

INFORME GAHSHA

Solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento

La información surge del dossier presentado por la empresa solicitante en el 2015, 2019 y de la bibliografía citada al final de este informe.

Participaron en la elaboración del presente informe evaluadores de las siguientes instituciones: MGAP, IP-MONTEVIDEO y UDELAR, cuyos *Curriculum Vitae* se encuentran disponibles en la Secretaría del Sistema Nacional de Bioseguridad.

Nombre: Soja IND-00410-5

C2.1 Composición nutricional

En este punto, se considera el estudio presentado por la empresa (Technical Report 1010305) y el informe realizado por GAHDEA con respecto al diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos. Se realizaron ensayos durante la campaña 2012-2013 en seis localidades de la República Argentina y cinco localidades de Estados Unidos. En todos los ensayos se incluyeron variedades comerciales (contemplando la variabilidad natural en las condiciones de la prueba), el evento y su contraparte convencional. Se evaluaron todos los componentes considerados en las guías OECD tanto para semilla como para forraje (OECD, 2012). Luego del análisis estadístico realizado, para los componentes analizados en forraje no se detectaron diferencias significativas. Sin embargo, para el caso del análisis de semillas, en el estudio de sitios combinados, se identifican algunas diferencias significativas que caen por fuera de los rangos de equivalencia para los siguientes parámetros: fibra cruda, cisteína y lisina.

Estas diferencias implican una disminución en el contenido de fibra cruda (5%), cisteína (7%) y lisina (5%) en el evento en comparación con su contraparte convencional. Si bien la soja es un alimento relevante para el aporte de los aminoácidos lisina y cisteína, existen otros alimentos que pueden proveer el aporte de dichos aminoácidos, pudiendo compensar las deficiencias encontradas en este evento en particular. Dentro de los alimentos que contienen altos contenidos de lisina se pueden citar distintos tipos de carne (carne de pollo, pescado, camarones, mariscos, carne de cerdo y vacuna), nueces, huevos, lentejas, habas (Larson, 2019). Al igual que el aminoácido lisina, cisteína se encuentra en alimentos ricos en proteínas como carnes (carne de cerdo, vacuna, pollo), huevos, lácteos, ajo, cebolla, brócoli, avena, germen de trigo (Sujoy, 2019). Un escenario similar sucede con el aporte de fibra, donde de igual forma se pueden encontrar otros alimentos que puedan suplementar el aporte de fibra.

C2.2 Alergenicidad

C2.2.1 Historia de la alergenidad de la especie dadora y receptora

La especie dadora *Streptomyces hygroscopicus* no posee historia de alergenidad (GMO EFSA Panel, 2016; GMO EFSA Panel, 2020; Food Standards Australia New Zealand (FSanz), 2021; Gobierno de Canadá (Health Canada), 2021). Por otra parte, para la especie dadora *Helianthus annuus*, (girasol) si bien posee una larga historia de consumo y no es una fuente común de alergias alimentarias (Ukleja-Sokołowska et al., 2016; Comisión europea, 2011), existen fuentes que han reportado antecedentes de alergenidad (OECD, 2007; Ukleja-Sokołowska et al., 2016, University of Nebraska–Lincoln, 2021). Algunos de los alérgenos reportados en el girasol son la 2S albúmina (en sus semillas), que presenta homología con la 2S albúmina de las nueces (OECD, 2007) y la proteína de transferencia de lípidos Hel a 3, que figura en la base de datos Allergen Online (Ukleja-Sokołowska et al., 2016, University of Nebraska–Lincoln, 2021).

En lo que respecta a la especie receptora, la especie *Glycine max* posee varias proteínas que son consideradas alérgenos potenciales (OECD, 2012). Algunas de las asociadas con alergias alimentarias son P34, beta-conglicinina y glicinina (OECD, 2012).

C2.2.2 Evaluación de la alergenicidad de la/s nuevas proteína/s expresadas por el/los genes introducidos.

C2.2.2.1 Indicar la historia de alergenicidad de las proteínas y la similitud de las mismas con alérgenos conocidos (análisis bioinformático para comparar con base de datos de alérgenos conocidos, considerar también estructura espacial si es necesario).

Las nuevas proteínas no poseen historia de alergenicidad. La proteína PAT del gen *bar*, ha sido ampliamente estudiada, se encuentra en organismos vegetales genéticamente modificados aprobados en Uruguay y posee una historia de uso seguro (Gabinete Nacional de Bioseguridad (Uruguay), 2017; EFSA GMO Panel, 2020). No se encontró información que revele que la proteína HAHB4 tenga historia de alergenicidad.

La similitud con alérgenos conocidos se evaluó a través de estudios informáticos. Dichos estudios se presentaron para la proteína HAHB4, no así para la PAT. El análisis de los estudios bioinformáticos fue realizado por el grupo AdHoc GAHCIM.

De todas formas, a continuación se resume lo que había analizado este grupo AdHoc previo al acuerdo de que GAHCIM realizaría dicho análisis en lugar de GAHSHA.

Se tomaron como referencia los criterios del Codex Alimentarius (2003): identidad mayor a 35% en segmentos mayores o iguales a 80 aminoácidos e identidad del 100% de ventana móvil de 8 aminoácidos (sin considerar el cambio de 8 a 6 aminoácidos propuesto por la consultoría FAO de 2001). Se compararon tanto los insertos traducidos como las secuencias de unión, aplicando los criterios mencionados previamente y haciendo uso de la base de datos de alérgenos de la Universidad de Nebraska-Lincoln, EEUU: Farrp (2012), actualizada a marzo de 2014). No se encontraron alineamientos significativos para HAHB4. Además, estudiaron la homología estructural de HAHB4 con alérgenos conocidos, utilizando la base de datos SDAP y tampoco se encontró homología con ningún alérgeno conocido. Este grupo AdHoc solicitó actualización del análisis con las bases de datos más recientes. La empresa los envió, el grupo AdHoc GAHCIM los estudió y concluyó que ninguna de las secuencias evaluadas mostró una homología relevante con alérgenos.

No se presentaron en el dossier estudios bioinformáticos para la proteína PAT, ya que consideran suficientemente documentada la ausencia de alergenicidad de dicha proteína, haciendo referencia a EFSA, 2011a y EFSA, 2013, entre otros. Si bien este grupo AdHoc tiene conocimiento de la aprobación de otros eventos que expresan proteínas PAT por agencias/sistemas reconocidos (en Uruguay y el exterior), se valoró pertinente realizar los análisis bioinformáticos, ya que las bases se actualizan permanentemente. Se solicitó la información a la empresa, el grupo AdHoc GAHCIM la estudió y concluyó que ninguna de las secuencias evaluadas mostró una homología relevante con alérgenos.

C2.2.2.2 En caso de haber encontrado similitudes, indicar los ensayos realizados para evaluar la potencial alergenicidad y sus resultados (ejemplo: inmunoblotting).

En base a lo explicado en los puntos anteriores, para la proteína PAT no se considera que las especies dadoras sean alergénicas ni que haya similitud en la secuencia o la estructura de las nuevas proteínas expresadas con un alérgeno conocido. Por lo tanto, de acuerdo con el criterio establecido en el documento FAO/OMS (2001) para proteínas de origen bacteriano y a los documentos guía de EFSA (EFSA, 2010; EFSA, 2011), se considera que no corresponde realizar ensayos inmunológicos con sueros específicos. Para el caso de HAHB4, en base a las mismas fuentes de referencia, por provenir de una fuente con antecedentes de alergenicidad (girasol) se considera pertinente realizar estos ensayos. Sin embargo, teniendo en cuenta evaluaciones realizadas por otras agencias de trayectoria (Ministerio de Ciencia, Tecnología, innovación y comunicaciones de Brasil (Comisión técnica nacional de bioseguridad), 2019; FSanz, 2021; Gobierno de Canadá (Health Canada), 2021), se constata que no se consideran los

antecedentes de alergenicidad del girasol. Se entiende entonces que no consideran dichos antecedentes como significativos o suficientemente fundados, y por ese motivo se desestima el requisito de realizar ensayos inmunológicos con sueros.

C2.2.2.3 Evaluación de otras características potencialmente alergénicas (ejemplo: adyuvancia, niveles presentes en alimento, resistencia al procesamiento)

Dentro de la evaluación de otras características potencialmente alergénicas el dossier incluye el peso molecular, la ausencia/presencia de glucosilación, los niveles de expresión en alimentos, resistencia al procesamiento (al calor) y la digestibilidad in vitro en fluidos simulados. Estas características fueron evaluadas solamente para HAHB4, excepto los niveles de expresión que fueron evaluados tanto para HAHB4 como para PAT.

En lo que respecta a la digestibilidad de las nuevas proteínas expresadas por enzimas proteolíticas, el dossier presenta estudios realizados para la proteína HAHB4. Fueron realizados aplicando el protocolo del ensayo de fluidos digestivos simulados (FGS) in vitro según Thomas et al., 2004, que se considera un protocolo aceptable. En el dossier se presentan la justificación y los estudios necesarios para demostrar la equivalencia fisicoquímica y funcional entre la HAHB4 expresada en el evento evaluado en el presente informe y la proteína utilizadas en los estudios (consultado con grupo GAHCIM 09/03/21). Los ensayos de fluidos gástricos simulados indican que la proteína HAHB4 se degrada rápidamente (30 segundos) en los fluidos digestivos simulados, sin dar lugar a fragmentos de menor peso molecular (hasta 2 kDa). Según el criterio establecido en FAO, 2001 (indicación de posible alergenicidad asociada a proteína intacta y/o fragmentos intactos mayores de 3,5 kDa), en base a estos resultados no existiría evidencia que indique una posible alergenicidad.

Considerando que la digestibilidad de las proteínas depende de su estructura, que las proteínas PAT *bar* y *no bar* pueden considerarse homólogas (ILSI, 2011), que existen varios eventos ya aprobados en Uruguay con expresión de dichas proteínas (BT11, TC1507, A2704-12, A5547-127, DAS444406-6, T25, MON87419, DAS40278-9) y que Canadá en su evaluación manifiesta que confirmó la equivalencia entre la proteína PAT expresada en la soja HB4 y la proteína descrita en la bibliografía y analizada en previas evaluaciones (Gobierno de Canadá, 2021), no se considera necesario que la empresa presente estudios de digestibilidad para la proteína PAT de este evento.

La resistencia al procesamiento se evaluó como resistencia al calor, sometiendo una solución de la proteína por a 60, 75 y 90°C 60 min y luego realizando un análisis ELISA con dos anticuerpos anti HAHB4 (contra péptido C-terminal específico para HAHB4 y contra proteína entera). No se encontraron diferencias significativas entre el control (proteína no tratada) y la proteína tratada por 60 min a 90°C, lo que indica que la inmunoreactividad de HAHB4 no se vio significativamente afectada por el tratamiento térmico y por lo tanto es estable a las temperaturas ensayadas. Si bien esto se considera una característica que aporta al peso de evidencia de posible alergenicidad, por implicar que el epítipo tiene un mayor potencial para sensibilizar (EFSA, 2010), no se considera de las características más relevantes, ya que no se encuentra dentro de las contempladas como principales para la evaluación de alergenicidad de los OVGM (EFSA, 2010; EFSA, 2017; Codex, 2003).

Según -EFSA (2010) no se cuenta con datos experimentales que indiquen el nivel al que las modificaciones post-traducción pueden afectar al potencial alergénico. Se explica que si bien la proteína transgénica podría sufrir procesamiento post- traducción en las plantas genéticamente modificadas, esto variaría según el hospedador. Esto sumado a los vacíos de conocimiento mencionados anteriormente hace que sea difícil vincular los estudios de potencialidad alergénica de proteínas transgénicas purificadas, a la forma en que se encuentran en la planta modificada genéticamente (EFSA, 2010). Por lo tanto, la glucosilación no se considera una indicación predictiva del potencial alergénico, aunque en algunos casos puede ser importante considerarla por su posible impacto en la estabilidad de la proteína ante la digestión (EFSA, 2010). En este caso, de acuerdo a lo presentado en el dossier, no hay evidencias que indiquen que la proteína pudiera sufrir glucosilación.

Por otra parte, el peso molecular no se encontró entre los elementos considerados en el peso de evidencia en las principales fuentes de referencia (EFSA, 2010; EFSA, 2017; Codex, 2003).

Respecto a los niveles de expresión, los niveles reportados en el dossier para la proteína HAHB4 en muestras de campo no fueron detectables ($<0,03$ ug/g de tejido seco). Considerando además que el girasol tiene una larga historia de consumo, se considera poco probable que los niveles de proteína aportada por la comercialización de este evento resulten de relevancia en relación al aporte ya existente en la dieta actual. Para el caso de la proteína PAT, de acuerdo a lo reportado por ILSI Research Foundation (2011), el peso de evidencia sugiere que la proteína se expresa a bajos niveles, por lo que se considera improbable que represente un motivo de preocupación.

Al momento de presentación del dossier no se solicitaba información acerca de la posible actividad de adyuvancia de las nuevas proteínas expresadas (capacidad de potenciar una respuesta de la inmunoglobulina E). Respecto a la PAT *bar*, según EFSA (2016, 2020), no hay información que sugiera potencial acción adyuvante. En lo que refiere a HAHB4, no se cuenta con información sobre su potencial adyuvancia. Sin embargo, dado que este aspecto no se contempla entre las características más relevantes indicadas por Codex (2003) y que además este análisis es en base al peso de evidencia, no se trata de una información que pudiera tener tanto peso como para modificar la conclusión general en base a los demás elementos evaluados.

C2.2.4 Evaluación de la alergenicidad del OVGM completo. Valorar la posibilidad de que el modo de acción de las nuevas proteínas altere la alergenicidad de la planta, en función de lo planteado en 2.2.1, 2.2.2 y 2.2.3.

De acuerdo a lo analizado en el punto C2.2.2, no se considera que existe evidencia de que las nuevas proteínas expresadas presenten preocupaciones relevantes desde el punto de vista de la alergenicidad. Por otra parte, tampoco existen razones para creer que la presencia simultánea de las nuevas proteínas expresadas en el evento apilado en soja, pudieran implicar una preocupación en este mismo sentido. Además, de acuerdo a la evaluación de este evento realizada por el Gobierno de Canadá (Health Canada) (2021), a ellos se les presentó una comparación entre los niveles de varios alérgenos endógenos conocidos expresados en la soja HB4 y en la línea parental y otras líneas disponibles comercialmente, sin encontrarse alteraciones con significancia biológica. Por lo tanto, en base al análisis realizado y al conocimiento actual, se considera que no es esperable que la modificación genética pueda introducir algún cambio en la alergenicidad en comparación con la planta no modificada.

C2.3 Toxicidad

C2.3.1 Historia toxicológica de las especies donantes y receptoras

La soja posee una larga historia de uso seguro como especie receptora, y ya ha sido considerada en gran cantidad de eventos aprobados por la CGR. Por otro lado, el girasol forma parte de la dieta de humanos desde hace siglos y posee una historia de uso seguro en cuanto a su toxicidad como especie donante. A su vez, *Streptomyces hygroscopicus* es una bacteria común del suelo con efectos antifúngicos conocidos y que es utilizada como productora de biomoléculas y metabolitos bioactivos para la clínica humana (El-Ahmady El-Naggar, 2021).

C2.3.2.1 Historia de las nuevas proteínas expresadas que puedan aportar a la evaluación de su toxicidad

El gen principal del evento (HaHB4) proviene del girasol. Su producto de expresión es un factor de transcripción (FT) natural de girasol, cuya expresión aumenta en condiciones de estrés hídrico, salino, en oscuridad y frente al ataque de insectos, constituyendo uno de los pilares de la planta en su defensa contra factores ambientales. Es por lo tanto un componente natural que forma parte de la alimentación humana y animal. La empresa menciona que la proteína HAHB4 expresada en el evento de soja IND-ØØ41Ø-5 posee un 96% de homología con la proteína nativa de girasol. A su vez, por ser un factor de transcripción, la proteína HAHB4 se expresa en niveles sumamente bajos, tanto en girasol como en la soja IND-ØØ41Ø-5, por lo que puede estimarse que es muy poco probable que la exposición dietaria a la proteína HAHB4 represente un riesgo para la salud humana o animal.

Por otro lado, el gen bar de *Streptomyces hygroscopicus* que ha sido utilizado en la modificación genética expresa específicamente la enzima PAT. Esta actividad enzimática no tiene características tóxicas y su inocuidad ha sido comprobada a lo largo de su uso en muchos cultivos genéticamente modificados que se encuentran actualmente en el mercado y que son globalmente consumidos por humanos, corroborando su inocuidad toxicológica. La CGR ya ha aprobado eventos con esta misma modificación, como el Maíz BT11 (Res. 32B del 2011) y Maíz TC1507 (Res. 27 del 2011).

C2.3.2.2 Similitud de nuevas proteínas expresadas con sustancias tóxicas conocidas (análisis bioinformáticos).

La empresa utilizó la base de datos de toxinas animales (ATDB) que reúne 3844 compuestos tóxicos (<http://protchem.hunnu.edu.cn/toxin/>). Reportan que al enfrentar la secuencia aminoacídica de HAHB4 con la de las toxinas de la base de datos utilizando el algoritmo BLASTP, no surgió ninguna homología relevante (con E score < 1 x 10⁻⁵). El grupo GAHCIM evaluó en su momento (2019) dichos estudios bioinformáticos sin encontrar indicios de homología relevante con sustancias tóxicas.

En el año 2022, se presentó un complemento de información con respecto a estudios bioinformáticos (INDEAR Report ID: 01010291-Ev6). En dicho estudio se evaluó la proteína PAT, encontrando algunas homologías con el dominio GNAT de proteínas que pertenecen a los sistemas toxina-antitoxina tipo II. Este tipo de proteínas está presente en varias especies. Pero dado su historial de uso seguro en eventos transgénicos comercialmente aprobados tanto en el país como en otros sistemas regulatorios, no hay evidencia de riesgo en el uso de la proteína PAT en la soja IND-ØØ41Ø-5.

C2.3.2.3 Evaluación de toxicidad aguda de las nuevas proteínas expresadas (en modelos animales o por métodos alternativos).

La empresa no presentó originalmente estudios de toxicidad aguda para el evento soja IND-ØØ41Ø-5, justificando que los mismos no serían necesarios dada la evidencia de inocuidad alimentaria de la proteína HAHB4 y PAT. Se destaca que existe un historial de consumo seguro para la proteína HAHB4 ya que dicho factor de transcripción proviene del girasol, una especie que ya está siendo utilizada como fuente alimentaria desde hace muchos años. En este caso no se introduce una nueva proteína proveniente de organismos evolutivamente distantes, produciendo el factor de transcripción insertado cambios en la regulación de mecanismos de respuesta endógenos de la especie receptora (soja). Por lo tanto, todos los compuestos y metabolitos producidos en respuesta a los cambios por estrés hídrico son propios de la soja y no constituyen un riesgo en cuanto a toxicidad del nuevo evento. La empresa menciona también que los factores de transcripción tienen un historial de consumo seguro en humanos y animales, y que no está documentado que ningún alérgeno o toxina conocida tenga actividad de factor de transcripción.

Por otro lado, los factores de transcripción se expresan en niveles muy bajos, siendo difícil detectar a HAHB4 en el evento proveniente de los ensayos a campo, lo que indicaría que es muy difícil que posea un efecto tóxico luego de su consumo.

Se solicitaron evaluaciones de toxicidad in vivo a la empresa, los cuales fueron presentados como información adicional para la proteína HAHB4. La información presentada en el reporte en referencia a este estudio de toxicidad aguda es poco detallada. Los estudios fueron realizados en cinco ratones macho y cinco ratones hembra CD-1 a los cuales se les administró por vía intragástrica una dosis única de 3822 mg/kg de la proteína HAHB4. Como resultado se expresa no encontrar signos clínicos de toxicidad ni mortalidad durante los 14 días que comprenden el ensayo, tampoco evidencias de dichos hallazgos en la necropsia, concluyendo que la dosis máxima tolerada es mayor a 3822 mg/kg y la DL50 se encuentra por encima de 3822 mg/kg (Inspection and Testing Center of Genetically Modified Food Safety, 2017, Chinese Agricultural University, Beijing, China). El ensayo se realizó siguiendo las normativas de Genetic Modification and Product Safety Testing - Protein Acute Oral Toxicity Test (Department of Agriculture, notice 2406-10-2016) protocol (http://www.moa.gov.cn/govpublic/ncpzlaq/201605/t20160524_5148241.htm). Los resultados mostrados en el reporte son escasos y no es posible acceder a la metodología ya que se encuentra en idioma chino. Posteriormente fue presentado el detalle de los informes del ensayo de toxicidad aguda realizado (Report ID: 01010288-Ev2) con la información completa del estudio.

La toxicidad de la proteína PAT ya ha sido previamente evaluada en eventos anteriores. Un estudio

publicado en Regul Toxic Pharmacol afirma que la evaluación de inocuidad del gen bar arroja resultados favorables, siendo la enzima PAT altamente específica, y no poseyendo características asociadas con toxinas alimenticias, ya que no tienen secuencias de homología con toxinas conocidas, y no presentan efectos adversos en ratones luego de su administración intravenosa a dosis altas (Herouet y col., 2005).

Estas evidencias podrían indicar que el evento IND-ØØ41Ø-5 es toxicológicamente inocuo para el consumo humano y animal.

C2.3.2.4 Evaluación de toxicidad subcrónica o crónica de las nuevas proteínas expresadas. Si no corresponde, justificar por qué.

De acuerdo con un reporte de Bultman (2019), en donde se evaluó la posible toxicidad de la soja IND-ØØ41Ø-5 incorporada al 30 % en la dieta administrada durante 90 días consecutivos a ratas Sprague Dawley, no hubo efectos adversos sobre el crecimiento y la salud de los animales.

Durante el período de ampliación de información, la empresa presentó un informe detallado del estudio de toxicidad oral realizado bajo los lineamientos OECD 408 (Charles River Laboratory Project ID: 0102000). Según los resultados de este estudio, se alimentó durante 90 días ad libitum a ratas Sprague Dawley con un 30% de la sustancia a testear (IND-ØØ41Ø-5) incorporada al alimento standard y no se evidenciaron efectos adversos sobre el crecimiento o la salud de los animales.

C2.3.2.5 Ensayos de carácter carcinogénico y teratológicos a corto y mediano plazo. Si no corresponde, justificar por qué.

Por lo expresado anteriormente, no parecería que las proteínas HAHB4 y PAT tuvieran propiedades carcinogénicas o teratológicas, por lo que no se justificaría realizar los ensayos de esta índole.

C2.3.3 En el caso que existan cambios biológicos relevantes en la composición del OVGM (en relación a su homólogo convencional o comparador adecuado), diferentes a las nuevas proteínas expresadas, realizar la evaluación toxicológica de los nuevos componentes. Si no corresponde, justificar por qué.

Según el informe de la empresa, no existen cambios biológicos relevantes en el nuevo evento con respecto a su homólogo convencional, por lo que no sería necesario realizar una evaluación toxicológica de los nuevos componentes.

C2.3.4 Evaluación toxicológica del alimento completo.

Al ser el evento IND-ØØ41Ø-5 similar nutricionalmente a su homólogo convencional, no sería necesario realizar la evaluación toxicológica del alimento completo.

CONCLUSIONES

Respecto a la solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento para la soja IND-00410-5, en base al estudio de la información realizada, no se identifican posibles efectos adversos a la salud humana y animal del evento en ninguna de las características estudiadas y en el contexto de la aplicación planteada.

BIBLIOGRAFÍA

Bultman (2019). A 90-Day Oral (Dietary) Toxicity Study of Transgenic Soybean Meal from IND-ØØ41Ø-5 in Sprague Dawley Rats. Charles River Laboratory Project ID: 0102000 Sponsor Reference No. 02

Codex Alimentarius, 2003. CAC/GL 45-2003 - Directrices para la realización de la evaluación de la inocuidad de los alimentos obtenidos de plantas de ADN recombinante. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y5819s03.htm>

Comisión Europea, 2011. Regulation (EU) no 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC) No 608/2004 (Text with EEA relevance). Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:02011R1169-20180101#tocId71>

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2010. Draft Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA Journal 2010; 8(7):1700. [168 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1700.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2011. Scientific Opinion on Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA Journal 2011; 9(5): 2150. [37 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2150. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2011a. Scientific Opinion on application (EFSAGMO-NL-2008-52) for the placing on the market of herbicide tolerant genetically modified soybean A5547-127 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. EFSA Journal 2011; 9(5):2147, 27 pp. doi:10.2903/j.efsa.2011.2147.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2013. Scientific Opinion on application EFSA-GMO-NL-2011-97 for the placing on the market of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified cotton T304-40 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience AG. EFSA Journal 11(6):3251.

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2016. Scientific Opinion on an application by Bayer CropScience and Monsanto (EFSA-GMO-NL-2009-75) for placing on the market of genetically modified glufosinate-ammonium- and glyphosate-tolerant oilseed rape MS8 3 RF3 3 GT73 and subcombinations, which have not been authorised previously (i.e. MS8 3 GT73 and RF3 3 GT73) independently of their origin, for food and feed uses, import and processing, with the exception of isolated seed protein for food, under Regulation (EC) No 1829/2003. EFSA Journal 2016;14(5):4466, 26 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4466

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2017. Guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants. EFSA Journal 2017;15(5):4862, 49 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4862>

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2020. Scientific Opinion on the statement complementing the EFSA Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2009-75) for placing on the market of genetically modified oilseed rape Ms8 9 Rf3 9 GT73 and subcombinations, which have not been authorised previously (i.e. Ms8 9 GT73 and Rf3 9 GT73) independently of their origin, for food and feed uses, import and processing, with the exception of isolated seed protein for food, under Regulation (EC) No 1829/2003), taking into consideration additional information. EFSA Journal 2020;18(7):6200, 8 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6200>.

Food and agriculture organization (FAO)/Organización Mundial de la Salud (OMS), 2001. Evaluación de la alergenicidad de los alimentos modificados genéticamente - Informe de una Consulta FAO/OMS de Expertos sobre alergenicidad de los alimentos obtenidos por medios biotecnológicos. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y0820s.pdf>

Food Standards Australia New Zealand (FSanz), 2021. Supporting document 1 - Safety assessment – Application A1232. Food derived from drought-tolerant and herbicide-tolerant wheat line IND-00412-7. Disponible en: <https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Pages/A1232-%20Food%20derived%20from%20drought-tolerant%20and%20herbicide-tolerant%20wheat%20line%20IND-00412-7%E2%80%99.aspx>

Gabinete Nacional de Bioseguridad (Uruguay), Resolución GNBio 75 del 2017. Disponible en: <http://www.sistemanacionaldebioseguridad.gub.uy/unidad-organizativa/bioseguridad/normativa/resoluciones-gnbio>

Gobierno de Canadá (Health Canada), 2021. Novel Food Information: Abiotic Stress and Herbicide Tolerant HB4 Soybean (IND-00410-5). Disponible en: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/genetically-modified-foods-other-novel-foods/approved-products/abiotic-stress-herbicide-tolerant-hb4-soybean-ind-00410-5/document.html#a9>

Hérouet C, Esdaile DJ, Mallyon BA, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, van der Klis RJ, Rouan D. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the pat and bar sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. Regul Toxicol Pharmacol. 2005 Mar; 41(2):134-49.

ILSI Research Foundation (Center for Environmental Risk Assessment), 2011. A review of the environmental safety of the PAT protein. Environ. Biosafety Res. 10 (2011) 73–101. DOI: 10.1051/ebr/2012004. Disponible en <https://www.ebr-journal.org/articles/ebr/abs/2011/04/abr120004-s/abr120004-s.html>

Informe GAHDEA

Larson A, Goodman S. Glutaric Acidemia Type 1. 2019 Sep 19. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022. Table 5. [Nutritional Requirements for L-lysine, L-Carnitine,...]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546575/table/glutaric-a1.T.nutritional_requirements_f/

Ministerio de Ciencia, Tecnología, innovación y comunicaciones de Brasil (Comisión técnica nacional de bioseguridad), 2019. Opinión técnica - Liberación comercial 6540/2019. Disponible en: http://ctnbio.mctic.gov.br/en/liberacao-comercial/-/document_library_display/SqhWdohU4BvU/view/2260286#/liberacao-comercial/consultar-processo

Noura El-Ahmady El-Naggar, Chapter 11 - Streptomyces-based cell factories for production of biomolecules and bioactive metabolites, Editor(s): Vijai Singh, Microbial Cell Factories Engineering for Production of Biomolecules, Academic Press, 2021, Pages 183-234, ISBN 9780128214770,

Normativa Genetic Modification and Product Safety Testing - Protein Acute Oral Toxicity Test. Department of Agriculture, notice 2406-10-2016. Protocol http://www.moa.gov.cn/govpublic/ncpzlaq/201605/t20160524_5148241.htm

OECD, 2007. Consensus document on compositional considerations for new varieties of Sunflower: key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. ENV/JM/MONO(2007)6.

OECD, 2012. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean (Glycine max (L.) Merr): key food and feed nutrients and antinutrients. ENV/JM/MONO(2012)24.

OECD, 2012. ENV/JM/MONO(2012)24. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [glycine max (l.) merr.]: key food and feed nutrients, antinutrients, toxicants and allergens. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 25. JT03325183

Report ID: 01010288-Ev2, HAHB4 Acute Oral Toxicity Study. Supervision Inspection and Testing Center of Genetically Modified Food Safety.

Sujoy Das, Ayndrila Ghosh, Shampa Kundu, Shrabani Saha, Himadri Sekhar Sarka, Prithidipa Sahoo. (2019). Development of a new fluorescent probe for cysteine detection in processed food samples. Analytical and Bioanalytical Chemistry (2019) 411:6203–6212 <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02012-9>

Technical Report #1010305 . Compositional Assessment IND-ØØ41Ø-5 Soybean

Thomas K. et al., 2004. A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 39, 87-98.

Thompson C.J. et al., 1987. Characterization of the herbicide-resistance gene bar from Streptomyces hygroscopicus. EMBO J 6(9):2519-2523.

Ukleja-Sokołowska et al., 2016. Sunflower seed allergy. Int J Immunopathol Pharmacol., 29(3): 498–503. doi: 10.1177/0394632016651648. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5806758/>

University of Nebraska–Lincoln, 2021. Food allergy research and resource program (Farrp). Version 21. Disponible en: <http://www.allergenonline.org/databasebrowse.shtml>.

Wehrmann A., A. V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman y A. Schulz. 1996. The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. Nature Biotechnology, 14, 1274-1278 (<https://www.nature.com/articles/nbt1096-1274>).