



Настоящи и бъдещи пазарни приложения на нови геномни техники (NGT)

Научен обзор

Съветът на Европейския съюз е поискал от Комисията да представи до 30 април 2021г. проучване с оглед на решението на Съда по дело С-528/16 относно **статута на новите геномни техники съгласно правото на Съюза.**

„Новите геномни техники“ (NGT) се определят като техники, които могат да променят генетичния материал на организма и които са се появили или са били разработени от 2001г. насам, когато е прието действащото законодателство относно генетично модифицираните организми (ГМО).

За момента **организмите, получени чрез нови геномни техники, са предмет на законодателството за ГМО. Бързото развитие на биотехнологиите обаче, съчетано с липсата на определения (или яснота по отношение на значението) на ключови термини, свързани с новите геномни техники, води до неяснота и несигурност в тълкуването на някои понятия и данни.**

NGT и техните продукти се развиват бързо през последните две десетилетия в много части на света, като някои приложения вече са на пазара и се очакват повече приложения в различни сектори през следващите години. Проучването на ЕК потвърждава, че е **налице значителен интерес към научните изследвания в областта на новите геномни техники в ЕС, но по-голямата част от разработките се осъществяват извън ЕС.**

Някои от **растителните продукти, получени чрез NGT** показват **потенциал да допринесат за постигането на целите на Зеления пакт на ЕС, и по-специално за стратегиите „От фермата до трапезата“ и за биологичното разнообразие, както и за целите на ООН за устойчиво развитие за по-издръжлива и устойчива хранително-вкусова промишленост. Примерите включват растения, които са по-устойчиви на болести и условията на околната среда или въздействието от изменението на климата като цяло, подобрени растежни или хранителни характеристики, намалено използване на продукти за растителна защита и по-бързо растящи култури.** Някои заинтересовани страни обаче считат, че тези ползи са **хипотетични и са постижими чрез средства, различни от биотехнологиите.** По-специално, секторът на пазара за биологични продукти и продукти без ГМО докладва, че те могат да бъдат изправени пред **заплахи от съвместното съществуване с нови геномни техники и следователно всяко разглеждане на продукти от NGT извън обхвата на настоящата регулаторна рамка за ГМО би причинило сериозен удар и би навредило за доверието на потребителите в техния сектор.**

NGT представляват разнообразна група от техники, всяка от които може да се използва по различни начини за постигане на различни резултати и продукти. Следователно **съображенията за безопасност зависят от техниката, начина на употреба и характеристиките на получения продукт** и не могат да бъдат генерализирани за всички техники като цяло. Някои **NGT** и техните приложения са широко разгледани в експертните становища на Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) относно безопасността и оценката на риска; като има по-малко информация за други **NGT** и микроорганизми, модифицирани чрез тези техники или приложения върху животни.

За някои NGT ЕОБХ не е идентифицирал нови опасности в сравнение както с конвенционалните, така и с установените геномни техники (**EGT**). ЕОБХ също така отбелязва, че случайните промени в генома настъпват независимо от методологията за размножаване. Въмъквания, заличавания или пренареждания на генетичен материал възникват при конвенционалното размножаване, редактиране на генома, цисгенеза, интрагенеза и трансгенеза. Освен това **ЕОБХ** е стигнала до заключението, че **неприцелните мутации, които са потенциално предизвикани от сайт насочени нуклеазни техники (SDN), са от същия вид и са по-малко от тези мутации при конвенционалното размножаване.** Поради това в някои случаи **целевата мутагенеза и цисгенезата носят същото ниво на риск като конвенционалните техники за размножаване.**

Експертните становища на равнище ЕС и на национално равнище отбелязват необходимостта от гъвкавост и пропорционалност при оценката на риска, въпреки че не всички заинтересовани страни споделят това мнение. Друг важен аспект е **необходимостта от разработване на процедури за оценка на риска, които са специфични за NGT.**

ДЧ са изразили различни, понякога противоположни мнения по отношение на нивото на безопасност на **NGT** и техните продукти, както и относно необходимостта и изискванията за оценка на риска. **Оценката за всеки отделен случай на употреба на NGT обаче е широко призната като подходящ подход.** Настоящата регулаторна система включва предизвикателства при правоприлагането в ЕС, свързани по-специално с откриването на продукти, резултат от **NGT**, които не съдържат чужд генетичен материал.

Въпреки че съществуващите методи за откриване на генетични модификации могат да открият дори малки изменения в генома, това не потвърждава непременно наличието на редактиран продукт; същото изменение би могло да бъде получено чрез конвенционално развъждане и размножаване, което не е предмет на законодателството за ГМО. Това е проблем за правоприлагащите органи и операторите. Освен това за заявителите, които искат разрешение, би било **трудно и дори невъзможно** в някои случаи да **изпълнят законовото изискване за представяне на надежден метод за откриване.** Допълнителните системи за проследяване изглежда не предлагат решение на това предизвикателство и крият редица ограничения.

С оглед на различния регулаторен надзор върху **NGT** в други държави горепосочените трудности биха могли да доведат до търговски ограничения и смущения и да поставят операторите от ЕС в неблагоприятно конкурентно положение, с

допълнителни отрицателни последици. Това би могло да доведе и до създаването на **технически пречки пред търговията**, което може да доведе до спорове между ЕС и неговите търговски партньори. **Регулаторните пречки биха засегнали по-специално малките и средните предприятия** и малките по мащаб оператори, които искат да получат достъп до пазара посредством продукти, получени чрез нови геномни техники.

Използването на NGT поражда и **етични опасения**, но също така и липсата на възможности в резултат на неизползването им. Въз основа на констатациите от много проучвания повечето от изразените етични опасения се отнасят по-скоро до начина, по който се използват тези техники, отколкото до самите техники.

В държавите членки **въпросите, свързани с NGT**, са дискутирани открито на **кръгли маси и организирани научни форуми или от различни институции**, което спомага за **повишаване на обществената осведоменост и разбиране**. Общественото възприятие за новите биотехнологии е от ключово значение за тяхното навлизане на пазара. Разбирането и осведомеността на **потребителите** им позволяват да направят **информиран избор**, така че предоставянето на информация за потребителите (напр. чрез **етикетиране**) е от **ключово значение**. Заинтересованите страни обаче имат противоположни мнения както относно необходимостта от продължаване на етикетирането на продуктите, получени чрез *NGT*, като ГМО, така и относно ефективността на това етикетирание при информирането на потребителите.

Трябва да се отбележи, че някои от новите техники създават нови предизвикателства за регулаторната система. Оценките на риска и експертните становища на компетентните институции и операторите също така са стигнали до заключението, че тъй като е малко вероятно темпът на иновации в глобалния биотехнологичен сектор да се забави, е слабо вероятно да се гарантира, че законодателството продължава да е актуално. Следователно основният въпрос е дали законодателството е все още подходящо за целта или се нуждае от актуализиране в светлината на научния и технологичния напредък. Докладваните мнения обаче са противоречиви по въпроса. Следва да се разгледат възможните инструменти на политиката, които да направят законодателството по-устойчиво, съобразено с бъдещето на технологиите и еднакво прилагано. Всяко по-нататъшно действие на политиката следва да бъде насочено към извличане на ползи от иновациите, като същевременно се обръща внимание на опасенията. **Една изцяло основана на безопасността оценка на риска може да не е достатъчна за насърчаване на устойчивостта и да допринесе за постигането на целите на Европейския зелен пакт, и по-специално стратегиите „от фермата до трапезата“ и за биологичното разнообразие**; ползите, допринасящи за устойчивостта, също ще трябва да бъдат оценени, така че може да е необходим подходящ механизъм, който да съпътства оценката на риска.

NGT се определят като „техники, които могат да променят генетичния материал на организъм, съобразно Директива 2001/18/ЕО на ЕС“. В настоящият обзор са разгледани приложенията на *NGT* в секторите на хранително-вкусовата промишленост, промишлеността и медицината, които са вече на пазара, са на последен етап от разработване преди пускането на пазара или са в етап на научноизследователска и развойна дейност, но показват пазарен потенциал. Включени са използването на *NGT* при всякакъв вид растения, гъби, животни или микроорганизми или в човешки клетки.

Данните за приложенията на *NGT* са събрани от множество източници, включително информация, достъпна онлайн, консултации с експерти и *ad hoc* проучвания. Идентифицираните приложения за *NGT* са класифицирани, като се използва наличната информация, като се намират на следните етапи на разработване.

- **Търговски етап:** Приложенията за *NGT* са вече на пазара като продукт в поне една държава в световен мащаб.
- **Етап преди пускане на пазара:** Приложения за *NGT*, готови за пускане на пазара в поне една държава в световен мащаб, но все още не са на пазара (комерсиализацията зависи главно от решението на предприемача и се оценява 5-годишен период).
- **Напреднали R & D (research and development) етапи:** Приложения на *NGT* на късен етап от разработването (полеви изпитвания в случай на растения, клинични изпитвания *in/ex vivo* в случай на медицински приложения) и е вероятно да достигнат пазара в средносрочен план (т.е. до 2030 г.).
- **Ранен етап R & D:** Приложения на *NGT* на етап на доказване на концепцията (т.е. тестване на генни целеви локуси за подобряване на търговския интерес).

NGT, особено тези, които се основават на групови взаимосвързани кратки палиндромни повторения (*CRISPR*), се използват активно и във все по-голяма степен във всички анализирани сектори. Понастоящем малко на брой приложения за *NGT* се предлагат на пазара в световен мащаб: един растителен продукт, един микроорганизъм за освобождаване в околната среда и няколко микроорганизми, използвани за контролирано производство на молекули с търговско предназначение. Съществуват обаче около 30 идентифицирани приложения/продукта (в растениевъдството, животновъдството и при микроорганизмите) в етап преди пускане на пазара, които биха могли да достигнат до пазара в краткосрочен план (в рамките на 5 години). Освен това лекарственият сектор активно използва *NGT* за справяне с няколко заболявания при хората и в много случаи тези разработки вече са достигнали до пациенти във фаза I и фаза I/II от клиничните изпитвания.

Проучването, поискано от Генерална дирекция „Здравеопазване и безопасност на храните“ на Европейската комисия към Съвместния изследователски център, е част от по-широко проучване, изготвено от Европейската комисия по тази тема по искане на Европейския съвет (https://ec.europa.eu/food/plant/gmo/modern_biotech/new-genomic-techniques_en).

NGT включват следните четири групи техники, както е обяснено от Broothaerts et al. (2021):

(1) техники, които създават двойно скъсване на веригите (*DSB*) в ДНК, включително сайт насочени нуклеазни ензими (*SDN*), базирани на групирани взаимосвързани къси палиндромни повторения (*CRISPR*), транскрипционен активатор-подобни нуклеази (*TALEN*), нуклеази тип цинкови пръсти (*ZFN*) и насочени ендонуклеази, които техники могат да доведат до мутагенеза, а някои от тях също и до цисгенеза, интрагенеза или трансгенеза;

(2) техники, които включват прекъсване на ДНК единична верига (*ssDNA*) или никакво прекъсване в генома, като например мутагенеза, насочена към олигонуклеотид (*ODM*), редактиране на база и първо редактиране;

(3) епигенетични техники като РНК-насочена ДНК метилация (*RdDM*) и интерференция *CRISPRi*; и

4) техники, които действат пряко върху РНК (**РНК редактиране**).

Техниките, които вече се използват преди 2001г., като например техниките с посредничеството на *Agrobacterium* или други генетични инструменти, не се считат за *NGT*.

Данните от проучванията за приложението на *NGT* са достъпни на следния линк: [https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW GENOMIC TECHNIQUES](https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW_GENOMIC_TECHNIQUES).

Обща картина на използваните понастоящем *NGT*

Според събраните данни понастоящем **най-използваните *NGT* от Група 1** (почти 91% от приложенията на *NGT*). В рамките на група 1, **базираните на *CRISPR* техники** ясно доминират пред другите. Според експерти *CRISPR* технологията е по-евтина, по-бърза и по-ефективна от другите техники. В повечето приложения *CRISPR/Cas* (и други *SDN*) системи се използват за получаване на малки мутации/въвеждане чрез нехомогенно свързване (*SDN1*), докато използването им с ДНК шаблон (*SDN2* и *SDN3*) е много по-слабо приложено до момента.

***NGT* от група 2 (*ODM* и други)** са около 7% от приложенията. Идентифицирани са не повече от 10 заявления на ниво R & D, при които се използват ***NGT* в група 3 (епигенетика)** или **група 4 (редактиране на РНК)**.

Що се отнася до **страните, в които са разработени приложения за *NGT*, най-активни са Съединените щати и Китай. В рамките на Европейския съюз Германия** е държавата на произход на **най-големия брой проучвания за технологиите *NGT***.

Що се отнася до разпространението на тези *NGT* частни и публични/академични разработки на приложения, **приложенията на *NGT* от частни дружества са по-многобройни**, докато **публичните/академичните организации са по-често на етапите на научноизследователска и развойна дейност**.

Растения

В базата данни на ЕК има **427 регистрирани приложения на *NGT* при растения** от много видове. Установено е, че **само една технология е пусната на пазара в световен мащаб и това е сорт соя с високо съдържание на олеинова киселина**, модифицирана чрез TALEN (група 1 *NGT*).

Класифицирани са **16 растителни приложения на *NGT* в етап преди пускане на готов продукт на пазара**, включително някои комбинации от растителни култури, които вече са модифицирани с утвърдени геномни техники, като **царевица, соя, ориз и картофи с характеристики като устойчивост на хербициди, гъбична резистентност, модифициран състав на масла или нишесте и свойства за липса на покафеняване**. Досега не са съобщавани други приложения на *NGT* върху култури като домати, обогатени с хранителна добавка гама-аминомаслена киселина (GABA), устойчиви на хербициди грах и лен, и полска попова лъжичка */Thlaspi arvense L./* и див лен/ камелина (*Camelina sativa*) с модифицирано съдържание на масла.

Броят на **NGT приложенията в напреднал етап (117 приложения)** и **ранния етап на NGT (292 приложения)** показват потенциала на приложенията на **NGT** в средносрочен план (до 2030г.) и разнообразието от приложения по отношение на характеристиките и растенията. **Признаците на устойчивост на болести** са насочени към много видове патогени и вредители. **Абиотичната устойчивост на стрес** е едно от многобройните приложения на **NGT**, широко представена в събраните данни и включва поносимост към суша, соленост и топлина. Модифицираният състав надхвърля съдържанието на скорбяла и масла и се появяват много приложения в култури с добри хранителни свойства (влакна или съдържание на витамини), както и в намаляването на потенциално вредните свойства (токсини, алергени, акриламид и т.н.) или глутен. Освен това част от приложенията на **NGT** са свързани с **получаването на по-висок и/или по-стабилен добив** (по отношение на растениевъдството и/или размера на плодовете или зърната).

Гъби

За гъбите е намерено само едно приложение на **NGT**: **некафява гъба с бяла гугла (*Agaricus bisporus*)**, получена с **CRISPR/Cas9 NGT**, за което се счита, че е в етап преди пускане на пазара.

Животни

Събраните данни показват, че **NGT при животните се използва главно за хранителни цели, по-специално при селскостопански животни като говеда, свине и пилета, както и при различни риби (сьомга, тилапия, риба тон и червена каракуда).**

Насекомите (особено комарите) и някои инвазивни видове са обект на приложения за генно инженерство на базата на NGT.

Все още не са пуснати на пазара животни, модифицирани посредством **NGT**, но има **четири проучвания върху животни, които са в етап преди пускане на тези животни на пазара (модифицирана бързо растяща тилапия, свине, устойчиви на репродуктивни и респираторни синдроми, говеда без рога и топлоустойчиви говеда). Напредналите и ранните етапи на R & D в животновъдството според базата данни на ЕК са общо 59 NGT приложения с преобладаващи характеристики, свързани с храната, последвани от приложения за генно инженерство.**

Едно **особено приложение на NGT при животните** е в областта на научните и експерименталните изследвания (напреднали и ранни изследвания) **в областта на заболяванията при хората, което включва използването на животни като модели за протичане на конкретни заболявания и за търсене на подходяща генна терапия или използване на животните за производство на органи, които могат да бъдат трансплантирани на хора.** Досега **мишките са моделни животни, при които NGT се прилагат най-често в проучвания за генна терапия при хора (по-специално в проучвания на рака и генетичните заболявания).** **Свинете** ще бъдат особено важни видове животни за бъдещото израстване на органи, които няма да причинят отхвърляне на транспланта при хората. **NGT-модифицирани плъхове и маймуни също ще се използват за**

моделиране на заболявания при хората, но това приложение на технологиите все още е на ранен етап R & D.

Микроорганизми

NGT вече се прилагат с търговска цел в микроорганизми за контролирано биопроизводство на биомолекули, при което **NGT** модифицираният микроорганизъм се използва като „биофабрика“, а не като краен продукт на пазара. В този случай разработчиците на технологии непрекъснато използват генетични техники (включително както утвърдени, така и нови геномни техники), за да подобрят конкретен щам, обикновено с дълга история на ефективност като „биофабрика“ и безопасна употреба, докато постигнат желаната цел.

В този контекст на подобрение на щамовете **най-често използваните NGT са от група 1** (по-специално тези, които се основават на *CRISPR*) и се използват за **отстраняване на неблагоприятни гени, кодиране, например на липса на токсини, вътреантибиотична резистентност или странични метаболитни продукти**. Според експертите, с които са проведени консултации, **NGT** имат голям потенциал във връзка с бъдещото подобряване на щамовете микроорганизми и в някои случаи имат потенциал да се превърнат в стандартни инструменти. Трудно е обаче да се оцени настоящият дял на щамовете микроорганизми, които са били подобрени с **NGT** и които се използват от биоиндустрията в световен мащаб.

Друг пазарен сектор в който **NGT** технологиите са застъпени е комерсиализацията на **NGT** микроорганизми като крайни продукти за освобождаване в околната среда. Тук има едно търговско приложение на **NGT** при почвени бактерии за наторяване на земеделски земи или употреба като пробиотици.

Здраве на човека

NGT са широко използвани като медицински/терапевтични приложения, насочени към заболявания при човека, включително приложения в човешки клетки *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*.

Някои приложения на **NGT** за човешкото здраве са след предклинични фази на изпитване и са докладвани **в 63 одобрени клинични изпитвания**, които са във фаза I или фаза II. Данните от литературата също разкриват значителна активност в ранния етап на разработка и приложение на **NGT**, фокусирани върху подобни цели и условия.

Ракът е основната цел на терапевтичните приложения на NGT, с 48 приложения, плюс 8 приложения, свързани с видове рак, причинени от вирусни инфекции. Втора по важност цел с **най-голям брой приложения са вирусните заболявания (23 приложения)**, а много приложения са насочени към наследствени заболявания, включително хематологични заболявания (16 приложения), някои невродегенеративни заболявания (2 приложения за терапия на болестта на Хънтингтън), очни заболявания (5) и други наследствени заболявания (8). По отношение на видовете човешки клетки, към които са насочени **NGT**, **най-голям брой приложения са насочени към Т-клетки, стволови клетки и ракови клетки**.

Освен това благодарение на гъвкавостта на **CRISPR**, както по отношение на спецификата на последователността, така и по отношение на различните употреби, той вече се прилага за търсене на решения за бързо откриване на коронавирусна инфекция от 2019г. насам, както и при някои терапевтични възможности срещу болестта **COVID-19**.

Методология

Събирането на данни за приложенията на **NGT** в различните организми и сектори е извършено чрез:

- създаване на база данни с приложения за **NGT** въз основа на наличната в мрежата информация (https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW_GENOMIC_TECHNIQUES/index.html)
- консултации с експерти в областта на **NGT** чрез видеоконференции и писмена комуникация;
- проучване сред публични и частни разработчици на технологии;
- интегриране и валидиране на данните от различни източници в базата данни;
- определяне на етапа на разработване (пазар, близо до пускане на продукт на пазара или в етап на научноизследователска и развойна дейност (R & D)) на идентифицираните приложения.

База данни с приложения на новите геномни техники

Базата данни на приложенията на **NGT** е създадена във файл в Excel със следните подменюта, в които е добавена посочената информация за всяко приложение.

- **Application ID.** An identification code assigned for the purpose of the study.
- **Source of information.** Indication of the dataset, expert or other source from which the information originated.
- **Technique.** The technique used, in general terms: a CRISPR platform, TALEN, ZFN, etc.
- **Technique details.** More details on the specific NGT employed, e.g. 'CRISPR/Cas9'.
- **Technique group (1, 2, 3, 4).** Following the classification into four groups established in Broothaerts et al. (2021).
- **SDN type (1, 2, 3).** The type of SDN technique used, where applicable (²).
- **Organism group.** Plant, mushroom, animal, human, microorganism.
- **Species group.** Within the same organism group, species with similar characteristics were aggregated into categories (e.g. cereals, fruits, aquatic animals, insects, etc.).
- **Species.** The specific organism in which the technique is used (e.g. potato, cattle, bacteria, etc.).
- **Commercial name.** Where available.
- **Country.** Country of the developer (or of the clinical trials in the case of human health applications).
- **Company/institution.** Name of the developer.
- **Trait / disease description.** Description of the specific trait or disease for which the NGT is employed.
- **Trait / disease category.** Category of trait or disease for which the NGTs is employed, as described in each specific section.
- **Designation / target gene.** If available, name of the gene targeted by the NGT.
- **Development stage.** Indication of the proximity to market of the product/application, as explained in Section 2.5.

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

- **Reference.** Specific link or reference to the web page or article in which the information was reported.
- **Application method.** For human health applications, if the method is *in vitro*, *in vivo* or *ex vivo*.

Източниците на информация, с които се прави справка за изграждането на базата данни за продуктите, създадени чрез *NGT*, са:

- *Genetic Literacy Project* (<https://crispr-gene-editing-regs-tracker.geneticliteracyproject.org/>);
- Julius Kühn Institute (see Menz et al., 2020)
- *Animal and Plant Health Inspection Service of the US Department of Agriculture (USDA)* ([https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated article letters of inquiry/regulated article letters of inquiry](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/biotechnology/am-i-regulated/regulated%20article%20letters%20of%20inquiry/regulated%20article%20letters%20of%20inquiry));
- *Innovature* (<https://innovature.com/>);
- *European Association for Bioindustries (EuropaBio)* (<http://test.europabio.org/cross-sector/publications/genome-editing-%E2%80%94-what-if-we-embraced-its-potential>);
- *CropLife* (<https://croplife.org/agricultural-innovation/>);
- *National Geographic* (<https://www.nationalgeographic.com/environment/future-of-food/food-technology-gene-editing/>);
- *Progressive Agrarwende* (<https://progressive-agrarwende.org/crispr-adventskalender-blog/>);
- *US National Science Foundation Plant Genome Editing Database* (<http://plantcrispr.org/cgi-bin/crispr/index.cgi>);
- *Labiotech.eu* (<https://www.labiotech.eu/crispr/crispr-applications-gene-editing/>);
- Научни статии, литература, разработки, публикации, блогове и прес съобщения по темата;

За приложения на *NGT* в човешкото здравеопазване сред базите данни, които са използвани за референция чрез задаване и търсене посредством ключова дума: „CRISPR,,, „TALEN“ и „ZFN“ са:

- *EU Clinical Trials Register* (<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search/>),
- *EU Summary Notification Information Format (SNIF) database* (<https://gmoinfo.jrc.ec.europa.eu/>),
- *US ClinicalTrials.gov database* (<https://clinicaltrials.gov/>),
- *World Health Organization International Clinical Trials Registry Platform* (<https://apps.who.int/trialsearch/>),
- *Chinese Clinical Trial Registry* (<http://www.chictr.org.cn/abouten.aspx>),
- *Japanese University Hospital Medical Information Network Clinical Trials Registry* (<http://www.umin.ac.jp/ctr/>), the *Japan Medical Association Center for Clinical Trials*

Clinical Trial Registry (<http://www.jmacct.med.or.jp/en/what-we-do/registry.html>) and the Japan Pharmaceutical Information Center Clinical Trials Information platform (<https://www.clinicaltrials.jp/cti-user/trial>),

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (<https://www.anzctr.org.au/TrialSearch.aspx>),
- South Korean Clinical Research Information Service (https://cris.nih.go.kr/cris/en/search/basic_search.jsp),
- Indian National Institute of Medical Statistics Clinical Trials Registry (<http://ctri.nic.in/Clinicaltrials/advancesearchmain.php>).

За интегрирането и валидирането на събраните данни са направени няколко експертни консултации по целия свят с експерти от правителствени организации, отговарящи за регулирането на биотехнологиите, частни разработчици на технологии, разработчици на публични технологии, бизнес операторите и всички заинтересовани страни. **Списъкът на експертите, с които са проведени консултации**, обхваща повечето ключови държави в разработването на приложения за *NGT*:

- *USDA*
- *Office of the Gene Technology Regulator (OGTR)*, Австралия
- Хранителни стандарти Австралия Нова Зеландия (*FSANZ*)
- Орган по опазване на околната среда, Нова Зеландия.

Частни компании за разработване на *NGT* продукти:

- *EuropaBio*
- *Euroseeds*
- Европейска асоциация на животновъдите (*EFFAB*)
- Европейска асоциация на фармацевтичните индустрии и асоциации (*EFPIA*)
- *Novozymes A/S*, Дания
- Американска асоциация за търговия със семена (*ASTA*), Съединени щати
- Международна федерация за сортовете семена (*ISF*), Съединени щати
- *Biogen Idec Ltd*, Обединено кралство
- *Corteva*, Съединени щати
- *Bayer*, Германия
- *BASF*, Германия
- *Inari*, Съединени щати
- *ChileBio*, Чили
- Алианс за регенеративна медицина (*ARM*)
- *Lallemand* и *Mascoma LLC* (дъщерно дружество на *Lallemand*)
- Научноизследователски институт по фармабиотика (*PRI*)

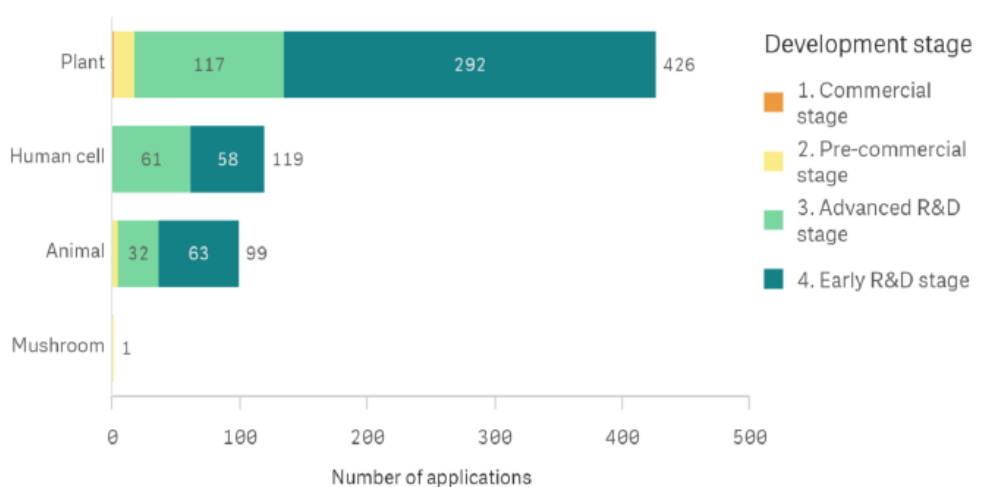
Публични/академични разработчици на *NGT*:

- Европейска организация за растителна наука (*EPSO*)
- Мрежа на европейско устойчиво селско стопанство чрез геномно редактиране (*EU-*

SAGE)

- Технологична платформа за развъждане и размножаване на селскостопански животни (*FABRE TP*)
- Институт „Юлий Кун“, Германия
- Национална научноизследователска организация в областта на селското стопанство и храните (*NARO*), Япония
- *Universidad Nacional de Quilmes*, Аржентина
- Консултативна група по международни изследвания в областта на селското стопанство (*CGIAR*).

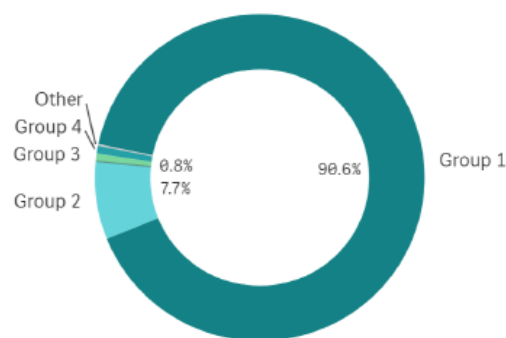
Преглед на прилагането на пазара на нови геномни техники



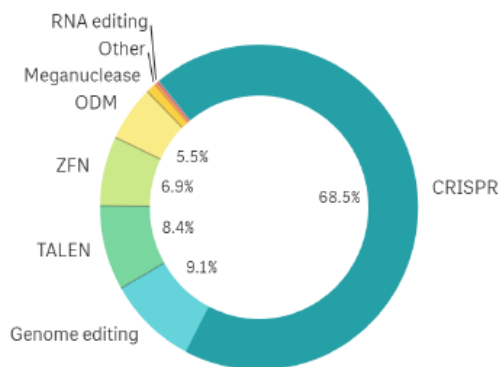
На **фигура 1** е представен общ преглед на 645 *NGT*-редактирани растения, гъби, животни и човешки клетки, по етап на развитие. Данните за микроорганизмите не са показани поради особеностите на употребата на *NGT* за микроорганизми и поради пропуски в данните.

Могат да бъдат направени следните общи наблюдения върху данните:

2a: Technique groups



2b: Techniques



NB: 'Genome editing' refers to products for which no further specifics were provided.

- Сред четирите групи техники, идентифицирани от *Broothaerts et al.* (2021г.),

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



понастоящем **техниките от група 1 са най-използваните** (почти 91% от приложенията на *NGT*) **в продукти с пазарен потенциал**, следвани от техниките от група 2, представляващи 7,7% (**фигура 2а**), главно при растенията. *NGT* от група 2 (*ODM* и други) съставляват около 7%. Идентифицирани са не повече от 10 заявления на ниво R & D, при които се използват *NGT* в група 3 (епигенетика) или група 4 (редактиране на РНК).

- **Техниките от група 1**, като например *SDN* техниките, се използват **предимно за получаване на малки мутации/въвеждане чрез нехомогенно свързване (*SDN1*)**, а използването им с ДНК шаблон (*SDN2* и *SDN3*) е много по-малко използвано до момента.
- Сред различните *NGT*, техниките, основани на *CRISPR*, ясно преобладават (**фигура 2б**). Според експерти *CRISPR* е по-евтина, по-бърза и по-ефективна от другите техники.
- Понастоящем **само едно растение, произведено с *NGT*, е пуснато на пазара** в световен мащаб и все още не се предлага на пазара нито едно животно, създадено **посредством *NGT***. Установени са обаче около 20 продукта от *NGT* (растения, животни и гъби), за които може да се счита, че са в предпазарен стадий.
- В случай на **микроорганизми, произведени чрез *NGT***, предназначени за пускане на пазара като краен продукт, е **идентифицирано едно търговско приложение**. Може обаче да се отбележи, че *NGT* се използват широко в производството на **щамове микроорганизми с търговска цел за контролирано производство на биомолекули от промишлен интерес** (храни, фуражи, енергия, биохимикали), особено за **подобряване на производствените щамове**. В тези случаи крайните търговски продукти не са *NGT* микроорганизми, а молекули, произведени от тях.
- По-надолу по веригата за пускане на пазара, са идентифицирани **над 600 произведени чрез *NGT* продукти**, които биха могли да бъдат **класифицирани в напреднал или ранен етап на научноизследователска и развойна дейност**, разкривайки значителния търговски потенциал на *NGT*.
- **Лекарственият сектор е много активен в използването на *CRISPR* и други *NGT*** за справяне с няколко заболявания при човека, като **някои приложения вече са достигнали до пациенти във фаза I и фаза I/II на клинични изпитвания**, но все още не са на търговско или предпазарно равнище.
- Причините за тази разлика между търговски/предпазарни и научноизследователски и развойни приложения биха могли да са свързани с факта, че *NGT* (особено *CRISPR*) все още са ново откритие или **будят несигурност**, свързана със законодателството, относно тези техники в няколко държави.

Растения

Събраните **данни за растения**, получени чрез използване на *NGT*, показват богат набор от **над 400 приложения** в няколко вида растения, включително полски култури, зеленчуци, плодове, както и растения, които обикновено не получават голямо внимание от страна на земеделските производители и изследователите поради по-малки обороти (т.нар. култури като касава, просо, нахут и др.). Това предполага високата степен на

пластичност/гъвкавост на *NGT* (особено тези, които се основават на *CRISPR*) в широк спектър от различни организми.

В **таблица 1** е представено **обобщение на групите растения и видовете, в които се използват *NGT***. Списъкът на характеристиките, получени чрез използване на *NGT* в растенията, също е много разнообразен. Обобщение на характеристиките, включени в базата данни, е представено в **таблица 2**, където признаците са групирани в категории.

Групи растения	Включени растения (неизчерпателни)
Зърнени култури	Царевица, пшеница, ориз, ечемик, сорго, просо
Фуражи и треви	Люцерна, райграс, стрелковидна трева, <i>Setaria viridis</i>
Плодове	Ябълка, банан, портокал, череша, грейпфрут, грозде, киви плодове, пъпеш, диня, костилкови плодове, авокадо
Бобови растения	Фасул, нахут, фъстъци, грах
Маслодайни и влакнодайни култури	Соя, рапица, памук, камелина, лен, пеникрес, слънчоглед, синап, ягоди
Декоративни растения	Хризантема, глухарче, орхидея, петуния, коледна звезда, мак, замиокулкас, <i>Nicotiana glauca</i>
Захарни култури	Захарно цвекло, захарна тръстика
Дървета	Тополи, иглолистни дървета
Клубени и кореноплодни зеленчуци	Картофи, сладки картофи, касава, цвекло
Зеленчукови култури	Домати, броколи, зеле, краставици, патладжани, марули, пипер, цикория
Растения (обединени)	Когато са идентифицирани само „растения“ или списък с различни растения
Други растения	Какао, кафе, тютюн, салвия

Таблица 1. Обобщение на приложенията, идентифицирани в базата данни за растителните продукти постигнати посредством *NGT*

Категория на характеристиката	Описание
Толеранс към биотичен стрес	Резистентност към биотични стресови фактори като нематоди, гъбички, бактерии, вируси и други вредители, патогени или паразити
Толеранс на абиотичен стрес	Устойчивост на абиотични стресови фактори като суша, топлина, сол, дъжд или ултравиолетово лъчение
Поносимост към хербициди	Поносимост към различни видове хербициди
Модифициран цвят/аромат	Модифициран цвят или вкус
Модифициран състав	Модифицирано съдържание на вещества като скорбяла, масла, протеини, витамини, влакна, токсични вещества, алергени и т.н., за подобряване на качеството на храните/фуражите или за по-добра промишлена употреба (включва плодовете без семки като качествена характеристика)

Добив и физиология на растения	Увеличаване на добива (или стабилност на добива), свързано с по-голям брой цветя/семена/плодове, размер/тегло на плодовете или фотосинтетична ефективност. Включва други промени във физиологията на растенията като височина и форма на растенията, форма на плодовете и модел на растеж
Характеристики на съхранение	Подобряване на характеристики като срок на годност и толерантност към условията на съхранение (напр. хладилно съхранение), включително непокафеняване и намалено почерняване
Други характеристики	Характеристики, които не са класифицирани в горните категории, включително производство на биомолекули от промишлен интерес, време за цъфтеж за агроцели и използване на азот
Инструменти за развъждане	Репродуктивни/цъфтящи характеристики, включително предотвратяване на стерилност, ранни цъфтежи и хаплоидни техники

Таблица 2. Категории признаци, идентифицирани в продуктите, произведени с NGT, в базата данни

От 426-те регистрирани употреби на NGT в производството, докладвани в базата данни, до момента е идентифициран само **един търговски модифициран продукт: високо олеинова соя, модифицирана с TALEN от ситуираната в САЩ компания Calyxt.** TALEN е използван за инактивиране на два гена, участващи в синтеза на мастни киселини чрез целенасочена мутагенеза (Haun et al., 2014), което води до наличие на масла с подобрен хранителен профил поради намаленото съдържание на наситени мастни киселини. Според наличната информация соята, модифицирана чрез TALEN, се отглежда в Съединените щати, а полученото от него „масло“ се продава както в Съединените щати, така и в Канада.

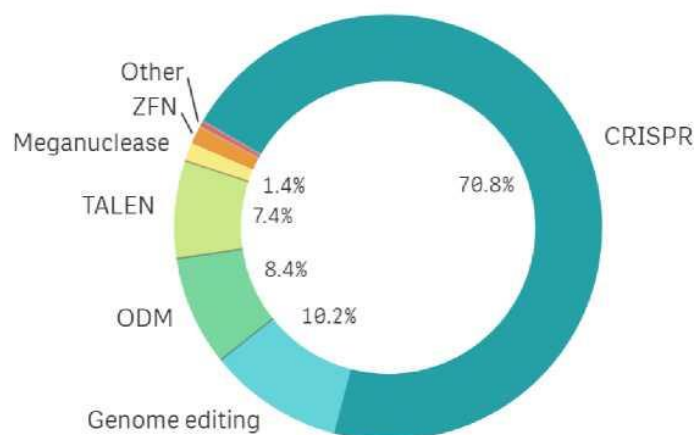
В базата данни 16 от растителните култури, произведени чрез NGT, са класифицирани като намиращи се **в етап преди пускане на пазара.** Някои комбинации култури-модификации, открити в тази група, са получени в миналото с установени геномни техники (напр. *Agrobacterium* за получаване на трансгенни или цисгенни растения): те се отнасят до култури като **царевича, соя, ориз и картофи** и характеристики като устойчивост на хербициди, устойчивост на гъбички, модифициран състав на маслата или нишестето и липса на покафеняване (по-дълъг срок на годност). Въпреки това се появяват някои нови комбинации, като при домати, обогатени с хранителна добавка гама-аминомаслена киселина (GABA), устойчиви на хербициди грах и лен, и пеникрес и камелина с модифицирано съдържание на масло.

В етапи R & D (117 усъвършенствани продукта и 292 продукта на ранен етап) се наблюдава много разнообразен спектър от приложения на NGT по отношение на характеристиките и растенията. Появяват се нови признаци, които не са получени преди това с помощта на установени геномни техники. Признаците на резистентност към болести са насочени към повече видове патогени и вредители. Абиотичната устойчивост на стрес е широко проучена, включително по отношение на устойчивостта на суша, соленост и топлина. Модифицираният състав надхвърля съдържанието на скорбяла и масло и се появяват много култури с по-добри хранителни свойства (съдържание на влакна или витамини) или намалено съдържание на потенциално вредни съединения

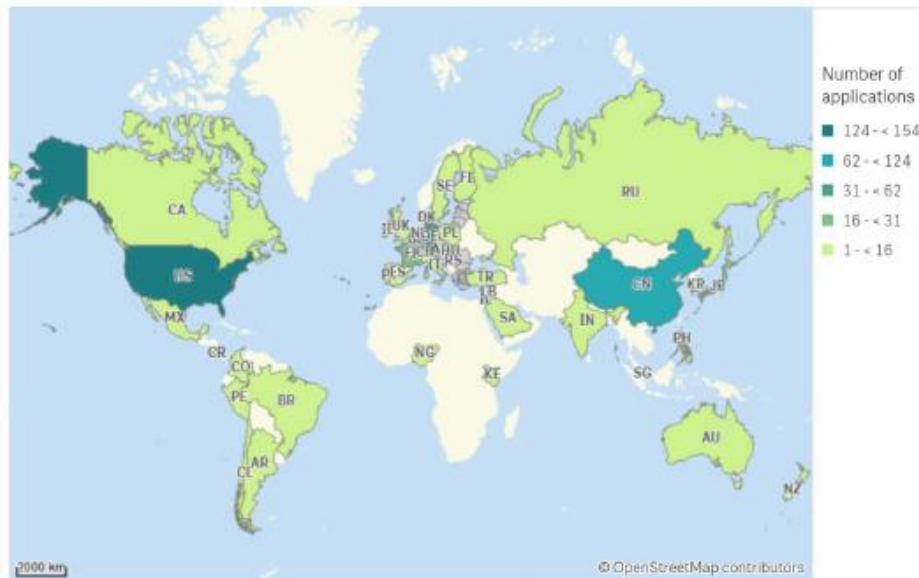
(токсини, алергени, акриламид и др.) или глютен. Освен това няколко проучвания са посветени на получаването на по-висок и/или по-стабилен добив (по отношение на растениевъдството и/или размера на плодовете или зърната).

Сред различните налични *NGT* тези, които се основават на *CRISPR*, са предпочитани в повечето приложения, както е показано на **фигура 3**. *CRISPR* и други *SDN* техники (въз основа на *TALEN*, *ZFN* или мегануклиази) в повечето случаи се използват за създаване на мутации (малки заличавания/въвеждания) в целевия сайт/локус.

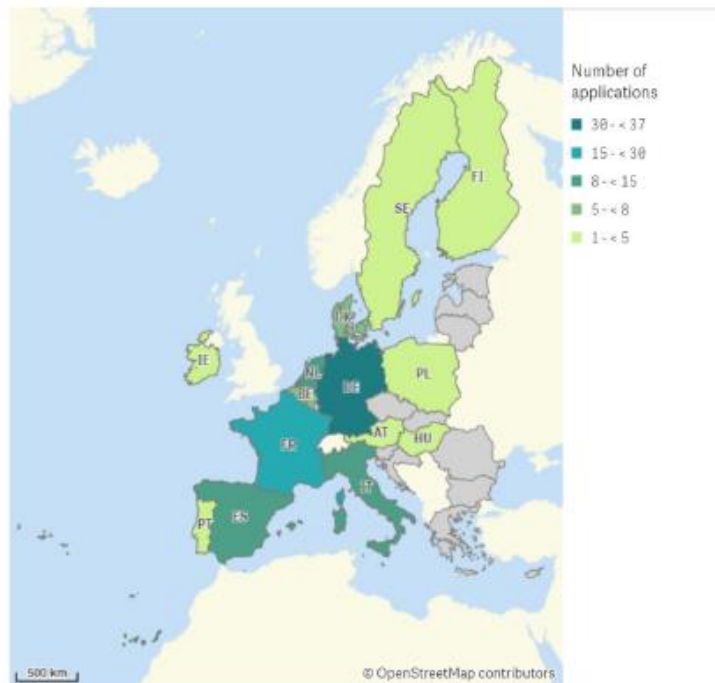
Фигура 3. Различни *NGT* в процентно съотношение в базата данни.



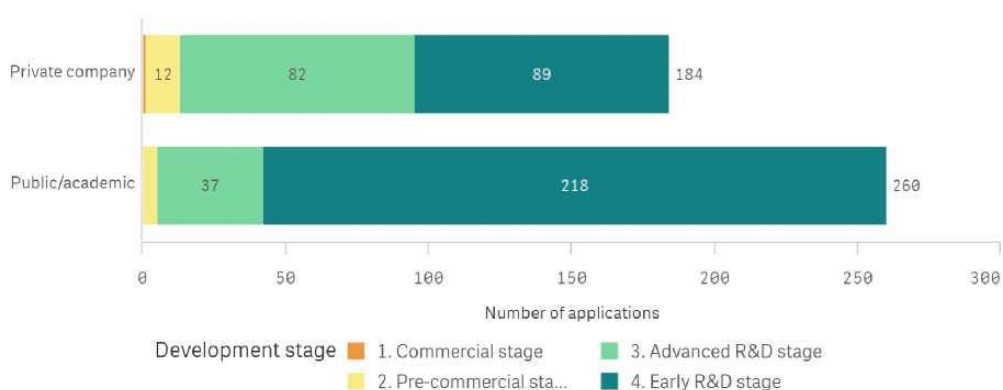
По отношение на държавата на произход на растенията, получени чрез *NGT*, **фигура 4** показва широкото използване на тези техники, като преобладават приложенията в САЩ и Китай. В държавите от Европейския съюз (**фигура 4б**) най-голям брой употреби на *NGT* идват от Германия, следвана от Франция.



4b

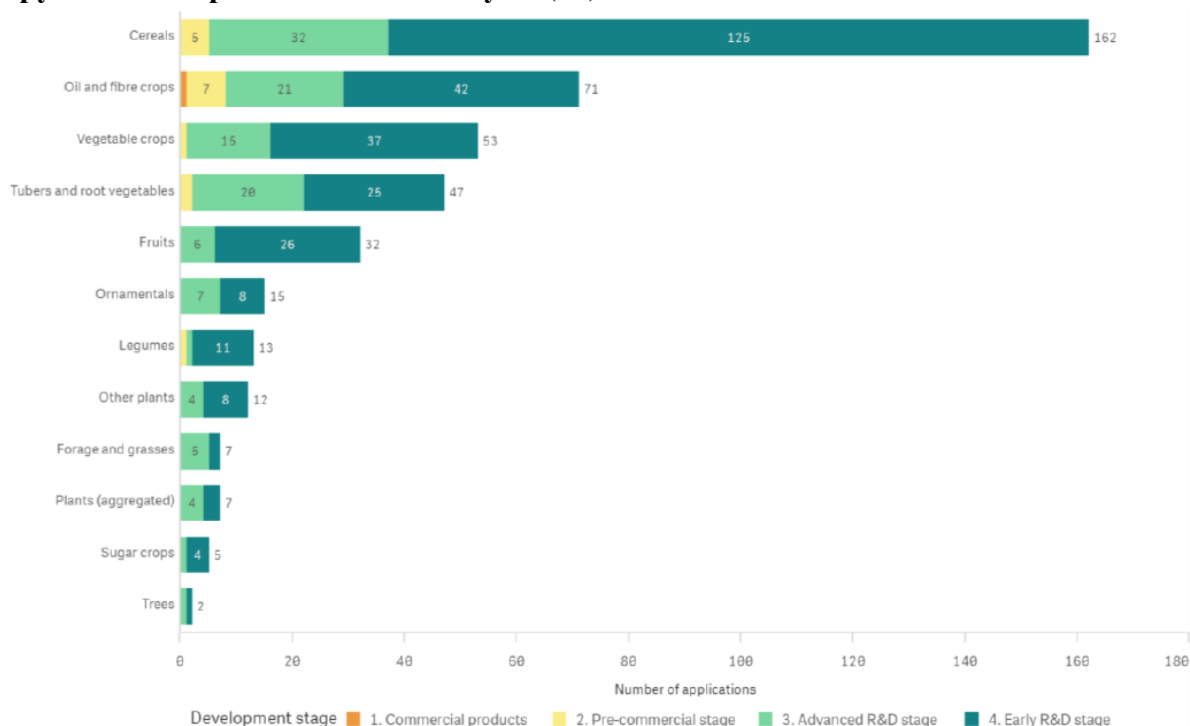


На фигура 5 е показано разпределението на разработчиците (независимо дали са частни дружества или публични/академични институции, като последните включват организации с нестопанска цел). **Частните дружества присъстват в по-голяма степен на етапите, близки до пускане на пазара, докато публичните/академичните организации доминират в ранните резултати от научноизследователската и развойната дейност.** Този резултат може да бъде свързан и с използваните източници на информация. Научната литература се генерира предимно от академичните среди, докато частните дружества като цяло не са склонни да разкриват ранна информация, тъй като желаят да защитят бизнеса и интелектуалната си собственост.



Фигура 5 Разпределение на разработките, свързани с NGT, по вид разработчик (частен или публичен/академичен) и етап на разработване

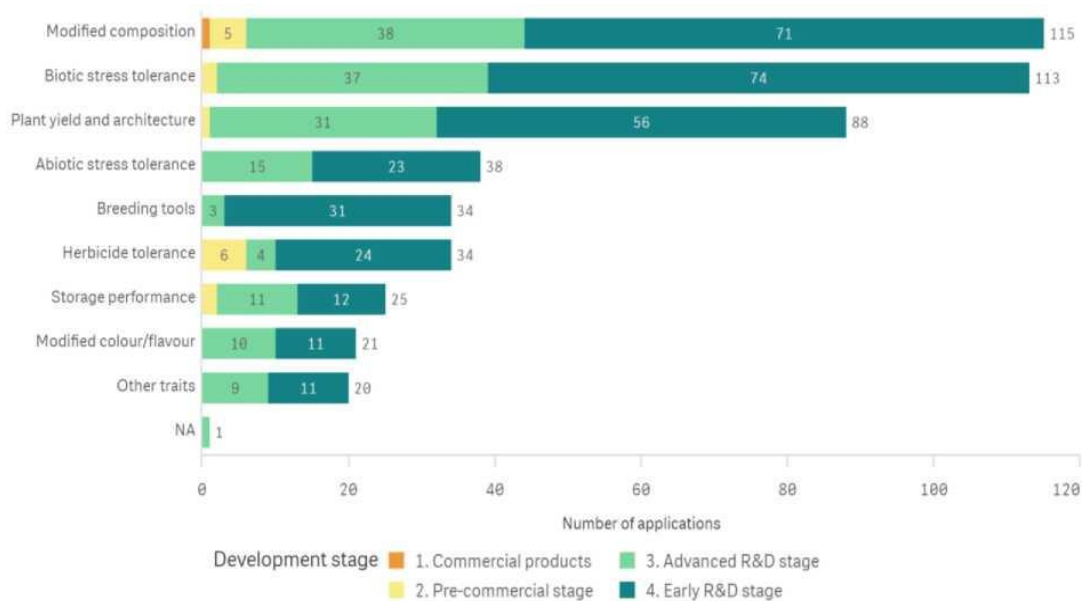
На **фигура 6** е показано разпределението на 426-те приложения в растениевъдството, произведени посредством NGT, включени в базата данни, на етап търговско развитие. NGT се използват **предимно в зърнени култури** (162 продукта), следвани от **маслодайни и влакнодайни култури** (71), **зеленчукови култури** (53) и **грудкови и кореноплодни зеленчуци** (47).



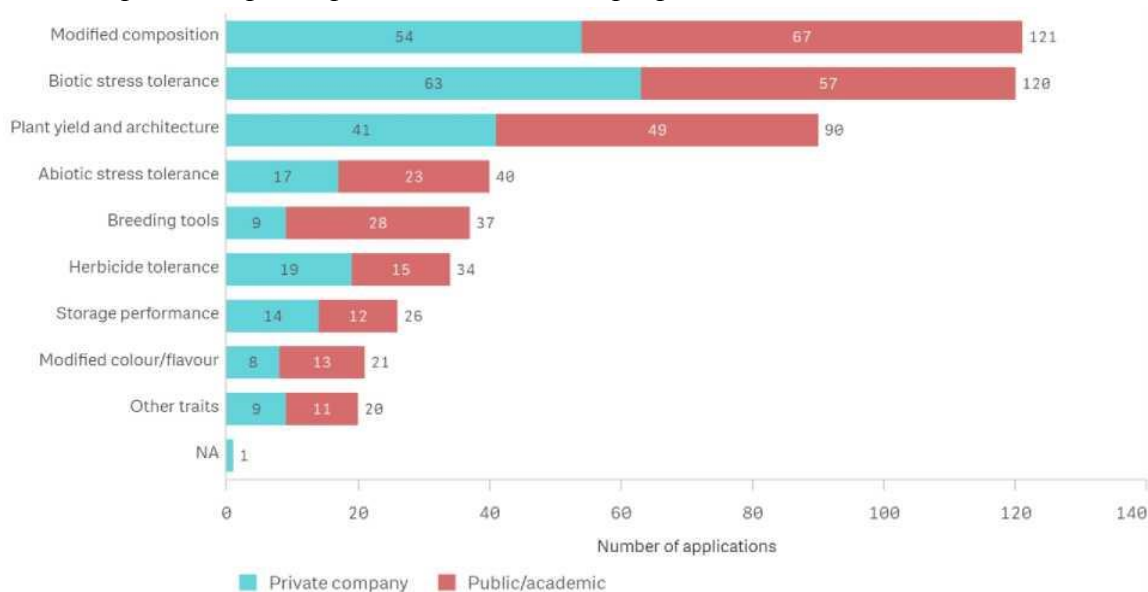
На **фигура 7** са показани приложенията и продуктите, произведени чрез NGT, по категория на характеристиките и етап на развитие (**фигура 7а**) и по категория и вид на разработчика (**фигура 7б**). Като цяло биотичната устойчивост на стрес, модифицираният състав и растителният добив и физиологията са основните цели при използването на NGT в растителните култури. Модифицираният състав и поносимостта към хербициди са най-подходящи в търговските и предтърговските етапи. Частните и публичните/академичните разработчици изглежда имат сходни цели по отношение на категориите характеристики.

Фигура 7. Вписвания в базата данни на продукти и разработки, получени чрез NGT, по категории характеристики и етап на развитие (7а) и по характеристики категория и тип на разработчика (7б).

7а. Категория на характеристиката и етап на развитие



7б. Категория на характеристиката и вид на разработчика



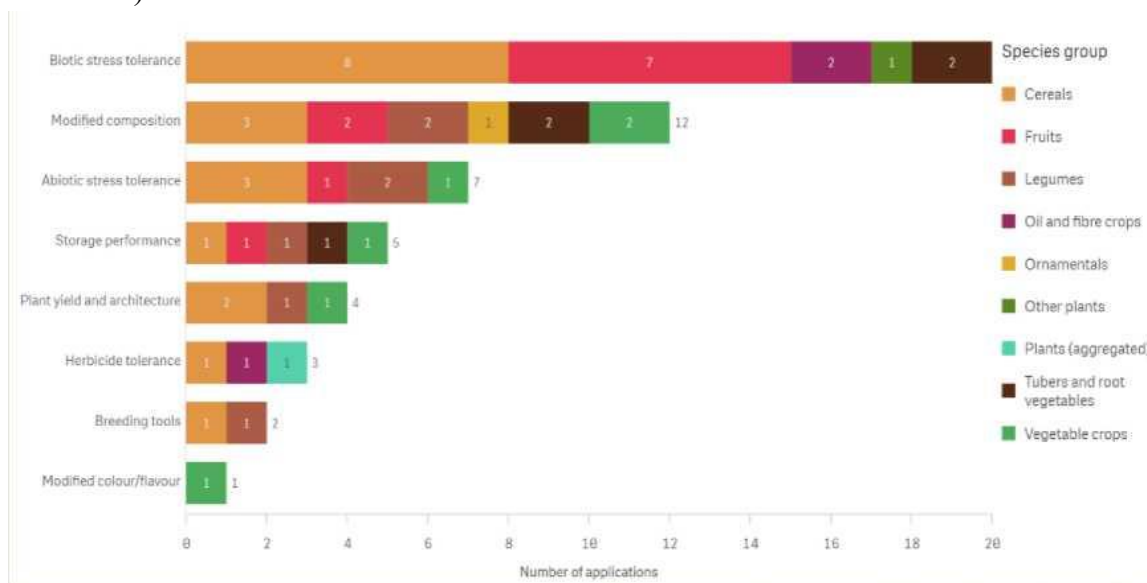
В допълнение към използването им за получаване на полезни характеристики в крайния сорт растение, *NGT* се използват широко и като инструменти за селекция на растенията. Според събраната информация, *NGT* се използват, наред с други цели:

- промяна на репродуктивните характеристики като стерилност, възстановяване на плодовитостта, самосъвместимост или апомиксис;
- за промяна на характеристиките на цъфтежа, като например ранен цъфтеж;
- увеличаване или потискане на генетичната рекомбинация;
- за хаплоидна и двойна хаплоидна индукция.

Растения, произведени чрез използване на нови геномни техники в развиващите се страни

Благодарение на гъвкавостта и достъпността на *NGT* (особено тези, които се основават на *CRISPR*) няколко развиващи се страни са активни в тази област. **Китай** се е утвърдила като една от най-напредналите държави с **86** продукта, резултат от *NGT*. В допълнение, към тези растителни продукти, произведени чрез *NGT*, са включени продукти, които са създадени в развиваща се държава или от консорциум, включващ организации от развиващи се страни. Тези заявления включват един предтърговски продукт в Бразилия и 49 продукта, които все още са на етапа на научноизследователската и развойната дейност; D (7 на напреднал етап и 42 на ранен етап); като се има предвид, че *CRISPR/Cas* е открит като инструмент за развъждане съвсем наскоро, това показва колко бързо е достигнала тази технология до приложение за селекция на растителни култури в развиващите се страни.

На **фигура 8** са показани характеристиките на горепосочените растителни продукти, насочени към развиващите се страни по отношение на характеристиките и категориите растения. Според събраните данни основната грижа в развиващите се страни е намирането на решения срещу биотичните стресови фактори, последвано от подобряване на хранителните свойства на храната (напр. съдържание на витамини) и увеличаване на устойчивостта на абиотичен стрес (особено по отношение на сушата и солеността).



От особен интерес е работата, извършена от *CGIAR*, съюз от **15 независими изследователски центъра** с нестопанска цел, провеждащи **иновативни изследвания, насочени към подпомагане на бедните страни в света**. Осем от тези центрове вече са включили *NGT*, най-вече *CRISPR/Cas9*, в своите изследователски проекти, както е показано в **таблица 3**.

Научно изследователски център	Седалище	Видове	Категория на характеристиката	Тип SDN (1, 2, 3)	Развитие етап
ПТА	Ибадан, Нигерия	Банан	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ПТА	Ибадан, Нигерия	Банан	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ПТА	Ибадан, Нигерия	Банан	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIAT	Кали, Колумбия	Фасул	Модифициран състав	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIAT	Кали, Колумбия	Какао	Модифициран състав	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIAT	Кали, Колумбия	Касава	Хаплоидни техники	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ICARD A	Бейрут, Ливан	Нахут	Толеранс на абиотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ICRISA T	<i>Patancheruvu</i> , Индия	Нахут	Модифициран състав; добив на растения и	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIMMYT	Ел Батан, Техосо, Мексико	Царевица	Толеранс към биотичен стрес	SDN1 SDN2	3. Напреднали R & D етап
CIMMYT	Ел Батан, Техосо, Мексико	Царевица	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	3. Напреднали R & D етап
ICRISA T	<i>Patancheruvu</i> , Индия	Просо	Характеристики на съхранение	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ICRISA T	<i>Patancheruvu</i> , Индия	Гълъб грах	Репродуктивна/цъфтяща характеристики	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIP	Лима, Перу	Картофи	Толеранс към биотичен стрес	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIAT	Кали, Колумбия	Ориз	Толеранс към биотичен стрес	SDN1 SDN2	3. Напреднали R & D етап

CIAT	Кали, Колумбия	Ориз	Добив на растения и архитектура	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
IRRI	Лос Банос, Филипини	Ориз	Добив на растения и архитектура	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
IRRI	Лос Банос, Филипини	Ориз	Модифициран състав	SDN1 SDN2 SDN3	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
IRRI	Лос Банос, Филипини	Ориз	Репродуктивна/ц фтяща характеристики	SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
IRRI	Лос Банос, Филипини	Ориз	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
ICRISA T	Patancheruv u, Индия	Сорго	Толеранс към биотичен стрес	SDN1 SDN2	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIMMY T	Ел Батан, Техосо, Мексико	Пшеница	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
CIMMY T	Ел Батан, Техосо, Мексико	Пшеница	Толеранс към биотичен стрес	SDN1	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)

Таблица 3: Произведени от NGT растителни продукти, разработени от CGIAR
NB: CIAT, Международен център за тропическо земеделие; CIMMYT, Международен център за подобряване на царевичата и пшеницата; CIP, Международен център за картофите; ICARDA, Международен център за изследване на селското стопанство в сухите райони; ICRISAT, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics; ИТА, Международен институт по тропическо земеделие; IRRI, Международен институт за изследване на ориза.

Гъби

За гъбите е идентифицирано само едно приложение на NGT: в *Agaricus bisporus*, разработена от Университета в Пенсилвания, който използва *CRISPR/Cas9* за изтриване на ген кодиращ полифенол оксидаза и по този начин да се премахне покафеняването като свойство. Според наличната информация тези гъби са били одобрени за пускане на пазара в Съединените щати през 2016г. и могат да бъдат продавани без допълнителен надзор (Waltz, 2016). Въпреки това не е получена информация за действителната комерсиализация на този продукт. Поради това се счита, че той е в предпазарен стадий.

Животни

Според събраната информация в животновъдния сектор има по-малко приложения на NGT, отколкото в растителния сектор. NGT се използват главно за медицински изследователски цели при моделни животни като мишки, маймуни,

свине и плъхове, както и **за хранителни цели**, по-специално при селскостопански животни като говеда, свине и пилета, както и **при различни риби** (сьомга, тилапия, риба тон и червена каракуда). **Насекомите** (особено комарите) и някои **инвазивни видове** са **обект на технологиите за генно инженерство** на базата на *NGT*. Обобщение на животинските видове, за които се прилагат *NGT*, които са включени в базата данни, е представено в **таблица 4**.

Животните, за които се прилагат *NGT*, са класифицирани в различни групи според получения признак/целта на техниката, както е показано в **таблица 5**. Тъй като животните, използвани като модели на болести, се използват изключително за научни изследвания и никога няма да бъдат пуснати на пазара, констатациите, свързани с тази категория, се анализират отделно.

Организъм	Видове
Водни животни	Сьомга, тилапия, риба тон, шаран, червена каракуда, фугу, корали
Домашни животни	Говеда, прасета, пилета, овце, кон, кучета
Гризачи и примати	Мишки, плъхове, маймуни
Насекоми	Комари, мухи, молци
Други животни	Гръстикова крастава жаба, дива котка

Таблица 4. Обобщение на животните, посочени в базата данни за продуктите от *NGT*

Таблица 5. Категории характеристики, използвани за животински продукти с *NGT* в базата данни

Категория на	Описание
Толеранс към биотичен стрес	Резистентност към биотични стресови фактори като бактерии, вируси и други патогени
Подобрен добив/качество на месото	Включително по-високо и по-бързо производство на месо, промяна в качеството на месото
Толеранс на абиотичен стрес	Устойчивост на абиотични стресови фактори като висока или ниска температура
Хипоалергенни свойства	Хипоалергенни свойства на храните, добити от животни
Репродуктивни характеристики	Включително промени в сексуалните характеристики като стерилност или съотношение между мъжко и женско потомство
Други характеристики	Характеристики, които не са класифицирани в горните категории, включително управление на стадата, намалени нива на токсини и промяна на поведенческите характеристики
Генно задвижване	Технология за генно инженерство за предаване на генетична модификация на потомството, обикновено за елиминиране на патогенни насекоми или за контрол на инвазивни видове
Приложения за терапия при хора	Животни, използвани като модели за изследване на генни терапии за заболявания при човека (особено рак и генетични заболявания) или използвани за производството на органи, които могат да се използват при трансплантация при хора

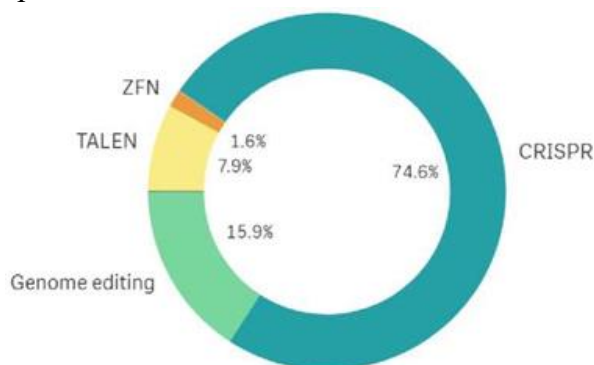
Все още не са пуснати на пазара животни резултат от *NGT*, докато в етапа преди пускане на пазара са включени четири животни, като всички те са разработени от частни

дружества: *Intrexon-AquaBounty* – бързо растяща тилапия, прасета, устойчиви на репродуктивен и респираторен синдром в Обединеното кралство, а в Съединените щати – *Acceligen-Recombinetics* рогат добитък (също докладван от Австралия и Бразилия) и устойчиви на топлина говеда (също докладвани от Аржентина, Австралия и Бразилия).

Усъвършенстваните техники за *NGT* включват общо **28 идентифицирани приложения**, включително **14 при домашни животни** (6 при говеда, 5 при прасета, 2 при пилета и 1 при овце), които, заедно с **четири рибни вида** (червена каракуда, съомга, риба тон и шаран), показват **преобладаваща употреба в храни**. Следват приложения за генно инженерство със **7 приложения при насекоми** (5 при комари, 1 при молци и 1 при мухи) и 1 при мишки.

Ранният етап на научноизследователска и развойна дейност (общо 31 приложения) отново показва преобладаване на приложенията, свързани с храните, при домашни животни и приложения за генно инженерство при насекоми, плъхове и диви котки. Появили са се някои нови черти, като например **модификация на мускулното развитие на кучетата и конете** с цел по-добра физическа активност (напр. по-голяма здравина или способност за движение).

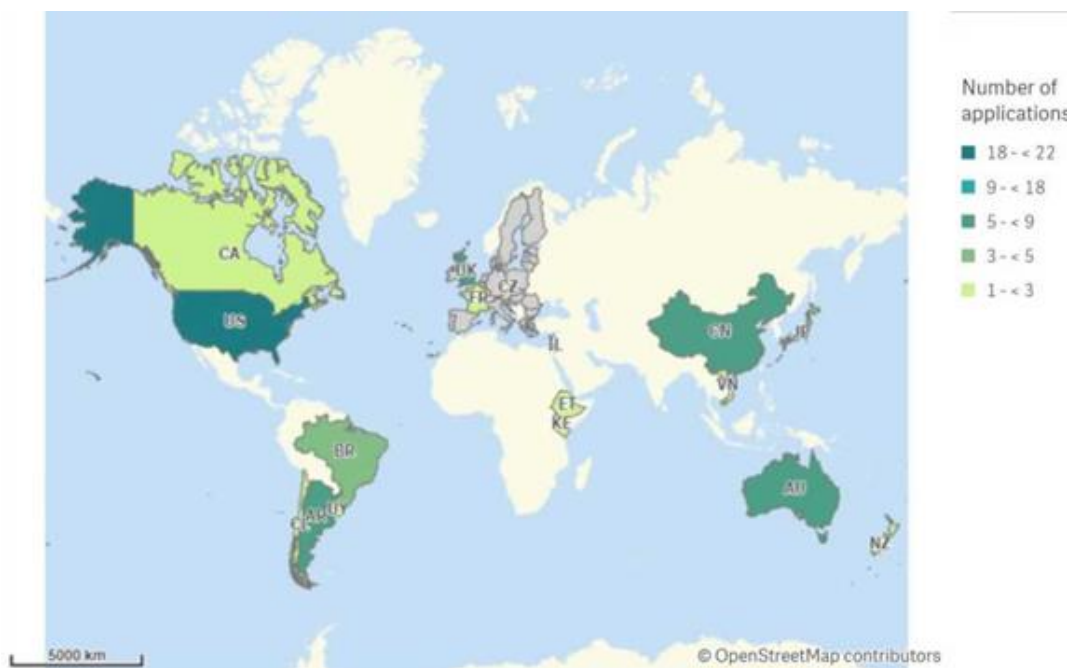
Сред различните налични *NGT*, **CRISPR** е предпочитаната платформа в повечето приложения, както е показано на **фигура 9**. *CRISPR* и други *SDN* техники (въз основа на *TALEN* или *ZFN*) в повечето случаи се използват за създаване на мутации (малки заличавания/въвеждания) в целевия сайт. *CRISPR* се използва и за генно редактиране особено при насекоми.



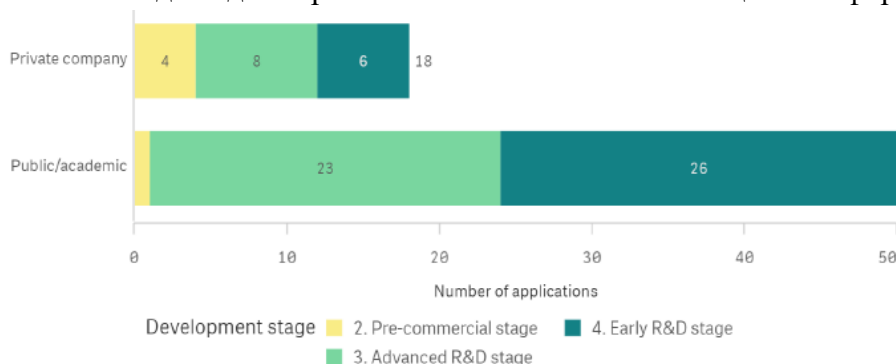
Фигура 9: *NGT*, използвани при животни, докладвани в базата данни.

По отношение на държавата на произход на тези приложения на *NGT* при животни (т.е. държавата, разработила тези приложения) на **фигура 10** е показано широкото използване на тези техники, като преобладават приложенията в САЩ.

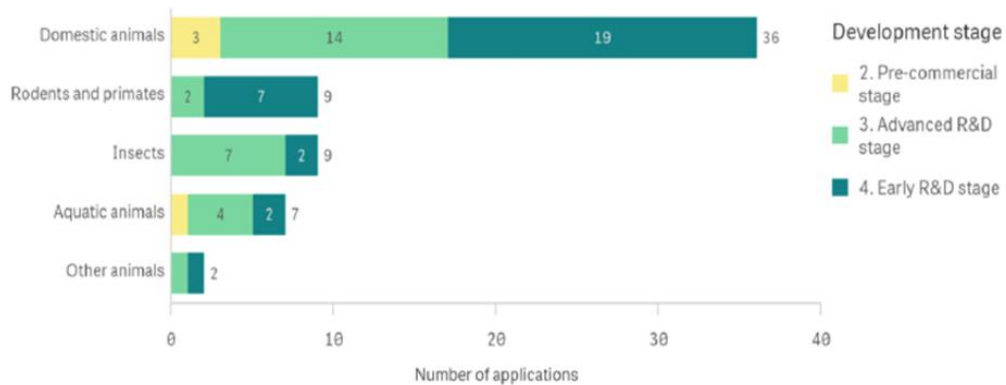
Фигура 10. Географско разпределение на разработените *NGT* приложения при животни по целия свят



На **фигура 11** е показано разпределението на разработчиците (независимо дали са частни дружества или публични/академични предприемачи). Частните дружества са разработили по-голям брой предтърговски приложения, докато в публичния/академичния сектор са разработени много напреднали и ранни приложения за научноизследователска и развойна дейност. Отново този резултат би могъл да бъде свързан и с използваните източници на информация.



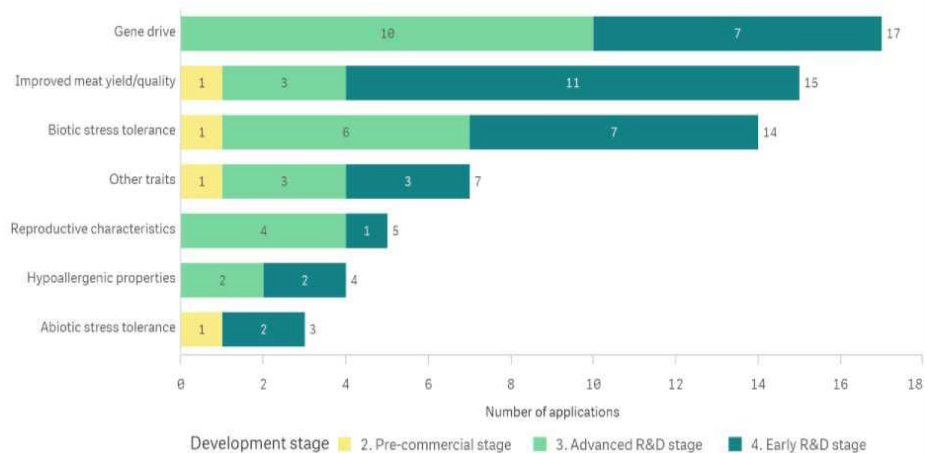
На **фигура 12** е показано разпределението на 63-те приложения на *NGT* при животни, идентифицирани в базата данни, по етап търговско развитие. *NGT* се използват предимно при домашни животни (36 докладвания).



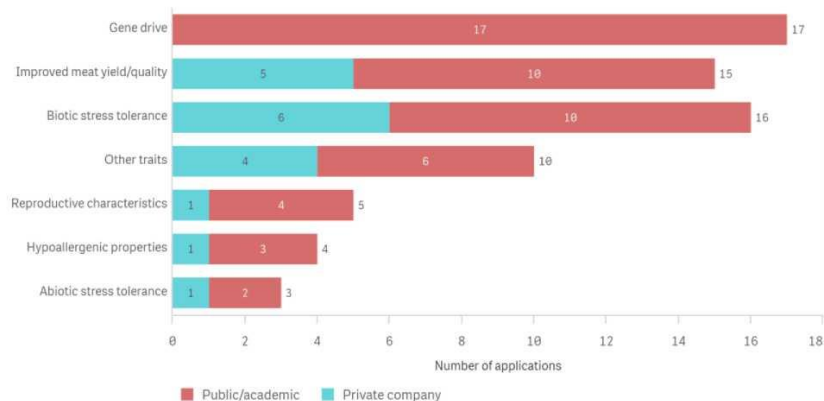
На **фигура 13** са показани приложенията на *NGT* при животни по категория характеристика и етап на развитие (фигура 13а) и категория и вид на разработчика (фигура 13б). Най-голям брой приложения са за целите на генното инженерство (17), подобряване на добива/качеството на месото (15) и биотична устойчивост на стрес (14), като последното се отнася до болести по животните, като например репродуктивен и респираторен синдром при свинете.

Фигура 13 Вписвания в базата данни на заявления за *NGT* при животни по категория характеристика и етап на развитие (13а) и от категория на характеристиката и вид на разработчика (13б).

13а. Категория на характеристиката и етап на развитие



13б. Категория на характеристиката и вид на разработчика



Повечето от генно редактираните животни се получават с помощта на CRISPR и най-вече с цел спиране на разпространението на болести, предизвикани от вектори (напр. малария и Денга), или от инвазивни видове (мишки, плъхове, шарани и диви котки), т.е. неместни видове, които причиняват нарушаване на екосистемите в определени географски райони.

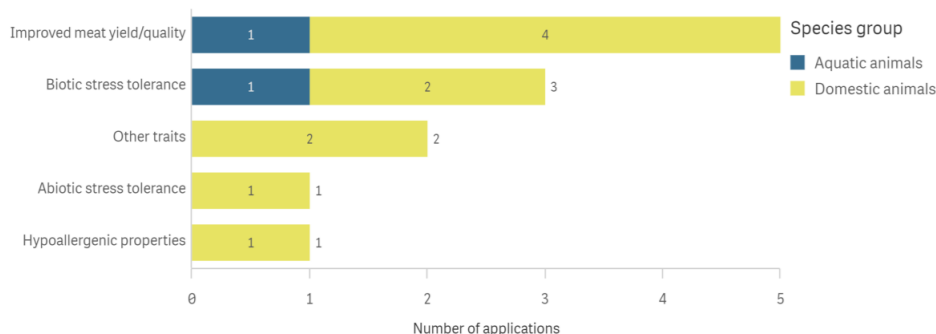
Идентифицираните **употреби на NGT** потвърждават, че е налице значителен **акцент върху разплодните животни** (особено продуктивните животни) с цел **подобряване на устойчивостта им на болести и репродуктивни проблеми** (напр. стерилност), както и **силен акцент върху добива и качеството на месото** чрез генна редакция на мускулната маса.

Нови геномни техники в животновъдството в развиващите се страни

Животновъдството с използване на *NGT* също е реалност в развиващите се страни, въпреки че има по-малко приложения за животни, отколкото приложения за растенията. При събирането на данни са намерени **12 NGT приложения за животни**, създадени **в развиващи се страни** (с изключение на Китай) **или от консорциум**, включващ развиващи се страни, главно **в Аржентина** (шест заявления) и **Бразилия** (пет заявления), включително между тези две държави, три заявления в предтърговски етап.

На **фигура 14** са показани характеристиките на горепосочените 12 приложения на *NGT* за животни, докладвани от развиващите се страни по отношение на характеристиките и категориите животни. Според събраните данни основният проблем в развиващите се страни е подобряването на добива/качеството на месото, последвано от повишена толерантност към биотичния стрес.

Фигура 14: Приложения на *NGT* при животни от развиващите се страни (с изключение на Китай), по категория на характеристиката и животните група.



За пълната информацията, получена от CGIAR за един животински продукт с *NGT*, е отчетена в **таблица 6**.

Таблица 6. Продукти от животински произход, резултат от *NGT*, разработени от CGIAR

Център за научни изследвания	Техника	Тип SDN (1, 2, 3)	Видове	Категория на характеристиката	Етап на развитие

ILRI	Редактиране на гени	SDN3	Едър рогат добитък	Толеранс към биотичен стрес	4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)
------	---------------------	------	--------------------	-----------------------------	---

Животински модели за симулиране на болести при хората

Едно конкретно приложение на *NGT* при животните е в областта на заболяванията при хората, използването на животни като модели на развитие на заболяванията и за търсене на генна терапия или използването на животни за производство на органи, които могат да бъдат трансплантирани на пациенти.

В таблица 7 са показани приложенията на *NGT* в това направление. Тези приложения имат потенциал да достигнат до пациентите и са обещаващи в борбата с тежки заболявания при човека като рак и други. (Списъкът в таблица 7 не е изчерпателен.)

Според събраната до момента информация мишките са моделни животни, при които *NGT* се прилагат най-често в проучвания за генна терапия при хора (по-специално в проучвания на рака и генетичните заболявания). Свинете ще бъдат особено важни за бъдещото „производство“ на органи, които не водят до отхвърляне на транспланта при хората. *NGT*-модифицирани плъхове и маймуни също се използват за моделиране на заболявания при хората, но това приложение все още е на ранен етап R & D.

Животните, използвани като модели на заболявания при човека, са обект на четири приложения, определени като намиращи се в напреднал стадий на научноизследователска и развойна дейност; D: три приложения при мишки за намиране на лечение за заболявания при човека (рак на простатата, травматична енцефалопатия и инфекция с човешки имунодефицитен вирус (ХИВ)) и едно при прасета за производство на съвместими органи.

Таблица 7. Животни, редактирани от *NGT* като модели на заболявания при човека

Етап на развитие	Група видове	Видове	Брой продукти	Описание на характеристиката/Условие, насочено
3. Напреднали R & D етап	Домашни животни	Прасета	1	Травматичен шок или чернодробна недостатъчност
3. Напреднали R & D етап	Гризачи и примати	Мишка	3	Хронична травматична енцефалопатия, рак на простатата, ХИВ
4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)	Домашни животни	Прасета	3	Съвместимост на органите
4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)	Гризачи и примати	Маймуни	2	Съвместимост на органите, инфекции, включително HIV инфекция

4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)	Гризачи и примати	Мишки	24	Мускулна дистрофия, включително дистрофия на мускулната тъкан на Дюшен, хемофилия В, Болестта на Хънтингтън, Leber вродена амуроza, ретинит пигментоза, Епителна дистрофия на роговицата на Meesmann, глаукома с отворен ъгъл, остро бъбречно заболяване, рак, левкемия, сърдечно-съдови заболявания, висок холестерол, хиперлипидемия, затлъстяване, диабет тип II, сърдечна недостатъчност и бъбречна недостатъчност, човешки папилома вирус, съвместимост на панкреаса
4. Ранен етап на научноизследователска и развойна дейност (D)	Гризачи и примати	Плъхове	3	Съвместимост на панкреаса, пигментоза на ретината

Докладвани са по-малко животни, редактирани чрез *NGT*, отколкото докладвани *NGT* растителни продукти. Това най-вероятно отразява действителността, но броят на експертите, които са предоставили информация за растителния сектор в базата данни, е много по-висок от този за животновъдния сектор.

Микроорганизми

Микроорганизмите имат **широка гама от приложения в промишления сектор**, или в контролирани условия за **производство на специфични биомолекули** (които представляват крайния търговски продукт), или за съзнателно освобождаване като живи организми, както е обобщено в **таблица 8**.

Таблица 8. Примери за употреба на микроорганизми в промишлената биотехнология

Използване на микроорганизми	Работа в контролирани условия	Съзнателно освобождаване
Храни/фуражи	Продукт от: - Хранителни ензими (за печене, нишестени продукти, растителни протеини, растителни масла, млечни продукти, преработка на месо) - Фуражни ензими (за повишаване на хранителната стойност) - Хранителни/фуражни съставки	- Пробиотици за животни и хора - Микроорганизми във фуражите (за подобряване на коефициента на преобразуване на храната или фуража) - Инокуланти (заместващи торовете) - Биоконтрол (заместващи пестицидите)

Нехрани/фуражи и добавки	<ul style="list-style-type: none"> - Ензими (предназначени за употреба в детергенти, текстил, кожа, целулоза и хартия) - Биогорива - Козметични продукти - Фармацевтични продукти - Други химикали на биологична основа 	- Възстановяване на биомасата
---------------------------------	--	-------------------------------

Според експерти *NGT* имат потенциал за подобряване щамовете микроорганизми и вече се използват от няколко дружества. Те се превръщат в стандартни инструменти, заедно с утвърдени техники като класическа мутагенеза, хомоложна рекомбинация и самокониране.

Експертите заявяват, че правилата и регулаторните рамки в областта на интелектуалната собственост, както и жизненият цикъл на продуктите и маркетинговите решения ще определят навлизането на *NGT* на световния пазар. Обикновено съществуват повече изисквания за безопасност в световен мащаб, свързани със съзнателното освобождаване на микроорганизми, отколкото при работа в контролирани условия (когато микроорганизмът се използва като биофабрика, а не като краен търговски продукт), както и за влагането им в храни/фуражи, отколкото за други промишлени приложения. Поради това изглежда, че използването на *NGT* за подобряване на щамовете микроорганизми може да бъде по-бързо при работа в контролирани условия и особено в сектора на биоикономиката, например за производство на биогорива или химикали на биологична основа (нехранителни/фуражни добавки).

Нови геномни техники, прилагани към микроорганизмите, които представляват краен търговски продукт (умишлено освобождаване)

Един от пазарните сектори е комерсиализацията на микроорганизмите като крайни продукти за тяхното освобождаване в околната среда. В това направление има **едно търговско приложение на *NGT* в почвени бактерии, произвеждащи азот, които могат да наторяват зърнени култури** и по този начин да се използват като добавка към азотните торове. Този продукт, наречен *Pivot Bio PROVEN*, разработен от американската компания *Pivot Bio*, вече се предлага на пазара в Съединените щати.

Друг пример, в напреднал R & D етап, е **CRISPR-редактирана *Epichloe coenophiala* за премахване на образуването на съединения (алкалоиди), които са токсични за добитъка** (Университет в Кентъки). В етапи R & D са включени и други примери за приложения в почвени бактерии и пробиотици (данните не са оповестени поради съображения за поверителност).

Използване на нови геномни техники за подобряване на щамовете микроорганизми за производство на промишлени биомолекули

От наличната научна информация и приноса на частни дружества е установено, че **NGT редактирани микроорганизми се използват за контролирано производство на молекули от промишлен интерес** (напр. биогорива и ензими), които **вече се предлагат на пазара** в поне една държава по света.

Използването на новите геномни технологии на етапи R & D и етап преди пускане на пазара при микроорганизми за работа в контролирани условия също е често застъпено:

• **Етап преди пускане на пазара:**

- Произведените посредством CRISPR микроорганизми, разработени от американското дружество *Solugen*, произвеждат ензим за образуване на водороден пероксид от растителна захар.
- Геномно редактираният *Saccharomyces cerevisiae* (четири различни линии за производство на биоетанол) е одобрен от бразилската национална техническа комисия по биологична безопасност (*CTNBio*) като не-ГМО.
- Редактираният в генома продукт *BiomElix Guided Biotic*, който е *Escherichia coli* служи за контрол на инфекцията със салмонела при бройлери, и се добавя към отпадъчните води и е одобрен от *CTNBio* като не-ГМО.

• **Напреднали R & D етапи:**

- Произведените чрез CRISPR микроводорасли (*Nannochloropsis*) са предназначени за производство на биодизел са разработени от американските дружества *Synthetic Genomics* и *ExxonMobil*.
- Обработените с CRISPR дрожди са предназначени за производство на етанол и са разработени от *GlobalYeast JV Co Brasil*.
- *E. coli*, редактирана посредством CRISPR е предназначена за производството на биодизел и е разработена от Вашингтонския университет.

Използването на *NGT* в микроорганизми изисква специален подход. При растенията и животните е установено приложение на *NGT* обикновено в организми, в които не са прилагани други техники за генетична модификация или редактиране на гени. При микроорганизмите за промишлена употреба разработчиците на технологии обикновено прилагат пълен набор от техники (включително установени и нови геномни техники), за да променят конкретен щам, докато постигнат желаната цел.

Дружествата и компаниите, разработващи продукти на базата на *NGT* са склонни да използват **ограничен брой щамове микроорганизми** (обикновено бактерии, дрожди и гъбички), които имат **дълга история на безопасна употреба** и които вече са **оптимизирани като биофабрики**. Поради това често **се добавят нови свойства** към щамове, които преди това са били модифицирани/редактирани за други търговски цели.

Тъй като микроорганизмите, използвани на пазарно или близко до пазара ниво, обикновено са продукт на няколко (установени и нови) геномни техники, е трудно да се предостави съдържателен списък на микроорганизма+*NGT*+комбинациите от признаци, както е направено за растенията и животните.

При микроорганизмите най-често срещаната употреба на *NGT* е свързана с това да се елиминират неблагоприятни гени, кодиране производството на токсини, антибиотична резистентност или странични метаболитни продукти. Установените

техники като хомоложна рекомбинация и класическа мутагенеза позволяват на дружествата да постигнат всички желани промени, но *NGT* могат значително да намалят времето, необходимо в някои случаи, например когато трябва да бъдат атакувани или изключени множество копия на един и същ ген. Сред *NGT CRISPR* е **предпочитаният инструмент** поради своята бързина, ефективност и ниски разходи.

Нови геномни техники в микробиологичните лекарствени продукти

Според експерти, *NGT* (особено тези, които се основават на CRISPR) се приемат като алтернатива от много разработчици за **редактиране на човешкия микробиом за терапевтични цели**. Описани са два вида потенциални употреби. Редактирани микроорганизми могат да се прилагат на пациенти, като те стават част от микробиома на пациента и произвеждат терапевтични молекули (напр. интерлевкини). Няколко дружества са активни в тази област и някои от тях използват CRISPR като инструмент за разработването на тези микроорганизми:

- Компанията *BioPLx, Inc.* (<http://www.bioplax.com>) прави проучване на CRISPR като инструмент за редактиране на човешкия микробиом като алтернатива на лечение на рак.

- *Novome Biotechnologies, Inc.* (<https://novomebio.com>) е лицензирана CRISPR/Cas9 интелектуална собственост, създадена да ускори развитието на предклинични кандидати за лечение на хронични заболявания (*Powell, 2020*).

По-слабо развито поле е потенциалната употреба на микроорганизми (фаги или бактерии) като вектори за модифициране на микробиома *in vivo* в тялото на пациента (напр. за отстраняване на гени за антибиотична резистентност или вирулентни гени при патогени).

В тази област две дружества използват CRISPR:

- *Eligo Bioscience* (<https://eligo.bio/technology/>) проучва използването на CRISPR в тази област, но все още са на ранен етап R & D, като разработките им се позовават на две публикации (*Bikard et al., 2014; Citorik et al., 2014*).

- *Locus Biosciences* (<https://www.Locus-bio.com/>) планира клинично изпитване в края на 2019г. в Съединените щати, като използва бактериофаги за насочване на резистентни към антибиотици *E. coli* в пикочните пътища (*Stein, 2019*).

Пропуски в данните за микроорганизмите

Събирането на данни за микроорганизмите, получени от *NGT*, представлява предизвикателство по отношение на идентифицирането на източниците на данни. Проучването сред частните дружества, разработващи *NGT* продукти показва, че има доста голям брой участващи дружества в сравнение с тези, които предоставят информация за растителния сектор. Не са установени данни за употреба или готови продукти на базата на *NGT* микроорганизми, влагани във фармацевтични и козметични продукти.

Здраве на човека

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

NGT вече са широко използвани в медицински/терапевтични приложения. NGT в човешките клетки включва тяхната употреба (1) *in vitro*: целевите човешки клетки се третират в лабораторни условия (и никога не се доставят на пациента); (2) *in vivo*: базираната на NGT терапия се прилага директно на пациента (т.е. целевите клетки остават винаги в тялото на пациента); и 3) *ex vivo*: целевите клетки се отстраняват от пациента и след това се връщат след прилагане на NGT върху клетките *in vitro*. Основните приложения на NGT за хуманна употреба са следните:

- **Химерният антигенен рецептор (CAR):** Т-клетките, които разпознават и унищожават раковите клетки, се използват в противораковата имунотерапия. CRISPR/Cas9 се модифицират посредством CRISPR/Cas9 за въвеждане на трансгени и нокдаун на ендогенните Т-клетъчни гени, за да се намалят реакциите на транспланта срещу гостоприемника (което дава възможност за развитие на алогенни Т-клетки, които да се използват при няколко пациенти).
- **Лечение на вирусни инфекции:** проучват се няколко метода за използване на NGT за производство на антивирусни терапевтични средства или чрез промяна на гените на гостоприемника, изисквани от вируса, или чрез насочване на вирусните гени, необходими за репликацията (Chen et al., 2018a). Например за лечение на инфекции с вируси като ХИВ се използват Т-клетки, модифицирани от CRISPR/Cas9, които разпознават вирусните антигени.
- **Генната терапия на базата на стволови клетки,** обикновено с индуцирани плурипотентни стволови клетки и хематопоеични стволови и прогениторни клетки, модифицирани *in vitro* с NGT, обикновено се използва за лечение на наследствени хематологични заболявания (напр. сърповидноклетъчна анемия и р-таласемия) и невродегенеративни заболявания (напр. болест на Хънтингтън, болест на Алцхаймер и болест на Паркинсон), наред с други състояния.
- NGT могат да се използват за **генна корекция *in vivo* в човешкото тяло** (напр. при фоторецепторите на ретината при пациенти с вродена амауроза на Лебер, известна още като ACL, синдром на Лебер или наследствена оптична невропатия на Лебер). *In vivo* корекция на кръвните клетки също се проучва за терапия на сърдечно-съдови заболявания.
- **Редактирането на РНК** може да се извършва чрез лечение с антисенсни олигонуклеотиди, включващи ендогенни аденозин деаминази, действащи върху ензимите на РНК (ADAR), към специфични преписи за олигонуклеотид-медирано РНК редактиране (RESTORE technology) (Merkle et al., 2019).

Някои приложения на NGT за медицински цели/терапевтични цели са надхвърлили предклиничните изследвания и са докладвани в клинични изпитвания, които са във фаза I или фаза I/II. Идентифицирани са **общо 63 NGT клинични изпитвания.** Данните от литературата (61 научни статии) също са докладвани и имат за цел да дадат ясна представа за потенциала на NGT; списъкът на идентифицираните употреби на новите геномни техники обаче не е изчерпателен.

Приложенията при пациенти *in vivo* и *ex vivo*, които включват по-голямата част от приложенията в клиничните изпитвания, са класифицирани в напреднал стадий на

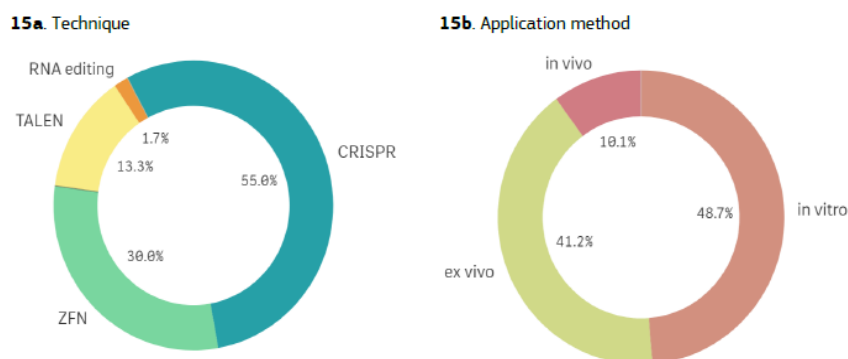
изпитване; D. Приложенията *in vitro* (описани в повечето научни статии) са класифицирани като на ранен етап на научноизследователска и развойна дейност.

Идентифицираните 119 употреби се отнасят до условията, посочени в **таблица 9**.

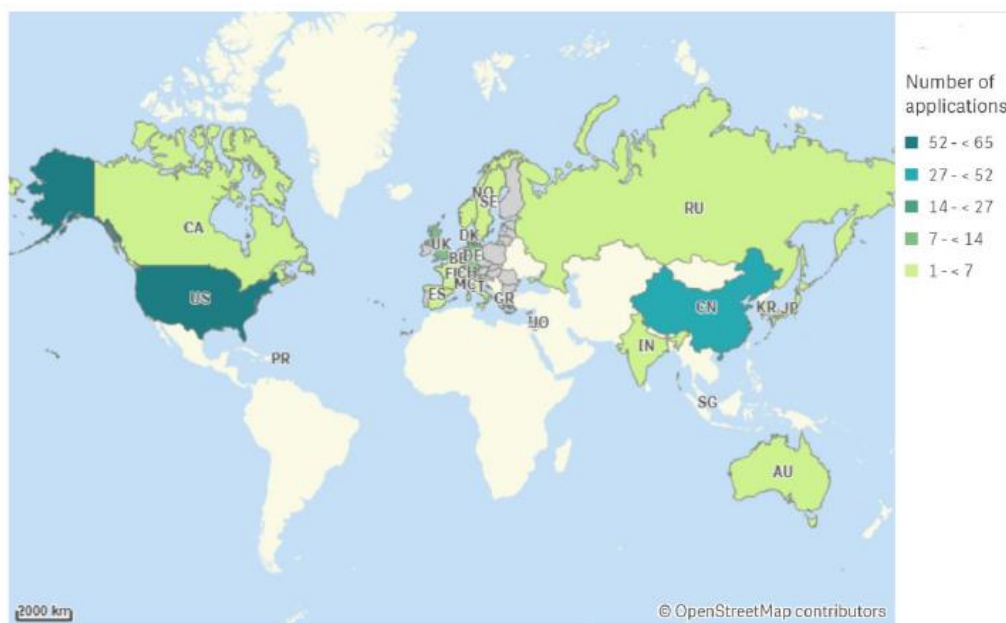
Категория на състоянието	Условия	Брой на литературни източници	Брой на клиничните изпитвания			
			Общо	Оттеглена	В дългосрочен план	Диагностик а
Рак	Левкемия, лимфом, рак на стомашно-чревния тракт, рак на белия дроб, рак на пикочния мехур, рак на простатата, рак на панкреаса, миелом, меланом, глиом, рак на яйчниците, бъбречен карцином, неврофиброматоза	20	30	5		2
Вирусни заболявания	ХИВ-1, COVID-19, норовирус	13	11	—	—	1
Невродегенеративни заболявания	Болест на Хънтингтън, болест на Алцхаймер, болест на Паркинсон	6		—	—	—
Наследствено хематологично заболяване	Р-таласемия, сърповидноклетъчна болест, хемофилия В	6	10	—	2	
Наследствени очни заболявания	вродена амауроза по Leber тип 10	4	1	—	—	—
Рак, свързан с вирусен причинител	Човешки папиломен вирус- индуциран рак, позитивен за вируса на Епщайн-Бар, HIV-1 инфекция, Остра лимфобластна левкемия	3	5			
Сърдечносъдови и метаболитни заболявания	PRKAG2 сърдечен синдром, хипертрофична кардиомиопатия, затлъстяване, диабет	4				
Белодробна инфекция	Туберкулоза, тежък сепсис	—	2	—	—	2
Други наследствени заболявания	Мукополизахароза тип I и II, синдром на Кабуки 1, Рубинщайн – синдром на Тайби, глухота	5	4			
Общо		61	63	5	2	5

Механизмите на *NGT*, използвани за медицински/терапевтични приложения с акцент върху заболяванията при хората, са предимно **ZFN**, **TALEN** и **CRISPR**, както е показано на **фигура 15а**, като **CRISPR** преобладава през последните 5 години. **Фигура 15б** показва, че при идентифицираните приложения се използват *NGT in vitro* и *ex vivo*, със значително по-малко *in vivo* употреби (около 10%).

Що се отнася до държавите на произход на 119-те заявления за *NGT* приложения за човешкото здраве, **фигура 16** показва, че те са локализирани предимно в северното полукълбо (Австралия е изключение). Съединените щати и Китай са най-силните държави, като Съединените щати преобладават по отношение на броя на установените заявления.



Фигура 15: *NGT*, използвани за човешкото здраве ($n = 119$)(15а) и методите за тяхното прилагане (15б), съгласно информация в базата данни

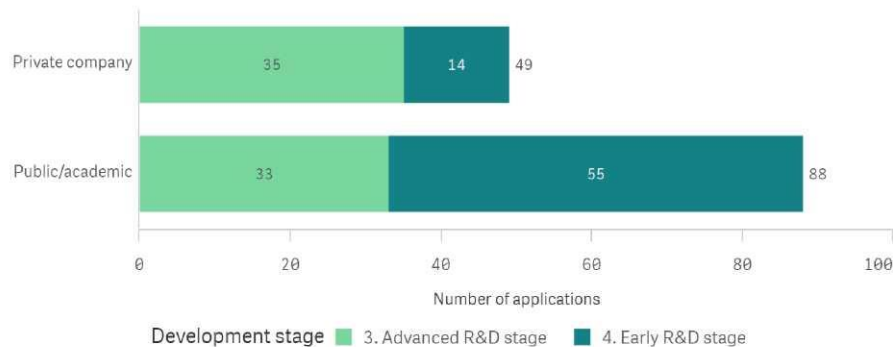


Фигура 16

Както е показано на **фигура 17**, сходен брой приложения на напреднал етап на научноизследователска и развойна дейност (т.е. по-голямата част, използвани в клинични изпитвания) идват от частни и публични/академични доставчици на технологии, докато приложенията на ранен етап на научноизследователска и развойна

дейност (т.е. повечето от идентифицираните въз основа на литературни данни) са доминирани, както и в други анализирани сектори, от публични/академични разработки.

Фигура 17: Разпределение на разработчиците на приложения за NGT за човешкото здраве по вид разработчик (частни или публични/академични институции и етап на развитие

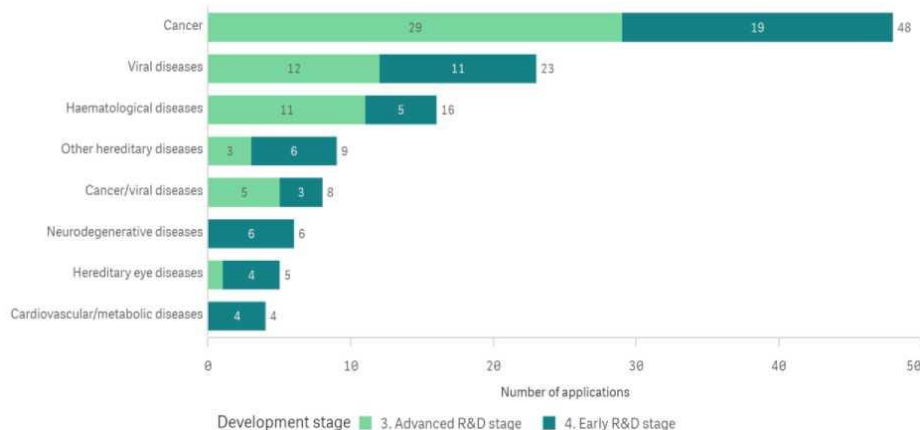


Фигура 18 показва, че **ракът очевидно е основната цел на терапевтичните приложения**, включващи използването на NGT, с **48 приложения**, плюс **8 приложения, свързани с видове рак**, причинени от вирусни инфекции. **Втората най-често срещана цел на приложение на новите геномни техники са вирусните заболявания** (23 приложения) и много приложения са насочени към наследствени заболявания, включително хематологични заболявания (16 приложения), някои невродегенеративни заболявания (2 заявления за болест на Хънтингтън), очни заболявания (5) и други наследствени заболявания (8).

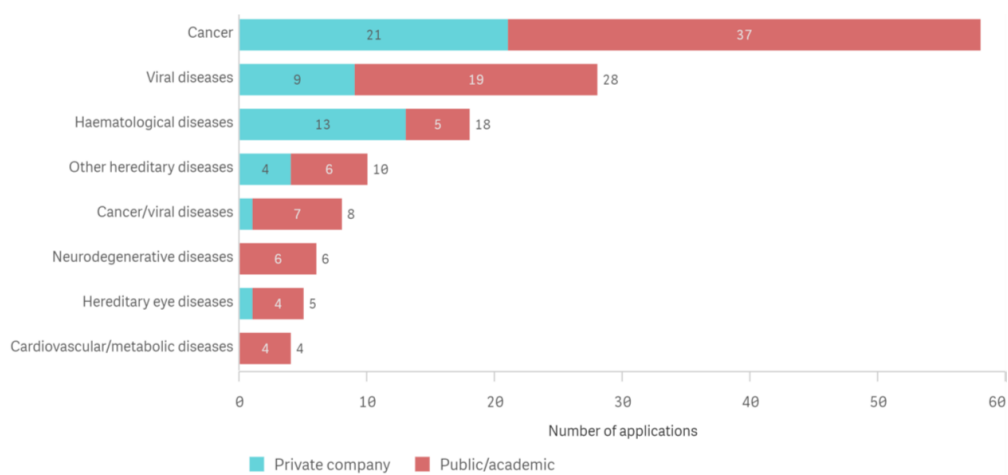
На **фигура 18б** са показани приложенията на NGT от частни разработчици при лечението на хематологични заболявания, докато обществените/академичните разработчици преобладават във всички останали групи заболявания.

Фигура 18: Разпределение на приложенията за човешкото здраве на NGT по групи заболявания и етап на развитие на терапията (18а) и по група заболявания и вид на разработчика (18б).

18а. Целева група по болест и етап на развитие

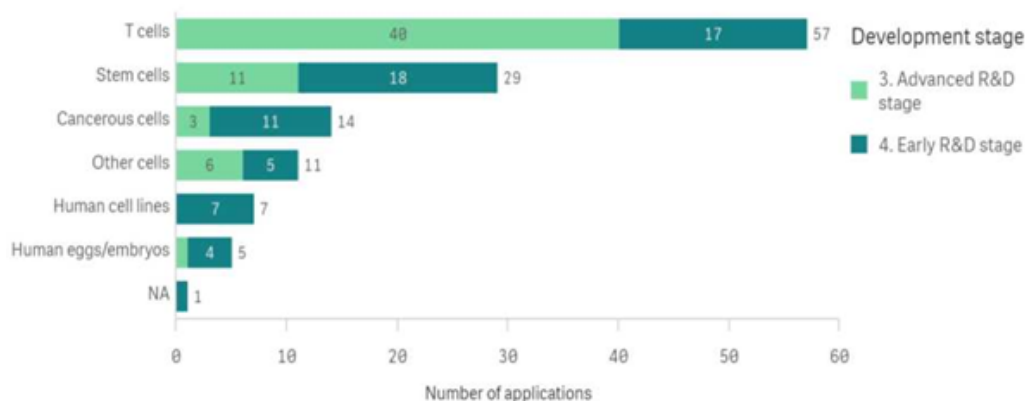


186. Целева група на болестта и вид на разработчика



На **фигура 19** са показани видовете човешки клетки, към които се прилагат *NGT* за терапевтични цели. Най-често прицелени са Т-клетки (предимно автоложни, но в някои случаи алогенни), следвани от стволови клетки и ракови клетки.

Фигура 19: Разпределение на приложенията за човешкото здраве на *NGT* по вид целева клетка и етап на развитие



Диагностични инструменти, базирани на нови геномни техники

Установени са пет клинични изпитвания, при които **CRISPR/Cas** се използва като **диагностичен инструмент**. В **таблица 10** е представен списък на тези изпитвания. Три изпитвания в Китай са съсредоточени върху инфекциозните заболявания, като една от тези цели е **диагностицирането на COVID-19**. Другите две изпитвания, в САЩ, са фокусирани върху диагностиката на рака.

Таблица 10 Клинични изпитвания, при които *NGT* се използват за диагностични цели

NGT	Identifier	Status	Study title	Condition category	Conditions	Locations	Country	Sponsors and collaborators
CRISPR/Cas9	ChiCTR2000029810	Not approved, recruiting	Clinical study of a novel high sensitivity nucleic acid assay for novel coronavirus pneumonia (COVID-19) based on CRISPR-Cas protein	Viral disease	COVID-19	N/A	China	National Key R & D Program of China, High-level Hospital Construction Fund of Guangdong Province, Sanming Project of Medicine in Shenzhen
CRISPR/Cas12	NCT04178382	Recruiting	Effect of PCR-CRISPR/Cas12a on the early anti-infective schemes in patients with open air pneumonia	Lung infection	Severe sepsis	The Affiliated Drum Tower Hospital, Medical School of Nanjing University	China	Chinese Medical Association
CRISPR/Cas9	NCT04074369	Recruiting	Evaluation of CRISPR-based test for the rapid identification of tuberculosis in pulmonary tuberculosis suspects	Lung infection	Pulmonary tuberculosis	Huashan Hospital, Shanghai	China	Huashan Hospital, Wenzhou Central Hospital, Hangzhou Red Cross Hospital
CRISPR/Cas9	NCT03332030	Suspended (owing to cessation of funding)	Stem cells in neurofibromatosis type 1 patients with tumours of the central nervous system	Cancer	Neuro-fibromatosis type 1	Children's National Medical Centre, Washington	United States	Roger Packer
CRISPR/Cas9	NCT03606486	Recruiting	Lavage of the uterine cavity for diagnosis of ovarian cancer	Cancer	Ovarian cancer	Fred Hutch/University of Washington Cancer Consortium, Seattle	United States	University of Washington National Cancer Institute, Minnesota Ovarian Cancer Alliance

Освен това, според информацията, извлечена от литературни и уеб източници, следните системи за откриване са разработени въз основа на CRISPR и могат да се използват за диагностични цели.

- **Sherlock** (*Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing*) открива нискочестотни мутации (напр. такива, свързани с повишен риск от рак, като *BRAF V600E* и *EGFR L858R*). Системата се състои от два елемента – направляваната от РНК ендонуклеаза Cas13a и сигналът на репортера, освободен след разпадането на РНК (Gootenberg et al., 2017).
- **Carmen** (*Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic acids*) е базирана на SHERLOCK и е платформа за мащабно откриване на множество патогени. С помощта на CARMEN-Cas13 е разработен мултиплексен анализ, който едновременно разграничава всички 169 свързани с човека вируси (Ackerman et al., 2020).
- **DETECTR** (*DNA endonuclease-targeted CRISPR trans-reporter*): Cas12a действа като Cas13a в тази система, а друг ензим, рекомбиназната полимеразна амплификация, се използва като средство за откриване на вирусни инфекции при рак (напр. човешки папиломавирус 16/18 при белодробни карциноми) и за усилване на микропроби (Chen et al., 2018b).
- **AIOD-CRISPR** (*All-in-One Dual CRISPR-Cas12a*) използва Cas12a и две едновезижни РНК за откриване на ХИВ и COVID-19 (Ding et al., 2020).

COVID-19

Благодарение на гъвкавостта на използването на CRISPR, когато започна пандемията от COVID-19, учените незабавно адаптираха различни основани на CRISPR инструменти, за да предоставят алтернативни диагностични методи и да предлагат потенциални терапевтични стратегии. Детекцията на COVID-19 се

осъществява **посредством горепосочените инструменти: *Sherlock*** (Тестът може да открие SARS-CoV- 2 S протеинов ген и Orflab ген в рамките на един час. (*Broad Communications, 2020*)), ***Carmen*** (С помощта на един *mChip* могат да бъдат тествани паралелно повече от 400 проби с помощта на панела за изолиране на коронавируса.), ***DETECTR*** (Тъй като *DETECTR* е насочен към откриване на ДНК, е добавена допълнителна стъпка, в която вирусната РНК (N и E гени) се копира в ДНК и се усилва. Методът *DETECTR* е валидиран с използване на проби от пациенти с COVID-19, но все още не е одобрен от US FDA за клинична употреба (*Broughton et al., 2020*)) и ***AIOD-CRISPR*** (При търсенето на клинични изпитвания Китай е предложил диагностичен метод за COVID-19 въз основа на CRISPR/Cas, но не са дадени допълнителни подробности.)

Научната общност вече работи по **разработването на инструменти за терапия и лечение на COVID-19, като използва CRISPR**. Например системата *Carver* (*Cas13-Assisted Restriction of Viral Expression and Readout*) е **съчетана с *SHERLOCK*** и е разработена от *Broad Institute* за атакуване на вируси, базирани на РНК (*Freije et al., 2019*). Друга подобна система е ***PAC-MAN*** (*Prophylactic Antiviral CRISPR in huMAN cells*), разработена от Станфордския университет, като тя използва **Cas13d** за атакуване на грипни вируси и SARS-CoV-2-подобни вирусни частици (*Abbott et al., 2020*).

Пропуски в данните в човешкото здраве

Данни за приложенията на *NGT* при хора са получени от два източника: бази данни за клинични изпитвания и научна литература. Данните за клиничните изпитвания са сравнително изчерпателни. Информацията, получена от литературата, може да се счита за представителна, но не и изчерпателна.

Мнения на държавите членки и заинтересованите страни относно изпълнението и правоприлагането за *NGT*

Прилагане на законодателството в областта на ГМО по отношение на *NGT*

Повечето държави членки **не са адаптирали своите правни системи в областта на ГМО, така че да обхванат продуктите, резултат от *NGT***, като причините за това са различни, сред които най-често е **липсата на надеждни методи за откриване на продукти, резултат от *NGT***. Някои държави членки считат, че значителното увеличаване на човешките, капиталовите и материалните ресурси, необходими за разработването на такива методи, възпрепятства по-нататъшните усилия. Освен това ограничените шансове за успех при разработването на надежден метод за откриване са демотивиращ фактор за инвестиране на големи суми пари. Някои държави членки отбелязват, че тъй като понастоящем изглежда малко вероятно новите специфични за продукта методи за откриване на *NGT* да отговарят на изискваните критерии за ефективност на метода, аналитичните резултати не биха издържали в съда; тази **правна несигурност** ги въздържа от адаптиране на настоящата им система за правоприлагане в областта на ГМО.

Някои държави членки са се позовали на правни основания, за да не адаптират своите системи за правоприлагане в областта на ГМО. Например някои от тях вече са разполагали на национално равнище с определение за *NGT* като цяло. Други твърдят, че тъй като Съдът на ЕС е постановил, че продуктите с *NGT* са ГМО и следователно са предмет на законодателството на ЕС в областта на ГМО и законодателят не е изменил разпоредбите за прилагане на ГМО вследствие на решението, съществуващото прилагане на ГМО следва да бъде достатъчно, за да обхване *NGT*.

Друга посочена причина за неприспособяване на правните системи е **липсата до този момент на каквито и да било доказателства, че на пазара на ЕС има продукти, резултат от новите геномни техники**. Поради това някои държави членки считат, че няма основание за изменение на съществуващото прилагане на правилата за ГМО. И накрая, някои ДЧ са докладвали, че предпочитат да изчакат **хармонизиран подход на равнище ЕС, преди да адаптират законодателството си**.

Няколко държави членки докладват за адаптиране на своите системи за правоприлагане. Другите усилия се състоят в предоставяне на допълнителна информация на надзорните органи и лабораториите за ГМО; това обаче **изисква допълнително аналитично оборудване, химикали, човешки ресурси и достъп до биоинформатични данни**.

Повечето заинтересовани страни споделят **опасения по аналитичните въпроси**, но възприятията им по този въпрос се различават. Почти всички заинтересовани организации, представляващи стопански субекти в хранителната промишленост или изследователи/академични кадри, посочват **аналитичните ограничения и произтичащата от това невъзможност за прилагане на законодателството в областта на ГМО по отношение на продуктите на *NGT***, било то сега или в бъдеще. Някои заинтересовани страни са загрижени, че аналитичните решения изискват значително време и средства, без гаранция за успех, и не помагат там, където генетичните промени могат да настъпят по естествен път или чрез конвенционално размножаване. НПО се позовават главно на решението на Съда на ЕС, на задължението (съгласно действащото законодателство в областта на ГМО) да се осигури аналитичен метод и на **необходимостта от повече изследвания за разработване на подходящи методи**. Повечето заинтересовани страни приемат, че на пазара на ЕС липсват продукти резултат от *NGT*, въпреки че някои НПО не са убедени или споменават възможното наличие на специфични продукти за *NGT* в държави извън ЕС.

Възможните решения, посочени от заинтересованите страни за преодоляване на аналитичните ограничения, включват **разширяване на аналитичните тестове до омикс техники, използване на секвениране на целия геном и създаване на глобална база данни, съдържаща цялата необходима информация за *NGT* и свързаните с тях патенти**.

Предизвикателства пред настоящите и алтернативните системи за проследяване

За нетрансгенни *NGT* всички държави членки считат, че **няма валидна проследимост без валидна аналитична стратегия**, и припомниха, че не е възможно правоприлагане без необходимата правна сигурност. На практика както проследимостта, така и **аналитичното откриване срещат трудности при тестването**

на сложни матрици (за разлика от откриването от чисти еднокомпонентни проби с достатъчно ДНК) **и при търсенето на неразрешени продукти, получени чрез NGT**, когато целта е неизвестна. Редица държави членки считат, че *NGT* при работа в контролирани условия не причиняват допълнителни проблеми в сравнение с други продукти в контролирани условия.

Някои държави членки са посочили текущата работа по разработването на алтернативни стратегии за аналитичен контрол като трудна задача, тъй като изискват събиране на информация за последователността на равнище ЕС и от всички търговски партньори, както и вземане на проби, специфични за *NGT*. Те отбелязват, че тези стратегии водят до **голяма логистична и финансова тежест и значително повече човешки и технически ресурси**, до такава степен, че бъдещото рутинно прилагане на действащото законодателство в областта на ГМО по отношение на продуктите, създадени с *NGT* би могло да доведе до **несъразмерни разходи и административна тежест**. Друга забележка е все **по-голямата сложност на аналитичните проверки, застрашаващи срока на годност на бързоразвалящите се продукти**.

Няколко държави членки са предложили да се използват алтернативни системи за проследяване. Един от вариантите може да бъде да се използват съществуващите системи за проследяване, основани на документи, като тези, използвани за ГМО или използването на цифрови инструменти. Друго предложение е да се използва система за сертификати, свободни от *NGT* продукти, но осъществимостта на този подход е възпрепятствана от значителните финансови и човешки ресурси, необходими за създаването и експлоатацията и.

Други алтернативни системи за проследяване, предложени от държавите членки и заинтересованите страни, включват **прозрачност от край до край и схеми за устойчивост/съхранение на идентичността**. Някои заинтересовани страни считат, че тези решения са приложими само за малки обеми и **разчитат изцяло на доверието в доставчиците**. Освен това те **изискват отделни вериги на доставки**. Други предложени решения включват **освобождение на NGT продуктите от изискванията за проследимост и запазване на доброволния характер на схемите за проследяване на NGT** за заинтересованите пазари (напр. биологични). Въпреки това съществуващите схеми/мерки за устойчивост **може да не са правилното средство за проследяване на NGT**.

Що се отнася до разходите за проследяване на *NGT*, някои заинтересовани страни докладват, че воденето на регистри води до финансови разходи и разходи за човешки ресурси, които често се прехвърлят на първичния производител. Други заинтересовани страни са изразили загриженост дали разходите са пропорционални с оглед на ползите и стойността за веригата на доставки, потребителите, обществото и околната среда. Други считат, че секторите, които разработват и/или използват продукти, резултат от *NGT*, следва да поемат изцяло допълнителните разходи или че предишният опит от справянето с неразрешеното наличие на ГМО в хранителната верига може да се използва за подпомагане проследяването на *NGT*.

И накрая, **заинтересованите страни, участващи във фармацевтичните NGT продукти**, изтъкват, че предвид всеобхватния регламент, приложим за лекарствата (включително относно проследимостта и етикетирането), **не са необходими**

допълнителни изисквания за проследимост и етикетиране съгласно законодателството относно ГМО.

Информация за полеве и клинични изпитвания и национални каталози на сортовете растения

За селскостопанските приложения редица държави членки докладват за текущи или планирани полеве изпитвания с продукти, резултат от *NGT*. В зависимост от националните разпоредби те или са били нотифицирани в съответствие с действащото законодателство преди решението на Съда на ЕС, или са били узаконени след решението. Някои държави членки считат, че действащото законодателство в областта на ГМО поражда опасения относно прилагането на *NGT* при разработването на нови сортове растения, като принуждава животновъдите да използват други, по-малко ефективни методи. Произтичащата от това **административна тежест и разходи имат силно възпрепятстващо въздействие**: някои полеве опити дори са били оттеглени или отменени след решението на Съда на ЕС. Една държава членка е забранила полеве опити с *NGT* до 2023г. **Всички държави членки са гарантирали, че на национално ниво не са регистрирани сортове растения, резултат от *NGT*.**

Някои държави членки докладваха, че се извършват повече изследвания за медицински и промишлени приложения при работа в контролирани условия. Отбелязано е също така, че за лекарствения сектор действащото законодателство относно ГМО отразява положението през 1990 г. и е изпреварено от развитията на новите технологии.

Мнения на заинтересованите страни относно подкрепата на национално равнище и на равнище ЕС във връзка с *NGT*

Повечето държави членки са докладвали, че са организирали информационни сесии по различни въпроси, свързани с *NGT*. Сред основните въпроси, засегнати на тези сесии са: тълкуването и последиците от решението на Съда на ЕС, правният статут на продуктите от *NGT*, въпроси относно откриването на конкретни продукти, регулаторни консултации относно полеве изпитвания, въпроси относно намеренията за регулиране на техниките на случайна мутагенеза, въпроси относно намеренията за преразглеждане на Директива 2001/18/ЕО, изисквания за данни за оценка на риска за продукти от *NGT*, прилагане на законодателството за продуктите, резултат от *NGT*, съвместно съществуване с биологичното земеделие, въздействие върху фармацевтичната биотехнология и въпроси, свързани с патентите.

Повечето стопански субекти в областта на хранително-вкусовата промишленост и академичните среди/изследователите са посочили липсата на подкрепа от съответните национални органи или органи на ЕС по отношение на аналитичните аспекти (напр. надеждни методи за откриване), следвани от липсата на правна сигурност.

Някои заинтересовани страни считат, че през последното десетилетие Комисията е показала липса на ангажираност по отношение на *NGT* и че те не са получили достатъчна подкрепа.

Безопасност на новите геномни техники

Преглед на ЕОБХ на становищата за оценка на риска на растенията, разработени чрез NGT

ЕОБХ е представила доклад от оценката на риска за растенията, разработени с използване на *NGT*, въз основа на своите научни становища относно техниките, основани на *SDN*, *ODM* и цисгенезата/интрагенезата, както и въз основа на становищата, публикувани от компетентните органи на държавите членки и националните институции от 2012г. насам. В своите становища ДЧ са обхванали цисгенезата и интрагенезата, *SDN* технологиите и основното редактиране, *ODM*, зависимото от РНК ДНК метилиране, присъединяването на генетично модифицирани секвенции и др.

Научните становища на ЕОБХ са съсредоточени върху:

- i) **оценка на рисковете за хората, животните и околната среда** чрез сравняване на растения, разработени с използване на *NGT*, с растения, получени чрез конвенционални методи за развъждане и установени геномни техники; и
- ii) **оценка на приложимостта на документите на ЕОБХ с насоки за оценка на риска на генетично модифицираните растения** по отношение на оценката на растенията, разработени с използване на *NGT*.

SDN техники и *ODM*

Съществува общо разбиране, че всеки вид геномна техника може да се използва за различни цели. Например техниките *SDN-1* могат да се използват за отстраняване на гени, промяна на регулаторни елементи и извършване на генетични делекции, инверсии, дубликации или транслокации (в случай на двойни прекъсвания в генома); Техниките *SDN-2* могат да въвеждат мутации от една или повече двойки нуклеотиди или малки вмъквания или заличавания; *SDN-3* техники могат да се използват за въвеждане на трансгени, цисгени или интрагени.

ЕОБХ не е идентифицирал нови опасности, конкретно свързани с геномната модификация, получена чрез *SDN-1*, *SDN-2* или *ODM*, в сравнение с конвенционалната селекция и техники за въвеждане на нов генетичен материал.

Що се отнася до специфичността, съществува общо съгласие между държавите членки и ЕОБХ, че технологията *SDN* представлява значително подобрение спрямо случайните генетични модификации и че са разработени няколко подхода за подобряване на спецификата на метода. Въпреки това в становищата на държавите членки се излагат различни съображения относно нецелевите изменения, например по отношение на техния вид, обхват, въздействие и необходимост от оценка.

ЕОБХ е отбелязала, че наскоро публикуваните експериментални доказателства потвърждават, че неприцелните мутации, потенциално индуцирани от *SDN*, са от същия вид и по-малко от мутациите при конвенционалното размножаване, включително спонтанните мутации и тези, получени чрез физична и химична мутагенеза.

Що се отнася до *ODM*, общопризнато е, че в литературата има по-малко информация, по-специално относно неговия молекулярен механизъм и нецелевите модификации.

Цисгенеза и интрагенеза

ЕОБХ е отбелязала, че в цисгенезата и интрагенезата се използват гени, получени от същите гени като използваните за конвенционалната селекция на растенията. Въпреки това, за разлика от конвенционалното размножаване, цисгенезата и интрагенезата не въвеждат гамата от други гени и последователности и не се осъществява въвеждане на нежелани гени заедно с предвидения ген, така че може да се избегне въвеждането на нежелани черти и опасности, свързани с тези други гени или последователности. Що се отнася до **опасностите, свързани с въведените гени, рисковете, произтичащи от използването чрез цисгенеза на свързан растителен ген, са подобни на тези от конвенционалната селекция на растенията.** Въпреки това, когато в интрагенезата се използва свързан с растителен произход ген, може да възникнат някои нови комбинации от генетични елементи, които не се срещат в цисгенни и конвенционално отглеждани растения; те могат да представляват, както при трансгенните растения, **нови черти с нови опасности.**

Съществува **общо съгласие, че цисгенезата може да доведе до растения, които не са съществено различни по отношение на фенотипните характеристики** и крият по-висок **риск за здравето на хората и животните, от традиционно отглежданите растения.**

ЕОБХ е заявил, че цисгенезата, подобно на конвенционалната селекция на растенията, обхваща използването на третични гени, т.е. от видове, които могат да бъдат кръстосани само чрез използване на усъвършенствани техники. **ЕОБХ отбелязва, че потенциалът за произволни промени в генома, причинени от въвеждането на чужди гени, не се ограничава до цисгенеза, интрагенеза и трансгенеза;** всъщност тя е независима от методологията за размножаване. Известно е, че мутационни процеси, като вмъквания, делеции или пренареждане на ендогенни гени и регулаторни последователности, също се срещат при конвенционалното размножаване. **Нови отворени рамки за четене се създават на случаен принцип по време на конвенционалното размножаване, цисгенеза, интрагенеза и трансгенеза, което може да доведе до експресия на нови протеини.** **ЕОБХ отбелязва, че трансгенезата включва екзогенна ДНК, която не е гостоприемникова (и дори нерастителна), което може да доведе до образуването на комбинации от секвенции и отворени рамки за четене, които обикновено не се срещат при конвенционално размножаване или цисгенеза.** По същия начин интрагенезата може да доведе до нови комбинации с отворени рамки за четене, поради преко конфигуриране на последователностите на гостоприемника.

ЕОБХ също така отбелязва, че при цисгенезата може да се очаква, че използването на местен промотор е по-вероятно да доведе до модел на експресия, подобен на растението донор, но това не е гарантирано. Например дължината на цис-регулаторните елементи, прехвърлени като част от цисгена към гостоприемника, вероятно ще повлияе на модела на експресия.

ЕОБХ отбелязва в своите доклади и становища също, че интрагенезата предлага значително повече възможности за промяна на генната експресия и развитието на признаци, отколкото цисгенезата, тъй като гените и техните промотори и регулаторни елементи са взаимозаменяеми в рамките на интрагените.

Съществува **общо съгласие**, че оценката на риска трябва да е по-гъвкава и да може да се възползва от всякакви познания за историята на безопасната употреба на въведените модификации и признаци. Изискванията за данните могат да бъдат намалени и само част от оценката на риска може да се прилага за всеки отделен случай, като по този начин се дава възможност за опростяване на процеса по оценка на риска. Като цяло съществува съгласие, че съществуващите насоки за оценка на риска са подходящи за оценката на продуктите, получени чрез техники на *SDN* и цисгенеза/интрагенеза.

ЕОБХ отбелязва също, че за да може крайният продукт да се счита за нетрансгенен, следва да се извърши молекулярна характеристика, за да се докаже, че не се запазва екзогенна ДНК.

Мнения на държавите членки и заинтересованите страни по отношение на безопасността

Повечето заинтересовани страни отбелязват, че **безопасността на NGT и NGT е от първостепенно значение за пускането им на пазара**. Мненията обаче са различни, тъй като няма консенсус относно тяхната безопасност, нито относно необходимостта и изискванията за тяхната оценка на риска. Повечето заинтересовани страни се съсредоточават върху оценката на безопасността и риска на продуктите, произведени чрез целенасочена мутагенеза (*SDN-1*, *SDN-2* и *ODM*), в сравнение с безопасността на продуктите, които биха могли да бъдат получени чрез конвенционално развъждане.

Някои държави членки са **загрижени относно възможността за неприцелни, непредвидени въздействия върху генома на редактирания организъм и техните потенциални отрицателни последици за здравето на хората, животните и растенията, както и за околната среда**. Някои ДЧ отбелязват **несигурността по отношение на дългосрочните рискове за безопасността при употребата на NGT**.

Някои заинтересовани страни (главно неправителствени организации и стопански субекти в областта на храните) изразяват **опасения относно безопасността на продуктите, резултат от NGT**, докато други (главно стопанските субекти в хранителната промишленост, разработчиците на *NGT* и академичните среди) считат, че продуктите, разработени чрез *NGT* са безопасни.

Основното безпокойство във връзка с безопасността на тези продукти е рискът от нежелани ефекти, свързани с предвидената генетична модификация, например производството на нови токсини или алергени. Друго опасение е **рискът от въздействие върху целевите секвенции, когато планираната промяна настъпва на планираното място, но резултатът се различава от очакваното**. Освен това е споменат **рискът от нецелев ефекти**. Някои заинтересовани страни коментират също така, че *NGT* нямат дълга история и информация по отношение на безопасността и че **понастоящем няма достатъчно научни познания, за да се оцени тяхната безопасност**.

Заинтересованите страни изтъкват **потенциалните отрицателни последици за околната среда, като например въвеждането на нови характеристики, взаимодействието с дивите видове и генните потоци, въздействието върху хранителните мрежи, влиянието върху взаимодействието между растенията и**

опрашителите, въздействието върху микробиомите и потенциалното неконтролирано разпространение на ГМО в околната среда. Някои заинтересовани страни отбелязват опасения относно потенциалната безвъзвратна способност на *NGT* организмите, след като бъдат освободени, докато други посочват опасения относно устойчивостта в околната среда и въздействието върху цели диви популации поради освобождаването на редактирани организми.

За заинтересованите страни, които считат, че продуктите, резултат от *NGT* са безопасни, основният аргумент е, че *NGT* са по-точни (и по този начин създават по-малък риск) от конвенционалните техники, които вече се считат за безопасни и не подлежат на задължителна оценка на безопасността. Някои стопански субекти в хранителната промишленост и повечето представители на академичните среди отбелязват, че продуктите от *NGT* са поне толкова безопасни, колкото ГМО, разработени чрез установени геномни техники. Няколко заинтересовани страни посочват, че нито една оценка на риска никъде по света не е оправдала до момента опасенията относно безопасността на ГМО, произведени чрез установени геномни техники, и че повечето регулаторни органи са стигнали до заключението, че тези ГМО са безопасни, което означава, че редактираните организми, разработени от *NGT*, също са безопасни.

Няколко заинтересовани страни посочват, че дебатът относно извънцеловото въздействие на *NGT* е без значение, тъй като по-новите *NGT* са още по-прецизни, намалявайки още повече риска от нецелеве ефекти, а нецелевите мутации в растенията също възникват в конвенционалното размножаване. Някои от тях също така споменават в проучванията си, че опасните редактирани растения се отстраняват по време на процеса на селекция на растенията.

Някои заинтересовани страни посочват, че настоящата технология за секвениране на генома дава възможност за по-добро разбиране на генетичната модификация, потвърждавайки, че планираната промяна се извършва на желания обект.

Специфични съображения за приложения на *NGT* при животни

Повечето НПО са особено загрижени за животните, модифицирани чрез *NGT* и хуманното отношение към тях. Някои от тях са посочили потенциалния риск от увеличаване на честотата на раковите заболявания при животните, свързан с механизма за възстановяване на *DSB* в ДНК. Други посочват, че експериментирането с животни често причинява ненужно страдание и смърт на животните и че генетично модифицираните животни често имат здравословни проблеми. Често цитиран пример за нежелани последици от редактирането на гени при животните е случаят с говеда, с редактиран геном, при които на целевото място в генома е открита нежелана плазмидна последователност с ген за антибиотична резистентност. Стопанските субекти в хранителната промишленост, участващи в животновъдството, заявяват, че технологията следва да бъде допълнително подобрена, за да се избегнат странични ефекти. Те също така са загрижени за епигенетичните и епистатичните ефекти, както и за жизнеспособността на животните. Предложено е да се маркират

животните, редактирани чрез *NGT*, така че да може отговорността да се определи в случай на щета.

Няколко заинтересовани страни коментират **ефекта върху околната среда от пускане на редактирани организми, особено животни и по-специално тяхното въздействие върху околната среда, функционирането на екосистемите и опазването на биологичното разнообразие**. Заинтересованите страни посочват, че изкореняването на даден вид би могло да има отрицателно въздействие върху цялата екосистема и че генните редакции могат да доведат до изчезване на друг вид или да го изложат на нежелани събития.

Специфични съображения за приложенията на *NGT* при микроорганизмите

Заинтересованите страни, работещи в областта на промишлената микробиология, заявяват, че нарастващата прецизност на *NGT*, съчетана с последните развития в геномиката и секвенирането, е от полза за разбирането и повишаването на безопасността на продуктите, като също така улеснява оценката на риска.

Специфични съображения за медицинските приложения

Въпреки че е признато, че *NGT* технологията не е лишена от риск и че е необходимо добро характеризиране на продуктите (включително характеристиките за безопасност), е отбелязано, че това е разгледано в достатъчна степен в законодателството в областта на лекарствените продукти. Във връзка с това някои заинтересовани страни в областта на здравеопазването изразяват доверие в способността на Европейската агенция по лекарствата да оценява и гарантира безопасността на *NGT* продуктите.

Мнения на заинтересованите страни и държавите членки относно необходимостта от оценка на риска

Няколко държави членки считат, че **настоящите процедури и насоки за оценка на риска трябва да бъдат адаптирани за *NGT***. Някои ДЧ посочват **необходимостта от адаптиране на насоките в различни области** (напр. лекарствени продукти, молекулярна характеристика и мониторинг на околната среда, по-специално по отношение на ефектите на генното редактиране извън целта) или че **те следва да се съсредоточат върху продуктите, а не върху използваната нова геномна технология**.

Няколко заинтересовани страни заявяват, че **безопасността на продуктите, разработени чрез *NGT*, следва да бъде оценена**. Мненията на ДЧ обаче се различават по отношение на това какъв вид оценка на риска е необходима. Повечето НПО и стопански субекти в областта на храните заявяват, че за **продуктите на основата на *NGT*** се изисква оценка на риска съгласно действащото законодателство в областта на ГМО или че те **изискват по-строга оценка на риска**. Някои заинтересовани страни от различни сектори, включително няколко НПО, са на мнение, че е необходима оценка на риска, но че изискванията следва да се определят за всеки отделен случай. Повечето от тях са на мнение, че **оценката на риска следва да бъде научно обоснована и пропорционална на риска от специфични продукти, а не да се основава на общ стандарт**, приложим за всички продукти. Друг аспект е, че **оценката на риска не**

следва да се основава на процеси, а на продукти, и че безопасността на даден продукт зависи от това какво е било модифицирано или редактирано или от получения признак, а не от използваната техника. Други са на мнение, че **подходът за всеки отделен случай следва да бъде поне толкова строг, колкото настоящата оценка на риска за ГМО, и следва да изисква повече информация за оценка на безопасността на даден продукт, постигнат с NGT.**

Няколко заинтересовани страни, представляващи предимно секторите на селското стопанство и растениевъдството, заявяват, че не следва да се изисква допълнителна оценка на риска по отношение на продуктите от *NGT*, които биха могли да бъдат получени и чрез конвенционално развъждане. Споменато е също така, че растенията са предмет на редица правила (напр. съгласно общото законодателство в областта на храните, Регламент (ЕО) № 178/2002), които гарантират тяхната безопасност, и дори ако не подлежат на оценка на риска съгласно законодателството за ГМО, те все още се изпитват по различни критерии, преди да бъдат пуснати на пазара; освен това селскостопанската производствена верига е отговорна за гарантиране на безопасността на продуктите, които се пускат на пазара.

Заинтересованите страни от лекарствения сектор отбелязват, че настоящата система възпрепятства разработването на нови лекарствени продукти и че фармацевтичното законодателство съдържа достатъчно разпоредби за оценка на риска.

И накрая, някои заинтересовани страни коментират ограниченията в оценката на риска на редактирните организми, тъй като не се знае достатъчно за потенциалното им въздействие върху околната среда и единственият начин да се оцени рискът е да се освободят тези редактирните организми в околната среда.

Заклучения

NGT от група 1, особено тези, които се **основават на CRISPR**, се използват активно и все повече в секторите на хранително-вкусовата промишленост, промишлеността и медицината във всички анализирани организми (растения, гъби, животни, микроорганизми и човешки клетки).

Благодарение на своята гъвкавост, достъпност и лекота на използване, **CRISPR** отваря вратите за няколко нови възможности по отношение на организмите, в които може да се използва, и характеристиките, които могат да бъдат получени, а също така достига до много участници по света.

За проучването на ЕК е събран голям набор от данни и той предлага много добро представяне на настоящото и потенциалното използване на *NGT* за търговски цели. Понастоящем **малко на брой приложения се предлагат на пазара в световен мащаб** (един растителен продукт, един микроорганизъм за освобождаване в околната среда и няколко микроорганизми, използвани за контролирано производство на търговски биомолекули), но има около **30 идентифицирани приложения (при растения, животни и микроорганизми) в предпазарен стадий**, които биха могли да достигнат пазара в краткосрочен план (в рамките на 5 години). Ако приложенията, определени в това проучване като намиращи се в напреднал етап на научноизследователска и развойна дейност влезнат в търговската мрежа след десетилетие, до 2030 г. над сто

растения и няколко десетки животни и медицински приложения биха могли да бъдат на пазара. Повечето от тези приложения, предлагани на пазара до 2030 г., ще се основават на техники от група 1, а други – на техники от група 2. **Броят на заявленията за групи 3 и 4 по отношение на пускането на пазара е по-нисък.**

От **особен интерес** представлява **използването на микроорганизми за промишлени цели**, където приложенията на *NGT* не могат да бъдат посочени (както при растенията, животните или клиничните изпитвания), тъй като *NGT* вече са включени в рутинния генетичен инструментариум за подобряване на щамовете. Изглежда, че употребата на *NGT* вече е реалност в много случаи, вероятно улеснена от работата с микроорганизми в контролирани условия и от факта, че крайният продукт не е цел. **В рамките на биоикономиката е много вероятно приемането на *NGT* да бъде по-бързо** в сравнение с микроорганизмите, произвеждащи промишлени биомолекули (напр. биогорива). **В областта на фармацевтичните и козметичните продукти**, получени от микроорганизми, има **недостиг на данни**, но се счита, че това е една от много важните области на приложение на *NGT* в продукти, които може вече да са достигнали пазара. В **лекарствения сектор** има **обещаващи начини на използване на техники, основани на *CRISPR***, и други *NGT* за справяне с няколко заболявания при хората, като в много случаи заявленията вече са достигнали до пациенти във фаза I и фаза I/II клинични изпитвания. Освен това благодарение на гъвкавостта на *CRISPR/Cas*, както по отношение на спецификата на последователността, така и по отношение на различните употреби, тя вече се прилага за търсенето на **решения за бързо откриване на COVID-19**, както и при някои терапевтични възможности срещу болестта.

Базата данни с приложения за *NGT* посочва **Съединените щати и Китай като най-често срещаните страни на произход**, особено в най-близките до пазара етапи. ЕС, по-специално **Германия и Франция, също участват активно в използването на *NGT***. Благодарение на гъвкавостта и достъпността на *NGT* (особено *CRISPR*) няколко развиващи се страни също имат разработки в тази област, най-вече в селскостопанския сектор.

NGT, особено базираните на *CRISPR*, се използват активно и във все по-голяма степен във всички анализирани сектори. Приложенията на *NGT* на етап пуснати на пазара или в етап преди пускане на пазара все още са малко, но **на етап R & D наборът от разработки в областта е много богат**. Благодарение на своята гъвкавост, достъпност и лекота на използване, *CRISPR* отваря вратите за няколко нови възможности и се очаква много други приложения да се появят в бъдеще и в крайна сметка да достигнат до пазара.

Продуктите на *NGT* и техните приложения биха могли да донесат ползи за обществото в ЕС и да се справят с основните предизвикателства – от издръжливостта и устойчивостта в системата на хранително-вкусовата промишленост до модерните терапии и разработването на ваксини в лекарствения сектор. Въпреки това са изразени **опасения, свързани с безопасността и околната среда**, успоредно с опасенията, свързани с отрицателните последици от неизползването на продукти от *NGT*. Заинтересованите страни имат различни и често противоположни мнения относно *NGT* и техните продукти. Всяко по-нататъшно действие на политиката следва да има за **цел да се извлекат ползите от иновациите, като същевременно се обърне внимание на опасенията**; следва да се положат усилия за съгласуване на

противоположните мнения, за да се намери обща основа за решаване на проблемите, установени в хода на развитие, употреба, разработване и влагане на новите геномни техники.

Една **по-устойчива хранително-вкусова промишленост е ключова цел на Европейския зелен пакт**, и по-специално на стратегиите „от фермата до трапезата“ и за биологичното разнообразие. За да се даде възможност на продуктите от *NGT* да допринесат за устойчивостта, следва да се обмисли подходящ механизъм за оценка на ползите и рисковете от тях. В същото време **приложенията на *NGT* в селскостопанския сектор не следва да подкопават други аспекти на устойчивото производство на храни**, например по отношение на биологичното земеделие.

Бъдещите действия в областта на политиката също ще трябва да бъдат насочени към **преодоляване на пропуските в знанията и ограниченията, установени в повечето доклади, проучвания и научни разработки**. Данните за безопасност са налични главно за редактиран геном при растенията, което затруднява извличането на съответните заключения относно други техники и приложения при животни и микроорганизми. Би било разумно да се генерира съответна информация и в тези области. Освен това следва да се **проучи допълнително въздействието на бизнес моделите и патентната система върху *NGT* и техните ползватели**. И накрая, следва да се положат **повече усилия за информиране и ангажиране на обществеността във връзка с *NGT* и за оценка на техните мнения**.

Като част от фармацевтичната стратегия следва да се **обърне дължимото внимание и на специфичните характеристики на лекарствените продукти**.

Законодателството в областта на ГМО определя строги изисквания и процедури за безопасност. Въвеждането на строги насоки за оценка на риска в законодателството ограничава оценката на всеки отделен случай и затруднява адаптирането на изискванията за оценка на риска към научния напредък; това изглежда се отнася в голяма степен за *NGT*.

Освен това, както бе заключено от ЕОБХ, подобни продукти със сходни рискови профили могат да бъдат получени с конвенционални техники за размножаване, някои техники за редактиране на генома и цисгенеза. Може да не е оправдано да се прилагат различни нива на регулаторен надзор по отношение на сходни продукти със сходни нива на риск.

В този научен преглед са идентифицирани **редица предизвикателства, свързани с капацитета на законодателството в областта на ГМО, което трябва да бъде в крак с научните достижения**. Законодателството в областта на ГМО има ясни предизвикателства при прилагането и **изисква спорно правно тълкуване за справяне с новите геномни техники и приложенията им**. Налице са **сериозни признаци, че законодателството не е подходящо за целта на някои *NGT* и техните продукти и че то трябва да бъде адаптирано към научния и технологичен напредък**. Следва да се потвърди дали е необходимо адаптиране на законодателството и ако е така, каква форма следва да приеме и какви политически инструменти следва да се използват, за да може законодателството да бъде издръжливо, съобразено с бъдещето и еднакво прилагано, както и да допринася за устойчива агрохранителна верига.

Трябва да бъдат разработени, изпитани и валидирани надеждни, точни, акуратни и достъпни методи за детекция, диагностика и откриване на *NGT* в различни матрици, за да може да бъде обезпечена сигурността и здравето и благосъстоянието на хора и животни и биоразнообразието в околната среда и не на последно място да бъде сведен до минимум риска от нежелани ефекти и фенотипни изяви, резултат от новите геномни техники.

Изготвил:

Красимира Захариева,

Главен експерт в дирекция „ОРХВ“ към ЦОРХВ

Използвана литература:

- *Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16 SWD(2021) 92*
- *Current and future market applications of new genomic techniques - C. PARISI, E. RODRÍGUEZ-CEREZO, Science for Policy report by the Joint Research Centre (JRC), European Commission*
- *New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review - Broothaerts, W., Jacchia, S., Angers, A., Petrillo, M., Querci, M., Savini, C., Van den Eede, G. and Emons, H. , Technical report by the Joint Research Centre (JRC), European Commission*
- *Overview of EFSA and European national authorities' scientific opinions on the risk assessment of plants developed through New Genomic Techniques - European Food Safety Authority (EFSA), Konstantinos Paraskevopoulos and Silvia Federici*
- *COMMISSION STAFF WORKING DOCUMENT - Study on the status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16*
- *THE EUROPEAN COMMISSION STUDY ON THE STATUS OF NEW GENOMIC TECHNIQUES IN THE EUROPEAN UNION - COMMUNICATION FROM THE EUROPEAN UNION - Committee on Sanitary and Phytosanitary Measures*
- <https://www.biotechniques.com/crispr/the-crispr-answer-to-antibiotic-resistance/>
- https://www.genscript.com/crispr-products.html?src=google&gclid=CjwKCAjwj8eJBhA5EiwAg3z0m5-wtevwvdgWXnH_SiJogbIZhr-Yj5RFJH9rURITOFp4p_MwQkLc_BoCDxIQAvD_BwE
- *CRISPR/Cas System: A Potential Technology for the Prevention and Control of COVID-19 and Emerging Infectious Diseases - Ronghua Ding, Jinzhao Long, Mingzhu Yuan, Yuefei Jin, Haiyan Yang, Mengshi Chen, Shuaiyin Chen and Guangcai Duan*
- *Harnessing the CRISPR-Cas Systems to Combat Antimicrobial Resistance - Cheng Duan, Huiluo Cao, Lian-Hui Zhang and Zeling Xu*
- <https://www.nytimes.com/2019/10/28/health/crispr-genetics-antibiotic-resistance.html>
- *CRISPR-Directed Microbiome Manipulation across the Food Supply Chain - Rodolphe Barrangou and Richard A. Notebaart*
- *CRISPR-based antimicrobials to obstruct antibiotic-resistant and pathogenic bacteria - Dennise Palacios Araya, Kelli L. Palmer, Breck A. Duerkop*

- *Genome Editing in Bacteria: CRISPR-Cas and Beyond* - Ruben D. Arroyo-Olarte, Ricardo Bravo Rodríguez and Edgar Morales-Ríos
- *CRISPR-Cas system in oral microbiome: from immune defense to physiological regulation* - Tao Gong, Jumei Zeng, Boyu Tang, Xuedong Zhou, and Yuqing Li
- *Editing the microbiome the CRISPR way* - Gayetri Ramachandran and David Bikard - <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2018.0103>
- <https://asm.org/Articles/2021/January/Reshaping-the-Gut-Microbiome-Using-New-Genetic-Too>
- *Bacterial resistance to CRISPR-Cas antimicrobials* - Ruben V. Uribe, Christin Rathmer, Leonie Johanna Jahn, Mostafa Mostafa Hashim Ellabaan, Simone S. Li & Morten Otto Alexander Sommer
- https://ec.europa.eu/food/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology/ec-study-new-genomic-techniques_en