



UTTALELSE VEDRØRENDE MONSANTOS GENMODIFISERTE ÅKERMAIS NK603

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

Dato: 08.03.05

SAMMENDRAG

Denne uttalelsen er utført av Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Faggruppen baserer sin uttalelse av Monsanto genmodifiserte herbicidtolerante NK603 (notifikasjon C/ES/00/01) mais på Monsanto dokumentasjon, European Food Safety Authority (EFSA) sin risikovurdering av NK603 fra 2003 og EFSAs retningslinjer.

Faggruppen finner dokumentasjon vedrørende genmodifisering, molekylærbiologisk karakterisering og analyser av genproduktet fra det rekombinante DNA-fragmentet tilfredsstillende. For dokumentasjon av vesentlig likhet finner Faggruppen at for noen parametre er det ikke lagt fram tilstrekkelig dokumentasjon. For dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet finner faggruppen at dokumentasjon er tilfredsstillende.

Faggruppen konkluderer med at det er blitt utført for få analyser av ernæringsmessige komponenter til å fastslå om den genmodifiserte maisen er vesentlig lik foreldrelinjen. Faggruppen anser imidlertid ikke at analyse av disse komponentene er avgjørende for å vurdere mattrygghet for den aktuelle genmodifiserte maisplanten. Faggruppen mener at NK603 mais ikke medfører endret helserisiko som mat og fôrvare i forhold til annen mais.

NØKKEWORD

Genmodifisert mais, NK603 åkermais, herbicidtoleranse, CP4-EPSPS, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av Monsanto genmodifisert åkermais NK603 (C/ES/98/01) til bruk i næringsmidler. Vurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig av Monsanto. Dokumentasjonen fra Monsanto ble oversendt Faggruppen fra Direktoratet for naturforvaltning i 2005.

Bioteknologinemda behandlet søknaden med notifikasjonsnummer C/ES/00/01 under direktiv 2001/18/EF i 2005, EUs Scientific Committee for Food kom med sin endelige vurdering i

mars 2002 under Ny mat forordning (EF) nr. 258/97 og Rådsforordning 1829/2003 i 2004. EU kommisjonen har foreslått godkjenning, men dette er ikke avgjort ennå

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet i april 2004 har Faggruppen for GMO vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppen for GMO får sakene til behandling, skal søknadene behandles på samme måte som i EU-landene, dvs. ved en noe forenklet risikovurdering. Det vil imidlertid bli tatt hensyn til særnorske forhold der slike kan påvises.

OPPDRAK FRA MATTILSYNET

Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte åkermais NK603 fra Monsanto. I forbindelse med norsk prosess med gjennomføring av EUs regelverk 1829/2003/EF vdr. genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer og ny mat forordningen 258/97/EF, har Helse- og omsorgsdepartementet bedt Mattilsynet om å vurdere genmodifiserte produkter som faller inn under disse.

Mattilsynet ber om at VKM beskriver hvilke kriterier som legges til grunn for risikovurderingene, begrunne eventuelle avvikende syn fra EUs vurderinger og at vurderingene gis på norsk og engelsk. Mattilsynet går ut fra at VKM har tilgang til aktuell dokumentasjon i sakene.

Produktet som ønskes vurdert er:

Genmodifisert mais, type Monsantos NK603 åkermais, unik kode nr. MON-00021-9, til bruk i næringsmidler.

Status i EU: Søknaden under ny matforordningens fullstendige prosedyre under artikkel 7. EUs tidligere vitenskapskomité for næringsmidler ga sin vurdering av produktet 07.02.2002. Validering og publisering av analysemetode og levering av referansemateriale, som er inkludert i henhold til godkjenningskravene i 1829/2003/EF, er slutført. EU kommisjonen har foreslått godkjenning av produktet, men dette er ennå ikke avgjort.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet: 04.03.05

FAGGRUPPENS UTTALELSE

Denne uttalelsen er utført av Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet.

I henhold til tilsendt dokumentasjon fra 2005 er formålet med Monsantos genmodifiserte herbicidtolerante åkermaislinje NK603 å bruke maisen i næringsmidler og fôrvarer.

Uttalelsen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor, det rekombinante DNA fragmentet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allgener, og det nye proteinet.

Genmodifisering

Den genmodifiserte maislinjen NK603 uttrykker glyfosattoleranse pga et bakterie 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat syntetase enzym som uttrykkes av *cp4-epsps*-genet. Enzymet omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, som er en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. Alle planter og mikroorganismer inneholder dette enzymet, noe som dyr ikke gjør. De må dermed få aromatiske aminosyrer fra føden. *Cp4-epsps*-genet fra bakterien *Agrobacterium* stamme CP4 ble klonet inn i plasmidet PV-ZMGT32. Det rekombinante DNA-fragmentet på 6706 basepar fra PV-ZMGT32 plasmidet inneholder to ekspresjonskassetter med et enkelt *cp4-Epsps*-gen i hver kassett. Den første kassetten inneholder en aktinpromoter og et intron (r-act P+I) fra ris, et optimalisert kloroplast overføringspeptid (CTP2), og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). Den andre ekspresjonskassetten inneholder en *e35S*-promoter, et *ZmHSP70* intron *cp4-epsps* gen og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). DNA-fragmentet ble overført til embryomaisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotika-resistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat. Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. De molekylærbiologiske karakteriseringene viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK603 åkermais. Dette fragmentet inneholder:

- a) en fullstendig r-act I, OTP, CP4-EPSPS og NOS3' kassett
- b) en forkortet CP4-EPSPS kassett som består av fullengde r-act P+I, OTP, og 2 bp avkortet *cp4-epsps*-gen, en av nukleotidendringene er en stille mutasjon, den andre fører til en aminosyreendring i posisjon 214, fra leucin til prolin. Proteinene som dannes kalles CP4 EPSPS L214P
- c) 217 baser ekstra er satt inn i 3'-enden av fragmentet. De ekstra basene omfatter en polylinkersekvens og de første 167 bp av risaktinpromoteren. Dette innskuddet har ingen promoteraktivitet.

Molekylærbiologisk analyse viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i NK603 åkermais uttrykker EPSPS-protein som er identisk (med unntak av en aminosyre) med proteinet som uttrykkes i bakterien.

Ved revers transkriptase PCR (RT PCR) ble det påvist et transkripsjonsprodukt som startet inne i det rekombinante fragmentet. Transkripsjonen gikk gjennom NOS-terminatoren og inn i maisgenomets flankerende 3' område. To eller flere mRNA molekyler ble dannet, ett på 1,4 kb (antatt å være *cp4-epsps* L214P transkriptet) og et større som er større enn 1,4 kb (antatt gjennomlesning av NOS). RT PCR viste at kun en svært liten del av det store fragmentet inneholdt *cp4-epsps* sekvens. Dette transkriptet kunne ikke påvises med Northern blot. Transkriptet på 1,4 kb ble påvist med Northern blot.

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK603s DNA-fragment stammer fra foreldrelinjen.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i NK603 er tilfredsstillende.

Strukturell og funksjonell likhet mellom CP4 EPSPS og CP4 EPSPSL214P er undersøkt med røntgenkristallanalyse, variabel løkkestruktur i proteinet som inneholder det nye prolinet, og

domenet som inneholder det nye prolinet. Disse analysene viser at CP4 EPSPS L214P proteinet er strukturelt lik CP4 EPSPS proteinet. Analyse av enzymatisk aktivitet viser ingen forskjell mellom de to proteinene. Fordøyelighetstest viste også at begge proteinene fordøyes like raskt i simulert mage-og tarmsaft.

Mengde CP4-EPSPS i korn er anslått til 0,01 % av den totale proteinmengden.

Krysning over seks generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjon viser at det rekombinante EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

Maisen er testet over 103 feltforsøk siden 1997 i USA og 8 i EU siden 1999. Det er ikke påvist noen agronomiske forskjeller mellom NK603 og foreldrelinjen.

Faggruppen har vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinet til å være tilstrekkelige.

Toleranse for glyfosat (Roundup)

CP4-EPSPS proteinet er tolerant overfor glyfosat. Mengde CP4-EPSPS-protein, målt med ELISA, uttrykt i korn og fôr ble gjennomsnittlig målt til henholdsvis 10,9 µg/g ferskvekt (fra 6,9-15,6 µg/g) og 25,6. µg/g ferskvekt (18,0-31,2 µg/g).

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler er analysert for ernæringsmessige viktige komponenter. Sammenligningene er gjort mellom NK603 og foreldrelinjen, samt kommersielt tilgjengelige maissorter. Det er analysert for 51 forskjellige forbindelser. Faggruppen har merket seg at 15 komponenter (bla. natrium og flere fettsyrer som ikke er listet opp i OECDs konsensusdokument) ikke er analysert i korn og fôrvarer fordi verdiene lå under deteksjonsgrensen for de respektive analysene. Noen av komponentene som OECDs konsensusdokument anbefaler analyser av, er ikke analysert.

Hovedkomponenter:

Dokumentasjonen til notifikasjonen inneholder en kortfattet gjennomgang av produktet.

Det er foretatt en rekke analyser av kontroll- og genmodifisert mais av komponentene aminosyrer, ADF- og NDF-fiber, karbohydrater, vann, aske, total fett, fettsyrer, protein, kalsium, kobber, jern, magnesium, mangan, fosfat, kalium, sink, og vit. E. Analysene er presentert som gjennomsnittsverdier i flere tabeller. Gjennomsnittene består av verdier fra åtte lokaliteter i USA og fire i Europa. De europeiske lokalitetene, to i Nord-Frankrike, en i Sør-Frankrike og en i Italia, er valgt slik at de dekker de miljømessige forhold som mais dyrkes under i Europa. Det er sammenligninger mellom NK603 og foreldrelinjen innenfor hver lokalitet, og mellom lokalitetene. Det er funnet statistiske forskjeller for vann, totalt fett og to fettsyrer. For de statistiske forskjellene som er funnet, ligger verdiene innenfor det naturlige variasjonsområdet på 25 % som foreslått i rapporten til TemaNord i 1998 (TemaNord 1998).

Aminosyrer i maiskorn:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. Det er funnet statistiske forskjeller i seks av atten aminosyrer som er målt. Imidlertid er forskjellene som er påvist små, 1,0 - 6 %. Forskjellene var ikke konsistente over alle undersøkte lokaliteter. Faggruppen

mener at disse forskjellene representerer normale fluktuasjoner mellom de forskjellige lokalitetene.

Sekundære metabolitter og anti-næringsstoffer:

Det er kun dokumentasjon for den sekundære plantemetabolitten fytinsyre. Det er ikke funnet forskjell. Det er heller ikke funnet forskjeller i mengde trypsinhemmer. Andre anti-næringsstoffer som i henhold til OECDs konsensusdokument bør måles for, kan Faggruppen ikke finne er utført.

Faggruppen vil påpeke at flere komponenter ikke er bestemt (*Vitaminene B₁, B₂, B₆, folinsyre, Vit. C, niacin, xantofyller og β-karoten, chymotrypsinhemmer, hydroksaminsyrene DIMBOA og MBO, og selen i genmodifisert og umodifisert foreldreplante (OECD 2002)*), men anser imidlertid ikke at analyse av disse komponentene er avgjørende for å vurdere mattrygghet for den aktuelle genmodifiserte maisplanten.

Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet

Toksisitet

Føringsstudier

Fôring av 700 kyllinger i henholdsvis 43 (hanner) og 44 (hunner) dager, dvs. fra 50 gram til slaktevekt 2 kg, med syv forskjellige maissorter (100 kyllinger i hver gruppe) der iblant NK603- og umodifisert kontrollmais, viste ingen forskjeller i vekstkarakteristikker. Kyllingene ble fôret med henholdsvis 55 %, dag 1-20, og 60 %, dag 20-42, maiskorn i fôret.

Det er utført en studie på mus med CP4-EPSPS protein fremstilt fra genmodifisert *E. coli*. Renheten av proteinet er >90 %. Fôring med 363 mg BSA/kg(kontroll) og 40, 100 og 400 mg CP4-EPSPS-protein/kg kroppsvekt på mus (totalt 50 hann og 50 hunn) vist ingen tegn på toksisk påvirkning, ved grov patologisk undersøkelse, etter 8-9 dager. Føringsforsøket er utført i henhold til EPAs retningslinjer (40 CFR Part 160). Vev som er tatt ut til undersøkelse er: aorta, binyrer, eggstokker, hjjerne, kolon, galleblære, hjerte, nyrer, lunge, lever, livmor, lymfeknuter, mage, milt, muskler, pankreas, prostata, rektum, ryggmarg, spyttkjertel, sædblære, spiserør, testikler, tymus, urinblære og øye. Hule organer ble åpnet og undersøkt. Faggruppen finner denne studien tilfredsstillende. Faggruppen har også vurdert en rekke tilsvarende studier utført med CP4-EPSPS-protein fra andre søknader. Generelt, med unntak for allergene proteiner, er proteiner ikke akuttoksiske.

Det ble utført et 13 ukers føringsforsøk med hann- og hunnrotter, 10 grupper à 20 rotter/kjønn. Fôret bestod henholdsvis av 11 % og 33 % maiskorn fra ± glyfosatbehandlet NK603-planter og ubehandlet korn fra foreldrelinje, samt 33 % fra seks forskjellige referansemaissorter. Det er utført analyser av en rekke organer, bl.a. mikroskopiske undersøkelser av vev fra organene. Det ble ikke påvist noen testrelaterte endringer i de undersøkte parametrene. Faggruppen mangler informasjon om føringsforsøket er blitt utført i henhold til internasjonale retningslinjer for subkroniske tester på dyr.

Det er utført føringsstudier på hann- og hunngris, 72 dyr i hver gruppe. Grisene ble fôret med genmodifisert maiskorn og tre forskjellige umodifiserte maiskorn fra kroppsvekt $22,6 \pm 0,03$

kg til slaktevekt på 116 kg. Fôret innholdt fra 68,1 % (startfôr) til 81,8 % (avslutningsfôr) mais. Det konkluderes med at genmodifisert mais har samme ernæringsverdi som foreldrelinjen og de to andre kontrollmaisene som ble benyttet.

Allergenitet

Sammenligning av et proteins aminosyresekvens med aminosyresekvensen til et kjent allergent protein er en nyttig indikator på allergent potensiale. Aminosyresekvensen til de fleste kjente allergener, deriblant matallergener, er kjent. De viktige IgE-bindingsepitopene, dvs. aminosyresekvenser på 8-12 aminosyrer der IgE binder seg, er kartlagt for mange allergener. Eksakt konservering av epitopesequenser er påvist mellom homologe allergener i forskjellige arter. Sekvenser på CP4-EPSPS-proteinet ble sammenlignet med 567 aminosyresekvenser som er assosiert med allergi og cøliaki. Ingen biologisk signifikant homologi eller sekvenslikheter ble påvist for CP4-EPSPS.

Generelt er allergene proteiner varme- og syrestabile. De er stabile både overfor mage- og tarmsafter, samt at de ofte er hovedprotein komponenter i matvaren. Typiske mengder er fra 1-80 % av proteininnholdet. Mengden av CP4-EPSPS proteinet i kornet er ca. 0,01 % av totalt protein. Det er testet i simulert mage- og tarmsaft, og proteinet brytes ned i løpet av ca. 15 sekunder. Det antas derfor at proteinet også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal. Det er heller ikke blitt påvist at EPSPS-proteiner i forskjellige matplanter og -mikroorganismer som er nevnt ovenfor, er allergener.

Basert på de testene som er omtalt, dvs. at proteinet ikke har aminosyresekvenser som er lik allergene proteiners epitoper, proteinet brytes raskt ned av mage-tarmsafter, mengde av totalt proteininnhold er ca. 0,01 %, og at EPSPS proteinet sannsynligvis bestandig har vært en del av menneskets kost, anser vi det som lite trolig at CP4-EPSPS utgjør et signifikant potensiale for utvikling av større matallergi hos mennesker enn for umodifisert mais.

Aminosyresekvensene til CP4 EPSPS og CP4 EPSPS L214P er sammenlignet med 4677 proteinsekvenser til toksiske proteiner. Aminosyresekvensene til CP4 EPSPS er også sammenlignet med aminosyresekvenser til proteiner, inklusivt farmakologiske aktive proteiner, som finnes i alle tilgjengelige databaser. Det ble bare funnet likheter med homologe EPSPS proteiner. Da CP4-EPSPS proteinet ikke har aminosyresekvenser som kjennetegner et toksisk potensiale i toksiske proteiner, tyder dette på at CP4-EPSPS-proteinet heller ikke har et slikt toksisk potensiale. Dette tyder også på at CP4-EPSPS-proteinet ikke utgjør noen helserisiko. Faggruppen konkluderer med at CP4-EPSPS- og CP4 EPSPS L214P-proteinene sannsynligvis ikke er mer allergene eller toksiske enn villtype EPSPS proteiner, fordi plante-, bakegjær- og bakterie-EPSPS proteiner har vært en del av menneskets kost i lang tid og som sådan er proteinet ikke ansett for å utgjøre en helserisiko.

KONKLUSJON

Faggruppen konkluderer med at det er blitt utført for få analyser av ernæringsrelaterte komponenter for fastsetting av "substantial equivalence".

På bakgrunn av ovenstående gjennomgang av medfølgende dokumentasjon finner vi det imidlertid lite sannsynlig at eksponering for CP4-EPSPS proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig.

Faggruppen mener at NK603 mais ikke medfører endret helserisiko som mat og fôrvarer i forhold til annen mais.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Grethe Foss, Casper Linnestad, Martinus Løvik, Audun Nerland.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

EFSA (2004), "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed". The EFSA Journal 99, pp.1-94.

OECD (2002), "Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6.

TemaNord 1998. Safety Assessment of Novel Food Plants. Chemical Analytical Approaches to the Establishment of Substantial Equivalence. TemaNord 1998: 591. København. Nordisk ministerråd.