



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

O Relator declara ter incluído Informação Confidencial no corpo deste Parecer?

☐	SIM
☒	NÃO

Processo: 01250.038925/2017-09

Requerente: Amyris Brasil Ltda.

CQB: 255/08

Endereço: Amyris Brasil Ltda. Techno Park – Rodovia Anhanguera Km 104,5. Rua Rui James Clerk Maxwell nº 315 – CEP 13069-380 - Campinas – SP.

Assunto: Liberação Comercial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada (cepa Y22021) e seus derivados

Finalidade da solicitação: transporte, comercialização, produção industrial de farneceno, descarte e quaisquer outras atividades relacionadas ao propósito do OGM em questão e progênie dele derivadas.

Nome comum: Levedura

Nome científico: *Saccharomyces cerevisiae*

Genes inseridos:

FS – gene da farneceno sintase;

HO - produz a endonuclease necessária para *mating type*;

DIT1- produz uma enzima requerida para esporulação;

NDT80 - responsável por fator de transcrição da meiose.

Organismo doador: *Artemisia annua*, planta angiosperma da família Asteraceae

Classificação de risco. Classe de Risco 1, de acordo com a Resolução Normativa Nº 2, de 27 de novembro de 2006, da CTNBio.

FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA:

Trata-se de um pedido feito pela requerente Amyris do Brasil Ltda. (CQB 255/08) para Liberação Comercial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada (cepa Y22021) e seus derivados. A cepa Amyris Y22021 foi desenvolvida para produção do produto renovável β -farneceno, que consiste no mesmo produto produzido por outras duas cepas já aprovadas pela CTNBio. O sesquiterpeno farneceno, formado por um conjunto de seis isômeros estruturais, de ocorrência natural, é um hidrocarboneto isoprenóide, não tóxico, que é um importante insumo da indústria química que pode ser utilizado como precursor para a produção de biocombustíveis, lubrificantes, solventes, cosméticos, adesivos, polímeros, nutracêuticos, entre outros produtos. Para esta modificação a cepa Y22021 foi geneticamente modificada para converter de forma eficiente e com alto rendimento açúcar em farneceno, por meio da introdução do gene da farneceno sintase (FS) da planta *Artemisia annua*. Esta enzima, a farneceno sintase (FS) converte o intermediário celular Farnesil difosfato (FPP) em Farneceno. Além desse gene, foram introduzidas cópias adicionais de outros genes heterólogos, cujas funções e organismos doadores constam como informação confidencial. Para reduzir a possibilidade de transferência deste gene heterólogo para outras cepas de *S. cerevisiae*, os genes **HO** que produz uma endonuclease necessária para *mating type*, **DIT1** que codifica uma enzima requerida para esporulação e **NDT80** responsável por fator de transcrição da meiose, foram deletados. A documentação apresentada fornece informações detalhadas (informações confidenciais) sobre: as metodologias utilizadas nas transformações genéticas; sobre a caracterização molecular do inserto, incluindo a sequência completa de nucleotídeos e indicando as regiões flanqueadoras, elementos reguladores presentes (promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, íntrons e éxons e região de terminação da transcrição); a localização do inserto no genoma da levedura; as proteínas produto da transcrição do segmento inserto; as técnicas de identificação e análise



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

do OGM; o grau de estabilidade fenotípica entre outras informações importantes para a análise do presente processo.

As modificações genéticas realizadas na cepa Y22021 foram selecionadas com base na sua capacidade de aumentar a produção celular de farneceno a partir da sacarose. O trans-beta-farneceno é uma substância química naturalmente encontrada nos óleos essenciais e aromas de muitas plantas (como maçãs, kiwis, camomila, etc.). Os óleos essenciais ricos em farneceno são utilizados como ingredientes de aroma e sabor, não tendo sido seu uso associado como causador de quaisquer efeitos adversos para a saúde humana, animal ou ao meio ambiente. Outras duas linhagens de *S. cerevisiae* geneticamente modificadas para a produção de farneceno já foram analisadas pela CTNBio, tendo suas liberações para uso comercial aprovadas anteriormente.

O organismo receptor, *Saccharomyces cerevisiae*, é reconhecido pela comunidade científica e entidades reguladores internacionais como não patogênica ou não perigosa para humanos, animais e meio ambiente. A cepa Amyris Y22021 foi desenvolvida para produção do produto renovável β -farneceno, que consiste em no mesmo produto produzido por outras duas cepas já aprovadas pela CTNBio.

Avaliação de risco à saúde humana e animal

As Setoriais de Saúde Humana/Animal analisaram o Anexo III e deferiram a solicitação por considerar que a exposição à levedura Y22021 e seu consumo alimentar é seguro para o ambiente, homem e os animais. Além disso, já existem aprovações por parte da CTNBio de eventos similares (cepas Y1979 e Y5056), já aprovadas comercialmente pela CTNBio (Extratos de Parecer Técnico Número 2.281/2010 e Extrato de Parecer Técnico Número 3287/2012, respectivamente). Em resumo, foi realizado um estudo que demonstrou que a inclusão da levedura seca cepa Y22021 na dieta de suínos não causou impactos em nenhum dos níveis avaliados (0,1%, 2,5% e 8%). Com base nos resultados obtidos neste estudo, os leitões alimentados com a levedura geneticamente modificada mantiveram o estado de saúde inalterado, em relação ao grupo de animais que receberam a levedura comercial. Além disso, os animais mostraram desempenho semelhante entre os tratamentos, aliado a este resultado, a palatabilidade da dieta também não foi alterada em nenhum dos níveis de inclusão avaliados, mostrando que a levedura geneticamente modificada Y22021 pode ser usada em substituição à fonte proteica sem riscos à saúde e ao desempenho dos animais.

O estudo de toxicidade oral em ratos foi conduzido em animais da linhagem Wistar e a dose aguda oral letal mediana (LD50) foi estimada ser maior do que 2000 mg/kg de peso corporal. Não houve mortalidade dos animais, não foram observados sinais de toxicidade sistêmica, todos os animais apresentaram ganho de peso conforme esperado e nenhuma anormalidade foi observada na necropsia. O estudo de toxicidade dérmica in vitro, utilizando o modelo tridimensional EPISKINTM que consiste em epiderme humana reconstruída a partir de queratinócitos normais humanos cultivados em uma matriz de colágeno na interface ar-líquido foram realizados e demonstraram que a viabilidade celular dos tecidos após exposição à levedura seca Y22021 correspondeu a 93,4%, e portanto, a levedura foi classificada como substância não irritante.

Avaliação de risco ao meio ambiente

Foram apresentados estudos para avaliar os riscos potenciais desta cepa caso liberada no meio ambiente. Os estudos avaliaram, também, o impacto potencial à segurança dos trabalhadores. Com base nos resultados dessas análises, a cepa Y22021 mostra-se tão segura quanto à sua isolinha Y969 e outras leveduras convencionais já em utilização no Brasil e os resultados corroboram os dados previamente apresentados. Considerando-se os estudos relatados na literatura e conduzidos até o momento com *S. cerevisiae* geneticamente modificada inclusive os com as cepas Amyris Y1979 e Y5056 (aprovadas para uso comercial pela CTNBio), bem como os estudos descritos no processo em tela com a cepa Y22021, demonstram-se que as alterações genéticas nas leveduras resultam em menor capacidade de sobrevivência do que sua isolinha Y969 bem como em baixa adaptabilidade ao solo e à água.

O processo de fermentação para produção do β -farneceno bem como o design do processo asséptico é diferente do convencionalmente utilizado na produção de etanol. Isso deve-se ao fato destas cepas serem menos competitivas do que as leveduras de fermentação alcoólica. Todo o processo para a produção do β -farneceno é realizado em tanques assépticos, do inóculo aos tanques de produção. A água residual e *off-gas* produzido durante o processo é coletado e tratado e inativado antes do descarte. Após o processo



Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações
Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
Coordenação Geral

fermentativo, a separação do produto é realizada por centrifugação e o processamento do farneceno consiste no uso de altas temperaturas (durante processo de destilação, são atingidas temperaturas de aproximadamente 110°-115°C), não sendo possível encontrar células viáveis no produto final, o qual é considerado como sendo uma substância quimicamente definida. Todo o resíduo da centrifugação é conduzido por tubulação para tanques fechados para serem submetidos à inativação antes de seu descarte, reduzindo assim a possibilidade de escape de células OGM.

Plano de Monitoramento Pós Liberação Comercial

Em relação ao Plano de Monitoramento Pós Liberação Comercial a requerente informou que, amparada pela Resolução Normativa Nº09, artigo 3º, após publicação da decisão técnica favorável ao uso comercial da cepa Y22021 e seus derivados, a Amyris irá submeter um plano de monitoramento pós-liberação comercial, que contemplará as questões de biossegurança relacionadas ao uso comercial da cepa Y22021 para avaliação da CTNBio.

Parecer:

Diante do exposto, entendo que a liberação comercial (RN5) da levedura *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada (cepa Y22021) para produção do produto renovável β -farneceno, não apresenta riscos à saúde animal e humana e, considerando que toda a produção será feita em contenção, uma vez que as condições de fermentação utilizadas são assépticas devido à menor capacidade competitiva da linhagem geneticamente modificada, tampouco apresentam risco ao meio ambiente, sou favorável ao **deferimento** da solicitação de Liberação Comercial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada (cepa Y22021) e seus derivados, feito pela requerente Amyris do Brasil Ltda.

Data: 05/03/2018

Dr. Wellington Luiz de Araújo
Membro CTNBio