



DOCUMENTO DE DECISIÓN

Evaluación de la aptitud alimentaria del maíz portador del evento SYN-E3272-5

Dirección de Estrategia y Análisis de Riesgo

Elaborado por:
Coordinación General de Biotecnología

INDICE

RESUMEN Y ANTECEDENTES	3
EVALUACIÓN	3
1 – Historia de uso alimentario y especificación del evento de transformación	4
2 – Organismos donantes y genes introducidos:	4
3 – Caracterización molecular, secuencias flanqueantes y estabilidad genética del evento	4
4 – Productos, patrón y niveles de expresión	4
5 – Características y función biológica.....	5
6 – Análisis Composicional	6
7 – Alergenicidad.....	6
8 – Toxicidad.....	7
9 – Aptitud nutricional.....	7
10 – Conclusión.....	8

RESUMEN Y ANTECEDENTES

El proceso de evaluación de riesgo alimentario de eventos de transformación, producto de la biotecnología moderna, lo realiza el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), organismo regulador dependiente del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.

La Coordinación General de Biotecnología, dependiente de la Dirección de Estrategia y Análisis de Riesgo del SENASA, es el área responsable de llevar a cabo esta función, contando para ello con un equipo de profesionales especializados en la materia y el asesoramiento del Comité Técnico Asesor *ad honorem* sobre uso de Organismos Genéticamente Modificados, compuesto por expertos de diversas disciplinas, representando a los sectores público y privado, vinculados a la producción, industrialización, consumo, investigación, desarrollo y regulación de organismos genéticamente modificados.

El 17 de Julio del 2020 se recibe solicitud de la empresa SYNGENTA AGRO S.A., expediente EX-2020-45859470- -APN-DGTYA#SENASA, para la realización de la evaluación de aptitud alimentaria humana y animal del maíz portador del evento SYN-E3272-5. El evento en cuestión expresa la proteína α -amilasa AMY797E.

Se realizó la revisión de la solicitud a los efectos de corroborar el cumplimiento de lo establecido en la Resolución SENASA N° 412/02, normativa que dispone los criterios y requisitos de evaluación de aptitud alimentaria humana y animal de organismos genéticamente modificados.

La información presentada fue analizada en primera instancia por el equipo técnico específico y luego fue sometida a evaluación del Comité Técnico Asesor. Finalmente, en tercera instancia, la Dirección de Estrategia y Análisis de Riesgo concluye en el presente documento.

Por lo tanto, la Dirección de Estrategia y Análisis de Riesgo como resultado del proceso de evaluación de aptitud alimentaria realizado por la Coordinación General de Biotecnología y el asesoramiento del Comité Técnico Asesor *ad honorem* sobre el Uso de Organismos Genéticamente Modificados del SENASA (acta del día 19/11/2020) concluye que los productos derivados de materiales que contengan el evento SYN-E3272-5 son aptos para el consumo humano y animal, no revisten riesgos agregados o incrementados por efecto de la transgénesis más allá de los inherentes al alimento en cuestión y cumplen con los criterios y requisitos establecidos en la resolución SENASA N° 412/2002 y por el Codex Alimentarius FAO/OMS.

EVALUACIÓN

El citado evento, fue evaluado siguiendo los lineamientos expuestos en la Resolución SENASA N° 412/02, sobre los “Fundamentos y Criterios para la Evaluación de Alimentos Derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, los “Requisitos y Normas de Procedimiento para la Evaluación de la Aptitud Alimentaria Humana y Animal de los Alimentos derivados de Organismos Genéticamente Modificados”, y la “Información

Requerida” para dicha evaluación. La citada Resolución contempla los criterios previstos por el Codex Alimentarius FAO/OMS. La evaluación fue realizada utilizando la información suministrada en la solicitud Anexo III, junto a información adicional solicitada y consultas a expertos, para establecer la aptitud alimentaria para consumo humano y animal.

1 – Historia de uso alimentario y especificación del evento de transformación

El maíz es el cereal de mayor producción a nivel mundial, seguido por el arroz y del trigo. Fue domesticado en América precolombina hace más de 8.000 años. Se cultiva comercialmente en varios países del mundo y posee un vasto historial de consumo seguro y no se han reportado casos de intoxicación o alergias debido a su consumo razonable.

El maíz SYN-E3272-5 fue obtenido por transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* utilizando el vector plasmídico pNOV7013, de embriones inmaduros de maíz convencional, y presenta la siguiente característica:

- Expresión de una enzima alfa-amilasa denominada AMY797E.

2 – Organismos donantes y genes introducidos:

Los genes introducidos provienen de:

- Microorganismos Thermococcales (*amy797E*)
- *Escherichia coli* cepa K12 (*pmi*) – como marcador de selección.

Ninguno de los elementos presentes en las construcciones utilizadas y expresadas en este evento posee características patogénicas para plantas o animales.

3 – Caracterización molecular, secuencias flanqueantes y estabilidad genética del evento

El solicitante presentó estudios de Southern blot y secuenciación que demuestran que el maíz SYN-E3272-5 contiene una única copia de los genes *amy797E* y *pmi* y de los promotores GZein y ZmUbilnt, integradas de forma estable en un único locus. También se demostró la ausencia de secuencias del esqueleto plasmídico en la inserción.

La integridad del inserto y secuencias contiguas a los elementos funcionales fue confirmada mediante secuenciación. Se identificaron 23 y 7 pb faltantes en las regiones RB y LB, respectivamente. Demostraron mediante análisis de las secuencias flanqueantes que el inserto no interrumpe ningún gen conocido del maíz.

La estabilidad genética del ADN insertado en el maíz SYN-E3272-5 fue determinada mediante la técnica de Southern blot y PCR, demostrando que el mismo se mantiene integrado de forma estable y presenta un patrón de herencia mendeliana.

4 – Productos, patrón y niveles de expresión

El inserto de ADN en el maíz SYN-E3272-5 permite la expresión de los siguientes productos:

Genes principales	Organismo donante	Producto expresado	Función biológica
<i>amy797E</i>	Quimera de genes provenientes de bacterias hipertermófilas del orden Thermococcales	enzima quimérica AMY797E alfa-amilasa	Actividad amilasa
<i>pmi</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa K12	PMI (fosfomanosa isomerasa)	Marcador de selección

El estudio para determinar los niveles de expresión de las proteínas AMY797E y PMI en el maíz SYN-E3272-5 fue realizado por el desarrollador entre los años 2005 y 2007 en Illinois, Estados Unidos. Tomaron muestras de distintos tejidos vegetales (raíces, hojas, polen, granos y plantas enteras) en cinco etapas de desarrollo (cogollo, anthesis, llenado de grano, madurez de grano, senescencia), tanto de los híbridos de maíz derivadas del evento SYN-E3272-5, como plantas isogénicas no transgénicas utilizadas como controles; y determinaron la concentración de AMY797E y PMI mediante la técnica de ELISA.

Los niveles de expresión de AMY797E en el maíz SYN-E3272-5 presentaron su valor más elevado en las muestras de grano en las etapas de llenado de grano, madurez y senescencia con valores entre $838 \pm 268 \mu\text{g/g pf}$ (peso fresco) y $1627 \pm 338 \mu\text{g/g pf}$. Se detectaron niveles cuantificables de la proteína AMY797E en las muestras de plantas enteras en todas aquellas etapas del desarrollo en las que estas plantas contienen grano, que variaron debido a las diferencias en la cantidad de grano en las plantas completas recogidas. No se detectó la proteína AMY797E en polen.

La expresión de la proteína PMI en el maíz SYN-E3272-5 es regulada por el promotor constitutivo del gen de la poliubiquitina del maíz y fue detectada a bajos niveles en la mayoría de los tejidos vegetales analizados. La media del nivel de PMI presentó su valor más alto en las muestras de polen con valores entre 8,0 y 8,5 $\mu\text{g/g pf}$, mientras que el valor medio más bajo fue determinado en las muestras provenientes de raíz en un rango de <0.1 a 0.8 $\mu\text{g/g pf}$.

5 – Características y función biológica

AMY797E: es una enzima quimera derivada de 3 alfa amilasas de archaeas del orden de las Thermococcales que posee mayor termoestabilidad y actividad durante los procesos de hidrólisis del almidón del maíz que requieren altas temperaturas (producción de etanol o alimentación de ganado).

La expresión de esta enzima en el maíz SYN-E3272-5 se dirige específicamente al endospermo del grano por acción del promotor de la gama-zeína del maíz.

El solicitante presentó un estudio bioinformático demostrando que la proteína AMY797E expresada por el maíz SYN-E3272-5 presenta un alto grado de similitud de secuencia con amilasas asociadas con el procesamiento de alimentos.

PMI: es una enzima que cataliza la interconversión reversible de manosa 6-fosfato y fructosa 6-fosfato. Las células vegetales portadoras del gen *pmi* pueden sobrevivir y crecer en un medio que contenga manosa como fuente principal o única de energía. Esta proteína se utiliza como marcador de selección de células vegetales transformadas y es equivalente a las proteínas PMI expresadas en eventos que cuentan con antecedentes de evaluación y aprobación comercial, por lo que cuentan con un alto grado de familiaridad regulatoria, y son consideradas seguras para su consumo.

6 – Análisis Composicional

El estudio sobre la composición presentado por la empresa tiene como objetivo comparar la composición (niveles de nutrientes, antinutrientes y metabolitos secundarios) del grano y forraje del maíz SYN-E3272-5 con el de su contraparte isogénica no transgénica. El estudio se llevó a cabo durante los años 2003 y 2004 en seis localidades representativas de la zona de producción maicera de los Estados Unidos. Utilizaron 3 pares de híbridos (SYN-E3272-5 y control: versiones isogénicas no transgénicas) que fueron sembrados siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones por cada localidad.

Los resultados del análisis composicional indicaron que si bien se identificaron algunas diferencias estadísticamente significativas entre los maíces SYN-E3272-5 y los controles no transgénicos para algunos analitos, estas diferencias no se asociaron consistentemente con el maíz SYN-E3272-5. Para los componentes analizados las diferencias estadísticamente significativas encontradas no resultaron composicionalmente relevantes desde la perspectiva de la aptitud alimentaria humana y animal ya que los niveles de analitos observados se encontraron dentro de la variabilidad natural del cultivo definida por el rango de valores observado en la literatura científica

El análisis composicional confirma la equivalencia composicional del maíz SYN-E3272-5 y el control convencional. Además, evidencia que la expresión de las proteínas AMY797E y PMI en las plantas de maíz, no resultan en modificaciones no intencionales en los procesos biológicos habituales de la planta.

7 – Alergenicidad

La empresa presentó evidencia para determinar el potencial alergénico para la proteína AMY797E producida en el maíz SYN-E3272-5. Cabe señalar que la proteína PMI es equivalente a otras expresadas en eventos que cuentan con antecedentes de evaluación y aprobación comercial en Argentina, por lo que cuenta con un alto grado de familiaridad regulatoria, y es considerada segura para su consumo.

Se realizó un análisis bioinformático de las secuencias que forman parte de la inserción y sus regiones flanqueantes para evaluar la potencial alergenicidad de los polipéptidos putativos codificados en los marcos de lectura (ORF) presentes en las secuencias de unión entre el inserto y el ADN genómico en el maíz SYN-E3272-5. Los resultados de este análisis determinaron ausencia de similitud de secuencia con proteínas conocidas como alérgenos o toxinas.

Para determinar si la proteína AMY797E tiene homología de secuencia significativa con proteínas alergénicas, se llevó a cabo un estudio bioinformático realizado por comparación en una base de datos integral de alérgenos. Se examinó la homología general

mediante la comparación de péptidos secuenciales de 80 aminoácidos de la secuencia de la proteína AMY797E con las secuencias de alérgenos en la base de datos. También se comparó cada péptido posible de ocho aminoácidos contiguos entre la secuencia de la AMY797E y las secuencias de alérgenos. No se identificaron homologías de secuencias entre la proteína de nueva expresión con alérgenos o toxinas conocidos.

Evaluaron la susceptibilidad de la proteína AMY797E a la degradación proteolítica en fluidos gástricos simulados conteniendo pepsina. La proteína AMY797E fue incubada durante 1, 5, 10, 20 y 30 minutos con la solución conteniendo pepsina siendo analizadas posteriormente por Western blot. Luego de 5 minutos de incubación no se encontraron bandas, demostrando que la proteína era digerida de forma rápida y completa. Esto indica que es muy poco probable que la misma represente un riesgo para la salud humana o animal.

8 – Toxicidad

La empresa presentó evidencia para determinar el potencial toxicológico para la proteína AMY797E producida en el maíz SYN-E3272-5. Cabe señalar que la proteína PMI es equivalente a otras expresadas en eventos que cuentan con antecedentes de evaluación y aprobación comercial en Argentina, por lo que cuenta con un alto grado de familiaridad regulatoria, y es considerada segura para su consumo.

De forma similar a lo descripto anteriormente para el análisis del potencial alérgico, se analizaron estudios bioinformáticos para evaluar la potencial toxicidad de los polipéptidos putativos codificados por los marcos de lectura abierta de las secuencias que forman parte de la inserción y sus regiones flanqueantes. Los resultados de este análisis determinaron ausencia de similitud de secuencia con proteínas conocidas como toxinas.

Así mismo, el solicitante presentó un estudio realizado por comparación de secuencias en bases de datos, que no identificó homologías de secuencias entre las proteínas de nueva expresión en el evento con toxinas conocidos.

Se realizó un estudio de toxicidad oral de dosis única en ratones con el objetivo de evaluar la toxicidad aguda de la proteína AMY797E. Para esto, grupos de cinco ratones machos y cinco hembras se dosificaron oralmente mediante sonda con la proteína AMY797E o con carboximetilcelulosa acuosa como sustancia de control negativo y vehículo. Los resultados mostraron que no hubo efectos debidos al tratamiento sobre la supervivencia, peso corporal, ganancia de peso corporal, manifestaciones clínicas, consumo de alimento ni otras patologías. Por lo tanto, se concluye que la proteína FT_T no presenta efectos adversos al ser administrada en una dosis de hasta 1511 mg/kg de peso corporal en machos y hembras.

Por lo expuesto se concluye que es altamente improbable que el evento evaluado presente riesgos toxicológicos para humanos y animales.

9 – Aptitud nutricional

En función de la evidencia científica presentada sobre el evento SYN-E3272-5, no se identifican riesgos potenciales que pudieran impactar en la seguridad de maíces

portadores de este evento, por lo que solicitar estudios de alimentación en animales con el alimento completo no aportará información adicional para la evaluación de riesgo.

10 – Conclusión

Considerando que la información suministrada por la empresa SYNGENTA AGRO S.A. satisface lo dispuesto en la Resolución SENASA N° 412/2000, la Dirección de Estrategia y Análisis de Riesgo como resultado del proceso de evaluación de aptitud alimentaria realizado por la Coordinación General de Biotecnología y el asesoramiento del Comité Técnico Asesor *ad-honorem* sobre el Uso de Organismos Genéticamente Modificados del SENASA (acta del día 19/11/2020), concluye que el maíz portador del evento SYN-E3272-5, que expresa la proteína α -amilasa AMY797E, es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional y, por lo tanto, es tan seguro y no menos nutritivo que las variedades de maíz comerciales.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, y en función del conocimiento científico actualmente disponible y de los requisitos y criterios internacionalmente aceptados, no se encuentran reparos para la aprobación para consumo humano y animal del maíz portador del evento SYN-E3272-5.



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2021 - Año de Homenaje al Premio Nobel de Medicina Dr. César Milstein

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número:

Referencia: Documento de Decisión, Maíz SYN-E3272-5

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 8 pagina/s.