



## VURDERING AV SYNGENTA SEEDS GENMODIFISERTE ÅKERMAIS Bt11

**Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer.**

**DATO: 09.02.07**

### SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insektstolerante åkermaislinjen Bt11 fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Mattilsynet om å vurdere den genmodifiserte åkermaislinjen Bt11 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden Bt11 er fremkommet ved innsetting av et syntetisk *cry1Ab* gen som gir insektsresistens og et syntetisk *pat* gen som gir herbicidresistens samt deres regulatoriske gener. Hensikten med Bt11 er motstandsdyktighet mot enkelte insektsarter og herbicider som Basta og Finale.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon henholdsvis fra Nasjonalt folkehelseinstitutt, dokumentasjonen er fra 1997, 1999 og 2000. Bt11 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 99, 2004) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002). Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor og det transgene konstruktet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for enkelte komponenter.

Informasjon vedrørende allergenisitet viser at for de parametre som er målt, har ikke de uttrykte proteinene likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om det uttrykte toksinet Cry1Ab kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av den tilgjengelige informasjonen ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte åkermais Bt11 er forskjellig fra umodifisert mais.

*Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om korn fra Bt11 åkermais er mer allergifremkallende enn umodifisert mais. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos Bt11 åkermais i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab i maiskorn kan være ca. 1,4 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Syngenta Seeds å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac.*

## **NØKKELORD**

Genmodifisert mais, Bt11 åkermais, insektsresistens, herbicidtoleranse, Cry1Ab, PAT, helsemessig trygghet, helse.

## **BAKGRUNN**

Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av Syngenta Seeds genmodifisert åkermais Bt11 til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig av Syngenta Seeds. Dokumentasjonen fra Syngenta Seeds ble sendt til Statens næringsmiddeltilsyn, nå Mattilsynet, i 1999 og 2000.

Folkehelseinstituttet vurderte søknaden i 1997, Gruppen for ny mat under SNTs Vitenskapskomité i 2000. I EU har maisen blitt vurdert og godkjent for import, prosessering og som fôrvare under direktiv 90/220/EC i 1998, som næringsmiddel og næringsmiddelingsredienser under forordning EC 250/97 i 1999, artikkel 5. EFSA's Panel on genetically modified organisms kom med endelige vurdering for markedsføring, utsetting, fôr og industriell prosessering i april 2005 under direktiv 2001/18/EC. Vurderingen fra Faggruppen baserer seg på uttalelsene som er foretatt av Folkehelseinstituttet. Gruppen for ny mat og EFSA's vurderinger samt dokumentasjon fra Syngenta Seeds.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghet sin uttalelse på møtet i april 2004 har Faggruppen vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppen 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**

I møte 17. desember 2006 i Helse- og omsorgsdepartementet ba Mattilsynet Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte åkermais. Bruksområdet som søknaden gjelder for er: import, prosessering, mat og fôr. Bt11 (C/GB/96/M4/1 og C/F/96/50.10) er i 1996 og 1998 søkt markedsført under direktiv 90/220/EC, i 1999 under forordning (EC) 258/97 og i 2005 under direktiv 2001/18/EC. Notifiseringen C/GB/96/M4/1 ble i 1997 vurdert av Nasjonalt folkehelseinstitutt i forhold til risiko for allergi, effekter ved direkte håndtering, bruk som næringsmiddel og miljømessige forhold av helsemessig betydning.

Bt11 er godkjent i EU for import, prosessering og bruk som mat og fôr under direktiv 2001/18/EF, direktiv 90/220/EC, forordning (EC) 258/97 og innmeldt under direktiv 1829/2003/EC som eksisterende produkt. Bt11 er foreløpig ikke godkjent for omsetning i Norge.

Produktet som ønskes vurdert er:

Genmodifisert mais, type Syngentas Bt11 åkermais, unik kode nr. SYN-BT Ø11-1, til bruk som næringsmiddel og fôrvare.

Status i EU: Godkjent som mat, fôr, for import, prosessering og utsetting.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet: 09.02.07

## **RISIKOVURDERING**

### Innledning

Denne vurderingen er utført av Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Faggruppe for genmodifiserte organismer baserer i hovedsak sin uttalelse på de vurderinger av den genmodifiserte insektsresistente åkermais Bt11 som er utført av Folkehelseinstituttet i 1997, Gruppen for ny mat i 2000 og EFSA i 2005.

I henhold til tilsendt dokumentasjon fra 1996, 1999 og 2000 er formålet med Syngentas genmodifiserte insektsresistente og herbicidtolerante åkermaislinje Bt11 å bruke korn og maisprodukter som/eller i matvarer og fôr.

Uttalelsen om den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig fra Folkehelseinstituttet. Uttalelsen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor, det rekombinante DNA fragmentet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener, og nye proteiner.

### Bakgrunnsinformasjon

Hybriden Bt11 åkermais er fremkommet ved at det genetiske konstruktet ble ført inn i protoplaster uten bruk av en DNA transportør. Det er ikke angitt hvilke transformasjonssystem som er benyttet. Maisprotoplasten er transformert med deler av plasmid DNA (plasmidet pZO1502).

Selv om plasmidet pZO1502 inneholder gener som koder for ampicillinresistens (*ampR* gen) som brukes til seleksjon av plasmidet i *E. coli*, er ikke dette genet til stede i Bt11 transformanter. Maistransformanten Bt11 inneholder genet *cryIAb* som koder for Cry1Ab proteinet, som gir insekttoleranse og genet *pat* som gir glufosinattoleranse.

## Vektorkonstruksjon

Transformasjonsplasmidet pZO1502 ble benyttet til å danne den insekt- og glufosinattolerante åkermaislinjen Bt11. AmpR genet ble fjernet fra plasmidet med et restriksjonenzym før transformasjonen.

Genelementer fra plasmid pZO1502 som er satt inn i transformanten:

<i>35S</i>	Blomkål mosaikk virus (CaMV) promoter, 514 basepar (bp)
<i>IVS6</i>	Intron fra mais <i>Adh1-S</i> genet (alkohol dehydrogenase 1S), 472 bp
<i>Cry1Ab</i>	en syntetisk, modifisert versjon av <i>cry1Ab</i> genet, 1845 bp. Koder for Cry1Ab proteinet
<i>NOS-3'</i>	Et 3'-område til nopalinnosinyltransferase genet som ikke blir translatert, men som terminerer transkript og som dirigerer polyadenylering, 270 bp
<i>35S</i>	Blomkål mosaikk virus (CaMV) promoter for <i>pat</i> genet, 551 bp
<i>IVS2</i>	Intron fra mais <i>Adh1-S</i> genet (alkohol dehydrogenase 1S), 178 bp
<i>pat</i>	glufosinattoleranse genet, modifisert for å optimalisere ekspresjon i planter, 558 bp
<i>NOS-3'</i>	Et 3'-område til nopalinnosinyltransferase genet som ikke blir translatert, men som terminerer transkript og som dirigerer polyadenylering, 220 bp
<i>ori/pUC18</i>	Replikasjonsorigo som dirigerer replikasjonen av plasmidet i <i>E. coli</i> , inneholder deler av <i>lacZ</i> og <i>laci</i> gener og et segment på 1079 bp som inneholder <i>ori</i> genet, som dirigerer replikasjonen i bakterier, 1400 bp

En rekke undersøkelser er foretatt på den genspleisede planten og de etterfølgende krysninger, og disse viser at:

- en kopi av transformert DNA er satt inn. Transformert DNA er lokalisert på den lange armen til kromosom 8.
- stabiliteten av genene er høy og de følger mønsteret etter Mendels teori om arv, konstatert ved undersøkelser over flere generasjoner.
- *cry1Ab* genet og *pat* genet er lenket sammen og segregerer som et enkelt dominant Mendelsk lokus
- nesten alle plantedeler uttrykker proteinet. PAT enzymet uttrykkes kun i blad og deler av hann og hunn blomster. Ingen andre innsatte nukleotidesequenser blir uttrykt.

Plantene ble så regenerert. Proteinene som uttrykkes er PAT og Cry1Ab som henholdsvis gir herbicidtoleranse og insektsresistens. Hensikten med planten er motstandsdyktighet mot insekter i gruppen Lepidoptera, for eksempel europeisk kornborer, og herbicider som Basta og Finale.

### *Karakterisering av geninnsettingen*

Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment fra Bt11 åkermais i kromosom 8. Molekylærbiologiske analyser viser at det rekombinante fragmentet inneholder de samme gener og genelementer som foreldrelinjen. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i Bt11 åkermais uttrykker de samme proteinene som uttrykkes i Bt11 åkermais. Imidlertid uttrykkes ikke PAT-proteinet i maiskorn. DNA sekvenser til de flankerende områdene til det rekombinante DNA fragmentet er sekvensert. Ved 5'-enden er det sekvensert for 350 basepar og ved 3'-enden 540 basepar. Analyser av sekvensene viser at det er genomisk DNA på begge sider av DNA fragmentet. Belgiske myndigheter har imidlertid funnet indikasjoner på at det kan ha skjedd rearrangering i maisgenomet, og et DNA fragment på 1099 bp som stammer fra *pUC18* er blitt funnet mellom genomisk DNA og 35S promoteren. Faggruppen har ikke hatt tilgang til disse analysene, og kan derfor ikke vurdere dem. Faggruppen har vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinene til å være tilstrekkelige.

### Dokumentasjon av "vesentlig likhet"

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter har blitt vurdert.

*Hovedkomponenter:* Innholdet av hovedkomponenter i Bt11 er blitt sammenlignet med tilsvarende komponenter i kontrollmais. Protein, fett, aske, vann, karbohydrater, sukker, fiber, fettsyrer, aminosyrer, kobber, magnesium, mangan, sink, folinsyre, niacin, vitamin B1, B2, E og pro-vitamin A er målt i maiskorn. Fôr ble målt for tørrstoff, protein, tilgjengelig protein, ACD, NDF, totalt fordøyelige næringsstoffer, kalsium, fosfor, kalium og magnesium. Fôr som ble benyttet til fôringsstudier ble analysert for vann, protein, ACD, NDF, totalt fordøyelige næringsstoffer, kalsium, fosfor, kalium, magnesium, svovel, natrium, kobber, jern, kobolt, og aluminium. Det ble påvist noe økt innhold av lignin og *in vitro* fordøyelighet. Analysene er i henhold til OECDs anbefalinger (OECD 2002).

*Anti-næringsstoffer:* trypsinhemmer og fytinsyre er målt. Faggruppen har ikke hatt tilgang til analysene.

.

Faggruppen finner at dokumentasjonen for Bt11 åkermais er i henhold til OECDs dokument.

### Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet

#### Toksisitet

*Toksiner:* DIMBOA og MBOA er målt. Det ble ikke funnet statistiske forskjeller. CRY1Ab-toksinmengde er påvisbart i alle plantedeler. For maiskorn og blad er mengden henholdsvis 1,4 og 3,26 mikrogram/ g fersk vekt.

#### Fôringsforsøk:

Akuttoksiske fôringsforsøk på mus med Cry1Ab-toksin er utført med toksin renfremstilt fra *E. coli* og anrikt fra blad fra Syngentas maislinje Event 176. Forsøkene er gjort i henhold til EPAs retningslinje NR. 81-1, Pesticid assessment guidelines. Oral LD<sub>50</sub> var større enn 4000

mg/kg kroppvekt, og NOEL var også 4000 mg/kg kroppsvekt. Det er ikke utført sub-kroniske fôringsforsøk med Bt11 åkermais.

Søknaden inneholder også dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt PAT-protein. Ingen doserelaterte helseeffekter er påvist. Faggruppen har også vurdert en rekke tilsvarende studier utført med PAT-protein fra andre søknader. Generelt, med unntak for allergene proteiner, er proteiner ikke akuttoksiske. Faggruppen finner denne studien tilfredsstillende.

Det er utført fôringsforsøk på høner (14 dager), broilere(42 dager) og kyr (14 dager). Det er ikke funnet signifikante forskjeller mellom Bt11 åkermais og umodifisert kontroll i noen av fôringsforsøkene. For andre forsøk med dyr henviser Syngenta til forsøk som er utført med genmodifisert mais og som er publisert i vitenskaplige tidsskrift.

## Allergenitet

### Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av B.t.k. som sprøytemiddel er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallprotein. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallprotein.

Det har ikke vært utført immunologiske studier med de transgene produktene. Det er vist at Cry1Ac-proteinet binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot proteiner gitt samtidig (Vazques-Padron et al. 2000a, Vazques et al. 1999, Moreno-Fierros et al., 2003, Rojas-Hernández et al. 2004). Immunologisk kartlegging av systemisk og mucosal immunreaksjon på Cry1Ac har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazques-Padron et al. 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene tilsvarer Cry1Ab-toksinet som den transgene maislinjen lager. Det er vist at domene II fra Cry1Ab og Cry1Ac genererer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron et al. 1998). I en annen studie er det vist at Cry1Ac hadde utpreget mucosal adjuvanseffekt ved å potensierte IgM-, IgG- og IgA-responsen mot hepatittvirusantigen og bovint serumalbumin som ble gitt med sondefôring samtidig med Cry1Ac (Vazquez et al 1999). Produksjonen av IgE-antistoff, som er knyttet til allergisk reaksjon, ble ikke målt. Også i tidligere studier (Prasad & Shetna 1975) er det påvist adjuvanseffekt av krystallprotein fra *Bacillus thuringiensis*. Adjuvanseffekten av Cry1Ac er bekreftet i to senere publikasjoner med henholdsvis pneumokokk-antigen (Moreno-Fierros et al., 2003) og amøbe-lysate (Rojas-Hernández et al. 2004). Adjuvanseffekten av Cry1Ac ble funnet å være like sterk som adjuvanseffekten av koleratoksin (Vazques-Padron et al. 1999), som er et mye brukt slimhinneadjuvans i eksperimentelle studier av vaksinasjon og av allergi, og som regnes for å være det sterkeste slimhinneadjuvans vi kjenner.

Det er mulig at Cry1Ab som benyttes i Bt11 åkermais kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet som induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot proteiner gitt samtidig. Dersom Cry1Ab har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-

Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av Cry1Ac-proteinet.

Uventede effekter av å sette inn nye gener kan opptre, og kan føre til endret uttrykk av endogene proteiner. Det er imidlertid ikke påvist at slike effekter har skjedd med Bt11, som har vært dyrket og konsumert siden 1996.

## KONKLUSJON

Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av den tilgjengelige informasjonen ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte åkermais Bt11 er forskjellig fra umodifisert mais.

*Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra Bt11 åkermais er mer allergifremkallende enn umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos Bt11 åkermais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab i maiskorn kan være ca. 1,4 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Syngenta Seeds å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac.*

## VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Sonja Klemsdal, Casper Linnestad, Audun Nerland, Vibeke Thrane.

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.

Moreno-Fierros L, Ruiz-Medina EJ, Esquivel R, López-Revilla R, Piña-Cruz S. Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of *Streptococcus pneumoniae* polysaccharides in mice. Scand J Immunol 2003; 57: 45-55.

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.

Prasad S.S.S.V. & Shethna, Y.I., 1975. Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*. Biochem Biophys Res Commun., 62: 517-521.

Rojas-Hernández S, Rodríguez-Monroy MA, López-Revilla R, Reséndiz-Albor AA, Moreno-Fierros L., 2004. Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. Infect Immun., 72:4368-4375

Vazquez-Padron RI. Martinez-Gil AF. Ayra-Pardo C. Gonzalez-Cabrera J. Prieto-Samsonov DL. de la Riva GA., 1998. Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. Biochem Mol Biol Int., 45(5):1011-20.

Vazquez RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. De La Riva GA. Lopez-Revilla R., 1999. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. Scand J Immunol., 49: 578-84.

Vazquez-Padron RI. Gonzales-Cabrera J. Garcia-Tovar C. Neri-Bazan L. Lopez-Revilla R. Hernandez M. Moreno-Fierro L. de la Riva GA., 2000a. Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. Biochem Biophys Res Commun., 271:54-8.

Vazquez-Padron RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. Martinez-Gil AF. de-la-Riva GA. Lopez-Revilla R., 2000b. Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. Braz J Med Biol Res., 33: 147-55.

SCF (2002) "Opinion of the Scientific Committee on Food on a request to place genetically modified maize line Bt11 on the market." .SCF/CS/NF/DOS/14 ADD2 Final, 6 May 2002.