

## PARECER TÉCNICO nº 6323/19

O Relator declara ter incluído Informação Confidencial <b><u>no corpo deste Parecer?</u></b>	
<input type="checkbox"/>	
<input checked="" type="checkbox"/>	<b>NÃO</b>

**Processo SEI nº:** [01250.059892/2018-11](#) com Informações Confidenciais

**Requerente:** DANISCO BRASIL LTDA.

**CQB:** 430/17

**Assunto:** Solicitação de Liberação Comercial de OGM

**Extrato Prévio:** 6256/18

**Reunião:** 219ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07 de fevereiro de 2019

**Decisão:** DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do processo do pedido de Parecer Técnico referente à biossegurança de produto para liberação comercial, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico.

No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

### PARECER TÉCNICO

**EMENTA:** A instituição vem requerer à CTNBio parecer técnico referente à liberação comercial de Micro-organismos Geneticamente Modificados - Leveduras *S. cerevisiae* (GICC03435 e GICC03486). A instituição afirma que

dispõe de infraestrutura adequada e pessoal técnico competente para desenvolver com segurança as atividades propostas. Foi encaminhada à CTNBio a documentação referente a essa solicitação. A empresa solicitou e a presidência da CTNBio concedeu confidencialidade à parte dessa documentação, a saber: apêndices 1, 2, 3 e 4.

Trata-se de pedido de liberação comercial de duas cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, GICC03435 e GICC03486, modificadas geneticamente para utilização no processamento de carboidratos e grãos na produção de etanol combustível, nas modalidades de manipulação, transporte, descarte, importação e exportação, ambas fazendo parte de um mesmo pacote tecnológico. A solicitação se baseia na Resolução Normativa no. 21, de 15 de junho de 2018.

As duas leveduras GM serão importadas, não sendo produzidas no Brasil. A construção genética das cepas foi feita pela DuPont Industrial Biosciences, com as seguintes características: a cepa GICCO3435 (FG56) é utilizada para produzir a enzima glucoamilase variante CS4 de *T. reesei*. A segunda cepa de levedura é a GICCO3486 (GPY10009), a qual foi construída para produzir uma série de produtos enzimáticos (acetil-CoA sintase de *Methanosaeta concilii*; acetaldeído desidrogenase acetiladora de *Desulfospira joergensenil*) e uma fusão de duas proteínas exibindo duas atividades enzimáticas (fosfotransacetilase de *Lactobacillus plantarum* e fosfocetolase de *Gardnerella vaginalis*). As cepas modificadas não possuem nenhum marcador de resistência a antibióticos. Ambas as cepas de levedura serão utilizadas em processamento de carboidratos e grãos na produção de etanol combustível.

Para esclarecimentos, a DuPont Industrial Biosciences é uma unidade de negócios da DuPont e, no Brasil, é representada por Danisco Brasil Ltda.

A requerente solicitou isenção do plano de monitoramento pós-liberação comercial com base nos seguintes aspectos: a destilação do vinho para obtenção do etanol inviabiliza a sobrevivência de levedura remanescente no produto final; a vinhaça (resíduo da destilação) será centrifugada para separar a fase líquida da fase sólida, sendo a fase sólida aquecida e a fase líquida evaporada, o que resultará na inativação de remanescente de micro-organismo; a produção das leveduras GM não será feita no país; a espécie de levedura (*S. cerevisiae*) é ubíqua na natureza e os MGMs alvo desta solicitação não ganharam nenhuma nova característica conhecida que possa melhorar sua sobrevivência no meio ambiente quando comparada com a levedura do tipo de selvagem de *S. cerevisiae*. Em face desses argumentos que consideram as peculiaridades do processo fermentativo onde esses MGMs serão aplicados, sou favorável ao pedido de isenção do plano de monitoramento pós-liberação comercial.

Quanto às construções genéticas realizadas na cepa FerMax™ Gold, uma cepa não geneticamente modificada utilizada por muitos anos na indústria de etanol e comprada da Martrex, Inc. (Minnetonka, Minnesota, EUA), as cepas modificadas não possuem nenhum fragmento de vetor bacteriano e nenhum marcador de resistência a antibióticos. As cepas modificadas foram caracterizadas por *Southern Blotting*, PCR e seqüenciamento genômico.

Em resumo, a cepa GICCO3435 (FG56) apresenta um cassete de expressão compreendendo o gene da glucoamilase de *T. reesei*; genes nativos e um gene marcador de seleção de *S. cerevisiae*; regiões flanqueadoras consistindo de seqüências de *S. cerevisiae*; e pb remanescente de clonagem.

A cepa GICCO3486 (GPY10009) apresenta um cassete de expressão compreendendo a seqüência que expressa a acetil-CoA sintase de *Methanosaeta concilii*; a seqüência que expressa a acetaldeído desidrogenase acetiladora de *Desulfospira joergensenii*; a seqüência expressando a fosfocetolase de *Gardnerella vaginalis*, fundida por uma seqüência ligante para fosfotransacetilase de *Lactobacillus plantarum*; o gene de *S. cerevisiae*, utilizado como marcador de seleção; e a seqüência *locus* de *S. cerevisiae*.

As cepas modificadas foram classificadas como classe de risco 1, uma vez que a espécie *S. cerevisiae* é segura para a produção de substâncias utilizadas em alimentos e no processamento de alimentos, não sendo patogênica e nem toxigênica. É uma espécie com amplo histórico de uso seguro.

Quanto às técnicas de detecção dos MGMs, a requerente informa que a cepa selvagem de *S. cerevisiae* não utiliza amido como fonte de carbono, de forma que a detecção da cepa modificada para expressão de glucoamilase se baseia no crescimento da referida cepa em meio contendo amido ou maltodextrina. Além disso as cepas possuem uma marca auxotrófica (*ura+*) possibilitando o crescimento em meio de cultura sem uracila. Foi desenvolvido um kit de identificação utilizando métodos de biologia molecular como análise por PCR, com *primers* específicos para os cassetes de expressão integrados ou as deleções genômicas introduzidas, conforme consta no Apêndice 3.

Foram realizadas avaliações toxicológicas da glucoamilase de diferentes linhagens de fungos e de produtos e enzimas da levedura *S. cerevisiae*, descritos nos Apêndices 3 e 4, sem efeitos toxicológicos. A requerente enfatiza que as modificações genéticas introduzidas nas cepas de leveduras recaem sobre a variação natural e não se espera efeito sobre as propriedades toxicológicas. Não são esperadas interações adversas devido à presença de dois ou mais genes introduzidos pois os genes codificados para a produção de enzimas industriais não são genes reguladores.

Quanto à avaliação de risco ao meio ambiente, os MGMs não ganharam nenhuma nova característica conhecida que possa melhorar sua sobrevivência no meio ambiente quando comparada com a levedura do tipo de selvagem de *S. cerevisiae*. A levedura *S. cerevisiae* não é transportada por via aérea, precisando de um vetor para se mover entre e dentro de habitats. Em caso de derrame acidental do MGM, este pode ser inativado utilizando todos os métodos conhecidos para inativar *S. cerevisiae* convencional, como vapor, água sanitária, etc.

### **Descrição do OGM:**

A cepa GICCO3486 (GPY10009) apresenta um cassete de expressão compreendendo a sequência que expressa a acetil-CoA sintase de *Methanosaeta concilii*; a sequência que expressa a acetaldeído desidrogenase acetiladora de *Desulfospira joergensenii*; a sequência expressando a fosfocetolase de *Gardnerella vaginalis*, fundida por uma sequência ligante para fosfotransacetilase de *Lactobacillus plantarum*; o gene de *S. cerevisiae*, utilizado como marcador de seleção; e a sequência *locus* de *S. cerevisiae*.

### **Biossegurança do Produto:**

#### **Análise do OGM**

Quanto às técnicas de detecção dos MGMs, a requerente informa que a cepa selvagem de *S. cerevisiae* não utiliza amido como fonte de carbono, de forma que a detecção da cepa modificada para expressão de glucoamilase se baseia no crescimento da referida cepa em meio contendo amido ou maltodextrina. Além disso as cepas possuem uma marca auxotrófica (*ura+*) possibilitando o crescimento em meio de cultura sem uracila. Foi desenvolvido um kit de identificação utilizando métodos de biologia molecular como análise por PCR, com *primers* específicos para os cassetes de expressão integrados ou as deleções genômicas introduzidas, conforme consta no Apêndice 3.

#### **Segurança Alimentar**

Estes microrganismos não serão utilizados para alimentação humana ou animal. Em relação ao meio ambiente, o microrganismo de produção não ganhou nenhuma característica conhecida que possa melhorar sua sobrevivência no meio ambiente quando comparada como o tipo selvagem, *S. cerevisiae*. Isto é suportado por vários estudos que comparam a sobrevivência de cepas do tipo selvagem e *S. cerevisiae* industrial (Bröker, 1990; Fujimura et al., 1994; Valero et al., 2005; Ando et al., 2005).

Avaliações toxicológicas foram realizadas com a glucoamilase de diferentes linhagens de fungos e de produtos e enzimas da levedura *S. cerevisiae*, sem efeitos toxicológicos. As modificações genéticas introduzidas nas cepas de leveduras recaem sobre a variação natural e não se espera efeito sobre as propriedades toxicológicas. Não são esperadas interações adversas devido à presença de dois ou mais genes introduzidos pois os genes codificados para a produção de enzimas industriais não são genes reguladores.

### **Estudos de patogenicidade e Toxicidade**

A principal conclusão para avaliação de perigo em relação à saúde humana da avaliação de risco da US EPA é que a *S. cerevisiae* é um organismo que possui um extensivo histórico de uso seguro. Apesar de considerável uso deste microorganismo em pesquisas e a presença de *S. cerevisiae* em alimentos, há poucos relatos na literatura sobre sua patogenicidade para humanos ou animais, e somente nos casos em que o indivíduo possuía uma condição debilitada. Fatores associados com a virulência de leveduras (por exemplo, fosfolipases) indicam que este organismo não é patogênico. Este microorganismo não se mostrou ser produtor de toxinas para humanos (US EPA, 1997).

### **OGM e sua capacidade de reprodução, sobrevivência, resistência à dessecação, disseminação ou transferência dos genes inseridos para outros organismos**

*Saccharomyces cerevisiae* é ubíqua na natureza. Essa levedura tem sido recuperada de uma variedade de locais sob várias condições ecológicas. Na maioria presente em frutas, grãos e outras fontes com uma alta concentração de carboidratos, mas também é comum em solos. *S. cerevisiae* não é transportada por via aérea, mas precisa de um vetor (por exemplo, um inseto) para se mover dentro e entre habitats. Está predominantemente associada a ambientes que favorecem a fermentação (preferindo pH baixo a neutro) e é capaz de utilizar vários carboidratos diferentes, dependendo do tipo de metabolismo envolvido (aeróbico ou anaeróbico), bem como de uma ampla variedade de fontes de nitrogênio. *S. cerevisiae* do tipo selvagem não pode crescer em amido como a única fonte de carbono.

O microorganismo de produção não ganhou nenhuma nova característica conhecida que possa melhorar sua sobrevivência no meio ambiente quando comparada com a levedura do tipo de selvagem de *S. cerevisiae*. Isto é suportado por vários estudos comparando a sobrevivência de cepas do tipo selvagem e cepa industrial de *S. cerevisiae* (Bröker, 1990; Fujimura et al., 1994; Valero et al., 2005; Ando et al., 2005).

Em caso de derrame acidental do organismo de produção, este pode ser inativado utilizando todos os métodos conhecidos para inativar *S. cerevisiae* convencional, como vapor, água sanitária, etc

**Parecer Final:**

Em face do exposto, considerando as peculiaridades dos MGMs e do processo produtivo onde serão aplicados, somos favorável ao pedido de isenção do plano de monitoramento pós-liberação comercial e à aprovação da liberação comercial das duas cepas modificadas de *S. cerevisiae*, baseando-se na Resolução Normativa número 21.

**Felipe**

**Dra. Maria Sueli Soares**

**Presidente da CTNBio**