

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 28 april 2016

KENMERK CGM/160428-01

ONDERWERP Adviserende aanbiedingsbrief 'Moleculaire karakterisering gg-gewassen door middel van 'Next Generation Sequencing''

Geachte mevrouw Dijkma,

Bij marktaanvragen van genetisch gemodificeerde (gg-)gewassen moeten diverse studies aangeleverd worden om te kunnen beoordelen of er milieurisico's te verwachten zijn. Een deel van deze studies betreft de moleculaire karakterisering van het gg-gewas. Hierbij wordt onder meer in kaart gebracht of de beoogde genen daadwerkelijk zijn ingebracht, er nog andere DNA-sequenties onbedoeld zijn ingebouwd en er mogelijk endogene plantengenen zijn verstoord.

De laatste jaren is het met behulp van 'Next-Generation Sequencing'¹ (NGS) steeds eenvoudiger en goedkoper geworden om het genoom (het erfelijk materiaal) snel in kaart te brengen. Dit heeft tot gevolg dat sommige aanvragers ervoor kiezen om een gg-gewas met behulp van NGS moleculair te karakteriseren in plaats van met de klassieke karakteriseringstechnieken. De COGEM heeft laten onderzoeken of deze verandering gevolgen heeft voor de milieurisicobeoordeling van gg-gewassen. Het onderzoek bestond uit een literatuur- en een experimentele studie.

1 Met NGS kan de sequentie van grote stukken DNA bepaald worden, bijvoorbeeld de genomsequentie van een organisme. Een belangrijk verschil met de 'first-generation sequencing' methodiek is dat in een korte doorlooptijd veel sequentiedata worden gegenereerd. NGS wordt daarom ook wel 'high throughput sequencing' genoemd. Er zijn diverse platforms ontwikkeld die gebruik maken van verschillende methodieken. Deze zijn allen gebaseerd op het principe van willekeurig fragmenteren van het te sequensen genoom in kleine overlappende stukjes, het bepalen van hun sequentie, en de uiteindelijke assemblage van de totale genomsequentie waarbij met behulp van bioïnfarmatische analyse alle deelsequenties op de goede volgorde worden gezet.



Hierbij bied ik u het resulterende rapport getiteld '[GM plants compared to the baseline; a whole genome sequencing approach](#)' aan.² Het rapport laat onder meer zien dat NGS geschikt is voor de moleculaire karakterisering van gg-gewassen, mits er aan bepaalde voorwaarden wordt voldaan. Voor de aanpak van het onderzoek en de resultaten verwijst de COGEM naar het onderzoeksrapport. Hieronder zet zij haar conclusies naar aanleiding van de uitkomsten van het onderzoek uiteen.

NGS is geschikt voor moleculaire karakterisering gg-gewas

De COGEM concludeert dat met behulp van NGS een gg-gewas moleculair gekarakteriseerd kan worden. De uitkomsten van NGS-karakterisering voldoen aan de door haar vastgestelde criteria.³

Zij merkt daarbij op dat binnen NGS verschillende methodieken bestaan waarmee een sequentie bepaald kan worden. Daartoe zijn verschillende platforms ontwikkeld. Elk platform kent zijn eigen specifieke kenmerken. Het is van belang dat het inzichtelijk is welk platform voor de karakterisering is gebruikt, omdat de analyse van de verkregen sequentiedata aan eisen moet voldoen die specifiek voor dat betreffende platform gelden. De hoeveelheid aan data die bij NGS gegenereerd wordt, is groot, en deze data moeten met behulp van complexe bio-informatica geanalyseerd worden.

Gezien de complexiteit van NGS acht de COGEM het essentieel dat de aanvrager inzicht biedt in de gevolgde 'sequencing'-methodiek, de toegepaste bioïnfomatische analyses en de daarbij gehanteerde parameters. Daarnaast wijst zij op het belang dat de gegevens op overzichtelijke wijze gepresenteerd worden zodat deze voor risicobeoordelaars en derden inzichtelijk zijn. Op deze manier kan beoordeeld worden of de karakterisering voldoende betrouwbaar is uitgevoerd en voldoet aan de wetenschappelijke standaarden (zie bijvoorbeeld Sims *et al.* (2014)⁴).

De COGEM wijst erop dat de door NGS verkregen sequenties van alle in het gewas ingebrachte DNA-fragmenten (de zogenaamde inserts), overgangen naar het flankerende plantengenoom, en insert-flankerende regio's onomstotelijk vastgesteld dienen te zijn. Een bevestigende alternatieve 'sequencing'-methode en bioïnfomatische analyse kunnen daarbij van waarde zijn.

2 Schouten HJ *et al.* (2015). GM plants compared to the baseline; a whole genome sequencing approach. COGEM onderzoeksrapport CGM 2015-07

www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/baseline-genoomvariatie-van-planten

3 COGEM (2014). Signalering heroverweging van de criteria voor de moleculaire karakterisering bij markttoelatingen van gg-gewassen. COGEM signalering CGM/140929-02

4 Sims D *et al.* (2014). Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. Nature Reviews | Genetics 15: 121-132



NGS levert meer informatie over (gg-)gewas dan klassieke technieken

De COGEM merkt op dat het met behulp van NGS méér informatie over het genoom van een (gg-)gewas wordt verkregen dan met de eerder gebruikte karakteriseringsmethodieken.

Ten eerste kunnen alle verschillen ten opzichte van de niet-gemodificeerde ouderlijn (het conventionele gewas) in kaart worden gebracht door het genoom van de gg-plant en de ouderlijn met elkaar te vergelijken. De COGEM merkt op dat er binnen een gewas altijd genetische variatie aanwezig is, maar wijst er op dat deze ‘baseline’-variatie niet relevant is voor de milieurisicobeoordeling van een gg-gewas. Deze extra informatie kan daarom bij de risicobeoordeling buiten beschouwing gelaten worden.

Ten tweede laten de experimenten in het rapport zien dat NGS kleinere fragmenten kan detecteren dan de klassieke karakteriseringstechnieken. Deze kleine fragmenten werden bij een zogeheten ‘primaire transformant’ aangetroffen. Na genetische modificatie van een plant wordt de ontstane gg-plant opgenomen in het veredelingsprogramma en een aantal malen met andere planten gekruist. Bij elke kruisingsstap worden nakomelingen met de gewenste eigenschappen geselecteerd. Sequenties die niet voor een eiwit coderen en sequenties die niet voor gewenste eigenschappen coderen, kunnen daarbij verloren gaan. De kans dat de bovengenoemde kleine fragmenten voor een eiwit coderen, is zeer klein. Daarvoor moet namelijk ook aan andere voorwaarden, zoals de aanwezigheid van de juiste regulatiesignalen, worden voldaan. Er zijn bij de COGEM geen gevallen bekend waarbij kleine fragmenten in gg-gewassen tot milieurisico’s hebben geleid.

Conclusie en advies

Samenvattend concludeert de COGEM dat NGS waardevol is voor de moleculaire karakterisering van een gg-gewas en naar verwachting de komende jaren steeds vaker gebruikt zal gaan worden. Indien NGS wordt toegepast, is het van belang dat de aanvrager inzicht geeft in de gebruikte methodiek en bioïnfarmatische analyses, zodat derden kunnen nagaan of deze voldoen aan de wetenschappelijke standaarden.

NGS is een nieuwe moleculaire karakteriseringstechniek waarbij risicobeoordelaars uit moeten gaan van de betrouwbaarheid van de door de aanvrager gegenereerde sequentiedata en de interpretatie daarvan. Alleen de bioïnfarmatische analyses die op deze data zijn uitgevoerd, zijn inzichtelijk voor de risicobeoordelaars. Omdat deze analyses complex kunnen zijn en zich bovendien snel ontwikkelen, acht de COGEM het van belang dat de bioïnfarmatische analyses voorafgaand aan het beoordelingsproces steekproefsgewijs herhaald kunnen worden ter verificatie.

Uit efficiëntie overwegingen adviseert de COGEM om deze verificatie-analyses centraal door een Europese instantie uit te laten voeren. Vanzelfsprekend dient deze instantie hiervoor te beschikken over de benodigde middelen en expertise, en moeten de aanvragers de ruwe genoomsequenties aan deze instantie aanleveren.



Gezien het bovenstaande adviseert de COGEM u om in overleg te treden met de Europese Commissie over de Europese instantie die met de steekproefsgewijze controle van de NGS data belast kan worden.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM