



EVALUACIÓN DE RIESGOS PARA MAÍZ DP910521 PARA USO COMO ALIMENTO O MATERIA PRIMA PARA LA ELABORACIÓN DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO

1. INFORMACIÓN GENERAL

No RADICADO	20221267239	FECHA	20/12/2022
COMPAÑÍA SOLICITANTE	Corteva Agriscience de Colombia S.A.S		
REPRESENTANTE LEGAL	Carlos rebolledo		
DIRECCIÓN CORRESPONDENCIA	Calle 113 No. 7-21, Piso 14		
CORREO ELECTRONICO	Claudia.pena@corteva.com	TELÉFONO	6012595900
ALCANCE DE LA SOLICITUD	Autorización del evento de transformación maíz DP910521		
NOMBRE DEL EVENTO	DP910521		
IDENTIFICADOR ÚNICO	DP-910521-2		
AUTORIZACIONES PREVIAS	El evento individual DP910521 no cuenta en Colombia con autorización previa para uso como alimento o materia prima para la elaboración de alimentos para consumo humano. Por otra parte, según la información suministrada el evento no cuenta con autorización para uso como alimento o materia prima para la elaboración de alimentos para consumo humano en otros países. Sin embargo, ya se encuentra en proceso de autorización en Argentina, Canadá, Estados Unidos y Unión Europea.		



2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

2.1. Organismo receptor u organismo parental

Familia: Poaceae

Género: *Zea*.

Especie: *Zea mays* L.

Cultivar: N/A

Nombre común: Maíz.

El maíz ha sido utilizado históricamente por los pueblos indígenas del hemisferio occidental y actualmente se utiliza como alimento básico para personas de todo el mundo, sobre todo en áreas de agricultura de subsistencia. Es la principal materia prima para la obtención de almidón, la cual puede ser refinada en productos complejos como aceites, jarabes, goma de mascar, entre otros. Es el segundo cultivo comercial del mundo a nivel de producción y el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea. En cuanto a sus características fenotípicas *Zea mays* L., es una planta anual de 1.5-3 m de altura. El tallo es simple erecto, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, es robusto y sin ramificaciones. Se caracteriza por ser una planta monoica con inflorescencias masculinas y femeninas separadas. La inflorescencia masculina es una panoja laxa y apical, mientras que la femenina es una espiga compuesta y axilar, cubierta por brácteas foliáceas conocidas comúnmente como chala. Las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas y alternas (SINAVIMO, 2018).

2.2. Organismo(s) donador(es)

i) Gen *Cry1b34*

Phylum: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *Bacillus thuringiensis*, Berliner 1915

ii) Gen *mo-pat*

Phylum: Actinobacteria

Clase: Actinobacteria

Orden: Streptomycetales

Familia: Streptomycetaceae

Género: *Streptomyces*

Especie: *Streptomyces viridochromogenes*, (Hugh 1981) Palleroni and Bradbury 1993

2.3. Función pretendida con la modificación

El maíz DP91052 fue desarrollado para expresar la proteína quimérica Cry1B.34 para protección contra plagas de lepidópteros y coleópteros; y dirigir la producción de la proteína optimizada de fosfinotricina acetiltransferasa (mo-PAT).



2.4. Descripción general de la modificación

Se obtuvo mediante integración específica de sitio (SSI) realizando dos procesos independientes de transformación secuencial. La primera transformación tenía como objetivo insertar una secuencia de sitio de integración sitio específica (también denominada como “base de aterrizaje”) en el genoma del maíz por bombardeo de microproyectiles; mientras que la segunda transformación tenía como objetivo insertar los casetes de expresión deseados de la región de ADN de transferencia (ADN-T) del plásmido PHP79620 en la “base de aterrizaje” mediante nuevamente bombardeo de microproyectiles.

Transformación I – Inserción base aterrizaje

Utilizando transformación por bombardeo de microproyectiles con los plásmidos PHP71012, PHP70594, PHP21193 y PHP21875, se generó la ubicación sitio específica conocida como “base de aterrizaje”. EL ARN guía *zm-84CR1* (PHP70594), dirigió la proteína Cas9 (PHP70594) para producir una ruptura de doble cadena entre las secuencias *zm-SEQ138* y *zm-SEQ 139* (PHP71012), las cuales son secuencias idénticas del plásmido PHP79620. Mediante reparación dirigida por homología (HDR) se introdujo entre las regiones blanqueantes *zm-SEQ138* y *zm-SEQ 139*, la base de aterrizaje; esta consta de un sitio *loxP*, la región promotora *ubiZM1*, sitio objetivo de recombinación FRT1, el gen *nptII*, el terminador *pinII* y el sitio objetivo FRT87.

Por otra parte, la expresión transitoria de la proteína WUS (PHP21139) y ODP2 (PHP21875), permitió mejorar la regeneración de las plantas de maíz a partir del proceso de transformación.:

Transformación II – Integración sitio específica casetes de expresión

Nuevamente, empleando la transformación por bombardeo de microproyectiles con los plásmidos PHP79620, PHP5096, PHP21875, PHP73572), se realizó el proceso de inserción de los casetes de expresión en la base de aterrizaje, creada por medio de la transformación I. La recombinasa FLP codificada por el gen *mo-Flp* (PHP5096) intercambió los casetes de genes de rasgos previstos entre los sitios FRT1 y FRT87 de PHP79620, por el gen *nptII*, el terminador *pinII* en la base de aterrizaje. Posteriormente, se dio una expresión transitoria sin integración al genoma del maíz del gen *mo-flp* (PHP5096), el gen *zm-odp2* (PHP21875) y el gen *zm-wus2* (PHP73572). A continuación, se dio la inserción de los casetes de expresión de los genes de interés *cry1B.34*, *mo-pat* y *pmi* (marcador de selección) entre los sitios FRT1 y FRT87, por medio de un intercambio efectuado por la flipasa recombinasa.

Al igual que en la transformación I, la expresión transitoria de la proteína WUS (PHP73572) y ODP2 (PHP21875), permitió mejorar la regeneración de las plantas de maíz a partir del proceso de transformación.:

Luego de estos dos procesos de transformación las plantas de maíz se regeneraron y se realizó el proceso de caracterización molecular. Se seleccionó una línea de maíz que contenía la inserción de ADN prevista pero que no contenía secuencias de plásmido no deseado y se avanzó en el proceso de obtener el evento final.

2.5. Estabilidad genética del inserto

Mediante secuenciación de nueva generación (NGS) conocido como Southern-By-Sequencing (SbS) se comprobó la identidad, estabilidad e integridad de los casetes de expresión luego del proceso de transformación. Adicionalmente, se verificó la ausencia de estructuras exógenas y del vector plasmídico en el material final.



Por otra parte, se realizó un estudio de segregación multigeneracional mediante Southern blot que demostró que el ADN insertado se transmite de acuerdo según las leyes mendelianas durante cinco (5) generaciones.

3. EVALUACIÓN DE LOS RIESGOS POTENCIALES

Matriz de estimación de riesgos potenciales

		ESTIMACIÓN DEL RIESGO			
Probabilidad	Muy Probable	Bajo	Moderado	Alto	Alto
	Probable	Bajo	Bajo	Moderado	Alto
	Poco Probable	Insignificante	Bajo	Moderado	Moderado
	Muy Poco Probable	Insignificante	Insignificante	Bajo	Moderado
		Marginales	Menores	Intermedias	Mayores
Consecuencias					

Un **riesgo Insignificante** es considerado insustancial y cuando no hay necesidad de realizar acciones para su mitigación. Un **riesgo Bajo** es considerado Mínimo, pero puede existir la necesidad de tomar medidas de mitigación más allá de las prácticas normales. Un **riesgo Moderado** se considera de notable preocupación y que requiere medidas de mitigación que deben ser demostradas como eficaces. Un **riesgo Alto** se considera inaceptable a menos que las medidas de mitigación sean altamente viables y eficaces.

A) Potencial que el maíz DP910521 tenga algún impacto nutricional para los seres humanos

Estudios composicionales y nutricionales fueron realizados a fin de evaluar la equivalencia sustancial del evento DP910521 con una isolínea no transgénica (maíz convencional) en muestras de forraje y grano en ocho (8) sitios de Estados Unidos y Canadá durante el año 2020 (Corteva Agriscience de Colombia S.A.S, 2022). El análisis incluyó composición de proximales, fibras, minerales, ácidos grasos, aminoácidos, vitaminas, metabolitos secundarios y anti nutrientes.

Del total de analitos evaluados (75), los resultados arrojaron 2 diferencias estadísticamente significativas (humedad y ácido fítico de grano) con relación a su valor medio ($p < 0.05$). Sin embargo, todos los valores medios de los analitos (incluidos los que presentaron diferencias significativas) se encontraban en el rango de referencia reportados en la literatura y los de tolerancia del 99%.

Por lo anterior, es muy poco probable que el DP910521 sea diferente en su equivalencia sustancial composicional a su contraparte convencional. Las diferencias reportadas, no fueron composicionalmente significativas desde un punto de vista de seguridad alimentaria y todos los valores medios de los analitos estuvieron dentro de los rangos de referencia internacionales y del rango de tolerancia del 99%. De acuerdo con la matriz de estimación del riesgo, se puede concluir que el potencial para que el maíz DP910521 tenga algún impacto nutricional para los seres humanos es **BAJO** ya que es muy poco probable que ocurra basado en la información presentada y en el hipotético caso que sucediera un cambio composicional sustancial las consecuencias serían intermedias, ya que podrían observarse cambios en el crecimiento y rendimiento en los seres humanos que podrían afectar su salud.

B) Potencial que el maíz DP910521 tenga algún impacto alergénico para los seres humanos



Para las proteínas Cry1B.34 y mo-PAT se realizaron estudios bioinformáticos para establecer posibles similitudes y/o homologías con alérgenos conocidos (Corteva Agriscience de Colombia S.A.S, 2022). Las búsquedas fueron realizadas utilizando el software de alineamiento FASTA, la base de datos COMPARE (Comprehensive Protein Allergen Resource) utilizando su versión 2020, y una ventana de búsqueda de 80 y 8 aminoácidos con un umbral de identidad del 35%. Adicionalmente se realizó una búsqueda de 8 meros para identificar cualquier secuencia corta de 8 aminoácidos o más, que compartan un 100% de identidad con una proteína alergénica. Esta búsqueda se realizó utilizando el software FUZZPRO del paquete EMBOSS.

Los resultados no arrojaron alineamientos estadísticamente significativos, por lo cual se sugiere que no existen homologías con alérgenos conocidos por parte de las proteínas. La búsqueda de 8-meros no mostró segmentos que compartieran 100% identidad con alérgenos conocidos.

Por otra parte, mediante distintos estudios de digestibilidad en fluidos gástricos simulados se ha demostrado que las proteínas Cry1B.34 y mo-PAT se degradan a niveles no detectables rápidamente, lo cual no sucedería con un componente alergénico (Astwood *et al.*, 1996).

Por lo anterior, es muy poco probable que el maíz DP910521 presente un impacto alergénico diferente al del maíz convencional, ya que las proteínas Cry1B.34 y mo-PAT no presentan homología con alérgenos conocidos y se degradan rápidamente. De acuerdo con la matriz de estimación del riesgo, se puede concluir que el potencial para que el maíz DP910521 sea alergénico para los seres humanos es **BAJO** ya que es muy poco probable que ocurra basado en la información analizada y en el hipotético caso que sucediera las consecuencias serían intermedias, ya que la presencia de una alergia podría desencadenar efectos nocivos para la salud humana, y en casos extremos ser letal.

C) Potencial que el maíz DP910521 tenga algún impacto alergénico para los seres humanos

Para la proteína Cry1B.34 y mo-PAT se realizaron estudios bioinformáticos para establecer posibles similitudes y/o homologías con toxinas conocidas. (Corteva Agriscience de Colombia S.A.S, 2022). El análisis fue realizado empleando la herramienta de libre acceso BLAST, con umbral de 10^{-4} y la base de datos curada UniProtB/Swiss-Prot, versión 2020.

Los resultados no devolvieron alineamientos con valor inferior al umbral establecido, por lo cual se sugiere que no existen homologías con toxinas conocidas por parte de las proteínas en cuestión.

Por otra parte, los estudios de toxicidad aguda, para las proteínas Cry1B.34 y mo-PAT utilizando ratones a los cuales se les suministró diferentes sobredosis del material de prueba no registraron sintomatología o efectos adversos locales y sistemáticos, para ninguno de los estudios. Lo anterior refuerza la información consultada que las proteínas no son tóxicas para los seres humanos.

Por lo anterior, es muy poco probable que el maíz DP910521 presente un impacto tóxico diferente al del maíz convencional, ya que las proteínas Cry1B.34 y mo-PAT no presenta homología con toxinas conocidas y es una proteína que en sobredosis no presenta efectos adversos. De acuerdo con la matriz de estimación del riesgo, se puede concluir que el potencial para que el maíz DP910521 sea tóxico para los seres humanos es **BAJO** ya que es muy poco probable que ocurra basado en la información analizada y en el hipotético caso que sucediera las consecuencias serían intermedias, ya que la presencia de una toxina podría desencadenar efectos nocivos para la salud humana, y en casos extremos ser letal.

4. COMENTARIOS FINALES



Basado en la estimación de los riesgos potenciales desarrollados en este documento y la información consultada se puede concluir que:

- La caracterización molecular no reveló problemas o riesgos con relación a las técnicas biotecnológicas, metodología de transformación u organismos utilizados en la obtención del evento DP910521
- La evaluación de equivalencia sustancial composicional y nutricional, no arrojó diferencias significativas entre el evento DP910521 y su contraparte convencional. La estimación del riesgo fue de BAJO.
- No se evidenciaron homologías con alérgenos o toxinas conocidas o posibles efectos alérgicos o tóxicos asociados a la nueva proteína expresada en DP910521. La estimación del riesgo fue de BAJO para ambos casos.
- El maíz DP91052 presenta los mismos riesgos a su contraparte convencional.
- La consulta pública para esta solicitud, no registro comentarios.
- El evento DP910521 no presenta autorización previa en algún país incluyendo Colombia, sin embargo, se encuentra en proceso de aprobación en Argentina, Canadá, Estados Unidos y Unión Europea.

Por lo anterior se sugiere que se **RECOMIENDE** la autorización del maíz DP910521 para uso como alimento o materia prima para la elaboración de alimentos para consumo humano

5. REFERENCIAS

ASTWOOD, J. D., Leach, J. N & Fuchs, R. L. (1996). Stability of food allergens to digestion in vitro. Nature Biotechnology. 14: 1269- 1273 pp.

CORTEVA AGRISCIENCE DE COLOMBIA S.A.S. (2022). Dossier técnico para solicitud de autorización de evento de transformación de maíz DP91052.

SINAVIMO. (2018). Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. *Zea Mays* (L.). <https://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/zea-mayz>. Consultado: 17 mayo de 2019.