

**APLICACIÓN ANTE EL COMITÉ TÉCNICO NACIONAL DE BIOSEGURIDAD DE OVM DE USO EN SALUD Y ALIMENTACIÓN HUMANA EXCLUSIVAMENTE (CTNSalud) PARA AUTORIZACIÓN DEL EVENTO DE TRANSFORMACIÓN 3272 X BT11 X MIR162 X MZIR098 X DP4114 X NK603**

**1. INFORMACIÓN GENERAL**

**1.1. INTERESADO / SOLICITANTE**

|                              | No. RADICADO                                       | FECHA (dd/mm/aa)   |                                                                |
|------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------|
| COMPañIA SOLICITANTE         | SYNGENTA S.A                                       |                    |                                                                |
| REPRESENTANTE LEGAL          | CATALINA SANTANA                                   |                    |                                                                |
| DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA | Calle 116 # 7-15, Oficina 601B<br>Edificio CUSEZAR | CIUDAD             | Bogotá                                                         |
| TELÉFONO                     | 6538777                                            | CORREO ELECTRÓNICO | Javier.Castellanos@syngenta.com<br>julieta.alonso@syngenta.com |

**1.2. DATOS DE LA SOLICITUD**

|                         |                                                                                                   |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TITULO                  | RADICACIÓN DE INFORMACIÓN DE LA TECNOLOGÍA EVENTO 3272 X BT11 X MIR162 X MZIR098 X DP4114 X NK603 |
| ALCANCE DE LA SOLICITUD | ALIMENTO O MATERIA PRIMA PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO                      |
| NOMBRE DEL EVENTO       | 3272 X BT11 X MIR162 X MZIR098 X DP4114 X NK603                                                   |
| IDENTIFICADOR ÚNICO     | SYN-E3272-5 X SYN-BT011-1 X SYN-IR162-4 X SYN-00098-3 X DP-004114-3 X MON-00603-6                 |

**2. INFORMACIÓN DE LA PLANTA RECEPTORA**

|                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| NOMBRE CIENTÍFICO         | <i>Zea mays L</i> |
| NOMBRE COMÚN              | Maíz              |
| FAMILIA TAXONÓMICA        | Poaceae           |
| VARIEDAD, LINEA, CULTIVAR | -                 |

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HISTORIA DE USO | Usualmente, miles de productos alimentarios para pienso e industriales, dependen de ingredientes basados en el maíz. El maíz y sus productos procesados no plantean un riesgo para la salud humana, para los animales domésticos o para las especies salvajes. El maíz ha sido utilizado históricamente por los pueblos indígenas del Hemisferio occidental. Actualmente, el maíz se utiliza como elemento de alimentación básico para personas de todo el mundo, sobre todo en áreas de agricultura de subsistencia. El maíz no tiene ninguna patogenicidad, toxicidad o alergenidad conocidas, puesto que más de 500 Años de historia documentada y miles de años de uso demuestran que es un alimento de uso seguro para los seres humanos. |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### 3. DOCUMENTOS SUMINISTRADOS POR EL SOLICITANTE PARA LLEVAR A CABO EL ANALISIS DE LA EVALUACION DEL RIESGO PRESENTADA

|                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DESCRIPCIÓN GENERAL DEL EVENTO DE TRANSFORMACION | <p>La línea de este maíz híbrido 3272 X BT11 X MIR162 X MZIR098 X DP4114 X NK603 se logró por cruzamiento convencional de líneas portadoras de los eventos 3272, BT11, MIR162, MZIR098 x DP4114 y NK603.</p> <p>Los métodos de transformación utilizados en los eventos individuales fueron:</p> <p><b>Evento 3272.</b> La transformación del maíz 3272 que expresa la proteína AMY797E, fue obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz de Syngenta mediada por transformación de <i>Agrobacterium</i>.</p> <p>Gen amy797E</p> <p>El gen amy797E, es un gen quimérico derivado de las secuencias de 3 genes de alfa-amilasa, originados de tres organismos hipertermofílicos del orden archaea Thermococcales. Este gen alfa-amilasa quimérico fue ensamblado de las secuencias parentales GeneReassembly™ technology (Diversa Corporation, San Diego, CA) y fue seleccionado por las propiedades de termoestabilidad de la proteína amilasa, que se necesitan sean codificadas, pues son necesarias durante la etapa de la licuefacción del almidón, en el proceso del maíz. La secuencia de la enzima alfa-amilasa fue optimizada en el uso de codones para su expresión en maíz. Este gen produce la proteína termoestable alfa-amilasa AMY797E, que es eficiente en la hidrólisis del almidón bajo altas temperaturas usadas en el proceso del maíz.</p> <p><b>Evento Bt11.</b> El maíz Bt11 fue desarrollado a través de transferencia directa de la construcción genética a protoplastos de línea H8540 y regeneración en medio selectivo. Individuos de la línea portadora del evento seleccionado fueron cruzados y retrocruzados con líneas élite de maíz corporativas para asegurar su presencia en las líneas élite.</p> <p>-Gen cry1Ab</p> <p>El producto del gen cry1Ab es una forma truncada de una proteína <math>\delta</math>-endotoxina. La proteína Cry1Ab es cortada proteolíticamente en el intestino alcalino de los insectos Lepidópteros resultando en una forma insecticida activa. La proteína insecticida activa interactúa con una molécula receptora presente solamente en las células del epitelio del intestino medio de los insectos susceptibles, provocando poros</p> |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>en las membranas de las células. Como resultado, el balance osmótico celular es perturbado, las células se hinchan y sufren lisis. Las larvas de los insectos susceptibles cesan de comer y mueren.</p> <p><i>-Gen pat</i></p> <p>El gen pat codifica para la enzima fosfotricina-N-acetil transferasa (PAT), aislado del microorganismo del suelo <i>Streptomyces viridochromogenes</i> cepa Tu494 (Strauch et al., 1988). La enzima PAT ha sido usada como un marcador de selección permitiendo la identificación de células vegetales transformadas así como la fuente de tolerancia al i.a. glufosinato de amonio (o fosfotricina), ingrediente activo de herbicidas como Basta®, Liberty® o Finale®. El glufosinato de amonio actúa inhibiendo la enzima vegetal glutamina sintasa, una proteína encargada de detoxificar el amonio, mediante su incorporación al aminoácido glutamina. La inhibición de esta enzima conduce a la acumulación de amonio en los tejidos vegetales y causa la muerte de los mismos. La enzima PAT cataliza la acetilación del i.a. glufosinato de amonio, convirtiéndolo en un compuesto inactivo, detoxificando los tejidos vegetales del mismo.</p> <p><b>Evento MIR162.</b> El maíz MIR162 fue producido por medio la transformación genética vía <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Negrotto et al., 2000; Hoekema et al., 1983), usando embriones inmaduros de <i>Zea mays</i>, línea NP2500xNP2499. Usando este método, elementos genéticos dentro de los extremos izquierdo y derecho del T-DNA del plásmido de transformación pNOV1300 son eficientemente transferidos e integrados dentro del genoma de la célula de la planta, mientras que los elementos externos a estos extremos generalmente no son transferidos.</p> <p><i>-Gen vip3Aa20</i></p> <p>Codifica para la proteína vegetativa insecticida Vip3Aa20, aislado de <i>Bacillus thuringiensis</i>, cepa AB88, de 89kD de peso, que muestra actividad contra ciertos insectos del orden Lepidóptera. Las proteínas Vip3Aa comparten algunos pasos en el modo de acción con las <math>\delta</math>-endotoxinas del Cry1Ab, sin embargo utilizan objetivos moleculares diferentes y forman canales de iones diferentes comparados con el gen Cry1Ab.</p> <p><i>-Gen pmi</i></p> <p>Codifica la enzima fosfomanosa isomerasa (PMI) de <i>E. coli</i> (cepa K-12), que permite que las células vegetales portadoras del gen pmi utilicen manosa como fuente de carbono. Este gen actúa como marcador de selección durante el proceso de obtención de plantas genéticamente modificadas.</p> <p><b>Evento MZIR098:</b> La transformación del maíz de Syngenta Evento MZIR098 que expresa las proteínas ecry3.1Ab, mcr3A y pat-08, fué obtenida usando embriones inmaduros de maíz derivados de una línea de maíz endogámica NP2222 de Syngenta mediada por transformación de <i>Agrobacterium</i>, como lo describen Negrotto et al. (2000).</p> <p>El maíz MZIR098 posee en un mismo inserto y locus del genoma los genes ecry3.1Ab, mcr3A y pat-08 que codifican para las proteínas ecry3.1Ab, mcr3A y PAT que proporciona modos duales de acción para el control de ciertos coleópteros comedores de raíz del maíz (<i>Diabrotica</i> spp.) y le confiere tolerancia al glufosinato de amonio en productos herbicidas.</p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             | <p><b>Evento DP4114:</b> Las plantas de maíz derivadas del evento DP4114 contienen los transgenes cry34Ab1, cry35Ab1 y cry1F que codifican las proteínas insecticidas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 y Cry1F, respectivamente. Las proteínas Cry34Ab1 y Cry35Ab1 son activas contra determinadas plagas de insectos coleópteros. La proteína Cry1F es activa contra determinadas plagas de insectos lepidópteros. El maíz DP4114 proporciona tolerancia al glufosinato de amonio mediante la expresión de la proteína PAT.</p> <p>La información referente a este evento es propiedad de Agro Corteva Colombia S.A, compañía la cual nos ha autorizado citar la información para lograr la aprobación de este evento apilado que contiene el evento DP4114 de su propiedad.</p> <p><b>Evento NK603.</b> Las plantas de maíz derivadas del evento NK603 contienen el transgén cp4 epsps. El transgén cp4 epsps codifica la proteína 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) derivada de Agrobacterium sp. cepa CP4. El CP4 EPSPS confiere tolerancia al glifosato.</p> <p>La información referente al evento NK603 es propiedad de Bayer Crop Science, compañía la cual nos ha autorizado citar la información para lograr la aprobación de este evento apilado.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <p><b>ALERGENICIDAD</b></p> | <p><b>Proteína <math>\alpha</math>-amilasa</b></p> <p>Los resultados de la búsqueda de coincidencia exacta muestran dos alineaciones de ocho o más aminoácidos contiguos entre la secuencia de aminoácidos AMY797E y secuencias idénticas derivadas del precursor Cr-PI (Allergen Per a 3) y su homólogo Per a 3, ambos alérgenos conocidos de Periplaneta americana (Cucaracha americana). Estas observaciones son consistentes con las mismas observaciones identificadas e informadas en evaluaciones anteriores.</p> <p>Los resultados del cribado de sueros que contienen IgE de cinco individuos que habían demostrado reactividad específica a Per a 3.01 recombinante purificado no demostraron reactividad cruzada entre AMY797E y la proteína Per a 3.01, e indicaron que la IgE de suero de pacientes alérgicos no reconocía ninguna porción de AMY797E como un epítipo alérgico. Además, los análisis de epítopos de Per a 3.01 y las comparaciones de secuencias demostraron que la región de identidad compartida entre AMY797E y Per a 3.01 no se superponen con los epítopos de unión a IgE identificados de Per a 3.01. Dado que la secuencia del precursor de Cr-PI (Allergen Per a 3) es 94% idéntica a Per a 3, se esperaría que el suero usado en el estudio serológico se una a ambas proteínas alérgicas de P. americana. Por lo tanto, los resultados del estudio de serología existente respaldan la falta de reactividad cruzada de ambas proteínas con AMY797E.</p> <p>Juntos, estos resultados apoyan la conclusión de que AMY797E no comparte ninguna similitud de secuencia de aminoácidos biológicamente relevante con alérgenos proteicos conocidos o supuestos.</p> <p><b>Proteínas Cry1Ab y PAT</b></p> <p>En más de tres o cuatro décadas de aplicaciones foliares de preparaciones comerciales de <i>B. thuringiensis</i> como insecticida (p. ej. Dipel®, Javelin®), no se han reportado reacciones alérgicas a la proteína por ingestión oral, dérmica o inhalación. Esta proteína es muy susceptible a degradación por la digestión en el tracto digestivo de los mamíferos. Datos de experimentos que simulan la digestión, muestran una vida</p> |

media de estas proteínas en el sistema gástrico de 30 segundos. Por otro lado, la mayoría de las proteínas alergénicas son glicosiladas. La proteína Cry1Ab, extraída de plantas transgénicas como Bt11, no es glicosilada, pues no pasa por el retículo endoplásmico ni los cuerpos de Golgi (donde se glicosilan las proteínas) debido a que no tiene las señales necesarias para entrar en estos compartimientos celulares. Se han realizados estudios que comprueban que la proteína no es glicosilada (Meeusen & Mettler, 1994).

La mayoría de los alérgenos pueden presentarse como compuestos proteicos abundantes en ciertos alimentos (leche, soya, maní, etc.). La proteína Cry1Ab se presenta en niveles muy bajos, menos del 0,00047% del peso fresco del grano de maíz, y menos del 0,0094% del total de la proteína del grano. La secuencia de la proteína comparada con secuencias de alérgenos conocidos no muestra ninguna similitud al nivel de péptidos inmunológicamente importantes.

### Proteínas Vip3Aa20 y PMI

Para determinar si la secuencia de aminoácidos de Vip3Aa20 mostraba una similitud biológicamente relevante con las secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos o supuestos, se realizaron dos búsquedas diferentes en la base de datos Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE), versión 2019, que contiene 2081 secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos y supuestos. Se utilizó una búsqueda de secuencia de longitud completa utilizando FASTA y una búsqueda separada de coincidencias exactas de ocho o más aminoácidos contiguos para comparar Vip3Aa20 con cada una de las secuencias de alérgenos conocidos o supuestos. En la búsqueda FASTA, no se observó una similitud de secuencia superior al 35% de identidad compartida sobre 80 o más aminoácidos entre la secuencia de aminoácidos de Vip3Aa20 y cualquier entrada en la base de datos COMPARE. Los resultados de la búsqueda de coincidencia exacta no muestran alineaciones de ocho o más aminoácidos contiguos entre la secuencia de aminoácidos de Vip3Aa20 y las secuencias en la base de datos COMPARE.

Juntos, estos resultados apoyan la conclusión de que Vip3Aa20 no comparte ninguna similitud de secuencia de aminoácidos biológicamente relevante con alérgenos proteicos conocidos o supuestos.

Para determinar si la secuencia de aminoácidos del PMI mostraba o no una similitud biológicamente relevante con las secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos o supuestos, se realizaron dos búsquedas diferentes en la base de datos Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE), versión 2019, que contiene 2081 secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos y supuestos.

Se utilizó una búsqueda de secuencia completa usando FASTA y una búsqueda separada de coincidencias exactas de ocho o más aminoácidos contiguos para comparar PMI con cada una de las secuencias de alérgenos supuestos o conocidos. En la búsqueda de FASTA, no se observó una similitud de secuencia superior al 35% de identidad compartida sobre 80 o más aminoácidos entre la secuencia de aminoácidos de PMI y cualquier entrada en la base de datos COMPARE.

En la búsqueda de coincidencia de ocho aminoácidos, se observó una única coincidencia entre PMI y  $\alpha$ -parvalbúmina de la especie Rana CH2001. Esta alineación se ha informado previamente en evaluaciones de la similitud de secuencia de PMI con alérgenos conocidos y supuestos (informado por primera vez en Rabe 2004). Investigaciones adicionales mediante el cribado de IgE sérica no demostraron reactividad

cruzada entre PMI y la proteína  $\alpha$ -parvalbúmina utilizando suero de un solo individuo que se sabe que ha demostrado alergia mediada por IgE a esta  $\alpha$ -parvalbúmina específica de la especie Rana CH2001.

Los resultados indicaron que la IgE sérica del paciente alérgico no reconoce ninguna porción de PMI como un epítipo alérgico. El presente estudio bioinformático reevaluó la similitud de PMI con alérgenos conocidos utilizando la base de datos de alérgenos COMPARE 2019.

Juntos, estos resultados apoyan la conclusión de que PMI no comparte ninguna similitud de secuencia de aminoácidos biológicamente relevante con alérgenos proteicos conocidos o supuestos.

### Proteínas mCry3A y PMI

Para determinar si la secuencia de aminoácidos de mCry3A mostraba una similitud biológicamente relevante con las secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos o supuestos, se realizaron dos búsquedas diferentes en la base de datos Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE), versión 2017, que contiene 1970 secuencias de aminoácidos de conocidos y supuestos alérgenos. alérgenos putativos. Los resultados de la búsqueda de coincidencia exacta no muestran alineaciones de ocho o más aminoácidos contiguos entre la secuencia de aminoácidos de mCry3A y las secuencias en la base de datos COMPARE. Juntos, estos resultados apoyan la conclusión de que mCry3A no comparte ninguna similitud de secuencia de aminoácidos biológicamente relevante con alérgenos proteicos conocidos o supuestos.

Para determinar si la secuencia de aminoácidos de MIR604 PMI mostraba una similitud biológicamente relevante con las secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos o supuestos, se realizaron dos búsquedas diferentes en la base de datos Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE), versión 2017, que contiene 1970 secuencias de aminoácidos de alérgenos conocidos y alérgenos putativos. Se usó una búsqueda de secuencia completa usando FASTA y una búsqueda separada de coincidencias exactas de ocho o más aminoácidos contiguos para comparar el PMI de MIR604 con cada una de las secuencias de alérgenos supuestos o conocidos. En la búsqueda FASTA, no se observó similitud de secuencia > 35% de identidad compartida sobre 80 o más aminoácidos entre la secuencia de aminoácidos de MIR604 PMI y cualquier entrada en la base de datos COMPARE.

Los resultados de os estudios apoyan la conclusión de que MIR604 PMI no comparte ninguna similitud de secuencia de aminoácidos biológicamente relevante con alérgenos proteicos conocidos o supuestos.

### Proteínas eCry3.1Ab

La proteína eCry3.1Ab es una proteína sintética (quimera) que contiene regiones de las proteínas mCry3A y Cry1Ab. La fuente de las proteínas nativas Cry3A y Cry1Ab es *Bacillus thuringiensis*. Las bacterias en general no tienen historial de alergenidad (Taylor and Hefle, 2001; FAO/WHO 2001). Las bacterias Bt son un componente común e inocuo de la microflora del suelo y han sido aisladas de la mayoría de los hábitats terrestres, varias subespecies han sido descritas; muchas han sido ampliamente estudiadas y usadas en preparaciones de insecticidas. A pesar de un amplio uso de insecticidas Bt en cultivos de consumo, no se han presentado reportes de alergias por consumo oral a estas preparaciones. En el estudio de homología de secuencias para alergenidad no se observaron similitudes de secuencias significativas, entre la secuencia de amino ácidos de la proteína eCry3.1Ab y las proteínas registradas en la base de datos

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>FARRP AllergenOnline database en la búsqueda full-length FASTA (mayor del 35% de identidad compartida sobre 80 amino ácidos).</p> <p><b>Proteína mCry3A</b></p> <p>Mientras que virtualmente todos los alérgenos de los alimentos son proteínas, sólo unas pocas de las muchas proteínas que se encuentran en la comida son alergénicas. Aunque la probabilidad que una nueva proteína específica resulte un alérgeno alimentario es pequeña, se llevó a cabo una rigurosa evaluación del potencial de alergenidad de mCry3A utilizando un enfoque de "peso de la evidencia". El enfoque de "peso de la evidencia" se adoptó porque no existe una única prueba definitiva para predecir la respuesta alérgica de los alimentos en humanos. Más aún, el enfoque de "peso de la evidencia" es consistente con las recomendaciones de la Comisión del Codex Alimentarius, una organización conjunta de la FAO/WHO que establece los lineamientos, estándares y códigos de prácticas internacionales (CODEX, 2003). Se consideraron varios tipos de datos e información en la evaluación del "peso de la evidencia" que incluyeron:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) el origen de la proteína introducida.</li> <li>(2) una evaluación sobre si la proteína introducida comparte una homología de secuencia aminoacídica significativa con proteínas alergénicas conocidas.</li> <li>(3) la susceptibilidad de la proteína a la digestión en condiciones gástricas de mamífero simuladas.</li> <li>(4) la susceptibilidad de la proteína a la inactivación por calor</li> </ol> <p>de 2012 emitida por el ICA.</p> <p><b>Proteína PAT</b></p> <p>En más de tres o cuatro décadas de aplicaciones foliares de preparaciones comerciales de <i>B. thuringiensis</i> como insecticida (p. ej. Dipel®, Javelin®), no se han reportado reacciones alérgicas a la proteína por ingestión oral, dérmica o inhalación. Esta proteína es muy susceptible a degradación por la digestión en el tracto digestivo de los mamíferos., igualmente la mayoría de los alérgenos pueden presentarse como compuestos proteicos abundantes en ciertos alimentos (leche, soya, maní, etc.). La proteína PAT presente en el evento MZIR098 es idéntica a la presente en el evento BT11.</p> <p>Para evaluar el potencial alergénico de la proteína fosfinotricina-N-acetil transferasa (PAT), se llevó a cabo una búsqueda en bases de datos y el resultado demostró que las "acetil-transferasas" como grupo no presentan alergenidad reportada para mamíferos. La proteína PAT es lábil al calor, lábil al medio ácido y altamente digerible. No se pudo establecer la generación de fragmentos de bajo peso molecular (peso molecular &lt;6.000) durante los ensayos de digestibilidad in vitro. Sin embargo, estos posibles fragmentos se encuentran por fuera del rango de peso molecular de la mayoría de los alérgenos alimentarios. Una respuesta alérgica requiere una unión entre el alérgeno y las moléculas de anticuerpos IgE de la superficie de las células mastocito o basófilos. Las proteínas pequeñas suelen ser menos inmunogénicas y el peso molecular de 10.000 probablemente representa el límite inferior necesario para estimular una respuesta inmunogénica. Estos datos sugieren que la proteína PAT será digerida como proteína dietaria</p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | <p>convencional en el ambiente gástrico común de mamíferos y no debería presentar ningún riesgo dietario para los humanos.</p> <p>El Consensus Document of General Information Concerning the Genes and Their Enzymes that Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicide de la OECD (OECD, 1999) establece que: “la proteína PAT no es un alérgeno conocido”. Esta declaración está basada en la caracterización de la proteína, como así también en la búsqueda de homología en bases de datos (base de datos de ADN del GenBank, FASTADB, entre otros).</p> <p><b>Eventos DP4114 y NK603</b></p> <p>La información referente a las proteínas de nueva expresión de los eventos DP4114 y NK603 es propiedad de Agro Corteva Colombia S.A y Bayer Crop Science, respectivamente, compañías que nos autorizaron a citar la información necesaria para la evaluación del riesgo del evento acumulado objeto de la presente solicitud.</p> <p>El evento DP4114 ya recibió por parte de los CTNs en Colombia recomendaciones positivas para su aprobación y es un evento que ya es comercializado en el territorio Colombiano. Cuenta con aprobación del ICA para Feed en 2016 y aprobación INVIMA para Food en 2021.</p> <p>El evento NK603 tiene autorización para consumo humano de acuerdo con el Acta SEABA 2004 y del ICA para Feed en 2006..</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>TOXICIDAD</b> | <p><b>Proteína <math>\alpha</math>-amilasa</b></p> <p>La secuencia de aminoácidos de la proteína AMY797E se comparó con las de dos bases de datos utilizando el programa Basic Local Alignment Search Tool for Proteins (BLASTP). Las comparaciones se utilizaron para determinar si la secuencia de aminoácidos de la proteína AMY797E mostraba una similitud significativa con toxinas conocidas y supuestas. La biblioteca compilada de todas las secuencias de proteínas en la base de datos de proteínas Entrez® del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) se utilizó para identificar proteínas relevantes con una similitud de secuencia significativa con AMY797E. Las proteínas de NCBI con similitud que excedieron los criterios de inclusión se evaluaron más a fondo para determinar si AMY797E posee el potencial de toxicidad. También se usó una base de datos separada de secuencias de toxinas en una comparación de alineación usando BLASTP para identificar más claramente todas las toxinas conocidas que comparten una similitud significativa con AMY797E.</p> <p>Los resultados muestran que 1000 de las 1000 alineaciones más similares de NCBI están por debajo del valor E del umbral de detección de <math>1 \times 10^{-5}</math>. De estas alineaciones, 932 se clasificaron como "amilasas / Carb metab", la misma clase de proteína a la que pertenece AMY797E. Una evaluación de estos alineamientos demostró que ninguno de ellos indicó el potencial de que AMY797E actúe como una toxina. Se observaron 5 alineamientos cuando se comparó AMY797E con la base de datos de toxinas de Syngenta; ninguno fue significativo según la medida de similitud del valor E utilizando un umbral de <math>1 \times 10^{-5}</math>. Los resultados de las comparaciones de ambas bases de datos apoyan la conclusión de que la</p> |

secuencia AMY797E no muestra similitudes biológicamente relevantes con ninguna toxina conocida o supuesta.

#### Proteínas Cry1Ab y PAT

Estudios de toxicidad con la proteína Cry1Ab en ratones, con la versión truncada de la  $\beta$ -endotoxina, purificada en E. coli, mostró que el LD50 es superior a 4000 mg/kg. La misma concentración de proteína (4000 mg/kg) se determinó como el nivel al cual no se observa efecto. La secuencia de la  $\beta$ -endotoxina no se parece a otras proteínas que tienen actividad biológica. Estudios de la digestibilidad in vitro demostraron una rápida degradación de la proteína dentro del fluido gástrico humano simulado.

Además, Se realizó una comparación de la proteína Cry1Ab con las secuencias en dos bases de datos utilizando el programa de búsqueda de alineación local básica para proteínas (BLASTP). La biblioteca compilada de todas las secuencias de proteínas en la base de datos de proteínas Entrez® del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) se utilizó para identificar proteínas relevantes con una similitud de secuencia significativa con Cry1Ab.

Los resultados de las comparaciones de ambas bases de datos confirman que Cry1Ab no es tóxico para los mamíferos, ni que Cry1Ab comparte una similitud de secuencia significativa con otras toxinas proteicas de mamíferos conocidas o supuestas.

#### Proteínas Vip3Aa20 y PMI

Se realizó una comparación de la proteína Vip3Aa20 con las secuencias en dos bases de datos utilizando el programa de búsqueda de alineamiento local básica para proteínas (BLASTP). Las comparaciones se utilizaron para determinar si la secuencia de aminoácidos de la proteína Vip3Aa20 mostraba una similitud significativa con las toxinas conocidas y supuestas. Se utilizó la biblioteca compilada de todas las secuencias de proteínas en la base de datos de proteínas Entrez® del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para identificar proteínas relevantes con una similitud de secuencia significativa con Vip3Aa20.

Las proteínas de NCBI con similitud que excedieron los criterios de inclusión se evaluaron más a fondo para determinar si Vip3Aa20 posee el potencial de toxicidad en mamíferos. También se utilizó una base de datos separada de secuencias de toxinas en una comparación de alineamiento usando BLASTP para identificar más claramente todas las toxinas conocidas que comparten similitud significativa con Vip3Aa20.

Los resultados muestran que hubo 195 alineaciones notificables de NCBI, todas las cuales presentaron valores E por debajo del umbral de detección valor E de  $1 \times 10^{-5}$ . De estos alineamientos, 149 se clasificaron como "VIP", la misma clase de proteína a la que pertenece Vip3Aa20. Una evaluación de estos alineamientos demostró que ninguno de ellos indicó el potencial de que Vip3Aa20 actúe como una toxina de mamífero. Se observaron tres alineamientos cuando se comparó Vip3Aa20 con la base de datos de toxinas Syngenta; ninguno fue significativo según la medida de similitud del valor E utilizando un umbral de  $1 \times 10^{-5}$ .

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>Los resultados de ambas comparaciones de bases de datos confirman que Vip3Aa20 no es una toxina de mamíferos, ni Vip3Aa20 comparte una similitud de secuencia significativa con otras toxinas de proteínas de mamíferos conocidas o putativas.</p> <p>Se realizó también una comparación de la proteína PMI con las secuencias en dos bases de datos utilizando el programa Basic Local Alignment Search Tool for Proteins (BLASTP). Las comparaciones se utilizaron para determinar si el aminoácido de la proteína fosfomanosa isomerasa (PMI) mostraba similitud significativa con toxinas conocidas y supuestas. Se utilizó la biblioteca compilada de todas las secuencias de proteínas en la base de datos de proteínas Entrez® del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para identificar proteínas relevantes con una similitud de secuencia significativa con PMI.</p> <p>Las proteínas de NCBI con similitud que excedieron los criterios de inclusión se evaluaron más a fondo para determinar si PMI posee el potencial de toxicidad. También se usó una base de datos separada de secuencias de toxinas en una comparación de alineación usando BLASTP para identificar más claramente todas las toxinas conocidas que comparten una similitud significativa con PMI.</p> <p>Los resultados muestran que 1000 de las 1000 alineamientos más similares de NCBI están por debajo del valor E del umbral de detección de <math>1 \times 10^{-5}</math>. De estas alineaciones, 1000 se clasificaron como "PMI o relacionadas", la misma clase de proteína a la que pertenece PMI. Una evaluación de estos alineamientos demostró que ninguno de ellos indicó el potencial de que PMI actúe como una toxina. Se observaron 5 alineamientos cuando se comparó PMI con la base de datos de toxinas Syngenta; ninguno fue significativo según la medida de similitud del valor E utilizando un umbral de <math>1 \times 10^{-5}</math>.</p> <p>Los resultados de ambas comparaciones de bases de datos confirman que PMI no es una proteína tóxica, ni PMI comparte similitud de secuencia significativa con otras toxinas proteicas conocidas o supuestas.</p> <p><b>Proteína eCry3.1Ab</b></p> <p>No hay receptores para las delta endotoxinas de la proteína de las subespecies de <i>B. thuringiensis</i> en la superficie de las células intestinales de los mamíferos, por tanto los humanos no son susceptibles a dichas proteínas (Noteborn, 1995). Las proteínas por lo general no son tóxicas, con contadas excepciones. Las que lo son, están bien caracterizadas. No hay proteínas conocidas que exhiban toxicidad crónica como mutagénesis o carcinogénesis. Las proteínas por lo general son degradadas por la digestión en el tracto alimentario de los mamíferos. En el estudio de homología de secuencias para toxinas se encontraron 550 secuencias con similitudes significativas a la secuencia de aminoácidos de la proteína eCry3.1Ab. Estas secuencias se agruparon en categorías, ninguno de los 550 alineamientos descritos en este análisis son conocidos como toxinas a humanos y mamíferos.</p> <p>De los 550 alineamientos, 505 fueron proteínas de 15 especies identificadas como delta-toxinas conocidas o putativas (también conocidas como proteínas Cry o cristalinas); incluidas en este conteo se encontraron alineamientos a constructos sintéticos de proteínas Cry. Los E-values para los alineamientos entre estas secuencias y la proteína eCry3.1Ab están entre el rango de 0 a 0.0355. Los alineamientos adicionales de 26 proteínas de 6 especies fueron identificados como hipotéticos o proteínas desconocidas de función no especificada. Los E-values para estos alineamientos están en el rango de <math>2.8 \times 10^{-15}</math> a 0.0605. Ninguna de estas proteínas son toxinas conocidas o putativas.</p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Adicionalmente se identificaron 16 alineamientos con proteínas parasporinas de *Bacillus thuringiensis* y proteínas parasporinas relacionadas que son no-hemolíticas pero son capaces de eliminar preferencialmente células de cáncer (Yamashita et al, 2005). Las parasporinas no han mostrado actividad insecticida a la fecha, se ha demostrado que tienen actividad citocida in vitro en células sensibles derivados de líneas celulares cancerígenas, pero poca o nula actividad citocida a otras líneas celulares humanas o mamíferas normales. No hay reportes publicados de toxicidad de las proteínas parasporinas in vivo a humanos o mamíferos. Los E-values para estos alineamientos están en el rango de  $1.1 \times 10^{-54}$  a  $5.1 \times 10^{-9}$

Dos alineamientos adicionales a dos proteínas de dos especies fueron identificadas como proteínas de señalización de vías de translocación de doble arginina. Estos E-values se encuentran en el rango de 0.002 a 0.0464. Un alineamiento adicional a una proteína de *B. thuringiensis* denominada fructosa-6-fosfato amidotransferasa; la proteína amidotransferasa se alinea con la eCry3.1Ab en una región que se describe como un dominio de delta endotoxina. El E-value para este alineamiento fue de  $1.12 \times 10^{-72}$ .

Estos resultados apoyan la conclusión de que la secuencia de aminoácidos de la proteína eCry3.1Ab no muestra similitudes significativas con toxinas conocidas o putativas que afecten la salud humana o de mamíferos.

#### Proteína mCry3A

Se evaluó la toxicidad potencial de la proteína mCry3A realizando una extensiva búsqueda bioinformática para determinar si la secuencia de aminoácidos de dicha proteína tiene homología significativa con secuencias de proteínas identificadas como toxinas, y llevando a cabo un estudio de toxicidad oral aguda en ratones. Los detalles de estas evaluaciones se resumen a continuación: mCry3A no comparte una homología significativa con toxinas conocidas (distintas a las toxinas proteicas Cry) y no produjo efectos adversos relacionados con el tratamiento cuando se administró a ratones en altas dosis. mCry3A es considerada no tóxica.

#### Proteína PAT

El gen pat codifica la enzima fosfotricin-N-acetil transferasa. Las acetil transferasas son una clase de enzimas comunes tanto en células bacteriales como de plantas y animales. La acetil transferasa juega un papel central en el metabolismo de las grasas. Como virtualmente todas las células contienen acetil transferasas, son un componente natural de la dieta humana. No hay reportes de toxicidad o alergenicidad asociada con acetil transferasas en la literatura. Estas enzimas no se parecen en su secuencia a toxinas proteicas conocidas como los venenos de serpientes, endotoxinas bacterianas o alérgenos. Además, la proteína PAT es rápidamente inactivada y digerida cuando es sometida a pH ácido. Estas condiciones se asemejan a las del sistema digestivo de mamíferos, lo que confirma que no son tóxicas en ratones.

#### Eventos DP4114 y NK603

La información referente a las proteínas de nueva expresión de los eventos DP4114 y NK603 es propiedad de Agro Corteva Colombia S.A y Bayer Crop Science, respectivamente, compañías que nos autorizaron a

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                     | <p>citar la información necesaria para la evaluación del riesgo del evento acumulado objeto de la presente solicitud.</p> <p>El evento DP4114 ya recibió por parte de los CTNs en Colombia recomendaciones positivas para su aprobación y es un evento que ya es comercializado en el territorio Colombiano. Cuenta con aprobación del ICA para Feed en 2016 y aprobación INVIMA para Food en 2021.</p> <p>El evento NK603 tiene autorización para consumo humano de acuerdo con el Acta SEABA 2004 y del ICA para Feed en 2006.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>ANÁLISIS DE PROXIMALES</b>                                                       | <p>Componentes nutricionales claves en forraje y grano del híbrido de maíz 3272× Bt11 × MIR162× MZIR098 × DP4114× NK603 fueron medidos y comparados con aquellos del maíz no transgénico.</p> <p>Se analizó el forraje para determinar sus componentes proximales, fibra y minerales; los granos se analizaron para determinar sus componentes proximales, fibra, almidón, minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos, metabolitos secundarios y antinutrientes.</p> <p>Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar los efectos de entrada tanto entre localidades como dentro de cada una. Se realizaron comparaciones estadísticas entre el maíz de prueba con TSH y el maíz control. Además, se compararon los niveles promedio de los componentes con los rangos (mínimo a máximo) de valores para los híbridos de referencia no transgénicos y con los rangos para el maíz convencional publicados en la Base de Datos de Composición de Cultivos del Instituto de Sistemas Agrícolas y Alimentarios (AFSI). Los rangos de los híbridos de referencia y los de la base de datos del AFSI representan los niveles de componentes nutricionales y antinutricionales presentes en el cultivo comercial con un historial de consumo seguro.</p> <p>Se realizaron comparaciones estadísticas entre localidades entre el maíz de prueba con TSH y el maíz control. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de prueba + TSH y el grupo control en cuanto a los niveles de ningún componente del forraje. Los niveles promedio de todos los componentes del forraje en el grupo de prueba + TSH también se mantuvieron dentro de los rangos de los híbridos de referencia y de los rangos reportados en la base de datos AFSI.</p> <p>La conclusión del estudio es que el forraje y el grano del maíz 3272× Bt11 × MIR162× MZIR098 × DP4114× NK603 no difieren significativamente en composición nutricional de la del maíz convencional no transgénico con un historial de consumo seguro.</p> |
| <b>DOCUMENTO DE GESTIÓN DEL RIESGO</b><br>(Art. 17 Literal a, Decreto 4525 de 2005) | El solicitante adjunta documento de gestión del riesgo al dossier.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

#### 4. OTRA INFORMACION

|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PAISES Y USOS EN DONDE ESTA AUTORIZADO</b>          | Actualmente el evento no cuenta con aprobación registrada en la base de datos de autorizaciones OGM del ISAAA. Sin embargo, los eventos simples y sus combinaciones ya han sido aprobadas por diferentes países, incluyendo Colombia. |
| <b>SOLICITUDES EN CURSO O APROBACIONES EN OTRO CTN</b> | Aún no ha sido presentado para su evaluación en otros CTNs, se presentará simultáneamente en Colombia para aprobación del evento para consumo animal.                                                                                 |