

ZELFGEKLONEERDE GENETISCH GEMODIFICEERDE PLANTEN

Schenkelaars Biotechnology Consultancy
In opdracht van Stichting Greenpeace Nederland
Leiden, 5 maart 2006

INHOUD

1. Achtergrond	blz.	3
2. Vraagstellingen	blz.	3
3. Definitie van genetische modificatie door de Europese Richtlijn 2001/18/EG	blz.	4
4. Zelfgekloneerde, cisgene, transgene en intragene GM planten	blz.	4
5. Nederlandse onderzoeksinstituten, bedrijven en cisgene GM planten	blz.	5
6. Wat zijn een (soort)eigen genen?	blz.	6
7. De onnauwkeurigheid van genetische modificatie met recombinant-DNA	blz.	8
8. Het achterhaalde centrale dogma van de moleculaire biologie	blz.	10
9. Traceerbaarheid, etikettering, coëxistentie en octrooien	blz.	11
10. Conclusies	blz.	12

1. Achtergrond

In zijn brief van 21 november 2005 informeerde de Staatssecretaris van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (VROM) de Tweede Kamer over 11 beleidsopties ter vereenvoudiging van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen Wet milieugevaarlijke stoffen.¹ Hierbij zou er uitdrukkelijk voor worden gewaakt dat het huidige veiligheidsniveau tenminste gehandhaafd blijft. In de notitie “Vereenvoudigingsopties Besluit genetische gemodificeerde organismen” die aan deze brief is toegevoegd wordt onder optie VI voorgesteld om samen met de Commissie Genetische Modificatie (COGEM) te onderzoeken of de bestaande vrijstelling van het ingeperkt gebruik voor micro-organismen die genetisch gemodificeerd zijn door toepassing van “eigen genen” (zelfklonering) kan worden uitgebreid naar planten. Het beoogde resultaat is lastenverlichting voor onderzoeksinstituten en bedrijven die met zelfgekloneerde planten werken. Het betreft dan vooral het onderzoek aan appels, bloemen en aardappels. Volgens deze notitie vallen zelfgekloneerde genetische gemodificeerde (GM) planten onder de definitie van de Europese Richtlijn 2001/18/EG voor de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen en kunnen dus hiervan niet worden vrijgesteld.

Tegen deze achtergrond heeft Stichting Greenpeace Nederland aan Schenkelaars Biotechnology Consultancy verzocht om na te gaan of er wetenschappelijk-technische overwegingen zijn, waaruit blijkt dat zelfgekloneerde GM planten veiliger voor mens en milieu zijn dan GM planten die niet door zelfklonering tot stand zijn gekomen en daarom voor een versoepeling van de regelgeving voor het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde organismen in aanmerking kunnen komen.

2. Vraagstellingen

De vraag of zelfgekloneerde GM planten veiliger voor mens en milieu zijn dan GM planten waarbij ook “niet-soorteigen genen” ingebracht zijn wordt in deze notitie beantwoord aan de hand van de volgende vraagstellingen:

- Welke Nederlandse onderzoeksinstituten en bedrijven zijn bezig met het ontwikkelen van zelfgekloneerde GM planten?
- Wat is zelfklonering? Wat is cisgenese? Wat is een soort? Wat is een verwant waarmee een soort genetisch materiaal kan uitwisselen? Wat zijn (soort)eigen genen?
- Zijn er verschillen tussen zelfklonering/cisgenese en transgenese? Is er sprake van cisgenese indien bij een plant een soorteigen gen in een antisense-oriëntatie wordt ingebracht? En is er sprake van cisgenese indien bij een plant door middel van homologe oligonucleotiden de genexpressie op het niveau van RNA wordt beïnvloed?
- In hoeverre zijn van klassiek veredelde planten de moleculaire processen die zich daarbij afspelen bekend?
- Kan – met het oog op de Europese verplichting tot traceerbaarheid en etikettering van (zaden en andere vermeerderingsmateriaal van) GM gewassen onder Richtlijn 2001/18/EG en GM voedsel en diervoeders onder Verordening EG Nr. 1829/2003 en Verordening EG Nr. 1830/2003 - het verschil worden gehandhaafd tussen (zaden en andere vermeerderingsmateriaal van) zelfgekloneerde GM planten en klassiek veredelde planten, respectievelijk het verschil tussen bestanddelen van

¹ Tweede Kamer, vergaderjaar 2005-2006, 27 428, nr. 69.

zelfgekloneerde GM planten en die van klassiek veredelde planten, die in voedsel of diervoeders worden verwerkt? Een vergelijkbare vraag betreft de handhaving dan wel de controle op naleving van (wettelijk niet-bindende) regels voor de coëxistentie van zelfgekloneerde GM, gangbaar en biologische veredelde gewassen.²

3. Definitie van genetische modificatie door de Europese Richtlijn 2001/18/EG

De definitie van ‘genetische modificatie’ is opgenomen in de Europese Richtlijn 2001/18/EG voor het in het milieu brengen van genetisch gemodificeerde organismen: “*het veranderen van erfelijk materiaal op een wijze die niet van nature voorkomt, zoals paring en/of natuurlijke recombinatie, bijvoorbeeld door middel van kruisbevruchting*”. Deze Richtlijn stelt verder dat genetische modificatie geschiedt door:

- Recombinant-DNA technieken.
- Micro- en macro-injectie en micro-encapsulatie technieken.
- Cel- en protoplastfusie en –hybridisatie.

Door de technische aanhangsels van deze Europese Richtlijn worden echter de volgende technieken van vergunningsplicht uitgesloten:

- Cel- en protoplastfusie en –hybridisatie.
- Mutagenese.
- *In vitro* bevruchting.
- Polyploidie-inductie.

Samengevat: veel klassieke gewasveredelingstechnieken die sinds de jaren dertig van de 20^{ste} eeuw worden toegepast, zijn volgens de Europese Richtlijn 2001/18/EG een vorm van genetische modificatie, maar alleen die technieken waarbij recombinant-DNA moleculen gehanteerd worden vergen een vergunning.

4. Zelfgekloneerde, cisgene, transgene en intragene GM planten

In de notitie die is bijgevoegd aan de brief van de Staatssecretaris van VROM aan de Tweede Kamer wordt ‘zelfklonering’ gedefinieerd als genetische modificatie waarbij gebruik gemaakt wordt van de voor die soort reeds beschikbare genetische variatie.³

In uitlatingen van Nederlandse onderzoeksinstituten en bedrijven, die GM planten ontwikkelen door toepassing van (soort)eigen genen, wordt in geen enkel geval de term ‘zelfgekloneerde’ GM plant gebruikt. In plaats hiervan wordt de term ‘cisgene’ GM plant gehanteerd met uitzondering van GM planten waarbij soorteigen genen in een *antisense*-oriëntatie zijn ingebracht (zie ook paragraaf 5).

In de internationale wetenschappelijke literatuur zijn echter vooralsnog geen verwijzingen te vinden naar de termen ‘zelfgekloneerde’ en ‘cisgene’ GM plant.⁴ Wel zijn er andere

² Momenteel bestaan er verschillen van inzicht tussen lidstaten of er op EU niveau wel of geen wettelijk bindende regelgeving moet worden ingevoerd voor de coëxistentie van teelten met GM, gangbare en biologische gewassen. In Nederland is er voorlopig voor gekozen om hiervoor geen wettelijk bindende regels in te voeren.

³ Zie voetnoot 1.

terminologische voorstellen gedaan voor verschillende categorieën van GM planten, waarvoor in de literatuur vaak ook de term ‘transgene’ planten wordt gebruikt. Onderstaande tabel is een voorbeeld hiervan.⁵

Category	Source of genetic modification	Genetic variability via conventional breeding	Genetic distance
Intragenic	Within genome	Possible	Low
Famigenic	Species in the same family	Possible	↓
Linegenic	Species in the same lineage	Impossible	↓
Transgenic	Unrelated species	Impossible	↓
Xenogenic	Laboratory-designed genes	Impossible	High

Bovendien is het vooralsnog onbekend op welke wijze de Commissie Genetische Modificatie (COGEM) een ‘zelfgekloneerde plant’ definieert. Volgens de secretaris van de COGEM is ‘zelfkloning’ het zelfde als ‘cisgenese’. Hierover is een advies aan de Staatssecretaris in voorbereiding, hoewel dit advies over ‘cisgenese’ los zou staan van het beleidsvoornemen van de Staatssecretaris.⁶

5. Nederlandse onderzoeksinstituten, bedrijven en cisgene GM planten

Tenminste één onderzoeksinstituut in Nederland, namelijk Plant Research International (PRI) Wageningen University Research (WUR) heeft een GM aardbei met een ‘(soort)eigen’ gen ontwikkeld onder ingeperkt gebruik condities (Ingeperkt Gebruik nr. 97-213). Deze GM aardbei zou minder gevoelig zijn voor de schimmel *Botrytis cinerea* (vruchtrot) en wordt in een proefschrift als ‘cisgeen’ bestempeld.⁷ De hiervoor gebruikte methode is volgens het proefschrift ook toegepast op de appel-cultivar Elstar en tabak. Bij deze methode zijn in het begin behalve soorteigen genen ook niet-soorteigen genen van bacteriële oorsprong toegepast, die later uit de GM aardbei zijn verwijderd. Verder is hierbij het ‘(soort)eigen’ gen niet achter zijn eigen, natuurlijke promotor geplaatst maar achter een andere, (soort)eigen promotor.

Deze methode wordt in het proefschrift als een ‘schone gen’ benadering (*clean gene*) beschouwd. Volgens het proefschrift is het doel van deze benadering het verhogen van de consumentenacceptatie van deze GM aardbei. Het proefschrift gaat echter niet in op de vraag of deze ‘schone gen’ benadering, waarbij achteraf niet-soorteigen genen van bacteriële oorsprong worden verwijderd, veiliger voor mens en milieu is dan andere genetische modificatietechnieken.

Hiernaast is in 2005 het bedrijf Innova Fruit BV in nauwe samenwerking met PRI en de Universiteit van Twente begonnen met het ontwikkelen van GM appels, waarbij alleen

⁴ In februari 2006 leverden zoektermen als ‘cisgenesis’, ‘cisgenic’, ‘self-cloned plant’ of ‘self-cloned crop’ geen relevante hits op in de internationale wetenschappelijke literatuur die via PubMed toegankelijk is; zie <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

⁵ Nielsen, K.M., Transgenic organisms – time for conceptual diversification?, Nature Biotechnology, Vol. 21, March 2003, pg. 227 – 228.

⁶ E-mail correspondentie tussen Schenkelaars Biotechnology Consultancy en de secretaris van de COGEM op 27 februari en 2 maart 2006.

⁷ Schaart, J. G., Towards consumer-friendly cisgenic strawberries which are less susceptible to *Botrytis cinerea*, Proefschrift, Wageningen Universiteit, 3 november 2004.

soorteigen genen worden toegepast.⁸ Ook in dit geval wordt gesproken van ‘cisgeen’ en wordt tegelijkertijd een tegenstelling met ‘transgeen’ gesuggereerd. Het projectteam werkt tevens aan een classificatiemodel voor de regulering van cisgene GM gewassen met het oog op het versoepelen van de regelgeving voor genetische modificatie. Tevens wordt gewerkt aan een communicatieplan voor de acceptatie en marketing van deze nieuwe ‘cisgene’ GM appelcultivars. De projectleider was in februari 2006 niet bereid om aan te geven welke wetenschappelijk-technische veiligheidsoverwegingen er zouden zijn voor een versoepeling van de regelgeving voor cisgene GM gewassen, omdat het project nog in de beginfase verkeerde.⁹

Verder is door de aardappelzetmeelcoöperatie AVEBE een amylose-vrije GM aardappel ontwikkeld, waarbij geen soortvreemd genetisch materiaal is toegepast.¹⁰ De hiervoor gebruikte techniek van genetische modificatie staat in de literatuur bekend als ‘*antisense*’. In dit geval wordt in de communicatie door AVEBE de term cisgeen echter niet uitdrukkelijk gebezigd.

6. Wat zijn een (soort)eigen genen?

Vooralsnog is onduidelijk wat een algemeen aanvaarde definitie van een ‘zelfgekloneerde’ of ‘cisgene’ GM plant is. Voor het definiëren hiervan moeten verschillende vragen worden beantwoord. Is zelfklonering of cisgenese genetische modificatie met (soort)eigen DNA of genetische modificatie met DNA van kruisbare verwanten? En in het geval van kruisbare verwanten; gaat het dan om kruisingen die van nature kunnen optreden of om kruisingen die bewerkstelligd worden door klassieke veredeling? Want in het laatste geval worden er in het laboratorium namelijk verschillende technieken gehanteerd, zoals bijvoorbeeld cel- en protoplastfusie en –hybridisatie, om planten die niet van nature kruisen toch met elkaar te kruisen, waarmee eventueel ook soortgrenzen, zoals bijvoorbeeld tussen aardappel en tomaat, overschreden kunnen worden. Een andere vraag is of van zelfklonering of cisgenese kan worden gesproken, indien een soorteigen gen niet achter zijn eigen natuurlijke promotor wordt geplaatst, maar achter een andere soorteigen promotor, zoals bijvoorbeeld bij de cisgene GM aardbei die door PRI is ontwikkeld.¹¹ Deze vraag geldt ook voor planten waar een soorteigen gen in een *antisense*-oriëntatie wordt ingebracht en mogelijk ook voor planten waar oligonucleotiden zijn ingebracht voor de regulatie van de genexpressie op het niveau van RNA, die homoloog zijn aan de sequentie van dat gen.

Deze bovenstaande vragen kunnen worden samengevat tot een meer algemene vraag: In hoeverre is het resultaat van een cis-genetische modificatie genotypisch en fenotypisch vergelijkbaar met het resultaat van een klassieke veredelingstechniek als bijvoorbeeld mutagenese? Maar deze meer algemene vraag roept weer een andere vraag op: Welke veredelingstechnieken zijn eigenlijk te beschouwen als ‘klassiek’?¹² Want volgens de Europese Richtlijn 200/18/EG zijn vrijwel alle veredelingstechnieken die sinds de jaren dertig van de 20^{ste} eeuw zijn ontwikkeld te beschouwen als genetische modificatie, maar zijn alleen

⁸ Zie <http://english.transforum.nl/html/project.php?id=3>

⁹ E-mail correspondentie tussen Schenkelaars Biotechnology Consultancy en Innova Fruit BV, 21 en 23 februari 2006.

¹⁰ Zie bijvoorbeeld AVEBE Newsletter on developments in the area of genetic modification, GM Monitor 08, December 10th, 2004; http://www.avebe.name/group/index_uk.htm

¹¹ Zie voetnoot 7.

¹² Zie ook paragraaf 8.

genetische modificatie technieken waarbij recombinant-DNA moleculen worden toegepast vergunningsplichtig.¹³

Bovendien moet worden benadrukt dat ‘soort’ een begrip is dat door de verschillende subdisciplines van de biologie verschillend wordt ingevuld.^{14, 15} Hoewel het soortbegrip één van de meest algemeen gebruikte begrippen is in de biologie, is er geen definitie beschikbaar die algemeen toepasbaar is en die door iedereen wordt aanvaard.

Een van de meest gangbare soortdefinities is het biologische soortbegrip dat ervan uitgaat dat organismen tot eenzelfde soort behoren als ze in principe (van nature) met elkaar kunnen kruisen. Het is echter goed mogelijk dat een organisme A in staat is te kruisen met een organisme B dat in een naburig gebied leeft, en organisme B met een organisme C dat nog verder weg leeft, maar dat organisme A helemaal niet in staat is te kruisen met organisme C. Volgens het biologische soortbegrip behoren A en B dan tot één soort en B en C tot een andere soort. Organisme B komt dan in twee soorten voor, maar dat is niet aanvaardbaar omdat het als een belangrijke eigenschap van soorten wordt beschouwd dat zij elkaar niet overlappen. Om dit probleem te omzeilen kan ook worden gesteld organismen soortgenoten zijn, indien zij indirect kruisbaar zijn; dat wil zeggen indien zij tot een keten van kruisbare organismen behoren. Maar dan ontstaat een groot probleem als geprobeerd wordt om grenzen van soorten in de tijd te trekken. In de meeste gevallen zijn organismen in principe kruisbaar met hun ouders, en deze weer met hun ouders, en zo verder. Als deze allemaal in een enkele soort zouden worden onderbracht, dan ontstaat er een hele grote soort die zich in de tijd kan uitstrekken van een nu voorkomend organisme tot aan een organisme dat misschien wel ergens aan het begin van de evolutie leefde.

Een andere soortdefinitie is het morfologische soortbegrip dat alle organismen die veel op elkaar lijken tot één soort rekent. Dit zou redelijk kunnen werken als alle organismen van vroeger en nu keurig in groepjes zouden zitten, waarbinnen ze duidelijk meer op elkaar lijken dan op organismen daarbuiten. Maar dit gaat soms al niet op als gekeken wordt naar alle organismen die op dit moment leven; het is nogal eens moeilijk te bepalen welke organismen met elkaar overeenkomen en welke van elkaar verschillen. En het wordt pas echt moeilijk als gekeken gaat worden naar organismen en hun voorouders. Daar waar veranderingen in de evolutie geleidelijk zijn verlopen, is het onmogelijk grenzen te vinden tussen voorouder- en nakomelingssoorten uitsluitend op grond van morfologische eigenschappen.

Zo meenden bijvoorbeeld botanici tot voor kort dat de plant teosinte morfologisch zodanig van maïs verschilt dat deze *Zea mays* ondersoorten geen nauwe verwanten van elkaar zouden zijn. Na genoomonderzoek moest deze mening drastisch worden bijgesteld.¹⁶ Anderzijds hebben duizenden jaren geleden Indiaanse boeren (zonder natuurwetenschappelijke kennis van plantengenomen) vanuit teosinte een grote diversiteit aan maïslandrassen gecreëerd en worden in sommige Mexicaanse regio's van oudsher rondom akkers met maïslandrassen ook enkele teosinteplanten geplaatst, omdat de maïslandrassen daardoor ‘sterker’ worden.¹⁷

¹³ Zie ook paragraaf 3.

¹⁴ Mayr, E., *Towards a new philosophy of biology; Observations of an evolutionist*, Harvard University Press, 1988.

¹⁵ Ruse, M., *Philosophy of biology today*, State University of New York Press, Albany, 1988.

¹⁶ Doebley, J., *Mapping the genes that made maize*, *Trends in Genetics*, Vol. 8, pg. 302- 307, 1992.

¹⁷ Zie bijvoorbeeld <http://en.wikipedia.org/wiki/Teosinte>

Tot dusver zijn de meeste soortdefinities gebaseerd op de bovenbeschreven soortbegrippen, of zijn daar een combinatie van, en voldoen niet als een algemeen toepasbaar soortbegrip. Dat geldt ook voor het zogeheten internodale soortbegrip. Als alternatief is in 1993 het samengestelde soortbegrip ontwikkeld, maar hiervan is onbekend of het inmiddels algemeen door de internationale wetenschappelijke gemeenschap aanvaard wordt.¹⁸

Tenslotte moet worden opgemerkt dat moleculaire biologen de neiging hebben te benadrukken dat “DNA DNA is, wat ook de herkomst moge zijn”.¹⁹ Hiermee wordt het verschil tussen soorten op het niveau DNA gebagatelliseerd, want vanuit een dergelijke ‘moleculaire’ zienswijze bestaat menselijk DNA uit 61 % fruitvlieg DNA of uit 46 % gist DNA.²⁰

Samengevat kan worden gesteld dat het gezien de complexiteit van de wetenschappelijke discussies rondom het begrip ‘soort’ ondoenlijk is om met het oog op de regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen een juridisch sluitend begrip van ‘(soort)eigen genen’ vast te leggen.

7. De onnauwkeurigheid van genetische modificatie met recombinant-DNA

Een veelgebruikte genetische modificatietechniek met recombinant-DNA moleculen is de zogeheten transformatie met behulp van *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA (de vector), waarin tussen de ‘borders’ een (soorteigen) gen wordt aangebracht.²¹ Het T-DNA zorgt er vervolgens voor dat het gen in het genoom van de plant inserteert. Tijdens de transformatie kan vooralsnog, gezien de huidige stand van de techniek, niet worden uitgesloten dat DNA van vector, zogeheten *backbone*-sequenties, ook in het plantengenoom inserteren. De GM plant die hieruit resulteert kan in geen geval als zelfgekloneerd of cisgeen worden beschouwd. Dat betekent dat indien een onderzoekinstelling of bedrijf voor een eventuele vrijstelling van de IG-vergunningsplicht in aanmerking wil komen, dan zal het een moleculaire analyse moeten kunnen overleggen, waaruit blijkt dat er in de zelfgekloneerde of cisgene GM planten (transformanten) geen enkele *backbone*-sequentie meer aanwezig is.²²

Bovendien is algemeen bekend dat zowel de linker- als de rechterborder van het T-DNA worden ‘doorgelezen’. Het kan daarom niet worden uitgesloten dat in een GM plant hierdoor niet alleen de (soort)eigen genen aanwezig zijn maar ook (kleine) sequenties plantvreemd T-DNA. In dit geval kan er geen sprake zijn van zelfklonering of cisgenese. Het doorlezen van de borders kan mogelijk leiden tot nieuwe, zogeheten *open reading frames* (ORFs), die aanleiding kunnen zijn voor de vorming van nieuwe ‘fusie-eiwitten’, waarvan op voorhand niet is uit te sluiten dat deze geen risico’s voor mens en milieu met zich meebrengen. Daar

¹⁸ Kornet, D.J., Reconstructing species; Demarcations in Genealogical Networks, Proefschrift Rijksuniversiteit Leiden, 6 oktober 1993.

¹⁹ Rommens, C., All-Native Plant DNA Transformation, Information Systems for Biotechnology News Report, December 2004.

²⁰ Rubin, G. M., Comparing species, Nature, Vol. 409, pg. 820-821, 15 February 2001.

²¹ Deze techniek is door PRI gebruikt voor de ‘cisgene’ GM aardbei en door AVEBE voor de amylose-vrije GM aardappel. Welke cis-genetische modificatietechniek door Innova Fruit BV wordt gehanteerd is vooralsnog onbekend.

²² Bezien vanuit het beoogde resultaat van vereenvoudigingsoptie VI is het nog maar de vraag of het vrijstellen van ‘zelfgekloneerde’ GM planten van de ingeperkt gebruik vergunningsplicht leidt tot een lastenverlichting. In de huidige praktijk van vergunningverlening hoeft een moleculaire analyse van de ‘transformanten’ pas overlegd te worden in het geval van Categorie 3 grootschalige niet-commerciële veldwerkzaamheden.

staat tegenover dat er inmiddels ook technieken ontwikkeld zijn om planteigen borders te vervaardigen.²³ In hoeverre hierdoor nieuwe ORFs in de cisgene GM plant ontstaan zal van geval tot geval onderzocht moeten worden.

Verder kan de insertie van het (soorteigen) gen tot zogeheten insertie-mutaties leiden, waardoor een ander fenotype ontstaat, dat mogelijk risico's voor mens en milieu met zich meebrengt. Ook is onbekend waar het gen in het plantengenoom terecht komt, evenals het aantal kopieën van het gen.^{24, 25} De GM plant kan hierdoor eventueel meer genproduct gaan aanmaken en er kunnen veranderingen in epistatische reacties (gen-gen interacties) optreden, waardoor niet kan worden uitgesloten dat de (cisgene) GM plant geen risico's voor mens en milieu met zich meebrengt.^{26, 27} Op het moment worden verschillende experimentele benaderingen gebruikt om epistatische effecten te bepalen. Een hiervan is het gebruik van specifieke mutaties bij klassiek veredelde planten als uitgangspunt om vervolgens effecten op de fitness te meten in combinatie met andere mutaties of genetische achtergronden.^{28, 29} Een andere methode is gebaseerd op het zogeheten *quantitative trait loci* (QTL) *mapping*. Uit een dergelijk experiment is gebleken dat door mogelijke veranderingen in epistatische reacties bij klassiek veredelde planten resultaten uit kasexperimenten (ingeperkt gebruik!) niet altijd goed te vergelijken zijn met die van veldproeven.³⁰ Hiernaast is het vooralsnog onbekend of de (frequentie van) mutaties als gevolg van de insertie van één of meerdere kopieën van het (soorteigen) gen in (cisgene) GM planten vergelijkbaar zijn met de (frequentie van) mutaties die in klassieke veredelde planten door translocaties plaatsvinden.³¹

Aangezien er dus qua onnauwkeurigheid van cisgene en transgene genetische modificatie van planten vooralsnog geen enkel verschil bestaat, is het op zijn minst voorbarig om te veronderstellen dat cisgene GM planten minder risico's voor mens en milieu met zich meebrengen dan transgene GM planten. Ook is er tot dusver nauwelijks ervaring met (milieu-introducties van) cisgene GM planten opgedaan, zodat er geen sprake kan zijn van een "geschiedenis van veilig gebruik" (*history of safe use*).

²³ Rommens, C.M., *et al.*, Crop Improvement through Modification of the Plant's Own Genome, *Plant Physiology*, Vol. 135, pg. 421-431, May 2004.

²⁴ Maessen, G.D.F., *et al.* (1996), Mutation and transposition frequencies in maize, petunia and potato, *Experimental Botany*, Catholic University Nijmegen, by order of the Ministry of Economic Affairs and the Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment, February 1996.

²⁵ Wilson, A., *et al.*, (2004), Genome Scrambling – Myth or Reality?: Transformation-Induced Mutations in Transgenic Crop Plants, *EcoNexus*, United Kingdom.

²⁶ Rhode, J.M., *et al.*, Contributions of Heterosis and Epistasis to Hybrid Fitness, *The American Naturalist*, Vol. 166, No. 5, pg. 124-139, November 2005.

²⁷ Qin, H., *et al.*, Epigenetic history of an Arabidopsis trans-silencer locus and a test for relay of trans-silencing activity, *BMC Plant Biology*, Vol. 2, pg 11-25, December 2002.

²⁸ Koornneef, M. *et al.*, The phenotype of some late-flowering mutants is enhanced by a locus on chromosome-5 that is not effective in the Landsberg erecta wild-type, *Plant Journal*, Vol. 6, pg. 911-919, 1994.

²⁹ Caicedo, A.L., *et al.*, Epistatic interaction between Arabidopsis FRI and FLC flowering time genes generates a latitudinal cline in a life history trait, *Proceedings National Academy of Science USA*, Vol. 101, pg. 15670-15675, 2004.

³⁰ Malmberg, R.L., *et al.*, Epistasis for Fitness-Related Quantitative Traits in *Arabidopsis thaliana* Grown in the Field and in the Greenhouse, *Genetics*, Vol. 171, pg. 2013-2027, December 2005.

³¹ Zie voetnoten 21 en 22.

8. Het achterhaalde centrale dogma van de moleculaire biologie

Voor de beoordeling van de risico's van cis/transgene planten voor mens en milieu is door de COGEM als referentie³² gekozen voor klassiek veredelde planten en alle moleculaire processen die zich daarbij afspelen. De COGEM heeft echter verzuimd om vast te leggen welke veredelingsstechnieken als 'klassiek' beschouwd moeten worden.³³ Bovendien zijn in het overgrote deel van de gevallen de moleculaire processen die zich bij de klassieke veredeling van planten afspelen bij lange na niet bekend.

Dankzij het onderzoek aan plantengenomen nemen de laatste tien jaar de natuurwetenschappelijke inzichten in de moleculaire processen bij klassiek veredelde en genetisch gemodificeerde planten echter relatief snel toe. Wat in elk geval inmiddels duidelijk is geworden dat het DNA molecuul niet als *de* blauwdruk van een organisme fungeert. Zo is uit het onderzoek naar het menselijk genoom gebleken dat het aantal genen in het menselijk DNA veel kleiner is dan gedacht: niet meer dan dertig- tot veertigduizend verschillende genen in plaats van honderdduizend. Die genen kunnen echter wel op verschillende manieren worden afgelezen en nabewerkt, waardoor het mogelijk is dat er uiteindelijk meer dan honderdduizend verschillende eiwitten worden aangemaakt.

Verder zetten in de jaren negentig van de 20^{ste} eeuw verschillende mislukte veldexperimenten met GM gewassen onderzoekers aan het denken over planten-DNA. In Duitsland bijvoorbeeld bleken GM petunia's waarvan de bloemkleur genetisch was gewijzigd niet in de gewenste kleur te bloeien. Analyses achteraf toonden aan dat de warme zomer van invloed was geweest op de 'methylering' van het GM petunia-DNA. Die methylering bleek van invloed te zijn geweest op de expressie van transgenen. Weliswaar stond 'methylering' in de moleculaire biologie toen in zijn algemeenheid als een regelmechanisme bekend, desondanks kwam het mislukken van de veldproef als een volslagen verrassing.

Er zijn inmiddels verschillende wijzen van methylering van DNA bekend maar naar de precieze werking wordt nog onderzoek gedaan. Door veranderingen in de omgeving kunnen nieuwe eigenschappen 'aan' worden gezet, waarna ze ook nog overerfbaar blijken te zijn. Sommige onderzoekers menen dat via epigenetisch overerving sneller nieuwe eigenschappen ontstaan en verspreid worden dan via genetische overerving.³⁴ Een voorbeeld is bijvoorbeeld het vlasleuwenbekje, waarbij de bloem van de ene variant een asymmetrische vorm heeft en de bloem van de andere variant een symmetrische vorm heeft. Heel lang dachten biologen dat ze te maken hadden met twee genetische varianten, totdat ontdekt werd dat dit verschil in bloemvorm niet door genen bepaald wordt maar door het aan- of uitstaan van één gen. Deze epigenetische variatie is soms stabiel, en daarmee generaties lang overerfbaar. Ook 'acetylering' van de histon-eiwitten, waarin het DNA molecuul bij hogere organismen als planten en dieren verpakt is, kan van invloed zijn op de expressie van genen. Sommige onderzoekers denken dat er mogelijk een 'histon code' bestaat, die van belang is voor de regulering van de expressie van genen en die tevens overerfbaar is.

Een andere mislukking in de jaren negentig betrof GM gewassen waarvan een bepaalde eigenschap werd onderdrukt door middel van invoering van een synthetisch gemaakte 'antisense' gensequentie. De gedachte was dat de *antisense* gensequentie ervoor zou zorgen

³² COGEM, Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader, CGM/02017-06, 17 oktober 2002.

³³ Zie paragraaf 3.

³⁴ Jablonka, E., *et al.*, Evolution in four dimensions: genetic, epigenetic, behavioural, and symbolic variations in the history of life, Massachusetts Institute of Technology, 2005.

dat de vertaling van een bepaald gen in een eiwit wordt geblokkeerd. In een aantal gevallen bleek deze aanpak echter niet te werken; de ‘*antisense*’ gensequentie werd op een of andere manier door het organisme geneutraliseerd. Later bleek dat het toen nog onbekende fenomeen van RNA-interferentie hiervoor verantwoordelijk is. Ondertussen kan RNA-interferentie worden beschouwd als een van de meest belangwekkende ontdekkingen van de moleculaire (epi)genetica, en wordt het zelfs doelbewust ingezet in het genoomonderzoek waarbij wordt gekeken naar de functies van genen.

Door deze ontdekkingen heeft het DNA molecuul als blauwdruk aan betekenis verloren. In plaats daarvan wordt DNA steeds meer beschouwd als een van de elementen van een epigenetisch regelwerk in een organisme. Verder heeft genoomonderzoek laten zien dat sequenties op het DNA, die niet voor een eiwit coderen en voorheen door de wetenschappelijke gemeenschap als ‘*junk-DNA*’ werden bestempeld, geen evolutionaire restanten zijn, maar dat deze een rol kunnen spelen in het epigenetische regelwerk van een organisme.

Samengevat betekent het bovenstaande dat de hypothese dat één gen voor één eiwit codeert - het zogeheten centrale dogma van de moleculaire biologie - wetenschappelijk inmiddels achterhaald is. Toch wordt deze hypothese door de COGEM en de Staatssecretaris van VROM nog steeds als het structurele uitgangspunt voor de beoordeling van de risico's van GM planten gehanteerd.³⁵

9. Traceerbaarheid, etikettering, coëxistentie en octrooien

Volgens het beleidsvoornemen van de Staatssecretaris blijft de introductie in het milieu van zelfgekloneerde/cisgene GM planten vergunningsplichtig onder de Europese Richtlijn 2001/18/EG.

Indien het in de nabije toekomst mogelijk blijkt om zelfgekloneerde/cisgene GM planten te vervaardigen zonder dat hierin enig spoorje ‘soortvreemd’ DNA aanwezig is, ontstaat er een probleem met het handhaven van de verplichting tot traceerbaarheid en etikettering (van zaden en andere vermeerderingsmateriaal) van zelfgekloneerde/cisgene GM planten onder de Europese Richtlijn 2001/18/EG en het gebruik hiervan of bestanddelen hieruit in levensmiddelen en diervoeders onder de Europese Verordeningen EG Nr. 1829/2003 en Nr. 1830/2003. Weliswaar moeten onderzoeksinstituten en bedrijven volgens deze Europese wet- en regelgeving voor het gebruik van GM gewassen van ‘grond tot mond’ documenten kunnen overleggen of er gebruik is gemaakt van zelfgekloneerde/cisgene GM planten, maar detectie aan de hand van moleculair-analytische methoden ter verificatie hiervan is zo goed als onmogelijk. Dat werkt fraude en oneerlijke handelspraktijken door onderzoeksinstituten en bedrijven in de hand, die suggereren dat hun product niet met behulp van genetische modificatie tot stand is gekomen.

Hierbij moet tevens worden opgemerkt dat een eventuele vrijstelling van de traceerbaarheids- en etiketteringsverplichtingen voor zelfgekloneerde/cisgene GM planten niet alleen door alle lidstaten van de EU moet worden goedgekeurd maar ook door het Europese Parlement.

³⁵ Zie <http://www.cogem.net/> en <http://www.vrom.nl/>

Ook ontstaan er problemen met het handhaven dan wel controleren op de naleving van regels voor de coëxistentie van teelten met zelfgekloneerde GM en gangbaar en biologisch veredelde planten.

Bovendien wordt het bijzonder lastig om na te gaan of er inbreuk is gepleegd op octrooirechten op zelfgekloneerde/cisgene GM planten. Niet voor niets is bijvoorbeeld Innova Fruit NV van mening dat vanwege deze nieuwe gewasveredelingstechnologieën er nieuwe vormen van intellectuele eigendomsbescherming zullen moeten worden ingevoerd.³⁶

10. Conclusies

- In de internationale wetenschappelijke literatuur en communicatie van Nederlandse onderzoeksinstituten en bedrijven zijn geen verwijzingen naar de term ‘zelfgekloneerde’ GM planten terug te vinden. In het geval van GM planten (waarbij na verwijdering van soortvreemd genetisch materiaal alleen soorteigen genen aanwezig zijn) wordt de term ‘cisgenen’ gebezigd om een tegenstelling te suggereren met ‘transgene’ GM planten waarbij (ook) niet-soorteigen genen zijn toegepast.
- Terwijl de Staatssecretaris van VROM in zijn beleidsvoornemen aangeeft om samen met de COGEM te onderzoeken of ‘zelfgekloneerde’ GM planten van de ingeperkt gebruik vergunningsplicht kunnen worden voorgesteld, geeft de COGEM aan dat een advies over ‘cisgene’ GM planten wordt voorbereid en dat dit advies losstaat van het beleidsvoornemen van de Staatssecretaris.
- Gezien de complexiteit van de wetenschappelijke discussies rondom het begrip ‘soort’ is het ondoenlijk om met het oog op de regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen een juridisch sluitend begrip van ‘(soort)eigen genen’ vast te leggen.
- Aangezien er qua onnauwkeurigheid van zelfgekloneerde/cisgene en transgene genetische modificatietechnieken voor planten vooralsnog geen wezenlijke verschillen bestaan, is het op zijn minst voorbarig om te veronderstellen dat zelfgekloneerde/cisgene GM planten minder risico’s voor mens en milieu met zich meebrengen dan transgene GM planten. Ook is er nauwelijks ervaring opgedaan met zelfgekloneerde/cisgene GM planten, zodat er vooralsnog geen sprake kan zijn van een ‘geschiedenis van veilig gebruik’.
- Over het referentiepunt voor de risicobeoordeling van cis/transgene GM planten door de COGEM – klassieke veredelde planten en alle moleculaire processen die hierbij een rol spelen – bestaat vooralsnog onvoldoende natuurwetenschappelijke kennis. Bovendien is onduidelijk welke veredelingstechnieken door de COGEM als ‘klassiek’ worden beschouwd.
- De hypothese dat één gen voor één eiwit codeert - het zogeheten centrale dogma van de moleculaire biologie – is wetenschappelijk inmiddels achterhaald. Toch wordt deze hypothese door de COGEM en de Staatssecretaris van VROM nog steeds als het structurele uitgangspunt voor de beoordeling van de risico’s van GM planten gehanteerd.

³⁶ Zie voetnoot 6.

- In het geval van volledige 'schone' zelfgekloneerde/cisgene GM gewassen - GM gewassen waar geen enkel spoor 'soortvreemd' DNA aanwezig is - ontstaan er problemen met de handhaving van de Europese verplichtingen tot traceerbaarheid en etikettering van GM gewassen en het gebruik hiervan in levensmiddelen en diervoeders. Dit geldt tevens voor de handhaving dan wel controle op de naleving van regels voor de coëxistentie van teelten met 'schone' zelfgekloneerde/cisgene GM en gangbaar en biologisch veredelde planten. Bovendien wordt het lastig om na te gaan of er inbreuk is gepleegd op octrooirechten op zelfgekloneerde/cisgene GM planten.
- Samengevat, er zijn geen wetenschappelijk-technische redenen die aangeven dat zelfgekloneerde/cisgene GM planten minder risico's voor mens en milieu met zich meebrengen dan transgene GM planten. Een besluit tot vrijstelling van zelfgekloneerde/cisgene GM planten van de ingeperkt gebruik vergunningsplicht biedt daarom geen waarborg dat het huidige veiligheidsniveau gehandhaafd blijft.