Afdeling for Risikovurdering og Ernæring

Ref. Ares(2020)1866575 - 01/04/2020

JWPE/LIROL
DTU, Fødevareinstituttet 10. januar 2020

Kommentarer fra DTU til studier af risikoen ved de nye mutagenesteknikker.

INDLEDNING

Landbrugsstyrelsen sendte i december 2019 en forespørgsel vedrørende risikoen ved de nye DNA teknikker i relation til EU-domstolens afgørelse af 25. juli 2018 om nye mutagenesteknikker.

På spørgsmålet om vi har undersøgt risikoen ved de nye teknikker kan vi svare, at vi ikke har udført forskning til afklaring af risikoen, men fulgt med i diskussionen og deltaget i arbejdsgrupper (nationalt, OECD og EU) hvor det har været undersøgt. I den anledning har vi følgende kommentarer og bemærkninger som vi mener er vigtige at forstå når risikoen skal diskuteres og beslutninger tages.

Nye gen-teknikker[1] dækker over en række forskellige teknikker til brug i planteforædling[2]. Vores kommentarer og sundhedsmæssige risikovurdering dækker her kun over nye mutagenesteknikker. Dette dækker over nye teknikker som har potentiale til at frembringe ændringer i DNA i form af baseændringer eller indsættelse/fjernelse af basepar (indels) ofte meget mere specifikt end traditionel mutagenese og ofte omfattende kun relativt få off-target effekter.

Der er enighed om at sådanne mutationer/indels vil kunne fremkomme i naturen eller med traditionel mutagenese og man kan derfor ikke detektere om de er opstået naturligt eller opnået med traditionelle eller nye mutagenesteknikker.

LIGHED/FORSKEL PÅ TRADITIONELLE OG NYE MUTAGENESETEKNIKKER

Teoretisk set kan alle mutationer opnås naturligt eller med traditionel mutagenese. Men med de nye mutagenesteknikker (CRISPR, TALEN, ZINK-finger-nuklease, Oligonukleotid-dirigeret mutagenese) har man mulighed for at foretage mange specifikke baseændringer i et gen som ville være meget vanskeligt eller tæt på umuligt at opnå med traditionel forædling. Grundlæggende er der tale om sandsynligheder/frekvenser hvorved noget kan forekomme. I princippet kan man forestille sig at flere mindre ændringer "hober sig op til" noget der ligner rekombinant DNA.

Så spørgsmålet er, hvor grænsen går mellem hvad der kan defineres som DNA lavet ved mutationsbehandling og hvad der må defineres som rekombinant DNA. Der findes ingen klare definitioner af dette, herunder hvor mange basepar det skal til for at man kan tale om rekombineret DNA. De fleste vil nok anderkende at en promotor fra en bakterie kombineret med et strukturelt gen fra en plante er rekombinant DNA.

---

[1] Nogle gange benævnt NBT = New breeding techniques
[2] Notatet fokuserer på planter selvom teknikkerne kan anvendes på andre organismer.

KONTROL MULIGHEDER

Når mutationerne omfatter mange basepar inden for et begrænset område, vil det potentielt være muligt at detektere dem fx vha. PCR. Det er ikke muligt at forudse om metoden kan opfylde kravene til kontrol (præcision, nøjagtighed, specifikation m.v.). Vi har ikke opfattet, at der noget sted i lovgivningen er en kobling eller relation mellem muligheden for kontrol og definitionen af hvad der er omfattet af lovgivningen. Vi opfatter derfor denne diskussion udelukkende for at være politisk af interesse og ikke relateret til hverken definitionerne for GMO eller for at være relateret til mulige risici eller relevant for de risikovurderinger der skal foretages.

RISIKO

Ofte synes det vigtigt at diskutere om hvorvidt anvendelse af den ene teknik udgør et større problem/en større risiko end en anden teknik (traditionel vs ny). Set ud fra en sundhedsmæssig risikovurdering[3] er denne diskussion ikke særlig brugbar. Alle teknikker til ændring af DNA kan føre til godt og skidt. En enkelt mutation kan føre til en væsentlig ændring af en organisme og tusindvis af basepar kan indsættes uden effekt. En sammenligning vil efter vores mening være på plads hvor man sammenligner mutationer lavet med nye teknikker med mutationer lavet med traditionel forædling. Som nævnt før er der faglig enighed om at alle mutationer vil kunne fremkomme i naturen. Denne information og sammenligningen kan bidrage til at kommunikere risikoen ud og til at der kan træffes politiske beslutninger om hvilken usikkerhed der kan accepteres. Derimod er det ofte ikke til megen hjælp for den risikovurdering der skal foretages. Her er selve målet for ændringen, den efterfølgende selektion og kendskabet til den aktuelle organisme ændringen er foretaget på, i meget højere grad forbundet med den forventede risiko.

Generelt kan man nok forvente en større risiko for utilsigtede effekter hvis der laves mange mutationer i forhold til få i en plante. Fx kunne det ske at et protein kunne få ændrede egenskaber og eksempelvis udvise lighed med et allergen. Hvis ændringen sker i en promoterregion kunne der være risiko for, at det spatiotemporale udtryk af proteinet bliver ændret. Der er derfor mulighed for, at et nyt protein eller en ny metabolit nu findes i de spiselige dele af planten, og det er måske ikke kendt om hvorvidt dette kunne være toksisk eller allergent. Konkret at definere det antal af basepar der kan være ændret uden en øget sundhedsmæssig risiko forventes er dog umuligt at spå om eller fastlægge.

Selvom mutationerne opnået med nye mutagenseteknikker er målrettet mod et bestemt sted i genomet, er det velkendt, at der også opstår andre mutationer i genomet (såkaldte off-targets). Ved traditionel mutagenese sker der tusindvis af mutationer i genomet og dermed langt flere end ved brug af de nye mutagenseteknikker. I traditionel forædling bruges der tilbagekrydsninger for at slippe af med en stor mængde af de utilsigtede mutationer. Ligeledes kunne man slippe af med en række off-target mutationer fra de nye mutagenseteknikker ved tilbagekrydsninger.

Det er teknisk muligt at sekvensere hele genomet og på den måde detektere alle mutationer, der er dannet ved brug af de nye mutagenseteknikker. Det er dog svært at bestemme, om disse mutationer er "ægte" off-target mutationer eller om de snarere er opstået helt naturligt eller fx pga. brugen af

[3] Vi har fokus på de sundhedsmæssige aspekter men det er generelt og kan overføres til de miljømæssige aspekter.

vævskultur. Falske "positive", der skyldes fejl i sekvenseringen, skal man naturligvis også være opmærksom på.

Af ovenstående fremgår det at hvis man sammenligner anvendelsen af nye mutations-teknikker med relativt få off-target mutationer med traditionel mutationsbehandling er risikoen for utilsigtede effekter større for anvendelsen af traditionel forædling. Vi vil dog ikke tillægge det en større betydning fx i forhold til målet for ændringen og den efterfølgende selektion.

MELLEMTRIN PROBLEMATIK – TRANSGENER BRUGT I PROCESSEN MÅ IKKE VÆRE TILSTEDE I PRODUKTET

Mange af de nye mutageneseteknikker gør brug af et mellemtrin, hvor planten (herunder planteceller) indeholder rekombinant DNA og er en GMO omfattet af lovgivningen. Ved hjælp at tilbagekrydsning, udspaltning og lignende er det muligt at slippe af med det indsatte rekombinerede DNA og samtidig beholde mutationen/mutationerne, der er blevet dannet. Der kan her være en risiko for, at DNA'et ved transformationen er blevet indsat flere steder i genomet eller at små stumper DNA også er blevet sat ind. Det vil derfor være vigtigt at kunne påvise, at planten ikke indeholder "rester" af indsat DNA som gør at planten kunne opfattes som en GMO omfattet af lovgivning. Indsat nyt DNA udgør ikke nødvendigvis en sundhedsmæssig risiko, men planten vil nødvendigvis stadig være GMO. Her mangler kriterier for hvornår fx afkom fra en gmo-plante (celle) kan anses for at være non-GMO[i]. Uden sådanne kriterier vil en non-segregant være "lovløs" dvs. måske ulovlig, men kan ikke ansøges markedsført efter lov om genteknologi da den måske ikke er en GMO.

HASTIGHEDEN HVORMED MUTATIONER INTRODUCERES ER IKKE RELATERET TIL RISIKO

Ved brug af nye mutageneseteknikker er der potentiale for at opnå tilsigtede mutationer med en større præcision, færre off-target effekter og i den sidste ende hurtigere opnå en ny forbedret sort. I afgørelsen fra EU-domstolen nævnes:

"at udviklingen af disse nye teknikker/metoder gør det muligt at producere genetisk modificerede sorter i et tempo og i en størrelsesorden, der ikke står i forhold til dem, der følger af anvendelsen af traditionelle tilfældige mutagenesemetoder."

Dette kan efter vores vurdering ikke have indflydelse på tolkningen af en GMO. Hvilke tal eller oplysninger der her er brugt til denne udtalelse vedrørende størrelsesorden er uklart. Hastigheden hvormed nye sorter kommer på markedet er bestemt bl.a. af de nye egenskaber der ønskes. Nye screeningsmetoder brugt i traditionel forædling kan i dag også øge hastigheden hvormed der kan introduceres en ny sort.

Selve hastigheden med hvilken mutationer kan laves er nok hurtigere med traditionel mutagenese end de nye teknikker. Derimod er det muligt hurtigere at udvikle planter med de ønskede mutationer med færre off-target effekter ved brug af nye mutageneseteknikker. Hastigheden hvormed den ønskede mutation opnås eller hvormed en nye sort er udviklet, er uden betydning for den sundhedsmæssige risikovurdering.

Det er tvivlsomt om hastigheden hvormed dannelse af nye plante sorter har haft betydning for dommens afgørelse.

VEDR. ANVENDELSER SOM GENNEM LANG TID HAR VIST SIG SIKRE

Det nævnes i EU domsafgørelsen at teknikker som "traditionelt er blevet brugt i en række anvendelser, og som gennem lang tid har vist sig sikre" skal betragtes på anden måde end nye teknikker hvor erfaringen er begrænset.

Vi mener at det er vigtigt at få præciseret hvad lang tid er og hvordan det skal vurderes at det er sikkert. Desuden synes det at være en stor misforståelse i denne sammenhæng at betegne teknikkerne som sikre. Denne misforståelse sker typisk når der diskuteres "history of safe use".

Traditionel mutations behandling har vist at lave mange uforudsigelige skader og er ikke i den forstand sikker. Derimod har den efterfølgende udvælgelse og selektion vist sig at føre til mere eller mindre sikre fødevarer/planter. Det hører vel med at mutagenese sker i kombination med ansvarlige planteforædlere.

Så derfor kan man sige, at det ikke er selve teknikkerne der har vist sig sikre, men derimod hvordan nye plantevarianter efterfølgende bliver håndteret og udvalgt af forædlerne der sikrer at risikoen for utilsigtede effekter er lav. Derfor ville anvendelsen af nye mutageneseteknikker med efterfølgende håndtering af forædlerne være lige så sikre/usikre som traditionel mutagenese teknikker.

Vi håber hermed at dette kan bidrage til at diskussionen om anvendelse af de nye mutageneseteknikker således at den kan foregå på et mere oplyst grundlag.

Vi vil desuden gerne henvise til rapporten fra SAM som på udmærket faglig måde beskriver problemstillingerne og måske burde have større vægt i diskussionen end det hidtil har syntes gældende.

REFERENCE

Explanatory Note on New Techniques in Agricultural Biotechnology, 2017 from SAM (Scientific Advice Mechanism).

[i] Ofte ses en argumentation i debatten fra faglig side gående på, at resultatet ved anvendelsen af de nye teknikker til specifik mutagenese er uden rester af rekombinant DNA. Vi vurderer, at det sandsynligvis er korrekt i mange tilfælde, men der mangler oplysninger om hvilken dokumentation der foreligger (bør foreligge?) for denne påstand i de enkelte tilfælde. Som eksempel kan nævnes artiklen som Henrik Brinch-Pedersen sendte (Induced Genetic Variation in Crop Plants by Random or Targeted Mutagenesis: Convergence and Differences 2019 by Inger B. Holme, Per L. Gregersen and Henrik Brinch-Pedersen) hvori der står "Common to almost all these techniques are, however, that the final plants, which are exposed to the open environment, are without foreign DNA as the vector constructs are either never integrated into the plant genome or are out-segregated in the next generation". Det er en udemærket artikel, men kriterierne/beviserne for erklæringen om, at planterne er fri for fremmed DNA mangler, og

burde efter vores vurdering indgå, ikke nødvendigvis i selve artiklen, men i diskussionen som foregår vedrørende anvendelse af mutagenese-teknikker i relation til lovgivning.