

Síntesis de la notificación relativa a la liberación de arroz genéticamente modificado para la producción de la enzima beta-glucosidasa ácida (GCasa)

a. Informaciones generales

1. Informaciones acerca el acto de notificación

a) Número de la notificación
b) Fecha de recepción de la notificación
c) Título del proyecto: Producción industrial de la enzima recombinante humana beta-glucosidasa ácida (en breve GCasa) para la terapia de reemplazo enzimático de la enfermedad de Gaucher
d) Período previsto para la liberación: abril - noviembre de 2011

2. Notificador

Nombre de la sociedad: Transactiva srl Dirección: Parco Scientifico e Tecnológico "Luigi Danieli", Via J. Linussio 51, 33100 Udine, Italia

3. El notificador prevé la liberación de la misma plantas genéticamente modificadas en otra localidad, dentro o fuera de la Comunidad (a norma del artículo 6, párrafo 1)?

Si	XNo
En caso afirmativo indicar los códigos de los países en cuestión:	

4. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de esa misma PSMG en algún otro lugar dentro o fuera de la Comunidad?

Si	XNo
En caso afirmativo insertar los códigos de los países en cuestión:	

b. Informaciones sobre la planta genéticamente modificada

1. Identidad de la planta receptora o parental

a) Nombre de la familia: Poaceae
b) Género: <i>Oryza</i>
c) Especie: <i>sativa</i>
d) Subespecie (si aplicable): <i>japonica</i>
e) Cultivar/línea de reproducción (si aplicable): CR W3
f) Denominación común: arroz cultivado

2. Descripción de los fragmentos y características introducidas o modificadas, incluidos los genes marcadores y modificaciones previas.

La planta de arroz ha sido modificada genéticamente para producir beta-glucosidasa ácida humana (GCasa) en el endospermo de la semilla. Con esta finalidad se ha creado un vector de expresión pTRS-GCasa, utilizado para la transformación genética de *Oryza sativa* y por lo tanto para la inserción en el genoma de la planta de un solo T-DNA que contiene los cassettes para la expresión del gen de interés GCasa, del gen marcador PMI, y de un RNA de interferencia (FxantiFX). Solamente los dos primeros determinan la formación de un producto adicional en el proteoma de la planta; el tercer cassette en cambio posee la función de generar moléculas de siRNA (small interfering RNA) capaces de anular la expresión no deseada de los genes endógenos alfa (1, 3)-fucosiltransferasa y beta (1, 2)-xilosiltransferasa.

3. Tipo de modificación genética

Xa) Inserción de material genético
b) Delección de material genético
c) Sustitución de bases
d) Fusión celular
c) Otra (especificar)

4. En caso de inserción de material genético indicar el origen y la función deseada de cada uno de los fragmentos constitutivos de la región que se inserte

El material genético introducido constituye un único T-DNA que contiene tres cassettes génicos para la expresión de: 1. El gen primario (hGCasa); 2. Agente selectivo PMI (fosfomanosaisomerasa); 3. RNAi dirigido al silenciamiento de los genes alfa (1, 3)-fucosiltransferasa y beta (1, 2)-xilosiltransferasa (FxantiFX). En particular la secuencia de DNA integrada en el genoma corresponde a la suma de los cassettes de los relativos fragmentos espaciadores con una longitud total de 11634 pb. El cassette de expresión de la hGCasa, la enzima humana que se intenta producir, incluye un promotor endoesperma-específico de la gluteína 4 de arroz (GluB-4), el gen GCasa (sea en unaversione sinónima sintética) y el terminador NOS del *Agrobacterium tumefaciens*. El cassette para

la expresión del PMI, agente selectivo utilizado para discriminar entre plantas transformadas y no transformadas, presenta el promotor viral 35S CaMV (virus del mosaico de la coliflor), el gen *manA* de *E. coli*, codificante para la enzima PMI y el terminador 3' UTR de CaMV.

Finalmente, el cassette para el RNA de interferencia está compuesto por los siguientes elementos: promotor de la ubiquitina 1 de maíz (Ubi1), secuencia senso de los genes alfa (1,3)-fucosiltransferasa y beta (1,2)-xilosiltransferasa de *Oryza sativa*, intrón cre (de origen artificial), secuencias antisenso de los genes alfa (1,3)-fucosiltransferasa y beta (1,2)-xilosiltransferasa de *Oryza sativa* y terminador Tml (de origen artificial). Estos elementos están dispuestos en modo tal de constituir, una vez terminada la transcripción, una estructura en horquilla que, mediante el mecanismo de silenciamiento génico basado en el *RNA de interferencia*, induce la inactivación de dichos genes.

5. En caso de delección u otra modificación de material genético, indique la función de las secuencias eliminadas o modificadas.

No es aplicable en este caso.

6. Descripción resumida de los métodos utilizados en la modificación genética

La modificación genética ha sido efectuada mediante transformación de los callos embriogénicos de arroz según el protocolo de Hiei y colaboradores (1994), modificado por Huye y Guiderdoni. En particular, para la transformación se utilizó la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens* que porta el vector de expresión en semilla pTRS_GCasa. Una vez obtenidos los brotes de arroz, la selección basada en el sistema manosa/PMI se efectuó en base al protocolo de Datta y Datta (2006).

c. Informaciones sobre la liberación experimental

1. Finalidad de la liberación

El objetivo de la modificación genética es la conversión de plantas de arroz en fábricas celulares para la producción de la enzima humana beta-glucosidasa ácida, utilizable como terapia de reemplazo enzimático en pacientes afectados por la enfermedad de Gaucher.

Los datos acerca de la eficiencia de producción en planta de la enzima GCasa, la posibilidad de su purificación, así como su bioequivalencia respecto a la

contraparte humana nativa, han sido obtenidos a partir de semillas de plantas transgénicas crecidas en ambiente confinado. A pesar que en las cámaras de crecimiento se ha tratado de recrear las condiciones normalmente presentes en los ambientes de cultivo, es necesario efectuar una verificación de los datos en el campo. Esto también con la finalidad de predisponer un programa de ampliación de las superficies para completar la plataforma tecnológica de proceso y el incremento de la producción del fármaco. Tal incremento es necesario para permitir que una empresa farmacéutica pueda llevar a cabo las actividades de desarrollo biotecnológico, preclínico y clínico previstas por el plan industrial y necesarias para el registro de la enzima como terapia de reemplazo enzimático para pacientes afectados por la enfermedad de Gaucher.

2. Ubicación geográfica del lugar de la liberación

2.1. Ubicación y dimensiones del sitio o sitios de liberación

La parcela objeto de la liberación se encuentra en el término municipal de Vinaròs, provincia de Castellón.

Dicha parcela forma parte de una finca de 115.805 m², ocupados en su mayoría por el cultivo de cítricos además de localizarse la vivienda del propietario.

La parcela se encuentra a 133 Km de los arrozales más cercanos de la Albufera de Valencia y a 22 km del campo más cercano de arroz del Delta del Ebro.

La totalidad de la finca está vallada y perfectamente aislada.

La parcela a cultivar ocupará una superficie de 2.000 m².

2.2. Descripción del ecosistema local de liberación incluso clima, flora y fauna

El ecosistema al que pertenece el lugar de liberación se encuentra cultivado en condiciones de regadío por cítricos y hortalizas y en secano por almendros, olivos y algarrobos; en ningún caso se cultiva arroz.

Se caracteriza por un clima mediterráneo, en el que las máximas precipitaciones se concentran al principio del otoño. Los inviernos son suaves y los veranos cálidos, siendo la temperatura media anual de 17°C.

Durante los meses del cultivo del arroz, de mayo a octubre la temperatura mínima registrada fue de 12.9 °C en mayo y la máxima de 29.7°C en agosto.

La descripción de la flora y la fauna se ajusta a los estándares de las zonas costeras mediterráneas.

2.3. Presencia de especies sexualmente compatibles naturales o cultivadas

No hay especies sexualmente compatibles con el arroz.

2.4. Proximidad de biotopos oficialmente reconocidos que podrían ser afectados por la liberación

Los biotopos más cercanos que podrían ser afectados por la liberación son: el Parque Natural del Delta del Ebro y la Albufera de Valencia, ambos muy alejados del lugar de liberación.

3. Área del lugar (en m²)

La dimensión de la parcela experimental será de 2.000 m².

4. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores de esa misma PSGM, si los hubiera, específicamente relacionados con las repercusiones potenciales de su liberación en el medio ambiente y la salud humana.

No aplicable en este caso.

d. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de la PSGM de conformidad con el apartado d.2 del anexo ii de la directiva 2001/18/CE

Precisar en particular si los caracteres introducidos pueden conferir directa o indirectamente una ventaja selectiva en ambientes naturales; indicar también cualquier beneficio significativo previsto para el ambiente

El examen de la eficiencia reproductiva y vegetativa ha demostrado que el arroz GCasa es similar a la variedad CR W3 en todos los aspectos excepto en la producción de GCasa en el endospermo de la semilla. La proteína GCasa no influye en los caracteres de idoneidad reproductiva y vegetativa del arroz y por lo tanto, la posibilidad que la PSGM se convierta en una planta más persistente es ínfima. La proteína GCasa no confiere ninguna ventaja selectiva al arroz. El potencial impacto ambiental es igual al de otras variedades de arroz comercial. El arroz GCasa no produce factores recombinantes de resistencia a virus, bacterias, hongos, nematodos o insectos. No se ha producido intencionalmente ninguna mutación genética en las plantas GM destinada a modificar su susceptibilidad a enfermedades o daños causados por insectos, y no existen

motivos para pensar que esta u otras características similares sean diferentes entre las plantas genéticamente modificadas y no modificadas. La transferencia génica al arroz salvaje o a otros cultivares de arroz es difícilmente imaginable ya que la parcela del ensayo está muy alejada de las zonas arroceras. De hecho, el campo de arroz más próximo se encuentra a 22 km de distancia en línea recta. Desde un punto de vista agronómico, el arroz GM tendrá un impacto ambiental menor con respecto a un cultivo de arroz tradicional dado que no será cultivado en suelos inundados y por lo tanto el manejo del agua será similar al resto de los cultivos de la zona; además, su consumo hídrico será considerablemente menor respecto al arroz cultivado por inundación.

e. Descripción resumida de todas las medidas tomadas por el notificador para controlar el riesgo, incluido el aislamiento para limitar la dispersión, como, por ejemplo, propuestas de seguimiento incluido el seguimiento después de la cosecha

Para evitar la dispersión del arroz GM en el ambiente durante el cultivo, la elaboración o el transporte, se adoptarán precauciones específicas. La siembra se realizará en hileras y a una baja densidad de plantas (20 por m²). Ambas medidas de precaución reducen notablemente la posibilidad de dispersión del arroz GCasa. Para reducir cualquier transferencia de genes a través del polen, entre el lugar de liberación del arroz GM y otros cultivos de arroz u otras plantas, la parcela se encuentra rodeada de naranjos y una valla de cerramiento; situándose el campo de arroz más cercano a 22 km. El campo será además cubierto con una red anti-granizo para evitar el daño causado por los pájaros y la consecuente dispersión de las semillas. Para minimizar el riesgo de desplazamiento de plantas o semillas GM, el equipo utilizado en las diferentes labores y la cosecha, serán escrupulosamente lavados antes de ser trasladados del área de prueba. Todas las operaciones agrícolas serán efectuadas por personal cualificado que utilizará dispositivos de protección individual. Han sido previstas actividades de monitoreo específicas durante y después de la prueba experimental. El área experimental será monitoreada desde el inicio del cultivo hasta la cosecha también con la finalidad de evitar la diseminación de plantas infestantes. Las plantas de arroz genéticamente modificadas serán controladas periódicamente durante la fase de crecimiento

prestando atención a caracteres morfológicos y agronómicos. El lote será además inspeccionado antes y después de la implementación de las prácticas agrícolas. Una vez a la semana durante toda la estación de crecimiento, el personal efectuará una visita al campo experimental en busca de *off-types*. Dentro de la parcela, el personal verificará la presencia de plantas de arroz salvaje para la inmediata eliminación y destrucción.

Luego de la experimentación el lugar del ensayo será monitoreado en busca de plantas de arroz infestante durante los 2 años sucesivos a la última cosecha de arroz. Cualquier planta de arroz infestante será destruida antes de la floración.

f. Resumen de los ensayos de campo previstos para obtener nuevos datos sobre las repercusiones de la liberación en el medio ambiente y la salud humana (si procede)

No es aplicable a esta liberación.