COMMISSIE
COGEM
GENETISCHE
MODIFICATIE

BEZOEKADRES:
A. VAN LEEUWENHOEKLAAN 9
3721 MA BILTHOVEN

POSTADRES:
POSTBUS 578
3720 AN BILTHOVEN

TEL.: 030 274 2777
FAX: 030 274 4476
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM	21 maart 2019
KENMERK	CGM/190321-02
ONDERWERP	Advies m.b.t. het Nederlandse voorstel voor vrijstelling van bepaalde gg-planten

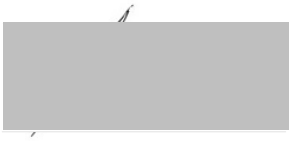
Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een adviesvraag van het ministerie van IenW over de criteria in het Nederlandse discussievoorstel voor wijziging van Annex IB van Richtlijn 2001/18/EG, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:
Nederland heeft in de Europese discussie een voorstel ingebracht om gg-planten die aan bepaalde voorwaarden voldoen, vrij te stellen van de verplichtingen die de ggo-regelgeving voor doelbewuste introductie in het milieu (Richtlijn 2001/18/EG) met zich meebrengt. De intentie van het voorstel is om gg-planten die met behulp van nieuwe veredelingstechnieken zijn vervaardigd en een overeenkomstig veiligheidsprofiel hebben als traditioneel veredelde planten, vrij te stellen.
De COGEM is door het ministerie van IenW gevraagd om te adviseren over de criteria waar gg-planten aan moeten voldoen om voor vrijstelling in aanmerking te komen.
De COGEM heeft eerder gesignaleerd dat gg-planten die met bepaalde technieken (zoals gerichte mutagenese en cisgenese) zijn verkregen, voor een vrijstelling in aanmerking komen, omdat de risico's van deze gg-planten vergelijkbaar zijn met die van traditioneel veredelde planten. Het Nederlandse voorstel maakt een vrijstelling van deze planten mogelijk.
De COGEM merkt op dat de voorgestelde criteria voor meerdere uitleg vatbaar zijn, waardoor ook gg-planten waarvan niet op voorhand gesteld kan worden dat zij even veilig zijn als traditioneel veredelde planten, mogelijk voor een vrijstelling in aanmerking zouden kunnen komen. De COGEM stelt daarom een tekstuele aanpassing van de criteria voor.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



COGEM

c.c. Dr.
Ministerie van IenW

Voorstel voor aanpassing van de vrijstelling in de ggo-regelgeving: aanvullende criteria voor het vrijstellen van gg-planten

COGEM advies CGM/190321-02

1. Inleiding

De veiligheid voor mens en milieu wordt gewaarborgd door regelgeving. Omdat ook activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) risico's met zich mee zouden kunnen brengen, worden deze activiteiten in de Europese Unie gereguleerd door middel van verschillende Richtlijnen en Verordeningen die in nationale wet- en regelgeving zijn geïmplementeerd.

Sinds de inwerkingtreding van de ggo-regelgeving zijn er diverse nieuwe plantenveredelings-technieken ontwikkeld die de scheidslijn tussen genetische modificatie en traditionele veredeling hebben doen vervagen. Sommige van deze technieken leiden tot planten die niet of nauwelijks te onderscheiden zijn van planten die met behulp van traditionele veredelingsmethoden zijn verkregen. Verschillende wetenschappelijke adviesorganen, waaronder de COGEM, hebben gesignaleerd dat de Europese ggo-regelgeving achterhaald is en aangepast zou moeten worden. In de EU wordt al jarenlang bediscussieerd of planten die met behulp van verschillende nieuwe veredelingstechnieken zijn vervaardigd onder de ggo-regelgeving vallen of hiervan vrijgesteld zouden moeten worden, maar een besluit hierover is nog niet genomen.

Om de discussie over het vrijstellen van bepaalde gg-planten te entameren, heeft Nederland in 2017 een voorstel ingebracht in de Europese discussie. Het uitgangspunt van dit voorstel is dat gg-planten die met nieuwe veredelingstechnieken zijn vervaardigd en minstens even veilig zijn als traditioneel veredelde planten, vrijgesteld worden van de verplichtingen van de ggo-regelgeving.

Het ministerie van IenW heeft de COGEM gevraagd om te adviseren over de criteria voor het vrijstellen van ggo's die in het voorstel zijn beschreven. Aangezien het voorstel zich richt op het vrijstellen van bepaalde gg-planten, heeft de COGEM zich bij haar analyse van de criteria beperkt tot de gg-planten die mogelijk voor vrijstelling in aanmerking zouden kunnen komen en de milieuveiligheid van deze planten.

2. Voorstel voor uitbreiding van de vrijstelling voor bepaalde gg-planten

De teelt en import van gg-planten wordt gereguleerd door middel van de Europese Richtlijn voor 'doelbewuste introductie in het milieu' (Richtlijn 2001/18/EG). In deze Richtlijn is de volgende definitie van een ggo opgenomen *"Genetisch gemodificeerd organisme: een organisme, met uitzondering van menselijke wezens, waarvan het genetische materiaal veranderd is op een wijze welke van nature door voortplanting en/of natuurlijke recombinatie niet mogelijk is."*[1]

Ook gewassen die met behulp van mutagenese en protoplastfusie zijn verkregen, voldoen aan deze definitie. Deze technieken werden al toegepast voordat de betreffende Richtlijn[a] van kracht werd en gewassen die met behulp van deze technieken waren verkregen, waren ten tijde van de inwerkingtreding van de Richtlijn al (jarenlang) op de markt. Om te voorkomen dat deze gewassen ook aan de verplichtingen van de ggo-regelgeving zouden moeten voldoen, is in de ggo-regelgeving een vrijstelling opgenomen voor organismen die met behulp van mutagenese en protoplastfusie (tussen cellen van plantensoorten die ook met behulp van traditionele veredelingsmethoden genetisch materiaal kunnen uitwisselen) zijn vervaardigd.

Het voorstel van Nederland is er op gericht om gg-planten die verkregen zijn met nieuwe veredelingstechnieken en een vergelijkbaar veiligheidsprofiel hebben als traditioneel veredelde planten – eender aan planten die met behulp van klassieke mutagenese en protoplastfusie zijn verkregen - vrij te stellen van de verplichtingen die de ggo-regelgeving met zich meebrengt.

Hiertoe heeft Nederland een voorstel gedaan voor aanpassing van de bijlage waarin wordt beschreven welke technieken tot vrijgestelde organismen leiden, i.e. bijlage IB van Richtlijn 2001/18/EG. De voorgestelde aanpassing van deze bijlage bevat een aantal nieuwe criteria waarmee bepaalde gg-planten voor een vrijstelling in aanmerking zouden komen.

De nieuwe tekst die voor deze bijlage is voorgesteld, is in het onderstaande kader weergegeven. Het voorstel is ten behoeve van de discussie met andere lidstaten in het Engels opgesteld.

Proposal
Annex I B
TECHNIQUES REFERRED TO IN ARTICLE 3

I. Techniques of genetic modification as referred to in article 3, to which this Directive shall not apply, shall only yield organisms resulting from the use thereof in as far as these organisms no longer contain recombinant nucleic acid molecules[*] that are used for or during modification and do not contain genetically modified organisms other than those produced by one or more of the techniques, methods or applications referred to in this annex.

II. As regards the non-applicability of this Directive to the techniques referred to in this annex, any person deliberately releasing a genetically modified organism obtained with these techniques, shall, at the request of the Commission or a competent authority of a Member State, provide without undue delay a written justification as regards the fulfilment of the provisions of this annex.

[a] Richtlijn 90/220/EEG – Richtlijn van de Raad van 23 april 1990 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu. Deze Richtlijn is bij de inwerkingtreding van Richtlijn 2001/18/EG ingetrokken.

III. Without prejudice to the above conditions, techniques referred to in article 3 are:

A) the following techniques, methods or applications thereof:
(1) conventional random mutagenesis methods using ionising radiation or mutagenic chemical agents;
(2) cell fusion (including protoplast fusion) of plant cells of organisms which can exchange genetic material through traditional breeding methods;

B) techniques, methods or applications thereof resulting in plants, provided that:
(1) no other genetic material is introduced into the resulting plant than genetic material from the same plant species or from a plant species with which it can exchange genetic material through traditional breeding methods, and
(2) recombinant nucleic acid molecules* that are used for or during modification are no longer present in the resulting plant that is meant for deliberate introduction into the environment.

IV. Every five years the Commission, following consultation with relevant stakeholders and in collaboration with the competent authorities of the Member States, shall review this annex. The first review shall be completed by 1 January 2023.

* recombinant nucleic acid molecule: a molecule that is not generated by natural recombination and is generated by joining two or more nucleic acid molecules and which can replicate after its transfer into a living cell. It is created outside the cells through the formation of a new combination of genetic material or nucleic acid molecules.

3. Planten die aan de voorwaarden voor vrijstelling voldoen

Er zijn verschillende nieuwe veredelingstechnieken waarmee planten worden verkregen die op basis van de voorgestelde criteria voor een vrijstelling in aanmerking komen. In dit hoofdstuk wordt nagegaan of de risico's van de planten die met deze technieken zijn verkregen, overeenkomen met de risico's van traditioneel veredelde planten. Indien de COGEM eerder over een techniek heeft geadviseerd, wordt het COGEM advies toegelicht.

3.1 Gerichte mutagenese (gene editing)

Met gene-editing technieken kan het genoom van een plant gericht worden veranderd. Er kunnen kleine inserties en deleties worden aangebracht en baseparen worden veranderd (substituties).[2,3,4] Een voorbeeld van een gene-editing techniek is de sinds enkele jaren veel toegepaste CRISPR technologie, maar ook 'oligo-directed mutagenesis', TALENS en Zinkvingers zijn voorbeelden van dergelijke technieken.

Bij het veredelen van planten wordt al decennialang gebruik gemaakt van klassieke mutagenese. Planten die met behulp van klassieke mutagenese[b] zijn verkregen, zijn daarom bij het inwerkingtreden van de ggo-regelgeving vrijgesteld van diens verplichtingen. Bij klassieke mutagenese ontstaan in het genoom van een plant talloze willekeurige en onbekende mutaties. Met gene-editing technieken kan een mutatie (die ook spontaan of na klassieke mutagenese zou kunnen ontstaan) gericht worden aangebracht. Deze technieken brengen minder veranderingen aan in het genoom en brengen daardoor minder risico's met zich mee dan klassieke mutagenese.

De COGEM heeft vanwege het bovenstaande eerder geadviseerd om planten die verkregen zijn met behulp van gerichte mutagenese – net als planten die met behulp van klassieke mutagenese zijn verkregen – vrij te stellen van de ggo-regelgeving.[5,6,7,8] Daarbij wees de COGEM erop dat planten die met behulp van de verschillende mutagenese technieken zijn verkregen, niet of nauwelijks van elkaar te onderscheiden zijn en plaatste zij vraagtekens bij de huidige situatie waarin planten met dezelfde genetische veranderingen, afhankelijk van de techniek waarmee een plant is verkregen, wel of niet gereguleerd worden.

Hoewel bij sommige van deze gene-editing technieken recombinant nucleïnezuurmoleculen worden gebruikt, zijn deze in de uiteindelijke plant niet langer aanwezig. De risico's van de uiteindelijk verkregen planten overschrijden de bandbreedte van de risico's van traditioneel veredelde planten niet.

3.2 Technieken waarbij in de uiteindelijke planten geen DNA is geïnsereerd

Er zijn verschillende nieuwe veredelingstechnieken, zoals 'reverse breeding'[5] en agroïnoculatie[5], waarbij gebruik wordt gemaakt van genetische modificatie, maar waarbij de genoomsequentie van de planten die uiteindelijk worden verkregen, niet is gewijzigd en ook geen ingebrachte DNA sequenties bevat. De uiteindelijke planten hebben geen nieuwe eigenschappen en hun risico's komen overeen met die van traditioneel veredelde planten. De COGEM heeft eerder gesignaleerd dat er vanuit risico-overwegingen geen reden is om dergelijke planten onder de ggo-regelgeving te laten vallen.[5]

3.3 Cisgenese

Bij cisgenese worden planten gemodificeerd met DNA dat van de soort zelf of van een kruisbare verwant afkomstig is en ook met behulp van traditionele veredelingsmethoden in de plant kan worden ingebracht. De coderende sequenties staan onder controle van hun eigen regulatiesignalen (promotor of terminator) en bevatten hun eigen intronen (indien aanwezig). Het DNA is in zijn geheel uit de donorplant afkomstig en niet uit meerdere fragmenten opgebouwd.

Het is inmiddels technisch mogelijk om DNA gericht op een bepaalde plaats in het genoom te insereren. Hoewel de efficiëntie van deze techniek nog vrij laag is, zijn er publicaties van verschillende plantensoorten waarbij dit is gelukt (o.a. maïs, tarwe en tomaat).[9,10,11] Door het gericht

[b] klassieke mutagenese: het induceren van genoomveranderingen met behulp van radioactieve straling of chemische mutagentia

inbrengen van DNA kan een extra gen op een specifieke plaats ingebracht worden of kan een gen van een soort vervangen worden door genen van een andere soort ('gene replacement').
Bij veel van de methoden die op dit moment worden gebruikt om planten te modificeren, insereert het gewenste DNA op een willekeurige plaats in het plantengenoom. De expressie van een gen dat op die plaats aanwezig is, kan hierdoor veranderen of een gen kan uitgeschakeld worden. Ook zou het ingebrachte gen kunnen fuseren met een al in het plantengenoom aanwezig gen. Een dergelijke fusie van (fragmenten van) verschillende genen zou in theorie kunnen leiden tot de productie van nieuwe eiwitten.

Cisgene planten kunnen op basis van het ingebrachte DNA geen eigenschappen verkrijgen die niet in de soort zelf of in kruisbare soorten (kunnen) voorkomen. Ook de hierboven genoemde eventuele fusies van (fragmenten van) verschillende genen zouden in principe onder natuurlijke omstandigheden of via traditionele veredeling kunnen ontstaan.
De mate waarin de ingebrachte genen tot expressie komen, kan – afhankelijk van de plaats waar de genen worden geïnsereerd – variëren. Doordat de ingebrachte genen onder controle staan van hun eigen regulatiesignalen, zal het expressieniveau echter binnen de bandbreedte van de expressieniveaus in traditioneel veredelde planten blijven.
De COGEM heeft eerder geadviseerd over cisgene planten. De COGEM signaleerde dat cisgene planten geen groter risico voor mens en milieu met zich meebrengen dan traditioneel veredelde planten en daarom mogelijk vrijgesteld zouden kunnen worden van de ggo-regelgeving.[6,12]

Transformatiemethoden
Vaak wordt er gebruik gemaakt van de bacterie *Agrobacterium tumefaciens* om planten genetisch te modificeren. Deze bacterie insereert naast het gewenste DNA normaal gesproken ook zogenaamde T-DNA bordersequenties die van bacteriële oorsprong zijn. Gg-planten die bacteriële T-DNA bordersequenties bevatten, voldoen niet aan de voorgestelde criteria en komen op basis van het Nederlandse voorstel niet voor vrijstelling in aanmerking.
Bij *A. tumefaciens* transformaties worden de T-DNA bordersequenties soms per toeval niet geïnsereerd.[i] Het is dus mogelijk om gg-planten te selecteren die alleen het gewenste DNA bevatten. Ook kan er i.p.v. de gebruikelijke bacteriële vector met T-DNA bordersequenties, een 'intragene' vector worden gebruikt met uit plantaardige sequenties samengestelde P-DNA bordersequenties.[ii,iii]

Daarnaast zijn er verschillende andere methoden waarmee planten genetisch gemodificeerd kunnen worden zonder dat hierbij andere sequenties worden geïnsereerd dan het gewenste DNA. Dit kan bijvoorbeeld met behulp van de 'particle bombardment' methode waarbij kleine metalen bolletjes met daarop het in te brengen DNA met behulp van een 'particle gun' in plantencellen worden geschoten, en het recentere 'magnetofection' waarbij een magnetisch veld wordt gebruikt om magnetische nanodeeltjes die met DNA zijn gecoat in pollenkorrels te brengen.[iv] Ook met behulp van CRISPR technologie kunnen planten genetisch gemodificeerd worden zonder dat er ongewenste sequenties worden geïnsereerd.[v]

[i] Zhu S *et al.* (2013). Vector integration in triple *R* gene transformants and the clustered inheritance of resistance against potato late blight. Transgenic Research 22: 315-325
[ii] Conner AJ *et al.* (2007). Intragenic vectors for gene transfer without foreign DNA. Euphytica 154: 341-353
[iii] Zare B *et al.* (2017). United States Patent application publication. Binary vectors with minimized biosafety concerns and high transformation rates by engineered plant-derived transfer-DNA. US 2017/0260537 A1 https://patents.google.com/patent/US20170260537A1 (bezocht: 21 december 2018)
[iv] Zhao X *et al.* (2017). Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers. Nature Plants 3(12): 956-964
[v] Soyars CL *et al.* (2018). Cutting edge genetics: CRISPR/Cas9 editing of plant genomes. Plant & Cell Physiology 59(8): 1608-1620

4. Planten die mogelijk voor vrijstelling in aanmerking zouden komen

De COGEM merkt op dat bij bestudering van de criteria die in het voorstel worden beschreven, blijkt dat zij op meerdere manieren geïnterpreteerd kunnen worden, waardoor zij – afhankelijk van de interpretatie – minder of juist meer ruimte bieden voor het vrijstellen van gg-planten dan mogelijk werd bedoeld of gewenst.

Criteria for exemption

B) techniques, methods or applications thereof resulting in plants, provided that:

(1) no other genetic material is introduced into the resulting plant than genetic material from the same plant species or from a plant species with which it can exchange genetic material through traditional breeding methods, and

(2) recombinant nucleic acid molecules that are used for or during modification are no longer present in the resulting plant that is meant for deliberate introduction into the environment.

Een interpretatie van de voorgestelde criteria is dat in de gg-planten die voor vrijstelling in aanmerking komen, DNA sequenties afkomstig van plantensoorten waarmee de betreffende plant ook via traditionele veredelingsmethoden genetisch materiaal uit kan wisselen, geïnsereerd mogen zijn, en mutaties aangebracht mogen zijn. Eventuele recombinant nucleïnezuurmoleculen die voor het aanbrengen van mutaties zijn gebruikt, mogen in de uiteindelijke plant niet langer aanwezig zijn.

Wanneer de criteria op deze manier worden uitgelegd, zouden, naast de gg-planten die in het vorige hoofdstuk zijn beschreven, mogelijk ook een aantal andere gg-planten voor vrijstelling in aanmerking kunnen komen omdat niet uitgesloten wordt dat combinaties van sequenties ingebracht worden. In de volgende twee paragrafen wordt hier verder op ingegaan.

Eenduidige juridische termen

Het is moeilijk om biologische processen en wetenschappelijke ontwikkelingen in eenduidige juridische termen en criteria te vangen. Dit wordt o.a. geïllustreerd door de definitie van recombinant nucleïnezuurmoleculen die in het voorstel wordt gebruikt en die is gebaseerd op een voorstel van de Europese Commissie en de reactie van de EFSA hierop.

"*Recombinant nucleic acid molecule: a molecule that is not generated by natural recombination and is generated by joining two or more nucleic acid molecules and which can replicate after its transfer into a living cell. It is created outside the cells through the formation of a new combination of genetic material or nucleic acid molecules."*
Recombinant nucleïnezuurmoleculen die niet in een cel kunnen repliceren, zoals naakt DNA, voldoen niet aan deze definitie. Hierdoor zou verondersteld kunnen worden dat werkzaamheden met dergelijke recombinant nucleïnezuurmoleculen niet door de ggo-regelgeving worden gereguleerd. Voor dergelijke activiteiten is een vergunning echter wel noodzakelijk.

4.1 Intragenese

Bij intragenese worden planten, net als bij cisgenese, gemodificeerd met DNA sequenties die afkomstig zijn van plantensoorten waarmee de betreffende plantensoort ook met behulp van traditionele veredelingsmethoden genetisch materiaal kan uitwisselen. De regulatiesignalen van de geïnsereerde genen kunnen bij intragenese echter vervangen zijn door de regulatiesignalen van andere genen, zolang deze maar afkomstig zijn van kruisbare verwanten.[13]

De regulatiesignalen van een gen bepalen de mate waarin, de plaats en het moment waarop een gen tot expressie komt. Door de regulatiesignalen (met name de promotor) van een gen te vervangen door andere regulatiesignalen of door regulatiesignalen toe te voegen, kan de expressie van het gen worden veranderd. Er zijn talloze plantaardige promotors met verschillende expressieprofielen bekend die gebruikt kunnen worden om de expressie van een gen te veranderen.[14]

Doordat de genen onder controle staan van andere regulatiesignalen kunnen zij op andere momenten, in andere plantendelen en in andere hoeveelheden tot expressie komen dan normaal gesproken het geval is. Dit wordt geïllustreerd door het volgende voorbeeld waarbij het vervangen van de promotor van het *ARGOS8* gen door een promotor van een ander maïsgen (*GOS2*) tot een expressieniveau leidde dat hoger was dan dat van vierhonderd conventionele inteeltlijnen. De verkregen maïsplanten produceerden meer ARGOS8 eiwit en waren minder gevoelig voor droogte.[15]

Op dit moment is niet bekend of de risico's van 'intragene' gg-planten zich binnen de bandbreedte van de risico's van traditioneel veredelde planten bevinden of dat zij deze overstijgen. De COGEM is voornemens om dit verder te onderzoeken en hier in een later stadium advies over uit te brengen.

4.2 Modificatie met chimere genen of chimere regulatiesignalen

Planten kunnen ook gemodificeerd worden met een chimeer DNA fragment dat is samengesteld uit verschillende DNA sequenties die afkomstig zijn van plantensoorten waarmee de betreffende plantensoort ook met behulp van traditionele veredelingsmethoden genetisch materiaal kan uitwisselen.

Delen van genen en/of regulatiesignalen kunnen bewust gecombineerd zijn tot een chimeer gen dat het gewenste eiwit produceert of tot een chimere promotor die voor het gewenste expressieprofiel zorgt. In de literatuur zijn verschillende voorbeelden van chimere genen of chimere promotors beschreven. Zo werd in gg-tomatenplanten het chimere SlP14a-PPC20 eiwit[c], dat door een nieuwe combinatie van DNA sequenties van tomaat wordt gecodeerd, tot expressie gebracht. Dit leidde tot resistentie tegen de plantpathogene bacterie *Ralstonia solanacearum*.[16] Ook werd uit elementen van de promotors van verschillende rijstgenen een nieuwe chimere promoter samengesteld, die een gen specifiek in de groene delen van een rijstplant tot expressie brengt.[17]
Bovenstaande voorbeelden geven een beeld van de mogelijke veranderingen. Deze gg-planten voldoen overigens niet volledig aan de criteria voor vrijstelling, omdat zij naast de hierboven beschreven sequenties nog enkele andere sequenties bevatten.

Daarnaast is het ook mogelijk om ongericht nieuwe genen of regulatiesignalen te laten ontstaan. 'DNA shuffling' is een methode waarbij verschillende varianten van één gen, of verschillende genen, *in vitro* met elkaar gerecombineerd worden. Vervolgens wordt onderzocht of één van de nieuwe chimere genen die daarbij is ontstaan de gewenste eigenschappen bezit. Wanneer dit het geval is, kan dit nieuwe chimere gen in een plant geïnsereerd worden.
Met behulp van 'DNA shuffling' kunnen nieuwe combinaties gemaakt worden van genen van verschillende plantensoorten. Zo werd door 'DNA shuffling' toe te passen op cDNA van *GST* genen van de Gewone boon (*Phaseolus vulgaris*) en die van de Sojaboon *(Glycine soja*) die onder abiotische stressomstandigheden tot expressie komen, een nieuw *GST* gen verkregen dat onder bepaalde stressomstandigheden waarschijnlijk beter functioneert.[18]
Ook kan de methode worden gebruikt om nieuwe varianten van een gen te maken. Op deze manier kon bijvoorbeeld een nieuwe variant van het bacteriële *cry1Ac* gen worden verkregen, die toxischer bleek te zijn voor het plaaginsect de Florida-uil (*Spodoptera exigua*). Ook werden er varianten gevonden die toxisch waren voor meerdere plaaginsecten (*S. exigua* en *Heliothis zea*).[19]

Door het creeëren van chimere genen en het aanpassen van regulatiesignalen kunnen veel sneller nieuwe eiwitten verkregen worden en expressieprofielen gewijzigd worden dan met traditionele veredeling mogelijk is. Het is nog onbekend of de risico’s van planten die op een dergelijke manier zijn aangepast, overeenkomen met die van traditioneel veredelde planten

5. Overweging en advies

De ggo-regelgeving is opgesteld om mens en milieu te beschermen tegen eventuele risico's van ggo's. Met de beoogde vrijstelling blijft de veiligheid voor mens en milieu gewaarborgd. De intentie van het Nederlandse voorstel is immers om gg-planten die verkregen zijn met nieuwe veredelingstechnieken en een overeenkomstig veiligheidsprofiel hebben als traditioneel veredelde planten, vrij te stellen van de verplichtingen die de ggo-regelgeving met zich meebrengt.

[c] SlP14a-PPC20: een chimeer eiwit bestaande uit een fusie van het pathogenese gerelateerde P14a eiwit met het PPC20 alpha-helix antimicrobieel peptide. Zowel P14a als PPC20 worden door tomaat geproduceerd.

Aanpassing criteria

De criteria voor het vrijstellen van gg-planten die zijn voorgesteld, zijn in COGEMs optiek echter onvoldoende eenduidig. Zij zouden mogelijk op een manier uitgelegd kunnen worden waardoor ook gg-planten waarvan niet op voorhand gesteld kan worden dat zij even veilig zijn als traditioneel veredelde planten, zoals gg-planten waarbij chimere plantaardige sequenties zijn geïnsereerd, voor vrijstelling in aanmerking komen.

De COGEM denkt dat een verkeerde interpretatie van de criteria mogelijk voorkomen kan worden door de criteria als volgt te wijzigen:

"B) techniques, methods or applications thereof resulting in plants, provided that:

(1) no genetic material is introduced into the resulting plant other than non-recombinant DNA sequences derived from the same plant species or from a plant species with which it can exchange genetic material through traditional breeding methods, and

(2) recombinant nucleic acid molecules that are used for or during modification are no longer present in the resulting plant that is meant for deliberate introduction into the environment."

Aan criterium B1 is als additionele voorwaarde toegevoegd dat uitsluitend niet-recombinante DNA sequenties[d] geïnsereerd mogen zijn. Door deze toevoeging is het niet langer mogelijk dat gg-planten met een combinatie van DNA sequenties die van nature niet naast elkaar voorkomen, worden vrijgesteld van de verplichtingen van de ggo-regelgeving. Zogenaamde 'intragene planten' en planten met chimere plantaardige sequenties moeten hierdoor aan de verplichtingen van de ggo-regelgeving blijven voldoen.

Gg-planten met niet-recombinante DNA sequenties, zoals cisgene planten, blijven ook met deze aanpassing voor een vrijstelling in aanmerking komen. De COGEM merkt op dat het wenselijk kan zijn om meerdere genen in te brengen, bijvoorbeeld om een gg-plant te verkrijgen met meerdere resistentiegenen. Ook onder de voorgestelde aanpassing blijft het mogelijk om meerdere van dergelijke genen (tegelijkertijd of na elkaar) te insereren, mits deze genen intact zijn en afkomstig van plantensoorten waarmee de betreffende plant ook met behulp van traditionele veredelingsmethoden genetisch materiaal kan uitwisselen.

De COGEM is van mening dat met deze aanpassing de veiligheid van mens en milieu wordt gewaarborgd en tegelijkertijd ruimte wordt geboden aan innovatie.

[d] In het eerdere COGEM advies over de status van oligonucleotiden in de context van gerichte mutagenese, wordt toegelicht hoe de COGEM 'recombinant' definieert. COGEM (2010). Advies en signalering CGM/100701-03

6. Referenties

1. Richtlijn 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van Richtlijn 90/220/EEG van de Raad
2. Zong Y *et al.* (2017). Precise base editing in rice, wheat and maize with a Cas9-cytidine deaminase fusion. Nature Biotechnology 35(5): 438-440
3. Shimantani Z *et al.* (2017). Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion. Nature Biotechnology 35(5): 441-443
4. Li C *et al.* (2018). Expanded base editing in rice and wheat using a Cas9-adenosine deaminase fusion. Genome Biology 19:59
5. COGEM (2006). Nieuwe technieken in de plantenbiotechnologie. COGEM advies en signalering. CGM/061024-02
6. COGEM (2009). Adviserende brief onderzoeksrapport 'nieuwe veredelingstechnieken'. CGM/091222-01
7. COGEM (2014). CRISPR-Cas, revolutie uit het lab. COGEM signalering en advies CGM/141030-01
8. COGEM (2017). Advies CRISPR-Cas en gerichte mutagenese bij planten. CGM/170308-01
9. Gil-Humanes J *et al.* (2017). High-efficiency gene targeting in hexaploid wheat using DNA replicons and CRISPR/Cas9. The Plant Journal 89: 1251-1262
10. Čermák T *et al.* (2015). High-frequency, precise modification of the tomato genome. Genome Biology doi 10.1186/s13059-015-0796-9
11. Svitashev S *et al.* (2015). Targeted mutagenesis, precise gene editing, and site-specific gene insertion in maize using Cas9 and guide RNA. Plant Physiology 169(2): 931-945
12. COGEM (2006). Vereenvoudiging van regelgeving bij genetische modificatie met planteigen genen, cisgenese, een reële optie? COGEM signalering CGM/060428-05
13. Nuccio M *et al.* (2015). Chapter 2 – Plant trait gene expression cassette design. Azhakanandam K *et al.* (eds.). Recent advancements in gene expression and enabling technologies in crop plants. Springer Science+Business Media, doi 10.1007/978-1-4939-2202-4_2
14. Dutt M *et al.* (2014). Temporal and spatial control of gene expression in horticultural crops. Horticulture Research 1: 14047, doi 10.1038/hortres.2014.47
15. Shi J *et al.* (2017). ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. Plant Biotechnology Journal 15: 207-216
16. Morais TP *et al.* (2019). The plant-based chimeric antimicrobial protein SlP14a-PPC20 protects tomato against bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum.* Plant Science 280: 197-205
17. Wang R *et al.* (2015). Novel green tissue-specific synthetic promoters and *cis*-regulatory elements in rice. Scientific reports 5: 18256 doi: 10.1038/srep18256
18. Chronopoulou EG *et al.* (2018). Expanding the Plant GSTome through directed evolution: DNA shuffling for the generation of new synthetic enzymes with engineered catalytic and binding properties. Frontiers in Plant Science 9: 1737

19. Lassner M & Bedbrook J (2001). Directed molecular evolution in plant improvement. Current Opinion in Plant Biology 4: 152-156