

LEMBARAN FAKTA

PERMOHONAN UNTUK MENDAPATKAN KELULUSAN BAGI PELEPASAN PRODUK CANOLA DP73496 BAGI TUJUAN PEMBEKALAN ATAU TAWARAN UNTUK MEMBEKALKAN BAGI TUJUAN JUALAN ATAU MENJUAL DI PASARAN

NBB REF NO: JBK(S) 602-1/1/41

Objektif Akta Biokeselamatan ialah untuk melindungi kesihatan manusia, tumbuhan dan haiwan, kepelbagaian alam sekitar dan biologi. Di bawah Akta Biokeselamatan, Lembaga Biokeselamatan Kebangsaan (LBK) pada ketika ini sedang membuat penilaian ke atas permohonan untuk mendapatkan kelulusan yang dipohon oleh Du Pont Malaysia Sdn. Bhd. bagi pihak Pioneer Hi-Bred International, Inc.

1. Apakah tujuan permohonan ini?

Aplikasi ini ialah untuk pengimportan DP73496 Canola dan produknya untuk tujuan sebagai makanan, makanan haiwan dan pemprosesan.

2. Apakah tujuan import dan pelepasan?

Tujuan import dan pelepasan ialah untuk membekalkan atau menawarkan untuk menjual atau menjual canola DP73496 dan produknya dalam pasaran, bagi digunakan secara langsung sebagai makanan, makanan haiwan dan untuk pemprosesan. DP73496 tidak bertujuan untuk penanaman di Malaysia.

3. Bagaimanakah Canola DP73496 telah diubah suai?

DP73496 telah dihasilkan oleh Pioneer Hi-Bred International, Inc. (Pioneer, Johnston, IA, USA). DP73496 Canola mempunyai protein GAT4621 yang mempunyai daya rintangan terhadap racun rumpai glyphosate. Protein GAT4621, yang dikod oleh gen *gat4621*, memberi rintangan terhadap perawis aktif glyphosate melalui penukaran glyphosate kepada produk tidak tosiknya iaitu *N*-acetylglyphosate melalui proses *acetylation glyphosate*.

4. Ciri-ciri Canola DP73496

a. Butiran organisma induk

B. napus L. berasal daripada keluarga Brassicaceae, juga dikenali sebagai *mustard family*. Data biology yang sedia ada atas spesies yang tidak diubahsuai, iaitu canola (*Brassica napus* L.), telah pun diterbitkan oleh Australia Office of the Gene Technology Regulator (OGTR, 2011), Canadian Food Inspection Agency (CFIA, 1994), dan oleh Organization for Economic Co-operation and Development (OECD, 1997a; OECD, 2012).

B. napus sebelum ini dianggap tidak sesuai sebagai sumber makanan untuk manusia dan untuk haiwan, oleh sebab biji benihnya dengan semula jadi mengandungi *erucic acid* dan *glucosinolates*, yang ialah toksik kepada manusia dan organisma lain. Akan tetapi, ia banyak digunakan sebagai minyak masak di Asia bagi jangka yang amat panjang (OECD, 1997a). Pada 1970s, program pembinakan intensif telah menghasilkan *varieties* yang kualiti tinggi yang mempunyai tahap *erucic acid* dan *glucosinolates* yang amat rendah. Istilah 'canola' merujuk kepada *variety* *B. napus* yang mencapai tahap spesifik *erucic acid* dan *glucosinolates* (OGTR 2011).

b. Butiran organisma penderma

Bacillus licheniformis*: penderma gen *gat4621

Bacillus licheniformis, sumber gen *gat4621* ialah bakteria *saprophytic* Gram-positif yang ditemui di tanah. Ia banyak digunakan dalam industri detergen untuk produksi sesetengah enzyme (eg, proteases dan amylases) yang mempunyai pelbagai aplikasi di industri fermentasi untuk enzim makanan (e.g., alpha-amylase, cyclodextrin glycosyltransferase, hemicellulase, proteases, and pullulanase; Rey *et al.* (2004)). *B. licheniformis* banyak ditemui di mana-mana tempat, oleh itu haiwan dan manusia banyak terdedah tanpa mana-mana ransangan yang negatif. Semua kultur *B. licheniformis* yang diperolehi daripada American Type Culture Collection (ATCC) dikelas sebagai Biokeselamatan Tahap 1, iaitu tidak mempunyai sejarah mengakibatkan penyakit kepada manusia atau haiwan (US-EPA, 1997). Protein glyphosate N-acetyltransferase (GAT) ialah daripada keluarga GCN-5 yang juga daripada kumpulan N-acetyltransferases (juga dikenali sebagai keluarga GNAT). Keluarga GNAT merupakan keluarga enzim terbesar, dengan jumlah lebih daripada 10000 wakil daripada tumbuhan, haiwan dan mikrob. Protein GAT4621 juga

mempunyai 75-78% ciri-ciri identikal dan 90-91% serupa sampai tahap asid amino dengan 3 enzim GAT asli diperolehi daripada strain 401, B6 dan DS3 *B. licheniformis*.

5. Kaedah Pengubahsuaian

DP73496 canola telah dijana melalui *pengeboman mikroprojektil* dengan fragma *Hind* III/*Not* I-digested PHP28181A (2, 112 bp) daripada plasmid PHP28181. Kaset transformasi di fragma PHP28181A mengandungi gen *gat4621* yang diperolehi daripada gen glyphosate acetyltransferase oleh *Bacillus licheniformis* (Castle *et al.*, 2004; Siehl *et al.*, 2007). Ungkapan gen tersebut adalah dikawal di *promoter region* gen ubiquitin 10 (*UBQ10* promoter region) daripada *Arabidopsis thaliana*, termasuk promoter, 5' *untranslated region* (UTR), dan intron (Norris *et al.*, 1993). *Terminator* untuk gen *gat4621* ialah urutan terminator gen proteinase inhibitor II (*pinII* terminator) daripada *Solanum tuberosum* (An *et al.*, 1989; Keil *et al.*, 1986). Protein GAT4621 yang dikod oleh gen *gat4621*, mendapat rintangan terhadap perawis aktif glyphosate melalui penukaran *glyphosate* kepada bentuk tidak aktifnya yang telah *diacetylated* (Castle *et al.*, 2004). Protein GAT4621 protein terdiri daripada asid amino 147 amino acids dan mempunyai berat molekul kira-kira 17 kDa (Castle *et al.*, 2004; Siehl *et al.*, 2007).

a. Ciri Pengubahsuaian

Pencirian molekul gen canola DP73496 dilakukan menggunakan penjujukan DNA dan analisis bioinformatik. Kajian-kajian ini menunjukkan bahawa gen yang diperkenalkan disepadukan pada satu titik sisipan. Gen yang diperkenalkan di DP73496 menghasilkan protein GAT4621 untuk rintangan racun rumpai *glyphosate*. Protein GAT4621 yang dikod oleh gen *gat4621*, mendapat rintangan melalui penukaran perawis aktif *glyphosate* kepada N-acetylglyphosate bukan *non-phytotoxic* melalui *acetylation glyphosate* tersebut.

b. Keselamatan protein yang dihasilkan

Protein GAT4621 dinilai menggunakan satu siri kajian, termasuk bioinformatik kebolehcernaan *in vitro*, analisis *glycosylation*, ketoksikan protein akut dan analisis *lablity* haba. Hasil daripada kajian-kajian ini menunjukkan bahawa protein tidak berkemungkinan untuk menjadi alergen atau toksin.

Pada masa yang sama, data keselamatan telah diserahkan kepada agensi kawal selia secara global, menghasilkan *authorizations* Canola DP72496 untuk penanaman dan/atau makanan dan makanan haiwan yang digunakan di sembilan buah negara.

6. Risiko kepada Kesehatan Manusia

a. Data Nutrisi

Perbandingan komposisi telah dijalankan antara canola DP73496 yang telah dirawat dengan *glyphosate* (canola DP73496 dirawat *glyphosate*) dan bukan GM isoline control canola (canola kawalan) untuk menentukan sama ada DP74396 yang telah dirawat dengan racun rumpai adalah selamat dan berkhasiat seperti canola jenis yang lain, dan juga sama ada ia boleh digunakan secara bertukar ganti dengan pembandingnya tanpa menjejaskan kesihatan manusia dan haiwan secara negatif. Sebanyak 99 *analytes* dikaji untuk perbandingan komparatif berdasarkan rekomendasi dokumen konsensus OECD atas komposisi konsiderasi untuk jenis canola yang baru (OECD, 2001; OECD, 2011): *proximates*, serat, asid lemak, asid amino, *vitamins*, *minerals*, *glucosinolates*, metabolites sekunder, phytosterols, and anti-nutrien.

Protein GAT4621 ditahui untuk *acetylate certain free amino acids* (L-aspartate, L-glutamate, glycine, L-serine, dan L-threonine) mengakibatkan dengan produksi asid amino *acetylated* *N*-acetylaspartate, *N*-acetylglutamate, *N*-acetylglucine, *N*-acetylserine, and *N*-acetylthreonine (NAA, NAG, NAGly, NAS, and NAT, *respectively*). Berdasarkan aktiviti enzim GAT4621, 5 *acetylated amino acid analytes* dalam biji benih dan sampel *fraction* yang diproses, bersama dengan 26 asid amino bebas dalam sampel biji benih, juga dianalisa dengan 99 *standard compositional analytes*.

Keputusan daripada penilaian komposisi menunjukkan bahawa komposisi nutrisi biji benih yang telah didapati daripada canola DP73496 dirawat *glyphosate* ialah setara dengan canola biasa yang diwakili oleh bukan GM isoline control canola dan bukan GM canola komersial, pengecualian 2 asid amino *acetylated* (NAA dan NAG) yang lebih tinggi dalam canola DP73496 berbanding canola kawalan.

b. Toksikologi

Potensi ketoksikan protein GAT4621 PAT dinilai menggunakan satu siri kajian, termasuk bioinformatik kebolehcernaan *in vitro*, analisis glikosilasi, ketoksikan protein akut dan *heat lability analyses*. Hasil kajian-kajian ini menunjukkan bahawa protein tidak berkemungkinan untuk menjadi toksin dan tidak toksik akut pada tikus.

c. Kealergenikan

Potensi kealergenikan protein GAT4621 dinilai menggunakan satu siri kajian, termasuk bioinformatik kebolehceraan in vitro, analisis glikosilasi dan analisis kelabilan haba. Hasil kajian-kajian ini menunjukkan bahawa protein tidak berkemungkinan untuk menjadi alergen.

7. Penilaian Risiko kepada Alam Sekitar

Tidak berkaitan. Permohonan ini tidak meliputi pengeluaran alam sekitar. Permohonan ini ialah untuk pengimportan canola DP73496 dan produknya bagi digunakan sebagai makanan, makanan haiwan dan pemprosesan

8. Apakah Pelan Tindakan Kecemasan?

Notifikasi ini ialah untuk mendapat kelulusan untuk memasarkan DP73496 yang telah dimodifikasi untuk makanan/makanan haiwan dan/atau pemprosesan di Malaysia. Penggunaan biji benih dan produk canola DP73496 yang lain melalui import, dijangka sama untuk canola yang biasa.

Memandangkan skop permohonan ini tidak meliputi kebenaran untuk penanaman canola DP73496, pendedahan kepada alam sekitar yang sebagai akibat pengimportan canola DP73496 adalah djangka terhad kepada pelepasan yang tidak disengajakan ke alam sekitar melalui tumpahan semasa pengangkutan bijian.

Pelan tindakan untuk potensi pelepasan yang tidak disengajakan ke alam sekitar meliputi siasatan pelbagai pihak terhadap laporan, bersama-sama dengan agensi kebangsaan yang kompeten serta pelaksanaan langkah-langkah *mitigating* yang dipersetujui bersama untuk kes yang disahkan. Pelepasan tidak disengajakan yang tidak mungkin ini boleh dikawal menggunakan langkah-langkah agronomi semasa yang diambil untuk mengawal canola lain yang boleh didapati di pasaran, seperti penggunaan terpilih racun herba (dengan pengecualian bagi glyphosate) dan penghapusan tumbuhan secara manual atau mekanikal.

a. Langkah-langkah Pertolongan Cemas

Tiada langkah-langkah pertolongan cemas khusus diperlukan sebagai tindak balas kepada pendedahan terhadap produk ini.

b. Langkah-langkah Pelepasan Tidak Disengajakan

Permohonan ini ialah untuk pengimportan canola DP73496 dan produknya bagi digunakan sebagai makanan, makanan haiwan dan pemprosesan.

Pelepasan tidak disengajakan ke alam sekitar daripada import canola DP73496 akan terhad kepada tumpahan tidak disengajakan semasa pengangkutan bijian. Canola tidak dijangka mempunyai kadar *survival* yang baik sekiranya diuruskan di luar *managed agricultural environments* (OGTR, 2002). Canola sendiri merupakan pesaing kurang baik dan tidak dianggap sebagai spesies penjajah. Selain sekitar penanamannya diuruskan dengan baik dan rapat, canola akan diganti oleh tumbuhan lain (Salisbury, 2002).

Pelepasan DP73496 ke alam sekitar secara tidak disengajakan yang tidak mungkin ini boleh dikawal menggunakan langkah-langkah agronomi semasa yang diambil untuk mengawal canola lain yang boleh didapati di pasaran, seperti penggunaan terpilih racun rumpai (dengan pengecualian bagi *glyphosate*) dan penghapusan tumbuhan secara manual atau mekanikal.

c. Pengendalian dan Penyimpanan

Berdasarkan pengujian yang rapi dan penilaian-penilaian yang komprehensif, didapati canola DP73496 adalah selamat kepada manusia, haiwan dan organisma bukan sasaran, serta makanan ternak dan bijian canola DP73496 ini adalah selamat dan berkhasiat seperti jenis canola konvensional. Mempertimbangkan perkara ini, syor untuk penyimpanan dan pengendalian canola DP73496 tidak berbeza dengan canola bukan transgenik yang konvensional.

d. Pertimbangan Pelupusan

Berdasarkan pengujian yang rapi dan penilaian-penilaian yang komprehensif, canola DP73496 telah didapati selamat kepada manusia, haiwan dan organisma bukan

sasaran, serta makanan ternak dan bijian canola DP73496 adalah selamat dan berkhasiat seperti jenis canola konvensional. Mempertimbangkan perkara ini, langkah-langkah untuk pelupusan dan rawatan sisa canola DP73496 tidak berbeza dengan canola bukan transgenik yang konvensional.

9. Bagaimanakah saya boleh memberi komen kepada permohonan ini?

Mana-mana orang awam boleh menyerahkan komen atau pertanyaan mereka tentang maklumat yang dimaklumkan secara awam tentang permohonan ini. Sebelum menyerahkan komen atau pertanyaan anda, individu perlu menyemak semula maklumat yang diberikan. Komen dan pertanyaan anda tentang apa-apa kesan/risiko yang mungkin kepada kesihatan dan keselamatan orang ramai dan alam sekitar yang mungkin terdedah kepada pelepasan yang dicadangkan adalah dihargai. Penyerahan komen atau pertanyaan hendaklah disediakan dengan teliti kerana ia akan diberikan penelitian yang sama seperti permohonan oleh LBK. Penyerahan komen dan penjelasan tentang pertanyaan akan menyumbang kepada penilaian LBK. Walaupun jika penyerahan bukan berasaskan sains dan memberi tumpuan kepada budaya atau nilai-nilai lain, ia masih akan dibangunkan dalam bentuk hujah yang berasas. Sila maklum bahawa tempoh perundingan ditutup pada 8 Disember 2017 dan penyerahan bertulis diperlukan selewat-lewatnya pada tarikh tersebut. Sebarang pandangan/komen mesti dialamatkan kepada: Ketua Pengarah

Jabatan Biokeselamatan

Kementerian Sumber Asli dan Alam Sekitar

Aras 1, Podium 2, Wisma Sumber Asli No. 25, Persiaran Perdana, Presint 4, 62574 Putrajaya, MALAYSIA.

E-mel: biosafety@nre.gov.my

Faks: 03-88904935

Sila sertakan nama penuh, alamat dan butir-butir anda dengan submisi anda.

References

- An G, Mitra A, Choi HK, Costa MA, An K, Thornburg RW, Ryan CA (1989) Functional Analysis of the 3' Control Region of the Potato Wound-Inducible Proteinase Inhibitor II Gene. *The Plant Cell* 1: 115-122
- Castle LA, Siehl DL, Gorton R, Patten PA, Chen YH, Bertain S, Cho H-J, Duck N, Wong J, Liu D, Lassner MW (2004) Discovery and Directed Evolution of a Glyphosate Tolerance Gene. *Science* 304: 1151-1154
- CFIA (1994) *The Biology of Zea mays* (L.) (Maize). Canadian Food Inspection Agency, BIO1994-11
- Keil M, Sanchez-Serrano J, Schell J, Willmitzer L (1986) Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Nucleic Acids Research* 14: 5641-5650
- Norris SR, Meyer SE, Callis J (1993) The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology* 21: 895-906
- OECD (1997a) Consensus Document on the Biology of *Brassica napus* L. (Oilseed Rape). Organisation for Economic Co-Operation and Development, Paris, OECD/GD(97)63
- OECD (2001) Consensus Document on Key Nutrients and Key Toxicants in Low Erucic Acid Rapeseed (Canola). Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(2001)13
- OECD (2011) Revised Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Low Erucic Acid Rapeseed (Canola): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Toxicants. Organisation for Economic Co-operation and Development, ENV/JM/MONO(2011)55

OECD (2012) Consensus Document on the Biology of the Brassica Crops (Brassica spp.). Organisation for Economic Cooperation and Development, ENV/JM/MONO(2012)41

OGTR (2002) The Biology and ecology of canola. Office of the Gene Technology Regulator, [http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/canola-3/\\$FILE/brassica.pdf](http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/canola-3/$FILE/brassica.pdf)

OGTR (2011) The Biology of *Brassica napus* L. (canola). Office of the Gene Technology Regulator, [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/canola-3/\\$FILE/BiologyCanola2011.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/canola-3/$FILE/BiologyCanola2011.pdf)

Rey M, Ramaiya P, Nelson B, Brody-Karpin S, Zaretsky E, Tang M, de Leon A, Xiang H, Gusti V, Clausen IG, Olsen P, Rasmussen M, Andersen J, Jørgensen P, Larsen T, Sorokin A, Bolotin A, Lapidus A, Galleron N, Ehrlich SD, Berka R (2004) Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species. *Genome Biology* 5: R77

Salisbury P (2002) Genetically Modified Canola in Australia: Agronomic and Environmental Considerations. Australian Oilseeds Federation, Wilberforce, N.S.W., 107 pp

Siehl DL, Castle LA, Gorton R, Keenan RJ (2007) The Molecular Basis of Glyphosate Resistance by an Optimized Microbial Acetyltransferase. *Journal of Biological Chemistry* 282: 11446-11455

US-EPA (1997) *Bacillus Licheniformis* Final Risk Assessment. United States Environmental Protection Agency, http://epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra005.htm