

**APLICACIÓN ANTE EL COMITÉ TÉCNICO NACIONAL DE BIOSEGURIDAD DE OVM DE USO EN SALUD Y ALIMENTACIÓN HUMANA EXCLUSIVAMENTE (CTNSalud) PARA AUTORIZACIÓN DEL EVENTO DE TRANSFORMACIÓN MZIR098**

**1. INFORMACIÓN GENERAL**

**1.1. INTERESADO / SOLICITANTE**

	<b>No. RADICADO</b>	20181033789	<b>FECHA (dd/mm/aa)</b>	22/02/2018
<b>COMPAÑÍA SOLICITANTE</b>	SYNGENTA S.A			
<b>REPRESENTANTE LEGAL</b>	CATALINA SANTANA			
<b>DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA</b>	Carrera 7 N° 114-43, Piso 10		<b>CIUDAD</b>	Bogotá
<b>TELÉFONO</b>	6538777	<b>CORREO ELECTRÓNICO</b>	<a href="mailto:angela.lenis@syngenta.com">angela.lenis@syngenta.com</a> <a href="mailto:victoria.pena@syngenta.com">victoria.pena@syngenta.com</a>	

**1.2. DATOS DE LA SOLICITUD**

<b>TITULO</b>	RADICACIÓN DE INFORMACIÓN DE LA TECNOLOGÍA EVENTO MZIR098
<b>ALCANCE DE LA SOLICITUD</b>	ALIMENTO O MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO
<b>NOMBRE DEL EVENTO</b>	MZIR098
<b>IDENTIFICADOR ÚNICO</b>	MZIR098 (SYN-ØØØ98-3)

## 2. INFORMACIÓN DE LA PLANTA RECEPTORA

<b>NOMBRE CIENTÍFICO</b>	<i>Zea mays L.</i>
<b>NOMBRE COMÚN</b>	Maíz
<b>FAMILIA TAXONOMICA</b>	Poaceae
<b>VARIEDAD, LINEA, CULTIVAR</b>	-
<b>HISTORIA DE USO</b>	Usualmente, miles de productos alimentarios para pienso e industriales, dependen de ingredientes basados en el maíz. El maíz y sus productos procesados no plantean un riesgo para la salud humana, para los animales domésticos o para las especies salvajes. El maíz ha sido utilizado históricamente por los pueblos indígenas del Hemisferio occidental. Actualmente, el maíz se utiliza como elemento de alimentación básico para personas de todo el mundo, sobre todo en áreas de agricultura de subsistencia. El maíz no tiene ninguna patogenicidad, toxicidad o alergenicidad conocidas, puesto que más de 500 años de historia documentada y miles de años de uso demuestran que es un alimento de uso seguro para los seres humanos.

## 3. DOCUMENTOS SUMINISTRADOS POR EL SOLICITANTE PARA LLEVAR A CABO EL ANALISIS DE LA EVALUACION DEL RIESGO PRESENTADA

<b>DESCRIPCIÓN GENERAL DEL EVENTO DE TRANSFORMACION</b>	<p>La transformación del maíz de Syngenta Evento MZIR098 que expresa las proteínas <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcr3A</i> y <i>pat-08</i>, fue obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz endogámica NP2222 de Syngenta mediada por transformación de <i>Agrobacterium</i>. El maíz MZIR098 posee en un mismo inserto y locus del genoma los genes <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcr3A</i> y <i>pat-08</i> que codifican para las proteínas <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcr3A</i> y <i>PAT</i> que proporciona modos duales de acción para el control de ciertos coleópteros comedores de raíz del maíz (<i>Diabrotica</i> spp.) y le confiere tolerancia al glufosinato de amonio en productos herbicidas.</p> <p>El plásmido pSYN17629 fue usado para producir el maíz MZHG0JG mediante transformación mediada por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> en embriones inmaduros de maíz. La región del vector plasmídico, pSYN17629, destinada a la inserción en el genoma del maíz consistió en casetes de expresión génica para <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcr3A</i> y <i>pat-08</i>. El casete de expresión <i>ecry3.1Ab</i> consiste en una región codificante de <i>ecry3.1Ab</i> regulada por un promotor CMP del virus curling de la hoja amarilla cestrio (CMP-04) y la secuencia terminadora nopalina sintasa (NOS) de <i>A. tumefaciens</i> (NOS-05-01), así como la secuencia del enhancer de NOS (NOS-02). El casete de expresión de <i>mcr3A</i> consiste en una región de codificación <i>mcr3A</i> regulada por un promotor de ubiquitina de maíz (Ubi1-18) y un terminador de NOS (NOS-20). El casete de expresión <i>pat-08</i> consiste en la región de codificación <i>pat-08</i> regulada por el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (35S-04) y el terminador NOS (NOS-05-01). Mediante este método, los elementos genéticos dentro del borde izquierdo y las regiones del borde derecho del plásmido de transformación se transfirieron e integraron de manera eficiente en el genoma de la célula vegetal objetivo, mientras que los elementos genéticos fuera de estas regiones fronterizas no se transfirieron. Las plántulas regeneradas se analizaron para determinar la presencia de <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcr3A</i> y <i>pat-08</i> y para la ausencia del gen de resistencia a espectinomicina (<i>aadA-03</i>), presente en la</p>
---	--

	cadena principal del vector, mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.
<b>ALERGENICIDAD</b>	<p><b>Proteínas eCry3.1Ab</b></p> <p>La proteína eCry3.1Ab es una proteína sintética (quimera) que contiene regiones de las proteínas mCry3A y Cry1Ab. La fuente de las proteínas nativas Cry3A y Cry1Ab es <i>Bacillus thuringiensis</i>. Las bacterias en general no tienen historial de alergenicidad (Taylor and Hefle, 2001; FAO/WHO 2001). Las bacterias Bt son un componente común e inocuo de la microflora del suelo y han sido aisladas de la mayoría de los hábitats terrestres, varias subespecies han sido descritas; muchas han sido ampliamente estudiadas y usadas en preparaciones de insecticidas. A pesar de un amplio uso de insecticidas Bt en cultivos de consumo, no se han presentado reportes de alergias por consumo oral a estas preparaciones. En el estudio de homología de secuencias para alergenicidad no se observaron similitudes de secuencias significativas, entre la secuencia de amino ácidos de la proteína eCry3.1Ab y las proteínas registradas en la base de datos FARRP AllergenOnline database en la búsqueda full-length FASTA (mayor del 35% de identidad compartida sobre 80 amino ácidos).</p> <p>Estos estudios ya se han presentado oportunamente como información del evento individual 5307 en el documento con número 11100640 y fecha de radicación 18/10/2011. Y Aprobados mediante las resoluciones No 5632 de 2014 emitida por el Ministerio de Salud y la Resolución 3047 de 2013 emitida por el ICA.</p> <p><b>Proteína mCry3A</b></p> <p>Mientras que virtualmente todos los alérgenos de los alimentos son proteínas, sólo unas pocas de las muchas proteínas que se encuentran en la comida son alergénicas. Aunque la probabilidad que una nueva proteína específica resulte un alérgeno alimentario es pequeña, se llevó a cabo una rigurosa evaluación del potencial de alergenicidad de mCry3A utilizando un enfoque de "peso de la evidencia". El enfoque de "peso de la evidencia" se adoptó porque no existe una única prueba definitiva para predecir la respuesta alérgica de los alimentos en humanos. Más aún, el enfoque de "peso de la evidencia" es consistente con las recomendaciones de la Comisión del Codex Alimentarius, una organización conjunta de la FAO/WHO que establece los lineamientos, estándares y códigos de prácticas internacionales (CODEX, 2003). Se consideraron varios tipos de datos e información en la evaluación del "peso de la evidencia" que incluyeron:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) el origen de la proteína introducida.</li> <li>(2) una evaluación sobre si la proteína introducida comparte una homología de secuencia aminoacídica significativa con proteínas alergénicas conocidas.</li> <li>(3) la susceptibilidad de la proteína a la digestión en condiciones gástricas de mamífero simuladas.</li> <li>(4) la susceptibilidad de la proteína a la inactivación por calor.</li> </ol> <p>Los estudios referentes a homología de la secuencia de la proteína mCry3A con alérgenos conocidos ya se han presentado oportunamente como información del evento individual MIR604, con fecha de radicación 04/06/2010, y aprobado mediante las resolución No 118 de 2012 del Ministerio de salud y</p>

	<p>Resolución 229 de 2012 emitida por el ICA.</p> <p>Proteína PAT</p> <p>En más de tres o cuatro décadas de aplicaciones foliares de preparaciones comerciales de <i>B. thuringiensis</i> como insecticida (p.ej. Dipel, Javelin), no se han reportado reacciones alérgicas a la proteína por ingestión oral, dérmica o inhalación. Esta proteína es muy susceptible a degradación por la digestión en el tracto digestivo de los mamíferos., igualmente la mayoría de los alérgenos pueden presentarse como compuestos proteicos abundantes en ciertos alimentos (leche, soya, maní, etc.). La proteína PAT presente en el evento MZIR098 es idéntica a la presente en el evento BT11.</p> <p>Para evaluar el potencial alergénico de la proteína fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), se llevó a cabo una búsqueda en bases de datos y el resultado demostró que las “acetil-transferasas” como grupo no presentan alergenicidad reportada para mamíferos. La proteína PAT es lábil al calor, lábil al medio ácido y altamente digerible. No se pudo establecer la generación de fragmentos de bajo peso molecular (peso molecular &lt;6.000) durante los ensayos de digestibilidad in vitro. Sin embargo, estos posibles fragmentos se encuentran por fuera del rango de peso molecular de la mayoría de los alérgenos alimentarios. Una respuesta alérgica requiere una unión entre el alérgeno y las moléculas de anticuerpos IgE de la superficie de las células mastocito o basófilos. Las proteínas pequeñas suelen ser menos inmunogénicas y el peso molecular de 10.000 probablemente representa el límite inferior necesario para estimular una respuesta inmunogénica. Estos datos sugieren que la proteína PAT será digerida como proteína dietaria convencional en el ambiente gástrico común de mamíferos y no debería presentar ningún riesgo dietario para los humanos.</p> <p>El Consensus Document of General Information Concerning the Genes and Their Enzymes that Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicide de la OECD (OECD, 1999) establece que: “la proteína PAT no es un alérgeno conocido”. Esta declaración está basada en la caracterización de la proteína, como así también en la búsqueda de homología en bases de datos (base de datos de ADN del GenBank, FASTADB, entre otros).</p> <p>Los estudios referentes a homología de la secuencia de las proteína PAT con alérgenos conocidos ya se han presentado oportunamente como información del evento individual Bt11, con fecha de radicación 23/09/2005.</p> <p>En resumen, los resultados indican que la proteína <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcry3A</i> y <i>pat</i> expresadas en plantas de maíz 5307, MIR604 y B11 no presenta características que la señalen como potencial alérgeno al igual en el evento MZIR098.</p>
<p><b>TOXICIDAD</b></p>	<p>La proteína <i>eCry3.1Ab</i> producida en el maíz MZIR098 es idéntica a la proteína <i>eCry3.1Ab</i> producida en el maíz del evento 5307 (identificador OECD SYN-Ø53Ø7-1). La proteína <i>mCry3A</i> producida en maíz MZIR098 es idéntica a la proteína <i>mCry3A</i> producida en el maíz Evento MIR604 (identificador OECD SYNIR6Ø4-5). La proteína PAT producida en el maíz MZIR098 es idéntica a la proteína PAT producida en el maíz Evento Bt11 (identificador de la OCDE SYN-BTØ11-1), así como a otros productos de maíz y soya disponibles comercialmente. La secuencia de nucleótidos de los genes <i>ecry3.1Ab</i>, <i>mcry3A</i> y <i>pat-08</i> presentes en MZIR098 fue confirmada mediante secuenciación del inserto. Del mismo modo se confirmó la secuencia de nucleótidos del gen <i>ecry3.1Ab</i> expresado en el evento 5307, del gen <i>mcry3A</i> expresado en el evento MIR604 y el gen <i>pat</i> expresado en el evento Bt11.</p>

	<p><b>Proteína eCry3.1Ab</b></p> <p>No hay receptores para las delta endotoxinas de la proteína de las subespecies de <i>B. thuringiensis</i> en la superficie de las células intestinales de los mamíferos, por tanto los humanos no son susceptibles a dichas proteínas (Noteborn, 1995). Las proteínas por lo general no son tóxicas, con contadas excepciones. Las que lo son, están bien caracterizadas. No hay proteínas conocidas que exhiban toxicidad crónica como mutagénesis o carcinogénesis. Las proteínas por lo general son degradadas por la digestión en el tracto alimentario de los mamíferos. En el estudio de homología de secuencias para toxinas se encontraron 550 secuencias con similitudes significativas a la secuencia de aminoácidos de la proteína eCry3.1Ab. Estas secuencias se agruparon en categorías, ninguno de los 550 alineamientos descritos en este análisis son conocidos como toxinas a humanos y mamíferos.</p> <p>De los 550 alineamientos, 505 fueron proteínas de 15 especies identificadas como delta-toxinas conocidas o putativas (también conocidas como proteínas Cry o cristalinas); incluidas en este conteo se encontraron alineamientos a constructos sintéticos de proteínas Cry. Los E-values para los alineamientos entre estas secuencias y la proteína eCry3.1Ab están entre el rango de 0 a 0.0355. Los alineamientos adicionales de 26 proteínas de 6 especies fueron identificados como hipotéticos o proteínas desconocidas de función no especificada. Los E-values para estos alineamientos están en el rango de <math>2.8 \times 10^{-15}</math> a 0.0605. Ninguna de estas proteínas son toxinas conocidas o putativas.</p> <p>Adicionalmente se identificaron 16 alineamientos con proteínas parasporinas de <i>Bacillus thuringiensis</i> y proteínas parasporinas relacionadas que son no-hemolíticas pero son capaces de eliminar preferencialmente células de cáncer (Yamashita et al, 2005). Las parasporinas no han mostrado actividad insecticida a la fecha, se ha demostrado que tienen actividad citocida in vitro en células sensibles derivados de líneas celulares cancerígenas, pero poca o nula actividad citocida a otras líneas celulares humanas o mamíferas normales. No hay reportes publicados de toxicidad de las proteínas parasporinas in vivo a humanos o mamíferos. Los E-values para estos alineamientos están en el rango de <math>1.1 \times 10^{-54}</math> a <math>5.1 \times 10^{-9}</math>.</p> <p>Dos alineamientos adicionales a dos proteínas de dos especies fueron identificadas como proteínas de señalización de vías de translocación de doble arginina. Estos E-values se encuentran en el rango de 0.002 a 0.0464. Un alineamiento adicional a una proteína de <i>B. thuringiensis</i> denominada fructosa-6-fosfato amidotransferasa; la proteína amidotransferasa se alinea con la eCry3.1Ab en una región que se describe como un dominio de delta endotoxina. El E-value para este alineamiento fue de <math>1.12 \times 10^{-72}</math>.</p> <p>Estos resultados apoyan la conclusión de que la secuencia de aminoácidos de la proteína eCry3.1Ab no muestra similitudes significativas con toxinas conocidas o putativas que afecten la salud humana o de mamíferos.</p> <p><b>Proteína mCry3A</b></p> <p>Se evaluó la toxicidad potencial de la proteína mCry3A realizando una extensiva búsqueda bioinformática para determinar si la secuencia de aminoácidos de dicha proteína tiene homología significativa con secuencias de proteínas identificadas como toxinas, y llevando a cabo un estudio de toxicidad oral aguda en ratones. Los detalles de estas evaluaciones se resumen a continuación: mCry3A no comparte una homología significativa con toxinas conocidas (distintas a las toxinas proteicas Cry) y no produjo efectos</p>
--	--

	<p>adversos relacionados con el tratamiento cuando se administró a ratones en altas dosis. mCry3A es considerada no tóxica.</p> <p>Proteína PAT</p> <p>El gen pat codifica la enzima fosfinotricin-N-acetil transferasa. Las acetil transferasas son una clase de enzimas comunes tanto en células bacteriales como de plantas y animales. La acetil transferasa juega un papel central en el metabolismo de las grasas. Como virtualmente todas las células contienen acetil transferasas, son un componente natural de la dieta humana. No hay reportes de toxicidad o alergenicidad asociada con acetil transferasas en la literatura. Estas enzimas no se parecen en su secuencia a toxinas proteicas conocidas como los venenos de serpientes, endotoxinas bacterianas o alérgenos. Además, la proteína PAT es rápidamente inactivada y digerida cuando es sometida a pH ácido. Estas condiciones se asemejan a las del sistema digestivo de mamíferos, lo que confirma que no son tóxicas en ratones.</p>
<p><b>ANÁLISIS DE PROXIMALES</b></p>	<p>Se realizaron análisis composicionales en muestras de maíz MZIR098, la versión isogénica no transgénica cercana y seis variedades de maíz de referencia, sembradas en 8 localidades de USA. Se cuantificaron 73 nutrientes en grano y 9 componentes en forraje, incluyendo nutrientes claves, metabolitos secundarios y anti-nutrientes, basados en las recomendaciones de la OECD (OECD, 2002). Los datos fueron analizados de acuerdo a los valores medios de cada componente por localidad y sujetos al análisis de ANOVA. Adicionalmente niveles promedio de componentes nutricionales fueron comparados con los rangos de variación de maíces híbridos convencionales publicados en la base de datos de ILSI.</p> <p>Para todos los componentes comparados en forraje y para la mayoría de los componentes comparados en grano, estadísticamente los niveles medios entre sitios no difirieron significativamente entre el maíz MZIR098 no tratado y el maíz control, o entre el maíz MZIR098 tratado con herbicida específico y el control.</p> <p>En comparación con la muestra de forraje de control, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ninguno de los componentes medidos en el maíz MZIR098 no tratado y en el herbicida específico del rasgo.</p> <p>En comparación con el grano del control, se observaron aumentos estadísticamente significativos en los niveles de potasio, β-caroteno y heptadecanoico 17: 0 y 18: 2 de ácidos grasos linoleicos tanto en el maíz MZIR098 no tratado como en el tratado con herbicida y se observó disminución en niveles de ácidos grasos 18: 0 esteárico, 18: 1 oleico y 20: 0 á araquídicos. Los niveles de calcio y cobre fueron significativamente más altos en el grano del maíz MZIR098 no tratado que en el grano de control, y el nivel de lisina fue significativamente menor. Los niveles de NDF y vitamina E fueron significativamente mayores en el grano del maíz MZIR098 tratado con herbicida que en el grano de control, y el nivel de almidón fue significativamente menor. La magnitud de cada diferencia fue menor al 6%. V</p> <p>No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de hierro, magnesio, manganeso, fósforo y zinc en las comparaciones entre la prueba y el control. Los niveles de calcio, cobre y potasio fueron más altos en el maíz testigo que en el control.</p> <p>Los niveles medios de todos los componentes medibles en el maíz MZIR098 tratados con herbicida y no</p>

	<p>tratados estaban dentro de los rangos de niveles publicados en la base de datos ILSI, y todos excepto el ácido ferúlico estaban dentro de los rangos de los niveles de componentes en las líneas de referencia no transgénica cultivadas en los mismos lugares. A pesar de ser mayores que los niveles en las líneas de referencia, los niveles de ácido ferúlico en el maíz MZIR098 no tratado y tratado con herbicida específico no fueron estadísticamente diferentes a los del control.</p> <p>En base a estos datos, se ha demostrado que la mayoría de los componentes en el maíz MZIR098 y en el maíz MZIR098 tratados con herbicidas no difieren del control, y cuando ocurrieron diferencias, los niveles medios estuvieron dentro de los rangos considerados como normal para el maíz convencional. Por lo tanto, se concluye que el forraje y el grano del maíz MZIR098 no son materialmente diferentes en la composición de nutrientes de los del comparador no transgénico, casi isogénico o del maíz de campo convencional.</p>
<b>DOCUMENTO DE GESTIÓN DEL RIESGO (Art. 17 Literal a, Decreto 4525 de 2005)</b>	El solicitante adjunta documento de gestión del riesgo al dossier.

#### 4. OTRA INFORMACION

<b>PAISES Y USOS EN DONDE ESTA AUTORIZADO</b>	<p>El evento MZIR098 posee aprobación en Estados Unidos otorgada por la EPA el 6/8/2016, y por la FDA el 29 de abril del 2016, también está aprobado en Cana por la Canadian Food Inspection agency el 9 de agosto de 2016, así como en Australia el 21 de Julio de 2016.</p> <p>Adicionalmente los eventos 5307, MIR604 y GA21, han sido aprobados en varios países y se mencionan ya que los mismos expresan proteínas idénticas a las proteínas, ecry3.1Ab, mcry3A y pat-08 expresadas por el evento MZIR098.</p>
<b>SOLICITUDES EN CURSO O APROBACIONES EN OTRO CTN</b>	Se envió solicitud de aprobación al CTNPecuario para autorización para uso o consuma animal Radicado No 20181100165