

Advies betreffende: **Insect resistant and glufosinate ammonium tolerant transformation event 1507 maize**

Kennisgever: **Pioneer**

COGEM kenmerk
CGM/030115-01

BGGO nummer
C/NL/00/10

Datum advies
15 januari 2003

Inleiding

In 2000 is een aanvraag ingediend door Pioneer Overseas Corporation voor import en verwerking van de genetisch gemodificeerde maïslijn 1507. Deze maïslijn is door de inbouw en de expressie van het cry1F gen minder gevoelig voor plaaginsecten, met name de Europese maïsboorder, en is door de expressie van het pat gen, tolerant tegen het herbicide glufosinaat-ammonium. De aanmelding betreft import, opslag en verwerking tot producten voor voedings- en veevoedertoepassingen en betreft niet de teelt van maïs in Europa. De COGEM heeft op basis van het dossier op 19 maart 2001 en 25 maart 2002 verklaard dat er onvoldoende informatie aanwezig is om een advies te kunnen geven over de aanvraag. Op 19 maart 2001 is er gevraagd om aanvullende informatie met betrekking tot de moleculaire karakterisatie van de vector, insert en de maïslijn 1507, mogelijke allergeniciteit en toxiciteit, en additionele veldproef-gegevens. Op 25 maart 2002 is er gevraagd om aanvullende informatie over de equivalentie van het microbieel- en plant-geproduceerde eiwit, aangezien de aanvrager een deel van de experimenten heeft uitgevoerd met microbieel geproduceerd eiwit in plaats van met plant geproduceerd eiwit. Daarnaast is er aanvullende informatie gevraagd met betrekking tot de expressie van het pat eiwit en de mogelijke risico's van het tot expressie komen van de open leesramen 3 en 4 (ORF 3 en ORF4). Met betrekking tot de veevoederveiligheid is het RIKILT gevraagd om advies.

Modificatie

Door middel van de transformatie van maïs-embryo's met 'particle acceleration' is de maïslijn 1507 gemodificeerd met een DNA fragment dat de volgende sequenties bevat:

- ubiZM1(2) een ubiquitine promotor van *Zea mays*;
- cry 1F een synthetische versie van het getrunceerde cry1F gen van *Bacillus thuringensis* subsp. *Aizawai*;
- ORF25PolyA een terminator van *Agrobacterium tumefaciens* pTi15955;
- CaMV 35 S promotor, 35S promotor van Cauliflower mosaic virus;
- pat een synthetisch glufosinaat-ammonium tolerantiegen, gebaseerd op het phosphinotricine acetyltransferase gen van *Streptomyces viridochromogenes* stamTü494;
- CaMV 35S terminator, 35S terminator van Cauliflower mosaic virus.

Overwegingen en advies

De COGEM heeft na eerdere beoordeling van het dossier de aanvrager verzocht om aanvullende vragen te beantwoorden. De aanvrager heeft deze informatie geleverd en de COGEM is verzocht om te beoordelen of de aanvrager deze vragen in voldoende mate heeft beantwoord. Deze vragen zijn behandeld in de vergadering van de Subcommissie Landbouw, op 17 december 2002. De vragen zullen in de overwegingen en advies afzonderlijk worden beantwoord.

- Is er in voldoende mate aangetoond dat er geen vector (backbone) sequenties in lijn 1507 aanwezig zijn?

De COGEM is van mening dat in voldoende mate bewezen is, met behulp van een Southern blot, dat er geen vector sequenties (backbone) in de maïslijn 1507 aanwezig zijn.

- Gaat de COGEM akkoord met de geleverde detectiemethode?

Het betreft hier een detectiemethode, die specifiek 1507 identificeert. De COGEM is van mening dat het insert welke uniek is voor 1507 aangetoond kan worden. Deze methode zal ook betrouwbaar blijven bij vermeerdering van de uitganglijn 1507.

- Is de equivalentie van het microbieel- en plant-geproduceerde eiwit in voldoende mate aangetoond?

- Is het een bezwaar dat de testen zijn uitgevoerd met cry1F eiwit dat uit bladeren van maïslijn 1507 is geïsoleerd, in plaats van Cry1F eiwit uit graankorrels?

- Is er te verwachten dat er een verschil in post-transcriptionele glycosylering is van het betreffende eiwit in bladeren en in graankorrels?

De COGEM acht dat met behulp van de verschillende analyses is bewezen dat het microbieel- en plant-geproduceerde eiwit vergelijkbaar is. Door middel van bioassays is aangetoond dat de werking van beide eiwitten gelijk is wat betreft het toxisch effect op het doel organisme. Door middel van bepaling van N-terminaal aminozuur sequentie, moleculair gewicht, immunoreactiviteit, glycosylering is aangetoond dat de biochemische eigenschappen gelijk zijn. Dit wordt nogmaals bevestigd door de opnieuw uitgevoerde biochemische karakterisatie met behulp van MALDI-TOF MS (Matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry) en Western blotting. Gezien de gelijkwaardige biologische activiteit tegen het doel organisme is er geen reden om aan te nemen dat de mate van post-transcriptionele glycosylering in de korrels structureel anders zou zijn dan in het blad. De COGEM is van mening dat er geen reden is om aan te nemen dat het cry1F eiwit geïsoleerd uit bladeren anders is dan dat uit graankorrels.

- Is het PAT eiwit dat tot expressie komt in 1507 equivalent aan het PAT eiwit zoals door de toegelaten lijn T25 wordt geproduceerd?

De COGEM acht dat er in voldoende mate is aangetoond dat het PAT eiwit zoals dat tot expressie komt in 1507 equivalent is aan het PAT eiwit als geproduceerd in T25, aangezien het gebruikte genconstruct in beide gevallen identiek is en ook de resultaten van de Western blot identiek zijn voor beide eiwitten.

- *Is in voldoende mate aangetoond dat ORF3 en ORF4 niet tot expressie komen in maïslijn 1507?*

- *Zou een zeer lage expressie van de mogelijke gevormde eiwitten risico's vormen voor mens en milieu?*

Door de gekozen experimentele aanpak, waarbij metabool actieve zeer jonge zaden zijn gebruikt, is aannemelijk gemaakt dat de beide ORF's niet of nauwelijks tot expressie komen. Er is aangetoond dat beide ORF's niet in detecteerbare hoeveelheden tot expressie komen. Bij de herhalingsexperimenten zijn de juiste controles gebruikt die een expressie van het maïs eigen gen *dapA* en het *Cry1F* laten zien. Hieruit kan geconcludeerd worden dat expressie van ORF3 en ORF4 niet of nauwelijks optreedt. ORF4 zou theoretisch als doorleesproduct van het *cry*-gen (RT-PCR) afgelezen kunnen worden, maar het is hoogst onwaarschijnlijk dat een dergelijk mRNA zou worden vertaald in een eiwit. Daarbij is het zeer waarschijnlijk dat een eventueel toch gevormd chimeer eiwitproduct instabiel zal zijn. Bovendien is er aangetoond dat beide ORF sequenties geen homologie vertonen met bekende toxinen en allergenen.

Gezien het bovenstaande acht de COGEM dat in het geval van een zeer lage expressie van mogelijke gevormde eiwitten er geen risico's te voorzien zijn en dat derhalve de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

Conclusies en Advies

Al het voorgaande in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat er in voldoende mate antwoord is gegeven op de door de COGEM gestelde vragen. Op basis van de resultaten van de (extra) analyses adviseert de COGEM dat met het op de markt brengen (import en verwerking) van maïslijn 1507 de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.