



UTTALELSE OM BAYER CROP SCIENCE GENMODIFISERTE OLJERAPSLINJEN T45 (EFSA/GMO/UK/2005/25)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 07.07.07

SAMMENDRAG

Denne uttalelsen er utført av Faggruppen for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Faggruppen baserer sin vurdering av Bayers genmodifiserte herbicidtolerante rapslinjen T45 på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net, dokumentasjon under forordning 1829/2003/EC, European Food Safety Authority (EFSA 99, 2006) retningslinjer og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for raps. Rapsen T45 ble først kommersialisert i USA og Canada i 1998. Fra 2003 har Bayer Crop Science innstilt alt salg av T45 hybrider. Lager av alle T45 hybridene, med unntak av en, er trekt tilbake fra distributørene og destruert. T45 skal benyttes som bio-diesel, ikke som mat. Biprodukter, som rapsmel og frøskall, av bio-diselproduksjonen vil bli benyttet som fôr. Fordi utilsiktet innblanding i mat og fôr av T45 kan forekomme skal den derfor vurderes som mat og fôr. For at rapsolje skal kunne benyttes som bio-diesel blir den forestret med metanol eller etanol til rapsmetylester (RME) eller rapsetylester(REE).

Rapshybriden T45 er fremkommet ved innsetting av et genkonstrukt som inneholder genet *bar* som koder for enzymet PAT (Phosphinothricin-Acetyl-Transferase) som acetylerer og inaktiverer glufosinat. Hensikten med genmodifiseringen er å gi T45 toleranse mot sprøytemidlene Basta, Finale, Ignite, Liberty, RadicaleX og Rely.

En del av de analysene som er foretatt, viser statistiske forskjeller, men variasjonene finnes også i umodifisert raps. Det synes derfor ikke å være holdepunkter for at det forskjeller mellom modifisert og umodifisert raps.

Den genmodifiserte rapsen synes ikke å være forskjellig fra umodifisert raps med hensyn på næringsmiddel- og fôr kvalitet.

Faggruppen vil påpeke at flere komponenter ikke er analysert, men anser imidlertid ikke at disse analysene er avgjørende for å vurdere mattrygghet for den aktuelle genmodifiserte rapsen.

Faggruppen finner også at dokumentasjonen av rapsen er tilfredsstillende.

Faggruppen mener at T45 ikke medfører endret helserisiko som mat og fôrvare i forhold til annen raps.

NØKKEORD

Genmodifisert raps, T45, herbicidtoleranse, PAT, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av Bayer CropSciences genmodifiserte rapslinje T45 til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har tidligere vurdert T45 under direktiv 2001/18/EC. Vurdering av den genmodifiserte rapsen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. T45 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2006). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på de anbefalinger over hvilke parametre som bør undersøkes i OECDs konsensusdokument for raps (OECD 2004).

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets 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

Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte rapsen fra Bayer CropScience. I forbindelse med norsk prosess med gjennomføring av EUs regelverk 1829/2003/EF vedr. 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.

Produktet som ønskes vurdert er:

Genmodifisert raps, type Bayers raps T45, unik kode nr. ACS-BNØØ8-2, til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Status i EU: Først notifisert som C/GB/99/M5/2 (trekt tilbake) og for så å bli notifisert under 2001/18 som C/GB/04/M5/4.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet: 07.07.07.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte rapshybriden T45 ble vurdert ut fra Mattilsynets oppdrag. I henhold til Bayer CropScience er søknaden kun for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter i henhold til artikkel 5 og 17 i forordning 1829/2003. Primærbruken av raps i Norge i dag er til næringsmidler og dyrefôr.

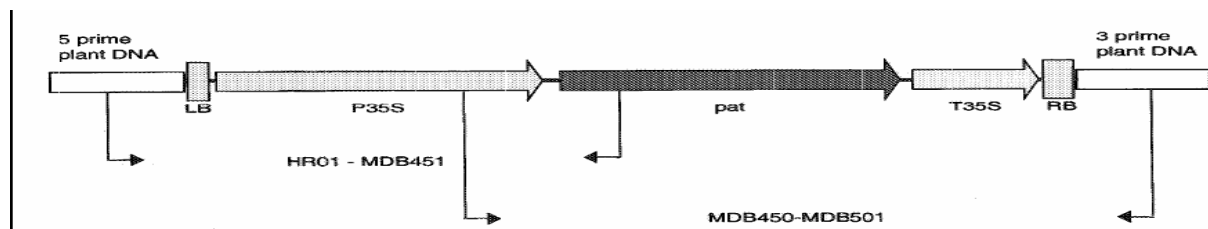
Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSAAs retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSAAs dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms 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 raps (EFSA/GMO/UK/2005/25) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Beskrivelse av de innsatte genene og integreringsområdet:

Rapslinjen T45 fra Bayer CropScience uttrykker glufosinattoleranse ved at et lineært DNA fragment på 1364 basepar(bp) fra plasmidet Phoe4/Ac(II), ble overført med *Agrobacterium*-mediert transformasjon til embryorapsceller som stammer fra rapshybriden AC Excel. Det rekombinant DNA-fragment (ekspressjonskasset) inneholder genet *pat* fra den gram-positive jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*, CaMV *p35s* promoter og CaMV *t35s* 3' termineringsekvens for terminering og polyadenylering, se figur. *pat* genet er en syntetisk versjon av bakteriegenet. Bakteriens *pat* gen har et høyt G:C innhold som er atypisk for planter. Det syntetiske *pat* genet er endret slik at det ligner på planters kodoninnhold, dvs. lavere mengde G:C. Aminosyresekvensen til det syntetiske PAT-proteinet er identisk med bakteriens PAT-protein. Det rekombinante fragmentet inneholder ikke markørgener for antibiotikaresistens.



Figur: T45 DNA fragment som er satt inn i rapsgenomet. HR01/MDB451 og MDB450/MDB501 er primerpar for påvisning av T45 DNA fragmentet.

Celler som hadde tatt opp fragmentet ble selektert på medium med fosphinotricin (glufosinat) og utviklet videre til kallus (udifferensierte celler). Deretter regenererte man

skudd og røtter og fikk grønne planter. Tidligere forskningsrapporter viser at CaMV35S-promoteren innsatt i raps særlig styrer genuttrykk i vaskulært vev, blant annet i blad, rot og blomsterorganer. Analyser av genomisk DNA fra T45 med Southern- og Northern blot, ELISA og PCR viser at DNA-fragmentet i T45 er stabilt inkorporert i genomet og at *bar*-genet er aktivt i blad, stengel, rot og frø. Genomet til T45 rapsen inneholder én kopi av det innsatte rekombinante DNA-fragmentet.

Et flankerende område på 994 bp oppstrøms (5') og 911 bp nedstrøms (3') av insersjonstedet, ble undersøkt. Et fragment på 48 basepar er fjernet fra villtypen ved innsetting av det rekombinante T45 DNA fragmentet. Et nytt innskudd på 9 baser er lokalisert oppstrøms for T45 innskuddet. Sammenligning av 5'- og 3'- flankesekvenser med kjente sekvenser viste ingen relevante homologier til kjente toksiner, allergen og farmakologisk aktive proteiner. Northern blot analyser påviste transkripsjon av *pat* genet i blad, stengel og rot. Det er ikke påvist uttrykk av *pat*-RNA fra modne frø, men det antas at i frø under utvikling vil det kunne påvises *pat*-RNA fordi det er påvist PAT-protein i høstet frø.

Genets funksjon:

Sprøytemidler basert på glufosinat-ammonium gir en irreversibel hemming av planters eget enzym glutamin syntetase. Glutamin syntetase lager aminosyren glutamin fra glutamat og ammoniakk. Enzymet hindrer dermed opphopning av den giftige ammoniakken som dannes ved fotorespirasjon. Sprøyting fører til at planten dør på grunn av akkumulering av ammoniakk. *pat*-genet koder for enzymet PAT (Phosphinothricin-Acetyl-Transferase) som acetylerer og inaktiverer glufosinat, den aktive komponenten i sprøytemidler som Liberty, Basta og Finale. Den genmodifiserte rapslinjen overlever sprøyting med glufosinat-ammonium siden virkestoffet acetyleres og plantens eget glutamat syntetase-enzym ikke hemmes, men fortsatt kan utføre sin syntese av glutamat og detoksifisering av ammoniakk.

Mengden av syntetisert PAT-protein i prosent av proteinmengden fra de transgene plantene er i rapsfrø $3,7-5,2 \times 10^{-4}$ % og presskake $4,0-5,1 \times 10^{-5}$ % , mens PAT-protein ikke kunne påvises i rapsolje. Som forventet lot det seg ikke gjøre å påvise PAT-protein i ikke-genmodifiserte kontrollplanter.

Bio-diesel

For at rapsolje skal kunne benyttes som bio-diesel må rapsoljen forestres med metanol eller etanol. Generelt vil bio-diesel fra raps inneholde mindre enn 1 % metanol eller etanol. Rapsmetylester (RME) er verken oralt eller dermalt akutt giftig for mennesker. Ved oralt inntak på rotter er LD50 er større enn 5000mg/kg, dvs. et inntak på mer enn 340 milliliter for en person på 60 kg. Rapsmetyl- og -etylester er ikke beregnet for bruk som mat.

Dokumentasjon av "vesentlig likhet"

Hovedkomponenter i rapsfrø, olje og mel er analysert for ernæringsmessige viktige komponenter. Sammenligningene er gjort mellom T45 og foreldrelinjen, samt kommersielt tilgjengelige rapssorter. Faggruppen har merket seg at flere komponenter som er listet opp i OECDs konsensusdokument for raps ikke er analysert for i frø og fôrvarer. Analyser av aske, vann, fiber, protein, karbohydrater, aminosyrer, fettsyrer, mineraler (fosfat, jern, kalium,

kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink), vitaminer(alfa-, beta-, gamma- og deltatokoferol, total tokoferol(vitamin E)), antinæringsstoffer (fytinsyre, alkenylglukosin, MSGL glukosin, indolglukosin, total glukosinolater, erukasyre). Det er også analysert for protein og aminosyreinnhold i forskjellige oljefraksjoner og spiseolje (dvs. raffinert, bleket og deodorisert rapsolje). Det ble ikke funnet proteiner eller aminosyrer i spiseoljen. Analyser av sammensetning i rapsfrø er fra forskjellige transgene rapslinjer som stammer fra T45(= HCN28) og Innovator(HCN92=Topas 19/2) og forskjellige umodifisert kontrollhybrider (AC Exel, AC Elect, Legend, Cyclone, Westar m.fl.). Forsøkene er utført i 1995, 2000 og 2004, alle utført på forskjellige steder i Canada. Dyrkingsområdene representerer forskjellige vekstmiljø for raps. Søker har en rimelig god beskrivelse av forsøksfeltoppsettet og hvordan prøvene er samlet inn.

Hovedkomponenter:

Innholdet av hovedkomponenter i T45 er blitt sammenlignet med tilsvarende komponenter i kontrollraps. Protein, fett, aske, vann, karbohydrater (beregnet), ADF-fiber, NDF-, TDF- og råfiber er målt. For feltforsøkene utført i 2000 og 2004 er det foretatt analyser av ernæringsmessige viktige komponenter og utført statistiske undersøkelser på disse komponentene. Komponenter som er undersøkt er i henhold til OECDs konsensusdokument for raps (OECD 2001). Det er funnet statistiske forskjeller for råfiber over alle forsøksfeltene for 2000, men ikke for forsøkene i 2004.

Fettsyresammensetning i raps:

Det ble analysert for 14 fettsyrer for feltforsøkene som er utført i 2004. Fettsyresammensetningen for T45 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for raps. Det er funnet statistiske forskjeller for flere fettsyrer. Disse forskjellene er ikke konsistente mellom forsøksfeltene da det er enkeltverdier innenfor prøveteiger som varierer. Forskjellene er mindre enn 20 % mellom forsøksfeltene, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre rapssorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i raps:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert for feltforsøkene i 2000 og 2004. Det er funnet statistiske forskjeller i en av atten aminosyrer som er målt. For tyrosin er det funnet forskjeller for feltforsøket utført i 2000, men ikke for 2004. Faggruppen mener at disse forskjellene representerer normale fluktuasjoner mellom de forskjellige forsøksfeltene, og ikke er resultat av genmodifiseringen.

Tokoferolinnhold i rapsfrø og rapsolje

Beta- og deltatokoferol kunne ikke kvantifiseres for alle feltforsøkene. For disse tokoferolene var mengdene ved eller lavere enn påvisningsgrensen. Det er funnet statistiske forskjeller for alfatokoferol mellom kontroll og transgen plante sprøytet med glufosinat, men slike forskjeller ble ikke påvist mellom usprøytet og sprøytet transgen plante. Det er imidlertid vist at forholdet mellom alfa- og gammatokoferol er endret. For transgen plante er forholdet alfa og gamma for feltforsøkene i 2000 og 2004 henholdsvis 0,45:1 og 2:1, mens for umodifisert er det henholdsvis 0,48:1 og 1,46:1. Disse forskjellene er ikke kommentert i søknaden.

Mineraler:

Med unntak for kobolt, selen og jod er mineraler som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument. Det er kun målt mineraler for feltforsøket i 2004. For fosfat, kalium, kalsium, kobber, magnesium og mangan er det påvist statistisk likhet over alle feltene. For jern og natrium er det funnet til dels store forskjeller mellom feltene. For jern er forskjellene kun innenfor et felt, mens for sink er det funnet statistiske forskjeller både mellom behandlet og ubehandlet.

Anti-næringsstoffer:

I rapsfrø ble det undersøkt for fytinsyre, alkenylglukosinolat, MSGL glukosinolat, indolglukosinolat, total glukosinolater, erukasyre. For fytinsyre og total glukosinolat ble ikke funnet statistiske forskjeller mellom forsøksfeltene for 2000 og 2004, mens for de andre glukosinolatene er det funnet statistiske forskjeller.

Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet

Allergener:

Allergener er analysert i henhold til EFSA's retningslinjer og FAO/WHO's anbefalte prosedyrer (FAO/WHO 2001). Sammenligning av et proteins aminosyresekvens med aminosyresekvensen til et kjent allergent protein regnes som en nyttig indikator på allergent potensiale. Aminosyresekvensen til de fleste viktige allergener, deriblant matallergener, er kjent. De viktige IgE-bindingsepitopene, dvs. aminosyresekvenser på 5-7 aminosyrer der IgE binder seg, er kartlagt for mange allergener.

PAT-proteinet

Generelt er proteiner som er matallergener varme- og syrestabile, selv om det er en del unntak. De er stabile både overfor mage- og tarmsaft, samt at de ofte er hovedproteinikomponenter i matvaren. Typiske mengder er fra 1 til 80 % av proteininnholdet. Mengden av PAT-proteinet i rapsfrøet er ca. 5×10^{-4} % av totalt protein. Det er testet i simulert mage- og tarmsaft, og proteinet brytes ned i løpet av kort tid, ca. 15 sekunder. Det antas derfor at proteinet også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal.

Det er utført søk for aminosyresekvenshomologi for PAT-proteinet til aminosyresekvenser i databaser som inneholder aminosyresekvenser til kjente allergener og toksiner. Det er ikke funnet homologi til slike proteiner. Da rapsolje er den eneste matvaren fra raps som benyttes av mennesker, og at rapsolje ikke inneholder PAT protein anser faggruppen det for usannsynlig at PAT-proteinet medfører et potensiale for utvikling matallergi hos mennesker.

Toksisitet:

Fôringstudier:

Kylling:

Fôring av kyllinger i 42 dager, dvs. fra 50 gram til slaktevekt 2 kg. Kyllingene ble delt i tre grupper á 140 dyr/gruppe som ble fôret med henholdsvis sprøytet og usprøytet T45 og

kontrollraps. Mengde raps i fôret var ca. 10 %. Hver gruppe ble oppdelt i 14 undergrupper à 7 dyr/kjønn. Det ble ikke påvist kliniske eller makroskopiske abnormaliteter. Det ble ikke funnet statistiske forskjeller i fôrinntak, fôromdannelses-effektivitet, vektøkning og slaktekvalitet.

Toksisitetsstudier:

Gnagere:

Det er utført en akutt toksisitetsstudie på mus med PAT protein fremstilt fra genmodifisert *E. coli*. Renheten av proteinet er >95 %. Akuttoksisisk forsøk ble utført ved intravenøs injeksjon med henholdsvis 1 og 10 mg aprotinin/kg (negativ kontroll), melittin (positiv kontroll) og PAT. Dyrene vist etter 15 dager ingen tegn på toksisk påvirkning, ved grov patologisk undersøkelse, av aprotinin og PAT. Den positive kontrollen ga 100 % mortalitet ved 10 mg/kg og null mortalitet ved 1 mg/kg. De kliniske og makroskopiske undersøkelsene viste ingen synlige tegn på akutt toksisitet hos musene som fikk PAT og aprotinin. Faggruppen finner denne studien tilfredsstillende. Faggruppen har også vurdert en rekke andre studier utført på gnagere med PAT protein fra andre søknader. Generelt, med unntak for allergene proteiner, er proteiner ikke akuttoksiske.

KONKLUSJON:

På bakgrunn av ovenstående gjennomgang av medfølgende og tidligere innsendt dokumentasjon finner vi det lite sannsynlig at eksponering for PAT proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via olje fra genmodifisert raps, er helsemessig betenkelig. Hoveddelen av dokumentasjonen er i henhold til retningslinjene.

En del av de analysene som er foretatt viser statistiske forskjeller. Det synes imidlertid ikke å være holdepunkter for at det er store forskjeller med hensyn på hovedkomponenter, mineraler, vitaminer, anti-næringsstoffer, aminosyrer og fettsyrer mellom modifisert og umodifisert raps.

Fôringforsøket på broilere viser at 42 dagers fôring gir ingen store forskjeller mellom kontroll- og modifisert raps. Den genmodifiserte rapsen synes derfor ikke å være forskjellig fra umodifisert raps med hensyn på fôr kvalitet.

Faggruppen vil påpeke at flere komponenter ikke er analysert, men anser imidlertid ikke at disse analysene er avgjørende for å vurdere mattrygghet for den aktuelle genmodifiserte rapsplanten. Faggruppen mener at T45 ikke medfører endret helserisiko som fôrvare i forhold til annen raps. Siden rapsmetyl- og -etylerester ikke er egnet for bruk som mat, anser Faggruppen det lite sannsynlig at disse produktene vil komme inn i næringsmiddelkjeden.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Knut G. Berdal (leder), Jihong Liu Clarke, Sonja Klemsdal, Helge Klungland, Casper Linnestad, Anne I. Myhr, Audun Nerland, Ingolf Nes, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Opsahl Sorteberg, Odd E. Stabbetorp, Vibeke Thrane.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

EFSA 99 (2006). "Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed". The EFSA Journal 99.

FAO/WHO (2001). Evaluation of allergenicity of genetically modified foods.

OECD (2001), "Consensus Document on Key Nutrients and Key Toxicants in low Erucic acid Rapeseed (Canola)". Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No.1.