

Para: Comité de Articulación Institucional (CAI) y Evaluación del Riesgo en Bioseguridad (ERB).
De: Grupo *Ad-Hoc* sobre Caracterización e Identificación Molecular (GAHCIM).

Asunto: Informe GAHCIM Soja CaMSRB2

Términos de Referencia para el análisis de la evaluación del riesgo en bioseguridad:

1. Información general del evento (especie, gen de interés, característica introducida). Describir la construcción genética detallando con qué metodología se obtuvo, el gen de interés e información sobre alergenicidad y toxicidad.
2. Indicar qué tipo de resistencias a antibióticos pudieron ser introducidas.
3. Detallar el protocolo de identificación del evento, por PCR de tiempo final o PCR en tiempo real, que lo diferencia del cultivo sin modificar y mostrar evidencia de que funcione el protocolo de detección. En caso de ser necesario se deberá proveer material para usar como control positivo (30g de semillas wild-type y ADN plasmídico conteniendo el *cassette* de transformación)

Tipo de solicitud: Evento en desarrollo para evaluación confinada de campo.

Fecha: 14 de octubre 2025

El Grupo GAHCIM se reunió en los Talleres de Trabajo convocados por la ERB en forma virtual el 24 de junio, 5 de agosto y 14 de octubre, y en forma presencial el 26 de agosto y 23 de septiembre de 2025. Participaron en la elaboración del informe: evaluadores de las siguientes instituciones MGAP, INIA, INASE y UDELAR.

Se analizó la información presentada para el evento Soja CaMSRB2.

La soja CaMSRB2 ha sido desarrollada para obtener plantas que sobreexpresan el gen *MsrB2* de ají (*Capsicum annuum*) que codifica para la metionina sulfóxido reductasa B2.

Se ha demostrado que esta enzima mejora la tolerancia a la sequía al reducir el estrés oxidativo, preservar la función de los cloroplastos y mantener la eficiencia fotosintética en condiciones de sequía.

Métodos de transformación, genes y otros elementos introducidos

Para generar las líneas de soja transgénicas que sobreexpresan CaMsrB, se construyó un vector binario denominado pPZP-p35S:CaMsrB2 basado en la estructura principal del plásmido pPZP200. La construcción contiene dos *cassettes* de expresión:

- El primer *cassette* incluye la secuencia codificante de *CaMsrB2*, regulada por el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y por el terminador del inhibidor de la proteinasa II de la patata (PinII).

- El segundo *cassette* contiene el gen *bar*, que confiere resistencia al herbicida bialafos. Este gen también está regulado por el promotor 35S del CaMV y por el terminador de la nopalina sintasa (Nos).

El constructo finalizado se introdujo en la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens* y la transformación en soja (*Glycine max*, cultivar Williams 82) se llevó a cabo mediante el método de nodo cotiledonario de media semilla.

Resistencias a antibióticos

La construcción de ADN-T utilizada para la transformación de la soja no contiene resistencias a antibióticos. La selección de eventos transgénicos durante el proceso de regeneración se realizó mediante la aplicación de presión selectiva, basada en glufosinato dado que la construcción incluye el gen *bar* como marcador seleccionable.

Análisis bioinformático

Alergenicidad

Para evaluar el potencial alergénico, se analizó la secuencia de aminoácidos de CaMsRB2 utilizando las siguientes tres bases de datos de alérgenos reconocidas internacionalmente: *AllerCatPro* versión 2.0 (2022), no mostró potencial alergénico para CaMsRB2; *AllergenOnline* (FARRP, 2025), no se evidenció ninguna proteína con 35 % de identidad en 80 aminoácidos; *Allermatch* (2023), no se identificó coincidencias de 8 o más aminoácidos contiguos. Estos resultados combinados demuestran que CaMsRB2 no presenta una similitud significativa con alérgenos conocidos y, por lo tanto, es improbable que represente un riesgo alergénico al expresarse en soja.

Toxicidad

La toxicidad se evaluó utilizando *ToxinPred*, que predice péptidos tóxicos basándose en sus propiedades de secuencia y motivos validados experimentalmente. No se identificaron motivos tóxicos en CaMsRB2, y la proteína se clasificó como no tóxica. Además, la especie de origen, *Capsicum annuum*, tiene historial de uso seguro y no se conoce su asociación con toxicidad.

Método de detección

En la información confidencial se presenta el protocolo de detección específica del evento basado en la técnica de PCR.

Conclusión:

El grupo GAHCIM no identifica riesgos significativos en cuanto a la caracterización molecular del evento en desarrollo Soja CaMSRB2 para evaluación confinada a campo.
