COMMISSIE
COGEM
GENETISCHE
MODIFICATIE

BEZOEKADRES:
A. VAN LEEUWENHOEKLAAN 9
3721 MA BILTHOVEN

POSTADRES:
POSTBUS 578
3720 AN BILTHOVEN

TEL.: 088 689 7177
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mr. drs. A.W.H. Bertram
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 3 november 2026
KENMERK CGM/261103-01
ONDERWERP Advies Inschaling van productie van nieuw ontworpen synthetische eiwitten

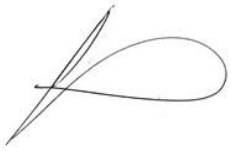
Geachte mevrouw Bertram,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de inschaling van werkzaamheden met nieuw ontworpen sequenties coderend voor eiwitten die vezels vormen (IG 260045_001), ingediend door The Protein Express B.V. te Breda, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:
De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van de productie van niet-natuurlijke – synthetische – eiwitten in bacteriën en schimmels, deels is ontworpen met artificiële intelligentie (AI). De eiwitten bestaan uit een repeterende sequentie van vijf aminozuren en vormen vezels, waarmee de aanvrager garen en textiel wil maken.
Voor één eiwit, Sol fibre-1, dat niet is ontworpen met AI, zijn toxiciteitstesten uitgevoerd en is de sequentie- en structuurovereenkomst met andere eiwitten onderzocht. De COGEM merkt op dat de gebruikte testsystemen minder geschikt zijn om mogelijke toxiciteit aan te tonen. Op basis van de sequentie- en structuurvergelijkingen zijn geen aanwijzingen om aan te nemen dat Sol fibre-1 een allergeen of toxine is, of eigenschappen heeft vergelijkbaar met prionen. De varianten die met AI worden ontworpen zijn uitgekozen vanwege hun vermogen om vezels te vormen. De aanvrager verwacht dat deze eiwitten een vergelijkbare structuur hebben als Sol fibre-1 en dat ze geen biologische activiteit vertonen.
De COGEM is van oordeel dat het risico voor mens en milieu bij de voorgestelde werkzaamheden op ML-I verwaarloosbaar klein is. De COGEM merkt op dat het nieuwe, niet-natuurlijke eiwitten betreft en dat er nog onzekerheden zijn over de stabiliteit, afbreekbaarheid en mogelijke aggregatie van deze eiwitten. Ze merkt op dat uit voorzorg lozing van de eiwitten, de coderende sequenties en de geïnactiveerde ggo's onwenselijk is, totdat meer bekend is over de betreffende eiwitten en hun eigenschappen.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Bureau ggo, Afdeling Gentechnologie en Biologische Veiligheid, RIVM
- Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal, Ministerie van IenW

Advies Inschaling van productie van nieuw ontworpen synthetische eiwitten

COGEM-advies CGM/261103-01

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over een verzoek tot inschaling van werkzaamheden met sequenties die nieuw zijn gecreëerd, deels met behulp van artificiële intelligentie (AI) (IG 260045_001). De aanvraag is afkomstig van The Protein Express B.V. te Breda. De nieuw ontworpen sequenties zijn ontworpen door een andere partij dan de aanvrager en coderen voor zogenoemde bèta-solenoïde eiwitten, bestaande uit een korte repeterende sequentie. De eiwitten vormen vezels, waarmee de aanvrager onder andere garen en textiel wil produceren. De aanvrager is voornemens deze verschillende nieuw ontworpen eiwitten te produceren in bioreactoren en de productie hiervan te optimaliseren. Hiervoor zullen de nieuw gecreëerde (de novo ontworpen) sequenties tot expressie worden gebracht in verschillende micro-organismen die zijn opgenomen op Bijlage 2, lijst A1, van de Regeling ggo.[1] De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over werkzaamheden met door AI ontworpen sequenties.

2. Achtergrondinformatie over bèta-solenoïde eiwitten

Repeterende aminozuursequenties komen van nature voor en hebben veel verschillende soorten functies. Bèta-solenoïdes zijn een klasse van tertiaire eiwitstructuren die uit dergelijke herhalende sequenties zijn opgebouwd. De herhalende sequentie bij bèta-solenoïdes vormt bèta-strengen (*beta-sheets*) en is gemiddeld 12 tot 30 aminozuren lang.[2] De herhalingen van bèta-strengen resulteren in een lange cilindrische spoel (een solenoïde) – vergelijkbaar met een ouderwets, draaiend, telefoonkoord. De binnenkant van de spoel is overwegend hydrofoob.[3]

De kortste van nature voorkomende bèta-solenoïde maakt drie omwentelingen om de as van de spoel, maar er zijn ook bèta-solenoïdes met meer dan 80 omwentelingen.[4,5] Bèta-solenoïdes vormen structurele domeinen in onder andere verschillende bacteriële en virale virulentiefactoren, toxines, antivrieseiwitten en functionele eiwit-aggregaten (amyloïden).[6,7] Ook zijn er prionen bekend met een bèta-solenoïde structuur.[8]

Omdat repeterende eiwitten als (bèta-)solenoïdes relatief eenvoudig te ontwerpen en aan te passen zijn,[9] worden deze geregeld synthetisch ontworpen om als nanomateriaal of drager (*scaffolds*) te dienen voor onderzoek aan andere eiwitten en eiwitdomeinen.[10,11,12,13,14] Een aparte klasse van bèta-solenoïdes die hiervoor gebruikt wordt is de *pentapeptide repeat family*. Bèta-solenoïdes uit deze familie bestaan uit een herhalende sequentie van vijf aminozuren (*repeat five residues*; RFR) en vormen een hoekige spoel met vier redelijk platte zijden.[15] In tegenstelling tot veel ander repeterende sequenties is de spoel zeer recht, met een diameter die vergelijkbaar is met die van DNA.[16,17] Eén van nature voorkomende RFR-bèta-solenoïdes is een antivrieseiwit uit de mot *Choristoneura fumiferana*.[18]

2.1 De bèta-solenoïde Sol fibre-1

De aanvrager is voornemens om onder andere een RFR-bèta-solenoïde te produceren die zij Sol fibre-1 heeft genoemd. Sol fibre-1 is een nieuw ontworpen eiwit, waarbij bij het ontwerp geen gebruik is

gemaakt van AI. Sol fibre-1 bestaat uit een sequentie van vijf aminozuren die zich repeteert en daarbij een lange spoel vormt;[17] de vezelstructuur die de aanvrager wil produceren. Aan het begin en einde van deze RFR-bèta-solenoïde worden relatief korte alfa-helix vormende *capping*-sequenties toegevoegd. Er worden verschillende versies van deze capping-sequenties gebruikt, die nieuw ontworpen zijn of gebaseerd zijn op sequenties die in de literatuur zijn beschreven. De capping-sequenties zijn nodig om het 'ontrafelen' van de spoelvorm tijdens de productie tegen te gaan.[19,20]

2.1.1 *Onderzoek naar mogelijke toxiciteit van Sol fibre-1*

De aanvrager heeft de toxiciteit van Sol fibre-1 laten onderzoeken in enkele gestandaardiseerde tests met bacteriën (*Vibrio fischeri*), algen (*Desmodesmus subspicatus*)[21] en watervlooien (*Daphnia magna*)[22]. Bij dergelijke testen wordt de EC50-waarde bepaald: de concentratie waarbij, na een vooraf bepaalde blootstellingsduur, een 50% afname wordt waargenomen van respectievelijk de bioluminescentie, de groei(snelheid), of mobiliteit. De aanvrager concludeert uit deze tests dat Sol fibre-1 zelfs bij hoge concentraties minder dan 50% groeiremming veroorzaakt en dat er derhalve geen aanwijzingen zijn voor toxiciteit van Sol fibre-1.

2.1.2 *Homologie van Sol fibre-1 met bekende allergenen, toxines en prionen*

Sol fibre-1 bevat geen domeinen die katalytische activiteit vertonen. De aanvrager heeft de homologie van de sequentie van Sol fibre-1 vergeleken met bekende allergenen, toxines, en prionen die opgenomen zijn in openbare databases. De aanvrager heeft geen relevante homologie gevonden met allergenen, prionen of toxinen. Daarnaast is de structuur van Sol fibre-1 vergeleken met enkele mogelijk schadelijke bèta-solenoïdes. Hierbij werd, anders dan de verwachte homologie met de algemene structuur van de bèta-solenoïde, geen homologie gevonden. De aanvrager concludeert hieruit dat Sol fibre-1 eveneens een bèta-solenoïde structuur heeft en er geen functionele overlap is met deze schadelijke bèta-solenoïdes.

2.2 Overige aangevraagde sequenties

Naast de nieuw ontworpen sequentie van Sol fibre-1 is de aanvrager voornemens andere nieuwe RFR-bèta-solenoïdes te produceren. Hierbij wordt een generatief in-house AI-model gebruikt om verschillende aminozuursequenties te ontwerpen waarvan verwacht wordt dat deze een RFR-bèta-solenoïde vouwing hebben. De structuur van de ontworpen RFR-bèta-solenoïdes wordt vervolgens geanalyseerd met behulp van verschillende andere 3D-eiwitstructuur -voorspellingsmodellen, zoals AlphaFold. Alleen RFR-bèta-solenoïdes en *capping*-sequenties waarvan de voorspelde structuur minder dan 1 Å afwijkt tussen deze modellen worden door de aanvrager gebruikt.

De aminozuursequenties van de nieuw ontworpen RFR-bèta-solenoïdes verschillen – met een sequentiehomologie van 25-50% – zeer sterk van Sol fibre-1. De aanvrager geeft aan dat ondanks de andere aminozuursequenties, de verwachte 3D-structuren overeenkomen met die van Sol fibre-1. De aanvrager geeft aan dat de algemene vouwingsstructuur van deze eiwitten bevestigd zal worden met circulair dichroïsme, waarbij de secundaire structuur van eiwitten, zoals bèta-sheets, met behulp van gepolariseerd licht bestudeerd kan worden.

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is voornemens werkzaamheden uit te voeren met de nieuw ontworpen sequentie coderend voor het bèta-solenoïde genaamd Sol fibre-1, en met sequenties coderend voor de novo

ontworpen RFR-bèta-solenoïde eiwitten. Deze sequenties zullen worden gekloneerd in een pUC19(-afgeleide) vector in *Escherichia coli* K12 en tot expressie worden gebracht in verschillende apathogene schimmels (*Talaromyces macrosporus*, *Talaromyces emersonii*, *Mycothermus thermophilus*, *Thermoascus crustaceus*, *Talaromyces columbinus*, *Myceliophthora fergusii*, *Myceliophthora thermophila*, *Talaromyces versatilis*, *Talaromyces verruculosus*, *Thermoascus aurantiacus*, *Talaromyces aculeatus* en *Talaromyces derxii*). Al deze micro-organismen staan vermeld op Bijlage 2, lijst A1, met apathogene gastheren van de Regeling ggo.[1] De aanvrager is voornemens om deze genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) in bioreactoren op te groeien en de productie van de verschillende vezelvarianten te optimaliseren.

De aanvrager verzoekt deze handelingen uit te mogen voeren op ML-I, waarbij de onderstaande aanvullende voorschriften voor handelingen in een bioreactor in acht worden genomen:

- de bioreactor heeft geen grotere effectieve inhoud dan 100 liter;
- de bioreactor is zo geconstrueerd, dat de verspreiding van ggo's is beperkt;
- de bemonstering van de bioreactor, de toevoeging van materiaal aan de bioreactor en de overdracht van materiaal naar een ander systeem, geschiedt zodanig dat de vorming en verspreiding van aërosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
- de lozing van de inhoud van de bioreactor geschiedt nadat de eventueel aanwezige ggo's volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd.

4. Overweging en advies

De aanvrager is voornemens om RFR-bèta-solenoïdes te kloneren in *E. coli* K12 en deze tot expressie te brengen in verschillende apathogene schimmels, welke alle op Bijlage 2, lijst A1, van de Regeling ggo staan.[1] De sequenties zullen worden ingebracht in pUC19(-afgeleide)-vectoren, welke op Bijlage 2, lijst A2, met vectoren in de Regeling ggo vermeld wordt.[1] Werkzaamheden met deze vectoren kunnen op ML-I uitgevoerd worden, wanneer gebruik wordt gemaakt van sequenties die niet voldoen aan de bij Bijlage 2, lijst A3, vermelde criteria. Bijlage 2, lijst A3, sluit sequenties uit die coderen voor sterke toxines, virulentiefactoren, oncogenen, integratie- of transpositiefuncties, functies voor overdracht van genetisch materiaal of virale vectorwerking, klinisch relevante antibioticaresistentie, en ongekarakteriseerde sequenties.

4.1 Sol fibre-1

De door de aanvrager gebruikte toxiciteitstesten worden over het algemeen gebruikt om inzicht te geven in potentiële toxische effecten van kleine moleculen die opgenomen worden door organismen en een effect kunnen hebben op bijvoorbeeld de membranen, het metabolisme of het DNA. Sol fibre-1 vormt een groot molecuul, waarvan niet is aangetoond dat deze opgenomen kan worden door de gebruikte organismen. De COGEM merkt op dat de gebruikte testsystemen niet geschikt lijken te zijn om aan te tonen dat eiwitten als Sol fibre-1 niet toxisch zijn. Op basis van de door de aanvrager uitgevoerde sequentieanalyses voor Sol fibre-1 zijn echter geen redenen om aan te nemen dat Sol fibre-1 codeert voor bekende allergenen, toxines en prionen.

Sol fibre-1 bevat geen domeinen die katalytische activiteit vertonen en het eiwit heeft geen homologie met bekende virulentiefactoren, oncogenen of met eiwitten die betrokken zijn bij antibioticaresistentie, integratie- of transpositiefuncties, functies voor overdracht van genetisch materiaal of virale vectorwerking.

4.2 Vergelijking van nieuw synthetisch ontworpen RFR-bèta-solenoïdes met Sol fibre-1

De nieuw-ontworpen RFR-bèta-solenoïdes zijn volgens de aanvrager vergelijkbaar met Sol fibre-1 en worden specifiek geselecteerd vanwege hun structurele eigenschappen. De COGEM is van oordeel dat het onwaarschijnlijk is dat deze nieuw ontworpen sequenties voor katalytische activiteiten coderen. De beoogde varianten worden ontworpen en geselecteerd om hun bèta-solenoïde structuur en zijn structureel gezien vergelijkbaar met Sol fibre-1. De COGEM is van oordeel dat de nieuw ontworpen RFR-bèta-solenoïdes derhalve vergelijkbaar zijn met Sol fibre-1.

4.3 Conclusie

Alles in overweging nemende, stemt de COGEM in met de door de aanvrager voorgestelde inschaling op ML-I van de beschreven werkzaamheden met *E. coli* K12 en de verschillende apathogene schimmels die sequenties coderend voor Sol fibre-1 en de nieuw ontworpen RFR-bèta-solenoïdes bevatten. De COGEM is van oordeel dat bij het uitvoeren van de voorgenomen werkzaamheden met deze ggo's op dit inperkingsniveau en onder navolging van de aanvullende voorschriften, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De COGEM wijst erop dat voor sporenproducerende schimmels, zoals enkele van de apathogene schimmels waarmee de aanvrager wil werken, in de Regeling ggo standaard aanvullende voorschriften zijn opgenomen om verspreiding tegen te gaan.[1]

5. Signalerende opmerkingen

Bèta-solenoïde structuren spelen een rol in eiwit-eiwit- en eiwit-DNA-interacties en in sommige gevallen in zelf-assemblerende fibrillen, zoals amyloïden, of curli-eiwitten en prionen. Dergelijke interacties en zelfassemblage-gedrag zijn op basis van sequentie- en structuurvoorspellingen niet volledig te voorspellen. De door de aanvrager uitgevoerde in silico-analyses suggereren dat de synthetische RFR-bèta-solenoïdes geen biologische homologen hebben. De COGEM merkt op dat op basis van de huidige kennis over deze *de novo* eiwitten niet met zekerheid geconcludeerd kan worden dat mogelijk schadelijke aggregaties of interacties met bestaande biologische structuren van de te produceren RFR-bèta-solenoïde eiwitten niet kunnen optreden.

De COGEM beschikt daarnaast niet over informatie over de stabiliteit en afbreekbaarheid van de aangevraagde RFR-bèta-solenoïde eiwitten. Het is ook onduidelijk of de uitgevoerde toxiciteitstesten op algen en watervlooien voldoende zijn om toxiciteit op bijvoorbeeld zoogdieren en planten, of andere nadelige effecten uit te sluiten. De COGEM wijst er om die reden op dat uit voorzorg lozing van de inhoud van de bioreactor – ook na correcte afdoding van de ggo's overeenkomstig de aanvullende voorschriften voor werkzaamheden in een bioreactor – mogelijk onwenselijk is, aangezien momenteel onbekend is hoe de mogelijk zeer stabiele eiwitten zich in het milieu gedragen en of dit tot nadelige effecten zou kunnen leiden.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2013). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. wetten.overheid.nl/BWBR0035072 (bezocht: 29 oktober 2026)
2. di Domenico T et al. (2014). RepeatsDB: a database of tandem repeat protein structures. Nucleic Acids Res. 42: D352–D357
3. Kajava AV & Steven AC (2006). The turn of the screw: Variations of the abundant β-solenoid motif in passenger domains of Type V secretory proteins. J. Struct. Biol. 155: 306-315

4. Baumann U et al. (1993). Three-dimensional structure of the alkaline protease of Pseudomonas aeruginosa: A two-domain protein with a calcium binding parallel beta roll motif. EMBO J. 12: 3357-3364
5. Kajava AV (2001). Review: Proteins with repeated sequence—structural prediction and modeling. J. Struct. Biol. 134: 132-144
6. Kajava AV & Steven AC (2006). β-rolls, β-helices, and other β-solenoid proteins. Adv. Protein Chem. 73: 55-96
7. Leinala EK et al. (2002). A beta-helical antifreeze protein isoform with increased activity. Structural and functional insights. J. Biol. Chem. 277: 33349-33352
8. Daskalov A et al. (2014). Contribution of specific residues of the β-solenoid fold to HET-s prion function, amyloid structure and stability. PLoS Pathog. 10: e1004158
9. Javadi Y & LS Itzhaki LS (2013). Tandem-repeat proteins: Regularity plus modularity equals design-ability. Curr. Opin. Struct. Biol. 23: 622-631
10. Lee G et al. (2006). Nanospring behaviour of ankyrin repeats. Nature 440: 246-249
11. Tsai CJ et al. (2007). Principles of nanostructure design with protein building blocks. Proteins 68: 1-12
12. Phillips JJ et al. (2012). Fibrous nanostructures from the self-assembly of designed repeat protein modules. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 51: 13132-13135
13. Binz HK et al. (2005). Engineering novel binding proteins from nonimmunoglobulin domains. Nat. Biotechnol. 23: 1257-1268
14. Karanicolas J et al. (2011). A de novo protein binding pair by computational design and directed evolution. Mol. Cell 42: 250-260
15. Bateman A et al. (1998). Structure and distribution of pentapeptide repeats in bacteria. Protein Sci. 7: 1477-1480
16. Hegde SS et al. (2005). A fluoroquinolone resistance protein from Mycobacterium tuberculosis that mimics DNA. Science 308: 1480-1483
17. MacDonald JT et al. (2016). Synthetic beta-solenoid proteins with the fragment-free computational design of a beta-hairpin extension. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 113: 10346-10351
18. Graether SP et al. (2000). β-Helix structure and ice-binding properties of a hyperactive antifreeze protein from an insect. Nature 406: 325-328
19. Eufemio RJ et al. (2026). Design principles for β-solenoid stability via covalent and electrostatic capping motifs. J. Phys. Chem. Lett. 17: 6730-6735
20. Pretorius D et al. (2026). Designing novel solenoid proteins with in silico evolution. Comm. Chem. 9: 10
21. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Test No. 201: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. www.oecd.org/en/publications/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en.html (bezocht: 29 oktober 2026)
22. OECD. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. www.oecd.org/en/publications/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en.html (bezocht: 29 oktober 2026)