



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

## **Beoordeling van risico's voor mens en milieu van nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie**

Beleidssignalering

RIVM Briefrapport 2017-0178  
P.A.M. Hogervorst et al.





Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

**Beoordeling van risico's voor mens en  
milieu van nieuwe ontwikkelingen in de  
moderne biotechnologie**

Beleidssignalering

RIVM Briefrapport 2017-0178

P.A.M. Hogervorst et al.

## Colofon

© RIVM 2018

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2017-0178

P.A.M. Hogervorst (auteur), RIVM  
H.C.M. van den Akker (auteur), RIVM  
D.C.M. Glandorf (auteur), RIVM  
P. Klaassen (auteur), RIVM  
C.J.B. van der Vlugt (auteur), RIVM  
J. Westra (auteur), RIVM

### Contact:

P.A.M. Hogervorst  
RIVM/VSP/GBV  
petra.hogervorst@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, in het kader van de opdracht Veiligheid Biotechnologie

Dit is een uitgave van:  
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**  
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
Nederland  
www.rivm.nl

## Publiekssamenvatting

### **Beoordeling van risico's voor mens en milieu van nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie**

#### Beleidsignalering

Door de snelle ontwikkelingen in de moderne biotechnologie, worden er in de komende tien jaar veel nieuwe toepassingen verwacht. Om hierop voorbereid te zijn heeft het RIVM onderzocht of de huidige risicobeoordeling voor mens en milieu nog volstaat. Dit is gedaan voor bijna dertig geselecteerde nieuwe toepassingen. De huidige risicobeoordeling blijkt voor de helft van deze toepassingen op orde te zijn. Voor de andere helft van de onderzochte toepassingen zal de methode van risicobeoordeling (mogelijk) niet meer passen of is er onvoldoende kennis of informatie om de risico's voor mens en milieu goed te kunnen beoordelen.

In dit onderzoek is de risicobeoordelingsmethode voor genetisch gemodificeerde organismen getoetst. Deze methode is opgezet voor levende organismen waarvan het erfelijk materiaal is aangepast, zoals tot nu toe bij de meeste biotechnologische toepassingen het geval is. Er komen nu ook toepassingen aan die niet bestaan uit organismen, en waarvoor deze risicobeoordelingsmethode dus niet logischerwijs het meest geëigend is. Op de korte termijn geldt dat bijvoorbeeld voor de zogeheten RNA-spray, waarmee plaaginsecten op gewassen worden onderdrukt. Voor enkele toepassingen die nog in een vroeg ontwikkelingsstadium zijn, is nu nog onduidelijk of de bestaande beoordelingsmethode bruikbaar is. Dit geldt bijvoorbeeld voor 'orthogonale systemen' waarbij andere bouwstenen of een andere codering van DNA wordt gebruikt dan nu in de natuur voorkomt.

Om de verwachte knelpunten in de risicobeoordeling op te lossen, is het nodig om lering te trekken uit andere bestaande risicobeoordelingsmethoden, bestaande informatie en kennis bij elkaar te brengen en om ontbrekende kennis op te bouwen.

Kernwoorden: biotechnologie, nieuwe ontwikkelingen, risicobeoordeling, genetisch gemodificeerde organismen, genome editing, regulatie genexpressie, synthetische biologie, veiligheid, mens, milieu



## Synopsis

### **Assessment of human health and environmental risks of new developments in modern biotechnology**

#### Policy report

Due to the rapid developments in modern biotechnology, many new applications are expected in the next ten years. To be prepared, RIVM has investigated whether the current risk assessment for human health and the environment is still adequate. This was done for a selection of nearly thirty new applications. The current risk assessment appears to be adequate for about half of these. For the other half, the risk assessment method may no longer be adequate, or insufficient knowledge or information is available to effectively assess risks.

In the present study the risk assessment method for genetically modified organisms was reviewed. This method is used for living organisms whose genetic material has been modified, as has been the case for most current biotechnology applications. However, some new applications do not consist of living organisms. In the near future, for example, this will be the case for RNA sprays, which are used to suppress pests on crops. For such applications, the current risk assessment method may not be the best choice. For some applications that are still at an early stage of development, it remains unclear whether the current assessment method is usable. This applies, for example, to 'orthogonal systems', which use biochemical building blocks or DNA coding systems that are not found in nature.

To deal with the expected bottlenecks in the current risk assessment, there is a need to draw lessons from other risk assessment methods, to gather existing information and knowledge and to fill knowledge gaps.

Keywords: biotechnology, new developments, risk assessment, genetically modified organisms, genome editing, regulation of gene expression, synthetic biology, safety, human health, environment





## Inhoudsopgave

### **Samenvatting — 9**

#### **Inleiding — 23**

- 1.1 Aanleiding en doel — 23
- 1.2 Veiligheid van moderne biotechnologie — 23
- 1.3 Aanpak en afbakening signalering — 24

#### **2 Nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie — 25**

- 2.1 Wat is moderne biotechnologie? — 25
- 2.2 Faciliterende technologieën voor de moderne biotechnologie — 26
- 2.3 Nieuwe biotechnologische technieken en hun toepassingen — 27
  - 2.3.1 Nieuwe biotechnologische technieken — 27
  - 2.3.2 Toepassingen — 30
  - 2.3.3 Toepassingen van het aanpassen van DNA — 31
  - 2.3.4 Toepassingen van regulatie van genexpressie — 34
  - 2.3.5 Toepassingen van synthetische biologie — 35
- 2.4 De ontwikkelingen in context — 36

#### **3 Methodiek van risicobeoordeling — 39**

- 3.1 Beschermingsdoelen — 39
- 3.2 Risicobeoordeling — 39
- 3.3 Risicobeoordeling van genetisch gemodificeerde organismen — 40
  - 3.3.1 Risicobeoordeling voor ggo's onder ingeperkte omstandigheden — 41
  - 3.3.2 Risicobeoordeling voor ggo's die in het milieu worden gebracht — 42

#### **4 Aanpak van onderzoek — 45**

- 4.1 Werkwijze — 45
- 4.2 Vragenstructuur — 46

#### **5 Resultaten en analyse van onderzoek — 51**

- 5.1 Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden — 51
  - 5.1.1 Aanpassen van DNA — 51
  - 5.1.2 Regulatie van genexpressie — 52
  - 5.1.3 Synthetische biologie — 53
- 5.2 Toepassingen in het milieu — 55
  - 5.2.1 Aanpassen van DNA — 55
  - 5.2.2 Regulatie van genexpressie — 59
- 5.3 Analyse van de resultaten — 61
  - 5.3.1 Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden — 62
  - 5.3.2 Toepassingen in het milieu — 63

#### **6 Conclusies en discussie — 65**

- 6.1 Conclusies van het onderzoek — 65
- 6.2 Discussie — 66

#### **7 Referenties — 73**

#### **Afkortingen en begrippen — 81**

**Bijlage 1 Drijvende en remmende krachten voor ontwikkelingen — 85**

**Bijlage 2 Originele vragenstructuur — 87**

**Bijlage 3 Overzicht van betrokken experts — 88**

## Samenvatting

In de biotechnologie doen zich in hoog tempo ingrijpende ontwikkelingen voor, met onder andere toepassingen in de agrarische, medische en industriële sector. Ten grondslag hieraan liggen doorbraken op de terreinen van het aanpassen van DNA, het reguleren van genexpressie en synthetische biologie. Veel toepassing van deze ontwikkelingen beloven te kunnen bijdragen aan het oplossen van maatschappelijke problemen, zoals erfelijke ziekten, milieubelastende industrie of niet-duurzame landbouw. Daar staat tegenover dat er onzekerheid bestaat over de risico's voor mens en milieu van nieuwe biotechnologische toepassingen.

Recentelijk is in verschillende nationale en internationale gremia<sup>1</sup> gesignaleerd dat de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie nieuwe vragen voor de risicobeoordeling oproepen. Tegen deze achtergrond heeft het Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat het RIVM opdracht gegeven te onderzoeken of nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie kunnen worden beoordeeld op risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu met behulp van de huidige risicobeoordelingsmethode voor genetisch gemodificeerde organismen (ggo's).

Hiervoor is het noodzakelijk om in detail te kijken naar toepassingen van die ontwikkelingen. Om die reden zijn 28 individuele biotechnologische toepassingen geselecteerd en onderzocht, waarvan het merendeel in de komende tien jaar verwacht wordt. We concluderen dat:

- De risico's van de helft van de 28 onderzochte toepassingen met de bestaande methoden beoordeeld kunnen worden.
- Voor een klein deel van de toepassingen de bestaande methoden van risicobeoordeling niet geschikt zijn, of dat het nog onzeker is of deze methoden geschikt zijn voor de beoordeling van deze toepassingen;
- Voor een paar toepassingen geldt dat aanvullende vragen kunnen rijzen over de meest geschikte methode van risicobeoordeling, omdat hier geen sprake is van modificatie van levende organismen;
- Voor de risicobeoordeling van ongeveer een derde van de toepassingen meer kennis en/of meer informatie nodig is om een adequate risicobeoordeling te doen.

In deze samenvatting vindt u achtereenvolgens

- a) Een beschrijving van de aanpak van het onderzoek.

<sup>1</sup> Bijvoorbeeld de Commissie Genetische Modificatie (COGEM), de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER) en de Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS)), de Convention on Biological Diversity van de Verenigde Naties (CBD) en de National Academy of Sciences van de Verenigde Staten (NAS) hebben signalen afgegeven dat hedendaagse ontwikkelingen in de biotechnologie vragen oproepen voor de risicobeoordeling.

- b) Een weergave van de onderzochte toepassingen en presentatie van de onderzoeksresultaten, geordend naar urgentie en complexiteit van de risicobeoordeling.
- c) De conclusies die we trekken, en,
- d) Een discussie om het onderzoek in breder perspectief te plaatsen.

*Box 1: Illustratie van over verschillende sectoren verspreide biotechnologische toepassingen die verwacht worden, de betekenis die zij mogelijk kunnen spelen in het oplossen van maatschappelijke uitdagingen, en de risico's die zij met zich meebrengen.*

### **Voorbeelden van nieuwe toepassingen van biotechnologie in verschillende sectoren**

In de medische sector zien we dat zich nieuwe vormen van genterapie aandienen, soms met de mogelijkheid in de kiembaan sequenties te herstellen of te verwijderen. Enerzijds helpt dit erfelijke ziekten te bestrijden, maar anderzijds zijn er vragen over de veiligheid van dergelijke ingrepen.

In de industriële sector zien we toepassingen van genetische modificatie van algen om een precursor voor bijvoorbeeld plastic, olie of ethanol te produceren. Ggo's als deze geven een impuls aan de *biobased economy*, maar doen ook vragen rijzen over hoe algen zich als gastheer gedragen, wat gevolgen voor het milieu zijn van eventuele verspreiding en overleving van genetisch gemodificeerde algen en welke inperkingsmaatregelen genomen kunnen worden.

In de landbouw kunnen planten genetisch worden gemodificeerd om het microbiom op en rondom de wortels te beïnvloeden. Dit kan helpen bij stikstofbinding en het tegengaan van aantasting door ziekten. Maar door de beperkte kennis over het microbiom van planten en de complexe interactie met het bodemecosysteem, zijn de gevolgen voor de functies van het bodemecosysteem moeilijker te beoordelen.

Het gebruik van sommige toepassingen beperkt zich niet tot één sector. Zo maken zogenaamde *gene drives* het mogelijk hele populaties van seksueel reproducerende organismen te reduceren of genetisch aan te passen. Dit kent bijvoorbeeld potentiële toepassingen in de bestrijding van infectieziekten, landbouwplagen of het voorkomen of herstellen van ecologische schade door invasieve exoten. Terwijl de voordelen hiervan eenvoudig te benoemen zijn, bestaat onzekerheid over mogelijke nadelen, zoals het onbedoeld reduceren van hele populaties van nuttige organismen. Dit vergt, meer dan voor planten, beoordeling van effecten op populatieniveau.

## **1. Aanpak van het onderzoek**

### *Afbakening van het onderzoek*

In het onderliggende onderzoek staat de risicobeoordelingsmethode centraal, los van de bestaande regulatoire kaders. Het gedane onderzoek tracht geen antwoord te geven op de vraag of de wettelijke kaders die nu een risicobeoordeling vereisen voor biotechnologische toepassingen, ook passend zijn om voor toekomstige toepassingen een risicobeoordeling te vereisen. Ook richt dit onderzoek zich niet op de wijzen waarop hedendaagse ontwikkelingen in de biotechnologie

verweven zijn met ethische kwesties, sociaal-economische vraagstukken of met het beveiligen van biotechnologische toepassingen en kennis ter voorkoming van misbruik (biosecurity).

#### *Werkwijze*

Het onderzoek is in vijf stappen uitgewerkt:

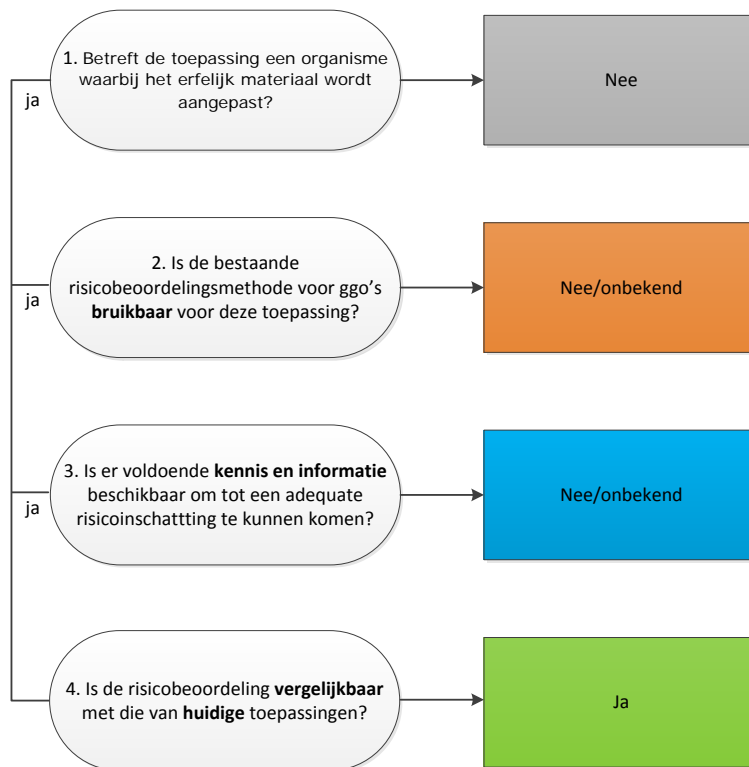
- (1) Er is een selectie gemaakt van biotechnologische toepassingen om te toetsen of de bestaande risicobeoordelingsmethode volstaat om de risico's van deze toepassingen te beoordelen. Box 1 toont de inclusiecriteria voor de selectie van toepassingen.
- (2) Voor elk van de geselecteerde toepassingen is door middel van *expert judgement* nagegaan of mogelijke risico's met de bestaande risicobeoordelingsmethode adequaat zijn te beoordelen. Hiervoor hebben de verschillende experts steeds gebruik gemaakt van dezelfde methodiek.
- (3) De resultaten van Stap 2 zijn ter controle voorgelegd aan interne en externe experts op het gebied van risicobeoordeling, al dan niet van biotechnologie.
- (4) Op basis van de feedback uit stap 3 is de methodiek herzien en is de geschiktheid van de bestaande risicobeoordelingsmethode voor elk van de geselecteerde toepassingen opnieuw getoetst. Figuur 1 toont de herziene methodiek.
- (5) Op basis van de analyse van de uitkomsten van de 28 individuele toetsingen zijn zowel per toepassing als op geaggregeerd niveau conclusies getrokken over de blijvende toepasbaarheid van de huidige risicobeoordelingsmethode voor biotechnologische toepassingen. Figuren 2, 3 en 4 en Tabel 1 vatten dit samen.

*Box 2: Inclusiecriteria gehanteerd bij het maken van de selectie van biotechnologische toepassingen waaraan bestaande risicobeoordelingsmethoden getoetst zijn om hun blijvende toepasbaarheid vast te stellen.*

#### **Inclusiecriteria voor het maken van de selectie van toepassingen**

- a) Voor individuele toepassingen is aannemelijk dat ze tussen 0-5 jaar, 5-10 jaar of na meer dan 10 jaar hun intrede doen;  
De verzameling als geheel bevat:
  - b) zowel toepassingen
    - o die alleen onder ingeperkte omstandigheden gebruikt worden, als
    - o die in het milieu geïntroduceerd worden;
  - c) zowel toepassingen waarbij de onderliggende techniek is
    - o aanpassen van DNA; als
    - o reguleren van genexpressie; als
    - o synthetische biologie
  - d) zowel toepassingen die gebruikt kunnen worden in
    - o de medische sector;
    - o de industriële sector;
    - o de landbouw sector; of
    - o elders.

Tot slot is ernaar gestreefd toepassingen zo te selecteren dat de complete verzameling voorbeelden bevat van alle mogelijke combinaties van waarden genoemd onder criteria b, c en d, en dat zoveel mogelijk van de geselecteerde toepassingen binnen tien jaar verwacht worden

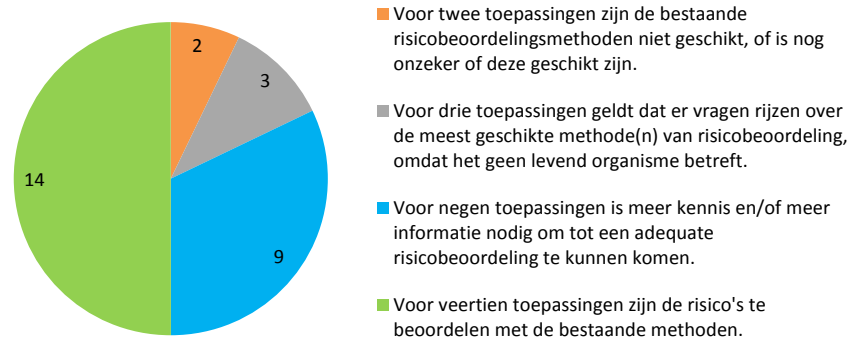


Figuur 1: Schematische weergave van de vragenstructuur die doorlopen is bij het maken van de inschatting of er een risicobeoordeling kan plaatsvinden van risico's voor mens en milieu van nieuwe biotechnologische toepassingen.

Door de vragenstructuur voor elk van de 28 geselecteerde toepassingen te doorlopen, is voor iedere toepassing vastgesteld of met de bestaande beoordelingsmethode een risicobeoordeling gemaakt kan worden. In het geval vraag 1 met "ja" beantwoord kan worden, is de verwachting dat de bestaande risicobeoordelingsmethode voor ggo's van toepassing is. Luidt het antwoord "nee", dan is de risicobeoordeling voor ggo's niet ingericht voor deze toepassing. Vraag 2 onderscheidt toepassingen waarvoor geldt dat de bestaande risicobeoordelingsmethode voor ggo's bruikbaar is, en toepassingen waarvoor dit niet het geval is, of hierover onzekerheid bestaat. Vraag 3 helpt vaststellen of er voldoende informatie is om de mogelijke gevolgen voor mens en milieu adequaat te beoordelen en wat de noodzakelijke kennis is om deze beoordeling daadwerkelijk te kunnen uitvoeren. Vraag 4 is een controlevraag die helpt de definitieve selectie vast te stellen van toepassingen waarvoor de bestaande risicobeoordelingsmethode volstaat.

## 2. Resultaten

De selectie heeft 28 verschillende toepassingen opgeleverd. Deze zijn weergegeven in Tabel 1. Hierin zijn de toepassingen geordend naar gebruik onder ingeperkte omstandigheden of gebruik in het milieu, zijn voorbeelden vermeld, en is aangegeven wat de toetsing met de in Figuur 1 weergegeven methodiek in de vorm van kleurmarkeringen oplevert. Een schematische weergave die de hoofdlijnen samenvat staat hieronder in Figuur 2.



Figuur 2: Verdeling van toepassingen over beoordelingscategorieën.

Tabel 1: Overzicht van de 28 geselecteerde toepassingen. In de linker kolom zijn de toepassingen genummerd. Deze nummering wordt ook in het restant van de tekst gehanteerd. Toepassingen 1 tot en met 13 worden gebruikt onder ingeperkte omstandigheden, 14 tot en met 28 in het milieu. Van iedere toepassing worden, waar mogelijk, een of meer voorbeelden gegeven en is in de rechter kolom met een kleurmarkering zichtbaar gemaakt wat de uitkomst is van de toets ervan met de in Figuur 1 weergegeven vragenstructuur.

Nr	Omschrijving	Voorbeeld(en)	Kleurmarkering
<b>Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden</b>			
1	Diermodellen voor bestudering van ziekten en ontwikkeling therapieën, genetische modificatie van dieren voor andere doeleinden	Diermodel waarbij mutaties en deleties in het genoom worden aangebracht om ziekte(processen) te bestuderen; diermodel waarbij meerdere genen worden ingebracht voor de bestudering van kanker (multigenetische ziekte), diermodel waarin CRISPR-Cas wordt getest voor de behandeling van virale infecties	
2	Micro-organismen met complexe nieuwe en bestaande metabole routes in gesloten systemen	Gist met productieroute voor artimisine, gist die celwanden van planten kan afbreken voor ethanolproductie	
3	Insecten waarbij genen zijn gemodificeerd	Muggen die geen malariaparasiet meer kunnen overdragen	
4	Gene drive toepassingen	Synthetische gene drive in insect, knaagdier of gist	
5	Ontwikkeling van therapeutische agentia (siRNA, miRNA, antisense oligonucleotiden) tegen aandoeningen met verstoorde genexpressie of virale infecties	Preklinische diermodellen om verstoorde expressie van genen tegen te gaan in bv. kanker, oogziekten en cardiovasculaire ziekten	
6	EpiEffectors die epigenetische veranderingen kunnen aanbrengen, fusie eiwitten die genexpressie via de	Er zijn vele mogelijke klinische toepassingen (behandeling kanker, virale en bacteriële infecties, proteïne aggregatie ziekten, metabole ziekten, cellulaire reprogrammering, genetische ziekten, maar er zijn nog nauwelijks	

Nr Omschrijving	Voorbeeld(en)	Kleur-markering
	transcriptie beïnvloeden	
7	Designer chassis, waaronder minimale cellen (top-down benadering)	
8	Building blocks (kleinste genetische componenten met een specifieke functie die gebruikt worden om een genetisch circuit te bouwen)	
9	Refactoring (herrangschikking van bestaande, gekarakteriseerde genetische componenten met eenzelfde resultaat)	
10	Cel-vrije systemen (iets produceren met cellulaire machinerie, zonder gebruik te maken van levende organismen)	
11	Orthogonale systemen (Xenobiologie)	
12	Protocellen, niet levend	
13	Protocellen, ontwikkeld tot levende cel	
<b>Toepassingen in het milieu</b>		
14	<i>Ex vivo</i> therapie (cellen, m.u.v. kiembaancellen, worden buiten het lichaam genetisch aangepast en teruggeplaatst)	
15	<i>In vivo</i> therapie in somatische cellen tegen genetische of infectieziekten waarbij niet-functionele of afwijkende sequenties worden hersteld of virussequenties worden verwijderd	
16	Gentherapie tegen monogenetische ziekten waarbij niet-functionele of afwijkende sequentie wordt verwijderd of hersteld in de	



Nr	Omschrijving	Voorbeeld(en)	Kleur-markering
	kiembaancellen		
17	Algen in semi-gesloten en open systemen	Algen die een precursor voor plastic, olie of ethanol produceren	
18	Planten gemodificeerd om microbiom op en rondom wortels te beïnvloeden	Plant met veranderde wortellexudaten	
19	Planten met verhoogde opbrengst door associatie met gemodificeerde micro-organismen	Plant in associatie met endofytische stikstof fixerende bacteriën, of plant behandeld met ziekte onderdrukkende micro-organismen	
20	Planten met veranderde biologische karakteristieken	Plant met efficiënt stikstofverbruik, groeisnelheid en/of productopbrengst	
21	Planten met nieuwe metabole routes	Plant met route voor stikstof fixatie	
22	Gerichte aanpassingen in het genoom van zoogdieren.	Hoornloze koeien of hypoallergene dieren, koeien met ingebrachte genen die kunnen bijdragen aan ziekteresistentie.	
23	Insecten waarbij genen zijn gemodificeerd	Muggen waarvan nageslacht vroegtijdig sterft of die minder pathogenen overbrengen.	
24	Gene drive ten behoeve van populatie reductie of populatie aanpassing	Malariamug waarvan het nageslacht vroegtijdig sterft, malariamug die parasiet niet meer overbrengt	
25	Klinische toepassing therapeutische agentia (siRNA, miRNA, antisense oligonucleotiden) tegen aandoeningen met verstoorde genexpressie	Behandeling van verstoorde expressie van genen in bv. kanker, virale infecties, oogziekten en cardiovasculaire ziekten	
26	EpiEffectors die epigenetische veranderingen kunnen aanbrengen, fusie eiwitten die genexpressie via de transcriptie beïnvloeden	Er zijn vele mogelijke klinische toepassingen, maar er zijn nog nauwelijks preklinische modellen. Er zijn vele openstaande vragen m.b.t. de patiëntveiligheid voordat klinische toepassing plaats kan vinden	
27	RNA construct voor gene silencing	Plant met verminderde bruinkleuring, veranderde bloemkleur of resistentie tegen ziekten of insecten	
28	RNA spray	RNA spray tegen plaaginsecten of beïnvloeden plantengroei	

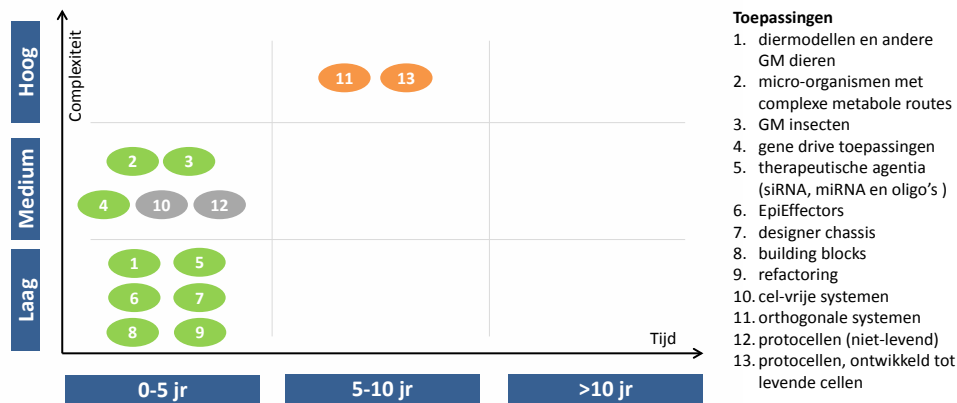
### 3. Analyse en conclusies

Voor de helft van de 28 geanalyseerde toepassingen geldt dat de bestaande risicobeoordelingsmethode toereikend is. Voor de andere helft geldt dat het niet vanzelfsprekend is dat de bestaande risicobeoordelingsmethode toereikend is om tot een adequate beoordeling van risico's te komen: voor een tweetal toepassingen is nog onzeker of de bestaande methode van risicobeoordeling geschikt is, voor drie toepassingen rijzen aanvullende vragen over de meest geschikte

methode van risicobeoordeling, omdat hier geen sprake is van modificatie van levende organismen, en voor de risicobeoordeling van ongeveer een derde van de toepassingen is meer kennis of informatie nodig om tot een adequate risicoinschatting te kunnen komen.

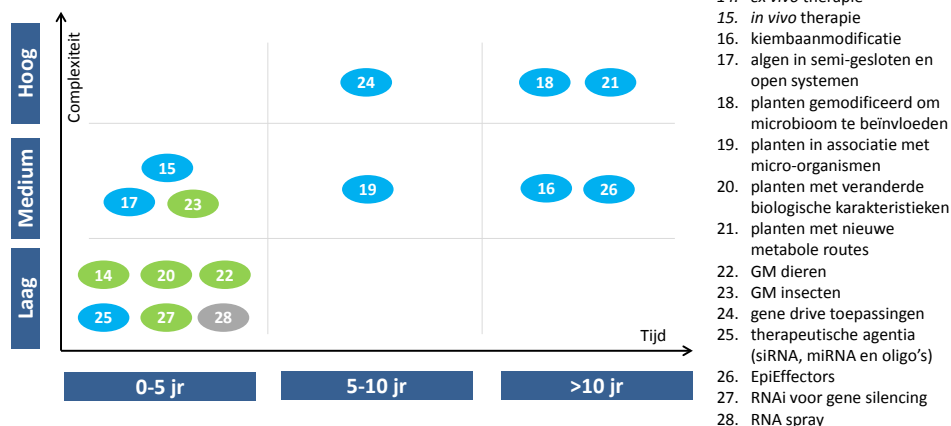
Voor alle toepassingen is op basis van bestaande literatuur en *expert judgement* een inschatting gemaakt van de termijn waarop deze te verwachten zijn. Dit is vervolgens afgezet tegen een inschatting van de complexiteit van de ingrepen in het erfelijk materiaal of van de toepassingen zelf. In samenhang geeft dit een indicatie van de urgentie van de specifieke aandachtspunten voor de risicobeoordeling. De resultaten hiervan hebben we uitgesplitst naar toepassingen voor gebruik onder ingeperkte omstandigheden en toepassingen in het milieu. De uitkomsten hiervan staan in Figuur 3 en Figuur 4.

#### Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden



*Figuur 3: Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden volgens de nummering en kleurmarkeringen van de tabellen in paragraaf 2. De x-as geeft een inschatting van de tijdsduur waarop de toepassing verwacht wordt, de y-as een inschatting van de complexiteit van de aanpassingen aan het erfelijk materiaal of van de toepassing. Zowel de inschatting van de tijdsduur als die van de complexiteit van de toepassingen is in drie segmenten verdeeld: 0-5 jaar, 5-10 jaar en 10 jaar of meer, respectievelijk laag, medium en hoog.*

#### Toepassingen in het milieu



*Figuur 4: Toepassingen in het milieu volgens de nummering en kleurmarkeringen van de tabellen in paragraaf 2. De x-as geeft een inschatting*

van de tijdsduur waarop de toepassing verwacht wordt, de y-as een inschatting van de complexiteit van de aanpassingen aan het erfelijk materiaal of van de toepassing. Zowel de inschatting van de tijdsduur als die van de complexiteit van de toepassingen is in drie segmenten verdeeld: 0-5 jaar, 5-10 jaar en 10 jaar of meer, respectievelijk laag, medium en hoog.

#### 4. Discussie

Het uitgevoerde onderzoek toetst of de risicobeoordelingsmethode voor risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu voor een breed palet aan toekomstige biotechnologische toepassingen van toepassing blijft. Tot besluit volgen nu achtereenvolgens (i) een perspectief op wat gedaan kan worden om te zorgen dat adequate risicobeoordelingen gemaakt kunnen worden voor nieuwe biotechnologische toepassingen, en (ii) enkele contextuele observaties.

##### *Handelingsperspectief*

Voor de biotechnologische toepassingen waarvoor de bestaande methoden voor risicobeoordeling niet volstaan – oftewel, alle toepassingen met een andere kleurmarkering dan groen – is allereerst nagegaan wat er nodig is om tot een adequate risicobeoordeling te komen, en vervolgens vastgesteld wat er gedaan kan worden om ook in de toekomst adequate risicobeoordelingen te kunnen uitvoeren. Deze vertaalslag van de conclusies van het onderzoek naar concreet handelingsperspectief is terug te vinden in Tabel 2.

*Tabel 2: Toepassingen waarvoor geldt dat niet vaststaat dat bestaande risicobeoordelingsmethoden volstaan, geclusterd naar samenhangende behoeften en daarbij aansluitend handelingsperspectief.*

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risico-beoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
<b>Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden</b>		
Toepassingen van synthetische biologie die geen organismen betreffen (10 en 12)	Identificatie van mogelijk schadelijke effecten van celvrije systemen en niet-levende protocellen. Bepaling in welke risicobeoordelingsmethoden of op welke wijze deze effecten beoordeeld kunnen worden.	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen op het gebied van celvrije systemen en niet-levende protocellen blijven volgen, zowel op fundamenteel vlak als toepassingsgericht. <u>Kennisverzameling:</u> Bijeenbrengen van gegevens die inzicht geven over welke mogelijk schadelijke effecten bij deze toepassingen kunnen optreden en welke vragen in de risicobeoordeling gesteld moeten worden. <u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> 1) Inventarisatie van andere risicobeoordelingsmethoden waarin schadelijke effecten worden beoordeeld die herkenbaar zijn voor deze toepassingen. 2) Netwerk opbouwen van experts die ervaring hebben met bruikbare methoden. 3) Indien nodig combineren van bestaande risicobeoordelingsmethoden en/of uitwerken van nieuwe methode.

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risico-beoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
Toepassingen van synthetische biologie waarvoor niet duidelijk is of de bestaande risicobeoordelingsmethode bruikbaar is (11 en 13)	Er is kennis en informatie nodig om 1) de mogelijk schadelijke effecten van orthogonale systemen en levende protocellen op mens en milieu te kunnen bepalen en 2) vast te stellen of de ggo risicobeoordelingsmethode afdoende is of dat er aanvullende vragen nodig zijn.	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen op het gebied van orthogonale systemen en levende protocellen blijven volgen. <u>Kennisverzameling:</u> Bijeenbrengen van gegevens die inzicht geven in de verschillende systemen en de mogelijk schadelijke effecten daarvan. Vinger aan de pols in hoeverre de ggo risicobeoordelingsmethode bruikbaar blijft. <u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> 1) Netwerk van experts opbouwen. Contact onderhouden met ggo beoordelende experts om kennis over beoordeling uit te kunnen wisselen. 2) Indien nodig uitwerking van risicobeoordelingsmethode daar waar huidige methode niet bruikbaar blijkt.
<b>Toepassingen in het milieu</b>		
Toepassingen in de rode biotechnologie waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (15, 16, 25 en 26)	Er is meer kennis en informatie nodig over de effecten van de agentia op derden (afhankelijk van de toedieningswijze). Uit eerste klinische toepassingen zal met name informatie worden verkregen over de veiligheid van desbetreffende agentia voor de patiënt, maar dergelijke gegevens zijn ook bruikbaar voor het beoordelen van mogelijke effecten van deze agentia op derden (met name in geval van toepassing van virale vectoren)	<u>Informatie:</u> - Ontwikkelingen op het gebied van de klinische toepassingen van deze agentia blijven volgen, informatie verzamelen over de <i>in vivo</i> effecten van deze agentia, ontwikkelingen in de toedieningswijzen en de uit studies verkregen veiligheidsdata. - Ontwikkelingen in Nederland, Europa en daarbuiten blijven volgen door de contacten met het gentherapie onderzoeksveld te behouden (NVGCT, ESGCT, ASGCT). - Ten aanzien van kiembaanmodificatie, de (inter)nationale en ontwikkelingen blijven volgen zowel op het gebied van nationale en internationale wet- en regelgeving als de wetenschappelijke ontwikkelingen. <u>Kennisontwikkeling:</u> - Contacten intensiveren met afdelingen binnen RIVM die zich bezighouden met epigenetica en milieubeoordeling van medicijnen en stoffen. - Contacten intensiveren met CCMO, CBG en VWS voor het delen van kennis en informatie over de ontwikkelingen. - Contacten onderhouden met beoordelende instanties in het

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risico-beoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
	en het kunnen uitsluiten van mogelijke effecten op de kiembaan.	buitenland om ervaringen op het gebied van risicobeoordeling uit te wisselen.
Toepassingen in de groene biotechnologie die geen organismen betreffen (28)	Identificatie van risicobeoordelings-methode(n) voor de beoordeling van RNA sprays op planten	<u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> Overleg met het Ctgb over de vraag in hoeverre de risicobeoordelingsmethode (en aspecten die hierbij in beschouwing worden genomen) van gewasbeschermingsmiddelen en van ggo's elkaar kunnen aanvullen voor het beoordelen van de toepassing van RNA sprays op planten ter bestrijding van insecten.
Toepassingen met algen in de groene biotechnologie waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (17)	Er is meer kennis nodig over de overleving en interactie van algen met het milieu (water, bodem)	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen blijven volgen met betrekking tot gegevens over (gg-) algen en milieu-interacties. <u>Kennisverzameling:</u> Het bijeenbrengen van bestaande rapporten en risicobeoordelingen. <u>Kennisontwikkeling:</u> Contact leggen/houden met instanties die toepassingen met (gg-) algen beoordelen, zoals de EPA.
Toepassingen met planten in de groene biotechnologie waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (18, 19 en 21)	Er is meer kennis nodig over karakterisering van de gg-plant (in geval van inbrengen van nieuwe metabole routes), over het bepalen van mogelijk schadelijke effecten op het bodemecosysteem en methoden om dit te bepalen	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen blijven volgen qua informatie over effecten op het bodemecosysteem en bodemmicrobioom, met nadruk op functionele groepen, en methoden om effecten gericht te meten <u>Kennisverzameling:</u> Het bijeenbrengen van bestaande kennis (richtsnoeren, rapporten) over milieurisicobeoordeling van ggo's (planten en micro-organismen) en hun effecten op de bodem <u>Kennisontwikkeling:</u> Contact leggen/houden met de Ctgb en andere beoordelende instanties in binnen- en buitenland die ervaring hebben met beoordeling van effecten op bodemecosystemen met ggo's.
Toepassingen met insecten waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (24)	Er is meer kennis nodig om mogelijke milieueffecten op populatieniveau te beoordelen. Het stap-voor-stap beginsel moet anders worden ingevuld	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen op het gebied van gene drives en hun mechanismen blijven volgen en aangehaakt blijven in het internationale netwerk <u>Kennisverzameling:</u> Bijeenbrengen van gegevens over milieu introductie van insecten met een (natuurlijke) gene drives. <u>Kennisontwikkeling:</u> 1) Inventarisatie van andere risicobeoordelings-systemen voor insecten

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risico-beoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
	met name voor insecten met een gene drive.	zoals voor insecten voor biologische bestrijding, insecten ter bestrijding van ziekten en invasieve insectensoorten en hoe dit kan bijdragen aan de risicobeoordeling van insecten met een gene drive. 2) Contact leggen met experts met kennis op het gebied van populatie dynamica en modelleren om mogelijkheden voor stapsgewijze introductie in het milieu van insecten met een gene drive te verkennen.

In dit onderzoek stonden 28 toepassingen centraal die samen representatief zijn voor de reikwijdte en interne diversiteit van de biotechnologie, zoals uit te drukken in termen van sector, toepassingsterrein, of onderliggende techniek. Deze reikwijdte en diversiteit vormen goede indicatoren van het innovatiepotentieel van de biotechnologie. In combinatie met de onvoorspelbaarheid van de precieze richting en snelheid die biotechnologische innovatie aanneemt, is zodoende aandacht geboden voor de balans tussen innovatie en veiligheid. De conclusies van dit rapport laten zien dat werk gemaakt moet blijven worden van methodiekontwikkeling, kennisvergaring en – integratie en informatieverzameling ten behoeve van het maken van adequate risicobeoordelingen.

#### *Bevindingen in context*

De geschiktheid van de ggo-risicobeoordeling voor de risicobeoordeling van nieuwe biotechnologische toepassingen stond in dit onderzoek centraal. Toch wordt zichtbaar dat voor verschillende toepassingen onduidelijk is of ze onder de ggo-wetgeving vallen of niet.<sup>2</sup> Zo ontstaat een beeld dat aansluit bij de conclusies van de COGEM en de Gezondheidsraad in de laatste Trendanalyse Biotechnologie: de bestaande regelgeving past niet langer op het veld van de biotechnologie, met alle nieuwe toepassingen die daar recent ontwikkeld zijn en in de nabije toekomst verwacht worden en met convergentie van technologieën.

Biotechnologische toepassingen zoals aanpassingen in de kiembaan, gene drives of toepassingen van synthetische biologie kunnen mogelijk een vergaande impact op onze samenleving hebben. Door diverse wetenschappers wordt daarom verzocht om een (maatschappelijke) dialoog over biotechnologische innovaties<sup>3</sup>. Ook de Tweede Kamer heeft

<sup>2</sup> Een interessant geval vormen bijvoorbeeld toepassingen van kiembaan genterapie, met doelbewuste modificatie in de kiembaan. Dit is (nu) wettelijk verboden via de Embryowet, maar dat staat in principe los van de vraag of risico's voor nakomelingen van de ontvangers van de therapie gezien en beoordeeld moeten worden als milieurisico's. Ook algen in semi-gesloten omgeving vormen een interessante casus, evenals celvrije systemen.

<sup>3</sup> Recent betoogden Sheila Jasanoff en Benjamin Hurlbut dat een gecoördineerde internationale aanpak gewenst is om deze dialoog op gang te brengen. Wij stellen vast dat zowel nationaal als in EU-verband als internationaal al werk gemaakt wordt van het faciliteren van een dergelijke bredere maatschappelijke dialoog. Zie Jasanoff, S. & J.B. Hurlbut (2018) "A global observatory for gene editing" in *Nature* 555, pp.435-437.

recent om een dergelijke dialoog verzocht<sup>4</sup>. Het kabinet heeft inmiddels in een reactie<sup>5</sup> op de eerder genoemde Trendanalyse aangekondigd beleid en regulering op het gebied van de veiligheid van biotechnologie te willen moderniseren, zodat deze kunnen meegroeien met de snelle technologische ontwikkelingen. Daarbij wordt gestreefd naar enerzijds het benutten van de kansen die de biotechnologie biedt en anderzijds het waarborgen van de veiligheid voor mens en milieu. De maatschappelijke dialoog is daar onderdeel van. Dit onderzoek kan die dialoog voeden.

<sup>4</sup> Kst. 27428, nr. 340: de motie Bosma (VVD)/Van der Velde (PvdA) waarin de regering wordt verzocht "een maatschappelijk debat te starten waarmee het publiek betrokken wordt bij de huidige ontwikkelingen in de biotechnologie"

<sup>5</sup> Kst. 27428, nr. 335; Beleidsreactie Trendanalyse Biotechnologie 2016





## Inleiding

### 1.1 Aanleiding en doel

Moderne biotechnologie is een voortzetting van de klassieke biotechnologie (zie paragraaf 2.1). De ontwikkelingen in de moderne biotechnologie volgen elkaar in hoog tempo op. Ze bieden veel nieuwe mogelijkheden en toepassingen. Sommige ontwikkelingen, zoals genome editing, bouwen voort op genetische modificatie en maken het mogelijk om sneller, gericht en efficiënter veranderingen in het erfelijk materiaal van organismen aan te brengen. Andere ontwikkelingen gaan uit van nieuwe concepten, zoals in de synthetische biologie, waar het gericht ontwerpen van bruikbare functies in (micro-)organismen centraal staat.

In verschillende nationale en internationale gremia, waaronder de COGEM (Commissie Genetische Modificatie) [1], de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie<sup>6</sup> [2], de CBD (Convention on Biological Diversity van de Verenigde Naties) [3] en de NAS (National Academie of Sciences in de Verenigde Staten) [4], zijn signalen afgegeven dat de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie nieuwe vragen voor de risicobeoordeling oproepen en zijn kennislacunes voor de risicobeoordeling geïdentificeerd, onder andere voor de synthetische biologie.

Het doel van deze beleidssignalering is in kaart brengen of toepassingen van nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie kunnen worden beoordeeld op risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu met behulp van de huidige risicobeoordelingsmethode voor genetisch gemodificeerde organismen (ggo's). Dit onderzoek is gedaan in opdracht van het Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (voorheen: Ministerie van Infrastructuur en Milieu), dat verantwoordelijk is voor de milieuveiligheid van moderne biotechnologie in Nederland.

### 1.2 Veiligheid van moderne biotechnologie

Op het moment dat de technologische mogelijkheden voor genetische modificatie ontstonden was het nog onduidelijk of ggo's tot risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu konden leiden. De zorg was dat ggo's nieuwe (combinaties van) genetisch eigenschappen zouden kunnen hebben waarvan de werking in een organisme nog niet eerder was gezien. Om de mens en het milieu te beschermen tegen mogelijk schadelijke effecten als gevolg van de toepassing van ggo's zijn richtlijnen ontwikkeld om deze toepassingen te beoordelen en een veilig gebruik van ggo's te waarborgen. Het ging hierbij in eerste instantie om toepassingen van ggo's onder ingeperkte omstandigheden, waarbij de ggo's binnen een daarvoor ingerichte ruimte worden gehouden, bijvoorbeeld in laboratoria, plantenkassen of dierverblijven. Daarna zijn richtlijnen ontwikkeld voor ggo's die in het milieu worden gebracht. Hierover zijn ook internationale afspraken gemaakt.

<sup>6</sup> De Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER) en de Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS).

Vanwege de snelheid van de huidige ontwikkelingen in de moderne biotechnologie en het steeds grotere scala aan mogelijke toepassingen, is het van belang om te onderzoeken of de huidige risicobeoordeling voor ggo's ook bruikbaar is voor nieuwe toepassingen in de moderne biotechnologie. Wanneer de voor ggo's ontwikkelde methode niet of niet volledig toepasbaar is op nieuwe ontwikkelingen moeten er mogelijk nieuwe of aanvullende methoden ontwikkeld worden of is er aanvullende kennis en informatie nodig om de risicobeoordeling uit te kunnen voeren.

### **1.3 Aanpak en afbakening signalering**

Deze beleidssignalering geeft een globaal overzicht van nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie en gaat in op de gevolgen van deze nieuwe ontwikkelingen voor het kunnen beoordelen van de risico's ervan voor mens en milieu. Om hier een inschatting van te kunnen maken is het noodzakelijk om in meer detail te kijken naar de toepassingen van deze nieuwe ontwikkelingen. Daarom is in hoofdstuk 2 van deze signalering een selectie van voorbeelden van nieuwe biotechnologische toepassingen beschreven die in de komende tien jaar te verwachten zijn.

In deze beleidssignalering is de risicobeoordeling afgebakend tot de risico's van de toepassingen voor de menselijke gezondheid en het milieu. De toepassingen betreffen in de meeste gevallen organismen of cellen. Wanneer een organisme een 'product', bijvoorbeeld een chemische stof, maakt, dan valt de beoordeling van dit product niet onder de beoordeling van de toepassing, dus buiten de scope van deze beleidssignalering. Risico's van de toepassingen voor de menselijke gezondheid zijn hier afgebakend tot mogelijk pathogene, toxische of allergene effecten van de biotechnologische toepassing. Voedselveiligheid of patiëntveiligheid vallen hier niet onder. Gezien de scope van deze signalering, zijn consequenties voor regelgeving en andere aspecten van de moderne biotechnologie, zoals biosecurity, het beveiligen van biologische agentia en kennis om misbruik te voorkomen, buiten beschouwing gelaten. Ook de ethische aanvaardbaarheid of sociaaleconomische aspecten van nieuwe toepassingen van moderne biotechnologie vallen buiten de scope van deze signalering.

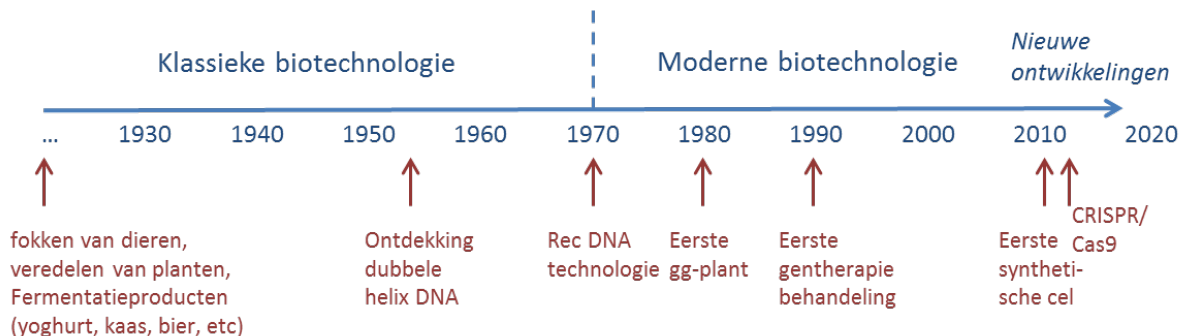
Hoofdstuk 3 geeft een beschrijving van de algemene methodiek en de doelen van een risicobeoordeling. Daarna wordt de risicobeoordelingsmethode voor ggo's beschreven. In hoofdstuk 4 wordt de onderzoeks aanpak beschreven en in hoofdstuk 5 wordt aan de hand van 28 geselecteerde voorbeelden van nieuwe biotechnologische toepassingen bekeken of de risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu van deze toepassingen adequaat beoordeeld kunnen worden met de huidige risicobeoordelingsmethode. Hoofdstuk 6 sluit af met de conclusies en er wordt een korte reflectie op het onderzoek en het handelingsperspectief gegeven.

## 2 Nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie

Dit hoofdstuk geeft een overzicht van de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie. Er wordt een indeling gemaakt van de nieuwe biotechnologische technieken en deze worden kort toegelicht. Vervolgens worden de toepassingen van deze technieken in de industriële (witte), agrarische (groene) en medische (rode) biotechnologie beknopt beschreven. Dit overzicht is gebaseerd op drie verkennende studies over nieuwe ontwikkelingen in de rode, witte en groene biotechnologie [5-7], die het RIVM heeft laten uitvoeren, en onder andere de rapporten van de COGEM, de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie en NAS [1, 2, 4, 8, 9].

### 2.1 Wat is moderne biotechnologie?

Biotechnologie is letterlijk de technologie gebaseerd op biologie. Het omvat een breed terrein met zeer uiteenlopende toepassingen, van het gebruik van bacteriën om kaas te maken tot het bouwen van een synthetische cel. In de ontwikkeling van biotechnologie onderscheiden we verschillende fasen – de klassieke biotechnologie, moderne biotechnologie en nieuwe ontwikkelingen binnen de moderne biotechnologie. De klassieke biotechnologie bestaat al duizenden jaren en omvat onder andere fermentatieprocessen voor het bereiden van voedsel, het veredelen van gewassen en het fokken van dieren (zie Figuur 5).



Figuur 5: Tijdlijn biotechnologie

De moderne biotechnologie doet zijn intrede rond 1970, vanaf het moment dat het mogelijk werd gericht veranderingen in het erfelijke materiaal, het DNA, aan te brengen. Genetische modificatie, het opnieuw combineren van DNA-fragmenten met behulp van recombinant-DNA technieken, valt onder de moderne biotechnologie.

Daarnaast zijn er de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie. Sinds de vervaardiging van de eerste organismen verkregen met recombinant-DNA technieken in de jaren zeventig van de vorige eeuw heeft de moderne biotechnologie zich sterk ontwikkeld. Zo is de snelheid van het in kaart brengen van de DNA-basen volgorde (sequenzen), sterk toegenomen. Ook is het mogelijk om steeds gericht aanpassingen in het genoom aan te brengen (bijvoorbeeld met

behulp van zogenoemde genome editing technieken, zoals CRISPR/Cas) of om genactiviteit te reguleren zonder de DNA code te veranderen. De ontwikkelingen in de moderne biotechnologie volgen elkaar in steeds hoger tempo op door de toegenomen kennis over DNA en biochemische processen, maar ook door technologische ontwikkelingen zoals (bio)informatica en automatisering. Door deze nieuwe ontwikkelingen komt een steeds groter scala van mogelijke toepassingen in de moderne biotechnologie in beeld: van productie van chemische stoffen en medicijnen, nieuwe vormen van medische diagnostiek en therapieën tot sensoren die milieuvervuiling kunnen meten.

## **2.2 Faciliterende technologieën voor de moderne biotechnologie**

De gereedschapskist die men in de biotechnologie ter beschikking heeft wordt steeds groter en geavanceerder. Dit komt enerzijds door de nieuwe moleculair-genetische technieken (zie paragraaf 2.3), maar minstens net zo belangrijk zijn de technologische ontwikkelingen op andere gebieden die onmisbaar zijn voor de vooruitgang binnen de biotechnologie. In deze paragraaf wordt een korte beschrijving gegeven van de belangrijkste faciliterende technologieën die een bepalende rol spelen in het mogelijk maken van de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie [5-7].

### **Bio-informatica, software en big data**

In de bio-informatica wordt biologische kennis verrijkt door biologische data te analyseren. Kenmerkend voor bio-informatica is dat er relaties worden gelegd tussen de vele gegevens. De ontwikkelingen op dit terrein hebben grote invloed op de mogelijkheden voor biotechnologie. Zo worden bijvoorbeeld stukken vergelijkbaar DNA gezocht, eiwitten met vergelijkbare expressiepatronen of genetische afwijkingen die bovengemiddeld aanwezig zijn bij mensen met een bepaalde erfelijke ziekte. Dit levert veel informatie op over de functie van genen (en eiwitten) dat ingezet kan worden in de biotechnologie. Deze informatie wordt steeds toegankelijker gemaakt door het opslaan en ontsluiten hiervan in onder andere databanken voor eiwit- en DNA-sequenties en door de ontwikkeling van software om de grote hoeveelheid data te analyseren. Ook software om biologische processen te modelleren wordt steeds geavanceerder en verfijnder. In deze software wordt bijvoorbeeld informatie uit DNA databases gebruikt om gericht genen met nieuwe functies te ontwerpen. Simulatiemodellen spelen hierbij een belangrijke rol om bijvoorbeeld de vouwing van DNA of RNA (ribonucleïnezuur) moleculen of metabole (stofwisselings) processen in cellen te simuleren. Hiervoor zijn de ontwikkelingen in de informatietechnologie een grote drijvende factor. Het steeds eenvoudiger beschikbaar komen van veel gegevens over biologische processen wordt gefaciliteerd door de groeiende computerkracht en opslagruimte om al die gegevens te analyseren.

### **Robotisering**

Steeds meer processen die handmatig in het laboratorium uitgevoerd werden en arbeidsintensief waren, zoals klonering en transformatie experimenten, maar ook analyse en selectie van mutanten en transformanten, kunnen nu door geavanceerde robotmachinerie worden uitgevoerd. Gekoppeld aan ontwerpsoftware geeft dit de mogelijkheid

om veel meer verschillende modificaties in DNA tegelijkertijd en in hoog tempo te selecteren tegen veel lagere kosten.

### **Nieuwe 'sequencing' technieken**

Het sequencen van DNA is het bepalen van de basenvolgorde (A, T, C en G) van het DNA en gebeurt al sinds de jaren '70 van de vorige eeuw. Sequencen van DNA is van belang voor biotechnologische toepassingen omdat een aantal belangrijke zaken in kaart kan worden gebracht, zoals de DNA volgorde van genen met bepaalde functies, de plaats van genen in het genoom, controle of een aanpassing van het genoom gelukt is, en het ontwerpen van nieuwe metabole routes. De ontwikkeling van sequencing technieken schrijdt in hoog tempo voort. DNA (en ook RNA) kan steeds sneller, nauwkeuriger, goedkoper en met minder fouten volledig automatisch worden afgelezen.

### **Omics**

De term 'omics' wordt gebruikt als verzamelterm voor verschillende onderzoeksgebieden in de biologie. Het eerste gebied waar het achtervoegsel 'omics' voor werd gebruikt is genomics. Dit onderzoeksgebied heeft als doel om het genoom van verschillende organismen in kaart te brengen. Dit gebeurt met behulp van de hierboven beschreven sequencing technieken. Andere gebieden zijn onder andere transcriptomics (bestudeert messenger (boodschapper) RNA (mRNA)), proteomics (bestudeert sequenties, functies en organisatie van eiwitten), metabolomics (bestudeert de metabolieten) en epigenomics (bestudeert epigenetische veranderingen). Met 'omics' kan veel kennis over het functioneren van cellen en organismen worden verkregen dat gebruikt kan worden in de biotechnologie.

### **Het maken van DNA en RNA (synthese)**

DNA kan synthetisch geproduceerd worden, net als andere chemische stoffen. Stukken DNA met een aangegeven basenvolgorde kunnen commercieel besteld worden. Verschillende stukken synthetisch DNA kunnen vervolgens weer in de juiste volgorde aan elkaar 'geplakt' worden. Dit proces heet DNA assembly. RNA synthese is nu nog een langdurig en bewerkelijk proces waarin de nodige fouten kunnen optreden. Maar ook hier verwacht men veel van technologische ontwikkelingen die dit proces sterk gaan vereenvoudigen, versnellen en goedkoper gaan maken.

## **2.3 Nieuwe biotechnologische technieken en hun toepassingen**

In deze paragraaf worden de nieuwe biotechnologische technieken beschreven die een bepalende rol spelen in de toepassing van moderne biotechnologie. De technieken worden in paragraaf 2.3.1 onderverdeeld in drie groepen. Op grond van deze groepen wordt in paragraaf 2.3.2 een overzicht gegeven van de toepassingen die met behulp van deze technieken verwacht worden.

### *2.3.1 Nieuwe biotechnologische technieken*

Op basis van de werking van de techniek en het effect dat deze techniek heeft op het genoom zijn de nieuwe biotechnologische technieken ingedeeld in drie categorieën. De drie categorieën zijn:

- Aanpassen van DNA

- Regulatie van de genexpressie
- Synthetische biologie

Hieronder volgt een korte beschrijving van de drie categorieën van technieken.

### **Aanpassen van DNA**

Genome editing is het gericht aanpassen van de DNA volgorde. Dit kan door het aanbrengen van kleine mutaties (kleine veranderingen van één of meerdere basenparen) of van stukken DNA op specifieke plaatsen in het genoom. Recent is er een nieuwe methode ontwikkeld, base editing, die gericht een specifieke nucleotide base (A, T, C of G) in een andere base kan veranderen zonder het DNA te knippen [10, 11].

Genome editing vindt plaats met behulp van bepaalde enzymen (site-specifieke endonucleases) zoals CRISPR/Cas (Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat/CRISPR associated protein), ZFN (Zinc-Finger Nuclease) en TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease). De meeste toepassingen en ontwikkelingen vinden op dit moment plaats met CRISPR/Cas waarbij steeds specifiekere Cas eiwitten worden toegepast [12, 13].

#### *Hoe werken genome editing en base editing?*

Genome editing gebeurt met behulp van zogenaamde site-specifieke nuclease enzymen. Dit zijn samengestelde eiwitten die bestaan uit een deel dat zich bindt aan een specifiek stukje DNA in het genoom en een nuclease gedeelte (zoals het Cas enzym), dat werkt als een moleculair schaarje dat daarna op die specifieke plaats een knip (dubbelstrengs breuk) in het genoom aanbrengt. Op deze wijze kunnen op specifieke plaatsen in het genoom alleen mutaties (kleine veranderingen van één of een paar baseparen) worden aangebracht, waardoor specifieke eigenschappen kunnen worden uitgeschakeld. Als tegelijkertijd met het site-specifieke nuclease enzym een nieuw stuk DNA wordt toegevoegd, wordt dit stuk DNA (onder bepaalde voorwaarden) in de specifieke knipplaats in het genoom geïntegreerd.

Base editing is gebaseerd op CRISPR/Cas, maar maakt gebruik van "dead" Cas (dCas) dat de dubbele DNA streng niet kan knippen, maar hem op de juiste plek openvouwt, waardoor enzymen de nucleotide base kunnen veranderen [14].

### **Regulatie van de genexpressie**

Door regulatie van de genexpressie is het mogelijk om in een cel of organisme het expressieniveau van de genen te beïnvloeden, zonder daarbij de code van het DNA te veranderen. In deze beleidssignalering wordt de term 'regulatie van genexpressie' gebruikt om aan te geven dat de beïnvloeding zowel op het niveau van de genexpressie als op het niveau van de genregulatie kan plaatsvinden.

#### *Wat is genexpressie en genregulatie en wat is het epigenoom?*

Genexpressie is het proces waarmee het DNA van een gen 'vertaald' wordt naar de vorming van eiwitten in een cel. Dit proces gebeurt met behulp van RNA en bestaat uit twee stappen: het omzetten van DNA in mRNA (transcriptie) en het vertalen van mRNA naar eiwitten (translatie).

Genregulatie is de sturing van de genexpressie. Eiwitten hoeven namelijk niet altijd gemaakt worden en ook niet altijd in dezelfde hoeveelheid. De genregulatie bepaalt de concentratie van een door een gen gecodeerd eiwit in een cel.

Het epigenoom betreft het geheel van DNA en eiwit dat samengevouwen zit als het erfelijk materiaal in een cel. Epigenetische modificaties zijn veranderingen in genexpressie zonder dat de DNA code wordt veranderd. Epigenetische veranderingen hebben dus geen invloed op de basenvolgorde van het DNA, maar ze kunnen wel overerfbaar zijn [6, 15].

Genexpressie kan beïnvloed worden met behulp van epigenoom modificatie. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van op genome editing gebaseerde technieken, waarbij het herkennen van een specifiek stukje DNA in het genoom gecombineerd wordt met eiwit domeinen die de genexpressie reguleren [15, 16]. Een andere veelgebruikte techniek om de genexpressie te beïnvloeden is de toepassing van antisense RNA, ook wel RNA interferentie (RNAi) genoemd [6, 7].

#### *Hoe werkt RNAi?*

RNAi berust op dubbelstrengs (ds) RNA (miRNA of siRNA) dat complementair is aan de mRNA sequentie van het te onderdrukken gen. Het complementaire RNA 'plakt' op het betreffende mRNA waardoor de translatie niet kan plaatsvinden en het mRNA afgebroken wordt. Naast miRNA en siRNA worden ook chemisch gemodificeerde antisense oligonucleotiden (ASO's) toegepast die de genexpressie kunnen beïnvloeden [6].

### **Synthetische biologie**

Synthetische biologie is 'engineering van de biologie': de synthese van complexe, op biologie gebaseerde (of geïnspireerde) systemen met functies die in de natuur niet voorkomen<sup>7</sup> [17]. Deze categorie omvat geen specifieke technieken, maar een conceptuele benadering die biologische systemen als programmeerbare machines benadert en daarmee vele nieuwe mogelijkheden creëert.

Door deze manier van benaderen wordt kennis van verschillende onderzoeksvelden bij elkaar gebracht. Voorbeelden zijn moleculaire biologie, celbiologie en -fysiologie, populatie genetica, maar ook bio-informatica en (bio)chemie. Synthetische biologie is daarmee een convergerende technologie, wat betekent dat in dit vakgebied diverse disciplines en onderzoeksbenaderingen samenkomen.

De synthetische biologie heeft zich de afgelopen tien jaar gestaag ontwikkeld en samen met de engineering benaderingswijze zorgt dit voor andere en zeer diverse toepassingsmogelijkheden. In deze signalering wordt de synthetische biologie ingedeeld in vier toepassingen (zie paragraaf 2.3.5):

<sup>7</sup> Synthetische biologie is engineering van de biologie: de synthese van complexe, op biologie gebaseerde (of geïnspireerde) systemen met functies die in de natuur niet voorkomen. Het engineering perspectief kan worden toegepast op alle niveaus van de biologie – van individuele moleculen tot volledige cellen, weefsels en organismen. In wezen zal synthetische biologie het op een rationele en systematische manier ontwerpen van biologische systemen mogelijk maken.

- Designer chassis, refactoring en building blocks: het zelf construeren, opnieuw rangschikken of opbouwen van genen met behulp van gesynthetiseerd DNA;
- Xenobiologische systemen: het gebruik van alternatieve vormen van DNA of aminozuren;
- Protocellen: het chemisch ontwerpen van onderdelen van levende cellen (om uiteindelijk leven te creëren);
- Celvrije systemen: in vitro systemen met componenten van cellen die gebruikt worden om celprocessen in een versimpelde omgeving te bestuderen of na te bootsen.

Vaak wordt metabolic engineering, het ontwikkelen en inbouwen van stofwisselingsroutes in met name micro-organismen, ook gezien als één van de toepassingsgebieden van de synthetische biologie. Deze ingrijpende vorm van aanpassing van DNA past zowel onder de categorie van aanpassen van DNA als onder de categorie synthetische biologie. In deze signalering is ervoor gekozen deze toepassingen onder de categorie 'aanpassen van DNA' te laten vallen.

### 2.3.2 Toepassingen

In de paragrafen 2.3.3 t/m 2.3.5 wordt per categorie van technieken, zoals beschreven in 2.3.1 (aanpassen van DNA, regulatie van genexpressie en synthetische biologie), een overzicht gegeven van verwachte toepassingen in de moderne biotechnologie. Ook wordt de termijn waarbinnen ontwikkelingen verwacht worden aangegeven. De verwachte termijn geeft het moment aan waarop er een risicobeoordeling van deze toepassingen gedaan zal moeten worden (in Nederland).

Het overzicht van toepassingen is niet uitputtend en moet gezien worden als een beschrijving van enkele toonaangevende mogelijke ontwikkelingen in het betreffende toepassingsgebied. Aan het overzicht liggen de drie verkennende studies over nieuwe ontwikkelingen in de rode, witte en groene biotechnologie [5-7] en onder andere rapporten van de COGEM, de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie en NAS [1, 2, 4, 8, 9] ten grondslag. In de verkennende studies bleek het moeilijk voorspelbaar te zijn welke toepassingen de komende vijf tot tien jaar te verwachten zijn. Daarom wordt er in Bijlage 1 kort ingegaan op de belangrijkste factoren die een rol spelen bij het wel of niet toepassen van bepaalde technieken.

De toepassingen van biotechnologie zijn ingedeeld per toepassingsgebied: rode (medische), witte (industriële) en groene biotechnologie (agrarische) biotechnologie. De grenzen tussen de verschillende kleuren biotechnologie zijn vaag en soms worden er nog meer kleuren biotechnologie onderscheiden, zoals blauwe (aquatische) biotechnologie [18]. In deze beleidssignalering beperken we ons tot de rode, witte en groene biotechnologie. Toepassingen die hier niet eenduidig onder te plaatsen zijn worden als 'overige toepassingen' beschouwd. Dit zijn bijvoorbeeld bepaalde toepassingen van biotechnologie bij dieren of gene drive toepassingen. De toepassingen worden hieronder beschreven en zijn ingedeeld op basis van de in paragraaf 2.3.1 beschreven drie categorieën van biotechnologische technieken die ten grondslag liggen aan deze toepassingen.



### 2.3.3 Toepassingen van het aanpassen van DNA

#### **Toepassingen in de rode biotechnologie**

Gentherapie richt zich op het inbrengen van functionele genen om een ziekte te behandelen of het herstellen van genen die een ziekte veroorzaken. Dit gebeurde tot nu toe meestal door het toedienen van virale vectoren of plasmiden die het functionele gen bevatten en die vervolgens in lichaamscellen op een willekeurige plaats in het genoom integreren, waarna expressie van het functionele gen kan optreden. Met genome editing is het mogelijk om genen op specifieke plaatsen in het genoom te integreren of te repareren/veranderen. Hierdoor kan vrijwel elk gen als doelwit worden gekozen en zijn er veel meer mogelijkheden om de genfunctie te herstellen. Het succes van nieuwe therapieën hangt voor een groot deel af van de efficiëntie van de afleversystemen om therapeutische genen in lichaamscellen te brengen. De meeste klassieke gentherapiestudies zijn uitgevoerd met virale vectoren om de therapeutische genen af te leveren, maar er vindt ook ontwikkeling en toepassing van niet-virale systemen plaats.

Voorbeelden van toepassingen van genome editing in de rode biotechnologie zijn:

- *ex vivo* therapie, waarbij somatische lichaamscellen (met uitzondering van kiembaancellen) uit de patiënt worden gehaald en buiten het lichaam worden aangepast met behulp van genome editing. Deze cellen worden vervolgens weer teruggeplaatst in de patiënt. Zo kunnen bijvoorbeeld afweercellen resistent gemaakt worden tegen een HIV infectie [19];
- *in vivo* therapie, waarbij site-specifieke nucleasen in het lichaam van de patiënt worden gebracht en daar sequenties die leiden tot ziekten verwijderen of herstellen. Een voorbeeld is CRISPR/Cas als wapen tegen genetische leverziekten [20] en tegen virale infecties zoals Hepatitis B virus of Human Papillomavirus [21]; en
- Kiembaanmodificatie, waarbij niet-functionele of afwijkende sequenties worden verwijderd of hersteld in de kiembaan. Zo kan een pathogene mutatie in het MYBPC3 gen, betrokken bij een erfelijke hartziekte, in pre-implantatie embryo's gecorrigeerd worden [22].

De eerste klinische aanvragen voor *ex vivo* therapie waarbij genome editing wordt toegepast worden in Nederland binnen vijf jaar verwacht [6]. De ontwikkelingen in de *in vivo* therapie gaan ook erg snel. Recent hebben de eerste toepassingen van ZFN in individuele personen plaats gevonden [23, 24] en klinische studies zullen binnenkort plaatsvinden in de Verenigde Staten [25]. Dus ook van deze toepassing worden er binnen vijf jaar in Nederland klinische aanvragen verwacht. Klinische toepassingen van kiembaanmodificatie zijn in Nederland vooralsnog niet aan de orde omdat kiembaanmodificatie wettelijk is verboden. Daarnaast geldt dat voordat daadwerkelijke toepassing van kiembaanmodificatie in de mens kan plaatsvinden (los van ethische discussies), eerst de effectiviteit en specificiteit van de modificatie en de veiligheid voor het embryo verder bewezen zal moeten worden [26].

Transgene diermodellen worden veelvuldig toegepast voor onderzoek naar ziekten en de ontwikkeling van nieuwe gentherapieën, inclusief klinische toepassingen van genome editing. Genome editing technieken

worden op hun beurt ook al veelvuldig toegepast voor de ontwikkeling van nieuwe diermodellen [6].

### **Toepassingen in de witte biotechnologie**

In de moderne industriële biotechnologie worden genetisch aanpaste micro-organismen (bacteriën, schimmels en gisten) ingezet als productie-organismen. Dit gebeurt op grote schaal in industriële installaties voor de productie van bijvoorbeeld grondstoffen voor wasmiddelen (enzymen), medicijnen (bijv. insuline) of voedingsadditieven (bijv. smaakstoffen).

Steeds vaker worden nieuwe stofwisselingsroutes op basis van gesynthetiseerd DNA in bacterie-, schimmel- of giststammen gebouwd om het productieproces te optimaliseren. Hierbij kunnen meerdere gerichte aanpassingen in het DNA van het productieorganisme tegelijkertijd gemaakt worden. Immers, met het inbouwen van nieuwe genen in het genoom kunnen tegelijkertijd ook de van nature aanwezige genen die het stofwisselingsproces zouden kunnen verstoren worden verwijderd. Dit wordt metabolic (pathway) engineering genoemd en wordt vaak ook als een stroming binnen de synthetische biologie benoemd (zie paragraaf 2.3.5). In deze signalering zijn toepassingen van metabolic engineering onder 'aanpassen van DNA' geschaard. Metabolic engineering vindt nu al veelvuldig plaats en de eerste toepassingen hebben de markt al bereikt. Een voorbeeld hiervan is de productie van het anti-malaria middel artemisine door een gist [27] die is aangepast om deze stof te produceren. De toepassingen van metabolic engineering zijn zeer veelzijdig, van stoffen voor voedselproducten en medicijnen, tot producten voor een biobased economy.

Ook wordt er steeds meer onderzoek gedaan naar algen als productieorganismen. Voorbeelden zijn algen die een precursor voor plastic, olie of ethanol produceren [28-30].

### **Toepassingen in de groene biotechnologie**

In de groene biotechnologie wordt, net als in de andere toepassingsgebieden, veel gebruik gemaakt van CRISPR/Cas voor genome editing van planten [31]. Daarnaast wordt ook gebruik gemaakt van oligo-directed mutagenesis (ODM), waarbij gerichte mutaties in het DNA worden bewerkstelligd door de toepassing van synthetische oligonucleotiden [7, 32].

Voorbeelden van toepassingen in de groene biotechnologie zijn:

- Planten met verhoogde opbrengst door associatie met gemodificeerde micro-organismen, zoals planten in associatie met endofytische stikstof-fixerende bacteriën [33], of planten behandeld met ziekte onderdrukkende micro-organismen [34-36];
- planten met veranderde biologische karakteristieken, zoals ziekteresistente tomaten [37, 38], herbicideresistent koolzaad [39], planten met tolerantie voor abiotische stress, zoals droogte of zout [40] en planten met een efficiënter stikstofverbruik of een hogere groeisnelheid [41, 42];

- planten met nieuwe metabole routes, zoals een stofwisselingsroute om stikstof uit de lucht te fixeren [43, 44]; en
- planten die zijn gemodificeerd om hun omgeving te veranderen, zoals planten met veranderde wortel-exudaten om het microbiom rondom de wortels te beïnvloeden [34].

Toepassingen van planten met veranderde biologische karakteristieken worden in de komende vijf jaar verwacht. Planten in associatie met micro-organismen zullen wat langer op zich laten wachten, waarschijnlijk 6-10 jaar. Toepassingen zoals beïnvloeding van het microbiom en planten met nieuwe metabole routes zullen waarschijnlijk zeker tien jaar op zich laten wachten. Complexere aanpassingen aan het genoom van de plant zijn over het algemeen nog verder weg van praktijktoepassing.

## **Overige toepassingsgebieden**

### *Dieren*

Biotechnologische toepassingen bij dieren zijn zeer divers en vallen voor een groot deel onder de rode biotechnologie, zoals diermodellen voor medisch onderzoek, maar vallen gedeeltelijk ook onder andere toepassingsgebieden. Voorbeelden van toepassingen van genome editing bij dieren zijn:

- kippen die hypoallergene eieren produceren voor bijvoorbeeld toepassing in vaccinproductie of voedselindustrie [45];
- hoornloze koeien [45];
- genetisch aangepaste varkens om ze geschikt te maken voor xenotransplantatie [45]; en
- aangepaste insecten om verspreiding van ziekten en plagen te voorkomen.

Ontwikkelingen op het gebied van landbouwhuisdieren vinden veelal buiten de Europese Unie plaats [45]. In Nederland bestaat een restrictief beleid ten aanzien van toepassingen van biotechnologie bij dieren die niet bestemd zijn voor biomedische doeleinden. Aanvragen voor bepaalde toepassingen van genome editing bij dieren (voor niet-biomedische doeleinden) zijn echter op korte termijn (0-5 jaar) niet uitgesloten.

### *Gene drives*

Een speciale toepassing van genome editing bij seksueel reproducerende organismen is het gericht inbouwen van een gene drive systeem met CRISPR/Cas. Een dergelijk synthetisch gene drive systeem wordt aan meer dan de gebruikelijke 50% van de nakomelingen doorgegeven. Hierdoor kan een eigenschap zich veel sneller verspreiden en mogelijk permanent in een hele populatie van een organisme vestigen, zelfs als de eigenschap geen fitness voordeel voor het organisme heeft [46]. Gene drives kunnen worden ingezet om populaties te veranderen of te onderdrukken. Er zijn talloze toepassingen ten behoeve van de menselijke of dierlijke gezondheid, landbouw en natuurbescherming denkbaar. Enkele voorbeelden zijn [47]:

- het bestrijden van door insecten overgedragen ziektes, zoals malaria of de ziekte van Lyme;
- het uitroeien van invasieve exoten;

- het bestrijden van landbouwplagen en plantenziekten;
- het beschermen van bedreigde soorten door populaties resistent te maken tegen ziekte- of plaagorganismen.

Onderzoek naar en ontwikkeling van synthetische gene drive systemen vindt nu al plaats onder ingeperkte omstandigheden (in laboratoria en insectenkooien). Toepassingen waarbij gene drive systemen in het milieu gebracht worden zullen waarschijnlijk nog zeker 5-10 jaar op zich laten wachten.

#### 2.3.4 *Toepassingen van regulatie van genexpressie*

##### **Toepassingen in de rode biotechnologie**

In de medische biotechnologie wordt de mogelijkheid om de expressie van genen die ziekten veroorzaken te beïnvloeden gezien als een duidelijke verschuiving van "reparatie van genen" naar "beïnvloeding van de expressie van genen" [6]. Deze nieuwe toepassingen zouden directe en langdurige regulatie van met ziekte-geassocieerde genexpressie mogelijk moeten maken zonder dat modificaties in het genoom zelf worden aangebracht.

De belangrijkste ontwikkelingen op dit gebied zijn:

- toepassing van kleine therapeutische moleculen zoals siRNAs, miRNAs (microRNAs) en antisense oligonucleotiden (ASOs), waarmee wordt beoogd de regulatie van in lichaamscellen aanwezige ziektegenen te beïnvloeden. Ook behoort epigenoom modificatie met behulp van ASOs tot de mogelijkheden. Mogelijke toepassingen, zoals de behandeling van kanker en van infectieziekten, waarbij afwijkende expressie van genen een rol speelt, worden al in klinische proeven bestudeerd [6];
- Epigenoom modificatie is onder andere mogelijk met behulp van fusie-eiwitten (EpiEffectors) die gericht het epigenoom veranderen. Hierbij vinden bijvoorbeeld chemische modificaties van het DNA of van de histonen plaats die van invloed zijn op de vouwing van het DNA en op de regulatie van de genexpressie. Hoewel er vele mogelijke klinische toepassingen zijn, zijn er nog nauwelijks preklinische modellen ontwikkeld voor translatie naar de kliniek en zijn er nog vele openstaande vragen voordat klinische toepassing plaats kan vinden [15].

Ook bij deze ontwikkelingen geldt de in paragraaf 2.3.3 genoemde ontwikkeling en toepassing van niet-virale systemen. De eerste klinische toepassingen gebaseerd op siRNAs en ASOs vinden al plaats; toepassing van EpiEffectors zal langer duren, wellicht meer dan tien jaar [6].

##### **Toepassingen in de groene biotechnologie**

In de groene biotechnologie kan de genexpressie in planten of daarmee geassocieerde organismen worden beïnvloed door genetisch ingebouwde regulering door middel van een RNAi construct of externe regulering door middel van bijvoorbeeld een RNA spray. Voorbeelden zijn

- RNAi construct: verminderde bruinkleuring in appels, veranderde bloemkleur en resistentie tegen ziekten of plaaginsecten [48];
- RNA spray: onderdrukking van plaaginsecten zoals de stengelboorder [49] en onderdrukking in bijen van een virus dat

zou bijdragen aan het 'colony collaps disorder' (bijenverdwijnziekte) [50].

Een eerste toepassing van een RNAi construct in planten om deze insectenresistent te maken vindt al plaats in de Verenigde Staten [51] en in de komende vijf jaar worden er meer verwacht. Belangrijke factoren in de verdere ontwikkeling van RNAi in de groene biotechnologie zijn de efficiëntie waarmee de genactiviteit onderdrukt kan worden en voor RNAi toepassingen via tijdelijke constructen of RNA sprays de tijdsduur van het effect.

### 2.3.5 *Toepassingen van synthetische biologie*

De eerste toepassingen van synthetische biologie zijn te zien in de witte biotechnologie, maar in de toekomst is een verbreding van toepassingsgebieden te verwachten. Onderscheid in toepassingsgebieden is voor de synthetische biologie daarom op dit moment niet zinvol.

#### **Designer chassis, building blocks en refactoring**

Een 'chassis' is een basisorganisme dat vaak al geoptimaliseerd is voor de omstandigheden in een bioreactor. Door vergaande DNA aanpassingen kan het basisorganisme verder ontdaan worden van niet-gewenste of niet-relevante genetische informatie. Het basisorganisme wordt dan een minimale cel genoemd.

'Building blocks' zijn de kleinste genetische componenten met een specifieke functie die gebruikt worden om genetisch circuits te bouwen. Vervolgens kunnen deze in het basisorganisme gebracht worden met als resultaat een (deels) ontworpen organisme dat over een specifieke functionaliteit beschikt. Een voorbeeld van building blocks zijn zogenaamde 'kill switches' die de dood van het micro-organisme kunnen induceren. 'Kill switches' kunnen mogelijk een belangrijke rol gaan spelen in het voorkomen van verspreiding van gemodificeerde organismen, maar meer onderzoek is nog nodig naar de stabiliteit en effectiviteit [9].

Bij 'refactoring' wordt een bestaande genetische code voor een complexe functie van een organisme herschreven en geoptimaliseerd. Zo'n functie – bijvoorbeeld de codering voor de productie van een suiker door een organisme - kan bijvoorbeeld verspreid liggen op verschillende delen van het genoom. Door refactoring wordt de DNA-codering herschikt, geoptimaliseerd en bij elkaar gegroepeerd met het doel meer modulariteit te bewerkstelligen [52, 53].

Toepassingen van designer chassis, building blocks en refactoring zullen de komende vijf jaar ontwikkeld worden; in de industriële biotechnologie industrie werkt men al met de ideeën, concepten en technieken [5].

#### **Xenobiologische systemen**

Door gebruik te maken van functioneel soortgelijke maar chemisch andere moleculaire bouwstenen in de genetische code, of bij de transcriptie en translatie ontstaat een alternatief, niet in de natuur voorkomend biologisch systeem (xenobiologisch of orthogonaal systeem). Het gaat hier bijvoorbeeld om andere bouwstenen voor de ruggengraat van het DNA, andere coderende basenparen of een

alternatieve codering voor het gecodeerde eiwit. Om dit werkzaam te maken zal ook de vertaal machinerie van de cel (bijvoorbeeld de ribosomen) hierop aangepast moeten worden. Door de orthogonaliteit met bestaande biologische systemen (de genetische informatie opgeslagen in een xenobiologisch organisme zal niet zonder meer uitwisselbaar zijn met bestaande organismen) wordt gesproken over genetic firewalls. Hoewel de ontwikkelingen nog in een vroeg stadium zijn, worden ze gezien als belangrijk voor het ontwikkelen van veilige biologische systemen [54, 55]. De eerste toepassingen worden binnen vijf tot tien jaar verwacht.

### **Protocellen**

Protocellen zijn een voorbeeld van de bottom-up stroming in de synthetische biologie. De inzet is om eenvoudige celachtige systemen te ontwikkelen op basis van zelf ontwikkelde chemische bestanddelen. In deze celachtige systemen bevindt zich een door mensen ontworpen machinerie die bepaalde functies kan vervullen [56-58]. Een van de lange termijn doelen is om de protocel ook zelf-replicerend te maken. De ontwikkeling is in een nog zeer vroeg stadium, dus levende protocellen zullen nog zeker vijf tot tien jaar op zich laten wachten.

### **Celvrije systemen**

Cel-vrije systemen maken gebruik van de biologische machinerie zoals die in natuurlijke cellen voorkomt, met dit verschil dat het celmembraan verwijderd is en het systeem niet zelf-replicerend is [59]. Toepassingen zijn bijvoorbeeld paper-based diagnostics [60]. Deze zijn nu al ontwikkeld. Ook wordt er gewerkt aan industriële toepassingen van celvrije systemen als productieplatform, maar dit is nog in een relatief vroeg stadium, dus deze toepassingen zullen langer op zich laten wachten.

## **2.4 De ontwikkelingen in context**

In de toekomst kijken is lastig maar er zijn meer dan voldoende indicatoren die onderstrepen dat biotechnologie in een fase van stormachtige ontwikkeling terecht is gekomen. Belangrijke indicatoren die dit inzichtelijk maken zijn:

- De wetenschappelijk-technologische ontwikkelingen zorgen in zeer hoog tempo voor nieuwe vindingen en toepassingen van en in de biotechnologie;
- 'Enabling technologies' (zoals automatisering, robotisering, artificial intelligence en omics) zorgen voor een verkorting van de innovatiecyclus en versnelling van productontwikkeling;
- Er is veel investeringskapitaal beschikbaar, zowel privaat als publiek, voor techniekontwikkeling en de ontwikkeling van nieuwe toepassingen.
- Er is druk van de politiek en beleid om nieuwe technologie instrumenteel in te zetten voor bijv. de omschakeling naar een aardoliearme economie, voor ziektebestrijding of gezondheidszorg.

Daarnaast vindt er convergentie van technologie plaats, wat tot weer meer nieuwe toepassingen zal leiden. Voorbeelden zijn bionanotechnologie of 3d printen met biologische materialen. Ook wordt

biotechnologie toegankelijker voor ontwikkelingen buiten gespecialiseerde labs. Zowel de kennis als eenvoudige gereedschap waarmee biotechnologische experimenten gedaan kunnen worden komen voor iedereen op de markt beschikbaar.

Al met al is de verwachting is dat biotechnologie op afzienbare termijn een belangrijke drijvende kracht gaat worden van allerlei technologische toepassingen. Dit betekent dat meer en meer toepassingen de komende periode het licht zullen gaan zien, en dat die toepassingen complexer van aard gaan worden.

Dit heeft daarmee ook zijn weerslag op het proces van risicobeoordeling en de kennis die daarvoor nodig is.





### 3 Methodiek van risicobeoordeling

Bepaalde groepen van agentia, toepassingen of producten worden beoordeeld op hun mogelijke risico's om te voorkomen dat ongewenste effecten optreden op beschermingsdoelen (zie paragraaf 3.1) ten gevolge van hun gebruik. In paragraaf 3.2 wordt kort toegelicht wat een risicobeoordeling is en hoe deze wordt uitgevoerd. Daarna wordt er specifiek ingegaan op de risicobeoordeling voor ggo's (paragraaf 3.3).

#### 3.1 Beschermingsdoelen

Aan de basis van een risicobeoordeling staan beschermingsdoelen. Beschermingsdoelen zijn breed gedefinieerde en gewaardeerde waarden, zoals het behoud van biodiversiteit, ecologische functies of de menselijke gezondheid [61]. Ze beschrijven dus het belang dat beschermd dient te worden. Beschermingsdoelen gericht op het behoud van biodiversiteit zijn bijvoorbeeld het behoud van genetische diversiteit, beschermde soorten (plant of dier), habitats en landschappen. Voorbeelden van beschermingsdoelen gericht op ecologische functies zijn behoud van bodem, water en productie systemen [61].

Beschermingsdoelen kunnen verschillen per land en zijn vaak in wetgeving vastgelegd. De doelen zijn doorgaans in zulke algemene termen beschreven, dat ze nader gespecificeerd moeten worden en eerst omgezet moeten worden naar specifiekere geformuleerde waarden voordat ze geoperationaliseerd kunnen worden in een risicobeoordeling [61].

Voorbeelden van beschermingsdoelen in Europese wetgeving voor gewasbeschermingsmiddelen, stoffen en ggo's zijn respectievelijk 'het waarborgen van een hoog niveau van bescherming van de gezondheid van mensen en dieren en van het milieu' (gewasbeschermingsmiddelenwetgeving) [62], "een hoog niveau van bescherming van de gezondheid van de mens en het milieu" (wetgeving voor chemische stoffen (REACH) [63] en "beschermen van de menselijke gezondheid en het milieu" (wetgeving voor genetisch gemodificeerde organismen) [64, 65].

#### 3.2 Risicobeoordeling

Een risicobeoordeling is een stapsgewijs proces om potentiële risico's van een stof, toepassing of product te beoordelen, zoals potentiële risico's voor de menselijke gezondheid of het milieu. Een risicobeoordeling gaat uit van het basisprincipe dat een risico wordt bepaald door de combinatie van de waarschijnlijkheid dat een schadelijk effect optreedt en de omvang van de consequenties van dat effect [66]. In andere woorden, een risicobeoordeling gaat uit van het principe  $\text{risico} = \text{schadelijk effect} \times \text{waarschijnlijkheid}$ . Hierbij wordt dus beoordeeld welke schadelijke gevolgen een toepassing zou kunnen hebben voor bijvoorbeeld de menselijke gezondheid of het milieu en wat de waarschijnlijkheid daarvan is, oftewel de kans dat deze gevolgen zullen plaatsvinden. Er bestaan zowel kwantitatieve als kwalitatieve manieren

om een (milieu)risicobeoordeling uit te voeren. In beide gevallen worden de mogelijk schadelijke effecten in kaart gebracht.

As er een risico is geïdentificeerd, kunnen maatregelen worden genomen om het risico in te perken (risicomanagement). Risicobeoordeling en risicomanagement zijn nauw gerelateerde, maar zijn verschillende processen. Bij de risicobeoordeling wordt de informatie verzameld, gebaseerd op een analyse van de wetenschappelijke gegevens over de vorm, grootte en karakteristieken van een risico. Bij risicomanagement worden maatregelen bepaald om het risico te beheersen of te beperken. Deze zijn gebaseerd op de uitkomsten van de risicobeoordeling. Daarnaast kunnen andere factoren een rol spelen zoals overwegingen van juridische, politieke, sociale, economische en technische aard [67].

Deze methodiek wordt toegepast voor de risicobeoordeling van verschillende groepen van stoffen en producten. Voorbeelden van deze groepen zijn chemische stoffen, straling, genetisch gemodificeerde organismen, gewasbeschermingsmiddelen, biociden, bescherming van werknemers, plantpathogenen, dierpathogenen, invasieve soorten, patiëntveiligheid, voedselveiligheid en consumentenveiligheid.

### **3.3 Risicobeoordeling van genetisch gemodificeerde organismen**

De meeste toepassingen in de moderne biotechnologie betreffen levende organismen waarvan het DNA is aangepast. Voor de beoordeling van deze organismen is de risicobeoordelingsmethode van ggo's vaak het meest passend. Daarom wordt in deze paragraaf de risicobeoordeling van ggo's nader beschreven.

In de risicobeoordeling van ggo's wordt onderscheid gemaakt tussen toepassingen van ggo's onder ingeperkte omstandigheden en toepassingen van ggo's die doelbewust in het milieu worden gebracht. De beoordeling voor toepassing van ggo's onder ingeperkte omstandigheden is erop gericht het organisme binnen de inperking te houden en zo contact met het milieu te voorkomen. De ernst van mogelijk schadelijke effecten als gevolg van een eventueel contact met het milieu bepaalt de zwaarte van het inperkingsregime. De beoordeling voor doelbewuste introductie van ggo's in het milieu is er juist op gericht om de interactie tussen het organisme en het milieu te beoordelen, waarbij schadelijke milieueffecten voorkomen moeten worden. De beide deelmethode, die samen onder de noemer 'risicobeoordelingsmethode voor ggo's' vallen, worden in respectievelijk de paragrafen 3.3.1 en 3.3.2 nader toegelicht.

De methode van risicobeoordeling van ggo's, de aspecten die daarbij in beschouwing worden genomen en de basisconcepten zijn wereldwijd vergelijkbaar, veelal gebaseerd op onder andere het werk van de OECD [68-70].

De OECD beschrijft twee basisconcepten voor de risicobeoordeling voor ggo's die in het milieu worden gebracht: het stap-voor-stap beginsel en het concept van 'familiarity' [70]. Het stap-voor-stap beginsel houdt in dat bij grote onzekerheid over milieueffecten er strikte risicobeheersmaatregelen worden genomen om eventuele risico's in te

perken. Hoe meer kennis wordt vergaard over het ggo en de interacties met het milieu (familiarity), waaruit blijkt dat er geen schadelijke milieueffecten optreden, des te minder beheersmaatregelen nodig zijn. Op deze wijze kunnen ggo's stap voor stap in het milieu worden geïntroduceerd.

De risicobeoordelingsmethode voor toepassingen van ggo's onder ingeperkte omstandigheden, zoals laboratoria, plantenkassen of dierverblijven, vertoont ook grote overeenkomsten tussen landen wereldwijd. Enkele toonaangevende handboeken, zoals van de National Institute of Health (NIH) uit de VS [71] en van de World Health Organization (WHO) [72], beschrijven de basisconcepten van biologische veiligheid (biosafety) en de indeling van micro-organismen in vier risicogroepen met bijbehorende biosafety levels. Ook ggo's worden meegenomen in deze handboeken.

In de paragrafen 3.3.1 en 3.3.2 wordt de risicobeoordelingsmethode voor respectievelijk ggo's onder ingeperkte omstandigheden en ggo's die in het milieu worden gebracht beschreven.

### 3.3.1 *Risicobeoordeling voor ggo's onder ingeperkte omstandigheden*

De risicobeoordeling voor ggo's onder ingeperkte omstandigheden is er op gericht om te beoordelen wat het risico is dat mogelijk schadelijke effecten op mens en milieu kunnen optreden bij het onbedoeld vrijkomen van het ggo uit de inperking. Een inperking is in dit geval bijvoorbeeld een laboratorium, procesinstallatie, specifiek ingerichte plantenkas of dierverblijf. Er wordt bekeken op welke wijze handelingen met een ggo veilig uitgevoerd kunnen worden, waarbij het risico voor mens en milieu verwaarloosbaar klein is.

De risicobeoordeling begint met het vaststellen van de mogelijke schadelijke effecten die ten gevolge van ontsnapping van het ggo uit de inperking kunnen optreden. Schadelijke effecten zijn onder meer pathogeniteit voor mens, plant of dier en verspreiding van genetisch materiaal naar andere organismen.

De ernst van een schadelijk effect wordt bepaald aan de hand van de karakteristieken van het organisme en de aangebrachte modificatie. De waarschijnlijkheid dat een schadelijk effect kan optreden, wordt bepaald door de aard van de activiteiten in het laboratorium. Beide stappen (de bepaling van ernst en waarschijnlijkheid) bepalen welke risicoklasse moet worden toegekend aan de activiteit met het specifieke ggo.

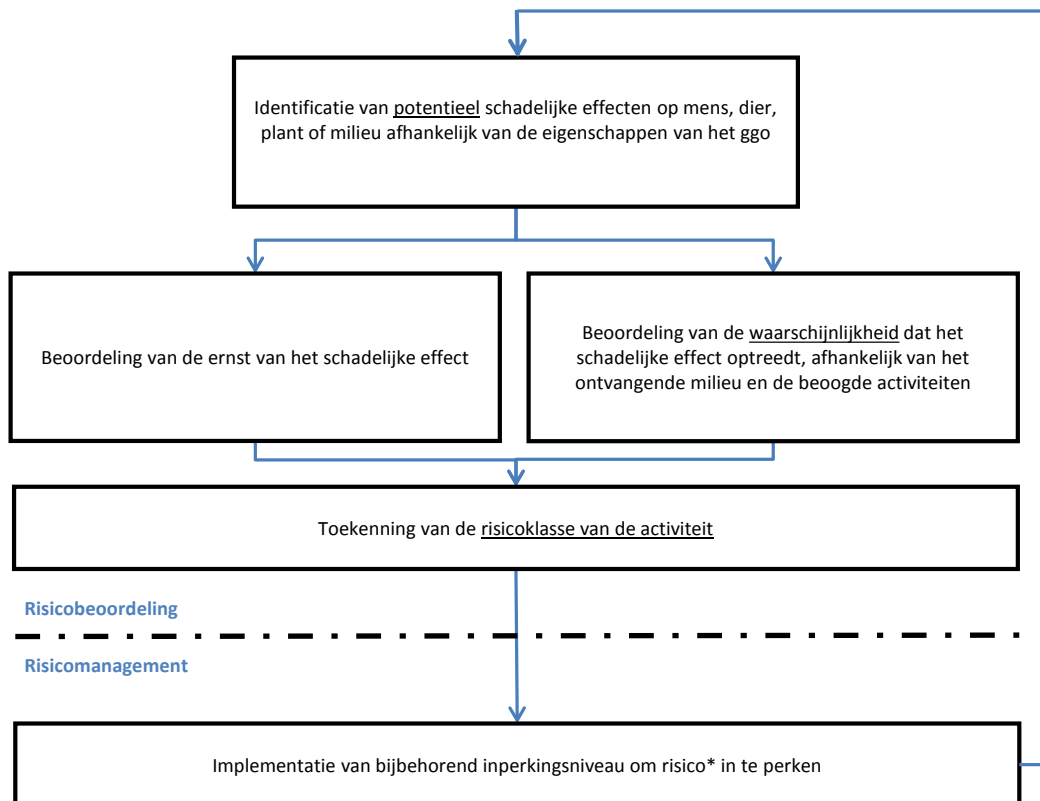
Aan de hand van de risicoklasse wordt het bijbehorende inperkingsniveau vastgesteld. Daarna wordt de risicobeoordeling opnieuw uitgevoerd om vast te stellen of de beheersmaatregelen van het toegewezen inperkingsniveau inderdaad afdoende zijn om het risico van de activiteit met het ggo verwaarloosbaar klein te houden. Indien dit niet het geval is, worden de maatregelen bijgesteld. Het vaststellen van de juiste inperking vindt dus plaats via een iteratief proces.

In geval van toepassing van genetisch gemodificeerde micro-organismen worden de mogelijke schadelijk effecten van het ggo met name gebaseerd op de pathogeniteit van het micro-organisme voor

mens, dier en plant. Dus hoe hoger de pathogeniteitsklasse van het micro-organisme, hoe hoger de inperking. Verder worden de eventuele schadelijke effecten die worden veroorzaakt door de aangebrachte modificatie in beschouwing genomen.

Voor andere toepassingen dan micro-organismen (dieren en planten) zijn de maatregelen met name gericht op het voorkomen van verspreiding van het ggo in het milieu. Voor planten worden specifieke inperkende maatregelen gehanteerd die samenhangen met de verspreidingswijze van de plant. Voor insecten worden specifieke maatregelen voorgeschreven die gericht zijn op de inperking van het insect (bijvoorbeeld toepassing van een muggentent en insectenvallen bij open handelingen met insecten in een ingeperkte ruimte).

De algemene regels en principes voor de risicobeoordeling van ggo's onder ingeperkt gebruik om tot het juiste inperkingsniveau te komen staan beschreven in Figuur 6.



*Figuur 6: Schematische weergave van de risicobeoordelingsmethode voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden.*

*\*Risico = het optreden van een schadelijk effect ten gevolge van de verspreiding van het ggo vanuit de ingeperkte ruimte in het milieu*

### 3.3.2

#### *Risicobeoordeling voor ggo's die in het milieu worden gebracht*

De risicobeoordeling voor ggo's die doelbewust in het milieu worden gebracht wordt een milieurisicobeoordeling genoemd. In de milieurisicobeoordeling wordt beoordeeld of het ggo, direct of indirect, mogelijke schadelijke effecten heeft op de menselijke gezondheid en het milieu. In deze beoordeling worden effecten van het ggo vergeleken met

de effecten die het niet-gemodificeerde ouderorganisme heeft op mens en milieu. Daarbij worden altijd dezelfde aandachtspunten (ook wel 'areas of concern' genoemd) in beschouwing genomen [73]. Mogelijke risico's die geïdentificeerd worden, kunnen met risicobeheersmaatregelen worden teruggedrongen. Deze risicobeheersmaatregelen worden vervolgens meegewogen en het restrisico wordt dan bepaald via een iteratief proces.

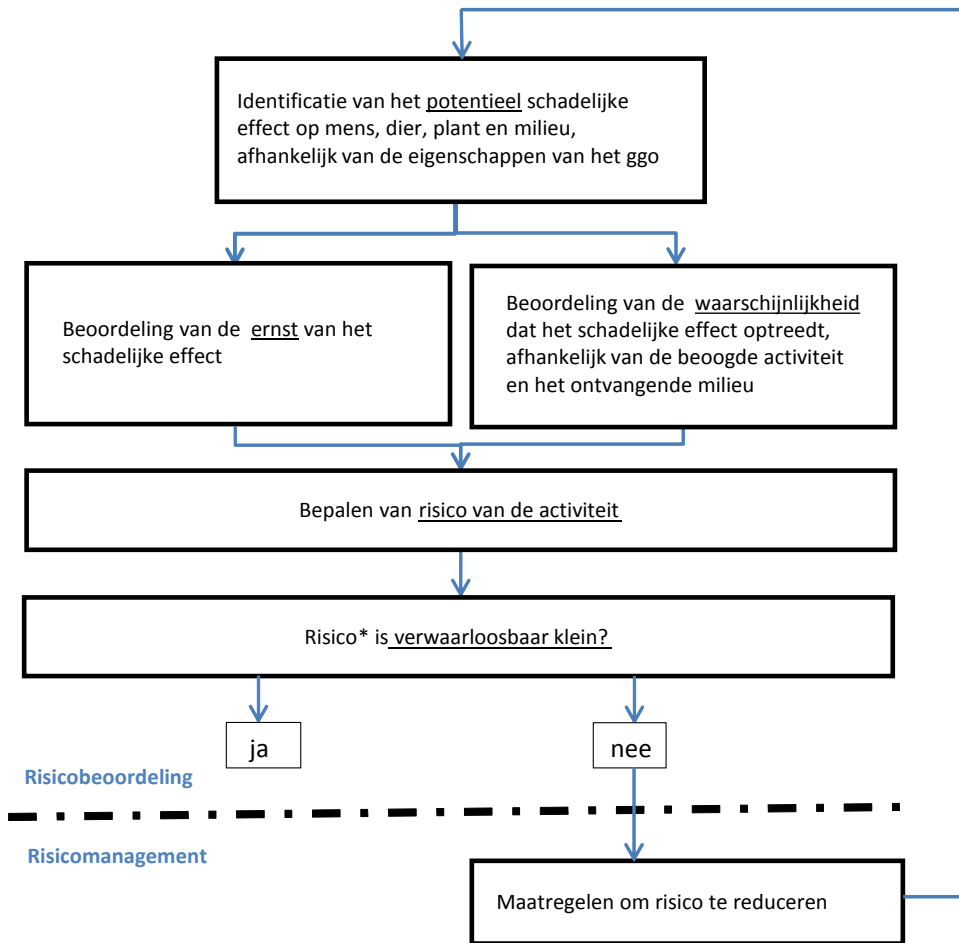
De risicobeoordeling volgt de stappen die zijn beschreven in Figuur 7. De beoordeling begint met een karakterisering van het gastheerorganisme, de genetische modificatie en de vector waarmee de modificatie is bewerkstelligd. Het ggo wordt zowel moleculair (genetisch), als fenotypisch (eigenschappen) gekarakteriseerd. Vervolgens wordt de interactie beoordeeld van het ggo met het milieu waarin het wordt geïntroduceerd. Dit vindt plaats via een stapsgewijze introductie in het milieu van de ggo's door middel van veldproeven, klinische trials of veterinaire studies. Door deze stapsgewijze introductie vindt kennisopbouw plaats (familiarity), waardoor de risicobeheersmaatregelen gefaseerd kunnen worden afgebouwd (stap-voor-stap principe). Wanneer er in enig stadium mogelijk schadelijke effecten worden geïdentificeerd als gevolg van de introductie van het ggo in het milieu (in vergelijking met een niet-gemodificeerd gastheerorganisme), worden maatregelen getroffen om deze risico's te reduceren en te beheersen. Tot slot wordt het risico beoordeeld op basis van de mogelijk schadelijke effecten van het ggo, in combinatie met de risicobeheersmaatregelen en kan een toelating volgen indien sprake is van een verwaarloosbaar klein risico of, indien ook andere belangen worden meegewogen, een aanvaardbaar risico.

Bij gentherapie wordt er erfelijk materiaal in menselijke cellen ingebracht of worden er wijzigingen aangebracht in het erfelijk materiaal van menselijke cellen om een ziekte te behandelen. De patiënt bij wie de gentherapiebehandeling wordt uitgevoerd maakt zelf geen onderdeel uit van de risicobeoordeling. De veiligheid van de patiënt wordt wel in een ander kader beoordeeld. De risicobeoordeling voor mens en milieu richt zich in het geval van gentherapie op de omgeving van de patiënt en derden met wie de patiënt in aanraking komt.

Bij somatische gentherapie (inclusief genoommodificatie van somatische cellen) is het uitgangspunt dat de modificatie zich beperkt tot somatische cellen van de patiënt. Bij gentherapie op de kiembaan (kiembaanmodificatie) kan de therapie ook toekomstige generaties beïnvloeden [74].

In milieurisicobeoordelingen van somatische gentherapieën in Nederland wordt naast de risico's voor derden en het milieu (bijvoorbeeld de mogelijke risico's voor derden in geval van toepassing van virale vectoren) tevens de mogelijkheid van onbedoelde modificatie van de kiembaan als potentieel risico in beschouwing genomen, waarbij de uitkomst moet zijn dat dit niet mag optreden.

Het is niet duidelijk of in geval van gentherapie op de kiembaan effecten op het nageslacht van de patiënt onder de risicobeoordeling voor mens en milieu in beschouwing zouden moeten worden genomen of dat dit onder de beoordeling van de patiëntveiligheid zou vallen.



Figuur 7: Schematische weergave van de risicobeoordelingsmethode voor toepassingen van ggo's in het milieu.

\*Risico = schadelijk effect op mens, dier, plant en milieu als gevolg van de doelbewuste introductie van het organisme in het milieu.  
 Voor gentherapie is het risico een schadelijk effect op mens, dier, plant of milieu als gevolg van vrijkomen in het milieu van het toegepaste organisme (e.g. virus, bacterie)

De twee verschillende deelmethoden van risicobeoordeling zoals weergegeven in Figuur 3 en 4 zijn aanleiding de nieuwe biotechnologische toepassingen in te delen naar toepassingsgebruik: toepassingen onder ingeperkte omstandigheden (4.2) of in het milieu (4.3).

## 4 Aanpak van onderzoek

In dit hoofdstuk wordt de aanpak beschreven waarmee de onderzoeksvraag van deze beleidssignalering “in kaart brengen of toepassingen van nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie kunnen worden beoordeeld op risico’s voor de gezondheid van de mens en het milieu met behulp van de huidige risicobeoordelingsmethode voor ggo’s” beantwoord is. Paragraaf 4.1 gaat in op de gevolgde werkwijze en in paragraaf 4.2 wordt de vragenstructuur toegelicht die is gebruikt om de onderzoeksvraag te beantwoorden.

### 4.1 Werkwijze

De beantwoording van de onderzoeksvraag heeft in een vijftal stappen plaatsgevonden. Deze werkwijze is schematisch weergegeven in Figuur 8.



*Figuur 8: Schematische weergave van de gevolgde stappen in het onderzoeksproces.*

De eerste stap in het onderzoeksproces was het selecteren van nieuwe toepassingen in de biotechnologie. Op basis van de in paragraaf 2.3 beschreven nieuwe biotechnologische technieken en de daaruit voortvloeiende toepassingen is er door de auteurs een lijst opgesteld

van in totaal 28 toepassingen waarvan verwacht wordt dat deze in de komende tien jaar ontwikkeld zullen worden.

In een tweede stap is per toepassing gekeken naar mogelijkheid voor het beoordelen van de risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu. Hierbij is de risicobeoordelingsmethode voor ggo's als uitgangspunt genomen omdat deze als belangrijkste methode voor risicobeoordeling van biotechnologische toepassingen wordt beschouwd. De auteurs hebben op basis van expert judgement voor elke toepassing een inschatting gemaakt van de mate van bruikbaarheid van de huidige risicobeoordelingsmethode voor ggo's voor het beoordelen voor elk van de biotechnologische toepassingen. Dit is gedaan zowel voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden als voor toepassingen die in het milieu worden gebracht. Hierbij zijn systematisch een vijftal vragen doorlopen met zes mogelijk antwoorden (zie Bijlage 2). In dit proces heeft er frequent overleg plaatsgevonden om te zorgen dat alle experts op dezelfde wijze te werk zijn gegaan.

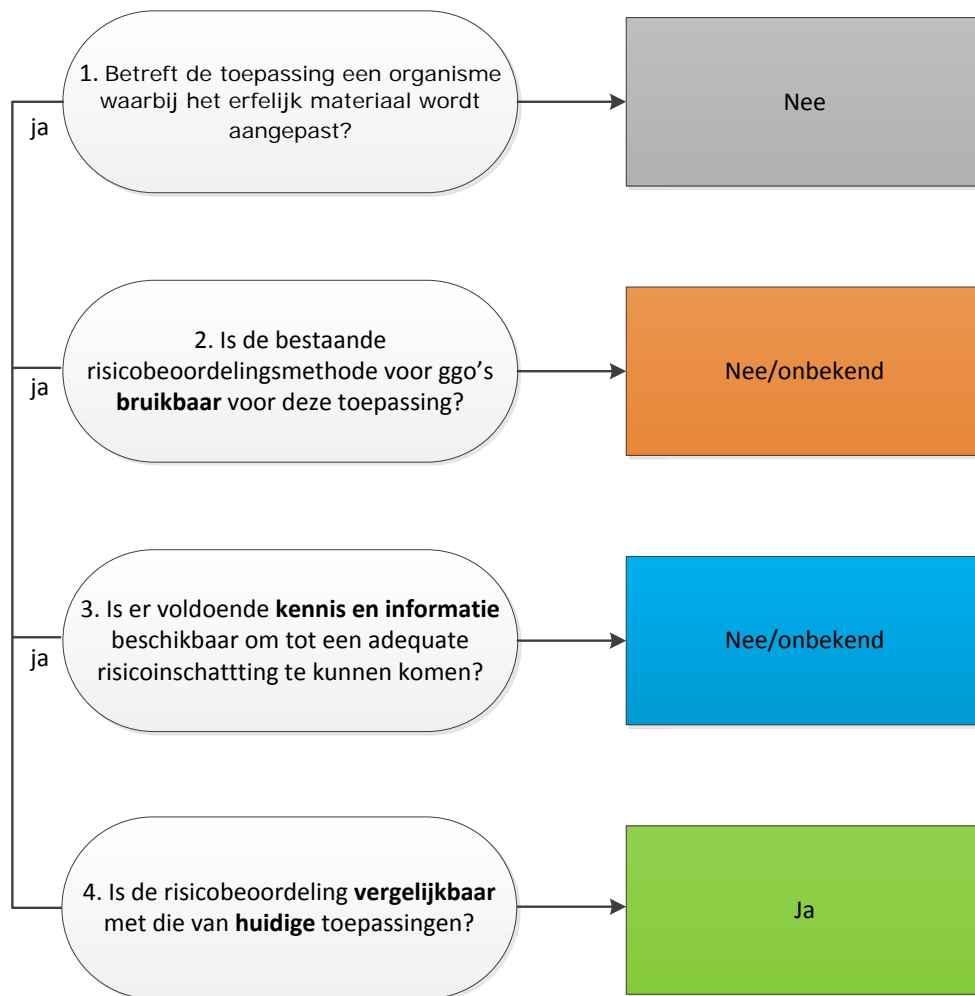
De resultaten van de expert beoordeling zijn in een review proces aan interne en externe experts (zie Bijlage 3 voor een overzicht van de betrokken experts) voorgelegd om te toetsen of zij tot eenzelfde resultaat komen (stap 3). Aan de hand van de ontvangen feedback is de vragenstructuur van stap 2 (voor de volledigheid weergegeven in Bijlage 3) op enkele punten herzien, waarbij de vragenstructuur is teruggebracht tot een viertal vragen met vier mogelijke uitkomsten (stap 4). Deze vragenstructuur is weergegeven in Figuur 9 en wordt in paragraaf 4.2 verder toegelicht.

In de laatste stap zijn de inschattingen van de blijvende toepasbaarheid van de ggo-risicobeoordeling voor enkele toepassingen herzien. De resultaten hiervan worden in hoofdstuk 5 gepresenteerd.

## **4.2 Vragenstructuur**

Voor elk van de 28 nieuwe biotechnologische toepassingen zijn de vragen van Figuur 9 doorlopen. Op basis van kennis en ervaring met de risicobeoordelingsmethode voor ggo's is per toepassing een analyse (expert judgement) gedaan die tot één van de vier mogelijke uitkomsten leidde. Hieronder zijn de vragen van Figuur 9 toegelicht.





Figuur 9: Schematische weergave van de vragenstructuur die doorlopen is bij het maken van de inschatting of er een beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van nieuwe biotechnologische toepassingen.

### Vraag 1. Betreft de toepassing een organisme waarbij het erfelijk materiaal wordt aangepast?

De risicobeoordelingsmethode voor ggo's is ingericht voor levende organismen waarvan het DNA is aangepast. In deze stap wordt getoetst of de nieuwe toepassing inderdaad een levend organisme betreft waarbij aanpassingen aan het erfelijk materiaal zijn gedaan. In dat geval wordt de risicobeoordelingsmethode voor ggo's passend geacht voor het beoordelen van de risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu. Betreft het geen levend organisme, of is er geen aanpassing gedaan aan het erfelijk materiaal, dan krijgt de toepassing een grijze markering.

#### Voorbeeld

De toepassing van RNA spray tegen plaaginsecten of voor het beïnvloeden van plantengroei betreft geen toepassing van een organisme (levende cellen) waarbij het erfelijk materiaal is aangepast. Deze toepassing krijgt daarom een grijze kleur markering.

## **Vraag 2. Is de bestaande risicobeoordelingsmethode bruikbaar voor deze toepassing?**

Hierbij staat de vraag centraal of de methode van de risicobeoordeling zoals weergegeven in figuren 3 en 4 bruikbaar is om mogelijke risico's van de toepassing te beoordelen. Het gaat hierbij zowel om de generieke wijze waarop de beoordeling nu wordt uitgevoerd als om de vraag of de genoemde stappen uitgevoerd kunnen worden en toereikend zijn voor identificatie en evaluatie van mogelijke risico's.

### *Voorbeeld*

Protocellen die ontwikkeld zijn tot levende cellen kunnen heel andere componenten (bv. ribosomen, de vertaalmachines van RNA naar eiwit) hebben waarvan het functioneren verschilt van die in de levende cellen die we tot nu kennen. Levende protocellen kunnen nog niet gemaakt worden (beginstadium van ontwikkeling). Er is nog te weinig informatie om nu in te kunnen schatten of de bestaande risicobeoordelingsmethode voor ggo's bruikbaar zal zijn voor deze toepassing. Mogelijk worden er aanvullende schadelijke effecten geïdentificeerd en zijn er aanvullende vragen over de ernst daarvan nodig. Dit leidt tot een markering in de kleur oranje.

## **Vraag 3. Is er voldoende kennis en informatie beschikbaar om tot een adequate risicoinschatting te kunnen komen?**

Een belangrijke stap in de risicobeoordeling is de karakterisering van het nieuwe organisme. Dit is een beschrijving van de eigenschappen van het organisme, zowel moleculair als fenotypisch. Wanneer het organisme voldoende gekarakteriseerd is, wordt in het geval van ingeperkt gebruik beoordeeld wat de waarschijnlijkheid is dat de activiteiten met het organisme tot een schadelijk effect op het omliggend milieu kunnen leiden in geval van een onbedoeld vrijkomen uit de inperking. In geval van een toepassing in het milieu wordt beoordeeld wat de daadwerkelijke interactie is van het organisme met het betreffende milieu en welke mogelijk schadelijke effecten kunnen optreden. Bij beide beoordelingen is het de vraag of er voldoende informatie is om de mogelijke gevolgen op het milieu adequaat te beoordelen en wat de noodzakelijke kennis is om deze beoordeling daadwerkelijk te kunnen uitvoeren.

Wanneer niet alle kennis en/of informatie beschikbaar is, kunnen de stappen van de risicobeoordeling nog steeds doorlopen worden maar zijn de onzekerheden groot. In dat geval kan met aannames of scenario's worden gewerkt en het hanteren van extra risicomanagement maatregelen om potentiële milieurisico's te mitigeren tot een acceptabel niveau. De extra kennis en informatie is dan nodig om deze beheersingsmaatregelen terug te brengen tot een niveau dat proportioneel is aan het daadwerkelijk risico van de toepassing.

### *Voorbeeld*

Een milieu-introductie van een organisme met een gene drive kan mogelijk leiden tot het onderdrukken of aanpassen van een hele populatie. De gevolgen hiervan moeten op populatie niveau worden beoordeeld. Er is extra kennis nodig om de potentiële milieurisico's als gevolg van het aanpassen of onderdrukken van een populatie adequaat

te kunnen beoordelen. Daarom krijgt deze toepassing een blauwe markering.

**Vraag 4. Is de risicobeoordeling vergelijkbaar met die van huidige toepassingen?**

Als vragen 1 t/m 3 met 'ja' beantwoord kunnen worden, sluit de beoordeling voor deze nieuwe toepassing aan bij de huidige praktijk. De vraag kan dus gezien worden als een controlevraag. Indien ook deze vraag met 'ja' beantwoord wordt, leidt dit tot een groene markering

*Voorbeeld*

Een diermodel om verstoorde expressie van genen tegen te gaan in kanker betreft een levend organisme. De methode voor het beoordelen van mogelijke risico's voor mens en milieu van genetisch gemodificeerde dieren onder ingeperkte omstandigheden wordt al enkele tientallen jaren gebruikt en deze is voldoende uitgewerkt om deze toepassing te beoordelen. Tevens is er voldoende kennis en informatie beschikbaar om de inperkingsmaatregelen zo vast te stellen dat ze doeltreffend zijn om effecten op mens en milieu te voorkomen Dit leidt tot een markering in de kleur groen.



## 5 Resultaten en analyse van onderzoek

In dit hoofdstuk zijn de onderzoeksresultaten beschreven op basis van de in hoofdstuk 4 beschreven aanpak. In de tabellen in de paragrafen 5.1 (voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden) en 5.2 (voor toepassingen in het milieu) worden de 28 toepassingen beschreven en wordt de uitkomst van de vragenstructuur per toepassing gegeven. In paragraaf 5.3 worden deze uitkomsten verder geanalyseerd.

### 5.1 Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden

#### 5.1.1 Aanpassen van DNA

*Tabel 3: Overzicht van de toepassingen onder ingeperkte omstandigheden voor de categorie van technieken 'aanpassen van DNA', een mogelijk voorbeeld van de toepassing en de uitkomst van de inschatting (expert judgement) of er een adequate beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van de nieuwe biotechnologische toepassing op basis van de vragenstructuur van Figuur 9.*

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Rode biotechnologie			
1	Diermodellen voor bestudering van ziekten en ontwikkeling therapieën, genetische modificatie van dieren voor andere doeleinden	Diermodel waarbij mutaties en deleties in het genoom worden aangebracht om ziekte(processen) te bestuderen, diermodel waarbij meerdere genen worden ingebracht voor de bestudering van kanker (multigenetische ziekte), diermodel waarin CRISPR-Cas wordt getest voor de behandeling van virale infecties	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
Witte biotechnologie			
2	Micro-organismen met complexe nieuwe en bestaande metabole routes in gesloten systemen	Gist met productieroute voor artimisine, gist die celwanden van planten kan afbreken voor ethanolproductie	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
Overige toepassingen			
3	Insecten waarbij genen zijn gemodificeerd	Muggen die geen malariaparasiëet meer kunnen overdragen	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
4	Gene drive toepassingen	Synthetische gene drive in insect, knaagdier of gist	Risicobeoordeling is door recent onderzoek voldoende uitgewerkt voor de toekomstige toepassingen van organismen met synthetische gene drives.

Voor alle vier toepassingen onder ingeperkte omstandigheden waarbij het DNA van een organisme is aangepast volstaat de huidige risicobeoordelingsmethode.

Voor micro-organismen die als productie organisme in de witte biotechnologie worden toegepast (zie toepassing 2 in Tabel 3) is een uitgewerkte set aan criteria beschikbaar die bij de risicobeoordeling toegepast dienen te worden (zie hiertoe Bijlage 6 van de Regeling ggo). Ook voor complexere ingrepen, zoals het inbrengen van nieuwe metabole routes, blijft deze aanpak geschikt en is er in de huidige beoordelingspraktijk al ruime ervaring mee opgedaan.

Voor toepassingen waarbij het DNA van insecten of van diermodellen, zoals muizen, wordt aangepast is de bestaande methode van risicobeoordeling ook geschikt (zie toepassingen 1 en 3 in Tabel 3). Bij de risicobeoordeling ligt de nadruk op het voorkomen van verspreiding van het organisme. Ook hier is een ruime ervaring met de risicobeoordeling vanuit de vergunningverleningspraktijk van ggo's.

Het onbedoeld vrijkomen van organismen met een synthetische gene drive kan de mogelijke aanpassing of reductie van een hele populatie tot gevolg hebben. Hier is eerder over gerapporteerd door onder andere het RIVM [46, 75]. In de huidige praktijk is de risicobeoordeling voor ingeperkte omstandigheden voornamelijk afgestemd op pathogeniteit en veel minder op het mogelijk schadelijke effect ten gevolge van de verspreiding van de genetische eigenschap, een effect dat juist beoogd wordt met een gene drive. De bestaande beoordelingsmethode voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden is voor gene drive toepassingen door recent onderzoek [76] voldoende uitgewerkt. Adequate beheersmaatregelen (risicomanagement) kunnen met de beschikbare kennis en informatie vastgesteld worden.

### 5.1.2 Regulatie van genexpressie

*Tabel 4: Overzicht van de toepassingen onder ingeperkte omstandigheden voor de categorie van technieken 'regulatie van genexpressie', een mogelijk voorbeeld van de toepassing en de uitkomst van de inschatting (expert judgement) of er een adequate beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van de nieuwe biotechnologische toepassing op basis van de vragenstructuur van Figuur 9.*

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Rode biotechnologie			
5	Ontwikkeling therapeutische agentia (siRNA, miRNA, antisense oligonucleotiden) tegen aandoeningen met verstoorde genexpressie of virale infecties	Preklinische diermodellen om verstoorde expressie van genen tegen te gaan in bv. kanker, oogziekten en cardiovasculaire ziekten	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
6	EpiEffectors die epigenetische veranderingen kunnen aanbrengen, fusie eiwitten die genexpressie via de transcriptie beïnvloeden	Er zijn vele mogelijke klinische toepassingen (behandeling kanker, virale en bacteriële infecties, proteïne aggregatie ziekten, metabole ziekten, cellulaire reprogrammering, genetische ziekten, maar er zijn nog nauwelijks preklinische modellen	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.

Nieuwe toepassingen van de regulatie van genexpressie onder ingeperkte omstandigheden worden onder andere op het medische terrein verwacht. Het gaat hier om toepassing van antisense RNA (zie toepassing 5 in Tabel 4) of effectoren die aangrijpen op de activiteit van genen in preklinische diermodellen, vaak (genetisch gemodificeerde) muizen (zie toepassing 6 in Tabel 4). Hierbij wordt de DNA code van het dier niet aangepast, maar kan het bij bepaalde toepassingen wel gaan om epigenetische veranderingen die overerfbaar zijn. De huidige risicobeoordelingsmethode van genetisch gemodificeerde dieren, die gericht is op het voorkomen van ontsnapping van de dieren uit het laboratorium, wordt geschikt geacht om adequate beheersmaatregelen (risicomanagement) vast te stellen.

### 5.1.3 Synthetische biologie

*Tabel 5: Overzicht van de toepassingen onder ingeperkte omstandigheden voor de categorie van technieken 'synthetische biologie', een mogelijk voorbeeld van de toepassing en de uitkomst van de inschatting (expert judgement) of er een adequate beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van de nieuwe biotechnologische toepassing op basis van de vragenstructuur van Figuur 9.*

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Synthetische biologie			
7	Designer chassis, waaronder minimale cellen (top-down benadering)	Minimale bacterie, minimale gist chromosomen	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
8	Building blocks (kleinste genetische componenten met een specifieke functie die gebruikt worden om een genetisch circuit te bouwen)	Kill switch, aan- en uitschakelaar voor biosensoren	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
9	Refactoring (herrangschikking van bestaande, gekarakteriseerde genetische componenten met eenzelfde resultaat)	Glycolyse pathway gereorganiseerd en op één locus geplaatst in gist	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
10	Cel-vrije systemen (iets produceren met cellulaire machinerie, zonder gebruik te maken van levende organismen)	Paper-based diagnostics, in ontwikkeling als grootschalige toepassing	De toepassing betreft geen organisme.

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
11	Orthogonale systemen (Xenobiologie)	Nucleïne zuren opgebouwd uit nieuwe letters, een alternatieve eiwit codering in het DNA, eiwitten opgebouwd uit nieuwe (non-canonical) aminozuren	Het is onbekend of de risicobeoordelingsmethode bruikbaar zal zijn voor deze toepassing.
12	Protocellen, niet levend		De toepassing betreft geen organisme.
13	Protocellen, ontwikkeld tot levende cel		Het is onbekend of de risicobeoordelingsmethode bruikbaar zal zijn voor deze toepassing.

### Designer chassis, building blocks en refactoring

Voor de toepassingen op dit gebied van de synthetische biologie waarin engineering wordt toegepast op biologische systemen (zie paragraaf 2.3.5 en toepassingen 7, 8 en 9 in Tabel 5) geldt dat de huidige methode van de risicobeoordeling volstaat. In geval van minimale cellen gaat het om het weghalen van genetische informatie uit een bestaand organisme; bij building blocks gaat het om het gebruik van gekarakteriseerde genetische informatie en in geval van refactoring betreft het enkel een herrangschikking van genetische informatie. Met al deze toepassingen is ervaring in de huidige risicobeoordelingsmethode en heeft deze toepassing een groene markering.

### Celvrije systemen

Celvrije systemen (zie toepassing 10 in Tabel 5) bestaan uit genetische componenten en machinerie van levende cellen, maar zijn zelf niet levend. Dit betekent dat de toepassing geen organisme betreft en de risicobeoordeling voor ggo's niet is ingericht voor deze toepassing. Daarom krijgt deze toepassing een grijze markering, Desondanks kan de huidige risicobeoordeling voor ggo's veel bruikbare elementen bevatten omdat deze systemen een vergelijkbare biologische functie (namelijk het produceren van eiwitten) uitoefenen als een levende cel.

### Orthogonale systemen

Toepassingen zoals het gebruik van nieuwe bouwstenen voor DNA of eiwit, of een alternatieve codering voor de vertaling naar het eiwit (zie toepassing 11 in Tabel 5), staan nu nog in de kinderschoenen. De toepassingen zijn momenteel nog zo beperkt in hun ingrijpen op de biologie van het organisme dat de huidige risicobeoordeling volstaat. Echter, in geval van verdergaande ontwikkeling zal nader onderzocht moeten worden of de bestaande methode voldoende bruikbaar is om alle potentieel schadelijke effecten te kunnen beoordelen voor organismen die volledig zijn uitgerust met orthogonale systemen. Dit is ook gesignaleerd door wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie [2]. Mogelijk zijn er aanvullende vragen nodig voor het vaststellen en het beoordelen van deze schadelijke effecten. Om die reden is de toepassing in bovenstaande tabel oranje gekleurd.

### Protocellen

Niet-levende protocellen (zie toepassing 12 in Tabel 5) kunnen beschouwd worden als een verzameling chemische stoffen in een



afgesloten omgeving. Omdat het geen organisme betreft is de risicobeoordeling voor ggo's niet ingericht voor deze toepassing en krijgt daarom een grijze markering. Mogelijk kan, net als voor celvrije systemen, de risicobeoordeling voor ggo's gedeeltelijk bruikbaar zijn omdat protocellen een vergelijkbare biologische functie (bijvoorbeeld het produceren van eiwitten) kunnen uitoefenen als een levende cel.

Op dit moment is er onvoldoende zicht op de wijze waarop levende protocellen (toepassing 13 in Tabel 5) samengesteld zullen worden en in hoeverre deze lijken op bestaande organismen. Dit maakt het onduidelijk of de huidige methode voor risicobeoordeling van ggo's bruikbaar is. Daarom krijgt deze toepassing de code oranje. De ontwikkeling, waar ook in Nederland onderzoek naar wordt gedaan, staat nog in de kinderschoenen [77]. Ook de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie benadrukken dat kennisontwikkeling en methodeontwikkeling noodzakelijk is om mogelijke risico's van zelf-replicerende protocellen te kunnen beoordelen [2].

## 5.2 Toepassingen in het milieu

### 5.2.1

#### *Aanpassen van DNA*

*Tabel 6: Overzicht van de toepassingen die in het milieu worden gebracht voor de categorie van technieken 'aanpassen van DNA', een mogelijk voorbeeld van de toepassing en de uitkomst van de inschatting (expert judgement) of er een adequate beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van de nieuwe biotechnologische toepassing op basis van de vragenstructuur van Figuur 9.*

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Rode biotechnologie			
14	<i>Ex vivo</i> therapie (cellen, m.u.v. kiembaancellen, worden buiten het lichaam genetisch aangepast en teruggeplaatst)	Deletie van sequentie coderend voor HIV receptor in afweercellen om deze resistent te maken tegen HIV infectie	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen..
15	<i>In vivo</i> therapie in somatische cellen tegen genetische of infectieziekten waarbij niet-functionele of afwijkende sequenties worden hersteld of virussequenties worden verwijderd	Eerste toedieningen van gene editing agentia in individuele proefpersonen vinden al plaats en klinische studies zullen binnenkort plaatsvinden in de V.S., bijv. ZFN als wapen tegen genetische leverziekten	Er is meer informatie nodig om de effecten in de patiënt adequaat te kunnen karakteriseren.
16	Gentherapie tegen monogenetische ziekten waarbij niet-functionele of afwijkende sequentie wordt verwijderd of hersteld in de kiembaancellen	Nog geen klinische voorbeelden. Wel preklinische voorbeelden zoals correctie van mutatie in gen die erfelijke hartziekte veroorzaakt in humane pre-implantatie embryo's	Er is meer informatie nodig om de effecten in de patiënt adequaat te kunnen karakteriseren.

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Witte biotechnologie			
17	Algen in semi-gesloten en open systemen	Algen die een precursor voor plastic, olie of ethanol produceren	Er is meer kennis/informatie nodig om de potentiële milieueffecten adequaat te kunnen beoordelen.
Groene biotechnologie			
18	Planten gemodificeerd om microbiom op en rondom wortels te beïnvloeden	Plant met veranderde wortellexudaten	Er is meer kennis/informatie nodig om de potentiële milieueffecten adequaat te kunnen beoordelen.
19	Planten met verhoogde opbrengst door associatie met gemodificeerde micro-organismen	Plant in associatie met endofytische stikstoffixerende bacterien, of plant behandeld met ziekteonderdrukkende microorganismen	Er is meer kennis/informatie nodig om de potentiële milieueffecten adequaat te kunnen beoordelen.
20	Planten met veranderde biologische karakteristieken	Plant met efficiënt stikstofverbruik, groeisnelheid en/of productopbrengst	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
21	Planten met nieuwe metabole routes	Plant met route voor stikstof fixatie	Er is meer kennis/informatie nodig om de potentiële milieueffecten adequaat te kunnen beoordelen.
Overige toepassingen			
22	Gerichte aanpassingen in het genoom van (landbouw)huisdieren.	Hoornloze koeien of hypoallergene dieren, koeien met ingebrachte genen die kunnen bijdragen aan ziekteresistentie.	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
23	Insecten waarbij genen zijn gemodificeerd	Muggen waarvan nageslacht vroegtijdig sterft of die minder pathogenen overbrengen.	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
24	Gene drive ten behoeve van populatie reductie of populatie aanpassing	Malariamug waarvan het nageslacht vroegtijdig sterft, malariamug die parasiet niet meer overbrengt	Er is meer kennis/informatie nodig om de potentiële milieurisico's adequaat te kunnen beoordelen.

### Toepassingen in de rode biotechnologie

Voor de aanpassing van menselijke cellen (uitgezonderd kiembaancellen) buiten het lichaam voor genterapie toepassingen (zie toepassing 14 in Tabel 6) geldt dat de bestaande methode en uitvoering volstaat. Milieurisico's zijn in de meeste gevallen verbonden aan het gebruik van de virale vectoren die de therapeutische genen afleveren. Er is al veel kennis over en ervaring met dit soort systemen. Daarnaast is

er een tendens tot het gebruik van niet-virale vectoren, waarvoor minder risicovragen aan de orde zijn, aangezien deze zich minder makkelijk dan virale vectoren vanuit de patiënt kunnen verspreiden. Daarom krijgen deze toepassingen een groene markering.

Een grote ontwikkeling is de aanpassing van genetisch materiaal in het menselijk lichaam waarbij niet-functionele of afwijkende genen worden hersteld of verwijderd, in somatische cellen of in de kiembaan (zie toepassingen 15 en 16 in Tabel 6). Er zijn al voorbeelden van individuele *in vivo* toepassingen van genome editing agentia in patiënten, en ook de eerste klinische studies in somatische cellen worden binnenkort verwacht. De ontwikkelingen op dit gebied in het buitenland gaan erg snel. Daarom wordt de eerste klinische aanvraag voor *in vivo* toepassing in somatische cellen in Nederland binnen vijf jaar verwacht.

Bij toepassingen op mensen is het verkrijgen van informatie over de patiëntveiligheid mede van belang om eventuele milieurisico's adequaat te kunnen inschatten, met name bij de toepassing van virale vectoren. Genome editing in de mens is een relatief nieuwe toepassing waarover nog weinig gegevens bekend zijn. Off-target effecten van genome editing zijn bijvoorbeeld onbedoelde modificaties van de kiembaancellen. Informatie over mogelijke effecten op de kiembaan zijn lastig te verkrijgen, omdat er niet altijd geschikte (dier)modelsystemen zijn om dit preklinisch te testen. Wetenschappelijk gezien is het goed mogelijk om deze effecten te bepalen in de mens, maar omdat het hierbij gaat om onderzoek aan het erfelijk materiaal van mensen zijn er juridische en ethische beletsels om deze studies uit te voeren [78]. Daarom krijgen deze toepassingen een blauwe markering.

### **Toepassingen in de witte biotechnologie**

Met genetisch gemodificeerde algen in semi-gesloten en open systemen (zie toepassing 17 in Tabel 6) is nog weinig ervaring opgedaan. Algen worden hier geïntroduceerd in een ander milieu dan planten (aquatisch milieu). Om een goede beoordeling van de gevolgen voor het milieu te maken in het geval deze algen vrijkomen is daarom kennisontwikkeling nodig over algen als gastheer, over het ontvangende (aquatische) milieu, gevolgen van mogelijke verspreiding en overleving en de effectiviteit van bijvoorbeeld (biologische) inperkingsmaatregelen. Algen als productieplatform staan steeds meer in de belangstelling waardoor de benodigde kennis voor het doen van een risicobeoordeling weliswaar groeiende is, maar deze is zeker nog niet volledig [28, 29, 79, 80]. Daarom krijgt deze toepassingen een blauwe markering.

### **Toepassingen in de groene biotechnologie**

Voor ingrepen gericht op het bewust beïnvloeden van de directe omgeving van een plant is de risicobeoordeling complex. Een voorbeeld hiervan is een plant die genetisch is aanpast om het microbiom (microbiële gemeenschap) in de bodem en op de wortels te beïnvloeden (zie toepassing 18 in Tabel 6). De complexiteit van een dergelijk microbiom is groot en er is nog maar beperkte kennis over de complexe chemische en biologische interacties die in het bodemmicrobiom plaatsvinden en weinig ervaring met het actief beïnvloeden van het bodemmicrobiom [34]. Bovendien is er weinig ervaring met het beoordelen van de gevolgen van de nieuwe eigenschap

van de plant op het microbioom. Hiervoor is extra informatie en kennisontwikkeling nodig. Daarom krijgt deze toepassing een blauwe markering.

Voor planten met verhoogde opbrengst door associatie met gemodificeerde micro-organismen (zie toepassing 19 in Tabel 6) zijn concrete plannen om dit op bedrijfsniveau toe te passen [33]. Er is nog weinig ervaring met introductie van genetisch gemodificeerde micro-organismen in het milieu en hun mogelijke effecten op de bodem. Uitkomsten van het ERGO onderzoeksprogramma [81] hebben weliswaar geleid tot meer kennis over natuurlijke variatie die bestaat binnen microbiële bodemgemeenschappen, maar er zal meer kennis nodig zijn om mogelijk schadelijke effecten van genetisch gemodificeerde micro-organismen op bodemfuncties op een adequate manier in kaart te brengen. Rapporten over bodeminteracties zoals geschreven in het kader van genetisch gemodificeerde planten [82] kunnen hierbij behulpzaam zijn. Daarom krijgt deze toepassing een blauwe markering.

Ook voor planten met een grotere ingreep in het DNA, zoals introductie van een nieuwe metabole route of meerdere gerichte mutaties kan de risicobeoordeling complexer zijn. Het inbrengen van bijvoorbeeld een hele nieuwe metabole route om stikstof fixatie te bewerkstellingen (zie toepassing 21 in Tabel 6) vraagt om extra informatie en kennis om tot een goed onderbouwde risicobeoordeling te komen. De gehanteerde methode blijft hier dus weliswaar van toepassing, maar voor een adequate risicobeoordeling is extra informatie en kennis nodig. De onderliggende redenen hiervoor zijn dat het inbrengen van een nieuwe metabole route kan interfereren met andere metabole routes in de plant en dat de in de plant geïnduceerde veranderingen gevolgen hebben voor de interactie met de specifieke omgeving waarin de plant wordt geïntroduceerd, zoals mogelijk schadelijke effecten op het bodemecosysteem waarin de plant wordt geteeld.

Voor planten waarbij een ingreep in het DNA is gedaan die vergelijkbaar is met klassiek genetische modificatie geldt dat het proces van risicobeoordeling ook vergelijkbaar is met de huidige aanpak (zie toepassing 20 in Tabel 6). Omdat de ingreep relatief eenvoudig is, is de karakterisering van het organisme over het algemeen ook eenvoudig en volstaat daarmee de huidige risicobeoordeling. Ook voor de beoordeling van de interactie van de plant met het specifieke ontvangende milieu geldt dat de huidige aanpak en invulling voor risicobeoordeling volstaat. Er is al veel ervaring opgedaan met gg-planten [83, 84]. Daarom krijgt deze toepassingen een groene markering.

### **Overige toepassingen**

Voor gerichte, eenvoudige aanpassingen van het genoom in grote landbouwhuisdieren (zie toepassing 22 in Tabel 6) geldt dat de karakterisering van het organisme relatief eenvoudig is. Het stap-voor-stap principe volstaat om eventuele gevolgen voor het milieu in kaart te brengen. Daarnaast zijn beheers- en inperkende maatregelen voor grote landbouwhuisdieren eenvoudig toe te passen en kunnen de dieren op die manier stapsgewijs in het milieu gebracht worden. Off-target effecten

kunnen bekeken worden door bijvoorbeeld het hele genoom te sequencen. Daarom krijgt deze toepassing een groene markering.

In de risicobeoordelingsmethode voor toepassingen in het milieu is het 'stap-voor-stap' principe (stapsgewijze introductie) een belangrijk concept dat met name is uitgewerkt voor planten [68]. Voor insecten zoals muggen geldt dat de stapsgewijze introductie in het milieu lastig te realiseren is, aangezien insecten zoals muggen zich vrij kunnen verspreiden (zie toepassing 23 in Tabel 6). Voor dit type organisme moet het stap-voor-stap principe daarom anders worden ingevuld dan voor planten. Voor toepassingen zoals muggen is de bestaande risicobeoordelingsmethode nog steeds van toepassing, daarom krijgt deze een groene markering.

Voor de beoordeling van de gevolgen voor het milieu van bijvoorbeeld muggen met synthetische gene drive systemen (zie toepassing 24 in Tabel 6) geldt dat er meer kennis moet worden verkregen om tot een adequate risicobeoordeling te komen. De gewenste effecten van de genetische aanpassing zijn erop gericht (deel)populaties aan te passen en effecten kunnen zich theoretisch verspreiden over grote geografische gebieden. Effecten kunnen dus sneller en grootschaliger (op populatieniveau) zijn. Er zijn veel vragen rond de risicobeoordeling en beheersstrategieën, met name hoe de gevolgen van een populatieaanpassing op ecosysteemniveau beoordeeld kunnen worden [46, 47, 75]. Andere beoordelingsmethoden, zoals die voor invasieve soorten die zich buiten hun oorspronkelijke verspreidingsgebied hebben gevestigd en door hun aanwezigheid een bedreiging kunnen vormen voor de biodiversiteit, zouden nieuwe inzichten kunnen opleveren voor de risicobeoordeling van gene drive toepassingen. Ook het stap-voor-stap principe vraagt om een herziene invulling voor organismen met een synthetisch gene drive systeem. Dit onderwerp krijgt ook internationaal veel aandacht, onder andere in de AHTEG synthetische biologie [85].

### 5.2.2 *Regulatie van genexpressie*

*Tabel 7: Overzicht van de toepassingen die in het milieu worden gebracht voor de categorie van technieken 'regulatie van genexpressie, een mogelijk voorbeeld van de toepassing en de uitkomst van de inschatting (expert judgement) of er een adequate beoordeling kan plaatsvinden van de risico's voor mens en milieu van de nieuwe biotechnologische toepassing op basis van de vragenstructuur van Figuur 9.*

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
Rode biotechnologie			
25	Klinische toepassing therapeutische agentia (siRNA, miRNA, antisense oligonucleotiden) tegen aandoeningen met verstoorde genexpressie	Behandeling tegen Duchenne (erfelijke spierziekte) met oligonucleotide, of andere behandeling van verstoorde expressie van genen in bv. kanker, virale infecties, oogziekten en cardiovasculaire ziekten	Er is bij bepaalde toepassingen die kunnen leiden tot epigenetische veranderingen meer kennis/informatie nodig .

Nr	Toepassing	Voorbeeld	Bijzonderheden risicobeoordeling
26	EpiEffectors die epigenetische veranderingen kunnen aanbrengen, fusie eiwitten die genexpressie via de transcriptie beïnvloeden	Er zijn vele mogelijke klinische toepassingen, maar er zijn nog nauwelijks preklinische modellen. Er zijn vele openstaande vragen m.b.t. de patiëntveiligheid voordat klinische toepassing plaats kan vinden	Er is bij bepaalde toepassingen meer kennis/informatie nodig.
Groene biotechnologie			
27	RNA construct voor gene silencing	Plant met verminderde bruinkleuring, bloemkleur of resistentie tegen ziekten of insecten	Risicobeoordeling vergelijkbaar met huidige ggo toepassingen.
28	RNA spray	RNA spray tegen plaaginsecten of beïnvloeden plantengroei	Het betreft geen levend organisme waarvan het DNA wordt aangepast.

### Toepassingen in de rode biotechnologie

Risico's van medische toepassingen van agentia die de genexpressie beïnvloeden zonder de DNA code te veranderen (toepassing 25 en 26 in Tabel 7) zijn in veel gevallen uitsluitend patiënt-gerelateerd en niet milieu-gerelateerd. Voor bepaalde toepassingen zou ook een (milieu)risicobeoordeling van toepassing kunnen zijn, indien gebruik wordt gemaakt van (virale) vectoren voor de toediening van de agentia die de genexpressie beïnvloeden. Relevante informatie die verkregen is vanuit het oogpunt van de patiëntveiligheid wordt vaak gebruikt als informatie in de milieurisicobeoordeling om de mogelijke effecten in geval van blootstelling van derden in te schatten. Naast effecten op de patiënt zijn er ook mogelijke effecten van agentia die de genexpressie beïnvloeden op de kiembaan en op het nageslacht [6]. Effecten van stoffen op de kiembaan en op het nageslacht worden veelal onderzocht door multigeneratie-onderzoek op proefdieren. *In vitro* (humane) testsystemen waarin wordt gekeken naar mogelijke effecten op het latere leven door prenatale en vroeg postnatale blootstelling ontbreken echter [86]. Dergelijke informatie, die van belang is vanuit het oogpunt van de patiëntveiligheid, maar mogelijk ook vanuit het oogpunt van de beoordeling van de risico's voor mens en milieu, lijkt in dit geval ook moeilijk verkrijgbaar. Daarom krijgen deze toepassingen een blauwe markering.

### Toepassingen in de groene biotechnologie

Voor toepassingen waarbij het genexpressie bewust wordt beïnvloed met een construct dat zorgt voor aanmaak van antisense RNA (zie toepassing 27 in Tabel 7) geldt dat de risicobeoordeling vergelijkbaar is met die van de huidige ggo toepassingen. Het RNA dat zorgt voor beïnvloeden van de genexpressie wordt geproduceerd door de plant en draagt zorg voor het gericht onderdrukken van expressie van zijn eigen genen of van genen van insecten die van de plant eten. Daarom krijgt deze toepassing een groene markering.

Hoewel de risicobeoordeling van dergelijke planten vergelijkbaar is met die van de huidige toepassingen, kunnen sommige testen vragen om een andere aanpak, zoals testen van toxiciteit voor niet-doelwit insecten.

RNA kan ook worden toegepast als een spray waarmee de expressie van genen van de plant of van insecten die van de plant eten onderdrukt kan worden (zie toepassing 28 in Tabel 7). Deze toepassing bevat dus geen organisme, maar alleen RNA. Daarom krijgen deze toepassing de kleur grijs. Voor deze toepassing lijkt e risicobeoordeling voor gewasbeschermingsmiddelen meer op zijn plaats. Ook de risicobeoordeling voor ggo's is (deels) bruikbaar voor deze toepassing.

### 5.3 Analyse van de resultaten

De resultaten zoals deze in de paragrafen 5.1 en 5.2 zijn beschreven geven voor de individuele toepassingen een beeld waar er mogelijk bijzonderheden in de risicobeoordeling te verwachten zijn. In deze paragraaf wordt er een vervolganalyse gedaan om een algemener beeld over de blijvende toepasbaarheid van de risicobeoordeling van ggo's voor nieuwe biotechnologische toepassingen te kunnen geven. Hiertoe zijn de toepassingen ingedeeld naar de termijn waarop verwacht wordt dat er een risicobeoordeling nodig zal zijn en complexiteit van de ingreep en/of de toepassing. De twee factoren worden hieronder nader toegelicht. De gemaakte indeling is slechts indicatief en gebaseerd op een inschatting van de auteurs.

#### Tijd

In paragraaf 2.3 is voor de nieuwe biotechnologische toepassingen een indicatie gegeven wanneer deze toepassingen verwacht worden. De verwachte termijn geeft het moment aan waarop er een risicobeoordeling van deze toepassingen gedaan zal moeten worden (in Nederland). Dit geeft een duiding van de urgentie van de bijzonderheden in de risicobeoordeling die er voor bepaalde toepassingen verwacht wordt.

In deze beleidssignalering is een kwalitatieve inschatting gemaakt van de belangrijkste ontwikkelingen in de biotechnologie die de komende tien jaar te verwachten zijn. Voor enkele toepassingen is aangegeven dat de verwachting is dat er pas over meer dan tien jaar een risicobeoordeling gedaan zal moeten worden (in Nederland)..

Het voorspellen van een termijn waarop toepassingen verwacht worden is erg lastig, omdat dit afhangt van vele factoren (zie ook de drijvende en remmende krachten voor ontwikkelingen die in Bijlage 1 worden beschreven). Dit wordt in de discussie in paragraaf 6.2 verder besproken.

#### Complexiteit

Een algemene trend die zichtbaar is bij de in deze beleidssignalering bekeken toepassingen van nieuwe ontwikkelingen in de biotechnologie is dat de complexiteit van de ingrepen in het genoom of epigenoom toeneemt. Ook de toepassingen zelf worden complexer en meer divers. Deze beide ontwikkelingen hebben gevolgen voor de risicobeoordeling. In veel gevallen vragen complexere ingrepen in organismen en

complexere toepassingen een omvangrijker en ingewikkelder risicobeoordeling, waar vaak meer kennis en informatie voor nodig is.

Een bijkomend probleem voor het uitvoeren van een risicobeoordeling van ingrijpend veranderde organismen is dat het lastiger is om het organisme te vergelijken met het uitgangsgenotype (comparator). Om dit op te lossen kan er gebruik worden gemaakt van meerdere comparators die niet noodzakelijkerwijs het wildtype uitgangsgenotype hoeven te zijn, maar dit vraagt mogelijk om herijking of aanpassing van de beoordeling. Beoordeling zonder gebruik te maken van een comparator is in principe mogelijk, maar kan leiden tot een (zeer) grote informatievraag, die complex en tijdrovend is.

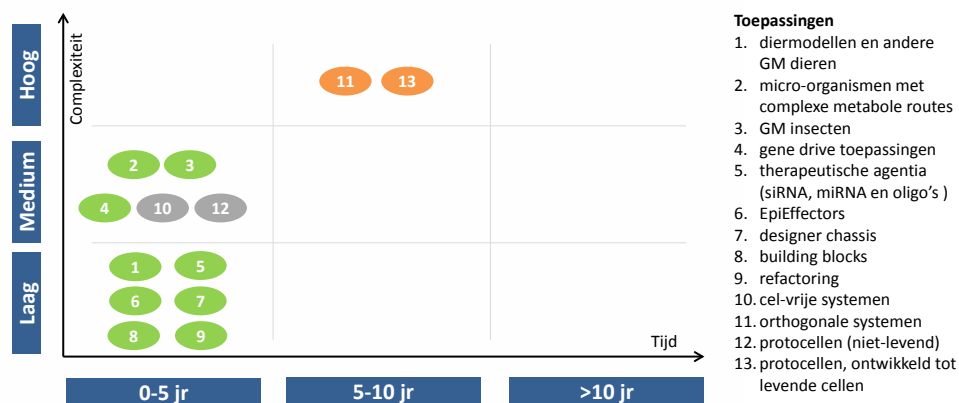
Voor toepassingen die in het milieu worden gebracht geldt dat door de toenemende complexiteit van de toepassingen de interacties van deze toepassingen met het milieu ook moeilijker te beoordelen worden:

- de interacties met het milieu worden moeilijker te voorspellen;
- nieuwe toepassingen kunnen betrekking hebben op andere, nog niet eerder beschouwde ontvangende milieus; en
- toepassingen kunnen leiden tot andere schadelijke effecten, die tot nu toe in mindere mate beoordeeld hoefden te worden (bijv. effecten op populatieniveau bij gene drives).

### 5.3.1 Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden

In Figuur 10 is een inschatting gemaakt van de termijn waarop de nieuwe biotechnologische toepassingen onder ingeperkte omstandigheden te verwachten zijn, afgezet tegen de complexiteit van deze toepassingen. Dit geeft een indicatie van de urgentie van de specifieke aandachtspunten voor de risicobeoordeling.

Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden



Figuur 10: Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden volgens de nummering en kleurmarkering van de tabellen in hoofdstuk 4. De x-as geeft een inschatting van de tijdsduur waarop de toepassing verwacht wordt plaats te vinden, de y-as een inschatting van de complexiteit van de aanpassingen aan het erfelijk materiaal of de toepassing. De figuur is ingedeeld in drie groepen van tijd: kort (0-5 jr), middellang (5-10 jr) en lang (>10 jr) en drie groepen van complexiteit (laag, medium, hoog). De indeling van de toepassingen in een vak is expert judgement gebaseerd op de huidige ontwikkelingen. De plek van een toepassing binnen een vak heeft geen waarde.



Van de toepassingen die op de korte termijn (de komende 0-5 jaar) verwacht worden is voor vrijwel alle toepassingen ingeschat dat de risicobeoordeling vergelijkbaar is met die van de huidige toepassingen. Dat betekent dat de risicobeoordeling voor deze toepassingen op orde is.

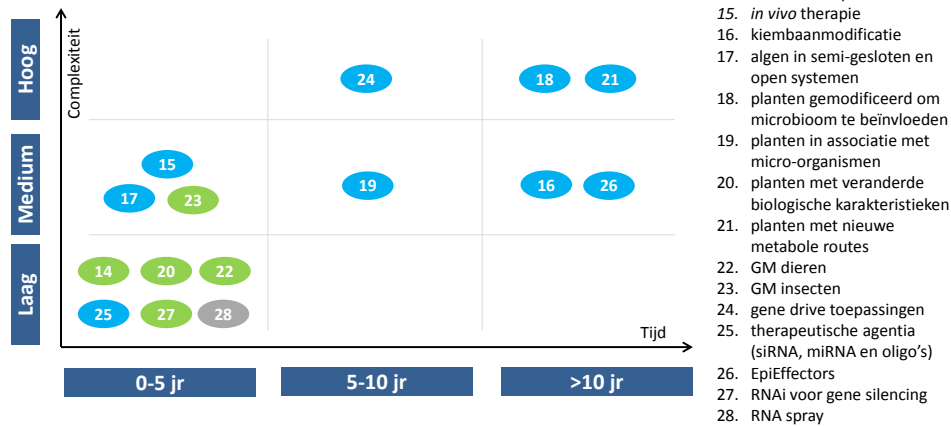
Celvrije systemen en (niet-levende) protocellen zijn hierop een uitzondering. Deze toepassingen betreffen beide geen organismen. Voor deze toepassingen is de risicobeoordeling voor ggo's niet logischerwijs de meest geëigende methode. Voor beide type toepassingen zouden de vragen die in de risicobeoordeling voor ggo's worden gesteld wel gedeeltelijk van toepassing kunnen zijn, omdat de toepassingen wel overeenkomsten vertonen met organismen. In deze studie hebben we niet onderzocht of andere risicobeoordelingsmethoden beter aansluiten of vollediger zouden zijn voor deze toepassingen. Mogelijk zouden verschillende methoden gecombineerd kunnen worden om de juiste vragen te stellen. Dit vergt kennisintegratie van verschillende risicobeoordelingsmethoden. Nader onderzoek hiernaar zou een hoge prioriteit moeten hebben gezien de korte termijn waarop deze toepassingen verwacht worden. Ook de wetenschappelijke commissies van de Europese Commissie hebben de toepassing van niet-levende protocellen gesignaleerd als één van de lacunes voor risicobeoordeling van toepassingen in de synthetische biologie en vraagt onder meer aandacht voor de gevolgen van cel-cel interactie tussen de niet-levende protocellen en levende cellen [2]

Op de middellange (5-10 jaar) termijn worden er toepassingen (orthogonale systemen en protocellen ontwikkeld tot levende cellen) verwacht waarvan op dit moment nog niet duidelijk is of de bestaande risicobeoordelingsmethode bruikbaar is. Dit heeft enerzijds te maken met het feit dat het nu nog onduidelijk is hoe de biologische machinerie van deze toepassingen vorm zal krijgen, maar ook met het feit dat deze toepassingen zodanig anders dan de nu levende cellen kunnen zijn dat het nog niet duidelijk is of de juiste vragen in de risicobeoordeling worden gesteld.

### 5.3.2 *Toepassingen in het milieu*

In Figuur 11 is een inschatting gemaakt van de termijn waarop de nieuwe biotechnologische toepassingen die in het milieu gebracht worden te verwachten zijn, afgezet tegen de complexiteit van de risicobeoordeling van deze toepassingen. Dit geeft een indicatie van de urgentie van de specifieke aandachtspunten voor de risicobeoordeling.

## Toepassingen in het milieu



Figuur 11: Toepassingen in het milieu volgens de nummering en kleurmarkering van de tabellen in hoofdstuk 4. De x-as geeft een inschatting van de tijdsduur waarop de toepassing verwacht wordt plaats te vinden, de y-as een inschatting van de complexiteit van de aanpassingen aan het erfelijk materiaal of de toepassing. De figuur is ingedeeld in drie groepen van tijd: kort (0-5 jr), middellang (5-10 jr) en lang (>10 jr) en drie groepen van complexiteit (laag, medium, hoog). De indeling van de toepassingen in een vak is expert judgement gebaseerd op de huidige ontwikkelingen. De plek van een toepassing binnen een vak heeft geen waarde.

De grafiek voor toepassingen die in het milieu worden gebracht (Figuur 11) vertoont overeenkomsten met de grafiek voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden (Figuur 10), maar geeft deels ook een ander beeld.

Wat overeenkomt is dat ook hier op korte termijn een aantal toepassingen zien zijn waarvan de risicobeoordeling vergelijkbaar is met die van de huidige toepassingen en waarvan de risicobeoordeling dus op orde is. Ook zien we hier een toepassing (RNA spray) welke geen organisme betreft. Voor deze toepassing is de risicobeoordeling voor ggo's niet logischerwijs de meest geëigende methode. Wel kan deze methode (deels) bruikbaar zijn. Aangezien dit een gewasbeschermingsmiddel betreft, is de risicobeoordeling voor deze groep van stoffen zeer waarschijnlijk de meest geëigende methode. Mogelijk kan het een meerwaarde vormen om de verschillende methoden te combineren.

De grafiek voor nieuwe toepassingen die in het milieu worden gebracht laat duidelijk een ander beeld zien dan die voor toepassingen onder ingeperkte omstandigheden met betrekking tot de kennis en/of informatie die nodig is om een adequate risicoinschatting te maken. Zowel op korte als op langere termijn zijn er toepassingen verwacht waarvoor onvoldoende kennis en/of informatie beschikbaar is om tot een adequate risicoinschatting te kunnen komen. Hiervoor moet meer informatie verzameld worden en is kennis nodig om een adequate risicoinschatting te maken. Een gedeelte van de benodigde kennis is elders reeds aanwezig en zal samengebracht moeten worden (kennisintegratie). Voor een deel zal de kennis nog ontwikkeld moeten worden door aanvullend onderzoek.

## 6 Conclusies en discussie

In dit hoofdstuk worden conclusies getrokken uit de resultaten en analyse. Voor de toepassingen waarbij de risicobeoordeling niet vergelijkbaar is met die van huidige toepassingen, wordt vastgesteld wat er nodig is om tot een adequate risicobeoordeling te kunnen komen. Tot besluit van het hoofdstuk zijn de conclusies in een ruimere context geplaatst.

### 6.1 Conclusies van het onderzoek

Er is onderzocht wat de gevolgen zijn van toepassingen van de nieuwe ontwikkelingen in de moderne biotechnologie voor het beoordelen van de risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu. Dit zijn de conclusies (zie ook Figuur 12 voor de verdeling van de toepassingen over de conclusies):

*De risicobeoordeling is voor de helft van de voor onderzoek geselecteerde nieuwe biotechnologische toepassingen op orde.* Voor 14 van de 28 geselecteerde nieuwe biotechnologische toepassingen, die alle in de komende vijf jaar verwacht worden, is ingeschat dat de risicobeoordeling vergelijkbaar is met die van de huidige toepassingen. De risicobeoordelingsmethode voor ggo's is hiervoor het meest geëigend, omdat de nieuwe toepassingen levende organismen betreffen waarbij aanpassingen zijn gedaan in het erfelijk materiaal. De beoordelingsmethode is bovendien bruikbaar voor het beoordelen van deze toepassingen en er is voldoende kennis en informatie beschikbaar om tot een adequate risicoinschatting te kunnen komen.

*Op korte termijn worden er biotechnologische toepassingen verwacht waarvoor de risicobeoordeling voor ggo's niet logischerwijs de meest geëigende methode is.*

Er zijn drie nieuwe biotechnologische toepassingen die geen organismen betreffen. Deze toepassingen worden allen in de komende vijf jaar verwacht. Voor deze toepassingen is de risicobeoordelingsmethode voor ggo's niet in zijn geheel bruikbaar. Er zou onderzocht moeten worden of andere risicobeoordelingsmethoden meer geschikt zijn voor deze toepassingen, of dat het voor een goede risicobeoordeling noodzakelijk is om aspecten uit verschillende risicobeoordelingsmethoden te combineren. Gezien de korte termijn waarop deze toepassingen verwacht worden heeft nader onderzoek hiernaar een hoge prioriteit.

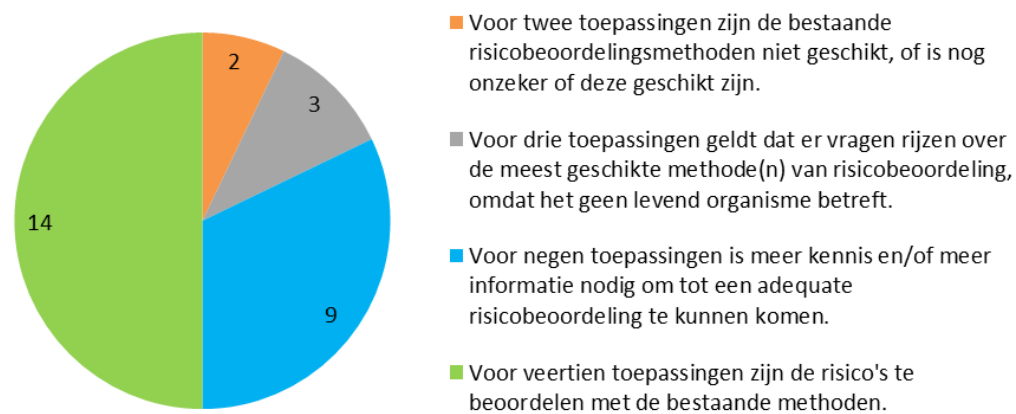
*Op middellange termijn worden er biotechnologische toepassingen verwacht waarvan op dit moment nog niet duidelijk is of de bestaande risicobeoordelingsmethode bruikbaar is.*

Twee toepassingen in de synthetische biologie zijn in een dusdanig vroeg stadium van ontwikkeling dat het nog onduidelijk is hoe deze toepassingen vorm zullen krijgen en wat de mogelijke schadelijke effecten voor de mens of het milieu kunnen zijn. Als er meer bekend is over de aard van de toepassingen kan vastgesteld worden of de

risicobeoordelingsmethode voor ggo's afdoende is of dat deze nader uitgewerkt moet worden voor deze toepassingen.

*Er is aanvullende kennis en/of informatie nodig om tot een adequate risicoinschatting te kunnen komen.*

Voor negen toepassingen die in het milieu worden gebracht is er aanvullende kennis en informatie nodig. Zowel op korte als langere termijn is dit het grootste knelpunt voor het adequaat kunnen beoordelen van de risico's voor mens en milieu van deze nieuwe biotechnologische toepassingen. Het bredere palet aan toepassingen en de toegenomen complexiteit van ingrepen vraagt om informatieverzameling, kennisontwikkeling en kennisintegratie voor de uitvoering van de risicobeoordeling.



*Figuur 12: Conclusies over de geschiktheid van de bestaande risicobeoordelingsmethode voor de 28 nieuwe biotechnologische toepassingen.*

## 6.2

### Discussie

#### Overwegingen

Het onderzoek dat in deze beleidssignalering is beschreven, is uitgevoerd om een vraag vanuit het ministerie van IenW te beantwoorden over de blijvende toepasbaarheid van de risicobeoordeling voor nieuwe biotechnologische toepassingen. Deze vraag komt voort uit de grote snelheid waarop ontwikkelingen in de biotechnologie zich voltrekken. Het identificeren van lacunes in de bestaande kennis en risicobeoordelingsmethoden en het in respons daarop ontwikkelen van nieuwe kennis en risicobeoordelingsmethoden kost immers tijd, en daar moet dus tijdig op geanticipeerd worden.

Met de selectie van 28 nieuwe biotechnologische toepassingen is een niet-uitputtend maar wel breed palet aan toepassingen onder de loep genomen. De snelheid en richting van ontwikkelingen kan anders zijn dan ingeschat in deze signalering als gevolg van gebeurtenissen of belangen die niet meegenomen zijn of kunnen worden in de voorspelling. Bijvoorbeeld, wanneer invloedrijke actoren een groot belang zien bij een bepaalde ontwikkeling (zoals zicht op de ontwikkeling van een medicijn voor een ernstige, veel voorkomende medische aandoening) kan de ontwikkeling sneller gaan. Dit is niet te voorspellen. De schatting van de termijn waarop toepassingen verwacht

worden die we in deze beleidssignalering presenteren, moeten daarom gezien worden als grove indicatie.

Het onderzoek dat in deze beleidssignalering is beschreven berust grotendeels op expert judgement. De inschatting van de auteurs is grotendeels bepalend geweest voor de resultaten, maar de toetsing van de uitkomsten door interne en externe experts (zie Bijlage 2 voor een overzicht van de expertises) geeft ondersteuning aan de conclusies van deze beleidssignalering. De feedback van de interne en externe experts (reviewers) heeft ook bijgedragen aan het terugbrengen van de vragenstructuur die is gebruikt voor het onderzoek van vijf vragen met zes mogelijke uitkomsten naar vier vragen met vier mogelijke uitkomsten. De verfijning van de vragen in de initiële vragenstructuur bleek tot onduidelijkheid te leiden bij de reviewers en deze verfijning bleek ook niet nodig voor het onderzoek. De feedback was dus bruikbaar om de vragen doelmatiger te maken.

Het rapport kan worden gezien als een eerste inventarisatie van de blijvende toepasbaarheid van de risicobeoordeling voor nieuwe biotechnologische toepassingen. Eén van de vervolgstappen kan zijn te onderzoeken of en hoe andere beoordelingsmethoden gebruikt of gecombineerd zouden kunnen worden. Zicht krijgen op de details daarvan vergt betrekking van bredere expertise.

### **Handelingsperspectief**

In paragraaf 6.1 is geconcludeerd dat er voor de helft van de 28 nieuwe biotechnologische toepassingen bijzonderheden zijn voor het adequaat kunnen beoordelen van de risico's voor de gezondheid van de mens en het milieu. Voor deze toepassingen moet of nader onderzoek plaatsvinden naar de methode van risicobeoordeling, of is er meer kennis en informatie nodig om tot een adequate risicoinschatting te komen. Hier wordt bediscussieerd wat er in de Nederlandse context gedaan zou kunnen worden om hieraan bij te dragen.

Voor alle in deze beleidssignalering geïdentificeerde bijzonderheden voor de risicobeoordeling geldt dat ze niet specifiek zijn voor de Nederlandse situatie, maar dat ze ook spelen in een internationale context. De risicobeoordelingsmethode voor ggo's heeft internationaal een vergelijkbare basis (zie hoofdstuk 3). Dit betekent dat het niet altijd nodig is om de onderzoeks- en kennisvragen nationaal te beantwoorden, maar dat er meerwaarde bestaat om te opereren in een internationale context.

Onderstaande tabel (Tabel 8) geeft een overzicht welke elementen nodig zijn om tot een adequate risicobeoordeling te komen en welke stappen gezet kunnen worden om tot invulling hiervan te komen.

Tabel 8: Overzicht van mogelijke acties om de geïdentificeerde bijzonderheden in de risicobeoordeling op te lossen voor de gegroepeerde toepassingen waarvoor dit nodig is. De in deze beleidssignalering gebruikte nummering van de toepassingen is tussen haakjes weergegeven bij de gegroepeerde toepassingen.

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risicobeoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
<b>Toepassingen onder ingeperkte omstandigheden</b>		
Toepassingen van synthetische biologie die geen organismen betreffen (10 en 12)	Identificatie van mogelijk schadelijke effecten van celvrije systemen en niet-levende protocellen. Bepaling in welke risicobeoordelingsmethoden of op welke wijze deze effecten beoordeeld kunnen worden.	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen op het gebied van celvrije systemen en niet-levende protocellen blijven volgen, zowel op fundamenteel vlak als toepassingsgericht. <u>Kennisverzameling:</u> Bijeenbrengen van gegevens die inzicht geven over welke mogelijk schadelijke effecten bij deze toepassingen kunnen optreden en welke vragen in de risicobeoordeling gesteld moeten worden. <u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> 1) Inventarisatie van andere risicobeoordelingsmethoden waarin schadelijke effecten worden beoordeeld die herkenbaar zijn voor deze toepassingen. 2) Netwerk opbouwen van experts die ervaring hebben met bruikbare methoden. 3) Indien nodig combineren van bestaande risicobeoordelingsmethoden en/of uitwerken van nieuwe methode.
Toepassingen van synthetische biologie waarvoor niet duidelijk is of de bestaande risicobeoordelingsmethode bruikbaar is (11 en 13)	Er is kennis en informatie nodig om 1) de mogelijk schadelijke effecten van orthogonale systemen en levende protocellen op mens en milieu te kunnen bepalen en 2) vast te stellen of de ggo risicobeoordelingsmethode afdoende is of dat er andere of aanvullende vragen nodig zijn.	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen op het gebied van orthogonale systemen en levende protocellen blijven volgen. <u>Kennisverzameling:</u> Bijeenbrengen van gegevens die inzicht geven in de verschillende systemen en de mogelijk schadelijke effecten daarvan. Vinger aan de pols in hoeverre de ggo risicobeoordelingsmethode bruikbaar blijft. <u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> 1) Netwerk van experts opbouwen. Contact onderhouden met ggo beoordeelende experts om kennis over beoordeling uit te kunnen wisselen. 2) Indien nodig uitwerking van risicobeoordelingsmethode daar waar huidige methode niet bruikbaar blijkt.
<b>Toepassingen in het milieu</b>		
Toepassingen in de rode biotechnologie waarvoor meer	Er is meer kennis en informatie nodig over de effecten van de agentia op	<u>Informatie:</u> - Ontwikkelingen op het gebied van de klinische toepassingen van deze

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risicobeoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (15, 16, 25 en 26)	de mens. Uit eerste klinische toepassingen zal met name informatie worden verkregen over de veiligheid van desbetreffende agentia voor de patiënt, maar dergelijke gegevens zijn ook bruikbaar voor het beoordelen van mogelijke effecten van deze agentia op derden (met name in geval van toepassing van virale vectoren) en het kunnen uitsluiten van mogelijke (onbedoelde) effecten op de kiembaan.	<p>agentia blijven volgen, informatie verzamelen over de <i>in vivo</i> effecten van deze agentia, ontwikkelingen in de toedieningswijzen en de uit studies verkregen veiligheidsdata.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ontwikkelingen in Nederland, Europa en daarbuiten blijven volgen door de contacten met het gentherapie onderzoeksveld te behouden (NVGCT, ESGCT, ASGCT).</li> <li>- Ten aanzien van kiembaanmodificatie, de (inter)nationale en ontwikkelingen blijven volgen zowel op het gebied van nationale en internationale wet- en regelgeving als de wetenschappelijke ontwikkelingen.</li> </ul> <p><u>Kennisontwikkeling:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Contacten intensiveren met afdelingen binnen RIVM die zich bezighouden met epigenetica en milieubeoordeling van medicijnen en stoffen.</li> <li>- Contacten intensiveren met CCMO, CBG en VWS voor het delen van kennis en informatie over de ontwikkelingen.</li> <li>- Contacten onderhouden met beoordelende instanties in het buitenland om ervaringen op het gebied van risicobeoordeling uit te wisselen.</li> </ul>
Toepassingen in de groene biotechnologie die geen organismen betreffen (28)	Identificatie van risicobeoordelingsmethode (n) voor de beoordeling van RNA sprays op planten	<p><u>Kennis- en methodeontwikkeling:</u> Overleg met het Ctgb over de vraag in hoeverre de risicobeoordelingsmethode (en aspecten die hierbij in beschouwing worden genomen) van gewasbeschermingsmiddelen en van ggo's elkaar kunnen aanvullen voor het beoordelen van de toepassing van RNA sprays op planten ter bestrijding van insecten.</p>
Toepassingen met algen in de groene biotechnologie waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (17)	Er is meer kennis nodig over de overleving en interactie van algen met het milieu (water, bodem)	<p><u>Informatie:</u> Ontwikkelingen blijven volgen met betrekking tot gegevens over (gg-) algen en milieu-interacties.</p> <p><u>Kennisverzameling:</u> Het bijeenbrengen van bestaande rapporten en risicobeoordelingen.</p> <p><u>Kennisontwikkeling:</u> Contact leggen/houden met instanties die toepassingen met (gg-) algen beoordelen, zoals de EPA.</p>
Toepassingen met	Er is meer kennis nodig	<u>Informatie:</u> Ontwikkelingen blijven volgen

Gegroepeerde toepassingen	Wat is er nodig voor een adequate risicobeoordeling?	Wat kan er gedaan worden?
planten in de groene biotechnologie waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (18, 19 en 21)	over karakterisatie van de gg-plant (in geval van inbrengen van nieuwe metabole routes), over het bepalen van mogelijk schadelijke effecten op het bodemecosysteem en methoden om dit te bepalen	qua informatie over effecten op het bodemecosysteem /bodemmicrobioom, met nadruk op functionele groepen, en methoden om effecten gericht te meten <u>Kennisverzameling</u> : Het bijeenbrengen van bestaande kennis (richtsnoeren, rapporten) over milieurisicobeoordeling van ggo's (planten en micro-organismen) en hun effecten op de bodem <u>Kennisontwikkeling</u> : Contact leggen/houden met de Ctgb en andere beoordelende instanties in binnen- en buitenland die ervaring hebben met beoordeling van effecten op bodemecosystemen met ggo's.
Toepassingen met insecten waarvoor meer kennis nodig is om tot een adequate risico inschatting te kunnen komen (24)	Er is meer kennis nodig om mogelijke milieueffecten op populatieniveau te beoordelen. Het stap-voor-stap beginsel moet anders worden ingevuld met name voor insecten met een gene drive.	<u>Informatie</u> : Ontwikkelingen op het gebied van gene drives en hun mechanismen blijven volgen en aangehaakt blijven in het internationale netwerk <u>Kennisverzameling</u> : Bijeenbrengen van gegevens over milieuintroductie van insecten met een (natuurlijke) gene drives. <u>Kennisontwikkeling</u> : 1) Inventarisatie van andere risicobeoordelings-systemen voor insecten zoals voor insecten voor biologische bestrijding, insecten ter bestrijding van ziekten en invasieve insectensoorten en hoe dit kan bijdragen aan de risicobeoordeling van insecten met een gene drive. 2) Contact leggen met experts met kennis op het gebied van populatie dynamica en modelleren om mogelijkheden voor stapsgewijze introductie in het milieu van insecten met een gene drive te verkennen.

### Over de grenzen heen kijken

De technische mogelijkheden en de toepassingen van biotechnologie worden steeds complexer en breder. De in Tabel 8 aangegeven benodigdheden om adequate risicoinschattingen te kunnen blijven maken, geven aan dat onderzoek naar de risicobeoordeling ook moet verbreden. Het is daarbij belangrijk om over de bestaande grenzen van de risicobeoordeling voor ggo's heen te kijken.

De verbreding betreft ten eerste de risicobeoordelingsmethode (de grijze en oranje kleurmarkering in Tabel 8). Dit vraagt in eerste instantie om het samenbrengen van kennis van verschillende disciplines van risicobeoordeling, zoals van chemische stoffen en



gewasbeschermingsmiddelen, en het in beschouwing nemen van de verschillende aspecten die daarbij worden beoordeeld. Dit kan helpen om een totaal beeld te krijgen van de potentiële risico's van nieuwe toepassingen.

De verbreding betreft ten tweede de kennis die nodig is om de risicobeoordeling adequaat uit te voeren (de blauwe kleurmarkering in Tabel 8). Dit vraagt om het bij elkaar brengen en combineren van bestaande (wetenschappelijke) kennis en informatie en waar nodig het genereren van ontbrekende kennis. Zo is er vaak al veel kennis beschikbaar in wetenschappelijke literatuur, zoals fundamentele kennis over populatiedynamica bij insecten. Het combineren en integreren van deze kennis met de beschikbare kennis over gene drives, bijvoorbeeld met behulp van wiskundige modellen, kan bruikbare input genereren voor de risicobeoordeling van insecten met een gene drive.

In algemene zin, worden er in internationale context al veel initiatieven genomen om methoden en kennis te ontwikkelen ten behoeve van risicobeoordeling, zoals binnen de OECD of middels regionale of nationale initiatieven. In Nederland vindt ook gerichte kennisontwikkeling en signalering van nieuwe ontwikkelingen plaats op het gebied van veiligheid en moderne biotechnologie. Voorbeelden hiervan zijn het huidige onderzoeksprogramma 'Biotechnologie en Veiligheid' [87], de Trendanalyse Biotechnologie van de COGEM en de Gezondheidsraad [1], publicaties op het gebied van gene drives zoals die van het RIVM [46, 76] en het onderzoeksprogramma Ecologie Rond Genetisch gemodificeerde Organismen (ERGO; 2006-2012) [81]. Deze beleidssignalering benadrukt het belang van het voortzetten van het proactief signaleren van ontwikkelingen in de moderne biotechnologie in brede zin.

Vanwege het internationale karakter van de ontwikkelingen, lijkt het ook van belang om de ontwikkelingen en signalen vanuit een Nederlandse context zichtbaar te maken in internationaal verband. Verbreding biedt zo een kans om de noodzakelijke kennisontwikkeling ook in een internationale context aandacht en mogelijk vorm en inhoud te geven. Bestaande circuits als OECD en CBD bieden hiertoe een eerste opstap.

### **Bevindingen in context**

De geschiktheid van de ggo-risicobeoordeling voor de risicobeoordeling van nieuwe biotechnologische toepassingen stond in dit onderzoek centraal. Toch ontstaat in deze beleidssignalering een beeld dat aansluit bij de conclusies van de COGEM en de Gezondheidsraad in de laatste Trendanalyse Biotechnologie: bestaande regelgeving past niet langer op het veld van de biotechnologie, met alle nieuwe toepassingen die daar recent ontwikkeld zijn en in de nabije toekomst verwacht worden en met convergentie van technologieën [1]. Zo komen er in het onderzoek een aantal punten naar voren waar de grenzen van de juridische kaders duidelijk zichtbaar zijn:

- Door de verschillende juridische kaders zijn ook de risicobeoordelingsmethoden in hokjes ingedeeld. Er zijn in deze beleidssignalering nieuwe biotechnologische toepassingen beschreven waarop meerdere kaders van toepassing zijn, zoals genterapie toepassingen die zowel onder medische kaders als

het ggo-kader vallen. Ook zijn er nieuwe biotechnologische toepassingen beschreven waarvan het niet op voorhand duidelijk is of er een juridisch kader van toepassing is, zoals celvrije systemen. Het ligt in de lijn der verwachting dat er meer toepassingen zullen komen waarvan het niet duidelijk is onder welk beoordelingskader ze vallen [1].

- De in deze beleidssignalering beschreven toepassing van algen in een semi-gesloten systeem bevindt zich op het grensvlak van ingeperkte omstandigheden en milieu-introductie. Vanuit het perspectief van de risicobeoordeling is dit geen probleem, omdat bij risicobeoordeling voor toepassingen die in het milieu gebracht ook de mate van blootstelling aan het milieu in beschouwing wordt genomen. De verwachting is dat er onder andere in de synthetische biologie in de toekomst meer toepassingen op dit grensvlak zullen liggen, zoals een detectie-instrument met levende gesynthetiseerde bacteriën in een gesloten medisch hulpmiddel [88]. De strikte juridische scheidslijn tussen toepassingen onder ingeperkte omstandigheden en toepassingen die in het milieu worden gebracht staat daardoor onder druk.
- Met de grotere verscheidenheid aan biotechnologische technieken komen er steeds meer mogelijkheden om genetisch identieke organismen op een verschillende wijze te verkrijgen. Voor enkele biotechnologische technieken is het onduidelijk of het gebruik ervan leidt tot een ggo, zoals dit juridisch is gedefinieerd.

Toekomstige biotechnologische toepassingen, zoals aanpassingen in de kiembaan, gene drives of xenobiologie waarbij nieuwe vormen van leven worden ontworpen, raken aan de fundamenteën van het leven en roepen een keur aan ethische vragen op. Dit nodigt uit tot een brede discussie over de ethische en maatschappelijke aspecten die deze ontwikkelingen met zich mee brengen.

Sheila Jasanoff en Benjamin Hurlbut hebben recent in *Nature* betoogd [89] dat een gecoördineerde internationale aanpak gewenst om een reflectie over biotechnologische innovaties tot stand te brengen. Ook de Tweede Kamer heeft recent om een dergelijke dialoog verzocht<sup>8</sup>. Het kabinet heeft inmiddels in een reactie<sup>9</sup> op de eerder genoemde Trendanalyse aangekondigd beleid en regulering op het gebied van de veiligheid van biotechnologie te willen moderniseren, zodat deze kunnen meegroeien met de snelle technologische ontwikkelingen. Daarbij wordt gestreefd naar enerzijds het benutten van de kansen die de biotechnologie biedt en anderzijds het waarborgen van de veiligheid voor mens en milieu. De maatschappelijke dialoog is daar onderdeel van. Dit onderzoek kan die dialoog voeden.

<sup>8</sup> Kst. 27428, nr. 340: de motie Bosma (VVD)/Van der Velde (PvdA) waarin de regering wordt verzocht "een maatschappelijk debat te starten waarmee het publiek betrokken wordt bij de huidige ontwikkelingen in de biotechnologie"

<sup>9</sup> Kst. 27428, nr. 335: Beleidsreactie Trendanalyse Biotechnologie 2016

## 7 Referenties

1. Commissie Genetische Modificatie (COGEM), Gezondheidsraad. Trendanalyse Biotechnologie 2016, Regelgeving ontregeld. Bilthoven: COGEM; 2016. CGM/160614-01. Available from: <http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/trendanalyse-biotechnologie-2016-regelgeving-ontregeld>.
2. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER), Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Final Opinion on Synthetic Biology III - Risks to the environment and biodiversity related to synthetic biology and research priorities in the field of synthetic biology. European Commission; 2015. Available from: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/emerging/docs/scenihr\\_o\\_050.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_050.pdf).
3. Convention on Biological Diversity. Decision adopted by the Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity XIII/17. Synthetic biology. 2016.
4. National Academies of Sciences Engineering and Medicine. Preparing for Future Products of Biotechnology. Washington, DC: The National Academies Press; 2017. Available from: <http://www.nap.edu/24605>.
5. Bergmans H, Vennekens W. Analysis of new developments in white (industrial) biotechnology. Ameco; 2016. Available from: [https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/Biotechnology-and-Safety-Call-2\\_call-Analysis-of-new-developments-in-white%20biotechnology\\_April%202016\\_RIVM\\_Ameco.pdf](https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/Biotechnology-and-Safety-Call-2_call-Analysis-of-new-developments-in-white%20biotechnology_April%202016_RIVM_Ameco.pdf).
6. Joosten P, Xiaoxi Z, Hermsen H. Emerging gene expression and gene expression regulation technologies in medical biotechnology. Xendo; 2016. Available from: <https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/Biotechnology%20and%20Safety%20-%20RIVM%20%20Emerging%20Gene%20expression%20and%20Gene%20expression%20regulation%20technologies%20in%20medical%20biotechnology.pdf>.
7. Wiel CCMvd, Smulders MJM, Visser RGF, Schaart JG. New developments in green biotechnology - an inventory for RIVM. WUR; 2016. Available from: [https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/New%20developments%20in%20green%20biotechnology\\_0.pdf](https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/New%20developments%20in%20green%20biotechnology_0.pdf).
8. Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on Synthetic Biology I - Definition. European Commission; 2014. Available from: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committees/emerging/docs/scenihr\\_o\\_044.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_044.pdf).

9. Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER), Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR), Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on Synthetic Biology II - Risk assessment methodologies and safety aspects. European Commission; 2015. Available from: [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific\\_committee/emerging/docs/scenihr\\_o\\_048.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committee/emerging/docs/scenihr_o_048.pdf).
10. Gaudelli NM, Komor AC, Rees HA, Packer MS, Badran AH, Bryson DI, et al. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*. 2017. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature24644>.
11. May A. Base editing on the rise. *Nat Biotechnol*. 2017;35(5):428-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28486457>.
12. Sander JD, Joung JK. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology*. 2014;32:347. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.2842>.
13. Ledford H. Beyond CRISPR: A guide to the many other ways to edit a genome. *Nature*. 2016;536(7615):136-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27510203>.
14. Cohen J. 'Base editors' open new way to fix mutations. *Science*. 2017;358(6362):432-3. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/sci/358/6362/432.full.pdf>.
15. Kungulovski G, Jeltsch A. Epigenome Editing: State of the Art, Concepts, and Perspectives. *Trends in genetics : TIG*. 2016;32(2):101-13.
16. Dominguez AA, Lim WA, Qi LS. Beyond editing: repurposing CRISPR–Cas9 for precision genome regulation and interrogation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2015;17:5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2015.2>.
17. Gezondheidsraad, RGO, KNAW. Synthetische biologie: kansen creëren. Den Haag: Gezondheidsraad; 2008. 2008/19.
18. Kafarski P. Rainbow code of biotechnology. *CHEMIK*. 2012;66(8):811-6.
19. Tebas P, Stein D, Tang WW, Frank I, Wang SQ, Lee G, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *The New England journal of medicine*. 2014;370(10):901-10.
20. Savić N, Schwank G. Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing. *Translational Research*. 2016;168(Supplement C):15-21. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931524415003321>.
21. White MK, Hu W, Khalili K. The CRISPR/Cas9 genome editing methodology as a weapon against human viruses. *Discovery medicine*. 2015;19(105):255-62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445958/>.
22. Ma H, Marti-Gutierrez N, Park S-W, Wu J, Lee Y, Suzuki K, et al. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature*. 2017;548:413. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature23305>.

23. Grens K. Man Receives First In Vivo Gene-Editing Therapy: TheScientist; 2017 [Available from: <https://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/50957/title/Man-Receives-First-In-Vivo-Gene-Editing-Therapy/>].
24. Kaiser J. A human has been injected with gene-editing tools to cure his disabling disease. Here's what you need to know.: Science; 2017 [Available from: <http://www.sciencemag.org/news/2017/11/human-has-been-injected-gene-editing-tools-cure-his-disabling-disease-here-s-what-you>].
25. Olena A. First In Vivo Human Genome Editing to Be Tested in New Clinical Trial: TheScientist; 2017 [Available from: <https://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/49456/title/First-In-Vivo-Human-Genome-Editing-to-Be-Tested-in-New-Clinical-Trial/>].
26. Cyranoski D, Reardon S. Chinese scientists genetically modify human embryos. Nature News 2015 22 April 2015.
27. Paddon CJ, Keasling JD. Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development. Nature Reviews Microbiology. 2014;12:355. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3240>.
28. Commissie Genetische Modificatie (COGEM). Algae and genetic modification; Research, production and risks. Bilthoven: COGEM; 2012. CGM 2012-05. Available from: <http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/onderzoekrapport-algae-and-genetic-modification-research-production-and-risks?order=relevance&q=algae&category=&from=30-09-1998&to=05-01-2018&sc=fullcontent>.
29. Menetrez MY. An overview of algae biofuel production and potential environmental impact. Environmental science & technology. 2012;46(13):7073-85.
30. Posewitz MC. Algal oil productivity gets a fat bonus. Nature Biotechnology. 2017;35:636. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.3920>.
31. Samanta MK, Dey A, Gayen S. CRISPR/Cas9: an advanced tool for editing plant genomes. Transgenic Research. 2016;25(5):561-73. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11248-016-9953-5>.
32. Lusser M, Parisi C, Plan D, Rodríguez-Cerezo E. Deployment of new biotechnologies in plant breeding. Nature Biotechnology. 2012;30:231. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.2142>.
33. Bomgardner MM. Bayer and Ginkgo launch microbe company - New firm, backed with \$100 million, will focus on nitrogen-fixing organisms for crops: Chemical & Engineering news; 2017 [Available from: <https://cen.acs.org/articles/95/web/2017/09/Bayer-Ginkgo-launch-microbe-company.html>].
34. Ryan PR, Dessaux Y, Thomashow LS, Weller DM. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. Plant and Soil. 2009;321(1):363-83. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0001-6>.

35. Ahemad M, Kibret M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*. 2014;26(1):1-20. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364713000293>.
36. Farrar K, Bryant D, Cope-Selby N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant Biotechnol J*. 2014;12(9):1193-206.
37. de Toledo Thomazella DP, Brail Q, Dahlbeck D, Staskawicz BJ. CRISPR-Cas9 mediated mutagenesis of a DMR6 ortholog in tomato confers broad-spectrum disease resistance. *bioRxiv*. 2016.
38. Nekrasov V, Wang C, Win J, Lanz C, Weigel D, Kamoun S. Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Scientific Reports*. 2017;7(1):482. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00578-x>.
39. Sauer NJ, Mozoruk J, Miller RB, Warburg ZJ, Walker KA, Beetham PR, et al. Oligonucleotide-directed mutagenesis for precision gene editing. *Plant Biotechnology Journal*. 2016;14(2):496-502. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/pbi.12496>.
40. Mickelbart MV, Hasegawa PM, Bailey-Serres J. Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nature Reviews Genetics*. 2015;16:237. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3901>.
41. Arora L, Narula A. Gene Editing and Crop Improvement Using CRISPR-Cas9 System. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8(1932). Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2017.01932>.
42. Noman A, Aqeel M, He S. CRISPR-Cas9: Tool for Qualitative and Quantitative Plant Genome Editing. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1740. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5116475/>.
43. Baltés NJ, Voytas DF. Enabling plant synthetic biology through genome engineering. *Trends in Biotechnology*. 2015;33(2):120-31. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779914002376>.
44. Rogers C, Oldroyd GED. Synthetic biology approaches to engineering the nitrogen symbiosis in cereals. *Journal of Experimental Botany*. 2014;65(8):1939-46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eru098>.
45. Commissie Genetische Modificatie (COGEM). The relationship between humans and animals is back on the agenda - report on the symposium 'Gene editing in animals'. Bilthoven: COGEM; 2017. CGM/171219-01. Available from: <http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/event-report-gene-edited-animals-applications-and-implications>.
46. Westra J, Van der Vlugt CJB, Roesink CH, Hogervorst PAM, Glandorf DCM. Gene drives - Beleidssignalering. 2015. RIVM Briefrapport 2015-0196. Available from: <https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-07/Beleidssignalering%20Gene%20drives%20%20RIVM%20briefrapport%202015-0196.pdf>.

47. National Academies of Sciences E, Medicine. Gene Drives on the Horizon: Advancing Science, Navigating Uncertainty, and Aligning Research with Public Values. Washington, DC: The National Academies Press; 2016. 230 p.  
<https://www.nap.edu/catalog/23405/gene-drives-on-the-horizon-advancing-science-navigating-uncertainty-and>
48. Zhang J, Khan SA, Heckel DG, Bock R. Next-Generation Insect-Resistant Plants: RNAi-Mediated Crop Protection. Trends in Biotechnology. 2017; 35(9):871-82. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779917300902>.
49. Wang Y, Zhang H, Li H, Miao X. Second-Generation Sequencing Supply an Effective Way to Screen RNAi Targets in Large Scale for Potential Application in Pest Insect Control. PLOS ONE. 2011; 6(4):e18644. Available from:  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018644>.
50. Maori E, Paldi N, Shafir S, Kalev H, Tsur E, Glick E, et al. IAPV, a bee-affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion. Insect Molecular Biology. 2009; 18(1):55-60. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2583.2009.00847.x>.
51. Zhang S. The EPA Quietly Approved Monsanto's New Genetic-Engineering Technology The Atlantic; 2017 [Available from:  
<https://www.theatlantic.com/science/archive/2017/06/monsanto-rna-interference/531288/>].
52. Nielsen J, Keasling Jay D. Engineering Cellular Metabolism. Cell. 2016; 164(6): 1185-97. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867416300708>.
53. Kuijpers NGA, Solis-Escalante D, Luttik MAH, Bisschops MMM, Boonekamp FJ, van den Broek M, et al. Pathway swapping: Toward modular engineering of essential cellular processes. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016; 113(52): 15060-5. Available from:  
<http://www.pnas.org/content/113/52/15060.abstract>.
54. Zhang Y, Lamb BM, Feldman AW, Zhou AX, Lavergne T, Li L, et al. A semisynthetic organism engineered for the stable expansion of the genetic alphabet. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2017; 114(6): 1317-22. Available from:  
<http://www.pnas.org/content/114/6/1317.abstract>.
55. Gan R, Perez JG, Carlson ED, Ntai I, Isaacs FJ, Kelleher NL, et al. Translation system engineering in Escherichia coli enhances non-canonical amino acid incorporation into proteins. Biotechnology and Bioengineering. 2017; 114(5): 1074-86. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1002/bit.26239>.
56. Sagardip M, Allen PL. Physical Biology. 2017. Available from:  
<http://iopscience.iop.org/10.1088/1478-3975/aa9768>.
57. Miller D, Gulbis J. Engineering Protocells: Prospects for Self-Assembly and Nanoscale Production-Lines. Life. 2015; 5(2): 1019. Available from: <http://www.mdpi.com/2075-1729/5/2/1019>.
58. Caspi Y, Dekker C. Divided we stand: splitting synthetic cells for their proliferation. Systems and Synthetic Biology. 2014; 8(3): 249-69. Available from:  
<https://doi.org/10.1007/s11693-014-9145-7>.

59. Lu Y. Cell-free synthetic biology: Engineering in an open world. *Synthetic and systems biotechnology*. 2017; 2(1):23-7.
60. Pardee K, Green AA, Takahashi MK, Braff D, Lambert G, Lee JW, et al. Rapid, Low-Cost Detection of Zika Virus Using Programmable Biomolecular Components. *Cell*.165(5): 1255-66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.059>.
61. Convention on Biological Diversity. Guidance on risk assessment of living modified organisms and monitoring in the context of risk assessment. Convention on Biological Diversity,; 2016. Available from: [https://bch.cbd.int/protocol/cpb\\_technicalseries.shtml#bst4](https://bch.cbd.int/protocol/cpb_technicalseries.shtml#bst4).
62. Verordening (EG) nr. 1107/2009 van het Europees Parlement en de Raad van 21 oktober 2009 betreffende het op de markt brengen van gewasbeschermingsmiddelen en tot intrekking van de Richtlijnen 79/117/EEG en 91/414/EEG van de Raad, (2009). Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=celex:32009R1107>.
63. Verordening (EG) nr. 1907/2006 van het Europees Parlement en de Raad van 18 december 2006 inzake de registratie en beoordeling van en de autorisatie en beperkingen ten aanzien van chemische stoffen (REACH) en tot oprichting van een Europees Agentschap voor chemische stoffen (2006). Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R1907-20161011&from=EN>.
64. Richtlijn 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van Richtlijn 90/220/EEG van de Raad, (2001). Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=CELEX:32001L0018>.
65. Verordening (EG) nr. 1829/2003 van het Europees Parlement en de Raad van 22 september 2003 inzake genetisch gemodificeerde levensmiddelen en diervoeders (2003). Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/ALL/?uri=CELEX:32003R1829>.
66. Royal Society. *Risk Analysis, Perception and Management*. London: The Royal Society 1992.
67. Leeuwen CJv, Vermeire TG. *Risk Assessment of Chemicals: An Introduction*2007. 686 p.
68. Bergmans H. Basic framework for risk assessment for transgenic plants developed by the OECD: 20 years after the OECD "Blue Book". *Environ Biosafety Res*. 2006; 5(4):213-8. Available from: <https://doi.org/10.1051/ebr:2007010>.
69. OECD. *Recombinant DNA safety considerations*. Paris: OECD; 1986.
70. OECD. *Safety considerations for biotechnology: scale-up of crop plants*. Paris: OECD; 1993. Available from: <http://www.oecd.org/science/biotrack/1958527.pdf>.
71. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Institutes of Health (NIH). *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 5th ed. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services; 2007. <https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL.pdf>



72. WHO. Laboratory biosafety manual. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.  
<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>
73. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. EFSA Journal 2010. 2010;8(11). Available from:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2010.1879/epdf>.
74. Rüdelsheim PLJ, Smets G. Gene therapy clinical trials: what about the environment? A comparison between the Netherlands and North America. Bilthoven: COGEM; 2012. CGM/2012-07. Available from:  
<https://www.cogem.net/index.cfm/en/publications/publication/gene-therapy-clinical-trials-what-about-the-environment-a-comparison-between-the-netherlands-and-north-america>.
75. Australian Academy of Science. Discussion paper synthetic gene drives in Australia: implications of emerging technologies. Canberra: Australian Academy of Science,; 2017. Available from:  
<https://www.science.org.au/files/userfiles/support/documents/gene-drives-discussion-paper-june2017.pdf>.
76. Vlugt CJBvd, Brown DD, Lehmann K, Leunda A, Willemarck N. A Framework for the Risk Assessment and Management of Gene Drive Technology in Contained Use. Applied Biosafety. 2018;23(1):25-31. Available from:  
<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1535676018755117>.
77. Commissie Genetische Modificatie (COGEM). Het bionano-avontuur; Bouwen aan de levende cel. Bilthoven: COGEM; 2017. CGM 2017-05. Available from:  
<http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/het-bionano-avontuur-bouwen-aan-de-levende-cel?order=relevance&q=&category=onderzoeksrapporten&from=30-09-1998&to=05-01-2018&sc=fullcontent>.
78. Commissie Genetische Modificatie (COGEM), Gezondheidsraad. Ingrijpen in het DNA van de mens. Morele en maatschappelijke implicaties van kiembaanmodificatie. Bilthoven: COGEM; 2017. CGM/170328-01. Available from:  
<https://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/ingrijpen-in-het-dna-van-de-mens-morele-en-maatschappelijke-implicaties-van-kiembaanmodificatie>.
79. Beacham TA, Sweet JB, Allen MJ. Large scale cultivation of genetically modified microalgae: A new era for environmental risk assessment. Algal Research. 2017;25:90-100. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926416305021>.
80. Henley WJ, Litaker RW, Novoveská L, Duke CS, Quemada HD, Sayre RT. Initial risk assessment of genetically modified (GM) microalgae for commodity-scale biofuel cultivation. Algal Research. 2013;2(1):66-77. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926412000549>.

81. Beintema N. Ecologie rond genetisch gemodificeerde organismen (ERGO) - een terugblik. Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO); 2013. Available from: <https://www.nwo.nl/actueel/nieuws/2014/alw/afsluitende-publicatie-programma-ecologie-rond-genetisch-gemodificeerde-organismen-ergo.html>.
82. Commissie Genetische Modificatie (COGEM). Inventory and guidelines for studies on the interactions of the soil microbiota with genetically modified (GM) plants. Bilthoven: COGEM; 2013. CGM 2013-03. Available from: [https://www.cogem.net/index.cfm/en/publications/publication/inventory-and-guidelines-for-studies-on-the-interactions-of-the-soil-microbiota-with-genetically-modified-gm-plants?action=search&count=9&containerid=542A633C-BBE0-1D96-94BAB7DADAD79A1F&lng=en\\_US&offset=10&q=&category=research-reports&from=01-01-1900&to=14-07-2017&order=date\\_desc](https://www.cogem.net/index.cfm/en/publications/publication/inventory-and-guidelines-for-studies-on-the-interactions-of-the-soil-microbiota-with-genetically-modified-gm-plants?action=search&count=9&containerid=542A633C-BBE0-1D96-94BAB7DADAD79A1F&lng=en_US&offset=10&q=&category=research-reports&from=01-01-1900&to=14-07-2017&order=date_desc).
83. National Academies of Sciences E, Medicine. Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects. Washington, DC: The National Academies Press; 2016. 606 p. <https://www.nap.edu/catalog/23395/genetically-engineered-crops-experiences-and-prospects>
84. Rüdelsheim PLJ, Smets G. Taking stock of the environmental risk assessment of genetically modified plants and gene therapy. Perseus; 2015. Available from: [https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/Taking%20stock%20of%20the%20environmental%20risk%20assessment%20of%20genetically%20modified%20plants%20and%20gene%20therapy\\_0.pdf](https://biotechnologie.rivm.nl/sites/default/files/2017-11/Taking%20stock%20of%20the%20environmental%20risk%20assessment%20of%20genetically%20modified%20plants%20and%20gene%20therapy_0.pdf).
85. Convention on Biological Diversity. AHTEG Current Activities 2017 [Available from: <https://bch.cbd.int/synbio/ahteg/2016-2018.shtml>].
86. Gezondheidsraad. Risico's van prenatale blootstelling aan stoffen. Den Haag: Gezondheidsraad; 2014. publicatienr. 2014/05. Available from: [https://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/201405risicos\\_van\\_prenatale\\_blootstelling\\_stoffen.pdf](https://www.gezondheidsraad.nl/sites/default/files/201405risicos_van_prenatale_blootstelling_stoffen.pdf).
87. NWO Toegepaste en Technische Wetenschappen. Onderzoeksprogramma I&W Biotechnologie en Veiligheid: NWO; 2018 [Available from: <http://www.stw.nl/nl/programmas/onderzoeksprogramma-iw-biotechnologie-en-veiligheid>].
88. NCTU Formosa. The APOIIO E.Cotector: iGEM; 2015 [Available from: [http://2015.igem.org/Team:NCTU\\_Formosa/Description](http://2015.igem.org/Team:NCTU_Formosa/Description)].
89. Jasanoff S, Hurlbut JB. A global observatory for gene editing. Nature. 2018; 555(7697): 435-7.
90. Regulation (EU) No 536/2014 of the European Parliament and of the Council of 16 April 2014 on clinical trials on medicinal products for human use, and repealing Directive 2001/20/EC (2014). Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32014R0536>.

## Afkortingen en begrippen

### Afkortingen

ASGCT	American Society of Gene and Cell Therapy
ASO	Antisense Oligonucleotide
CBD	Convention on Biological Diversity van de Verenigde Naties
CBG	College ter Beoordeling van Geneesmiddelen
CCMO	Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
COGEM	Commissie Genetische Modificatie
Ctgb	College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden
CRISPR/Cas	Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat/ CRISPR associated protein
dCas	dead Cas
DNA	desoxyribonucleïnezuur
EPA	Environmental Protection Agency (in de Verenigde Staten)
ESGCT	European Society of Gene and Cell Therapy
gg-	genetisch gemodificeerd
ggo	genetisch gemodificeerd organisme
IenW	Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
miRNA	microRNA
mRNA	messenger RNA
NAS	National Academie of Sciences (in de Verenigde Staten)
NIH	National Institutes of Health (in de Verenigde Staten)
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
RNA	ribonucleïnezuur
RNAi	RNA interference
siRNA	small interfering RNA
TALEN	Transcription Activator-Like Effector Nuclease
VWS	Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport
ZFN	Zinc-Finger Nuclease

### Begrippen/Definities zoals gebruikt in deze beleidssignalering

#### *EpiEffector*

Synthetisch fusie-eiwit van een DNA herkenningsdomein en een chromatine-modificerend eiwitdomein, dat gericht het epigenoom verandert.

#### *Expert judgement*

De inschatting van een of meerdere deskundige(n) op grond van zijn/haar persoonlijke kennis en ervaring.

#### *Faciliterende technologieën*

Technologieën die een ondersteunende rol spelen in het mogelijk maken van nieuwe ontwikkelingen, zoals die in de moderne biotechnologie.

#### *Groene biotechnologie*

De agrarische biotechnologie. Deze richt zich op veredeling van gewassen om meer vruchtbare en resistente zaden, planten en hulpbronnen te verkrijgen.

*Informatie*

Gegevens, data.

*Kennis*

Het vermogen om informatie in de juiste context te kunnen plaatsen en te kunnen beoordelen, zoals in de context van risicobeoordeling.

*Kiambaancellen*

Cellen waaruit de geslachtscellen ontstaan. Wijzigingen in deze cellen worden doorgegeven aan de volgende generaties.

*Minimale cel*

Een cel met minimaal benodigde functies voor overleving.

*Moderne biotechnologie*

De moderne biotechnologie omvat technieken waarbij er rechtstreeks wordt ingegrepen in het erfelijk materiaal van organismen (zoals dieren, planten, bacteriën). Dit is bij klassieke biotechnologie niet het geval.

*Orthogonaal systeem*

Een alternatief (xeno)biologisch systeem, waarbij gebruik wordt gemaakt van functioneel soortgelijke, maar chemisch andere moleculaire bouwstenen in de genetische code of bij transcriptie of translatie.

*Overige toepassingen in de biotechnologie*

Toepassingen in de biotechnologie die niet eenduidig onder rode, witte of groene biotechnologie te scharen zijn.

*Protocel*

Celachtig systeem dat alle biologische componenten bevat, maar niet kan repliceren. Voorloper van levende cel.

*Risicobeoordeling*

Een stapsgewijs proces om potentiële risico's van een stof, toepassing of product te beoordelen, zoals potentiële risico's voor de menselijke gezondheid of het milieu.

*Risicobeoordelingsmethode*

Een methode om een risicobeoordeling uit te voeren die is uitgewerkt voor een specifieke groep aan toepassingen, zoals voor ggo's, chemische stoffen, gewasbeschermingsmiddelen, etc.

*Risicobeoordelingsmethodiek*

Een algemeen stramien van risicobeoordeling dat generiek wordt toegepast om risico's te beoordelen, onafhankelijk van een toepassing.

*Risicomangement*

Maatregelen om eventuele risico's te beheersen of te beperken.

*Rode biotechnologie*

De medische biotechnologie. Deze richt zich onder andere op de productie van vaccins en antibiotica, regeneratieve therapieën, creatie van kunstmatige organen en nieuwe diagnostiek van ziekten.

*Somatische cellen*

Lichaamscellen die niet tot de geslachtscellen behoren.

*Witte biotechnologie*

De industriële biotechnologie. Deze richt zich onder andere op toepassing van biokatalyse in industriële processen, bijvoorbeeld voor de verwerking en productie van chemicaliën, materialen en energie.



## Bijlage 1 Drijvende en remmende krachten voor ontwikkelingen

In de verschillende toepassingsgebieden spelen verschillende drijvende en remmende krachten die van belang zijn voor de snelheid van ontwikkeling en het komen tot nieuwe toepassingen in de moderne biotechnologie. Dit kan van grote invloed zijn op de termijn waarop nieuwe toepassingen te verwachten zijn. Daarom zijn de belangrijkste drijvende en remmende krachten die in de drie verkennende studies [5-7] naar voren kwamen hier kort beschreven.

### Rode biotechnologie

In de medische biotechnologie worden twee ontwikkelingen als de belangrijkste drijvende krachten benoemd. De eerste betreft ontwikkelingen in detectie en screening technologie. Hiermee kunnen bijvoorbeeld genetische afwijkingen opgespoord worden die tot ziekte leiden, of off-target effecten (veranderingen in het DNA of RNA op andere plaatsen dan de beoogde plaats) van gene editing technieken opgespoord worden. De tweede ontwikkeling is die in de synthetische biologie. Hierdoor kunnen steeds gericht en nauwkeuriger aanpassingen gedaan worden in het genoom van patiënten en kunnen kleine therapeutische moleculen op andere wijze in de cel gebracht worden. [6]

Voor de rode biotechnologie worden ethische aspecten en de patiëntveiligheid als de belangrijkste barrières gezien. Bij de patiëntveiligheid spelen technologische aspecten een belangrijke rol, namelijk hoe bijwerkingen en off-target effecten worden voorkomen en hoe het biotechnologisch medicijn in de juiste cellen en in de juiste dosis in de patiënt worden gebracht. De ethische discussies richten zich op wijzigingen in het DNA van kiembaancellen (eicellen en zaadcellen), waardoor de behandeling ook invloed heeft op volgende generaties. Modificatie van het genoom in kiembaancellen bij proefpersonen is in de EU verboden [90]. In Nederland is dit geïmplementeerd in de embryowet<sup>10</sup>. Hierin is vastgelegd dat het verboden is om het genetisch materiaal van de kern van menselijke kiembaancellen waarmee een zwangerschap tot stand zal worden gebracht, opzettelijk te wijzigen. [6]

### Groene biotechnologie

Er zijn twee drijvende krachten achter de ontwikkelingen in de groene biotechnologie: ten eerste de verhoogde efficiëntie en precisie van modificaties. De toenemende snelheid van het sequencen (lezen van DNA volgorde) en de ontwikkelingen in bio-informatica dragen hier sterk aan bij. De tweede drijvende kracht kan ook als een barrière worden beschouwd en komt voort uit het feit dat de EU ggo-regelgeving wordt ervaren als een barrière om gg-planten op de markt te brengen. De ontwikkelingen van toepassingen van met name genome editing in de

<sup>10</sup> Embryowet, artikel 24, lid g. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0013797/2013-09-27>

EU zullen dan ook sterk afhangen van een eventuele vrijstelling van deze technieken van de EU ggo-regelgeving. [7]

In de plantenbiotechnologie is een ontwikkeling zichtbaar van methoden om planten gericht aan te passen, maar waarbij het eindproduct geen soortvreemd DNA bevat. Voorbeelden zijn cisgenese en intragenese, waarbij alleen genen van dezelfde soort of van nauw verwante soorten worden ingebracht, zoals ziekteresistentiegenen. Cisgenese en intragenese zijn geen nieuwe technieken, ze maken gebruik van recombinant-DNA technieken. Een andere ontwikkeling is het aanbrengen van mutaties of tijdelijk uitschakelen van genen door het inbrengen van een recombinant DNA construct op een plasmide (een 'drager') dat alleen tijdelijk in de cel aanwezig is en daarna uit de cel verdwijnt. Toepassing is bijvoorbeeld een versnelde bloei in bomen door de tijdelijke aanwezigheid van het nieuwe DNA of het aanbrengen van een herbicide tolerantie. [7]

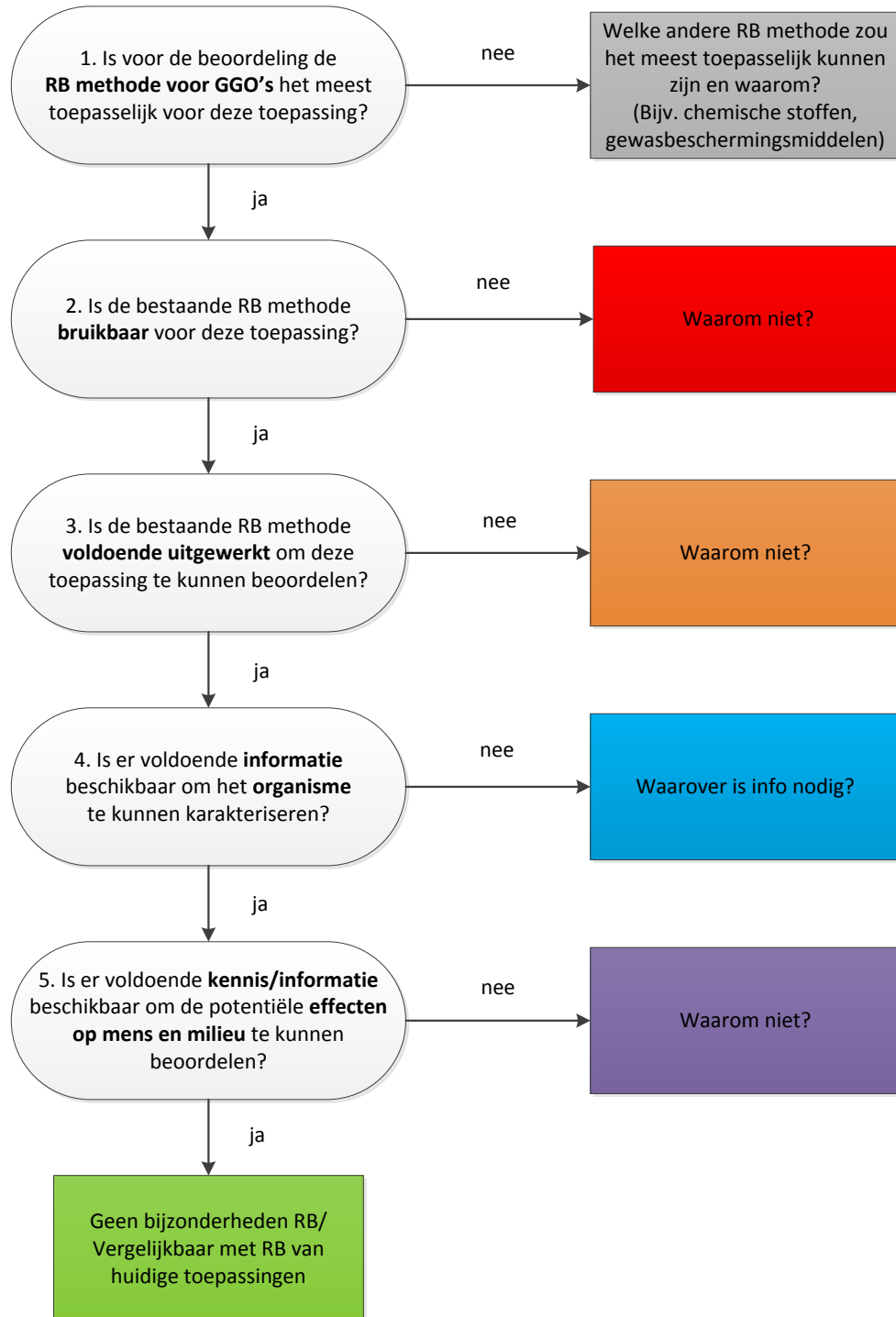
### **Witte biotechnologie**

De in paragraaf 2.2 beschreven faciliterende technieken zijn belangrijke drijvende krachten voor de ontwikkelingen in de witte biotechnologie. Nieuwe sequencing technieken maken het makkelijker om snel en heel veel DNA-sequenties te lezen en te analyseren. Dit kan in de industriële biotechnologie toegepast worden voor het ontwikkelen en vervolgens controleren van nieuwe stammen. Ook het assembleren van stukken DNA (DNA synthese) in een zelfgekozen volgorde is een essentiële basistechniek. Toename van de technische mogelijkheden, automatisering en robotisering geven een belangrijke impuls aan de ontwikkelsnelheid van industriële productieorganismen.

Economische overwegingen zijn de belangrijkste barrières voor het gebruik van nieuwe biotechnologische technieken. Het product is leidend in de witte biotechnologie. De productie ervan moet economisch haalbaar zijn. Een nieuwe techniek wordt hierbij alleen ingezet wanneer deze een duidelijk voordeel heeft ten opzichte van de reeds bekende techniek in termen van geld of resultaat. Hoewel deze barrière ook meespeelt in de groene en rode biotechnologie, is deze in de witte biotechnologie het meest uitgesproken. [5]



## Bijlage 2 Originele vragenstructuur



## Bijlage 3 Overzicht van betrokken experts

### Auteurs

De auteurs van deze beleidssignalering bezitten expertise op het gebied van risicobeoordeling van agrarische, industriële en medische biotechnologie en synthetische biologie.

- Dr. H.C.M. van den Akker, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. D.C.M. Glandorf, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. ir. P.A.M. Hogervorst, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. P. Klaassen, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. ir. C.J.B. van der Vlugt, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. J. Westra, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland

### Reviewers

De reviewers betrokken bij deze beleidssignalering bezitten expertise op het gebied van agrarische, industriële en/of medische biotechnologie, beoordeling geneesmiddelen en geneesmiddelenonderzoek (bio)nanotechnologie, biociden, chemische stoffen, gewasbeschermingsmiddelen, synthetische biologie en/of risicobeoordeling.

- Dr. D.A. Bleijs, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. M.H.N. Hoefnagel, College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, Nederland
- Dr. D. Horst, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Drs. ing. R. Mampuys, Commissie Genetische Modificatie (COGEM), Nederland
- Dr. M.H.M.M. Montforts, Milieurisico's van Stoffen en Producten, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. ir. A.G. Oomen, Consumenten en Productveiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. K. Pauwels, Biosafety and Biotechnology (SBB), Sciensano, België
- Dr. C.P.E. van Rijn, Gentechnologie en Biologische Veiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek, Nederland
- Dr. T.G. Vermeire, Consumenten en Productveiligheid, Centrum Veiligheid Stoffen en Producten, RIVM, Nederland

De reviewers hebben bijgedragen aan deze beleidssignalering op basis van hun expertise. De instituten waaraan zij gelieerd zijn, zijn niet gevraagd om goedkeuring van de inhoud van deze beleidssignalering.

**RIVM**

*De zorg voor morgen begint vandaag*