



UTTALELSE OM MONSANTOS GENMODIFISERTE MAIS MON 88017 (EFSA/GMO/CZ/2005/27)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 10.04.07

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insekttolerante maislinjen MON 88017 fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen MON 88017 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden MON 88017 er fremkommet ved *Agrobacterium* mediert transformering av embryonale maisceller fra foreldrelinjen A x Hi-II. Hensikten med MON 88017 er motstandsdyktighet mot enkelte insektarter og sprøytemiddelet Roundup.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. MON 88017 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 hybrid MON 88017 til bruk som mat og fôr.

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om det uttrykte toksinet Cry3Bb1 kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen MON 88017 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 MON

88017 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry3Bb1 i maiskorn kan være 13 (spredning 8,7-19) µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av det beslektede Cry1Ac.

NØKKELORD

Genmodifisert mais, MON 88017, insektresistens, herbicidtoleranse, CP4 EPSPS, Cry3Bb1, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av EFSA/GMO/CZ/2005/27 genmodifisert mais (MON 88017) til bruk i næringsmidler og fôrvarer, men ikke for dyrking. Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSAAs nettside GMO EFSA.net. MON 88017 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSAAs 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), som gir anbefalinger over hvilke parametre som bør undersøkes.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet 23. 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 MATTILSYNET

Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maisen. Bruksområdet som søknaden gjelder for er: import, prosessering, mat og fôr. Linje MON 88017 er søkt omsatt under forordning 1829/2003/EC. Norge har ikke tidligere uttalt seg om MON88017.

Linjen er fremkommet ved *Agrobacterium* mediert transformering av embryonale maisceller fra foreldrelinjen A x Hi-II.

Produktet som ønskes vurdert, er:

Genmodifisert mais, EFSA/GMO/CZ/2005/27 (MON 88017). Unik kode er MON-88Ø17-3.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSAAs frist for innspill er 11.04.07.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet er 11. april 2007.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte maishybriden MON 88017 ble vurdert ut fra Mattilsynets oppdrag. I henhold til Monsanto er søknaden 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 søtningsprodukter.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSAs retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSAs 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/CZ/2005/27) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Transformasjonssystemet/konstruksjon:

Til transformasjon er brukt *Agrobacterium* mediert transformering av embryonale maisceller. Plasmidet PV-ZMIR39 ble benyttet til å transformere celler fra den umodifiserte maislinjen A x Hi-II. Et rekombinant DNA fragment på ca 7100 basepar (bp) er satt inn i maisgenomet. Fragmentet inneholder to ekspresjonskassetter. Den ene kassetten inneholder ris aktin promoteren P-ract1, et ract1 intron, et optimalisert kloroplast overføringspeptid (CTP2), *cp4 epsps* genet og NOS3 terminatoren. Den andre kassetten inneholder en 35S-promoter (P-e35S), en ikke uttrykt ledersekvens (wt CAB) fra hveteklorofyll a/b-bindende protein genet, et ract1 intron, et endret cry3Bb1 gen og et 3'-ende terminatorområde (tahsp17 3') fra hvete "heat shock" genet. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

Beskrivelse av de innsatte genene:

Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av rekombinant DNA-fragmentet i maisens genom. Dette fragmentet inneholder:

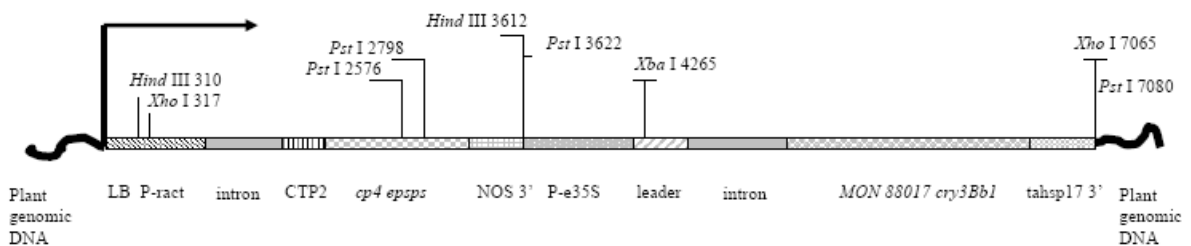
cp4 epsps ekspresjonskassett

- | | |
|---------------------|--|
| a) P-ract1 | promoter fra risaktin gen |
| b) ract1 intron | intron fra risaktin gen |
| c) CTP2 | DNA sekvens som koder for kloroplastoverføringspeptid, fra <i>Arabidopsis thaliana</i> |
| d) <i>cp4 epsps</i> | DNA sekvens som koder for CP4 EPSPS protein, fra <i>Agrobacterium</i> stamme CP4 |

- e) NOS 3' 3' DNA sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra nopalinsyntase gen til *Agrobacterium tumefaciens*, uttrykkes ikke i planten

cry3Bb1 ekspresjonskasset

- d) P-e35S promoter fra blomkålmosaikk virus
- e) wt CAB 5' DNA ledersekvens fra hveteklorofyll a/b-bindende protein gen, uttrykkes ikke i planten
- f) ract1 intron intron fra risaktingen
- g) *cry3Bb1* gen som koder et syntetisk CRY3Bb1 protein, fra *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*
- h) tahsp17 3' 3' DNA sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra hvete "heat shock" gen, uttrykkes ikke i planten.



Figur: Rekombinant DNA fragment i maisens genom. Hind, Pst, Xba og Xho er seter for de respektive restriksjonsenzymene.

Den genmodifiserte maislinjen MON 88017 uttrykker glyfosattoleranse og insektresistens. Bakgrunnen for glyfosattoleranse er *cp4-epsps*-genet som stammer fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens* og som koder for 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase. 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. Dyr må dermed få aromatiske aminosyrer fra føden. Plantens enzym er imidlertid sensitiv for glyfosat, mens det mikrobielle enzymet er tolerant.

Bakgrunnen for insektresistens er at planten uttrykker en variant av bakterieproteinet CRY3Bb1. CRY3Bb1 proteinet, som uttrykkes av *cry3Bb1* gen, er et naturlig toksin som gir planten toleranse mot biller fra ordenen Coleoptera. *cry3Bb1* gen stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*.

Molekylærbiologiske analyser

Molekylærbiologiske analyser viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i plasmidet PV-ZMIR39. Både EPSPS- og CRY3Bb1 proteinet som uttrykkes i maiskorn er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE og densitometri, MALDITOF massespektrometri samt glykosyleringsanalyse. Proteinene er undersøkt for henholdsvis enzymaktivitet og bioaktivitetsassay. Analysene viser at EPSPS og CRY3Bb1 proteinene er strukturelt og funksjonelt like de *E. coli*-produserte proteinene. Det ble ikke påvist glykoliserings seter på

proteinene. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i MON 88017 uttrykker EPSPS-protein som er identisk med proteinet som uttrykkes i jordbakterien *Agrobacterium* stamme CP4, mens i CRY3Bb1 proteinet er 6 aminosyrer endret i forhold til proteinet som uttrykkes i jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*.

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er sekvensert, 878 bp oppstrøms og ca. 1000 bp nedstrøms. Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen(AD4)-, toksin(TOXIN5)- og peptid(ALLPEPTIDES)-databaser viser ingen biologisk relevante strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at det dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske, allergene eller har uheldige helsemessige konsekvenser.

Stabilitet på det rekombinante fragmentet er vist eksperimentelt over mange generasjoner og krysninger.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet og analysene av planteprodusert CRY3Bb1- og CP4 EPSPS protein fra MON 88017 er tilfredsstillende.

Analyse av enzymatisk aktivitet av EPSPS proteinet viser ingen forskjell mellom plante- og bakterieproduert protein. Fordøyelighetstest viste også at CP4 EPSPS-proteinet fordøyes raskt i simulert mage- og tarmsaft. Fordøyelighetstest av CRY3Bb1 viste at proteinet fordøyes raskt i simulert magesaft. CRY3Bb1 proteinet består av en proteaseresistent og en proteasefordøyelig del. I insektarmen vil den proteasefordøyelige delen spaltes til aminosyrer, mens den resistente delen ikke blir fordøyd. I simulert tarmsaft fra mennesker fordøyes fullengde proteinet raskt. Den proteaseresistente delen av proteinet er etter 24 timer spaltet i minst 3 biter.

Mengde CP4-EPSPS i fôr og korn er målt til henholdsvis 16 µg/g ferskvekt (SD=2,1; Range = 12 - 19) og 5,1 µg/g ferskvekt (SD = 0,89; Range = 3,7 - 6,3). Mengde Cry3Bb1 protein i fôr og korn er målt til henholdsvis 27 µg/g ferskvekt (SD = 5,5; Range = 22 - 39) og 13 µg/g ferskvekt (SD = 3,1; Range = 8,7 - 19). Prøvene som er analysert stammer fra tre feltforsøk utført i USA i 2002. Det er tatt ut tre prøver fra hvert feltforsøk.

Mengde av Cry3Bb1 og EPSPS protein i korn er i feltforsøkene i Argentina målt til henholdsvis 9,4 µg/g ferskvekt (SD = 2,7; Range = 6,9 - 16) og 4,0 µg/g ferskvekt (SD = 1,1; Range = 3,2 - 6,5). Prøvene som er analysert stammer fra fire feltforsøk fra vekstsesongen 2003-2004. Det er tatt ut tre prøver fra hvert feltforsøk.

Krysning over syv generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjoner viser at det rekombinante CRY3Bb1/EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

Delkonklusjon

Faggruppen har vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinene og finner at informasjonen er tilstrekkelig. Faggruppen konkluderer at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON 88017 er tilfredsstillende.

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Analyser av sammensetning i maiskorn er fra maislinjen MON 88017. Prøvene som er analysert, stammer fra tre feltforsøk utført i USA i 2002 og fire utført i Argentina i sesongen 2003-2004. Det er tatt ut prøver fra tre blokker fra hvert felt. Analysene omfatter også en umodifisert kontrollhybrid (ikke spesifisert hvilken) og fem forskjellige umodifiserte kommersielle referanse maishybrider, dyrket på de samme feltene som MON 88017.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler:

For MON 88017 er valget av analyseparametere gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter for fôr og korn. For fôr ble det analysert for aske, fett, protein, vann, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), fosfor, kalsium og karbohydrater. For korn ble det analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer (C8-C22), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene B1, B2, B6, E, folinsyre og niacin, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-kumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP). Femten komponenter ble ekskludert fra statistisk analyse fordi >50 % av observasjonene var ved eller lavere enn kvantifiseringsgrensen. Fra feltforsøkene i USA er det funnet 16 signifikante statistiske forskjeller ($p < 0,05$) av 248 statistiske sammenligninger, 4 parallelle prøver x 62 komponenter fra korn og fôr. Fra feltforsøkene i Argentina er det funnet 39 signifikante statistiske forskjeller ($p < 0,05$) av 296 statistiske sammenligninger, 5 parallelle prøver x 52 komponenter fra korn og 4 parallelle prøver x 9 komponenter fra fôr. For disse signifikante forskjellene ligger verdiene innenfor 99 % toleranseintervall, og innenfor typiske verdier for mais som er rapportert i litteraturen.

Fettsyresammensetning i maiskorn:

Fettsyresammensetningen for MON 88017 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 22 fettsyrer. Av disse ble 13 ekskludert fra statistiske analyser fordi mengdene var lavere enn deteksjonsgrensene. For fem fettsyrer er det funnet statistiske forskjeller innenfor enkelte felt i USA og Argentina. Statistisk analyser over alle feltene viser statistiske forskjeller på under 5 % for 2 fettsyrer fra feltene i USA og under 20 % for 4 fettsyrer fra feltene i Argentina. Alle verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for alle forsøksfeltene i USA for 2002. Det er funnet statistiske forskjeller for 7 aminosyrer ved å kombinere statistiske undersøkelser for alle forsøksfeltene i Argentina for 2003-2004. Verdien ligger innenfor et område på 4 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

Vitaminer som det i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for, er B1, B2, B6, E, folinsyre, niacin, vitamin A og vitamin C. Følgende vitaminer er ikke målt:

vitamin A og vitamin C. For de fleste vitaminene som er målt ligger de statistiske forskjellene innenfor 20 %, og innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen. For vitamin B1 er den statistiske forskjellen på ca 24 % når alle feltene kombineres i feltforsøkene i USA. Det er ikke påvist statistiske forskjeller for vitamin B1 når alle feltene kombineres i de Argentinsk felt-forsøkene. Det er imidlertid funnet statistiske forskjeller for folsyre på ca 13 % når alle feltene kombineres i de Argentinsk feltforsøkene. Tilsvarende forskjell i folsyreinnholdet er ikke påvist for USA-feltforsøkene.

Mineraler:

Med unntak for selen er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Natriuminnholdet var lavere enn påvisningsgrensen. For jern og magnesium er det funnet statistiske forskjeller når alle feltene kombineres i de Argentinsk feltforsøkene. For feltforsøkene i USA er det ikke funnet slike statistisk forskjeller for jern og magnesium når alle feltene kombineres. Forskjellen for flertallet av de andre mineralene ligger innenfor 10 % og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. For kobber er det for et forsøksfelt i USA funnet forskjell på ca. 29 %.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer:

Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA.

Delkonklusjon

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 mener at de forskjellene som er påvist ikke har noen helsemessig betydning.

Dokumentasjon av toksisitet og allegenisitet

Toksisitet:

Søknaden inneholder ikke dokumentasjon på føringsforsøk med renfremstilt CP4 EPSPS-proteiner. Monsanto hevder at siden dokumentasjon over disse føringsforsøkene finnes i andre av Monsanto søknader som for eksempel NK603, MON810, MON863xMON810 og GA11, er det ikke nødvendig å inkludere denne dokumentasjonen i denne søknaden.

Akutt oral føringsstudie på mus med renfremstilt Cry3Bb1 protein

Monsanto har i 2003 utført akutt oral føringsstudie på mus med renfremstilt Cry3Bb1 produsert av *E. coli*. Studien er utført i henhold til retningslinjene fra EPA (OPPTS 870.1100) og OECD (akutt toksisitetstest nr. 401). I studien ble det benyttet 10 hann og 10 hunn mus. For kontroll ble det benyttet serumalbumin. Cry3Bb1- og serumalbumindosen var henholdsvis 1930 og 1900 mg/kg kroppsvekt. Etter 14 dagers observasjonsperiode ble alle dyrene avlivet. Det er utført patologiske undersøkelser. Det er ikke påvist testrelaterte skader på dyrene. Ut fra den dosen som ble benyttet i dette føringsforsøket har Monsanto foretatt en beregning av antatt eksponeringssikkerhetsmargin (margin of exposure (MOE)). Monsanto har benyttet et høyest tenkelig inntak av Cry3Bb1 fra mais Korn på 9,46 µg/kg kroppsvekt og

4,84 µg/kg kroppsvekt for henholdsvis smårollinger (vekt 14,5 kg) og voksne (vekt 70 kg). MOE ble kalkulert til $\geq 3,99 \cdot 10^5$ og $\geq 2,04 \cdot 10^5$ for henholdsvis smårollinger og voksne. En MOE på ≥ 100 for akuttoksiske stoffer er generelt regnet for være et rimelig beskyttelsesnivå for mennesker. Høyest tenkelig inntak av Cry3Bb1-proteinet for smårollinger og voksne blir henholdsvis 140 µg og 340 µg. Monsanto har ikke foretatt vurdering av eventuell adjuvanseffekt av Cry3Bb1-proteinet.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 800 dyr, fordelt i åtte grupper som ble føret med henholdsvis mais fra MON 88017, en umodifisert kontrollhybrid og fem kommersielle umodifiserte referansehybride maissorter. Det ble ikke påvist vesentlige endringer ved fôring med maiskorn fra MON 88017, tradisjonell kontroll og tre av de fem referansehybridene. For de to andre referansehybridene ble det målt noe høyere vekt av lårene.

Subkronisk fôringsforsøk på rotter

Det ble utført et 13 ukers fôringsforsøk med hann- og hunnrotter, 3 grupper à 20 rotter/kjønn. Fôret bestod av 11 % og 33 % maiskorn fra MON 88017-planter og 33 % korn fra kontrollen LH59 x LH158. Det er utført makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av organene, samt klinisk patologisk undersøkelser av urin og blod fra 10 dyr i hver gruppe. Det ble ikke påvist noen vesentlige endringer i de undersøkte parametrene. Fôringsforsøket er blitt utført i henhold til OECDs retningslinjer nummer 408, subkroniske tester på dyr.

Faggruppen konkluderer med at det er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

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. Laboratiestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinet. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallproteinet.

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, tilsvarende Cry3Bb1 toksinet som den transgene maislinjen lager. Det er vist at domene II fra Cry3Bb1 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-lysat (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 Cry3Bb1 som benyttes i MON 88017, 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 Cry3Bb1 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 har vært dyrket og konsumert siden 1996.

Delkonklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra MON 88017 er mer allergifremkallende enn umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 88017 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry3Bb1 i maiskorn kan være opp til 19 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1A?

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, 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, og Faggruppen konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MON 88017 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene CP4 EPSPS og Cry3Bb1 ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført sub-kroniske studier på rotter med MON 88017. Det er ikke funnet testrelaterte endringer hos rottene. Faggruppen konkluderer med at det er 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 det må kreves av Monsanto 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 Cry3Bb1-protein.

VURDERT AV**Faggruppe for genmodifiserte organismer:**

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

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, Geneve 1999

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

Guerrero GG, Russell WM, Moreno-Fierros L, 2007. Analysis of the cellular immune response induced by *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins in mice: Effect of the hydrophobic motif from diphtheria toxin. *Mol Immun* 44, 1209–1217.

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.