

05/312

VKM Report 2005: 36



UTTALELSE OM PIONEER HI-BREDS GENMODIFISERTE MAIS 1507xNK603 (EFSA/GMO/UK/2004/05)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 03.06.05

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insektstolerante maislinjen 1507xNK603 fra Pioneer Hi-Bred er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. I sitt brev datert 05.04.2005, ref. 2005/3841 ART-BM-KW, ber Direktoratet for naturforvaltning (DN) Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen 1507xNK603 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden 1507xNK603 er fremkommet ved krysning mellom 1507 og NK603. Hensikten med 1507xNK603 er motstandsdyktighet mot enkelte insektsarter og toleranse mot sprøytemidlene glufosinat og glyfosat.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. 1507xNK603 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 ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais, ikke er utført. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av linje 1507xNK603 til bruk som mat og fôr.

Maislinjen inneholder ikke antibiotikaresistensgener.

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 Cry1F kan ha adjuvanseffekter, det vil si øke utviklingen av allergisk respons mot andre proteiner.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen 1507xNK603 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra 1507xNK603 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Faggruppen mener at siden adjuvanseffekt av CryIF ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes må det kreves av Pioneer Hi-Bred å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av CryIAc i forhold til muligheten for adjuvanseffekt av CryIF.

NØKKELOD

Genmodifisert mais, 1507, NK603, 1507xNK603, insektsresistens, herbicidtoleranse, CP4 EPSPS, PAT, CryIF, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning om en vitenskapelig risikovurdering av EFSA/GMO/UK/2004/05 genmodifisert mais (1507xNK603) til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. 1507xNK603 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) og dens anbefaling av hvilke parametre som bør undersøkes.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet i april 2004 har Faggruppe for genmodifiserte organismer vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppe for genmodifiserte organismer 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.

Det er kun medlemmene i Faggruppen som har vurdert den genmodifiserte maisen.

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTNING

I sitt brev datert 05.04.2005, ref. 05/3841 ART-BM-KW, ber Direktoratet for naturforvaltning Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maisen. Bruksområdet som søknaden gjelder for er: import, prosessering, mat og fôr. Søknaden som har vært vurdert under 2001/18/EC er tidligere ansøkt for alle bruksområder unntatt mat. Miljø- og fôraspektene er tidligere vurdert ut fra de opplysningene som er gitt under 2001/18/EC. En tilsvarende sort dokumentmengde er gitt for mat og er tidligere ikke vurdert i Norge da vi ikke har vært tilknyttet forordning 258/97 gjennom EØS-avtalen. Det fremgår av informasjonen på EFSA-nett at fôraspektet også skal vurderes ut fra de opplysningene som nå foreligger. Søknaden som DN har mottatt, inneholder i sin helhet dokumentene som tidligere er mottatt under direktiv 2001/18/EC, og dokumentene som tilhører forordning 258/97 og som omhandler mataspektet. Til tross for at store deler av søknaden tidligere er vurdert, fremgår det av genteknologiloven at det alltid skal gjennomføres offentlig høring i saker som gjelder godkjenning av søknad om utsetting av genmodifiserte organismer.

Da ansvarsforholdet er delt mellom DN og Mattilsynet, ber DN VKM om at det (om mulig) tydelig fremgår i høringssvarene om innspillene angår mat/fôr eller om de angår miljø.

Produktet som ønskes vurdert er:

Genmodifisert mais, EFSA/GMO/UK/2004/05 (1507xNK603). Unik kode er DAS-Ø15Ø7-1 x MON-ØØ6Ø3-6.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSA's frist for innspill er 01.07.05.

Ønsket svarfrist til Direktoratet for naturforvaltning er 15.06.05.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte maishybriden 1507xNK603 ble vurdert ut fra Direktoratet for naturforvaltnings oppdrag. I henhold til Pioneer Hi-Bred er søknaden kun for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter, ikke for utsetting. Primærbruken av maiskorn i Norge i dag er til dyrefôr, men mais brukes også til industriell produksjon av etanol, maismel, popkorn, raffinert stivelse og søttingsprodukter.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSA's retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSA's dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004).

Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer søknaden om markedsføring av genmodifisert mais (EFSA/GMO/UK/2004/05) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Beskrivelse av de innsatte genene:

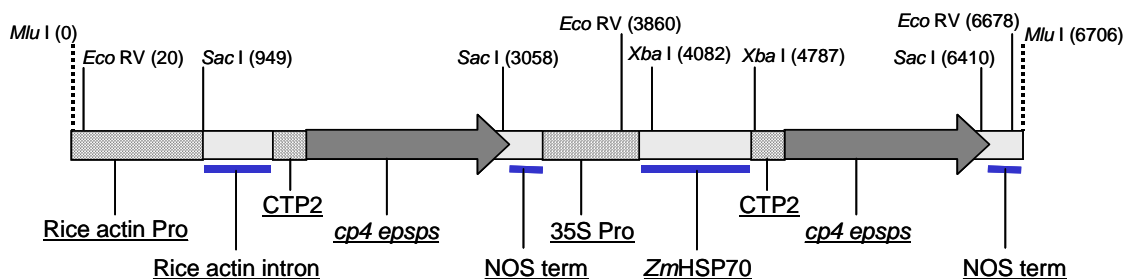
NK603 (foreldrelinje):

Den genmodifiserte maislinjen NK603 uttrykker glyfosattoleranse pga. bakterieenzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase 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 karakteriseringen viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK603 åkermais. Dette fragmentet inneholder:

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

Restriksjonskart over 6706bp innskuddet



Molekylærbiologisk analyse viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme genene og genelementene 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 én 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-segmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK603s DNA-segment stammer fra foreldrelinjen.

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

Strukturell og funksjonell likhet mellom CP4 EPSPS og CP4 EPSPS L214P er undersøkt med røntgenkrystallanalyse, 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-proteinene. 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.

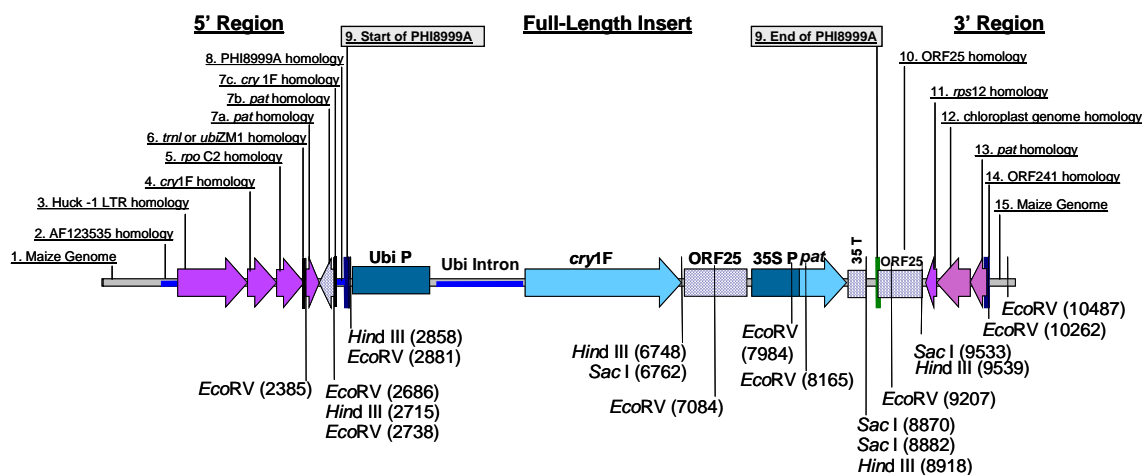
Krysning over seks generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjon viser at det rekombinante EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

1507 (foreldrelinje):

Den genmodifiserte maislinjen 1507 uttrykker glufosinat- og insektstoleranse ved at et lineært DNA fragment på 6235 basepar (1507 transkript) ble overført til embryomaisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensen. Dette DNA fragmentet inneholder følgende gener og DNA elementer:

- d) *pat* genet fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. *Pat* genet uttrykker enzymet fosfotricin acetyltransferase (PAT, phosphinotricin acetyl transferase) som har høy spesifisitet overfor fosfotricin, som er den aktive komponenten i herbicider av glufosinat-typen. PAT inaktiverer fosfotricin ved N-acetylering og beskytter derved planten i et fosfotricinmiljø. Basesequensene i genet er endret slik at genet kan uttrykkes i planter. PAT proteinets aminosyre-sekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
- e) Promoteren CaMV 35S og terminatoren CaMV 35S kommer fra agurk mosaikkvirus. Promoteren styrer uttrykket av *pat*. Termineringen av uttrykket styres av terminatoren CaMV 35S.
- f) *CryIF* genet kommer fra *Bacillus thuringiensis* (*B.t.*) sbsp. *aizawai*, som er en vanlig jordbakterie. Bakterien danner det intracellulært proteinkrystallet CRY1F som har entomopatogen effekt, dvs at det giftig for larver for enkelte insektsarter. Basesequensene i genet er endret slik at genet kan uttrykkes i planter. CRY1F proteinets aminosyresekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
- g) Ekspresjonen av *CryIF* reguleres av promoteren *ubiZM1(2)* med *ubi*-intron som kommer fra mais. Termineringen av ekspresjonen styres av terminatoren *mas1* fra *Agrobacterium tumefaciens*.

11 kbp genomisk DNA fragment fra mais hvor 1507 segmentet ligger på.



Karakterisering av geninnsettingen

Southern blot- og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av 1507 DNA-segmentet (6186 bp fra 6235 bp fragmentet) er satt inn i maisens genom. Et ca. 11 kbp genomisk DNA-fragment fra mais hvor 1507-segmentet ligger på, er sekvensert. Dette DNA-fragmentet inneholder begge genene (*Pat* og *Cry1F*) og de respektive regulatoriske sekvensene til 1507-fragmentet. I tillegg inneholder dette fragmentet 6 ikke-funksjonelle DNA-segmenter som stammer fra 6235 bp 1507-fragmentet. Disse 6 DNA-segmentene befinner seg enten ved 5' eller 3' endene til 6186 bp fragmentet.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både *Cry1F* og *PAT* proteinene har den forventede molekylvekt. *Cry1F* forelå som dublett i Western-blottet, henholdsvis med 65 og 68 kD. Årsaken oppgis å være at planteproteaser spalter av et N-terminalt fragment, siden trypsinbehandling av *CRY1F* proteinet gir et protein på 65 kD. Det er ingen indikasjoner på fusjonsproteiner. *Cry1F* ble påvist i blad, pollen, korn og hel plante. *PAT* ble kun påvist i blad.

Påvisning av åpne leserammer (ORF)

Det gjort en detaljert studie for å påvise kodende sekvenser. Det er påvist 5 åpne leserammer, ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 og ORF25PolyA. ORF25PolyA er deler av CaMV 35S promotor og terminator. ORF4 ligger inne i ORF25PolyA. ORF1 og 2 er deler av 1507 transkriptet, og de kommer fra maisgenomet. Disse to ORFene ble også påvist i umodifisert mais, men har ikke noen homologi til beskrevne sekvenser i maisgenomet. De har ikke regulatoriske elementer som kan føre til transkripsjon. ORF3 og ORF4 ligger henholdsvis på grensen av og inne i 1507 fragmentet. Det er ikke påvist ORF3 transkript ved Northern eller RT-PCR. Northern og RT-PCR analyser for påvisning av ORF4 transkript indikerer at heller ikke denne åpne leserammen er i stand til å føre til transkripsjon selv om den ligger inne i ORF25PolyA.

Det er ikke funnet beskrivelser over hvilke kromosom 1507 DNA-fragmentet ligger på.

Den genmodifiserte maisen er selvpollinert 2 ganger og tilbakekrysset fire ganger med den opprinnelige maisplanten, slik at 1507-maisen er tilnærmet 100 % lik den opprinnelige maisplanten. Analyser viser at 1507 DNA-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet i minst 6 generasjoner.

Det er vist at de innsatte genene er stabilt inkorporert i maisgenomet ved dyrking i forskjellige lokaliteter over to år. Feltforsøkene er fra 4 forskjellige land, og over minst 2 år.

Analyser over stabiliteten av det innsatte 1507-fragmentet synes å være tilstrekkelig.

Det er foretatt en rekke undersøkelser på hvor mange kopier av ekspresjonskassetene, antall innsjonnseter i genomet, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet, integriteten til ekspresjonskassene i genomet, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn og fravær av annet transformasjonsplasmid DNA i 1507.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i 1507. Sammenlignende DNA-analyser mellom hybriden 1507 og foreldrelinjen viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

Hybrid 1507xNK603:

1507xNK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom 1507 og NK603.

Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelsen og antall kopier av 1507- og NK603-ekspresjonskassetten. Det er benyttet forskjellige restriksjonsenzym og genspesifikke prober for 1507 og NK603. De genspesifikke probene er mot 35S promoteren, *cry1F*-, *cp4 epsps*- og *pat*-genene. Det ble påvist én enkel kopi av henholdsvis 1507- og NK603-ekspresjonskassetten, og sammenlignende Southern blot-analyser mellom hybrid 1507xNK603 og de to foreldrelinjene viser at totalstørrelsen på de innsatte DNA-fragmentene er intakte. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra disse elementene.

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Analyser av sammensetning i maiskorn fra maislinjene 1507xNK603

Analyse av ernæringsmessige viktige komponenter ble foretatt av 1507xNK603 og kontrollhybrid fra seks separate forsøksfelt i Chile. Som kontroll er det benyttet en umodifisert kontrollhybrid som hevdes å ha samme genetisk bakgrunn som de genmodifiserte plantene. 1507xNK603 og kontrollhybrid ble plantet i randomiserte blokk mønstre. Alle blokker med herbicidtolerante planter ble sprøytet med Roundup UltraMAX eller Basta, og Roundup UltraMAX etterfulgt av Basta. Feltforsøk med NK603 og 1507 er ikke utført samtidig med 1507xNK603.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler:

Valget av analyseparametre er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais, men det er ikke analysert for alle parametrene som er anbefalt i OECD dokumentet. Det ble analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer, jern, kalium, kalsium, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1, B2, E, folinsyre, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-cumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

For hovedkomponentene er det ikke funnet statistiske forskjeller, med unntak for fett i mais sprøytet med glufosinat. Analyser over hovedkomponenter i maisplanten viser at verdier for alle disse hovedkomponentene ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert.

Fettsyresammensetning i maiskorn:

Fettsyresammensetningen for 1507xNK603 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 22 fettsyrer. Målingene utført på 1507xNK603 viser statistiske forskjeller over flere forsøksfelter for fire fettsyrer, men ikke over alle forsøksfelter. Forskjellene er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn:

Analyser av aminosyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. For feltene som er sprøytet med glyfosat + glufosinat og kun glufosinat er det funnet statistiske forskjeller for to og tre aminosyrer. Verdiene ligger innenfor 10 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

Vitaminer som i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for er A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. Følgende vitaminer er ikke målt: Vit. B6, niacin og vit. C. Resultatene for vit. B1, folat og vit. E viser for 1507xNK603 til dels store statistiske forskjeller innenfor enkelte forsøksfelter, men disse forskjellene er ikke konsistente for alle forsøksfeltene. Forskjellene ligger innfor 15 % over forsøksfeltene.

Mineraler:

Med unntak for selen er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Feltforsøk viser statistiske forskjeller for kalium, magnesium, mangan og sink. Forskjellen ligger imidlertid innenfor 15 % og innenfor for typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter:

I feltforsøket der det er sprøytet med glufosinat er det funnet statistiske forskjeller for p-coumarin og ferulsyre. Forskjellene er mindre enn 15 %. I de to andre forsøksfeltene er det ikke funnet statistiske forskjeller for de målte parametrene. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA. For de statistiske forskjellene som er funnet ligger verdiene innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Konklusjon:

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at de forskjellene som er påvist, ikke har noen helsemessig betydning.

Dokumentasjon av toksisitet og allegenisitet

Toksisitet:

Søknaden inneholder ikke dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt PAT, Cry1F og CP4 EPSPE-proteiner. Pioneer Hi-Bred hevder at siden dokumentasjon over disse fôringsforsøkene finnes i andre søknader som for eksempel NK603 og 1507, er det ikke nødvendig å inkludere denne dokumentasjonen i denne søknaden.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 840 dyr, fordelt i syv grupper à 120 dyr, 12 bur à 5 hunn + 5 hann, som ble fôret med henholdsvis mais fra

1507xNK603 som er behandlet med henholdsvis glufosinat, glyfosat og glyfosat etterfulgt av glufosinat, en tradisjonell kontroll og tre referansemaissorter. Gjennomsnittlig mengde Cry1F-protein i fôret er ca. 1 µg/g fôr (maks 1,17 µg/g, min 0,73 µg/g). Gjennomsnittlig inntak av Cry1F er ca. 25 µg Cry1F per dag. Med unntak for lever- og nyrevekt ble det påvist enkelte testrelaterte statistiske endringer i de parametrene som ble målt. Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

Allergenisitet:

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 eksponering via munn, hud og luftveier. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dens komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallproteinene.

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 (Vazquez-Padron *et al.* 2000a, Vazquez *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 (Vazquez-Padron *et al.* 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry1F-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 potensere 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 (Vazquez-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 gjennomsnittlige forbruket av mais i Europa i følge søker er 8,8 g/person/dag, mens for eksempel i Afrika er forbruket 106,2 g/person/dag (GEMS/FOOD 2003). Spesielle målgrupper, som spedbarn, kan ha et langt større inntak av mais enn det beregnede gjennomsnittlige inntaket i Europa. I henhold til Pioneer Hi-Bred er mengde Cry1F i mais Korn 2,4 µg/g. Teoretiske beregninger fra søker viser at dersom alt maisinntak i Europa kommer fra 1507xNK603 vil dette medføre et inntak på 21 µg Cry1F/person/dag. De mengder Cry1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondefôring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg (Vazquez *et al.* 1999). De adjuvansdoser som brukes for immunisering av mus og mennesker i andre sammenhenger er ofte av samme størrelsesorden, det vil si om lag samme dose brukes til mus og menneske. Det er mulig at Cry1F som benyttes i 1507xNK603 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 Cry1F 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 MON810 som inneholder Cry1Ab proteinet. Mon810 har vært dyrket og konsumert siden 1996.

Konklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra 1507xNK603 er mer allergifremkallende enn umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet til 1507xNK603 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Faggruppen mener at siden adjuvanseffekt av Cry1F ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes, må det kreves av Pioneer Hi-Bred å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac i forhold til muligheten for adjuvanseffekt av Cry1F

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans. Faggruppen konkluderer derfor med at det på bakgrunn av den tilgjengelige informasjonen ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen 1507xNK603 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene CP4 EPSPS, Cry1F og PAT ikke er akutt toksiske. Pioneer Hi-Bred henviser til sub-kroniske studier på rotter fôret med maiskorn fra 1507 og NK603. Disse studiene viser at fôr som inneholder genmodifisert mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Imidlertid er ikke disse studiene dokumentert i denne søknaden. Pioneer Hi-Bred har ikke utført sub-kroniske studier på rotter med 1507xNK603. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for CP4 EPSPS- og PAT-proteinene i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelige.

Faggruppen mener det må kreves av Pioneer Hi-Bred å kommentere de forsøk som gjort der det er påvist adjuvanseffekter av Cry1Ac og om slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry1F-protein.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

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

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

EFSA 99, 2004. "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed".

EHC, 1999. Environmental Health Criteria 217. *Bacillus thuringiensis*. WHO, Geneva 1999

EPA, 2003. Event MON863 *Bt* Cry3Bb1 Corn Biopesticide Registration Action Document.

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

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

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.