

Неправилното „прочитане“ на ДНК в генно редактирано растение или животно може да повлияе на биологичното разнообразие. Например, ако химическият състав на генно редактираното растение или животно бъде променен от погрешно прочитане на ДНК, то може да произведе съединение, токсично за дивите животни, които се хранят с него. Подобни опасения по отношение на човешката и екологичната безопасност подсказват, че генно редактираните организми трябва да бъдат анализирани в търсене на всички ефекти „в целта“, а последиците от тях трябва да бъдат внимателно оценени.

Редактирането на гени в ДНК може неволно да повлияе на работата на регулаторната мрежа на организма. Възможно е вследствие на това собствените (нередактирани) гени на организма да не се изразяват така, както би трябвало, например в неподходящо количество, с погрешен състав или в неправилното време.

Смущения в регулацията на гените

Освен че може да изменя ДНК на организма, редактирането на гени може да има нежелано въздействие върху способността на организма да изразява или потиска други гени. Гените в даден организъм се включват (експресират) и се изключват в различни части на тялото и в различно време, докато организмът расте, възпроизвежда се или реагира на фактори на околната среда

като светлина, топлина или суша. Освен това гените взаимодействат един с друг като потискат или подсилват изражението си. Организирането на работата на гените в организма е част от сложна регулаторна мрежа. Но точният начин, по който работи тази регулаторна мрежа, е сложен и все още слабо разбран, както се вижда от последните постижения в познанията за това как се регулира генната експресия.[75] В продължение на няколко десетилетия, например, преобладаващата теория в молекулярната биология бе, че всеки ген има една-единствена функция (т.е. произвежда един протеин), но сега вече е известно, че гените могат да имат по няколко функции и да си взаимодействат помежду си.[76] По същия начин ДНК, която не произвежда протеини, се смяташе за „излишна", но сега се смята, че голяма част от тази „излишна" ДНК е важна за контролиране на генната експресия в геномите на растения, животни[77] и хора[78].

Вече се съобщава за неочакван отговор от клетъчната регулаторна мрежа по време на редактирането на гени. В експерименти с човешки клетки неочаквано е установено, че разрезите направени от CRISPR в ДНК убиват клетки или спират растежа им.[79] Поради липсващи познания относно начина на регулиране на геномите не е възможно да се предскажат естеството и последиците от всички взаимодействия между (умишлено или неволно) изменения генетичен материал и други (нередактирани) гени в организма. Това означава, че редактирането на гени в ДНК може неволно да повлияе на функционирането на регулаторната мрежа на организма. Възможно е вследствие на това собствените (нередактирани) гени на организма да не се изразяват така, както би трябвало, например в неподходящо количество, с погрешен състав или в неправилното време.

Както е видно от тези примери, разбирането на учените за генетиката и за това как се регулират гените е все още твърде условно. Дори генното редактиране да е „прецизно", резултатите не винаги са точни. Точно както всички генетично модифицирани организми, генно редактираните организми могат да проявяват неочаквани и непредвидими ефекти в резултат на непредвидени взаимодействия между променения генетичен материал, собствените (нередактирани) гени на организма и неговата регулаторна мрежа. Всяко неочаквано и непредсказуемо въздействие може да доведе до промени в биохимичните пътища или в състава на протеините, които на свой ред засягат безопасността на храните и околната среда.

Дори генното редактиране да е „прецизно", резултатите не винаги са точни.

Планирано и непреднамерено вмъкване на ДНК

В процес на разработка са много разновидности на редактирането на гени. Въпреки това повечето генно редактирани растения, разработени досега, използват процес, подобен на този при конвенционалните ГМО. По време на типичния процес на редактиране на ген в генома на организма на произволно място се вмъква ДНК „касета" (набор от гени), съдържаща компонентите на CRISPR – по същия начин, както се създават и стандартните ГМО. Вмъкнатата ДНК „касета" произвежда CRISPR-Cas9–комплекс от протеини и РНК, които извършват генетичната промяна. След това вмъкнатата CRISPR ДНК „касета" може да бъде премахната чрез конвенционално размножаване, така че организмът вече да не бъде трансгенен (т.е. вече не съдържа гени от друг вид). По този начин е разработена генно редактираната пшеница с високо съдържание на влакна, произведена от биотехнологичната стартъп компания Calyxt.[80] Но, неизбежно, не всички вмъкнати ДНК могат да бъдат премахнати. Въпреки това не съществуват процедури (за безопасност или други) за оценка на тази възможност.[81]

В някои генно редактирани растения „ДНК" касетата на CRISPR се вкарва в клетката на организма и извършва редактирането на гена без да се интегрира с генома на организма, както се твърди относно генно редактираната восъчна царевица на DuPont.[82] Въпреки това въведените ДНК може непланирано да се интегрират на случаен принцип в генома на организма.[83]

Възможно е вмъкването на ДНК в генома на организма да е неточно. Независимо дали ДНК се добавя умишлено или не, множество копия и допълнителни фрагменти от ДНК касетата могат да бъдат въведени в генома на организма.[84] Вмъкването на ДНК също така може да предизвика пренареждане на части от собствената ДНК на организма, както често се случва при стандартните генетично модифицирани култури.[85] Въпреки че вмъкнатата ДНК може впоследствие да бъде отстранена чрез конвенционално размножаване, възможно е части от нея да останат незабелязани и така пренареждането на собствената ДНК на организма да

Най-честа черта при генно редактираните растения е устойчивостта към хербициди.

продължи да съществува. Допълнителните фрагменти и пренарежданията на ДНК биха могли да доведат до неочаквани ефекти в генно редактираните организми, давайки повод за същите опасения като настоящите ГМО. Възможно е например редактирането на гени да има последици за безопасността на храните и околната среда, ако променя химическия състав (следователно токсичността) или протеиновия състав (следователно алергенността) на организма.

Потенциални ефекти на генетично модифицираните организми върху биоразнообразието и околната среда

Има много публикации за доказване на концепцията относно това какво би могло да постигне генното редактиране, но нито един от потенциалните продукти от редактирането на гени не е изследван от гледна точка на значението на техните модифицирани характеристики (или неочакваните им ефекти) за околната среда и биологичното разнообразие. В научното познание по тези въпроси има големи пропуски. Както и при стандартните генетично модифицирани култури, има много опасения по отношение на отрицателните въздействия върху биоразнообразието, включително ефектите на генетично модифицираните култури върху пеперудите[86] и повишеното използване на хербициди като глифозата.[87] За съжаление досега множество предупреждения за отрицателно въздействие на стандартните ГМО върху околната среда и биоразнообразието са били пренебрегвани. Например регулаторните органи пренебрегват предупрежденията на учените за неизбежното увеличаване на плевелите, толерантни към глифозат (активната съставка в Раундъп) и за обедняването на биологичното разнообразие в земеделските полета[88] – последици, свързани с използването на генетично модифицирани култури[89] тип Раундъп Реди. Предупрежденията, че генетично модифицираните култури не могат да бъдат контролирани, се сбъдват с текущото замърсяване на храната от генетично модифицирани култури в световен мащаб.[90] Предупрежденията относно генно редактираните организми не бива да остават нечути.

Важно е всички потенциални въздействия от модифицираните черти върху биологичното разнообразие да бъдат оценени преди генно редактираните култури да започнат да се отглеждат на открито. Например какви въздействия може да окаже една промяна във времето на цъфтежа върху опрашителите, които разчитат на цветния нектар за храна? Такива ефекти са важни, тъй като много видове култури са от съществено значение за агробиоразнообразието, а опрашителите са важни за селското стопанство.[91] Освен това много култури имат диви роднини, които също могат да бъдат засегнати от модифицираните черти.[92] Ако дадена черта има за цел получаване на токсично съединение, например инсектицид, това би могло да навреди на биологичното разнообразие, ако тази черта стане преобладаваща в дивата природа. Какви биха могли да бъдат последиците от комбинирането на редактирането на гени със стандартното генно инженерство в растителните култури? Учените все още не разбират напълно ефектите при съчетаването на няколко генно модифицирани черти в един и същи сорт (например толерантност към множество хербициди и/или към множество видове насекоми), нито как такива комбинации променят токсичността за дивите животни и растения, нито как всички нови гени, произтичащи от генното инженерство си взаимодействат един с друг.[93]

Малки промени с големи ефекти?

Промените в генетичния материал, предизвикани от някои видове техники за редактиране на гени (типове SDN1 и SDN2), понякога се описват като „мутации“[94], защото се променят само много малки части от ДНК (една или няколко базови двойки). Малките промени обаче могат да имат големи ефекти. Например разстройството при хората, известно като сърповидноклетъчна анемия, се причинява от една единична промяна в ДНК на човека (точкова мутация в една-единствена базова двойка).[95] Въпреки че мутациите се срещат естествено и действително са важен източник на генетична изменчивост при отглеждането на растения и животни, от това не следва, че генно редактиран организъм със само малка промяна в ДНК непременно е „безопасен“. За да се оцени безопасността за околната среда и храните, всички промени в ДНК (както умишлените, така и неумишлените) трябва да бъдат внимателно оценени.

Въпреки че мутациите се срещат естествено и действително са важен източник на генетична изменчивост при отглеждането на растения и животни, от това не следва, че генно редактиран организъм със само малка промяна в ДНК непременно е „безопасен“.

Генното редактиране (типове SDN1 и SDN2 без вмъкнати чужди гени) може да доведе до по-големи промени в генома, вместо само на една или няколко базови двойки, ако бъде прилагано многократно, насочено към няколко гена наведнъж или ако се използва съчетание от различните техники.[96] Генното редактиране с вмъкване на гени тип SDN3 прави възможно едновременното вмъкване на няколко функционални гени, но тези промени могат да доведат до обширни промени в генома, така че той става почти неразпознаваем в сравнение с първоначалния организъм. Такива обширни промени попадат в обхвата на „синтетичната биология“[97] и досега са постигнати с прости организми като бактерии и дрожди.[98] Поради това дори малки редакции, извършени чрез техники за редактиране на гени, могат да бъдат значителни и потенциално да доведат до големи промени.

Генетично насочване

Техниките за редактиране на гени, особено CRISPR (SDN3), улесняват възможността за създаването на „генетично насочване“ (gene drives). Системите за генетично насочване използват няколко генно редактирани индивиди за разпространение на нови гени сред цялата популация на даден вид.[99] Механизмът гарантира, че посочените нови гени ще бъдат наследени от всяко едно потомство (за разлика от очакваната половина от потомството при нормално наследяване) при всяко следващо поколение.[100] Системи за генетично насочване се предлагат например за промяна на гените на комари с цел предотвратяване на ефективното им възпроизвеждане, намаляване на размера на популациите на комари,[101] както и намаляване на податливостта на комарите към заразяване с маларийния паразит.[102] В селското стопанство потенциалните приложения на генетичното насочване включват промяната на гените на някои селскостопански вредители, например плодова муха (Drosophila suzukii)[103] и щир (Amaranthus palmeri)[104], така че те да не могат се възпроизвеждат ефективно и числеността на популацията да намалява. Такива потенциални приложения на генетичното насочване понастоящем са на етап доказване на концепцията, но има съгласувани научни усилия в тази област.[105]

Веднъж освободени, организмите с генетично насочване не могат да бъдат върнати назад и всякакви промени в генетичната структура на популацията, предизвикани от тях, по всяка вероятност са необратими. Следователно генетичните промени в популацията вероятно ще продължат да съществуват много дълго време, може би за постоянно. Наред с опасенията относно това кой решава дали дадени видове са селскостопански „вредители“ или не,[106] учените вече предупреждават[107], че последиците от генетичното насочване могат да бъдат тежки, ако възникнат неочаквани ефекти (например тези, произтичащи от извън целевите ефекти на генното редактиране[108]) или нежелани последствия.[109]

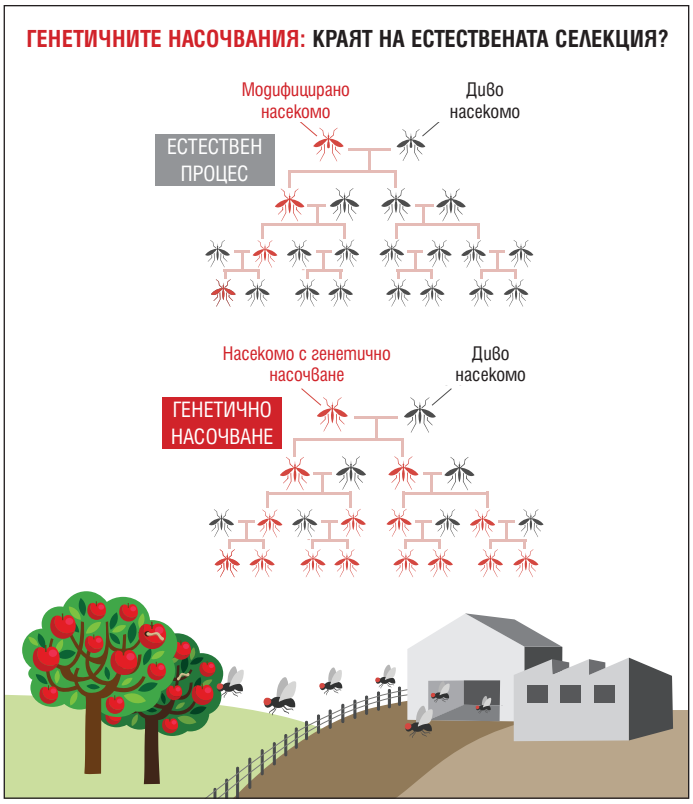
Националната академия на науките на САЩ[110] предупреждава, че: *„Генетичните насочвания, разработени за селскостопански цели, също могат да имат неблагоприятно въздействие върху човешкото благополучие. Прехвърлянето на насочване за потискане върху нецелеви див вид може да има неблагоприятни последици за околната среда и вредно въздействие върху зеленчуковите култури... Например, щирът (амарант на Палмър, Amaranthus palmeri) е вреден плевел в Съединените щати, но един сроден вид Amaranthus, с който амарантът на Палмър може да се кръстосва, се отглежда за храна в Мексико, Южна Америка, Индия, Китай и Африка. Изпускането на генетично насочване за потискане от амарант на Палмър би могло да засегне нецелеви видове и да повлияе отрицателно върху ценните зеленчукови култури от вида Amaranthus. Понастоящем няма национални регулаторни механизми в световен мащаб, които да решават в задоволителна степен въпросите, свързани с полевите*

изпитания и освобождаването в околната среда на организми, модифицирани с генетично насочване.“

Генетичното насочване поражда сериозни опасения сред учените, които вече призовават за международен мораториум върху изследванията за генетично насочване.[111] Въпреки че понастоящем развитието е едва на етап на доказване на концепцията, опасенията сред учените са толкова високи, че има широк консенсус, че дори за изследванията на генетичното насочване е необходима някаква форма на международна регулация.[112] Конвенцията на ООН за биологичното разнообразие обмисля как да се справи с въпроса за генетичното насочване и неговото възможно неблагоприятно въздействие върху околната среда.[113] Но все още не е ясно дали генетичното насочване на насекоми (например комари) или на вредители по селскостопанските растения изобщо ще бъде регламентирано в САЩ.[114]

Необходимостта от регулаторен надзор над генно редактираните растения и животни в селското стопанство

Понастоящем тече международна дискусия относно това как трябва да се регулират генно редактираните растения и животни в селското стопанство.[115] Редактирането на гени е новост в селското стопанство. Едва наскоро то стана приложимо от търговска гледна точка, като техниката CRISPR датира приблизително от 2012 г.[116], а на пазара се предлагат едва няколко продукта, понастоящем само растения. Много други страни и региони са в процес на преразглеждане на правилата относно ГМО, така че да се вземат предвид генетично редактираните организми. Генно модифицираните растения с вмъкнати в тях гени от друг вид (генно редактиране тип SDN3) обикновено се разглеждат като ГМО от регулаторните органи по цял свят, тъй като са много подобни на трансгенните организми.[117] Въпреки това в някои страни се обсъжда дали генетично модифицираните организми, които не са трансгенни, но са с „редактирани“ ДНК (генно редактиране тип SDN1 и SDN2), трябва да бъдат регулирани по същия начин като ГМО, произведени чрез стандартните техники за генно инженерство. Съдът на ЕС например реши, че всички генетично редактирани организми (включително тези, произведени чрез ODM, SDN1 и SDN2) са обект на европейските регулации за ГМО.[118] От проведеното обществено допитване в Австралия в края на 2017 г. и началото на 2018 г.[119] изглежда вероятно генно редактираните организми, разработени с използване на SDN2, да бъдат регулирани като ГМО, но положението по отношение на SDN1 е неясно.[120] В Аржентина се прилагат регулации за



Генетично насочените организми не могат да бъдат върнати назад, тъй като са проектирани да променят необратимо чертите на популациите, което предизвиква тревога сред учените.

всеки отделен случай, в зависимост от това, дали има нова комбинация от генетичен материал.[121] В Канада всички организми с „нововъведени черти“ се регулират от насоките за нови храни, които изискват оценка на всички нови хранителни продукти, независимо дали са произведени чрез конвенционално развъждане или генно инженерство, включително редактиране на гени.[122]

В САЩ USDA е взела решение, че за генетично модифицираните растения *„няма регулация и няма планове за регулиране на растенията, които иначе биха могли да бъдат разработени чрез традиционните техники за развъждане, ако те не са растителни вредители и да не са разработени, използвайки растителни вредители.“*[123] Генно редактираните култури не могат да бъдат класифицирани като растителни вредители, нито разработени от растителни вредители и обикновено не е ясно, дали те биха могли да бъдат разработени чрез стандартно (конвенционално) размножаване. По този начин се избягва регулаторния надзор над генно редактираните култури в САЩ.

Обичайно в САЩ разработчикът на генетично модифициран организъм трябва да подаде подробно заявление за освобождаване на организма от регулация (така че да може да се отглежда без допълнително уведомя-

ване). Но от 2011 г. до сега повече от 30 трансгенни организми, най-вече растения,[124] и най-малко шест генно-редактирани растения (виж по-долу), са успели да заобиколят надзора на USDA. USDA произволно смята, че тези организми нямат нужда от регулация, тъй като не включват гени от известни растителни вредители или самите те не са познати като проблемни растения.[125] Генно редактираните култури, успели да избегнат надзора на USDA[126], включват: соя с толерантност към суша и сол, камелина (посевен ленак, подобен на рапица) с повишено съдържание на масло, зелена кощрява със забавен цъфтеж, восъчна царевица с променен скорбелен състав, устойчива на потъмняване печурка[127] и пшеница с високо съдържание на влакна[128]. Въпреки че USFDA може да подлага тези култури на доброволна оценка за хранителна безопасност[129], статутът им на освободени от регулация означава, че те могат да се отглеждат на открито без оценка на безопасността за околната среда.

Липсата на оценка на безопасността на генно редактираните растения за околната среда създава условия за всякакви неочаквани и непредвидени ефекти, които биха могли да окажат неблагоприятни въздействия върху околната среда и биологичното разнообразие. Тези неочаквани или нежелани ефекти могат да останат незабелязани от разработчиците на продукта. Например изследователи във Великобритания използвали стандартни генетични инженерни техники за производство на генетично модифицирани растения с омега-3 масла, но внезапно се обезпокоили, след като се установява, че тези омега-3 масла неочаквано произвеждат токсични ефекти върху гъсенични ларви, изразяващи се в деформиране на крилата у възрастните пеперуди.[130] Подобен неочакван, но потенциално значителен ефект, почти със сигурност ще остане незабелязан, ако нямаше никакви изисквания за извършване на оценка за безопасността на генно редактираните култури за околната среда. Освобождаването на техниките за редактиране на гени от извършването на оценки за безопасност за околната среда може да има трайни отрицателни последици. Например отглеждането на генно редактирани растения на открито позволява кръстосаното им опрашване със съседни култури или дивите им роднини, улеснявайки разпространението на променените им гени.

Много учени са разтревожени, че генетично редактираните растения не са регулирани в САЩ. Както се разисква в едно научно списание: „*Подходът на Министерството на земеделието на САЩ към надзора върху ГМ културите показва как една регулаторна система може да се отклони от науката.*

Освобождаването на техниките за редактиране на гени от извършването на оценки за безопасност за околната среда може да има трайни отрицателни последици.

Генно редактираните организми, които не съдържат чужди гени или не изразяват нов протеин, не могат да бъдат смятани за „безопасни“ за околната среда или храните; нежеланите ефекти, произтичащи от процеса на редактиране на гени, както и всяка нова черта, трябва да бъдат внимателно разглеждани.

Регламентите за генетично модифицираните култури в тази институция зависят от нейните пълномощия да контролира вредителите по растенията и вредните плевели. В тази система имаше известно основание за първото поколение от такива култури, много от които бяха проектирани с използване на генетични елементи от растителни патогени. Тя бързо губи значението си в лицето на НТО (нови техники за отглеждане). В над двадесетина случая министерството е установило, че даден растителен сорт – продукт на НТО – не попада в приложното поле на регулациите, тъй като не включва използването на растителни вредители и е малко вероятно да доведе до вредни плевели. Това може да са научно обосновани решения, но те не са направени по научно обосновани причини.“[131]

Не е ясно дали в САЩ генно редактираните животни подлежат на изследване за евентуални потенциални въздействия върху околната среда, тъй като в регламентите на Агенцията по околната среда липсват конкретни позовавания на генетично модифицирани животни. Те обаче ще бъдат оценени за безопасност на храните от Агенцията по храните.[132]

От момента на създаването си регулаторният надзор по отношение на ГМО в САЩ нееднократно е критикуван за това, че не успява да оцени напълно ясно рисковете от ГМО.133 Силният регулаторен надзор е от съществено значение, за да се гарантира, че рисковете от генно редактираните организми се разглеждат преди те да бъдат допуснати в околната среда или в

хранителната верига. Необходими са подробни анализи на всякакви нежелани ефекти, вмъкнати гени и нови черти в генно редактираните организми. Генно редактираните организми, които не съдържат чужди гени или не изразяват нов протеин, не могат да бъдат смятани за „безопасни“ за околната среда или храната; нежеланите ефекти, произтичащи от процеса на редактиране на гени, както и всяка нова черта, трябва да бъдат внимателно разглеждани.

Едно от основните опасения относно безопасността за храните, свързано с ГМО, включително и на генно редактираните организми, е дали има нежелана промяна на протеиновия състав. Причината за това е, че тъй като алергените са протеини, в следствие на всяка непреднамерена промяна в протеиновия състав е възможно генно редактираните растения или животни да предизвикат алергии у хората (или животните), които ги ядат.[134] При оценката на генно редактираните организми трябва да бъдат предвидени всички рискове, без значение колко теоретични изглеждат те на първо време. В противен случай съществува опасност потенциалните вредни въздействия да бъдат пренебрегнати. Например опасенията относно отрицателното въздействие на генетично модифицираните Bt култури върху биологичното разнообразие бяха ясно изразени чак няколко години след като Bt царевицата вече бе пусната на пазара[135] и впоследствие бе забелязано, че неочаквани промени в химическия състав на генетично модифицираната Bt царевица увеличават привлекателността ѝ за вредители като листните въшки.[136]

Регулаторният надзор е от съществено значение, за да се гарантира, че потенциалните рискове от генно редактираните организми се разглеждат преди те да бъдат допуснати в околната среда или в храните верига.

Предложенията относно начина на регулиране на генно редактираните организми в селското стопанство са разнообразни и включват гарантираната им регулация като генетично модифицирани организми[137] или най-малкото да се изследват продуктите на генното редактиране, за да се види дали съдържат ДНК последователности от процеса на редакция.[138] За да се избегнат отрицателни въздействия от генно редактирани организми върху безопасността на храните и околната среда, е необходимо задълбочено научно изследване на всички потенциални рискове преди освобождаването им в околната среда или навлизането им в хранителната верига. Тези научни заключения следва да са в основата на изискванията за регулиране и надзор. По-точно, трябва да се прилага принципа на предпазливостта, което означава, че не е необходима пълна научна увереност относно възможните вреди, за да се предприемат превантивни действия.

За да се избегнат отрицателни въздействия върху безопасността на храните и околната среда от генно редактирани организми, има необходимост от задълбочено научно изследване на всички потенциални рискове преди освобождаването им в околната среда или навлизането им в хранителната верига.

Засега не е ясно дали генно редактираните храни ще бъдат етикетирани в САЩ. В предложените правила за етикетиране на храни[139], произведени от генетично модифицирани съставки, терминът „биоинженерство“ се отнася до генетичен материал с вмъкнати гени, поради което може да не обхваща дадена генно редактирана хранителна съставка, ако генетичният материал е бил „редактиран“ без вмъкване на гени. Въпреки търсенето

Генетично редактираните организми изискват внимателна оценка за нежелени ефекти преди използването им в селското стопанство.

на обратна връзка относно включването или изключването в предложените правила на храни, произведени чрез редактиране на гени, съществува опасност генно редактираните храни да не се етикетират като продукт на биоинженерство, генетично инжинерство или ГМО – обстоятелство, което отнема правото на потребителите, търсещи храни, които не са продукт на генното инженерстов. Въпросът за етикетирането е важен също, защото международният орган за биологично земеделие изключва генетично модифицираните (включително генно редактираните) организми от системите на биологичното земеделие.[140] Без етикетиране ще бъде невъзможно да се знае дали храната е продукт на генно редактиране или на конвенционално отглеждане.

Регулирането и управлението са повече от наука

Настоящият доклад до голяма степен е съсредоточен върху научните аспекти на редактирането на гени в селското стопанство, като например рисковете и потенциалните последствия за безопасността на храните и биоразнообразието. Употребата (или неупотребата) на генетично редактирани организми в селското стопанство обаче зависи също и от обществените ценности. Налице е нарастващо осъзнаване, че една научно обоснована оценка на риска от генетично редактираните организми има ограничен обхват.[141] Предложенията за разширяване на обхвата на регламентите и управлението на ГМО извън научните съображения включват: признаване на основните ценности и допускания, оформящи науката и новаторството, зачитане на етичните, обществени и културни ценности, гарантиране на устойчивостта на селскостопанските системи и разглеждане на редица алтернативи на храните, продукт на генното инженерство.[142] Предложението на едно от проучванията е да се разшири обхватът на управлението, което изисква включването на широк кръг от хора от различни обществени сектори, образуващи т.нар. „мрежа за кооперативно управление“, за да се справят сложността на проблемите.[143]

Съществуват алтернативи на редактирането на гени за разработването на нови сортове растения и животни. Конвенционалното развъждане напредна значително през последното десетилетие,[144] подсилено от познаването на ДНК и геномите, като използва това знание, за да подпомогне, а не да замени конвенционалното развъждане. Техниките като геномна селекция и подбор с маркери позволяват селекция на желани черти в растителни или животински потомци от конвенционалното развъждане въз основа на ДНК анализ, с което значително се ускорява разработването на нови сортове.[145]

Тези подходи вече са произвели устойчиви на болести култури[146], ориз, понасящ наводняване[147] и култури с повишен добив[148]. Същите тези подходи се използват и за размножаване на говеда, свине и пилета[149]. От ключова важност е да се реши въпросът дали редактирането на гени по начало е необходимо в земеделието.

Заключение и препоръки

Генното редактиране включва набор от нови техники за генно инженерство, които се прилагат върху живи организми, предназначени за използване в селското стопанство. Солидни научни изследвания сочат, че генно редактираните организми, както и стандартните ГМО, са склонни към неочаквани и непредсказуеми ефекти, произтичащи от генетични грешки, включително: нецелеви ефекти, ефекти „в целта“, намеса в регулирането на гените, както и умишлено и непреднамерено вмъкване на ДНК. Възможно е модифицираната черта също да покаже неочаквани взаимодействия с околната среда. Приложения като генетичното насочване представляват същесвтен риск, тъй като такива генно редактирани организми не могат да бъдат изтеглени обратно, а генетичните промени, които те налагат в дадена популация, са предназначени да бъдат постоянни.

Въпреки значителния обем на научната литература, показваща нежеланите последствия от редактирането на гени, генно редактираните растения избягват регулаторен надзор в САЩ и вече могат да бъдат отглеждани в околната среда без никакви гаранции за безопасност. Съществува риск храната, произведена от генно редактирани растителни култури и животни, да не бъде етикетирана, с което се отнема правото на избор на потребителите, търсещи храни, които не са генетично модифицирани, а самите потребители се подлагат на рискове като алергените. Предвид научните открития за потенциалните нежелани последици от редактирането на гени и липсата на проучвания относно здравните и екологичните въздействия, правителственият регулаторен надзор върху всички техники за генно инженерство трябва да следва принципа на предпазливостта. Продуктите на всички техники за генно инженерство (както стандартни, така и генно редактирани) трябва да се подлагат на независима оценка за безопасността на храните и околната среда и други въздействия, преди да бъдат пуснати в околната среда или на пазара. Те следва да бъдат проследими и етикетирани като ГМО.

Въпреки че е от решаващо значение да се провеждат повече научни изследвания на специфичните въздействия от непредвидените последици от генното редактиране върху селскостопанските системи, екологичните системи, здравето на хората и животните, дебатът относно използването на генното редактиране в селското стопанство също трябва да премине отвъд чисто научната оценка на риска и да включва широко обществено обсъждане относно бъдещето на селското стопанство.

Предложения за допълнително четене

- Общ преглед на техниките за редактиране на гени, тяхната регулация и опасенията на потребителите: Резолюция на Трансатлантически диалог за потребителите (2016) за загрижеността на потребителите относно новите техники за генно инженерство. http://tacd.org/new-policy-resolution-on-consumer-concerns-about-new-genetic-engineering-techniques/.
- Нецелеви ефекти, създадени от CRISPR в растенията: Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016). Постигане на CRISPR в растенията, което ограничава нецелевите ефекти. The Plant Genome 9: doi: 10.3835.
- https://dl.sciencesocieties.org/publications/tpg/articles/9/3/plantgenome2016.05.0047.
- Потенциални екологични и социални въздействия от контрола на земеделските вредители с използване на генетично насочване: Courtier-Orgogozo, V., Morizot, B. & Boëte, C. (2017) EMBO Reports 18: 878-880. http://embor.embopress.org/content/18/6/878.
- Включване на обществото и отразяване на обществените ценности при регулирането на генно редактираните организми: Hartley, S., Gillund, F., van Hove, L. & Wickson, F. (2016) Основни характеристики на отговорното управление на селскостопанската биотехнология. PLoS Biology 14: e1002453. http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002453.
- Sarewitz, D. (2015) Науката не може да реши. Nature. 522: 412-413. https://www.nature.com/news/crispr-science-can-t-solve-it-1.17806.

Бележки под линия

1 Begley, S. (2018) Potential DNA damage from CRISPR “seriously underestimated,” study finds. July 16 2018. Retrieved from https://www.scientificamerican.com/article/potential-dna-damage-from-crispr-seriously-underestimated-study-finds/

2 ДНК (деоксирибонуклеинова киселина) съдържа генетичната информация и присъства във всяка клетка на всеки жив организъм и много вируси. Основният градивен елемент на ДНК е двойка аминокиселини, известни като базова двойка.

3 Kosicki, M., Tomberg, K. & Bradley, A. (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. Nature Biotechnology 36: 765-771.

4 Begley, S. (2018) A serious new hurdle for CRISPR: edited cells might cause cancer, two studies find. June 11 2018. Retrieved from https://www.statnews.com/2018/06/11/crispr-hurdle-edited-cells-might-cause-cancer/

5 Haapaniemi, E., Botla, S., Persson, J., Schmierer, B., & Taipale, J. (2018) CRISPR–Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. Nature Medicine 24: 927–930; Ihry, R.J. Worringer, K.A., Salick, M.R. et al. (2018) p53 inhibits CRISPR–Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. Nature Medicine 24: 939-946.

6 Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome 9: doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047; Yin, K., Gao, C. & Qiu, J-L. (2017) Progress and prospects in plant genome editing. Nature Plants 3: 17107.

7 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9.

8 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Kaskey, J. (2018) BASF to crank up R&D `two gears‘ with Bayer seeds, next CEO says. Bloomberg Technology April 12 2018. Retrieved from https://www.bloomberg.com/news/articles/2018-04-12/basf-to-crank-up-r-d-two-gears-with-bayer-seeds-next-ceo-says

9 Hixson, S.M., Shukla, K., Campbell, L.G., Hallett, R.H., Smith, S.M., Packer, L. & Arts, M.T. (2016) Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids have developmental effects on the crop pest, the cabbage white butterfly Pieris rapae. PLoS ONE 11: e0152264.

10 Sauer, N.J., Narváez-Vásquez, J., Mozoruk, J. et al. (2016) Oligonucleotide-mediated genome editing provides precision and function to engineered nucleases and antibiotics in plants. Plant Physiology 170: 1917–1928; Hartung, F. & Schiemann, J. (2014) Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. The Plant Journal 78: 742–752; Voytas, D.F. & Gao, C. (2014) Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. PLoS Biology 12: e1001877.

11 Waltz, E. (2016) Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. Nature (news) 532: 293.

12 Cibus (2014) Cibus announces approval of first commercial product SU Canola™ in Canada. Press Release 18 March 2014. Retrieved from https://www.cibus.com/press_release.php?date=031814

13 Геномът представлява пълният набор от ДНК (включително гените) в организма.

14 Haapaniemi, E., Botla, S., Persson, J., Schmierer, B., & Taipale, J. (2018) CRISPR–Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. Nature Medicine 24: 927–930

15 US National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

16 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

17 Hammond, A.M. & Galizi, R. (2017) Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Pathogens and Global Health 111: 412-423; Hammond, A., Galizi, R., Kyrou, K. et al. (2016) A CRISPR–Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector Anopheles gambiae. Nature Biotechnology 34: 78–83; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

18 Buchman, A., Marshall, J.M., Ostrovski, D., Yang, T. & Akbari. O.S. (2018) Synthetically engineered Medea gene drive system in the worldwide crop pest Drosophila suzukii. Proceedings of the National Academy of Sciences 115: 4725–4730.

19 Anon (2017) Drive safely. Nature (editorial) 552: 6.

20 Taning, C.N.T., Van Eynde, B., Yu, N., Ma. S. & Smagghe, G. (2017) CRISPR/Cas9 in insects: applications, best practices and biosafety concerns. Journal of Insect Physiology 98: 245–257; Courtier-Orgogozo, V., Morizot, B. & Boëte, C. (2017) Agricultural pest control with CRISPR based gene drive: time for public debate. EMBO Reports 18: 878-880; US National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405; Esvelt, K.M., Gemmell, N.J. (2017) Conservation demands safe gene drive. PLoS Biology 15: e2003850. DeFrancesco, L. (2015) Gene drive overdrive. Nature Biotechnology 33: 1019-1021.

21 Принципът на предпазливостта е в основата на предпазния подход, дефиниран по следния начин: „С цел опазване на околната среда, подходът на предпазливостта трябва да се прилага широко от държавите в съответствие с техните възможности. Когато има заплахи за сериозни или необратими щети, липсата на пълна научна сигурност не може да се използва като причина за отлагане на разходно-ефективни мерки за предотвратяване на влошаването на околната среда.” ООН (1992). Декларация от Рио за околната среда и развитието. Достъпно на: https://www.cbd.int/doc/ref/rio-declaration.shtml

22 USDA Press (2018) Secretary Perdue Issues USDA Statement on Plant Breeding Innovation. USDA.gov. Retrieved from https://www.usda.gov/media/press-releases/2018/03/28/secretary-perdue-issues-usda-statement-plant-breeding-innovation
23 Center for Veterinary Medicine (2017) Animals with Intentionally Altered Genomic DNA. FDA.gov. Retrieved from https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/GeneticEngineering/GeneticallyEngineeredAnimals/default.htm
24 Agricultural Marketing Service (2018) National Bioengineered Food Disclosure Standard. Retrieved from https://www.regulations.gov/document?D=AMS_FRDOC_0001-1709
25 European Court of Justice (2018) Organisms obtained by mutagenesis are GMOs and are, in principle, subject to the obligations laid down by the GMO Directive, Case C-528-16. ECLI:EU:C:2018:20. Retrieved on July 31, 2018 from https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf
26 McCouch, S. Gregory, G.J., Bradeen, J. et al. (2013) Agriculture: feeding the future, comments and opinion, Nature. https://doi.org/10.1038/499023a
27 Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J. et al. (2017) Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. Trends in Plant Science 22: 961–975.
28 E.g., Jackson, L. (2011) Wheat cultivars for California. Retrieved from http://smallgrains.ucdavis.edu/cereal_files/WhtCVDescLJ11.pdf
29 Meuwissen, T., Hayes, B & Goddard, M. (2016) Genomic selection: a paradigm shift in animal breeding. Animal Frontiers 6: 6–14.
30 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Kaskey, J. (2018) BASF to crank up R&D `two gears' with Bayer seeds, next CEO says. Bloomberg Technology April 12 2018. Retrieved from https://www.bloomberg.com/news/articles/2018-04-12/basf-to-crank-up-r-d-two-gears-with-bayer-seeds-next-ceo-says
31 Li, Y. (2018) These CRISPR-modified crops don't count as GMOs. Chicago Tribune. Retrieved from http://www.chicagotribune.com/sns-these-crispr-modified-crops-dont-count-as-gmos-96002-20180522-story.html
32 Molteni, M. (2017) This gene editing tech might be too dangerous to unleash. Wired. Retrieved from https://www.wired.com/story/this-gene-editing-tech-might-be-too-dangerous-to-unleash/
33 Benbrook, C.M. (2016) Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. Environmental Science Europe 28: 30.
34 Например вж. Future Farming (2017) Gene editing: what can it deliver for agriculture? Retrieved from https://www.futurefarming.com/Smart-farmers/Articles/2017/9/Gene-editing-what-can-it-deliver-for-agriculture-3079WP/
35 ДНК (деоксирибонуклеинова киселина) съдържа генетичната информация и присъства във всяка клетка на всеки жив организъм и много вируси. Основният градивен елемент на ДНК е двойка аминокиселини, известни като базова двойка.
36 Waltz, E. (2018) With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time. Nature Biotechnology 36: 6-7.
37 Принципът на предпазливостта е в основата на предпазния подход, дефиниран по следния начин: „С цел опазване на околната среда, подходът на предпазливостта трябва да се прилага широко от държавите в съответствие с техните възможности. Когато има заплахи за сериозни или необратими щети, липсата на пълна научна сигурност не може да се използва като причина за отлагане на разходно-ефективни мерки за предотвратяване на влошаването на околната среда." ООН (1992). Декларация от Рио за околната среда и развитието. Достъпно на: https://www.cbd.int/doc/ref/rio-declaration.shtml
38 Shou, H., Frame, B.R., Whitham, S.A. & Wang, K. (2004) Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or Agrobacterium-mediated transformation. Molecular Breeding 13: 201–208.
39 Conventional breeding is termed 'traditional breeding' by USDA. USDA (n.d.) Agricultural Biotechnology Glossary. Retrieved from https://www.usda.gov/topics/biotechnology/biotechnology-glossary
40 USDA (n.d.) Agricultural Biotechnology Glossary. Retrieved from https://www.usda.gov/topics/biotechnology/biotechnology-glossary; FDA (U.S.) (2015) Guidance for industry: voluntary labeling indicating whether foods have or have not been derived from genetically engineered plants. Retrieved from https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition/ucm059098.htm
41 United Nations Cartagena Protocol on Biosafety (2000) Article 3 Use of Terms. Retrieved from http://bch.cbd.int/protocol/text/; Codex Alimentarius Commission (2003) Principles for the risk analysis of foods derived from modern biotechnology CAC/GL 44-2003 (amended 2008 and 2011). Retrieved from http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10007/CXG_044e.pdf
42 European Commission (2001) Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. Official Journal of the European Communities L106: 1-38.
43 CRISPR stands for 'clustered regularly interspaced short palindromic repeat'. Other genome-editing techniques include TALEN (transcription activator-like effector nucleases); ZFN (zinc-finger nucleases), meganucleases and ODM (oligonucleotide-directed mutagenesis). CRISPR означава скупчени равномерно разположени кратки палиндромни повторения (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Други техники за редактиране на геном включват TALEN (Transcription activator-like effector nuclease); ZFN (zinc finger nucleases / нуклеаза „цинкови пръсти"), мегануклеази и ODM (насочена мутагенеза чрез олигонуклеотид).
44 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Sander, J.D. & Joung, J.K. (2014) CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. Nature Biotechnology 32: 347–355.
45 При редактиране на гени тип SD1 и SDN2 няма вмъкване на гени.
46 CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), TALEN (Transcription activator-like effector nuclease), ZFN (zinc finger nucleases / нуклеаза „цинкови пръсти").

47 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Sander, J.D. & Joung, J.K. (2014) CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. Nature Biotechnology 32: 347–355.
48 Zetsche, B., Heidenreich, M., Mohanraju, P. et al. (2017) Multiplex gene editing by CRISPR-Cpf1 using a single crRNA array. Nature Biotechnology 35: 31–34; Gao, C. (2018) The future of CRISPR technologies in agriculture. Nature Reviews Molecular Cell Biology 19: 275–276.
49 Gaudelli, N.M., Komor, A.C., Rees, H.A., Packer, M.S., Badran, A.H., Bryson, D.I. & Liu, D.R. (2017) Programmable base editing of A-T to G-C in genomic DNA without DNA cleavage. Nature 551: 464–471; Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A. & Liu, D.R. (2016) Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature 533: 420–424; Gao, C. (2018) The future of CRISPR technologies in agriculture. Nature Reviews Molecular Cell Biology 19: 275–276.
50 Sauer, N.J., Narváez-Vásquez, J., Mozoruk, J. et al. (2016) Oligonucleotide-mediated genome editing provides precision and function to engineered nucleases and antibiotics in plants. Plant Physiology 170: 1917–1928.
51 West, J. & Gill, W.W. (2016) Genome editing in large animals. Journal of Equine Veterinary Science 41: 1–6.
52 Ishii, T. (2017) Genome-edited livestock: Ethics and social acceptance. Animal Frontiers 7: 24–32.
53 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9.
54 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Kaskey, J. (2018) BASF to crank up R&D `two gears' with Bayer seeds, next CEO says. Bloomberg Technology April 12. Retrieved from https://www.bloomberg.com/news/articles/2018-04-12/basf-to-crank-up-r-d-two-gears-with-bayer-seeds-next-ceo-says
55 Cibus (2014) Cibus announces approval of first commercial product SU CanolaTM in Canada. Press Release March 18 2014. Retrieved from https://www.cibus.com/press_release.php?date=031814.
56 Sauer, N.J., Narváez-Vásquez, J., Mozoruk, J. et al. (2016) Oligonucleotide-mediated genome editing provides precision and function to engineered nucleases and antibiotics in plants. Plant Physiology 170: 1917–1928; Hartung, F. & Schiemann, J. (2014) Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. The Plant Journal 78: 742–752; Voytas, D.F. & Gao, C. (2014) Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. PLoS Biology 12: e1001877.
57 Wilson, A.K., Latham. J.R. & Steinbrecher, R.A. (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: analysis and biosafety implications. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 23: 209-237.
58 Wilson, A.K., Latham. J.R. & Steinbrecher, R.A. (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: analysis and biosafety implications. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 23: 209-237.
59 Jung, C., Capistrano-Gossmann, G., Braatz, J., Sashidhar, N. & Melzer, S. (2017) Recent developments in genome editing and applications in plant breeding. Plant Breeding 137: 1-9; Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R.M., Fischer, R., Capell, T., Schillberg, S. & Christou, P. (2017) Characteristics of genome editing mutations in cereal crops. Trends in Plant Science 22: 38–52; Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome 9: doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047; Yin, K., Gao, C. & Qiu, J-L. (2017) Progress and prospects in plant genome editing. Nature Plants 3: 17107; West, J. & Gill, W.W. (2016) Genome editing in large animals. Journal of Equine Veterinary Science 41: 1–6.
60 Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome 9: doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047; Yin, K., Gao, C. & Qiu, J-L. (2017) Progress and prospects in plant genome editing. Nature Plants 3: 17107.
61 Wang, G., Du, M., Wang, J & Zhu, T.F. (2018) Genetic variation may confound analysis of CRISPR-Cas9 off-target mutations. Cell Discovery 4:18; Klein, M. Eslami-Mossallam, B., Arroyo, D.G. & Depken, M. (2018) Hybridization kinetics explains CRISPR-Cas off-targeting rules. Cell Reports 22: 1413–1423; Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome 9: doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047.
62 Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R.M., Fischer, R., Capell, T., Schillberg, S. & Christou, P. (2017) Characteristics of genome editing mutations in cereal crops. Trends in Plant Science 22: 38–52.
63 Wolt, J.D., Wang, K., Sashital, D. & Lawrence-Dill, C.J. (2016) Achieving plant CRISPR targeting that limits off-target effects. The Plant Genome 9: doi: 10.3835/plantgenome2016.05.0047; Yin, K., Gao, C. & Qiu, J-L. (2017) Progress and prospects in plant genome editing. Nature Plants 3: 17107.
64 Zhang, Y, Liang, Z., Zong, Y., Wang1, Y., Liu, J., Chen, K., Qiu, J-L. & Gao, C. (2016) Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA. Nature Communications 7: 12617.
65 West, J. & Gill, W.W. (2016) Genome editing in large animals. Journal of Equine Veterinary Science 41: 1–6; Ryu, J., Prather, R.S. & Lee, K. (2018) Use of gene-editing technology to introduce targeted modifications in pigs. Journal of Animal Science and Biotechnology 9: 5.
66 Anderson, K.R., Haeussler, M., Watanabe, C. et al. (2018) CRISPR off-target analysis in genetically engineered rats and mice. Nature Methods 15: 512–514; Shin, H.Y., Wang, C., Lee, H.K., Yoo, K.H., Zeng, X., Kuhns, T., Yang, C.M., Mohr, T., Liu, C. & Hennighausen, L. (2017) CRISPR/Cas9 targeting events cause complex deletions and insertions at 17 sites in the mouse genome. Nature Communications 8: 15464.
67 Carroll, D. (2013) Staying on target with CRISPR-Cas. Nature Biotechnology (News and Views) 31: 807-809.
68 E.g., Wang, X. & Chen, Y. (2016) P7003 Heritable multiplex gene editing via CRISPR/Cas9 exhibits no detectable genome-wide off-target effects in sheep. Journal of Animal Science 94: 177.

69 Wang, G., Du, M., Wang, J & Zhu, T.F. (2018) Genetic variation may confound analysis of CRISPR-Cas9 off-target mutations. Cell Discovery 4: 18.
70 RNA stands for ribonucleic acid. In a cell, there are different types of RNA including messenger RNA that carries genetic information from DNA that directs the production of proteins.
71 Kosicki, M., Tomberg, K., Bradley, A. (2018) Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. Nature Biotechnology 36: 765-771.
72 Sharpe, J.J. & Cooper, T.A. (2017) Unexpected consequences: exon skipping caused by CRISPR-generated mutations. Genome Biology 18: doi: 10.1186/s13059-017-1240-0; Mou, H., Smith, J.L., Peng, L. et al. (2017) CRISPR/Cas9-mediated genome editing induces exon skipping by alternative splicing or exon deletion. Genome Biology 18: doi: 10.1186/s13059-017-1237-8; Lalonde, S., Stone, O.A., Lessard, S., Lavertu, A., Desjardins, J., Beaudoin, M., Rivas, M., Stainier, D.Y.R. & Lettre, G. (2017) Frameshift indels introduced by genome editing can lead to in-frame exon skipping. PLoS ONE 12: e0178700; Kapahnke, M., Banning, A. & Tikkanen, R. (2016) Random splicing of several exons caused by a single base change in the target exon of CRISPR/Cas9 mediated gene knockout. Cells 5: 45.
73 McClain, S., Bowman, C., Fernández-Rivas, M., Ladics, G.S. & van Ree, R. (2014) Allergic sensitization: food- and protein-related factors. Clinical and Translational Allergy 4: 11.
74 Bucchini, L. & Goldman, L.R. (2002) Starlink corn: a risk analysis. Environmental Health Perspectives 110: 5–13.
75 See Waterhouse, P.M. & Hellens, R.P. (2015) Coding in non-coding RNAs. Nature 520: 41-42; Holoch, D. & Moazed, D. (2015) RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. Nature Reviews Genetics 16: 71-84.
76 Nilsen, T.W. & Graveley, B.R. (2010) Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing. Nature 463: 457-463.
77 Biémont, C. & Vieira, C. (2006) Genetics: Junk DNA as an evolutionary force. Nature 443: 521-524.
78 Doolittle, W.F. (2012) Is junk DNA bunk? A critique of ENCODE. Proceedings of the National Academy of Sciences 110: 5294–5300; Kellis, M., Wold, B., Snyder, M.P. et al. (2014) Defining functional DNA elements in the human genome. Proceedings of the National Academy of Sciences 111: 6131–6138.
79 Haapaniemi, E., Botla, S., Persson, J., Schmierer, B., & Taipale, J. (2018) CRISPR–Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response. Nature Medicine 24: 927–930; Ihry, R.J. Worringer, K.A., Salick, M.R. et al. (2018) p53 inhibits CRISPR–Cas9 engineering in human pluripotent stem cells. Nature Medicine 24: 939-946.
80 USDA (2018) Request for regulatory status of "Nutritionally-enhanced wheat". Letter to Calyxt March 20 2018. Retrieved from https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/17-038-01_air_response_signed.pdf
81 Kim, J. & Kim, J-S. (2017) Bypassing GMO regulations with CRISPR gene editing. Nature Biotechnology (correspondence) 34: 1014-1015.
82 Dupont Pioneer (2015) Confirmation of regulatory status of waxy corn developed by CRISPR-Cas technology. Letter to USDA-APHIS. Retrieved from https://www.pioneer.com/CMRoot/Pioneer/About_Global/Non_Searchable/news_media/15-352-01_air_inquiry_cbidel.pdf
83 Liang, Z., Chen, K., Li, T., Zhang, Y., Wang, Y., Zhao, Q., Liu, J., Zhang, H., Liu, C., Ran, Y. & Gao, C. (2017) Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. Nature Communications 8: 14261; Li, Z., Liu, Z.-B., Xing, A., Moon, B.P., Koellhoffer, J.P., Huang, L., Ward, R.T., Clifton, E., Falco, S.C., Cigan, A.M. (2015) Cas9-guide RNA directed genome editing in soybean. Plant Physiology 169 960–970; Dupont Pioneer (2015) Confirmation of regulatory status of waxy corn developed by CRISPR-Cas technology. Letter to USDA-APHIS. Retrieved from https://www.pioneer.com/CMRoot/Pioneer/About_Global/Non_Searchable/news_media/15-352-01_air_inquiry_cbidel.pdf
84 Liang, Z., Chen, K., Li, T., Zhang, Y., Wang, Y., Zhao, Q., Liu, J., Zhang, H., Liu, C., Ran, Y. & Gao, C. (2017) Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. Nature Communications 8: 14261; Li, Z., Liu, Z.-B., Xing, A., Moon, B.P., Koellhoffer, J.P., Huang, L., Ward, R.T., Clifton, E., Falco, S.C. & Cigan, A.M. (2015) Cas9-guide RNA directed genome editing in soybean. Plant Physiology 169: 960–970.
85 Windels, P., Taverniers, I. Depicker, A. Van Bockstaele, E. & De Loose, M. (2001) Characterisation of the Roundup Ready soybean insert. European Food Research Technology 213: 107-112; Rang, A., Linke, B. & Jansen, B. (2005) Detection of RNA variants transcribed from the transgene in Roundup Ready soybean. European Food Research Technology 220: 438-443; Hernández, M., Pla, M., Esteve, T., Prat, S., Puigdomènech, P. & Ferrando, A. (2003) A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard based on the 3'-transgene integration sequence. Transgenic Research 12: 179–189; Wilson, A.K., Latham. J.R. & Steinbrecher, R.A. (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: analysis and biosafety implications. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 23: 209-237.
86 Pleasants, J.M., Zalucki, M.P., Oberhauser, K.S., Brower, L.P., Taylor, O.R. & Thogmartin, W.E. (2017) Interpreting surveys to estimate the size of the monarch butterfly population: pitfalls and prospects. PLoS ONE 12: e0181245; Pleasants, J.M. & Oberhauser, K.S. (2013) Milkweed loss in agricultural fields because of herbicide use: effect on the monarch butterfly population. Insect Conservation and Diversity 6: 135–144; Lang, A. & Otto, M. (2010) A synthesis of laboratory and field studies on the effects of transgenic Bacillus thuringiensis (Bt) maize on non-target Lepidoptera. Entomologia Experimentalis et Applicata 135: 121–134.
87 Schütte, G. Eckerstorfer, M., Rastelli, V., Reichenbecher, W., RestrepoVassalli, S., RuohonenLehto, M., Saucy, A-G.W. & Mertens, M. (2017) Herbicide resistance and biodiversity: agronomic and environmental aspects of genetically modified herbicideresistant plants. Environmental Science Europe 29: 5.; Benbrook, C.M. (2016) Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. Environmental Sciences Europe 28: 3.
88 Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T. et al. (2003) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modifies herbicide-tolerant crop – I. Effects on abundance and diversity. Philosophical Transactions of The Royal Society London B 358: 1819-1832; Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T. et al. (2003) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically

modifies herbicide-tolerant crops. II. Effects on individual species. Philosophical Transactions of The Royal Society London B 358: 1833-1846; Roy, D.B., Bohan, D.A., Haughton, A.J. et al. (2003) Invertebrates and vegetation of the field margins adjacent to crops subject to contrasting herbicides regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide –tolerant crops. Philosophical Translations of The Royal Society London B 358: 1879-1898.

89 Green, J.M. (2016) The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. Pest Management Science 74: 1035-10

90 Price, B. & Cotter, J. (2014) The GM Contamination Register: a review of recorded contamination incidents associated with genetically modified organisms (GMOs), 1997–2013. International Journal of Food Contamination 1: 5.

91 Calderone, N.W. (2012) Insect pollinated crops, insect pollinators and US Agriculture: trend analysis of aggregate data for the period 1992–2009. PLoS ONE 7: e37235.

92 Ellstrand, N.C. (2003) Dangerous Liaisons? When Cultivated Plants Mate with their Wild Relatives. Baltimore: Johns Hopkins University Press.

93 Bøhn, T. (2018) Criticism of EFSA's scientific opinion on combinatorial effects of 'stacked' GM plants. Food and Chemical Toxicology 111: 268–274; Hilbeck, A. & Otto. M. (2015) Specificity and combinatorial effects of Bacillus Thuringiensis cry toxins in the context of GMO environmental risk assessment. Frontiers in Environmental Science 3:71; Agapito-Tenfen, S-Z., Vilperte, V., Benevenuto, R.F., Rover, C.M., Traavik, T.I. & Nodari, R.O. (2014) Effect of stacking insecticidal cry and herbicide tolerance epsps transgenes on transgenic maize proteome. BMC Plant Biology 14: 346.

94 See Li, C., Unver, T. & Zhang, B. (2017) A high-efficiency CRISPR/Cas9 system for targeted mutagenesis in cotton (Gossypium hirsutum L.). Nature Scientific Reports 7: 43902; Zhu, J., Song, N., Sun, S., Yang, W., Zhao, H., Song, W. & Lai, J. (2016) Efficiency and inheritance of targeted mutagenesis in maize using CRISPR-Cas9. Journal of Genetics and Genomics 43: 25-36.

95 Clancy, S. (2008) Genetic mutation. Nature Education 1: 187. https://www.nature.com/scitable/topicpage/genetic-mutation-441

96 Zetsche, B., Heidenreich, M., Mohanraju, P. et al. (2017) Multiplex gene editing by CRISPR-Cpf1 using a single crRNA array. Nature Biotechnology 35: 31–34; Wang, X. & Chen, Y. (2016) P7003 Heritable multiplex gene editing via CRISPR/Cas9 exhibits no detectable genome-wide off-target effects in sheep. Journal of Animal Science 94: 177, Raitskin, O. & Patron, N.J. Multi-gene engineering in plants with RNA-guided Cas9 nuclease. Current Opinion in Biotechnology 37: 69–75.

97 Friends of the Earth & ETC Group (2017) GMOs 2.0: Synthetic biology: a guide to protecting natural products. Retrieved from https://1bps6437gg8c169i0y1drtgz-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2017/12/SynbioFreeCompanyGuide.pdf; ENSSER (2018) Products of new genetic modification techniques should be strictly regulated as GMOs. Retrieved from https://ensser.org/publications/ngmt-statement/; Secretariat of the Convention on Biological Diversity (2015) Synthetic Biology. CBD Technical Series no. 82, Montreal. Retrieved from https://www.cbd.int/ts/cbd-ts-82-en.pdf

98 Bao, Z., HamediRad, M., Xue, P., Xiao, H., Tasan, I., Chao, R., Liang, J. & Zhao, H. (2018) Genome-scale engineering of Saccharomyces cerevisiae with single-nucleotide precision. Nature Biotechnology 36: 505-508; Garst, A.D., Bassalo, M.C., Pines, G., Lynch, S.A., Halweg-Edwards, A.L., Liu, R., Liang, L., Wang, Z., Zeitoun, R., Alexander, W.G. & Gill, R.T. (2017) Genome-wide mapping of mutations at single-nucleotide resolution for protein, metabolic and genome engineering. Nature Biotechnology 35: 48-55.

99 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

100 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

101 Hammond, A.M. & Galizi, R. (2017) Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Pathogens and Global Health 111: 412-423; Hammond, A., Galizi, R., Kyrou, K. et al. (2016) A CRISPR–Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector Anopheles gambiae. Nature Biotechnology 34: 78–83; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

102 Dong, Y., Simões, M.L., Marois, E. & Dimopoulos, G. (2018) CRISPR/Cas9 -mediated gene knockout of Anopheles gambiae FREP1 suppresses malaria parasite infection. PLoS Pathogens 14: e1006898.

103 Buchman, A., Marshall, J.M., Ostrovski, D., Yang, T. & Akbari. O.S. (2018) Synthetically engineered Medea gene drive system in the worldwide crop pest Drosophila suzukii. Proceedings of the National Academy of Sciences 115: 4725–4730.

104 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

105 Courtier-Orgogozo, V., Morizot, B. & Boëte, C. (2017) Agricultural pest control with CRISPR based gene drive: time for public debate. EMBO Reports 18: 878-880.

106 Courtier-Orgogozo, V., Morizot, B. & Boëte, C. (2017) Agricultural pest control with CRISPR based gene drive: time for public debate. EMBO Reports 18: 878-880; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

107 Taning, C.N.T., Van Eynde, B., Yu, N., Ma. S. & Smagghe, G. (2017) CRISPR/Cas9 in insects: applications, best practices and biosafety concerns. Journal of Insect Physiology 98: 245–257; Courtier-Orgogozo, V., Morizot, B. & Boëte, C. (2017) Agricultural pest control with CRISPR based gene drive: time for public debate. EMBO Reports 18: 878-880; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and

Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405; Esvelt, K.M. & Gemmell, N.J. (2017) Conservation demands safe gene drive. PLoS Biology 15: e2003850. DeFrancesco, L. 2015. Gene drive overdrive. Nature Biotechnology 33: 1019-1021; Latham, J. 2017. Gene drives: a scientific case for a complete and perpetual ban. GeneWatch 30-1. Retrieved from http://www.councilforresponsiblegenetics.org/GeneWatch/GeneWatchPage.aspx?pageId=583

108 Hammond, A.M. & Galizi, R. (2017) Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Gene drives to fight malaria: current state and future directions. Pathogens and Global Health 111: 412-423.

109 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

110 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

111 Calloway, E. (2016) 'Gene drive' moratorium shot down at UN biodiversity meeting. Nature News. Retrieved from https://www.nature.com/news/gene-drive-moratorium-shot-down-at-un-biodiversity-meeting-1.21216

112 Anon (2017) Drive safely. Nature (editorial) 552: 6; Gemmell, N.J. (2017) Conservation demands safe gene drive. PLoS Biology 15: e2003850; Latham, J. (2017) Gene drives: a scientific case for a complete and perpetual ban. GeneWatch 30-1. Retrieved from http://www.councilforresponsiblegenetics.org/GeneWatch/GeneWatchPage.aspx?pageId=583

113 UN Convention on Biological Diversity (CBD) (2016) Decision adopted by the Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity XIII/17. Synthetic biology. CBD/COP/DEC/XIII/17. Retrieved from https://www.cbd.int/doc/decisions/cop-13/cop-13-dec-17-en.pdf

114 National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Gene Drives on the Horizon: advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. National Academies Press, Washington, D.C. Retrieved from https://www.nap.edu/download/23405

115 Hartley, S., Gillund, F., van Hove, L. & Wickson, F. (2016) Essential features of responsible governance of agricultural biotechnology. PLoS Biology 14: e1002453; Sarewitz, D. (2015) Science can't solve it. Nature 522: 412–413; Kuzma, J. & Kokotovich, A. (2011) Renegotiating GM crop regulation: targeted gene-modification technology raises new issues for the oversight of genetically modified crops. EMBO Reports 12: 883-888.

116 CRISPR Update (n.d.) CRISPR Timeline. Retrieved from http://www.crisprupdate.com/crispr-timeline/

117 Lusser, M. & Davies, H. (2013) Comparative regulatory approaches for groups of new plant breeding techniques. New Biotechnology 30: 437-46.

118 European Court of Justice (2018) Organisms obtained by mutagenesis are GMOs and are, in principle, subject to the obligations laid down by the GMO Directive, Case C-528-16. ECLI:EU:C:2018:20. Retrieved on July 31, 2018. Retrieved from https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf

119 Office of the Gene Technology Regulator (Australia) (2018) Technical Review of the Gene Technology Regulations 2001. Retrieved from http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/reviewregulations-1; National Gene Technology Scheme (Australia) (2018) The third review of the national gene technology scheme. Retrieved from http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/011C554B9847D6F0CA258169000FCBBE/$File/third-review-gene-technology-preliminary-report-2018.pdf

120 Office of the Gene Technology Regulator (Australia) (2018) Technical Review of the Gene Technology Regulations 2001. Retrieved from http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/reviewregulations-1; National Gene Technology Scheme (Australia) (2018) The third review of the national gene technology scheme. Retrieved from http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/011C554B9847D6F0CA258169000FCBBE/$File/third-review-gene-technology-preliminary-report-2018.pdf

121 Whelan, A.I. & Lema, M.A. (2015) Regulatory framework for gene editing and other new breeding techniques (NBTs) in Argentina. GM Crops & Food 6: 253–265.

122 Smyth, S.J. (2017) Canadian regulatory perspectives on genome engineered crops. GM Crops & Food 8: 35-43.

123 USDA (2018) Secretary Perdue issues USDA statement on plant breeding innovation. Press Release March 28 2018. Retrieved from https://www.usda.gov/media/press-releases/2018/03/28/secretary-perdue-issues-usda-statement-plant-breeding-innovation

124 Taning, C.N.T., Van Eynde, B., Yu, N., Ma. S. & Smagghe, G. (2017) CRISPR/Cas9 in insects: applications, best practices and biosafety concerns. Journal of Insect Physiology 98: 245–257.

125 See APHIS (2016) response to "Request for APHIS confirmation that TRSOG101B Transgenic Sugarcane is not a regulated article." Retrieved from https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/15-035-01_air_response_signed.pdf

126 USDA (n.d.) Am I Regulated Under 7 CFR part 340? Retrieved from https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated

127 Waltz, E. (2018) With a free pass, CRISPR-edited plants reach market in record time. Nature Biotechnology 36: 6-7.

128 USDA (2018) Request for regulatory status of "Nutritionally-Enhanced Wheat". Letter to Calyxt 20th March 2018. Retrieved from https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/17-038-01_air_response_signed.pdf; Calyxt (2018) Calyxt's high fiber wheat deemed non-regulated by USDA. Press Release 21st March 2018. Retrieved from www.calyxt.com/calyxts-high-fiber-wheat-deemed-non-regulated-by-usda/.

129 FDA (U.S.) (2018) How FDA regulates food from genetically engineered plants. Retrieved from https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GEPlants/ucm461831.htm

130 Hixson, S.M., Shukla, K., Campbell, L.G., Hallett, R.H., Smith, S.M., Packer, L. & Arts, M.T. (2016) Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids have developmental effects on the crop pest, the cabbage white butterfly Pieris rapae. PLoS ONE 11: e0152264; Rothamsted Research (2016) Rothamsted Research comments on the recent study by Hixson et al. (2016) demonstrating that long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids have developmental effects on the crop pest, the cabbage white butterfly Pieris rapae. Retrieved from https://www.rothamsted.ac.uk/sites/default/files/project-files/Comment%20on%20Hixson%20et%20al.%202016.pdf
131 Anon (2016) Breeding Controls. Nature (editorial) 532: 147.
132 FDA (U.S.) (2018) Animals with intentionally altered genomic DNA. Retrieved from https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/GeneticEngineering/GeneticallyEngineeredAnimals/default.htm
133 Вж. напр. Gurian-Sherman, D. (2017) A hole in the regulation of GMOs that Kudzu could fit through. Union of Concerned Scientists https://blog.ucsusa.org/doug-gurian-sherman/a-hole-in-the-regulation-of-gmos-that-kudzu-could-fit-through-402; Perls, D. (2017) Next-generation genetically modified foods need better regulation. STAT. Retrieved from https://www.statnews.com/2017/02/02/genetically-modified-foods-regulation/
134 FDA (U.S.) (2002) Guidance to industry for foods derived from new plant varieties. FDA Federal Register 57: 22984. Docket No. 92N-0139. Retrieved from https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Biotechnology/ucm096095.htm
135 Losey, J.E., Raynor, L.S. & Carter, M.E. (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature 399: 214.
136 Faria, C.A., Wäckers, F.L., Pritchard, J., Barrett, D.A. & Turlings, T.C.J. (2007) High susceptibility of Bt maize to aphids enhances the performance of parasitoids of lepidopteran pests. PLoS ONE 2: e600.
137 European Network for Social and Environmental Responsibility (2018) Products of new genetic modification techniques should be strictly regulated as GMOs. Retrieved from https://ensser.org/publications/ngmt-statement/
138 Kim, J. & Kim, J-S. (2017) Bypassing GMO regulations with CRISPR gene editing. Nature Biotechnology (correspondence) 34: 1014-1015.
139 Agricultural Marketing Service (2018) National Bioengineered Food Disclosure Standard. Retrieved from https://www.regulations.gov/document?D=AMS_FRDOC_0001-1709
140 International Federation of Organic Agriculture Movements (2016) Genetic engineering and genetically modified organisms. Position paper. Retrieved from https://www.ifoam.bio/sites/default/files/position_genetic_engineering_and_gmos.pdf; Wickson, F. Binimelis, R. & Herrero, A. (2016) Should organic agriculture maintain its opposition to GM? New techniques writing the same old story. Sustainability 8: 1105.
141 Jasanoff, S. & Hurlbut, B.J. (2018) A global observatory for gene editing. Nature 555: 435-437; Jordan, N.R., Dorn, K.M., Smith, T.M., Wolf, K.E., Ewing, P.M., Fernandez, A.L., Runck, B.C., Williams, A., Lu, Y. & Kuzma J. (2017) A cooperative governance network for crop genome editing. EMBO Reports 18: 1683-1687; Hartley, S., Gillund, F., van Hove, L., Wickson, F. (2016) Essential features of responsible governance of agricultural biotechnology. PLoS Biology 14: e1002453; Sarewitz, D. (2015) Science can't solve it. Nature 522: 412–413.
142 Jordan, N.R., Dorn, K.M., Smith, T.M., Wolf, K.E., Ewing, P.M., Fernandez, A.L., Runck, B.C., Williams, A., Lu, Y. & Kuzma J. (2017) A cooperative governance network for crop genome editing. EMBO Reports 18: 1683-1687; Hartley, S., Gillund, F., van Hove, L., Wickson, F. (2016) Essential features of responsible governance of agricultural biotechnology. PLoS Biology 14: e1002453.
143 Jordan, N.R., Dorn, K.M., Smith, T.M., Wolf, K.E., Ewing, P.M., Fernandez, A.L., Runck, B.C., Williams, A., Lu, Y. & Kuzma J. (2017) A cooperative governance network for crop genome editing. EMBO Reports 18: 1683-1687.
144 Gilbert, N. (2016) Frugal Framing. Nature (news feature) 533: 308-310. Gilbert, N. 2014. Cross-bred crops get fit faster. Nature (news in focus) Nature 513: 292.
145 Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J. et al. (2017) Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. Trends in Plant Science 22: 961–975.
146 Напр. Jackson, L. (2011) Wheat cultivars for California. Retrieved from http://smallgrains.ucdavis.edu/cereal_files/WhtCVDescLJ11.pdf
147 Напр. Dar, M.H., de Janvry, A., Emerick, K., Raitzer D. & Sadoulet, E. (2013) Flood-tolerant rice reduces yield variability and raises expected yield, differentially benefitting socially disadvantaged groups. Nature Scientific Reports 3: 3315.
148 E.g., Fujita, D., Trijatmiko, K.R., Tagle, A.G. et al. (2013) NAL1 allele from a rice landrace greatly increases yield in modern indica cultivars. Proceedings of the National Academy of Sciences 110: 20431 – 20436.
149 Meuwissen, T., Hayes, B & Goddard, M. (2016) Genomic selection: a paradigm shift in animal breeding. Animal Frontiers, 6: 6–14.