

## Оценка на съществуващите насоки за тяхната адекватност и оценка на риска за околната среда на микроорганизмите, получени чрез синтетична биология

Синтетичната биология (*SynBio*) е плод на генното инженерство и биологията, която има за цел да развие нови биологични системи и да придаде нови функции на жизнеспособните клетки.

Синтетичната биология позволява радикални промени в генома на всички видове живи организми, някои от неговите поддръжници дори искат да създадат изкуствен живот. През последните години са разработени нови методи на генно инженерство, които по същество се основават на следните технически приложения:

- Изкуствен ДНК синтез – със или без естествен шаблон
- Способността да се вмъква ДНК на точни места почти навсякъде в генома, използвайки нуклеази или ДНК ножици (генно редактиране) – CRISPR-Cas9
- Клетъчни култури, взети от животни-донори, които след това се отглеждат, генетично манипулирани и използвани за развитие на ембриони в лабораторна среда
- Манипулиране на генното регулиране (епигенетика)

Новите методи на „синтетична гена технология „или „геномно редактиране“ са много различни от всичко, което е било преди в генното инженерство. Структурата на ДНК вече не зависи от съществуващите естествени ДНК последователности. Геномът може да бъде компютърно проектиран и след това да се синтезира в лабораторни условия определена част или целият геном или да се комбинират определени генни локуси в различни варианти.

В днешно време с напредъка на синтетичната биология и генетиката понякога няма нужда да се прехвърлят ДНК секвенции, тъй като генома може да бъде модифициран директно в клетката. Не винаги е необходимо да се променя структурата на ДНК, за да се променят биологичните черти на организмите – това може да стане чрез манипулиране на генната регулация. Новите геномни техники позволяват радикално да се промени генома, например чрез промяна на ДНК на няколко целеви локуса или вмъкване на генетичен материал, за който няма естествен шаблон. Освен това се полагат усилия за създаване на напълно нови форми на живот – макар и все още без успех.



Разликата между конвенционалното развъждане и генното инженерство се изразява основно в това, че конвенционалното развъждане работи с цялата клетка и пълния геном на растенията, животните и микроорганизмите. Генното инженерство, от друга страна, работи с изолирани части от ДНК, които се използват като градивни елементи за изграждане на организми с нови характеристики. Биологичната активност на нововъведената ДНК се прилага чрез технически средства, като по този начин заобикаля собственото генно регулиране на клетката и естествените механизми на наследственост. Генното инженерство е различно от методите, използвани в конвенционалното размножаване, защото има за цел да приложи нови функционални характеристики. Традиционното размножаване използва естествения потенциал на растенията, животните и микроорганизмите, произхождащи от естествени еволюционни пътища. Дори мутациите се основават на механизмите на еволюцията (например излагане на UV-светлина – мутагенен фактор). Има постоянни промени в геномите на живите организми, но това е естествено клетъчно регулиране, което ще определи кои мутации най-накрая ще надделеят и ще останат като естествени характеристики на организмите. Поради тези причини организмите, получени от процеса на генното инженерство, могат да се считат за значително различни в сравнение с тези, получени от конвенционалното размножаване или тези, които са плод на естествена еволюция.

Разбирането на разликата между конвенционалното размножаване и генното инженерство е важно, когато става въпрос за оценка на риска за човешкото здраве, оценката на генния поток в екосистемите и генния пуул на местните популации или други организми. Промените в генната функция и метаболизма, наложени от генното инженерство, често влияят върху активността на други гени в организмите. Такива неволни странични ефекти могат да засегнат генома, клетката или дори целия организъм. Генното инженерство може да принуди растенията да произвеждат нови протеини (като протеини, проявяващи инсектицидни свойства) въз основа на метаболитни пътища, които няма да се появят чрез мутагенеза. Растенията не са в състояние да се адаптират по естествен начин към тези пътища чрез еволюционни процеси и следователно може да има други нежелани ефекти, като променен състав или по-висок потенциал за разпространение и инвазиране в околната среда. Това от своя страна означава, че може да има значителни рискове за хората и околната среда, които трябва да бъдат взети под внимание.

Разликите между конвенционалното размножаване и генното инженерство могат да имат много други последици. По-сложни генетични черти, като например генната функция, допринасяща за по-висок добив или устойчивост на стресори на околната среда (като изменението на климата) – може да бъде трудно или дори невъзможно да се постигне. В този контекст конвенционалните методи за размножаване често са по-успешни. Има основателни причини за това: В много случаи предпочитаните черти не се основават на единични ДНК последователности, а на сложни генетични взаимодействия. Те често могат да бъдат постигнати много по-ефективно чрез използване на организмите като биологична система в конвенционалното размножаване, а не чрез вмъкване на последователности от изолирана ДНК като единични градивни елементи.

### **Кой има полза?**

Семената, например, разработени чрез генно инженерство, се предлагат почти от всички големи компании като Монсанто, Дюпон, Синджента, Байер и Дау Кемикъл. Тези корпорации купуват компании за семена, подават патенти за ДНК редактирани растения и семена и използват патенти, за да претендират за цялата верига на

производството на храни директно до потребителя. За момента бизнесът с генетично модифицирани и редактирани растения е локализиран главно в САЩ, Бразилия, Аржентина и Канада, които отглеждат предимно фуражни култури за храна на животни (соя и царевица) и памук, и Индия, където памукът се отглежда основно. Генетично проектираните растения могат привидно да предложат ползи за земеделските производители, които искат да спестят време за контрол на плевелите и вредителите по културите и да постигнат по-висок добив. Въпреки това генетично модифицираните растения, които понастоящем са на пазара, стават все по-устойчиви на хербициди като глифозат, насекомите-вредители също се адаптират към отглеждането на генетично модифицирани растения. Замърсяването на хранителната верига с генетично модифициран материал е още един проблем, който сериозно трябва да бъде взет предвид при оценката на риска от използването на синтетични или генно редактирани или генно модифицирани организми.

SynBio има потенциални приложения в производството на храни и по цялата агрохранителна верига, които биха включили съзнателното освобождаване на тези микроорганизми в околната среда, което изисква прилагане на строги правила при разрешение за употреба в Европейския съюз (ЕС).

Четири са основните отправни точки, по които трябва да се направи оценка на риска и които са поискани от Европейската комисия относно оценката на безопасността на разработването и употребата на синтетични микроорганизми (**SynBioM**) при производство на храни:

1) определяне и конкретизиране на секторите по агрохранителната верига, които биха могли да се „облагодетелстват“ от разработването и внедряването на такива синтетични култури SynBioM или секторите в които са правени вече разработки и проучвания със синтетични микроорганизми и това е официално документирано в научните общности;

2) идентифициране на потенциални рискове и потенциални нови опасности, които SynBioM биха могли да породят за околната среда (ограничени до дивата природа и изключващи селскостопанските животни и хората);

3) оценка на адекватността на съществуващите насоки за оценка на риска на настоящите и разработваните тепърва SynBioM (предвиждани да бъдат пуснати на пазара на ЕС през следващото десетилетие; поради бързите проучвания са включени и SynBioM, очаквани в по-широко бъдеще, като клетки, протоклетки и ксенобиология); и

4) идентифициране на конкретни области, в които е необходимо актуализирано законодателство и ръководни документи.

За момента от ЕОБХ по запитване от ЕК се прави оценка на съществуващите насоки за тяхната адекватност и оценка на риска за околната среда на микроорганизмите, получени чрез синтетична биология и заключенията се ограничават само до жизнеспособни микроорганизми, които се очаква умишлено да бъдат пуснати в околната среда.

Предишната работа на Научния комитет по възникване и новоидентифицирани здравни рискове (*SCENIHR*), Научния комитет по рисковете за здравето и околната среда (*SCHER*) и Научния комитет по безопасност на потребителите (*SCCS*), свързана със SynBio постоянно се преразглежда и допълва с нови публикации и проучвания и експериментални данни в научната литература. На Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) е възложено от ЕК да идентифицира най-реалистичните и предстоящи разработки на синтетични микроорганизми (*SynBioM*) от значение за агрохранителната верига. ЕОБХ признава, че пълната информация за нови продукти със SynBioM не може да бъде публично достъпна на ранен етап от тяхното

разработване и това ограничава прогнозирането на точни резултати и капацитетът на тези микроорганизми.

Като първа стъпка ЕОБХ оценява съществуващите насоки, ръководни документи и законодателство за микробна характеристика и оценка на риска за околната среда от генетично модифицираните микроорганизми, които биват освобождавани в околната среда и използвани в агрохранителната верига, за тяхната обща адекватност за оценка на риска на микроорганизмите, получени чрез SynBio.

Втора цел, която ЕОБХ си е поставила, предвид стремглавия напредък в разработките на синтетичната биология и генната редакция на микроорганизми, съществуващите насоки, ръководни документи и законодателство да бъдат оценени за тяхната адекватност, полезност и достатъчност.

Като трета стъпка ЕОБХ извършва цялостен анализ на пропуските, като се вземат предвид и перспективите за бъдещото развитие на SynBioM. ЕОБХ ще се консултира с държавите членки на ЕС и заинтересованите страни по време на обществена консултация и получените коментари ще бъдат включени и взети предвид при промяна в нормативните документи и ръководствата.

**Цел 1:** Идентифициране и определяне на секторите по агрохранителната верига, цел на синтетичната биология и развитието на SynBioM:

Идентифицирани от SCENIHR, SCCS и SCHER са: 1) геномни библиотеки и нови методи; 2) *minimal* клетки и дизайнерски клетки; 3) протоклетки и изкуствено синтезирани клетки; 4) ксенобионти; 5) ДНК синтез и редактиране на генома; и 6) неофициална наука (биология тип направи си сам). Тази неофициална наука се смята за нерелевантна и неточна и затова не бива вземана предвид при оценка на риска и при анализ на напредъка в синтетичната биология

Много сериозен проблем, установен при анализа и преглеждането на научната литература и проучванията, които са публикувани сред научните среди е това, че не могат да бъдат идентифицирани ясни критерии за разграничаване на генно модифицираните микроорганизми (ГММ) и микроорганизмите, плод на синтетичната биология (SynBioM). От техническа гледна точка SynBioM могат да бъдат готови за пускане на пазара и респективно попадане в околната среда в рамките на ЕС през следващото десетилетие, но въпреки това, не се очаква да бъдат умишлено освободени в околната среда или да бъдат влагани в храни през следващото десетилетие, особено в рамките на ЕС.

**Цел 2:** Идентифициране на потенциалните рискове и потенциалните нови опасности, които SynBioM биха могли да породят за околната среда:

Опасностите за настоящи и близко бъдещи SynBioM, предназначени да бъдат умишлено освободени в околната среда, не се различават от тези ГММ, разработени чрез установени техники за генетична модификация. Фактът, че SynBioM се държат различно в биотична и абиотична среда е притеснително, това означава, че този тип синтетични микроорганизми не са предвидими и това може да доведе до повишена експозиция и следователно може да доведе до по-висок риск. Променената ефикасност може да бъде свързана с нивата на експозиция чрез напр. 1) повишена преживяемост в околната среда и колонизация в гостоприемниците, 2) повишена инвазивност и, 3) повишена конкуренция с естествено развитите микробни общества поради повишена устойчивост и инвазивност, като по този начин могат да бъдат изместени полезни микроорганизми или патогенни такива, 4) променен метаболизъм, напр. чрез промени в използването на субстратите, отварящи нови екологични ниши; 5) променен жизнен цикъл, напр. чрез използване на енергия (аеробно спрямо анаеробно) отваряне на нови

екологични ниши. Бъдещите SynBioM, включително ксенобионти, насочени към съзнателно освобождаване в околната среда, могат да доведат до нови опасности в сравнение с генно модифицираните микроорганизми, разработени посредством установени техники за генетична модификация, напр. поради: 1) новосъздадени микроорганизми/продукти/конституенти, вероятно със слабо проучени взаимодействия в биотична и абиотична среда; 2) ксено-протеини с нови ензимни свойства, т.е. с модифицирана субстратна специфичност или висока устойчивост в околната среда; 3) значителната редукция на генома или сложните генни модификации и редакции може да доведат до неочаквани взаимодействия с други организми (например такива, които водят до избягване на имунната система и висока устойчивост).

Оценката за идентифициране на нови опасности или рискове винаги трябва да се извършва за всеки отделен случай особено щом се отнася до подобни синтетични микроорганизми или ГМО или CRISPR редактирани такива.

**Цел 3:** Оценка на адекватността на съществуващите насоки и ръководни документи за оценка на риска на настоящите и близко бъдещите SynBioM:

За микробното (генотипно и фенотипно) характеризиране на SynBioM и безопасността на генетичната модификация, Ръководството на FEEDAP относно микробното характеризиране (EFSA FEEDAP Panel, 2018), *CEP statement* (EFSA CEP Panel, 2019) и ръководството за ГММ (GMM Guidance, EFSA GMO Panel, 2011) са полезни ръководни документи като основа за оценката на риска. Адекватността на съществуващите насоки на ЕОБХ за SynBioM зависи от степента на познаване на SynBioM и немодифицирания щам от същия микроорганизъм. Цялостното геномно секвениране (WGS) е адекватна и необходима методика за анализ и характеризиране на SynBioM, независимо дали те са бактерии, археи, вируси или еукариотни микроорганизми като протисти, гъби и микро водорасли. WGS може да се използва за таксономична идентификация, идентифициране на гените на антимикробната резистентност, търсене на последователности, свързани с антимикробното производство, токсигенни ефекти и вирулентност/патогенни характеристики, мобилни генетични елементи и характеризиране на генетичните модификации на SynBioM.

Друго полезно ръководство, което би могло да бъде прилагано и за SynBioM е Ръководството за ГМО на ЕОБХ (EFSA GMM Guidance (EFSA GMO Panel, 2011)). Насоките за това ръководство са подходящи за оценка на хоризонталния потенциален генен трансфер (HGT) за някои SynBioM. Бъдещите актуализации на насоките и ръководствата на ЕОБХ биха били свързани с разширяването на описаните подходи за изпитване на неблагоприятни въздействия и тяхната вероятност и честота, произтичаща от HGT. Като се има предвид потенциално промененото действие на SynBioM и непредвидимостта на взаимодействие с биотична и абиотична среда, трябва да се отбележи, че оценката на риска, и по-специално екологичната оценка на риска (ERA) трябва да включва специфичните потенциални места на освобождаване и респективно разпространение на тези SynBioM.

За мониторинга на околната среда след пускането на пазара на синтетичен микроорганизъм (*post-market environmental monitoring (PME)*) ръководството за ГММ на ЕОБХ предоставя основни принципи за откриване и мониторинг и на синтетични микроорганизми и продукти, съдържащи жизнеспособен SynBioM.

**Цел 4:** Определяне на специфични области, в които са необходими актуализирани насоки:

За микробна и молекулярна характеристика на SynBioM, както и за ГММ, се препоръчва разработването на насоки и знания: 1) за микро водорасли: специализирани

насоки за геномна и фенотипна характеристика; 2) за дрожди и гъбички: фенотипни тестове за антимикотична резистентност; 3) за ксенобионти: за насоките за новите към природата компоненти, които не се основават единствено на историята на проучванията върху употребата и сравнителния подход; 4) за ксенонуклеинови киселини: насоки за характеризирани и откриване; и 5) за ксенобионти, широко разпространени SynBioM, микро водорасли и вируси: подходящи моделни системи за тестване на вирулентност и патогенност за нецелени гостоприемници.

По отношение на ERA на SynBioM, както и за ГММ, бъдещите актуализации на насоките следва да отчитат всички видове употреба в производството на храни и да вземат предвид всички микроорганизми (напр. микро водорасли, вируси), съответните им пътища на експозиция и среда на постъпване и следва да разглеждат всички „специфични зони на риск“ съгласно Директива 2001/18/ЕО с определения за крайни точки и описания на актуални методологии. За широко проектираните SynBioM, като ксенобионти, могат да се разглеждат и други подходи за оценка на риска, които не се основават единствено на сравнителния подход.

За РМЕМ за близко бъдещите SynBioM, както и за ГММ, се препоръчва разработването на насоки и ръководства и повишаване на знанията в областта: 1) описания на подходите за годни за наблюдение потенциални неблагоприятни ефекти, произтичащи от преднамереното освобождаване в околната среда и 2) подробни описания на методите за откриване. РМЕМ и подходящите методи за детекция за по-далечно бъдещи SynBioM могат да бъдат предизвикателство, поради структурата на ксено-ДНК.

Препоръчва се следното: I) изследвания за иновативни подходи в рамките на ERA на SynBioM, както и ГММ, насочени към методи за оценка на НГТ, инвазивността и други рискови области от SynBioM, преднамерено освободени в околната среда; II) допълнителни изследвания върху (функционална) ген/геномна анотация за всички микроорганизми, особено за слабо проучени групи като микро водорасли; III) повишаване на познанията за микробните взаимодействия, микробиомната функция и взаимодействията с гостоприемниковите среди за по-широко разбиране на функционирането на микробните съобщества и оценка на риска/управление на ефекта от SynBioM и ГММ; IV) разработване и внедряване на системни подходи, които следва да разчитат на широкомащабни математически и статистически прогнозни модели, както и на семантични технологии и глобални анализи на данните в подкрепа на оценката на риска (екология); и v) концепцията за разработване на ограничен брой инженерни, безопасни по дизайн и многократна употреба групи SynBioM, за да се създаде възможност за оценката на риска и прогнозиране на ефективността на такъв тип синтетични микроорганизми при предварително определени екологични условия.

Европейската комисия поиска от ЕОБХ да разгледа развитието на синтетичната биология за използване в агрохранителната верига в близко бъдеще и да определи дали се очаква използването на тази технология да представлява потенциален риск и опасност за околната среда. Освен това от ЕОБХ бе поискано да оцени адекватността на съществуващите насоки за оценка на риска и ако са необходими актуализирани насоки. Обхватът на настоящото становище обхваща жизнеспособните синтетични биологични микроорганизми (SynBioM), които се очаква да бъдат умишлено пуснати в околната среда. Оценката се основава на: I) Научно обследване на публикуваната информация, ii) анализ на пропуските на съществуващите насоки, обхващащи ГМО и iii) бъдещи перспективи. Обследването на научната литература показва, че микроорганизмите SynBioM могат да бъдат готови за преднамерено освобождаване в

околната среда на ЕС през следващото десетилетие. Въпреки това, сериозни приложения на синтетичните микроорганизми SynBioM се очакват само в по-далечно бъдеще. За микробната характеристика и оценката на риска за околната среда съществуващите насоки на ЕОБХ са полезни като основа. Степента, до която могат да се използват съществуващите насоки, зависи от познаването на SynBioM и немодифицираните организми. Предлага се новите насоки на ЕОБХ да разглеждат всички „специфични рискови области“ съгласно Директива 2001/18/ЕО. Не се очакват нови екологични опасности за настоящите и близко бъдещите SynBioM. Въпреки това, ефикасността, чрез която SynBioM взаимодействат с околната среда, може да се различава. Това може да доведе до повишено излагане и риск. Нови опасности, свързани с развитието на ксенобионти, могат да се очакват в по-далечно бъдеще.

В обобщение, синтетичната биология (SynBio) е интердисциплинарно поле в областта на инженерството и биологията, чиято цел е да създаде нови биологични системи и да придаде нови функции на жизнеспособните клетки. Използва съвременни инженерни принципи, подкрепени от математическо моделиране и аналитични/биохимични подходи за проектиране, сглобяване и разгръщане на генетични части. Принципите на стандартизация и модулност улесняват инженерния процес и итеративните инженерни цикли на „дизайн-създаване-тест-изучаване/изпитване“. Това ускорява напредъка в разработването на нови модели на генетични части и тяхното сглобяване в по-висок ред биологични мрежи с нови характеристики и функции. Прилагането на моделиране и компютърен дизайн дава данни и прогнозира резултатите от различни инженерни стратегии за постигане на оптимална функционалност. Впоследствие моделите се подобряват чрез включването на количествени данни, генерирани от циклите „дизайн-създаване-тест-изучаване/изпитване“. Така че, чрез свързване на инженерство, естествени науки и изчислително моделиране, гамата от приложения и продукти, които могат да бъдат разработени, се разширява и предвидимостта на биотехнологиите се подобрява.

SynBio има потенциални приложения в хранителната и фуражната верига, които според действащото законодателство биха изисквали разрешение преди пускането на пазара в Европа. Някои от тези приложения могат да включват умишленото освобождаване на синтетични организми в околната среда (напр. като SynBio растения или SynBio микроорганизми за насърчаване на растежа на културите или като продукти за растителна защита) и следователно ще бъдат предмет на оценката на риска за околната среда (ERA).

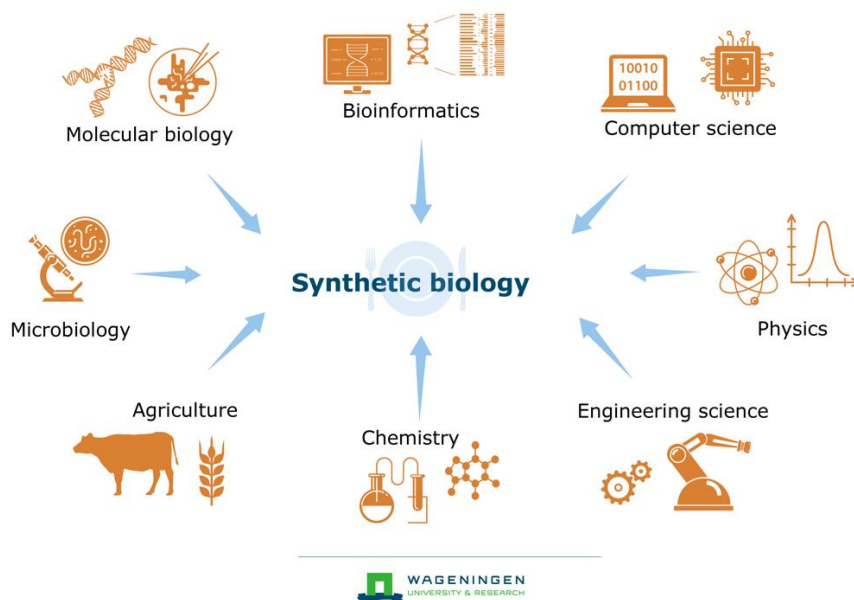
През 2014 г. и 2015 г. Научният комитет на Европейската комисия по възникване и новоидентифицирани здравни рискове (SCENIHR), Научният комитет по рискове за здравето и околната среда (SCHER) и Научният комитет по безопасност на потребителите (SCCS) публикуват три становища относно SynBio, в които се разглеждат шест разработки на SynBio: 1) геномни библиотеки и нови методи; 2) *minimal* клетки и дизайнерски клетки; 3) протоклетки и изкуствено синтезирани клетки; 4) ксенобиология; 5) ДНК синтез и редактиране на генома; и 6) неофициална наука (биология тип направи си сам). Становищата разглеждат определението за SynBio, методологии за оценка на риска и аспекти на безопасността, рисковете за околната среда и биологичното разнообразие и изследователските приоритети в областта на SynBio. SCENIHR, SCCS и SCHER заключиха, че новите разработки на SynBio могат да бъдат оценени, като се използва и настоящата методология за генетично модифицирани организми (ГМО) оценка на риска. Въпреки това, бързо развиващите се технологии могат да изискват съществуващите методики да се

преразглеждат редовно и да се подобряват, когато е необходимо, за да продължат да гарантират безопасността.

Поради това, като проактивна мярка, Европейската комисия поиска от Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) становище относно ГМО, разработено съобразно подхода на SynBio, и последиците, ако има такива, за методологиите за оценка на риска. ЕОБХ определи общо шест работни пакета, които да бъдат отразени в 6 становища, които трябва да бъдат разработени в съответствие с аспектите на групата на организмите и оценката на риска.

## Определения за SynBio:

Синтетичната биология е дефинирана по-рано от SCENIHR, SCCS и SCHER по искане на Европейската комисия като: „Синтетичната биология е прилагането на науката, технологиите и инженерството за улесняване и ускоряване на проектирането, производството и/или модификацията на генетични материали в жизнеспособни организми“ (*Synthetic biology is the application of science, technology and engineering to facilitate and accelerate the design, manufacture and/or modification of genetic materials in viable organisms.*).



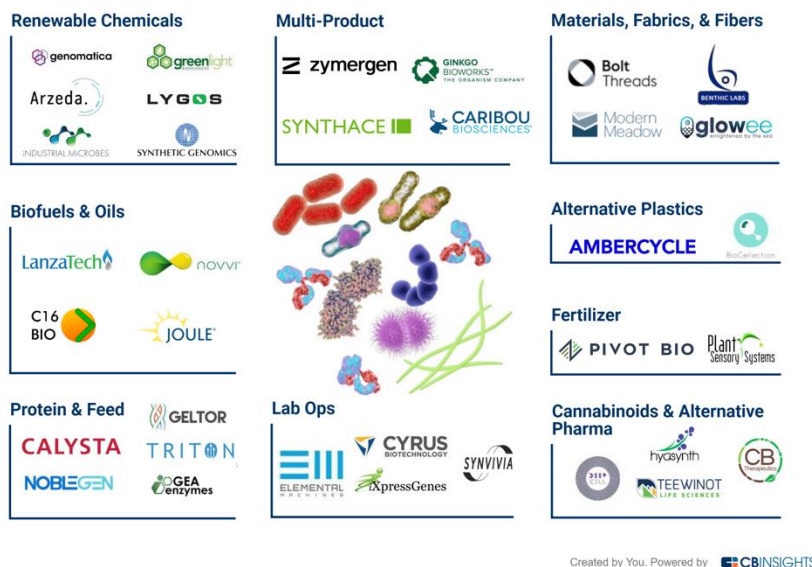
Фиг. 1:

Различни научни направления, включени в синтетичната биология

Конвенцията за биологичното разнообразие (<https://www.cbd.int/doc/meetings/cop/cop-12/information/cop-12-inf-11-en.pdf>) допълнително пояснява, че „Докато няма международно съгласувано определение за „синтетична биология,, основните характеристики на синтетичната биология включват “*de novo*“ синтеза на генетичен материал и инженерно-базиран подход за разработване на компоненти, организми и продукти“. Това допълнително изясняване установява връзката за искането за подкрепа на Европейския съюз (ЕС) в работата по Конвенцията за биологичното разнообразие и Протокола от Картахена за биологичната безопасност.



## Industrial SynBio: Fabricating At Scale With Biology

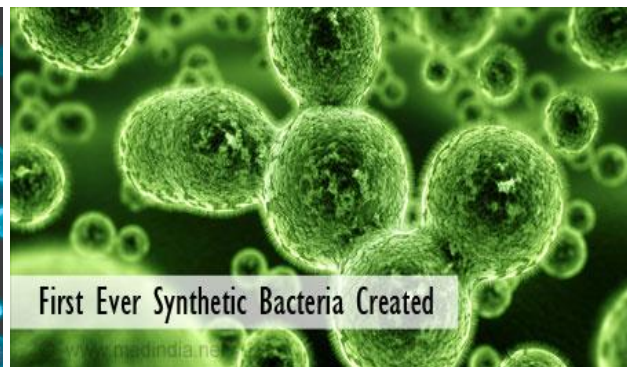
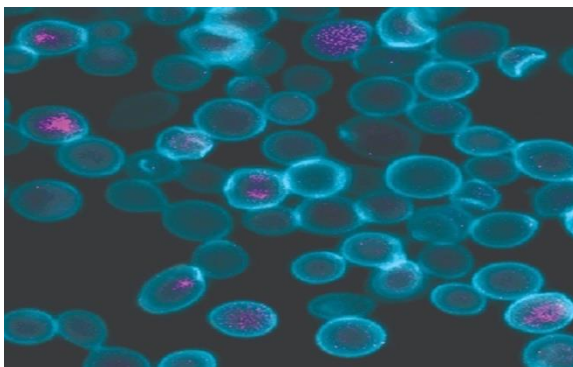


Фиг.2: Приложения на синтетичните организми в производствените сектори

### Определения за синтетични микроорганизми:

- Съвкупност от биологични части, включително региони, кодиращи РНК или протеини, които позволяват на отделните клетки да реагират и взаимодействат помежду си, за да изпълняват някои логически функции (като обработка на сигнали и отговор)
- Резултат от инженерен подход за биологичен контрол на непреднамереното екологично разпространение на SynBioM или неговия генетичен материал чрез прехвърляне на гени към други организми
- Технология, в която ДНК се вмъква, заличава, модифицира или заменя в генома на жизнеспособен организъм. Редактирането на генома цели модификациите на определени места. Както е обяснено в обяснителната бележка на Научния механизъм за съвети (SAM) от април 2017 г. (SAM, 2017), редактирането на генома има за цел да постигне прецизна промяна на ДНК последователността в клетката или да постигне произволни промени на точните места.
- Биологичен, химичен или физичен агент в храна или фураж с потенциал да предизвика неблагоприятно въздействие върху здравето (от Регламент (ЕО) № 178/2002 (Европейска комисия, 2002 г.). Съгласно Решение на Съвета на ЕО от 2002г. опасността е потенциалът на даден организъм да причини вреда или неблагоприятно въздействие върху човешкото здраве и/или околната среда и ефектът да е неконтролируем.
- Генното инженерство обикновено определя функции на синтетичните микроорганизми като пренасочване на една или повече ензимни реакции за производство на нови съединения в организма, подобряване на производството на съществуващи съединения или посредничеството на разграждането на съединенията. Генното инженерство също може да се използва за разширяване на екофизиологията на SynBioM.
- Група от едноклетъчни фотосинтетични еукариоти, които обикновено се срещат в сладководните и морските системи.

- Микробиомът се отнася за общности от микроорганизми и техните комбинирани геноми в определена среда. Определението за микроорганизъм е предвидено в член 2 от Директива 2009/41/ЕО на Европейския парламент и на Съвета от 6 май 2009 г. относно употребата на генетично модифицирани микроорганизми (Европейска комисия, 2009 г.): „микроорганизъм“ означава всяко микробиологично образувание, клетъчна или неклетъчна структура, способна на репликация или пренасяне на генетичен материал, включително вируси, вироиди и животински и растителни клетки в култура. Променен или редактиран микробиом е съвкупност от модифицирани или синтетични микроорганизми.
- Клетка, чийто геном кодира само минималния набор от гени, необходими за оцеляването и автономното израстване на клетката при определени условия. ГМО, който може да причини потенциално неблагоприятно въздействие върху околната среда (опасности) от естеството на тези ефекти, както и на пътища на експозиция, чрез които ГМО може да повлияе неблагоприятно върху околната среда (идентификация на опасността).
- Подход на генния инженеринг за създаване на нови биологични системи, работещи стриктно „отдолу нагоре“ и се опитва да изгради нови прости форми на живи системи, използващи химични и физически процеси и в състава си имат материали, които досега не са познати. Понастоящем системите, изградени на този принцип се наричат „протоклетки“.
- Принцип, който има за цел да разработи безопасни нови продукти (напр. SynBioM), като се вземат предвид всички аспекти на продукта, както и на процеса, от първоначалните идеи на проекта, до добре характеризирания краен продукт.
- Интердисциплинарно поле в интерфейса на инженеринга и биологията, чиято цел е да се развият нови биологични системи и да придадат нови функции на жизнеспособни клетки с потенциални приложения в производството на храни и фуражи и околната среда.
- Принципет на подхода на системите поставя отделните системни елементи в тяхната среда и наблюдава взаимоотношенията между тях. Този подход разчита на мащабни математически и статистически модели, както и на семантични технологии, големи анализи на данни и изкуствен интелект клон на SynBio, който започна да проектира алтернативни биохимични компоненти за биоинженерство, различни от ДНК или 20 добре известни аминокиселини.



*Електронна микроскопия на синтетични микроорганизми*

#### **Обхват и мандат:**

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136  
<http://corhv.government.bg>, [corhv@mzh.government.bg](mailto:corhv@mzh.government.bg)  
 тел. 02/4273056



Въз основа на становищата SCENIHR, SCCS и SCHER и като се взе предвид прегледа на наличната литература и предишни анализи, проведени от държавите членки на ЕС или на международно равнище, ЕК поиска от ЕОБХ в съответствие с Регламент (ЕО) № 178/2002 (Европейска комисия, 2002 г.), становище относно ГМО, разработено чрез синтетична биология и техните последици за методологиите за оценка на риска. Обхватът на настоящия мандат е ограничен до използването на такъв тип микроорганизми в храни. В този контекст:

- 1) Е необходимо да бъде преценено дали и кои по-нови сектори и етапи от агрохранителната верига и технологичните процеси следва да бъдат преразгледани в контекста на развитието на SynBio.).
- 2) Задължително е да бъдат ясно дефинирани, ако е възможно, потенциални рискове от гледна точка на въздействието на такива микроорганизми върху хората, животните и околната среда, които биха могли да породят настоящите и близко бъдеще развитието на SynBio; В това отношение е необходимо също така да бъдат установени потенциални нови опасности, свързани с установените техники за генетична модификация.
- 3) От ЕОБХ бе поискано да определи дали съществуващите насоки, ръководни документи и законодателство за оценка на риска са адекватни и достатъчни за настоящото и близко бъдеще и темповете на развитие на SynBio или е необходимо актуализиране.
- 4) Необходимо е също да се определят конкретните области, в които са необходими такива актуализирани насоки.

От ЕОБХ е необходимо също така да предостави техническа и научна експертиза относно оценката на риска на ГМО, получена чрез SynBio, за да подпомогне ЕС в работата по Конвенцията за биологичното разнообразие и Протокола от Картагена за биобезопасността.

Освен микробната характеристика на самите синтетични организми, е необходимо и задължително условие да се проведат молекулярни изпитвания и пълен геномен секвентен анализ и респективно молекулярно охарактеризиране на тези новоразработени организми. Необходимо при оценката на риска е да бъдат включени оценки на храни и фуражи, в които е вложен синтетичен микроорганизъм и също така оценка на консумацията на такива храни от животински или растителен произход със синтетични микроорганизми или пък с редактиран геном.

ЕОБХ създаде *ad hoc* експертна работна група (WG) на Научния комитет (SC) относно микробната характеристика (MC) и екологична оценка на риска (ERA) на SynBioM. Ръководните документи и насоките на отговорните институции, които са от значение за микробната характеристика на SynBioM, са представени в таблица 1; тези за ERA за преднамерено освобождаване на SynBioM са представени в Таблица 2.

Document	Title	Link	Content
EFSA FEEDAP Panel (EFSA FEEDAP Panel, 2018)	Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms	<a href="https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5206">https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5206</a>	This FEEDAP 2018 Guidance details the steps for characterisation of GMMs used as feed additives and introduced the WGS analysis for RA for the first time
Statement of the CEP Panel (EFSA CEP Panel, 2019)	Statement: Characterisation of microorganisms used for the production of food enzymes	<a href="https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.5741">https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.5741</a>	This statement is similar to the FEEDAP Guidance (EFSA FEEDAP Panel, 2018), although it covers production organisms only, focused on food enzyme applications
In preparation	EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain	<a href="https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation_consultation_EFSA-Statement-WGS-micro-organisms.pdf">https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/consultation_consultation_EFSA-Statement-WGS-micro-organisms.pdf</a>	This draft (in public consultation) provides recommendations to applicants on how to describe the analysis and results of WGS analysis of microorganisms which should be provided to EFSA in the context of an application

GMM: genetically modified microorganisms; WGS: whole genome sequencing; RA: Risk assessment.

**Table 2:** Reference documents for the ERA

Reference	Title	Link	Content
EC Directive 2001/18 (European Commission, 2001)	Deliberate release into the environment of GMOs and repealing Council Directive 90/220/EEC	<a href="https://eur-lex.europa.eu/re-source.html?uri=cellar:303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC_1&amp;format=PDF">https://eur-lex.europa.eu/re-source.html?uri=cellar:303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC_1&amp;format=PDF</a>	Directive 2001/18/EC sets out requirements for the environmental risk assessment (ERA) of GMOs after their deliberate release into the environment. This Directive applies to all GMOs introduced into the environment, including GMMs. This Directive is the basis of the GMO Panel ERA Guidance for GM plants (EFSA GMO Panel, 2010) and the GMO Panel GMM Guidance (EFSA GMO Panel, 2011) Annex II, Section D, states that conclusions on the potential environmental impact in relevant receiving environments from the release of GMOs shall be drawn for each of the nine points (so called 'areas of risk') mentioned, based on an ERA Section D.1 refers to GMOs other than higher plants, such as GMMs. Section D.2 refers to higher plants

Reference	Title	Link	Content
EC Directive 2018/350 (update of Annexes II and III of Directive 2001/18) (European Commission, 2018)	Amending Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council as regards the ERA of genetically modified organisms	<a href="https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:32018L0350">https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:32018L0350</a>	This Directive amends Annex II (risk assessment methodology), III (information requirements) and IV (additional requirements for GMOs) of Directive 2001/18/EC Annex II was updated to incorporate the terminology used to describe the six steps in the ERA approach as described in the GMO Panel ERA Guidance for GM plants (EFSA GMO Panel, 2010) Annex II D.2 is updated to reflect the nine areas of risk that are described in the GMO Panel ERA Guidance for GM Plants (2010) Annex II D.1, referring to the specific areas of risk for GMMs, is not updated Annexes II and IV were only updated for GM plants
EFSA GMO Panel, 2011	Guidance on the risk assessment of GMMs and their products intended for food and feed use	<a href="https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2193">https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2193</a>	This guidance focuses on the risk assessment of food and feed consisting, containing or produced from GMMs. It includes ERA for products consisting or containing viable GMMs (Category 4). The aspects on the molecular characterisation of GMMs in this Guidance are superseded by the FEEDAP 2018 Guidance (EFSA FEEDAP Panel, 2018)
EFSA GMO Panel, 2010	Guidance on the ERA of genetically modified plants	<a href="https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1879">https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1879</a>	This GMO Panel 2010 Guidance focuses on the ERA of GM plants, reflecting the 'specific areas of risk' from Directive 2001/18/EC
Commission Regulation (EU) No. 283/2013, Annex part B on microorganisms as PPP, (European Commission, 2013)	Setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market	<a href="https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:093:0001:0084:EN:PDF">https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:093:0001:0084:EN:PDF</a>	This Part B provides data requirements for active substances consisting of microorganisms, including viruses, e.g. Data should be supplied on 'persistence and multiplication'
ENV/JM/MONO (2012)1	OECD guidance to the environmental safety evaluation of microbial biocontrol agents (mBCA), Series on Pesticides No 67	<a href="http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)1&amp;doclanguage=en">http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)1&amp;doclanguage=en</a>	This document provides data requirements regarding the characterisation of the mBCA, application type and pattern, fate and behaviour, environmental toxicity to terrestrial and aquatic non-target organisms (NTOs)
ENV/JM/MONO/ (2019)8	Report of the 9th Biopesticides Expert Group Seminar on Test Methods for Microorganisms Series on Pesticides No 100	<a href="http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2019)8&amp;doclanguage=en">http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2019)8&amp;doclanguage=en</a>	Experiences are described from OECD countries dealing with assessment of microbial products

Reference	Title	Link	Content
ENV/JM/MONO (2014)2	Report of the OECD/ KEMI/EU workshop on microbial pesticides: assessment and management of risks, Series on Pesticides No 76	<a href="http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)2&amp;doclanguage=en">http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2014)2&amp;doclanguage=en</a>	Reports on the OECD/KEMI/EU workshop on microbial pesticides assessment and management of risks
ENV/JM/MONO (2010)40	Guidance document on horizontal gene transfer between bacteria	<a href="https://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815958.pdf">https://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815958.pdf</a>	This Guidance also provides some direction on how to assess potential risks resulting from HGT are described
EFSA (2016)	Guidance to develop specific protection goals options for ERA at EFSA, in relation to biodiversity and ecosystem services	<a href="https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2016.4499">https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2016.4499</a>	This Guidance describes the methodology to be used during an ERA problem formulation, in order to specify the protection goals that need to be addressed

GMO: genetically modified microorganisms; HGT: horizontal gene transfer.

Табл. 1 и 2: Ръководните документи и насоките на отговорните институции, които са от значение за микробната характеристика на СупВіоМ и екологичната оценка на риска

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136  
<http://corhv.government.bg>, [corhv@mzh.government.bg](mailto:corhv@mzh.government.bg)

тел. 02/4273056

Ф-НК-7.6-5/0



## **Примерни проучвания/ продукти и примери за разграничаване на класически ГМО и SynBioM:**

Както бе показано по-горе в изложението, няма отчетлива граница между микроорганизмите, получени чрез съществуващите техники за генетична модификация и тези, получени от SynBio. Като се има предвид тази липса на яснота, в становището на ЕОБХ са подбрани четири казуса/примери за показване на различия между класическия ГМО и SynBioM. Критериите, по които са подбрани примерите в проучванията на ЕОБХ са:

**Критерий 1:** Продуктите, състоящи се или съдържащи жизнеспособни ГМО, съгласно определението в Директива 2001/18/ЕО на ЕК, могат да възпроизвеждат и прехвърлят генетични материали. Обхванатите ГМО включват архея, бактерии и еукариоти (вкл. нишковидни гъби, дрожди, протисти и микроскопични водорасли, вируси, вироиди и бактериофаги).

**Критерий 2:** Продукти, свързани с „използване на синтетични микроорганизми в храни и фуражи, попадащи в обхвата на правомощията на ЕОБХ“. Следните видове употреба и продукти попадат в компетентността на ЕОБХ и могат да включват жизнеспособни организми, които могат умишлено да бъдат освободени в околната среда:

- консумация от хора или животни, напр. храни/фуражни продукти, пробиотици, микробиомно инженерство (оценени съгласно регламентите за храните, фуражите, новите хранителни и здравни претенции);
- силаж и фуражни ферментационни агенти;
- първични култури, ферментационни агенти и биоконтрол в храните;
- употреба на пестициди (PPP и биоциди), напр. вируси, включително бактериофаги, бактерии или гъбички, които предизвикват резистентност или агенти за биоконтрол;
- биосензори, напр. използвани в материали за контакт с храни;
- бактериофаги и бактерии за хранително обеззаразяване;
- растежни фактори при растенията, включващи микроорганизми.

**Критерий 3:** Продукти, умишлено пуснати в околната среда по експериментални, мащабни проучвания или търговски причини. Продуктът следва да бъде предназначен за преднамерено освобождаване или преднамереното му освобождаване е свързано с неговото използване, включващо:

- експериментални етапи в лабораторна среда, оранжерии, ферми, мезокосмоса, полеви опити и др.
- пускане на пазара. Това включва оранжерии, селски стопанства, езера, полеви опити или фуражни и продукти, които вече са на пазара на територии извън ЕС.

**Критерий 4:** Продуктът е вероятно да достигне пазара на ЕС през следващото десетилетие. Този критерий не може да бъде получен от самия литературен източник, а въз основа на експертната преценка.

Тези четири примера са разгледани с цел да се оцени адекватността на съществуващите ръководни документи, насоки, при най- реалистичен/най-подходящия

сценарий. Трябва да се вземе предвид, че SynBio се развива бързо и поради това тези избрани примери може да не са представителни за всички бъдещи приложения. При тези примери са съблюдавани също микроорганизми с големи фенотипни промени или нови фенотипи или с висока степен на генетична модификация както и различните начини на експозиция и очаквани опасности за хората, животните и околната среда (включително растения).

**Пример 1:** растителен вирус, *Citrus tristeza virus* (CTV9), който е редактиран да противодейства на цитрусовата болест чрез инхибиране на бактерията *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Синтетичният вирус е „програмиран“ да експресира три копия на генните локуси, кодиращи децензин в цитрусовите растения, като същевременно е запазена вирулентността му и инвазивността му, да се възпроизвежда и разпространява из тъканите на цитрусовите дървета. Този SynBioM е от *Datasheet A* в *Van der Vlugt, 2020* г.

**Пример 2:** Екологична оценка на риска на даден организъм, който потенциално се използва като биотор в почвата. Този случай засяга почвената бактерия *Klebsiella oxytoca* и генния клъстер, кодиращ пътя на азотната фиксация. Този случай е взет от литературата с авторски колектив *Temme et al., 2012*. Клъстерът от гени, участващи в превръщането на атмосферния  $N_2$  в амоняк, е преработен и рефакториран чрез изтриване на всички не кодиращи региони и несъществените и регулаторни гени и последователности. Кодоните на избраните основни гени са оптимизирани, а новите зони за кодиране са организирани в оперони и поставени под контрола на синтетични участъци (промотори, рибозомни свързващи места и терминатори). Експресията на рефракторния генен клъстер се регулира от генетични сензори и вериги. В SynBioM не е въведена хетероложна ДНК. Възможността за навлизане на пазара не е изключена на този етап, тъй като продуктите, които споделят много сходни характеристики, вече са на пазара извън ЕС.

**Пример 3:** се фокусира върху пътя на експозиция на хора/животни и е от *Datasheet B*, в *Van der Vlugt, 2020* г. Примерът обхваща *Saccharomyces cerevisiae*, която произвежда кетонни съединения от малини (*Lee et al., 2016*) Де novo пътят за производство на това ароматно съединение е постигнато с четири хетероложни гена, което плод на генно инженерство и синтетичен ензимен синтез. Примерът е описан, тъй като могат такива микроорганизми да се използват във виното и в бирата и при производството им и биха могли да присъстват жизнеспособни организми и в крайния продукт.

**Пример 4:** включва два ксенобиологични варианта с бактериален произход (Cases 4A и 4B). И двете представляват максимална модификация и генетична настройка и са доста непознати като фенотипове, като са взети от литературата.

Пример 4А описва бактерия с модифицирана употреба на ДНК кодон, която позволява включване на нетипичната аминокиселина пиролizin (Pyl) чрез използване на универсалния „amber“ стоп кодон UAA като свързващо място за модифицирана tRNA. В резултат на това бактериалната клетка произвежда „нови за природата“ ксенопептиди и протеини (*Acevedo- Rocha and Budisa, 2016*). Предвижда се, че на организма липсва капацитет за биосинтеза на Pyl и съответната tRNA (*Tharp et al., 2018*) и следователно би бил авксотрофен (*auxotrophic*) и за двете.

Случай 4Б описва бактерия със същия потенциал за производство на ксенопротеини, но която вместо това би носила ДНК секвенции на изкуствен генетичен полимер, т.е. ксено-нуклеинова киселина (XNA) с шест, вместо общо четири бази (A, C, G и T).

Полученият ксенобионт с допълнителните базови двойки d5SICS и DNAM (*Malyshev et*

al., 2014) няма капацитет да синтезира ксено-нуклеотидите и така репликацията им ще зависи от добавянето на тези два елемента XNA като растежни фактори. Организма XNA също така ще изисква растежните фактори, описани в пример 4А.

Category of agri-food product	Cases from datasheet Deliberate Release	Cases from datasheet Questionable Cases
For human consumption	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> as biosensor (5)	<i>Saccharomyces</i> hybrid in beer (3); <i>Saccharomyces</i> in wine (4)
For animal consumption	<i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella</i> Typhimurium as "synthetic microbiome" (3)	No cases identified
Silage agent	No cases identified	No cases identified
Starter culture	No cases identified	No cases identified
Fermentation agent	No cases identified	No cases identified
Biocontrol in food	No cases identified	No cases identified
Plant protection product	Citrus tristeza virus (1)	No cases identified
Biosensor	<i>Bacillus subtilis</i> sensing meat spoilage (2)	No cases identified
Fertilizer	<i>Sinorhizobium meliloti</i> (4)	Pivot Bio Proven selected microorganisms (2)
Feed additive biocontrol agent	No cases identified	No cases identified
Borderline	No cases identified	<i>Escherichia coli</i> as therapeutic probiotic for human or animal use (1); <i>Metarhizium pingshaensei</i> for control of vectors spreading Malaria (5)
Miscellaneous	No cases identified	<i>Synechococcus elongates</i> PCC7492 biocontainment strategy in potentially biofuel producing micro-algae (6)

Таб

л. 3: Други примери за създадени вече на база синтетична биология продукти

**Уебсайтове**, демонстриращи търговски дейности в областта на синтетичната биология са:

- *Labiotech, digital medium covering the European Biotech Industry*  
<https://www.labiotech.eu/food/>.
- *SynbiCITE, Innovation and Knowledge Centre for Synthetic Biology in the UK:*  
<http://www.synbicite.com/synthetic-biology/examples/> .
- *SynBioBeta, innovation network, weekly updates on the latest news in synthetic biology:*  
<https://synbiobeta.com/category/agriculture/>.
- *Woodrow Wilson Institute - Synthetic Biology products and applications inventory:*  
<http://www.synbioproject.tech/cpi/applications/>
- *Bio-start - an annual competition (a one-off in 2017) designed to commercialize the engineering of biology:*  
<http://www.bio-start.uk/> Accessed March 4, 2019.
- *iGEM projects that have resulted in start-ups:*  
<https://igem.org/Startups> Accessed March 5, 2019.



Бази данни на регулаторните агенции, които се използват за SynBio:

- USDA:

[https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/permits-notifications/petitions/sa\\_permits/status-update/release-permits](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/permits-notifications/petitions/sa_permits/status-update/release-permits)

- Австралия:

<http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/ir-1>

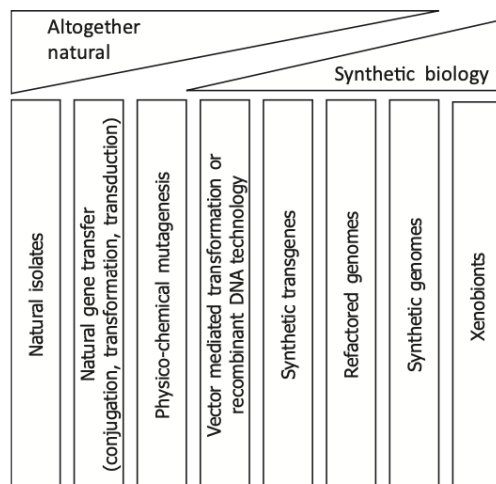
- Канада:

<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-others-novel-foods/approved-products.html>

Независимо от определението за SynBio, на практика, както е показано на фигура 1, няма дефинирано разграничение между микроорганизмите, получени с помощта на установените техники за генетична модификация и тези, получени за подходите SynBio.

Нивото на генетична модификация на SynBio агенти или продукти може да варира от това да бъде много сходно с тези от ГМ технология, оценена досега или може да отиде (далеч) с непознати характеристики на генотипно или фенотипно ниво, като например в случая на ксенобионтите.

В заключение терминът „редакция на гените“, е посочен от SCENIHR, SCCS и SCHER като еволюционно развитие на SynBio. Редактирането на генома се отнася до набор от техники, които редактират генома по целенасочен начин чрез предизвикване на сайт-специфични промени със или без целенасочено вмъкване на ДНК последователности. Въпреки че редактирането на генома все повече се използва в SynBio, поради способността му да „редактира“ генома по целенасочен начин, то се отнася само до някои от техниките, налични за производство на продукт SynBio.



Modified after de Lorenzo, 2010 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bies.201000099>

Фиг. 3: Преминаване от естествени към синтетични биологични продукти

### Общи заключения:

Направените заключения са, както следва:

- Няма ясни критерии за разграничаване между ГМО и SynBioM.

- От техническа гледна точка има приложения на SynBioM (напр. примерите, изложени по-горе в изложението), които биха могли да бъдат готови за пускане на пазара и преднамерено освобождаване в околната среда на ЕС през следващото десетилетие.
- Информацията за новите продукти на SynBioM за преднамерено освобождаване не може да бъде публично достъпна в ранните етапи на тяхното развитие. Тази ситуация ограничава оценката на риска и оформяне на становище по темата от страна на компетентните институции.
- Опасностите за настоящи и близко бъдещи SynBioM, когато умишлено пуснати в околната среда, не се различават от тези за ГМО, направени чрез установени техники за генетична модификация
- SynBioM взаимодействат с тяхната биотична и абиотична среда по различен начин и не може да се предвиди или прогнозира с абсолютна точност поведението им в околната среда.
- Непредвидимото поведение на синтетичните организми би могло да доведе до неконтролирана експозиция и до повишен риск за здравето на хора и животни.
- Би могъл да се наруши биобаланса и биоразнообразието в околната среда.
- Задължително е оценката за идентифициране на подобни нови опасности или рискове винаги да се извършва за всеки отделен случай или продукт, съдържащ синтетични или редактирани организми.
- За генотипното и фенотипното характеризиране на SynBioM и безопасността на генетичната модификация, Ръководството на FEEDAP относно микробното характеризиране (EFSA FEEDAP Panel, 2018 г.), декларацията на CEP (EFSA CEP Panel, 2019 г.) и Ръководството за ГМО (GMO Panel, 2011 г.) относно характеризирането на щама са полезни като основа и отправна точка за оценка на риска.
- Адекватността на съществуващите насоки на ЕОБХ за SynBioM зависи от степента на познаване на SynBioM и немодифицирания микроорганизъм.
- Следните насоки са адекватни и силно препоръчителни за охарактеризиране на SynBioM:
  - WGS анализ е от съществено значение за охарактеризиране и изследване на генома на SynBioM, независимо дали те са бактерии, археи, вируси, вироиди или еукариотни микроорганизми като протисти, гъби и водорасли или пък ксенобионти.
  - При обясняване на целта на разработване на SynBioM използването на определен стандартен вид микроорганизъм за сравнение и като еталон е от съществено значение.
  - WGS и метагеномният анализ биха могли да се използват за таксономична идентификация, определяне на гени, отговорни за антимикробна резистентност, търсене на секвенции, свързани с проява на антимикробни, токсигенни и патогенни характеристики, търсене на мобилни генетични елементи и характеризиране на генетичните модификации на SynBioM.
  - Определяне чрез нови молекулярни методики на SynBioM и евентуални метаболитни съединения, които те произвеждат.
  - Прилагане на фенотипни тестове за производството на антимикробни съединения.
  - Прилагане на нови подходи за доказателства при оценка на токсигенността и патогенността на база биоинформатичен анализ, бази

данни, споделяне на професионален опит и използването на прогнозни моделни системи.

- Необходимо е да се събере достатъчна информация за поведението на синтетичния микроорганизъм, начинът му на разпространение, инвазивността му и то при различни условия на околната среда и при различни условия на средата, предпочитана среда на местообитание и др.
- Много важно е да бъде проучена възможността за прехвърляне на генетичен материал към други микроорганизми.
- Трябва да се проучи генетичната стабилност на синтетичния организъм, патогенността му, екологичните и физиологични характеристики;
- Трябва да е ясно дефинирана употребата на такива организми и с каква цел.
- Трябва да бъде изследвана скорост и ниво на експресия на генните продукти, произтичащи от генетичната модификация.
- Има нужда и от уникален идентификатор, нещо подобно на баркод за тези SynBioM.

### **Заклучителни бележки за екологичната оценка на риска (ERA):**

- Насоките за ГМО на ЕОБХ (GMO Panel, 2011 г. на ЕОБХ) са полезна основа за оценка на екологичния риск за продуктите, съдържащи жизнеспособни SynBioM, тъй като в настоящото ръководство са предвидени и живи ГМО. Все пак се предвиждат бъдещи корекции на тези насоки и ще се прилагат по същия начин за жизнеспособни ГМО и SynBioM.
- Насоките на ЕОБХ са подходящи за оценка на HGT потенциала за близко бъдеще SynBioM. Бъдещите актуализации биха се възползвали от разширяването с описания на подходите за тестване за неблагоприятни ефекти и тяхната вероятност, произтичаща от HGT.
- Сравнителният подход с известни микроорганизми с история на употреба все още е осъществим при близко бъдещите SynBioM. За в бъдеще тепърва разработваните SynBioM трябва да бъдат допълнително проучени, анализирани, тествани и опознати.

### **Заклучителни бележки относно РМЕМ:**

- Насоките на ГМО на ЕОБХ (GMO Panel, 2011 г. на ЕОБХ) предоставят принципите за откриване и РМЕМ, които са приложими за продукти, съдържащи вече разработени живи SynBioM.

### **Необходимост от нови насоки:**

За микробна и молекулярна характеристика на SynBioM, както и за ГМО, се препоръчва разработването на нови насоки и знания:

- 1) за микрородорасли: специализирани насоки за геномната и фенотипната характеристика;
- 2) за дрожди и гъбички: фенотипни тестове за антимикотична резистентност;
- 3) за ксенобионти: насоки, които не се основават на историята на употреба и не се основават единствено на сравнителния подход за компонентите;
- 4) за XNA: насоки за характеризиране и откриване;

5) за ксенобионти, в близко бъдеще проектирани SynBioM, микроводорасли и вируси: подходящи моделни системи за тестване на вирулентност и патогенност за нецелеве хостове.

За оценка на риска за околната среда на SynBioM, както и за ГМО, се препоръчва разработването на насоки и знания:

1) Обхватът на насоките на ГМО на ЕОБХ обхваща използването на ГМО в храни и фуражи. Бъдещата актуализация на насоките за ГМО следва да обхваща всички видове храни, всички видове микроорганизми (вкл. микроводорасли, вируси), съответните им пътища на излагане и постъпване и приемащи среди.

2) Бъдещите актуализации на Ръководството на ГМО на ЕОБХ, с обхват отвъд употребата в храни и фуражи, следва да обхващат всички „специфични рискови области“ съгласно Директива 2001/18/ЕО.

3) За далечно бъдеще проектираните SynBioM, като ксенобионти, могат да се разглеждат и други подходи за оценка на риска, които не се основават единствено на сравнителния подход за компоненти от ново естество.

4) Бъдещите актуализации биха се възползвали от включването на описания на подходите, подходящи за целите за мониторинг на потенциалните неблагоприятни въздействия, произтичащи от преднамереното освобождаване на синтетични микроорганизми в околната среда.

5) Препоръчват се подробни описания на методите за откриване за настоящи и близко бъдещи SynBioM, както и за ГМО.

6) За по-далечно бъдещи SynBioM подходящи методи за откриване могат да бъдат предизвикателство за осигуряване, поради ксено-ДНК структурата.

Понятието „запознатост“ се отнася до факта, че повечето ГММ които се използват за храни или фуражи, принадлежат към добре характеризирани микробни видове. Тази „запознатост“ позволява на оценителя на риска да се възползва от предишни знания и опит с въвеждането на подобни микроорганизми в храната и околната среда. Познанията ще произтичат и от наличните знания и опит от анализа на риска/безопасността, проведен преди мащабните разработки и бума на синтетичната биология и синтетичните микроорганизми (ОИСП, 1993а, б и ГМО панел на ЕОБХ, 2006 г.).

#### **Препоръчва се следното:**

- Изследвания за иновативни подходи в рамките на ERA на SynBioM, както и жизнеспособни ГМО, фокусирани върху методи за оценка на НГТ, инвазивността и други области на риск за SynBioM, умишлено освободени в околната среда. В това отношение може да се използва предимството на технологичния напредък в методологиите за изследване на сложни микробни общности и микробиоми.
- Допълнителни изследвания върху (функционална) ген/геномна анотация за всички микроорганизми, по-специално за слабо проучени групи като микро водорасли.
- Повишаване на знанията за микробните взаимодействия, микробиомната функция и взаимодействията с приемащата среда за по-широко разбиране на общностната функция и оценка на риска/управление на ефекта на SynBioM, както и ГМО.

- Разработване и внедряване на подходи на системи. Те трябва да разчитат на мащабни математически и статистически модели, както и на семантични технологии и големи анализи на данните в подкрепа на оценката на риска.
- Концепция за разработване на ограничен брой инженерни, безопасни по дизайн и многократно употреба SynBioM, за да се създаде възможност за оценка на риска върху ефективността при предварително определени екологични условия. Това може да предложи възможност за оценка на безопасност за конкретен синтетичен микроорганизъм.

#### Използвана литература:

- Evaluation of existing guidelines for their adequacy for the microbial characterisation and environmental risk assessment of microorganisms obtained through synthetic biology - EFSA Scientific Committee
- Testbiotech - Frequently asked questions on the regulation of 'New GE'
- Broadening the GMO risk assessment in the EU for genome editing technologies in agriculture - Katharina Kawall , Janet Cotter and Christoph Then
- **BIOSAFETY OF GENOME-EDITED PLANTS: CHALLENGES FOR THE RISK ASSESSMENT - MICHAEL ECKERSTORFER**
- Technical characterization of CRISPR/Cas and the differences to conventional breeding - Dr. Katharina Kawall
- Comments from a Risk Assessor's Perspective - Dr. Wolfram Reichenbecher, German Federal Agency for Nature Conservation, Division Assessment GMO/Genetic Engineering Act
- Plants Developed by New Genetic Modification Techniques—Comparison of Existing Regulatory Frameworks in the EU and Non-EU Countries - *Michael F. Eckerstorfer, Margret Engelhard, Andreas Heissenberger, Samson Simon and Hanka Teichmann*
- An EU Perspective on Biosafety Considerations for Plants Developed by Genome Editing and Other New Genetic Modification Techniques (nGMs) - Michael F. Eckerstorfer, Marion Dolezel, Andreas Heissenberger, Marianne Miklau, Wolfram Reichenbecher, Ricarda A. Steinbrecher and Friedrich Waßmann
- New Possibilities on the Horizon: Genome Editing Makes the Whole Genome Accessible for Changes - *Katharina Kawall*
- Genetic engineering endangers the protection of species - Why the spread of genetically engineered organisms into natural populations has to be prevented - Testbiotech
- Scientists Create Synthetic Bacteria With 473 Genes - <https://www.medindia.net/news/healthinfocus/scientists-create-synthetic-bacteria-with-473-genes-161662-1.htm>
- Synthetic organisms engineered to shed light on ancient evolution - [Michael Irving](#)
- Synthetic biology era: improving antibiotic's world - Silvia Guzmán-Trampe , Corina D. Ceapa , Monserrat Manzo-Ruiz , Sergio Sánchez
- Synthetic biology and synthetic genome technologies - <https://www.testbiotech.org/en/content/synthetic-biology-and-synthetic-genome-technologies>
- <https://syntheticbiology1.com/>
- <https://www.ibiology.org/bioengineering/development-of-new-antibiotics/>
- <https://synbiobeta.com/what-is-synthetic-biology/>
- Synthetic Genomics and Synthetic Biology Applications Between Hopes and Concerns - Harald König, Daniel Frank, Reinhard Heil and Christopher Coenen
- Synthetic Genomes: Technologies and Impact - [https://science.osti.gov/-/media/ber/berac/pdf/Syn\\_bio.pdf](https://science.osti.gov/-/media/ber/berac/pdf/Syn_bio.pdf)

- <https://www.genome.gov/about-genomics/policy-issues/Synthetic-Biology>
- <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/synthetic-biology>

Изготвил: Красимира Захариева,  
Главен експерт в дирекция ОРХВ към ЦОРХВ

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136  
<http://corhv.government.bg>, [corhv@mzh.government.bg](mailto:corhv@mzh.government.bg)  
тел. 02/4273056

Ф-НК-7.6-5/0

