

PARECER TÉCNICO nº 6323/19

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

<input type="checkbox"/>	
<input checked="" type="checkbox"/>	NÃO

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 fosfoctolase 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