

COMMISSION DU Génie BIOMOLECULAIRE

Paris, le 25 juin 2004

AVIS

La Commission du génie biomoléculaire a été saisie, le 12 mai 2004, par les autorités compétentes françaises (Direction générale de l'alimentation) d'une demande d'avis relatif à un dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché d'une pomme de terre génétiquement modifiée, dont la composition en amidon est modifiée, en vue de sa culture, de son importation et de sa transformation pour des usages non alimentaires et pour l'alimentation animale, dans l'Union Européenne.

Un dossier initial relatif à “ **la DEMANDE DE MISE SUR LE MARCHE de la pomme de terre génétiquement modifiée EH92-527-1** ”, a été déposé en 1996 par **AMYLOGENE HB** auprès des autorités compétentes suédoises sous la référence **C/SE/96/3501**, dans le cadre de l'ancienne directive 90/220/CE. Conformément à l'article 35 de la directive 2001/18/CE, le demandeur a complété le dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché par les informations requises par la nouvelle directive qui concernent notamment les modalités d'identification de détection et de traçabilité de cet OGM, un plan de surveillance et de monitoring et la durée de l'autorisation demandée. Le dossier a également été actualisé par des informations récentes relatives à l'évaluation du risque de l'OGM.

La Commission du génie biomoléculaire réunie en séance plénière les 8 juin et 22 juin 2004, sous la présidence du Professeur Marc FELLOUS, a procédé à l'examen du dossier déposé par **AMYLOGENE HB**, relatif “à **la DEMANDE DE MISE SUR LE MARCHE de la pomme de terre génétiquement modifiée EH92-527-1, au titre de l'article 15 de la directive 2001/18/CE (partie C)**”.

La Commission du génie biomoléculaire a considéré les caractéristiques des séquences introduites et a procédé à l'évaluation des risques pour la santé publique et l'environnement.

1. Introduction :

Le dossier scientifique de demande d'autorisation de mise sur le marché de pomme de terre génétiquement modifiée de la société AMYLOGENE HB contient les informations requises par les annexes de la directive 2001/18/CE relatives à l'évaluation de la sécurité sur la santé publique et l'environnement que présente l'OGM. Un rapport d'évaluation des autorités suédoises a été transmis avec le dossier scientifique.

2. Utilisation :

La demande d'autorisation porte sur la culture et l'importation de la pomme de terre génétiquement modifiée EH92-527-1 en vue de sa transformation pour des usages industriels et l'utilisation de la pulpe en tant qu'aliments pour animaux. La pomme de terre n'est pas destinée à l'alimentation humaine. La demande porte uniquement sur le clone EH 92-527-1.

3. Description du produit :

3-1) Méthode de transformation :

L'événement de transformation EH92-527-1 correspond à une pomme de terre génétiquement modifiée dont la composition en amidon est modifiée. Cet événement de transformation a été obtenu par co-culture avec *Agrobacterium tumefaciens* portant un plasmide binaire dérivé de pBIN19 (pHoxwG), et sélection in vitro des cellules transformées. Le clone est multiplié par les méthodes traditionnelles de propagation de la pomme de terre.

3-2) Description moléculaire et génétique

Il s'agit d'une pomme de terre modifiée par expression en orientation inverse d'un fragment de séquence codante de la GBSS (granule bound starch synthetase) endogène de la pomme de terre, qui catalyse la formation de la forme « amylose » de l'amidon. Il s'agit donc d'une duplication ectopique partielle d'un gène déjà présent dans la plante.

a) le plasmide :

Le plasmide pHoxwG est un plasmide binaire dérivé de pBIN19 et qui contient un ADN-T d'une longueur de 6634 pb. Cet ADN-T porte successivement :

- la bordure droite et le promoteur nos dérivés de pTiT37
- la séquence codante de nptII dérivée de Tn5
- une courte séquence du plasmide Ti
- une séquence de pTiT37 portant le terminateur nospA
- un fragment dérivé de M13 avec séquences « polylinker »
- un fragment génomique de *S. tuberosum* contenant le promoteur du gène *gbss*.
- M13
- une séquence synthétique
- une partie de la séquence codante de *gbss* de *S. tuberosum* en orientation inverse.
- une séquence synthétique
- le terminateur nos dérivé de pTiT37
- un fragment dérivé de M13 avec séquences « polylinker »
- un fragment de pTiT37 avec la bordure gauche de l'ADN-T.

La séquence complète de ce plasmide est fournie.

La recherche d'ORF potentielles dans la séquence de ce fragment (dans les 2 sens de lecture) ne révèle aucune ORF de plus de 100 pb dans les séquences des gènes *pat* et *cry1F*. Par contre une ORF potentielle de 630 pb s'étend dans le terminateur de la mannopine synthase et le promoteur 35S qui suit. Elle est dénommée ORF4.

b) Construction génétique introduite dans l'OGM :

La séquence d'ADN insérée dans le génome de la variété Prevalent comprend toutes les séquences depuis la bordure droite de l'ADN-T (dont 27 pb ont été éliminées au cours de la recombinaison avec le génome de la pomme de terre) jusqu'au promoteur du gène *gbss*. Celui-ci est suivi d'un fragment antisens puis sens de la séquence codante de ce gène. Au cours du processus de transformation par *Agrobacterium*, un réarrangement de cette séquence a créé cette structure et a éliminé 54 pb de la séquence antisens, le terminateur *nos* et la bordure gauche de l'ADN-T. L'insertion a au total une longueur de 5180 pb, sa séquence est fournie et elle ne contient pas de séquences du vecteur. Il n'y a dans le génome de ce clone transformé de pomme de terre qu'un seul locus d'insertion.

Sur cette séquence, en dehors du gène *nptII*, 17 ORF potentiellement codantes pour des polypeptides de plus de 50 acides aminés peuvent être prédites dont seulement 6 d'entre elles ont une homologie avec une région de protéine connue.

Parmi elles, seule l'ORF 4, qui est transcrite en ARN avec le gène *nptII*, pourrait conduire à un produit d'expression sous forme protéique. Néanmoins, cette ORF qui correspond aux 50 premiers acides aminés de la protéine de résistance à la bléomycine est précédée par un codon stop et n'est pas en phase avec NPTII pour produire une protéine fusion. Ces prévisions sont confirmées par les expériences de détection immunologiques qui sont négatives. Les autres ORF correspondent pour trois d'entre elles à des segments de gènes de pomme de terre tels qu'ils ne peuvent avoir de fonction et deux séquences partielles (M13 et du virus RRSV) sans séquence permettant une expression dans la plante.

L'événement de transformation n'ajoute donc au génome de la pomme de terre qu'un seul gène fonctionnel donnant une protéine : *nptII*. L'insertion est stable au cours des cycles de multiplication végétative subis depuis l'événement de transformation (plus de 9 ans).

La production dans la plante transgénique de protéines fusion issue du génome de la plante et de l'ADN-T est hautement improbable. En effet, à gauche du T-DNA est synthétisé un ARN interférant qui empêche l'expression d'un ARN dirigé de l'ADN génomique vers l'ADN-T. A droite, le promoteur nos contient suffisamment de codons stop (au moins 15 codons stop sur 140 pb du promoteur) dans les 6 phases de lecture pour empêcher la traduction d'une protéine fusion. Ceci pourrait être confirmé en RT-PCR avec des primers convenablement choisis.

La caractérisation moléculaire de la construction peut être considérée comme satisfaisante et n'exprimant pas dans la pomme de terre l'ORF 4 avec les 2 critères présentés.

4. Evaluation des risques pour la santé publique :

4.1. expression des protéines d'intérêt

La seule protéine nouvelle produite par la plante du fait de la transformation génétique est la protéine NptII.

Le niveau d'expression de la protéine NptII a été évalué. Elle est présente à raison de 2.3 ng/g de feuille fraîche. Elle est faiblement produite dans les tubercules.

Un ARN antisens conduit à l'abolition de la synthèse de l'amidon synthase liée aux granules (GBSS) de pomme de terre dont le résultat est la formation d'un amidon particulièrement riche en amylopectine (98% au lieu de 85%) et une teneur réduite en amylose (moins de 2% au lieu de 15% dans le témoin non OGM).

4.2 toxicité des protéines d'intérêt et de l'OGM

La sécurité de la protéine NptII a été démontrée dans d'autres dossiers précédents de demande de sur le marché.

Trois co-produits peuvent être issus de l'utilisation de la pomme de terre EH 92-527-1 : la pulpe, la phase liquide et les eaux de rinçage de l'amidon. Ces deux derniers produits sont généralement épandus sur le sol et ne concernent pas la sécurité de l'homme et de l'animal. La pulpe est destinée aux animaux ruminants, car les monogastriques ne digèrent pas l'amidon cru de pomme de terre.

Une étude de tolérance alimentaire de la pulpe issue de la pomme de terre EH 92-527-1 a été conduite pendant 20 semaines sur des génisses en croissance. Aucun effet indésirable n'a été mis en évidence avec les critères utilisés (poids et comportement).

La Commission du génie biomoléculaire ne se prononce pas sur le risque pour la santé animale, l'AFSSA étant saisie sur cet aspect.

La pomme de terre EH 92-527-1 n'est pas destinée à la consommation humaine, toutefois, étant donné que la consommation humaine accidentelle ne peut être complètement écartée, elle doit être prise en compte.

4.3 analyse du risque allergénique

Le risque allergénique de la protéine NptII a été étudié dans d'autres dossiers précédents de demande de mise sur le marché. La comparaison de séquence de cette protéine avec celles d'allergènes connus n'a pas mis en évidence d'homologie de séquences ce qui tend à montrer une absence de risque d'une augmentation du potentiel allergène de ce maïs génétiquement modifié.

4.4 équivalence en substance

Des données de composition chimique collectées sur des échantillons représentatifs issus de différents sites expérimentaux sur plusieurs campagnes ont été analysées et comparées statistiquement. Toutefois, les analyses permettant d'étudier la composition ont exclusivement été faites sur des plantes cultivées en Europe du Nord (Suède).

On peut noter :

- une absence de variation de la composition en protéines, matières grasses, cendres, hydrates de carbone, fibres, amidon, énergie, glucose ;
- une teneur supérieure de la pomme de terre EH 92-527 en fructose, saccharose, vitamine C, nitrates et acide chlorogénique.
- une teneur comparable en glycoalcoïdes totaux, en solanine et en chaconine

5. Evaluation des risques pour l'environnement :

5.1 Dissémination potentielle des gènes par le pollen ou par les graines

La pomme de terre est propagée essentiellement de façon végétative. De plus, la pomme de terre EH92-527-1 produit très peu de pollen et le pollen de pomme de terre n'est dispersé qu'à faible distance. Le risque de dispersion par la voie de pollen ou des graines est donc très limité.

5.2 Evaluation d'éventuelles nouvelles caractéristiques de l'OGM

La pomme de terre est une espèce peu compétitive. Les repousses de pomme de terre ne sont pas un problème en Europe. Les éventuelles repousses peuvent être efficacement contrôlées par les pratiques agricoles courantes, notamment par l'utilisation d'herbicides. Le comportement de la pomme de terre génétiquement modifiée considérée n'est pas différent de celui des variétés de pomme de terre conventionnelles.

Les structures génétiques introduites n'ont pas modifié la morphologie de la plante et sa biologie de la reproduction. Aucune différence significative n'a été observée sur les caractères agronomiques au cours des essais réalisés sur de nombreux sites en Suède. En conséquence, les caractéristiques concernant la vigueur, la compétitivité et la capacité à s'établir dans le milieu naturel ou agricole de la pomme de terre génétiquement EH92-527-1 ne sont pas différentes d'autres variétés de pomme de terre. Les capacités de survie de cette pomme de terre ne sont pas non plus différentes.

5.3 Sécurité pour les organismes non cibles

Aucun effet particulier n'est attendu sur les organismes non-cibles, et aucun effet n'a été mis en évidence lors des essais au champ.

6. Monitoring et surveillance générale

Le dossier propose un plan de surveillance spécifique afin de vérifier la stabilité de l'insertion, la non expression de l'ORF 4 au niveau de la protéine, et la stabilité de la composition de l'amidon et de la teneur en alcaloïdes.

Le dossier propose également une surveillance générale basée essentiellement sur la collection d'informations de routine, afin de pouvoir détecter des éventuels effets inattendus.

7. Conclusions :

La Commission du génie biomoléculaire considère que, même si la pomme de terre EH 92-527-1 n'est pas destinée à la consommation humaine, la consommation humaine accidentelle ne peut être complètement écartée et devrait être prise en compte.

Dans l'état actuel des connaissances et sur la base des données figurant dans le dossier, la Commission du génie biomoléculaire considère que l'évaluation du risque environnemental lié à la mise sur le marché de la pomme de terre génétiquement modifiée EH 92-257-1, telle que décrite dans le dossier C/SE/96/3501 permet de conclure à l'absence de risque pour l'environnement.

En ce qui concerne le gène marqueur de résistance à la kanamycine, la Commission du génie biomoléculaire réserve son avis aux résultats du groupe de travail conduit au niveau de la Commission européenne sur les gènes de résistance aux antibiotiques.

La Commission du génie biomoléculaire ne se prononce pas sur le risque pour la santé animale, l'AFSSA étant saisie sur cet aspect.

Le Président

signé

Marc FELLOUS