

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 6711/2019

Processo Nº 01250.008028/2019-24 (ostensivo)

Processo nº 01250.009026/2019-52 (sigiloso)

Requerente: Lallemand Brasil Ltda.

Título: Consulta sobre linhagem melhorada M18447 de *Saccharomyces cerevisiae* com Técnicas Inovadoras de Melhoramento e Precisão

Parecer com informações confidenciais suprimidas

Trata-se de Consulta sobre linhagem melhorada M18447 de *Saccharomyces cerevisiae* nos termos da Resolução Normativa nº 16 da CTNBio. A requerente solicita sigilo para as informações apresentadas no Anexo II, no qual estão descritas as características da levedura melhorada, com a utilização de Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão como definido pela RN 16, sendo destinada a produção de etanol.

Descrição:

A linhagem M18447, auto-clonada, é derivada de uma linhagem robusta da levedura selvagem não-modificada de *S. cerevisiae* (denominada internamente M17328) isolada de uma usina de etanol combustível e escolhida por sua tolerância às condições industriais severas de alta concentração de etanol e resistência a lavagem ácida. O processo de isolamento da linhagem M17328 foi semelhante ao da levedura Pe-2, que é a hospedeira de linhagens auto-clonadas previamente aprovadas pela CTNBio como não OGM (M10682 e M15980) e de outras linhagens Geneticamente Modificadas de culturas da empresa Amyris para produção de farneseno, bem como de outras linhagens de leveduras que são vendidas amplamente no Brasil e que foram originalmente isoladas do processo de fermentação.

A linhagem M18447 não contém nenhuma sequência de DNA além de *S. cerevisiae* e, por conseguinte, não é um microrganismo transgênico, mas "auto-clonada" por técnicas de engenharia genética incluídas dentro da Resolução Normativa Nº. 16.

Parecer

O Anexo II da Carta Consulta detalha as fases de transformação da linhagem melhorada M18447 de *Saccharomyces cerevisiae*, derivada de “uma linhagem robusta” da levedura “denominada internamente M17328” isolada do processo brasileiro de etanol combustível, muito semelhante à levedura Pe-2, ponto de

partida das linhagens M10682 e M15980, ambas consideradas pela CTNBio como não OGMs.

Encontram-se detalhadas também as estratégias genéticas empregadas para atingir os objetivos do melhoramento. Na tabela 6 do Anexo II contém um resumo dos plasmídeos usados na obtenção da linhagem M18447 por técnica CRISPR/Cas9 e ilustradas em figuras do Anexo II que representam os plasmídeos participantes. A construção da linhagem M18447 a partir da linhagem M17328 está delineada pela figura 5 do anexo II com a representação dos *loci* de expressão após a mutação obtida. A linhagem em questão está destinada exclusivamente a produção de etanol a partir de cana-de-açúcar.

Sobre as medidas de segurança, a requerente expõe os ensaios realizados para comprovar a ausência de DNA e RNA recombinantes, como a perda de resistência a antibióticos marcadores e consequente suscetibilidade a essas drogas e a genotipagem por PCR e eletroforese em gel de agarose que confirma a supressão de DNA exógeno.

Conforme contato da assessoria do processo com a requerente, ficou esclarecido que a menção expressa no documento de que “a linhagem M18447 não foi aprovada em outros países” deveria ser corrigida para “nenhum pedido de aprovação foi arquivado em outros países”, descartando-se portanto a leitura de que o produto tenha sido reprovado. Trata-se da primeira solicitação de avaliação da linhagem em questão.

Avaliação da presença de material genético exógenos ao genoma da levedura:

Por solicitação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, o Departamento de Bioinformática do Laboratório Nacional de Computação Científica, avaliou a presença de fragmentos de DNA e RNA exógenos e concluiu que o genoma da linhagem avaliada não contém seqüências heterólogas às da leveduras.

Conclusão:

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* da linhagem M18447, salvo melhor juízo, atende aos requisitos preconizados pela Resolução Normativa nº 16, sobre o emprego de Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão, devendo ser considerada NÃO OGM, pois está isenta de traços de DNA e RNA exógenos, mantendo exclusivamente genes da espécie, com características de linhagem mutante em relação a outras selvagens.

Dra. Maria Lúcia Zaidan Dagli