

**Công ty TNHH Bayer CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**  
**Việt Nam Độc lập – Tự do – Hạnh phúc**

**BÁO CÁO TÓM TẮT ĐÁNH GIÁ RỦI RO CỦA CÂY TRỒNG BIẾN ĐỔI GEN  
ĐỐI VỚI SỨC KHOẺ CỦA CON NGƯỜI VÀ VẬT NUÔI**

**SỰ KIỆN ĐẬU TƯƠNG BIẾN ĐỔI GEN A2704-12**

**CÔNG TY TNHH BAYER VIỆT NAM**  
**THÁNG 1, 2015**

---

Toàn bộ dữ liệu trong hồ sơ đăng ký này được bảo vệ bản quyền và không được sử dụng, sao chép hay đưa cho bên thứ ba nếu không có được sự đồng ý của các tác giả

## PHẦN I. THÔNG TIN CHUNG

### 1. Tổ chức, cá nhân đăng ký:

- Tên tổ chức đăng ký: Công ty TNHH Bayer Việt Nam
- Người đại diện của tổ chức: Tổng Giám đốc David Champion
- Đầu mối liên lạc của tổ chức: Nguyễn Văn Thanh – Giám đốc Nhánh Hạt giống – Lúa lai khu vực (Việt Nam – Lào – Campuchia)
- Địa chỉ: Lô 118/4, Khu Công Nghiệp Amata, phường Long Bình, Thành Phố Biên Hòa, Tỉnh Đồng Nai
- Điện thoại: (+ 84 61) 8 877 120
- Fax: (+ 84 61) 3 936 951
- Email: [thanh.nguyen5@bayer.com](mailto:thanh.nguyen5@bayer.com)

### 2. Tên thực vật biến đổi gen

- Tên thông thường: Đậu tương, đậu nành
- Tên khoa học : *Glycine max* L. Merr.
- Tên thương mại: đậu tương LibertyLink<sup>®</sup>, đậu tương LL
- Sự kiện chuyển gen: A2704-12
- Tính trạng liên quan đến gen được chuyển: chống chịu thuốc trừ cỏ ammonium glufosinate.
- Mã nhận diện duy nhất (nếu có): ACS-GMØØ5-3

## PHẦN II. THÔNG TIN VỀ CÂY CHỦ NHẬN GEN

### 1. Tên cây chủ nhận gen

Tên khoa học: *Glycine max* L. Merr.

(a) Tên thông thường: Đậu tương

(b) Vị trí phân loại:

Họ:	Leguminosae
Họ phụ:	Papilionoideae
Tộc:	Phaseoleae
Chi:	<i>Glycine</i>
Chi phụ:	Soja
Loài:	<i>max</i>

### 2. Thông tin liên quan

#### ***Lịch sử canh tác và phát triển trong chọn giống***

Đậu tương được trồng rộng rãi trên thế giới và có lịch sử sử dụng an toàn. Các bằng chứng lịch sử và địa lý cho thấy đậu tương được thuần hoá đầu tiên tại miền Đông của Trung Quốc, vào giữa thế kỷ 17 đến thế kỷ 11 trước công nguyên. Đậu tương trồng đầu tiên ở Hoa Kỳ năm 1765 và ở Canada vào năm 1893 ở bang Ontario với mục đích

làm thức ăn chăn nuôi. Hiện nay, đậu tương được trồng như một cây trồng thương mại ở hơn 35 quốc gia trên thế giới. Các nước trồng đậu tương chính năm 2013 là Hoa Kỳ, (89,483,000 tấn), Brazil (81,699,787 tấn) và Argentina (49,306,201 tấn). Trên thế giới, năm 2011 lượng đậu tương nhập khẩu là khoảng 95 triệu tấn. Trung Quốc là quốc gia nhập khẩu đậu tương nhiều nhất với lượng nhập khẩu là 52 triệu tấn. Nghiên cứu chi tiết về sản xuất đậu tương trong vòng 5 năm qua, chủ yếu ở các nước hay các vùng trồng đậu tương chính được trình bày trong báo cáo của Buettcher, 2014 (M-295548-05-1).

Đậu tương có lịch sử an toàn cho việc sử dụng làm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Thức ăn chăn nuôi có sử dụng cả cây đậu tương hoặc các sản phẩm từ quá trình chế biến. Chỉ trong vòng 2 thập kỷ qua, một lượng rất lớn sản phẩm từ đậu tương đã được chuyển hoá vào các sản phẩm thực phẩm cho con người, hầu hết là sản phẩm tấm (flake) đậu tương loại béo. Vỏ đậu tương có thể chiếm tới tới 20% trong khẩu phần thức ăn cho gia cầm và gia súc, đối với hạt đậu tương có thể được sử dụng 15 – 25%. Có một số hợp chất trong cây họ đậu và đậu tương là chất chống dinh dưỡng cho người và động vật như axit phytic, các chất ức chế protease, lectin (chất ngưng kết hồng cầu) và các oligosaccharit (stachyose và raffinose). Quy trình chế biến, bao gồm các công đoạn gia nhiệt, sẽ làm bất hoạt các chất chống dinh dưỡng trong đậu tương thô. Đối với thực phẩm, dầu đậu tương là phần được tiêu thụ nhiều nhất. Dầu tinh chế trên thực tế không mang protein. Nhìn chung, đậu tương và các sản phẩm của nó có lịch sử sử dụng an toàn làm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi (OECD, 2012 M-232784-02-1).

### ***An toàn của cây nhận gen***

Giống như các loài cây họ đậu khác, đậu tương cũng mang một số thành phần chống dinh dưỡng đối với con người và động vật. Đây là các chất ức chế protease, lectin (chất ngưng kết hồng cầu), oligosaccharide (stachyose và raffinose), axit phytic, các phytoestrogen, các phospholipid, sterol và saponin.

Đậu tương thuộc một trong 8 nhóm thực phẩm có tới 90% các chất gây dị ứng thực phẩm thông qua IgE (IgE-mediated food allergies). Dị ứng đậu tương là khá phổ biến đối với nhiều người, chiếm khoảng 0,3-0,7% dân số. Trong nhiều trường hợp dị ứng đậu tương sẽ mất đi khi lớn lên. Hơn nữa, một số nghiên cứu về khả năng gây dị ứng trên dầu đậu tương tinh luyện với các cá thể cho thấy hàm lượng protein có mặt trong dầu tinh luyện không gây ra bất kỳ phản ứng dị ứng nào với phần lớn những cá nhân có dị ứng với đậu tương.

Đậu tương có lịch sử an toàn cho việc sử dụng làm thức ăn chăn nuôi và thực phẩm. Các công đoạn chế biến đậu tương thô để tạo ra dầu đậu tương tinh luyện và các

protein tách chiết nhằm bất hoạt các nhân tố chống dinh dưỡng và tăng khả năng phân giải của các protein (OECD, 2012 M-232784-02-1; Hui, 1992 M-204737-01-1). Mặc dù mang những chất chống dinh dưỡng, nhưng có thể bị giảm đi trong các quá trình chế biến khác nhau, đậu tương vẫn được sử dụng làm thực phẩm từ năm 3000 trước công nguyên. Đậu tương chiếm vị trí hàng đầu trong các loại cây trồng và là nguồn cung cấp quan trọng nhất các protein và dầu thực vật. Ở Bắc Mỹ và Châu Âu, các sản phẩm đậu tương được sử dụng chủ yếu có liên quan tới dầu đậu tương đã qua tinh chế như bơ thực vật, shortening, dầu nấu ăn và dầu trộn salad. Đậu tương cũng được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm khác như đậu phụ, nước tương, giả sữa (simulated milk) và các sản phẩm giả thịt. Khô đậu tương được sử dụng làm phụ gia của thức ăn chăn nuôi. Đậu tương có thể được sử dụng trong các ngành công nghiệp khác nhau từ sản xuất nấm men, kháng sinh đến sản xuất xà phòng và các chất tẩy rửa.

### ***Lịch sử sử dụng cây chủ làm thực phẩm, thức ăn chăn nuôi.***

Đậu tương có một lịch sử lâu dài cho việc sử dụng an toàn làm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Trung tâm khởi điểm nguồn gen và thuần hoá ban đầu của đậu tương là miền trung Trung Quốc. Việc thuần hoá đậu tương được bắt đầu từ Thời đại nhà Thương trong những năm 1700 đến năm 1000 trước công nguyên. Sau đó đậu tương được lan truyền từ Trung Quốc đến các khu vực khác của Đông Nam và Trung nam Châu Á từ thế kỷ thứ nhất đến thế kỷ thứ 15 và 16 sau công nguyên. Ngày nay, đậu tương được trồng thương mại ở hơn 35 quốc gia trên thế giới.

Đậu tương được trồng chủ yếu để lấy hạt, với mục đích chính là cung cấp dầu thực vật ăn được và protein cho chăn nuôi. Sản phẩm chính từ đậu tương được sử dụng trong thực phẩm là dầu tinh chế và các sản phẩm từ dầu tinh chế như bơ thực vật, các loại shortening, và các loại dầu nấu, dầu salad. Đậu tương cũng được sử dụng trong nhiều loại thực phẩm khác nhau, gồm có đậu phụ, nước tương, sữa mô phỏng (simulated milk) và các sản phẩm thịt mô phỏng (giả thịt). Khô đậu tương được sử dụng làm phụ gia của thức ăn chăn nuôi. Đậu tương có thể được sử dụng trong các ngành công nghiệp khác nhau từ sản xuất nấm men, kháng sinh đến sản xuất xà phòng và các chất tẩy rửa.

## **PHẦN III. THÔNG TIN LIÊN QUAN TỚI SINH VẬT CHO GEN**

### **1. Tên sinh vật cho gen**

- a. Tên thường gọi: *Streptomyces*
- b. Tên khoa học: *Streptomyces viridochromogenes*
- c. Vị trí phân loại: Họ Streptomycetae

### **2. Thông tin liên quan**

## *Lịch sử tự nhiên liên quan tới việc sử dụng an toàn trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi*

*Streptomyces viridochromogenes*, thuộc về họ Streptomycetaceae, là vi khuẩn gram dương, hiếu khí, thường là loại vi khuẩn hoại sinh có thể tạo bào tử và tồn tại phổ biến trong đất. *S. viridochromogenes* bản thân nó không phải là vi khuẩn gây bệnh cho con người cũng như không có các đặc điểm gây hại cho con người (ví dụ như sinh độc tố) (Bergey 1995 M-135197-01-1). *Streptomyces viridochromogenes* được biết đến không phải là chủng gây dị ứng và gây độc. Nhiều thành viên của loài này được sử dụng để sản xuất các kháng sinh sử dụng trong y học (Freyssinet 2002 M-208497-01-1). *Streptomyces viridochromogenes* không được sử dụng cho mục đích thực phẩm mặc dù nó có thể được tìm thấy trong thực phẩm (do đi vào thực phẩm một cách không chủ đích) mà không gây nguy hại nào (Freyssinet 2002 M-208497-01-1).

### *Chất kháng dinh dưỡng, độc tố và chất gây dị ứng tự nhiên*

*S. viridochromogenes* được biết đến là loài không gây bệnh cho con người và không có những đặc tính có ảnh hưởng xấu tới con người như gây độc (Bergey 1995 M-135197-01-1). Streptomycetaceae phân bố rộng rãi trong môi trường đất và nước. Hầu hết là nhóm vi sinh vật hoại sinh. Cho tới nay, có rất ít thông tin về vai trò của Streptomyces trong môi trường tự nhiên mặc dù sự tồn tại của chúng cũng như số lượng trong các quần thể là rất lớn. Đất, cỏ khô và phân ủ là các nguồn chính chứa nhiều Streptomyces. Tuy vậy, một số loài có thể sống ký sinh trên cây trồng và động vật.

Mặc dù họ Streptomycetaceae thường được coi là hiếu khí bắt buộc nhưng chúng có thể phát triển trong đất ở nồng độ oxy thấp, trừ khi lượng khí CO<sub>2</sub> lớn hơn 10%. Trong đất khô, lượng Streptomyces giảm, nhưng bào tử của chúng có thể chống chịu với điều kiện khô hạn hơn tế bào sinh dưỡng, do vậy chúng có thể tồn tại.

*Streptomyces viridochromogenes* được biết đến là chủng không gây dị ứng và không gây độc. Ngoài ra, các thành viên của nhóm này có thể tạo ra các kháng sinh hữu ích trong y học (Freyssinet 2002 M-208497-01-1).

*S. viridochromogenes* và các loài *Streptomyces* có mặt phổ biến trong tự nhiên. Chúng là một thành phần của môi trường sinh thái trên toàn cầu và rất ít loài *Streptomyces* liên quan tới bệnh cho con người, động vật và cây trồng. Có rất nhiều loài *Streptomyces* tương tự với *S. viridochromogenes* và rất nhiều trong số chúng mang gen *pat* tương đồng nhau. Theo Kutzner, không có gen *pat* nào từ các loài được báo cáo có thể gây dị ứng và gây bệnh cho con người và động vật (1981 M-204308-01-1).

Trong họ Streptomycetae, một vài loài *Streptomyces* được phân lập từ động vật và con người và chúng không mang các đặc tính gây bệnh.

*Thông tin về việc đã và đang sử dụng (nếu có) trong chuỗi thực phẩm, thức ăn chăn nuôi và con đường phơi nhiễm khác ngoài sử dụng có chủ đích*

Streptomycetes được biết đến là có thể sản xuất enzyme quy mô *in vitro*. Các đặc tính phân giải của Streptomycetes được biết đến nhiều nhưng vai trò về mặt sinh thái của nó vẫn cần làm sáng tỏ. Streptomycetes thường được coi là hoạt động nhất trong các giai đoạn đầu của quá trình phân giải thực vật và các vật liệu, đóng vai trò quan trọng để chuyển hoá các polymer tương đối phức tạp và khó phân giải. Người ta đã chứng minh một số chủng Streptomycetes tác động với cả thành phần cellulose và lignin trong vật liệu lignocelluloses. Streptomycetes có khả năng phân giải các polymer có mặt trong tự nhiên như chitin, hemicellulose, keratin, pectin, và vật liệu tạo thành thành tế bào nấm mốc.. Streptomycetes cũng tham gia vào quá trình phân giải thuốc trừ cỏ, chất dẻo tổng hợp, tannin và axit humic. Bào tử của Streptomycetes được rửa trôi vào trong nước sạch và môi trường biển do vậy Streptomycetes được phân bố rộng rãi trong quần thể nước (Bergey, 1995 M-135197-01-1).

#### PHẦN IV. THÔNG TIN VỀ THỰC VẬT BIẾN ĐỔI GEN

##### *Quá trình biến đổi gen*

Gen *pat* được đưa vào có nguồn gốc từ loài vi khuẩn *Streptomyces viridochromogenes*, mã hoá cho protein phosphinothricin-N-acetyltransferase (PAT) để chuyển hoá glufosinate (*D,L-phosphinothricin*) thành một dẫn xuất acetyl hoá bất hoạt. Enzyme PAT acetyl hoá phosphinothricin tại đầu N (N-terminus). N-acetyl phosphinothricin không mang hoạt tính trừ cỏ, do đó sự chống chịu có được là nhờ biến đổi thuốc trừ cỏ hơn là tác động vào đối tượng của nó. Chính vì thế, khi được biểu hiện, gen *pat* sẽ tạo ra khả năng chống chịu thuốc trừ cỏ chứa glufosinate-ammonium (GA).

##### *Thông tin về phương pháp chuyển gen*

Công ty Agracetus, Inc., Middleton, Wisconsin tạo ra sự kiện chuyển gen vào đậu tương A2704-12 bằng sử dụng phương pháp bắn hạt gia tốc. Khi sử dụng phương pháp này các ADN được bọc trên các hạt vàng/wolfram có kích thước nhỏ. Các hạt nhỏ này được đặt trên một đĩa mang phía bên trong và sau đó được tăng tốc để phóng đến một màng chắn bằng thép không gỉ. Màng chắn này làm dừng đĩa hạt lại nhưng cho phép các hạt ADN bọc vàng hay wolfram tiếp tục bay. Các hạt ADN xuyên vào tế bào chủ đích, nhờ đó ADN được đưa vào và có mặt trong hệ gen của cây trồng. hệ gen của cây chủ. Các tế bào được thúc đẩy tạo chồi trên môi trường nuôi cấy mô có mang hormone thực

vật. Chồi được phát triển từ các tế bào chuyển gen có biểu hiện kiểu hình được mã hoá bởi gen được quy định nhờ các ADN mới chèn vào. Sự biểu hiện của protein PAT được xác định thông qua việc phun lên lá trong môi trường axenic mang thuốc trừ cỏ GA. Các cây còn tồn tại được chuyển trồng trên đất, phát triển trong nhà kính và được sàng lọc lại dựa trên tính kháng với thuốc trừ cỏ GA (*McCabe et al., 1988 M-284889-01-1*).

#### *Miêu tả các đặc điểm hình thái của tính trạng mới*

Sự biểu hiện của gen *pat* giúp cây có khả năng chống lại thuốc trừ cỏ GA. Khi cây tiếp xúc với thuốc GA, cây trồng chuyển gen tiếp tục sinh trưởng trong khi các cây truyền thống không mang gen chuyển sẽ bị héo và có thể chết (*Freyssinet, 2002 M-208497-01-1*). Glufosinate ammonium (D,L-phosphinothricin ammonium) là thành phần hoạt tính của thành phần thuốc trừ cỏ GA đã được thương mại hoá trên thế giới. Enzyme PAT acetyl hoá phosphinothricin tại đầu N (N-terminus). N-acetyl phosphinothricin không mang hoạt tính trừ cỏ, do đó sự chống chịu có được là nhờ biến đổi thuốc trừ cỏ hơn là tác động vào đối tượng của nó. Chính vì thế, khi được biểu hiện, gen *pat* sẽ tạo ra khả năng chống chịu thuốc trừ cỏ chứa glufosinate-ammonium (GA).

Gen *pat* biểu hiện trong cây giúp cây chống chịu lại việc phun thuốc trừ cỏ GA. Khi tiếp xúc với thuốc trừ cỏ GA, cây trồng chuyển gen sẽ tiếp tục phát triển bình thường, trong khi các cây đối chứng không mang gen chuyển sẽ bị khô héo và chết (*Freyssinet, 2002 M-208497-01-1*). không có sự khác biệt về mặt hình thái và khả năng chống chịu sâu, bệnh hại của sự kiện này với đối chứng không chuyển gen. Hơn nữa, tỷ lệ phân ly mong muốn đã đạt được với một locus *pat* trội đơn. Ở những khảo nghiệm này, khi phun thuốc trừ cỏ, tất cả cây trồng đều thể hiện khả năng chống chịu với hàm lượng glufosinate cao, cho thấy gen này đã được hợp nhất bền vững và được biểu hiện.

#### *Bổ sung thông tin liên quan*

Không có sự thay đổi trong trình tự các axit amin của protein biểu hiện do quá trình chuyển gen. Trước khi chuyển gen, vector chuyển gen được phân giải với enzyme cắt hạn chế *PvuI* để làm gián đoạn trình tự mã hoá của gen  $\beta$ -lactamase và do đó loại bỏ mọi khả năng biểu hiện của gen *bla*. Trình tự của các gen chèn được trình bày ở phần IV.B.2.a phía trên. Trình tự ADN chèn vào trong A2704-12 là hoàn toàn đồng dạng với plasmid chuyển gen tương ứng pB2/35SAcK của trình tự ADN (*Berghman and De Beuckeleer, 2002 M-199535-02-1*).

Phần IV.B.2.d của Báo cáo đánh giá rủi ro thể hiện chi tiết nội dung này.

Tính trạng mới được biểu hiện bền vững qua nhiều thế hệ và theo các nguyên tắc di truyền.

Không tìm thấy protein PAT trong các mẫu đậu tương không chuyển gen, vì vậy không được báo cáo ở đây. Ngưỡng định lượng của phép xác định bằng ELISA được trình bày đầy đủ trong Báo cáo đánh giá rủi ro.

Dựa trên các đánh giá so sánh, A2704-12 và đối chứng không chuyển gen A2704 được xem là có đặc tính hình thái và nông học tương đương với nhau. Không có sự thay đổi về kiểu hình quan sát được, ngoại trừ khả năng chống chịu thuốc trừ cỏ được đưa vào có chủ đích (*Van Wert, 1998 M-181491-01-1*).

Không có protein dung hợp mới nào được xác định. Trình tự của các polypeptide mới có thể có được dịch mã từ ADN đã được phân tích bằng các công cụ tin sinh mới nhất dựa trên các cơ sở dữ liệu được cập nhật.

*Lịch sử sử dụng và cấp phép của sự kiện A2704-12 trên thế giới*

Đậu tương A2704-12 đã được cấp phép làm thực phẩm/thức ăn chăn nuôi hay trồng trọt tại 19 quốc gia

**Danh sách các quốc gia đã cấp phép cho đậu tương A2704-12.**

Quốc gia	Thực phẩm	Thức ăn chăn nuôi	Cấp phép	Cơ quan cấp phép
Hoa Kỳ	√	√	1996/1998	FDA, USDA
Hàn Quốc	√	√	2009	MFDS (KFDA); RDA
Argentina	√	√	2001/2004	SENASA
Nhật Bản	√	√	2002/2003	MHLW, MAFF
Australia / New Zealand	√	√	2004	FSANZ
Canada	√	√	2000	CFIA, CaH
Mexico	√	√	2003/2000	SdS
Trung Quốc	√	√	2007	MoA
Brazil	√	√	2010	CTNBio, CNBS
Philippine	√	√	2009	PhDA
Liên minh Châu Âu	√	√	2008	EFSA
Liên bang Nga (Belarus/Kazakhstan)	√	√	2002/2007	MHCSP, VGNKI
Đài Loan	√		2007	DOH



Uruguay	√	√	2012	AVA
Colombia	√	√	2001	DAFF
Ấn Độ	√	√	2012	NCBU
Malaysia	√	√	2012/2014	INVIMA, ICA
Brazil	√ (oil)	-	2014	GEAC
Philippine	√	√	2012	MoNRE; (Jabatan Biokeselamatan)

FDA: Bộ lương thực và thuốc Hoa Kỳ

USDA: Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ

MFDS: Bộ An toàn thực phẩm và thuốc, Hàn Quốc. (Tên gọi trước đây là

KFDA: Korea Food and Drug Administration)

RDA: Bộ Nông nghiệp nông thôn Hàn Quốc

SA-DA: Nam phi – Bộ Nông nghiệp

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad Agraria –

MHLW: Bộ Y tế, lao động và phúc lợi Nhật Bản

MAFF: Bộ nông nghiệp, lâm nghiệp và nghề cá

FSANZ: Cơ quan tiêu chuẩn thực phẩm

MOA: Bộ nông nghiệp

CFIA: Cơ quan kiểm tra thực phẩm Canada

CaH: Bộ Y tế Canada

PhDA: Bộ nông nghiệp Phiippine

INVIMA: Viện quốc gia thực phẩm và quản lý thuốc

ICA: Viện nông nghiệp Colombia

GEAC: Hội đồng thẩm định kỹ thuật di truyền

MHCSP: Bộ Y tế và xã hội

DOH: Bộ Y tế

EFSA: Cơ quan an toàn thực phẩm liên minh châu Âu

SdS: Secretaria de Salud

CTNBio: Hội đồng công nghệ quốc gia về an toàn sinh học

(Comissão Técnica Nacional de Biossegurança)

CNBS Hội đồng bộ trưởng

AVA: Cơ quan Nông nghiệp – Thú y Singapore

INVIMA: Institute Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos

ICA: Instituto Colombiano Agropecuario

VGNKI: Cơ quan dịch vụ liên bang giám sát về thú y và vệ sinh

Roselkhozadzor)

MoNRE: Bộ Tài nguyên và môi trường

## **PHẦN V. ĐÁNH GIÁ AN TOÀN CỦA ĐẬU TƯƠNG MANG SỰ KIẾN A2704-12 ĐỐI VỚI SỨC KHOẺ CON NGƯỜI VÀ VẬT NUÔI**

Các phân tích về thành phần và dinh dưỡng đã được tiến hành trên các sản phẩm nông nghiệp thô, hạt đậu tương, tính tương đương về thành phần hoá học trong hạt của đậu tương mang sự kiện A2704-12, đối chứng không chuyển gen của nó và các giống đậu tương thương mại đang có mặt trên thị trường được đánh giá.

Các chỉ tiêu được lựa chọn cho phân tích thành phần và dinh dưỡng là các thành phần dinh dưỡng cơ bản quan trọng đối với đậu tương. Đó là các thành phần proximate, chất xơ, các chất vi dinh dưỡng như vitamin và khoáng, tổng axit amin, tổng axit béo, các chất chống dinh dưỡng như axit phytic, các chất ức chế trypsin (được xác định là làm ức chế trypsin), các lectin (được định lượng qua hoạt tính ngưng kết hồng cầu), stachyose và raffinose, các isoflavone như các thành phần hoạt tính sinh học.

Việc so sánh với các khoảng tham khảo trong tài liệu, mặc dù thiếu những thông tin về các giống đậu tương đang được kiểm tra, nhưng cũng vẫn có giá trị để chứng tỏ rằng hạt từ đậu tương mang sự kiện A2704-12 cho các giá trị dinh dưỡng tương đương như các loại hạt đậu tương khác hiện đang sử dụng trên thị trường. Khoảng giá trị tham khảo được xây dựng từ các tài liệu tham khảo có giá trị.

Dựa trên đánh giá tổng kê các dữ liệu phân tích và một đánh giá về ảnh hưởng tới dinh dưỡng từ các quan sát khác, việc khẳng định hạt từ đậu tương mang sự kiện A2704-12 có thành phần và dinh dưỡng tương đương với hạt từ đậu tương đối chứng truyền thống không chuyển gen tiếp tục được khẳng định. Việc chuyển gen không gây ra có sự ảnh hưởng nào tới giá trị dinh dưỡng của hạt đậu tương (Oberdoerfer 2008 M-220241-04-1).

### *Đánh giá tính tương đương về thành phần và dinh dưỡng giữa đậu tương A2704-12 và đối chứng không chuyển gen của nó A2704*

Trong các phân tích theo điểm khảo nghiệm, đối với hầu hết các thành phần proximate cho thấy có sự tương đương giữa các mẫu thuộc nhóm không chuyển gen và hai nhóm chuyển gen (trừ thành phần độ ẩm và chất xơ). Tương tự như vậy với các chất khoáng như photpho, kali và magiê, các axit amin và hầu hết các loại axit béo (trừ các thành phần chất béo gadoleic [C20:1], behenic [C22:0] và axit erucic [C22:1]), các loại chất chống dinh dưỡng như axit phytic và stachyose. Đối với một số thành phần có thể kết luận được như vậy trong từng so sánh ở các điểm trồng riêng lẻ.

Đối với các thành phần độ ẩm, ADF, NDF, canxi, natri, sắt, và các vitamin và các axit béo như C20:1, C22:0 and C22:1, raffinose, các chất ức chế trypsin, lectin và

các isoflavone, kết quả phân tích theo điểm không làm thay đổi nhận định về sự tương đương về thành phần và dinh dưỡng với các lý do:

- Tổng hợp các kết quả từ phân tích theo từng điểm không tìm thấy xu hướng nào cho các kết quả phụ hay chính có thể quan sát được đối với thành phần canxi, natri, vitamin E và các axit béo C20:1, C22:0 và C22:1, các ức chế trypsin, các kết quả lectin (từ phòng thí nghiệm Covance), và các isoflavone.
- ‘Sự không tương đương’ cũng tìm thấy giữa hai nhóm biến đổi gen.
- Phân tích tổng thể trên tất cả các điểm cho thấy sự tương đương về các thành phần độ ẩm, ADF, NDF, canxi, natri, sắt, vitamin B1 và B2, các axit béo C20:1 và C22:0, raffinose và các chất ức chế trypsin.
- Các kết quả phân tích nằm trong khoảng giá trị tham khảo. Các chỉ tiêu ADF, axit folic, lectin nhỏ hơn khoảng tham khảo, trong khi đó aglycone isoflavone lại lớn hơn khoảng tham khảo. Ngoại trừ axit folic, sự sai khác này xảy ra với cả 3 nhóm xử lý. Trong trường hợp axit folic, các mẫu từ cây chuyển gen có hàm lượng vitamin tốt hơn so với giá trị thông thường trong hạt đậu tương.
- Sự khác biệt tuyệt đối giữa các giá trị phân tích ở 3 nhóm xử lý là rất nhỏ nên không có không liên quan đến dinh dưỡng. Điều này đúng với lectin, vì hàm lượng này ở tất cả các nhóm xử lý đều thấp hơn đáng kể so với các giống đậu tương khác.

Dựa vào các đánh giá thống kê các dữ liệu phân tích và sự liên quan về mặt dinh dưỡng của kết quả thu được, hạt của đậu tương mang sự kiện A2704-12 có thành phần và dinh dưỡng tương đương với đối chứng truyền thống không chuyển gen của nó là đậu tương giống A2704. Không có sự tác động của việc chuyển gen đến thành phần và giá trị dinh dưỡng

#### So sánh với khoảng giá trị tham khảo

Việc so sánh kết quả thu được từ tất cả các điểm, loại bỏ sự ảnh hưởng của môi trường ở từng điểm đơn lẻ đã được tiến hành. Các so sánh được lặp lại chỉ với những thành phần có sự khác biệt giữa nhóm các mẫu xử lý chuyển gen và nhóm các mẫu không chuyển gen bằng kiểm định (ví dụ: protein thô, các axit béo C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0 và C22:0) và chất chống dinh dưỡng raffinose.

Đánh giá thống kê dữ liệu thành phần của hạt đậu tương A2704-12 so với đối chứng không chuyển gen A2704 đưa ra kết luận sau: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong hầu hết so sánh theo điểm giữa hai hay 3 nhóm phương pháp xử lý đã được xác định gồm có protein thô, một số axit béo, và chất chống dinh dưỡng raffinose.

Các kết quả này không thể kiểm chứng lại được, do sự tương tác qua lại đáng kể giữa 2 yếu tố điểm khảo nghiệm và phương pháp xử lý đã được xác định ( $p < 0.05$ )

Kết quả kiểm định t-test sự khác nhau được so sánh với các phân tích tương đương sinh học. Chỉ có duy nhất sự khác biệt trong các chỉ tiêu axit behenic (C22:0) và raffinose là tương tự. Nhìn chung, các kiểm tra tương đương sinh học phát hiện nhiều sự không tương đương giữa các nhóm dữ liệu.

Thêm vào đó, một so sánh được tiến hành giữa các giá trị trung bình được tính toán từ các kết quả phân tích thành phần của các chất có khác biệt với kiểm định t-test và các dữ liệu tham khảo từ các hướng dẫn hóa học có giá trị. Tất cả các giá trị được xác định tại 3 nhóm xử lý đều nằm trong khoảng các giá trị tham khảo. Điều này cho thấy đậu tương A2704-12 có thành phần và dinh dưỡng tương đương với các giống đậu tương hiện tại đang thương mại hoá trên thị trường.

Dựa trên việc đánh giá thống kê này của các dữ liệu phân tích và đánh giá ảnh hưởng về mặt dinh dưỡng đối với một số khác biệt, kết luận trước đó về sự tương đương về thành phần và dinh dưỡng của hạt đậu tương A2704-12 với đối chứng không chuyển gen đã được khẳng định. Không có ảnh hưởng nào của việc biến đổi di truyền đến các giá trị dinh dưỡng trong hạt đậu tương mang gen chuyển.

Tóm lại, các phân tích thành phần và dinh dưỡng trong các sản phẩm nông nghiệp thô rom và thân, các sản phẩm chế biến như protein tách chiết, dầu tinh và lecithin thô không có thấy bất kỳ sự khác biệt nào vượt quá mức tương đương sinh học 20% so với các giá trị của đối chứng không chuyển gen ở tất cả các thành phần phân tích. Trong các phân tích về thành phần trong vỏ đậu tương, hàm lượng chất béo thô có sự khác biệt và trong các mẫu khô đậu tương, thành phần ức chế trypsin và hoạt tính hemagglutination cũng có sự khác nhau, điều này không tìm thấy trong các mẫu đậu tương khác hay có ảnh hưởng dinh dưỡng rất thấp, do sự khác biệt là khá nhỏ khi so sánh với các giá trị lớn hơn nhiều trong tài liệu tham khảo.

Hàm lượng protein PAT được phân tích trong các sản phẩm nông nghiệp thô của đậu tương (như hạt, rom và thân) và các sản phẩm từ hạt đậu tương. Sự biểu hiện của protein PAT trong kết quả nghiên cứu là rất nhỏ và không thể phát hiện được trong các sản phẩm như khô đậu tương có sấy, lecithin thô, dầu đậu tương tinh luyện, dầu đậu tương tinh tẩy màu và mùi.

Dự kiến hàm lượng protein PAT hấp thụ hàng ngày đã được tính toán cho một số vùng như Hoa Kỳ, Trung Đông, Viễn Đông và Châu Phi. Dự tính là khoảng từ 0.2 to 5.6  $\mu\text{g}/\text{người}/\text{ngày}$ .

Các dữ liệu và kết quả thu được cho phép Bayer CropScience đưa đến kết luận ‘không có quan ngại’ về an toàn và dinh dưỡng đối với đậu tương chống chịu glufosinate A2704-12 và các thế hệ đời sau của nó. Nghiên cứu đã cho thấy đậu tương A2704-12 tương đương về thành phần và dinh dưỡng với đối chứng không chuyển gen, là dòng đậu tương bố mẹ A2704, và tương đương với các giống đậu tương hiện đang thương mại hoá trên thị trường (Oberdoerfer, 2008 M-220241-04-1).

**Khả năng chuyển hóa các thành phần dinh dưỡng, đặc biệt là các chất mới là sản phẩm biểu hiện của gen chuyển nếu được sử dụng làm thực phẩm, thức ăn chăn nuôi.**

Protein PAT được biết đến là một loại protein không gây độc cho con người và động vật. Trong các quá trình chế biến đậu tương truyền thống, protein PAT không có xu hướng tăng lên. Trong các tài liệu tham khảo, protein PAT không liên kết với các chất gây độc trên con người và động vật. Trong thực vật, loại protein này chỉ biểu hiện ở hàm lượng rất nhỏ và do đó, không có bất kỳ thay đổi nào về thành phần dinh dưỡng được phát hiện. Protein PAT là loại protein không bền nhiệt và dễ bị phân cắt bởi các protease. PAT nhanh chóng bị phân huỷ trong dịch tiêu hoá của động vật và trong dịch dạ dày mô phỏng của con người. Protein PAT không liên kết với các chất gây độc và trình tự các axit amin của nó không tương đồng với bất kỳ chất gây độc hay gây dị ứng đã biết nào. Bất kỳ protein PAT ở dạng nào trong cây hay trong các sản phẩm chế biến từ cây đều rất nhanh chóng bị phân huỷ.

**Khả năng gây độc tố của các chất mới là sản phẩm biểu hiện của gen chuyển nếu được sử dụng làm thực phẩm, thức ăn chăn nuôi**

Các kết quả tìm kiếm tương đồng epitope chỉ ra không có sự giống nhau với các epitope từ các protein gây dị ứng đã biết. Ngoài ra, việc tìm kiếm tổng thể với các đoạn 80 axit amin cũng không chỉ ra những tương tự về trình tự giữa protein PAT và các protein gây dị ứng trên cơ sở dữ liệu AllergenOnline. Không có điểm N-glycosyl hóa tiềm ẩn nào được xác định trên trình tự axit amin của Protein PAT.

Tóm lại, không có sự tương đồng có ý nghĩa về trình tự axit amin với các protein gây dị ứng đã biết chỉ ra rằng xác suất Protein PAT mang các đặc tính gây dị ứng là rất thấp (Pecoraro-Mercier, 2014 M-266573-06-1).

Với cách tiếp cận *in silico* cho phép dự đoán điểm N-glycosyl hóa thường được tìm thấy trên một phân tử chất gây dị ứng. Các kết quả đã chỉ ra rằng, các vị trí như vậy cho quá trình glycosyl hóa sau dịch mã không được tìm thấy trên trình tự protein PAT (Pecoraro-Mercier, 2014 M-266573-06-1). Do đó, từ phân tích này có thể thấy rất khó

có khả năng Protein PAT sẽ được glycosyl hóa trong cây trồng (Pecoraro-Mercier, 2014 M-266573-06-1).

Trình tự axit amin của protein PAT không thể hiện bất kỳ khả năng gây dị ứng nào của chúng.

Protein PAT bị phân giải nhanh chóng, trong 5 phút ủ. Tại 5 phút ủ, dưới 10% Protein PAT còn lại trong SIF (pH 7.5), với sự có mặt của pancreatin. Các đoạn sản phẩm còn lại, khoảng 5 đến 14 kDa được phân giải hoàn toàn sau 10 phút ủ và không thể phát hiện được kể cả với Western blot vốn có độ nhạy cao. Sự phân giải có liên quan tới sự có mặt của pancreatin trong dịch SIF (Rasclé, 2009a M-214021-03-1).

Các kết quả trên chứng tỏ sự an toàn của protein PAT cho con người và động vật sử dụng bởi sự phân giải nhanh chóng của protein này sẽ giảm thiểu khả năng protein này có thể tồn tại trong hệ thống tiêu hóa và hấp phụ gây ra các phản ứng dị ứng.

Nghiên cứu cho thấy, sự có mặt của protein PAT chắc chắn sẽ không gây ra các vấn đề về dị ứng.

*khả năng hình thành các hợp chất mới, khả năng gây bệnh hoặc các tác động bất lợi khác đến sức khỏe con người và vật nuôi.*

Ngoại trừ sự biểu hiện có chủ đích của phosphinothricin acetyltransferase (PAT) thành phần của đậu tương A2704-12 là tương đương với đối chứng không chuyển gen là dòng bố mẹ A2704 và các giống đậu tương thương mại. Các chỉ tiêu về thành phần (protein, béo, xơ, tro, cacbon hydrat và độ ẩm), chỉ tiêu về dinh dưỡng (axit amin, axit béo, khoáng, stachyose, raffinose, ức chế trypsin, lectin, phytoestrogen, axit phytic, isoflavones, phosphatides, và các dị ứng nội sinh) cho thấy mức của chúng trong các sản phẩm nông nghiệp thô từ đậu tương A2704-12 vỏ, khô đậu, protein tách chiết, dầu thô, dầu tinh, dầu tủy, lecithin thô được định tính và định lượng tương đương với các khoảng giá trị tham khảo từ các tài liệu đã được công bố (Oberdoerfer 2008 M-220241-04-1). Không có bằng chứng nào cho thấy sự thay đổi hay tạo ra các thành phần mới có thể gây bệnh hoặc gây ra các ảnh hưởng bất lợi tới con người và vật nuôi (ví dụ: ảnh hưởng có thể có từ chế biến, sự thay đổi trong chất lượng dinh dưỡng, chức năng dinh dưỡng, tích tụ thành phần mới, chỉ thị của gen cho kháng kháng sinh). Các kết quả chi tiết được trình bày ở Phần V.1 và V.4 ở trên

*Kết luận đánh giá về ảnh hưởng đến dinh dưỡng của đậu tương mang sự kiện chuyển gen A2704-12 chống chịu glufosinate ammonium*

Các đánh giá đã được tiến hành để xác định tính tương đương về thành phần và dinh dưỡng của đậu tương chống chịu glufosinate A2704-12 với đối chứng không chuyển gen, đậu tương giống A2704 và các giống đậu tương thương mại đang có mặt trên thị trường. Đậu tương hoặc là làm thực phẩm cho con người hoặc thức ăn chăn nuôi, do đó, hạt, rơm, thân và các sản phẩm chế biến từ đậu tương (vỏ, khô đậu không và có sậy, protein tách chiết, dầu tinh và dầu tẩy và lecithin thô) đã được phân tích thành phần.

Các phân tích thành phần và dinh dưỡng của các sản phẩm nông nghiệp thô được tiến hành từ mẫu tại 9 điểm khảo nghiệm trong hai năm khác nhau, cung cấp một bộ số liệu đầy đủ và mạnh mẽ để bù vào cho những ảnh hưởng của môi trường giữa các điểm và cho phép tiến hành một đánh giá thống kê để chứng minh sự tương đương giữa hạt đậu tương A2704-12 của cây được phun Liberty® hay cây không được phun thuốc Liberty® và đối chứng không chuyển gen dòng A2704.

Các thành phần được lựa chọn để phân tích là các chất dinh dưỡng cơ bản đặc trưng cho đậu tương. Đó là các proximate, chất khoáng, các vitamin, các axit amin, axit béo, các chất chống dinh dưỡng nhưng stachyose, raffinose, axit phytic acid, các chất ức chế trypsin, các lectin, và thành phần hoạt tính sinh học như isoflavone và phosphatid.

Kết luận về các phân tích thành phần của hạt đậu tương A2704-12 khi so sánh với đối chứng không chuyển gen là đậu tương giống A2704, và so sánh giữa các giá trị phân tích với phổ tham khảo từ các hướng dẫn về hoá học được biết đến là:

- Đậu tương A2704-12 có thành phần và dinh dưỡng tương đương với đối chứng không chuyển gen của nó và với các giống hiện đang thương mại hoá. Sự thay đổi di truyền không làm ảnh hưởng đến giá trị dinh dưỡng của nó.
- Hầu hết các giá trị phân tích đều nằm trong phổ tham khảo. Độ lệch so với phổ báo cáo được tìm thấy ở một số chỉ tiêu như chất xơ tẩy rửa axit ADF, axit folic, lectin và isoflavone aglycone. Trừ thành phần axit folic, sự khác biệt này xảy ra ở cả ba nhóm xử lý. Trong trường hợp của axit folic, các mẫu từ đậu tương chuyển gen thể hiện theo đúng hàm lượng vitamin thông thường trong hạt đậu tương.
- Các phân tích thành phần và dinh dưỡng trong rơm đậu tương, thân, protein tách chiết, lecithin thô không có sự khác biệt nào vượt quá chỉ số tương đương sinh học 20% các giá trị của đối chứng không chuyển gen của tất cả các thành phần phân tích. Trong phân tích của vỏ đậu tương, thành phần béo thô cũng như thành phần ức chế trypsin và hoạt tính ngưng kết hồng cầu

trong các mẫu khô đậu tương có sự khác nhau, sự khác nhau này không được tìm thấy ở bất kỳ ma trận nào khác hay có ảnh hưởng rất nhỏ đến mặt dinh dưỡng, do sự khác biệt này là rất nhỏ khi so sánh với các giá trị lớn hơn hơn nhiều trong tài liệu tham khảo.

- Hàm lượng của protein PAT đã được phân tích trong các sản phẩm nông nghiệp thô (hạt, rom và thân) và trong các sản phẩm đậu tương. Biểu hiện của protein PAT là rất thấp và không thể tìm thấy trong khô đậu có sậy, lecithin thô, dầu tinh, và dầu tinh lọc có khử mùi.
- Hàm lượng protein PAT dự tính hấp thụ theo chế độ dinh dưỡng hàng ngày đã được tính toán cho các vùng Hoa Kỳ, Trung Đông, Viễn Đông và Nam Phi. Hàm lượng này nằm khoảng từ 0.2 – 5.6 µg/người/ngày.

Kết quả nghiên cứu và dữ liệu thu được cho phép Bayer CropScience đưa đến kết luận rằng ‘không có quan ngại’ đối với an toàn thực phẩm và dinh dưỡng khi sử dụng đậu tương mang sự kiện chuyển gen chống chịu glufosinate A2704-12 và các thế hệ con của nó. Báo cáo đã chứng minh được rằng đậu tương chống chịu glufosinate A2704-12 có thành phần và dinh dưỡng tương đương với đối chứng không chuyển gen, là giống A2704, và các giống đậu tương thương mại hiện có mặt trên thị trường (*Oberdoerfer 2008 M-220241-04-1*).

Trong các quốc gia đánh giá đặc biệt thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật biến đổi gen, đậu tương mang sự kiện A2704-12 đã được cấp phép cho việc sử dụng làm thực phẩm tại: Hoa Kỳ, Canada, Argentina, Hàn Quốc, Nhật Bản, Đài Loan, Australia, New Zealand, Philippines, Liên minh châu Âu, Brazil, Colombia, Malaysia, Mexico, Uruguay, Trung Quốc, Singapore, Nam Phi, Ấn độ (dầu) và Nga (gồm cả Kazakhstan và Belarus).

Trong các quốc gia đánh giá đặc biệt thức ăn chăn nuôi có nguồn gốc từ thực vật biến đổi gen, đậu tương mang sự kiện A2704-12 đã được cấp phép cho việc sử dụng làm thực phẩm tại: Hoa Kỳ, Canada, Argentina, Hàn Quốc, Nhật Bản, Philippines, Liên minh châu Âu, Brazil, Colombia, Malaysia, Mexico, Uruguay, China, Singapore, Nam phi và Nga (gồm cả Kazakhstan và Belarus).

Do đó, chúng tôi có thể kết luận rằng “không có quan ngại” gì về an toàn và dinh dưỡng của đậu tương mang sự kiện A2704-12 và các thế hệ con của nó cho con người, cây trồng hay động vật. Đậu tương A2704-12 là an toàn như đậu tương được chọn tạo từ các phương pháp truyền thống.

## **PHẦN VI. ĐỀ XUẤT CÁC BIỆN PHÁP QUẢN LÝ RỦI RO CỦA THỰC VẬT BIẾN ĐỔI GEN ĐỐI VỚI SỨC KHỎE CON NGƯỜI VÀ VẬT NUÔI**



Bayer CropScience đã tiến hành đánh giá rủi ro của thực vật chuyển gen và thực phẩm, thức ăn chăn nuôi có nguồn gốc từ đậu tương A2704-12. Không mối nguy tiềm ẩn nào liên quan tới sự biến đổi gen của A2704-12 được xác định.

Kết luận về đánh giá rủi ro cho thấy không có ảnh hưởng bất lợi nào được tìm thấy và do đó không cần một kế hoạch giám sát liên quan tới việc nhập khẩu đậu tương chống chịu thuốc trừ cỏ A2704-12

Kế hoạch giám sát đề xuất để đưa việc giám sát chung các ảnh hưởng bất lợi có thể có, lập tức hay chậm trễ, trực tiếp hay gián tiếp của đậu tương chuyển gen A2704-12 đến sức khỏe của con người và môi trường.

## **PHẦN VII. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

Không có rủi ro liên quan đến đậu tương chuyển gen A2704-12 nào được tìm thấy, do đó không cần phải có kế hoạch để quản lý sau thương mại A2704-12 làm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

Đối chứng truyền thống được sử dụng trong phân tích so sánh. Việc thay đổi di truyền có chủ đích là tăng lợi ích về mặt nông học, không làm thay đổi các thành phần dinh dưỡng hay giá trị của chúng. Không có quan ngại có chủ đích nào liên quan đến sức khỏe của con người. Thực phẩm và thức ăn chăn nuôi có nguồn gốc từ A2704-12 sẽ không thay thế hay làm thay đổi thực phẩm và thức ăn chăn nuôi truyền thống. A2704-12 không mang những đặc điểm đặc biệt nào làm tăng chế độ dinh dưỡng khi so sánh với đậu tương truyền thống. Không có bằng chứng nào cho thấy về lâu dài người Việt sẽ bị ảnh hưởng về dinh dưỡng và sức khỏe với những sản phẩm thực phẩm có nguồn gốc từ A2704-12.

TP Biên Hòa, ngày      tháng      năm 2015

**Tổ chức đăng ký**

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anon. 2014. How soybeans are used. 3 pages, M-493248-01-1
- Bates, E. 2006. Bioinformatics analysis of the 5- and 3-prime flanking sequences of *Glycine max* transformation event A2704-12, including the pre-insertion locus. 17 pages, M-271071-01-1
- Bergey's Manual. 1995. Systematic Bacteriology Volume 4, SECTION 29, Romano Locci: Streptomyces and Related Genera. pp 2451-2492, M-135197-01-1
- Berghman, S. and M. De Beuckeleer. 2002. Determination of inserted transgenic sequences in *Glycine max* elite event A2704-12. 29 pages, M-199535-02-1
- Blanck, M. 2014. PAT/*pat* protein: Acute toxicity by oral gavage in mice. 65 pages, M-475440-01-1
- Buettcher, V. 2013. Update information for the study 'Transformation system and genetic characterization of glufosinate resistant soybean event A2704-12. 29 pages, M-181427-06-1
- Buettcher, V. 2014. Global soybean production and import. 12 pages, M-295548-05-1
- Capt, A. 2011. Soybean transformation event A2704-12 (LibertyLink®) - *In silico* safety assessment of open reading frame (ORF) putative sequences. 441 pages, M-265723-03-1
- Currier, T. and K. Hendrickx. 2006. Structural and functional equivalence of PAT/*pat* protein produced in *Escherichia coli* and A2704-12 soybean, *Glycine max*. 25 pages, M-229533-02-1
- Currier, T. C. 2006. Molecular demonstration of the stability of soybean A2704-12 transformation event in different backgrounds and over different generations. USA 2004. 32 pages, M-249477-02-1
- De Beuckeleer, M. 2004. Description of the amino acid sequence of the PAT protein encoded from the *pat* gene. 5 pages, M-135134-03-1
- De Beuckeleer, M. and J. Botterman. 1999. Molecular determination of the number of inserted *pat* and *bla* gene copies in LibertyLink® *Glycine max* event A2704-12. 25 pages, M-142921-02-2
- Del Solar, G., R. Giraldo, M. J. Ruiz-Echevarría, M. Espinosa and R. Díaz-Orejas. 1998. Replication and control of circular bacterial plasmids. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(2): 434-46432, M-498903-01-1
- DePestel, K. 2006. Update of the bioinformatics analysis of newly created ORFs from soybean transformation event A2704-12, M-272685-01
- Freyssinet, M. 2002. General description of the bacterial gene *pat* and its gene product PAT as used for producing plants with a genetically-based tolerance to Liberty® herbicide, 24 pages, M-208497-01-1
- Gielen J., M. De Beuckeleer, J. Seurinck, H., Deboeck, H. De Greve, M. Lemmers, M. Van Montagu and J. Schell 1984. The complete nucleotide sequence of the TL-DNA of the *Agrobacterium tumefaciens* plasmid pTiAch5. *The EMBO Journal*. 3(4): 835-846. 12 pages, M-147629-01-1

- Habex, V. 2009. Analysis of the nature of the flanking sequences from *Glycine max* event A2704-12: Updated report. 24 pages, M-216246-02-1.
- Habex, V. 2010. Bioinformatics analysis of newly created ORFs from soybean transformation event A2704-12, M-249481-02-1
- Heffron, F., R. Sublett, I. R. W. Hedges, A. Jacob, and S. Falkow. 1974. Origin of the TEM *beta-lactamase* gene found on plasmids. J. Bacteriol. Apr. 1975:250-256, M-212278-01-1
- Herouet, C., Esdaile D.J., Mallyon B.A., Debruyne E., Schulz A., Currier T., Hendrickx K., Van der Klis R.-J., Rouan D., 2005. Safety evaluation of the phosphinotricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 41:134-149. 16 pages, M-247779-01-1
- Hui, H. Y. 1992. Soybeans and soybean processing. 8 pages, M-204737-01-1
- International Life Sciences Institute (ILSI) Research Foundation. 2011. A review of the environmental safety of the PAT protein. 21 pages, M-411628-01-1
- Kutzner, H. J., 1981. The Family Streptomycetaceae. 63 pages, M-204308-01-1
- Moens, S. 2012. Description of vector pB2/35SAcK (amended report). 15 pages, M-143015-04-2
- Moens, S. and V. Habex. 2006. Update of the 5' flanking sequences and description of the pre-insertion locus of *Glycine max* transformation event A2704-12. 23 pages, M-271146-01-1
- Oberdoerfer, R. 2008. Amendment to the nutritional impact assessment report on LibertyLink® soybean transformation event A2704-12. 273 pages, M-220241-04-1
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). 2012. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]: Key food and feed nutrients, antinutrients, toxicants and allergens. 48 pages, M-232784-02-1
- Pecoraro-Mercier, C. 2014. PAT/*pat* protein: Amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins. 82 pages, M-266573-06-1
- Rasclé, J.B. 2009a. PAT/*pat* protein: *In vitro* digestibility study in human simulated intestinal fluid, 37 pages, M-214021-03-1
- Rasclé, J.B. 2009b. PAT/*pat* protein: *In vitro* digestibility study in human simulated gastric fluid, 40 pages, M-214025-04-1
- Rasclé, J.B. 2009c. PAT/*pat* protein: Heat stability study, 34 pages, M-131221-04-1
- Scott, A.L. and T.C. Currier. 2003. PAT protein content in leaves during the life cycle of glufosinate tolerant soybean event A2704-12, USA, 2002, M-241332-01-1
- Van Wert, S. 1998. Agronomic performance of event A2704-12. 10 pages, M-181491-01-1
- Van Wert, S. 1998. Safety, compositional, and nutritional aspects of glufosinate resistant soybean transformation events: A2704-12 and A5547-127. 182 pages, M-211953-02-1
- Vanhoutte, N. 2013. Real-time PCR method for event-specific quantification of soybean GM event. 13 pages, M-267134-02-1

- Wehrmann A., Van Vliet A., Opsomer C., Botterman J., Schulz A. 1996. The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers, *Nature Biotechnology*, 14. 5 pages, M-141685-01-1
- Yanisch-Perron C., J. Vieira and J. Messing 1985. Improved M13 phage cloning vectors and host strains nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene*. Vol. 33. 1985. 103-119. 17 pages. M-141342-01-1