

RISALAH KEAMANAN HAYATI

Biosafety Briefing

Januari 2013

Informasi Keamanan Hayati Terkini untuk (jagung) MON810, MON863, NK603 dan (kedelai) GTS-40-3-2

Oleh Third World Network (www.biosafety-info.net dan www.twn.my)

Makalah ringkas ini merangkum beberapa temuan terkini tentang keamanan empat even (atau varietas) transgenik (jagung MON810, MON863 dan NK603, dan kedelai GTS-40-3-2) yang telah disetujui untuk konsumsi manusia dan hewan di banyak negara di dunia. Penelitian mutakhir juga menyajikan informasi baru tentang dampak lingkungan; namun makalah ini membahas hanya hasil dan interpretasi keamanan pangan/pakan. Penelitian difokuskan pada kemunculan indikasi baru tentang sifat racun atau toksisitas bagi manusia dan hewan, yang menekankan bahwa amat penting bagi pihak yang berwenang dalam bidang keamanan pangan dan keamanan hayati untuk mempertimbangkan informasi penting ini. Tulisan ini juga menekankan pentingnya informasi ilmiah yang terkini untuk selalu dijadikan dasar bagi proses pengambilan keputusan, termasuk dalam mempertimbangkan kaji ulang tentang keputusan/persetujuan, sesuai dengan ketentuan dalam Pasal 12 dari Protokol Cartagena tentang Keamanan Hayati (The Cartagena Protocol on Biosafety).

1. Jagung NK603 (tahan terhadap herbisida Roundup)

Protein baru dan molekul baru lain

Karakterisasi molekuler dari NK603 memperlihatkan bahwa lebih banyak transkrip baru yang

bisa diciptakan karena “*read through*”, atau “membaca tanpa henti”, yaitu sebuah proses dimana transkripsi RNA (Asam ribonukleat) terjadi melewati terminator NOS 3'. Artinya RNA baru yang tidak direncanakan bisa diciptakan dari transgen, sehingga menimbulkan ketidakpastian tentang regulasi gen serta mempunyai potensi menciptakan protein baru (yang belum dikarakterisasi).

Read-through dari sekuens terminator adalah salah satu sumber pembentukan dsRNA. dsRNA muncul dari pengolahan molekul RNA yang lebih besar melalui sejumlah jalur (Chong dan Whitelaw, 2004; Lippman dan Martienssen, 2004; Meister dan Tuschl, 2004). Hal ini biasanya terlihat melalui kemampuannya meredam gen, yaitu menghentikan produksi suatu protein dengan mencegah produksi mRNA atau mencegah translasi mRNA. Potensi untuk secara sengaja menciptakan molekul regulator RNA yang baru, biasanya dalam bentuk dsRNA, terlalu tinggi sehingga sulit diabaikan.

Berikut ini pernyataan peraih Nobel 2006 Craig C. Mello yang menekankan potensi dsRNA menimbulkan peredaman (interferensi RNA atau RNAi):

“[Peredaman sebagai tanggapan terhadap suatu transgen DNA bisa melibatkan sebuah pemicu dsRNA: transgen tersebut dapat mengintegrasikan dirinya ke dalam genom sedemikian rupa sehingga sebuah promoter yang didekatnya, atau salinan terbalik dari transgen itu sendiri, menuju produksi dsRNA, yang pada gilirannya bisa masuk langsung ke jalur RNAi.]” (Mello dan Conte Jr., 2004)

Toksisitas Herbisida

NK603 adalah varietas jagung yang dikembangkan agar tahan terhadap aplikasi formulasi herbisida berbasis glifosat (glyphosate) yaitu Roundup. Pengetahuan baru berkaitan dengan dampak herbisida tersebut terhadap kesehatan telah diungkapkan oleh beberapa penulis beberapa tahun terakhir ini. Roundup ditemukan bersifat amat toksik bagi sel manusia, bahkan pada kadar jauh di bawah tingkat apabila diencerkan saat digunakan dalam pertanian. Herbisida ini ditemukan

mempengaruhi lini sel hepar, embrionik dan plasenta, dan ekstrak sel-sel manusia seperti dari plasenta, sel primer tali pusar serta sel testikuler yang baru diisolasi (Benachour dan Séralini, 2009; Benachour et al., 2007; Clair et al., 2012; Gasnier et al., 2010; Richard et al., 2005). Pengetahuan ini harus dimasukkan dalam pemaparan risiko untuk konsumen mengenai konsumsi NK603, karena sisa-sisa atau kandungan kadar rendah dari herbisida kemungkinan ditemukan dalam produk pangan derivatif (produk turunan).

Pada 2009, Benachour dan Séralini menunjukkan bahwa adjuvan yang ditambahkan pada formulasi herbisida komersial mempunyai peran penting dalam meningkatkan toksisitas sinergis dari glifosat. Dalam penelitian mereka, glifosat yang dicampur dengan adjuvan umum (seperti POEA-polyethoxylated talowamine) menyebabkan kematian pada sel umbilikal, embrionik dan plasenta manusia saat diberikan dalam konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan glifosat tanpa adjuvan.

Mereka juga menemukan bahwa metabolit utama glifosat, asam aminomethylphosphonic (AMPA), lebih stabil di dalam residu tanah, tanaman dan makanan atau pakan. Juga lebih toksik daripada glifosat serta meningkatkan toksisitas glifosat atau dalam kombinasi dengan POEA.

Penelitian ini menegaskan hasil dari penelitian mutakhir lainnya pada hewan dan kultur sel yang langsung menunjukkan dampak kesehatan pada manusia maupun hewan rodensia serta ikan (teks berikut ini dari Traavik dan Heine-mann, 2007):

“Tikus betina yang diberi makan glifosat saat hamil menunjukkan peningkatan mortalitas janin dan pembentukan kerangka tulang yang tidak sempurna (Dallegrave et al., 2003). Tilapia (Oreochromis niloticus atau mujair) sungai Nil, yang diberi makan Roundup dalam konsentrasi sub-letal memperlihatkan sejumlah perubahan histopatologis dalam berbagai organ tubuh (Jiraungkoorskul et al., 2003). Penelitian tentang efek Roundup pada pembelahan sel pertama dari bulu babi (Marc et al., 2002) mempunyai relevansi sangat penting bagi kesehatan

manusia. Percobaan ini memperlihatkan disfungsi pembelahan sel pada tingkat CDK1/aktivasi Cyclin B. Dengan memperitmbangkan universalitas regulator sel CDK1/Cyclin B di antara spesies, hasil ini menimbulkan pertanyaan tentang keamanan glifosat dan Roundup pada kesehatan manusia .”

Studi lain (Axelrad et al., 2003) memperlihatkan dampak negatif dari glifosat, serta sejumlah pestisida organofosfat lain, pada diferensiasi sel saraf. Secara mengejutkan, ternyata dalam sel plasenta manusia, Roundup selalu lebih toksik daripada bahan aktifnya yaitu glifosat. Dampak glifosat dan Roundup dalam konsentrasi rendah non-toksik diuji pada aromatase, enzim yang berperan dalam sintesis estrogen (Richard et al., 2005). Herbisida berbasis glifosat mengganggu aktivitas aromatase dan tingkat mRNA serta berinteraksi dengan lokasi aktif dari enzim yang dimurnikan, tetapi efek glifosat difasilitasi oleh formulasi Roundup. Para penulis menyimpulkan bahwa dampak endokrin dan toksik dari Roundup, tidak hanya glifosat, bisa diamati dalam mamalia. Mereka menyarankan bahwa keberadaan

adjuvan Roundup meningkatkan ketersediaan dan/atau bioakumulasi glifosat.

Pada 2012, suatu eksperimen in vitro menguraikan bahwa herbisida Roundup, dalam konsentrasi amat rendah, memicu penurunan tingkat testosteron dalam tikus. (Clair et al., 2012). Studi yang sama juga memperlihatkan toksisitas dalam sel testikuler pada konsentrasi lebih tinggi.

Glifosat juga ditemukan menimbulkan gangguan endokrin dalam sel plasenta manusia pada dosis di bawah dosis pertanian, dalam 24 jam, dan pada lini sel manusia (Richard et al., 2005; Gasnier et al., 2009).

Keamanan seluruh makanan

Pada 2009, para peneliti Perancis merevaluasi berbagai hasil berbeda dari percobaan pemberian makan jagung transgenik. Mereka menggunakan sistem analitik-statistik yang berbeda dari yang digunakan sebelumnya (de Vendômois et al., 2009). Evaluasi dari hasilnya untuk percobaan pemberian makan NK603 pada tikus mengungkapkan efek

samping baru yang berkaitan dengan konsumsi jagung tersebut; efek samping tersebut terkait pada jenis kelamin dan dosis.

Para peneliti menemukan perbedaan efek fisiologis lebih signifikan pada tikus jantan yang diberi makan jagung transgenik dibandingkan pada yang betina. Hal ini menunjukkan bahwa repartisi bersifat tergantung pada jenis kelamin. Perbedaan lebih menonjol bila tikus jantan diberi makan jagung transgenik dalam persentase lebih tinggi (33%), yang menunjukkan keterkaitan dengan dosis. Perbedaan terletak pada parameter hati dan ginjal serta fosfor urin, perbedaan relatif limfosit dan netrofil.

Para penulis menjelaskan bahwa gangguan signifikan pada fungsi hati serta ginjal tidak bisa diabaikan sebagai tidak signifikan secara biologis. Mereka menyimpulkan bahwa data mereka menunjukkan varietas jagung transgenik ini memicu toksisitas hepatorenal dan karena itu mereka meminta waktu tambahan (hingga 2 tahun) untuk melakukan studi pemberian makan hewan, dan jika mungkin juga bersifat multi-generasi.

Riset mutakhir, yang bersifat jangka panjang (selama 2 tahun masa hidup tikus), menunjukkan bahwa jagung NK603 maupun Roundup memicu patologi kronis pada hormon dan terkait kelamin. Mortalitas betina 2-3 kali lebih tinggi, kebanyakan karena tumor payudara dan kegagalan fungsi pituitari. Jantan menderita kerusakan hati dan nekrosis, nepropati ginjal yang parah dan tumor besar yang berpalpitasi. Hal ini mungkin akibat dari mekanisme gangguan endokrin yang berkaitan dengan Roundup dan dampak biokimia baru dalam jagung transgenik yang ditimbulkan dari transgen yang dikode enzim EPSPS (Séralini et al., 2012).

2. Kedelai GTS-40-3-2 (tahan terhadap herbisida Roundup)

Protein baru dan molekul baru lain

Suatu penelitian baru-baru ini tentang even kedelai Roundup Ready 40-3-2 merupakan studi pertama yang menunjukkan produksi transkrip lain, yang dihasilkan oleh *read-through* terminator NOS 3'. Seperti juga pada NK603, hal ini berarti bahwa

RNA baru yang tidak direncanakan, dapat diciptakan dari transgen; situasi ini menambahkan ketidakpastian pada regulasi gen, peredaman gen dan berpotensi menciptakan protein baru (yang belum dikarakterisasi).

Pada 2002, para pengembang varietas ini menyatakan bahwa satu-satunya relevansi dari RNA baru, yang muncul dari transkripsi sebagian even atau *read-through* dari terminator keseluruhan gen sisipan, adalah protein baru; dan mereka tidak bisa mendeteksi protein baru dengan menggunakan alat-alat molekuler spesifik maupun mendeteksi efek dari suatu protein baru dalam penelitian pemberian makan yang mereka lakukan (Monsanto, 2002). Namun, selanjutnya para peneliti tersebut mengatakan bahwa “varian RNA [yang muncul dari *read-through* terminator dalam kedelai Roundup Ready] mungkin mengkode protein fusi CP4 EPSPS (yang belum diuraikan)” (Rang et al., 2005). Yang lebih berarti adalah bahwa para peneliti juga menemukan “transkrip *read-through* diolah dalam empat varian RNA yang berbeda” (Rang et al., 2005).

Para penulis penelitian tersebut memunculkan kekhawatiran signifikan bahwa sekuens terminator NOS itu sendiri mengandung situs sambungan, dan karena itu akan mempunyai akibat yang sama dalam tanaman transgenik lain yang mengandung unsur genetik ini (teori ini didukung oleh hasil mutakhir dari studi tentang NK603 dan MON810).

“Wilayah regulator cis yang menginisiasi dan memediasi penyambungan (splice) terletak di dalam wilayah transkrip sambungan yang telah dilepaskan. Jika hal ini juga berlaku untuk mekansime yang memediasi proses pasca transkripsi dari varian yang diuraikan, nampaknya cukup layak untuk berasumsi bahwa wilayah terminator nos yang ditranskrip mungkin bertanggung jawab untuk memproses RNA. Karena terminator nos tadinya dan kini masih digunakan sebagai wilayah regulator dalam produksi tanaman rekayasa genetik, maka produk read-through dan varian RNA juga bisa terekspresi dalam tanaman tersebut.” (Rang et al., 2005)

Toksisitas Herbisida

40-3-2 adalah varietas yang dikembangkan untuk tahan terhadap aplikasi Roundup, sebuah formulasi herbisida berbasis glifosat. Seperti yang telah dijelaskan mengenai NK603 (lihat uraian di atas untuk mendapatkan informasi tentang penelitian yang menunjukkan toksisitas pada sel manusia), ada pengetahuan baru terkait dengan dampak kesehatan dari herbisida ini. Pengetahuan tersebut harus dimasukkan dalam paparan risiko bagi konsumen yang memakan kedelai transgenik karena sisa-sisa atau residu herbisida akan lebih mungkin ditemukan dalam produk makanan turunan.

Keamanan seluruh makanan

Beberapa studi memunculkan pertanyaan tentang kedelai transgenik Roundup Ready yang perlu diteliti lebih lanjut:

Tikus yang diberi makan kedelai transgenik menunjukkan gangguan pada fungsi hati, pankreas dan testis, selain juga nukleus dan nukleoli sel hati yang abnormal; hal ini mengindikasikan peningkatan metabolisme dan potensi perubahan pada pola

ekspresi gen (Malatesta et al., 2002; Malatesta et al., 2003; Vecchio et al., 2004). Tikus yang diberi makan kedelai transgenik dalam masa hidupnya (24 bulan) memperlihatkan tanda-tanda lebih akut dari penuaan hati dan penurunan metabolisme, sementara struktur nukleus sel hati memperlihatkan penurunan fungsi gen yang menonjol (Malatesta et al., 2008). Kelinci yang diberi makan kedelai transgenik memperlihatkan gangguan fungsi enzim dalam ginjal dan jantung (Tudisco et al., 2006).

3. Jagung MON810 (tahan serangan)

Protein baru dan molekul baru lain

Karakterisasi molekuler lebih jauh dari MON810 memperlihatkan hasil yang penting. Seperti yang telah dijelaskan untuk jagung NK603 dan kedelai 40-3-2, jagung MON810 juga memperlihatkan proses memproduksi varian RNA akibat *read-through* dari terminator NOS 3'. Penyisipan atau propagasi selanjutnya dari even ini menyebabkan penghapusan genomik dari sekuens nos. Para peneliti yang mempelajari

transkripsi dari even di dalam MON810 menemukan mRNA yang akan mengkode protein fusi Cry unik, yang terdiri atas asam amino cry yang ditentukan oleh gen (*cry gene-determined amino acid*) dan asam amino yang dikode oleh genom tanaman, yang ditambahkan pada ujungnya (Rosati et al., 2008).

RNA baru, yang tidak diantisipasi, meningkatkan ketidakpastian mengenai regulasi gen, peredaman gen dan berpotensi menciptakan protein baru (yang belum dikarakterisasi). Lihat tulisan di atas (jagung NK603 dan kedelai 40-3-2) untuk rincian tentang dampak dari moleku RNA baru .

Dalam studi lain, perbandingan antara varietas jagung komersial yang membawa even MON810 dan kerabat isogeniknya (Zolla et al., 2008) memberikan indikasi bahwa terjadi perubahan yang tidak diantisipasi akibat dari proses rekayasa. Dan bahwa hal ini dapat dikarakterisasi dengan lebih hati-hati, menggunakan teknik “profiling” yang tidak umum dalam laporan ilmiah yang diberikan pada para regulator/pihak berwenang (Heinemann, 2007).

“Juga terlihat bahwa penyisipan sebuah gen tunggal tidak menghasilkan ekspresi protein unik yang baru. Tapi justru menghasilkan banyak gen terekspresi bila dibandingkan dengan unit kontrol. Hal ini bisa disebabkan oleh fakta bahwa, ketika transgen masuk ke inti/nukleus, banyak lokus genetik secara acak terpengaruh oleh prosedur penyisipan .” (Zolla et al., 2008)

Heterogenitas dalam ekspresi

Tidak ada hubungan absolut antara tingkat ekspresi (transkrip atau protein) dan potensi suatu protein untuk menimbulkan kerusakan. Namun, analisis paparan perlu mempertimbangkan kondisi nyata dari paparan pada protein baru. Penggunaan dari nilai rerata saat ini menghadapi tantangan penelitian mutakhir yang memperlihatkan heterogenitas dari ekspresi protein. Salah satu penelitian menemukan perbedaan signifikan dalam tingkat ekspresi transgen antara jagung MON810 saat dianalisis pada tahap pertumbuhan yang berbeda-beda, dalam jaringan tanaman yang berbeda dan pada dua lokasi

berbeda di Jerman (Nguyen dan Jehle, 2007).

Keamanan seluruh makanan

Sebuah penelitian baru-baru ini menemukan efek toksik dalam sel hati manusia saat eksperimen in vitro yang memaparkan protein yang dihasilkan MON810, cry1Ab (Mesnage et al., 2012).

Pada November 2008, para peneliti Italia menyimpulkan “konsumsi jagung Bt MON810 ... mendorong perubahan dalam respon imun usus dan periferal pada tikus yang disapih dan tikus tua.” “ Hasil ini memberikan indikasi bahwa dalam evaluasi keamanan organisme hasil rekayasa genetik adalah penting untuk mempertimbangkan respon imun dari usus dan periferal pada keseluruhan tanaman transgenik, selain juga usia” (Finamore et al., 2008).

Dalam studi yang lebih baru, berbagai hasil berbeda dari percobaan pemberian makan MON810 dire-evaluasi menggunakan sistem analitik-statistik yang berbeda dari sistem yang diterapkan sebelumnya (de Vendômois et al., 2009). Hasilnya

menunjukkan bahwa dampak yang berkaitan dengan jagung transgenik umumnya terdeteksi pada 14 minggu setelah konsumsi, atau bila makanan yang diberikan mengandung dosis transgenik yang tinggi. Parameter dampak berkaitan dengan: sel darah, kelenjar adrenal dan berat ginjal, peningkatan nitrogen urea darah dan penambahan berat limpa. Pada yang jantan, parameter gangguan signifikan ditemukan dalam fungsi hati. Para penulis meminta ada penelitian tambahan jangka panjang (hingga 2 tahun) berkaitan dengan studi pemberian makan pada hewan, lebih baik bila juga bersifat multi-generasi.

4. Jagung MON863 (insect-resistant)

Daya cerna dan alergenitas

MON863 memproduksi suatu protein baru yang bersifat toksik bagi serangga tertentu; para pengembang varietas ini menguraikan protein baru sebagai cry3Bb1.11098, yang mirip, tapi tidak identik dengan cry3Bb1 (terlihat ada tujuh perubahan berbeda). Namun, kebanyakan studi yang dilakukan oleh

perusahaan menggunakan cry3Bb1 dan bukan cry3Bb1.11098. Hal ini bisa menyesatkan dalam hal keamanan, terutama jika mempertimbangkan hasil dari penelitian pengembang (MSL 17530) mengenai daya cerna cry3Bb1.11098.

MSL 17530 adalah suatu penelitian mengenai daya cerna (digestibilitas) atau resistensi terhadap pencernaan dari protein baru saat dimakan. Eksperimen ini biasanya dilakukan untuk meneliti potensi sifat alergenik dari suatu protein. Walaupun keterkaitan ini dikritik, (Spok et al., 2005), penelitian tersebut masih tetap penting untuk melengkapi karakterisasi bahaya.

Hasil studi menunjukkan bahwa bila menggunakan cry3Bb1.11098 dalam cairan gastrik/lambung yang disimulasi, suatu fragmen protein dari 57kDa tetap hadir selama paling tidak 24 jam. Hal ini berbeda dengan cry3Bb1, dimana fragmen protein tersebut hanya hadir selama 2 menit (saat cry3Bb1 diproduksi dalam bakteri) atau 15 menit (saat cry3Bb1 diproduksi dalam jagung). Hal ini memperlihatkan perbedaan nyata di antara ke 2 protein tersebut.

Dengan demikian ada indikasi kebutuhan akan uji coba yang berbeda (misalnya uji toksisitas akut) yang dilakukan dengan cry3Bb1.11098 yang diproduksi secara in-planta (dalam tanaman).

Keamanan seluruh makanan

Pada Mei 2007, para peneliti Perancis menerbitkan reanalisis dari data Monsanto dan menyimpulkan bahwa ada indikasi t liver/kidney toksisitas hati/ginjal dalam tikus yang diberi makan jagung Bt MON863 (Séralini et al., 2007). Hasil ini juga diuraikan dalam tulisan lebih mutakhir (de Vendômois et al., 2009). Para penulis menyimpulkan bahwa “Secara ringkas, kecenderungan untuk gangguan fisiologis menjadi ciri dari hampir semua tikus dalam kelompok yang diperlakukan dengan makanan transgenik, dan profil fisio-patologis berbeda menurut jenis kelamin atau dosis”.

Catatan

The Biosafety Assessment Tool (www.bat.genok.org) atau Perangkat Analisis Keamanan Hayati, digunakan sebagai pendukung untuk mengumpulkan informasi bagi makalah ini.

Diterjemahkan ke dalam Bahasa Indonesia oleh Hira Jhamtani.

References

- Axelrad, J.C., Howard, C.V. and McLean, W.G. (2003). The effects of acute pesticide exposure on neuroblastoma cells chronically exposed to diazinon. *Toxicology* **185**, 67-78.
- Benachour, N. and Séralini, G.E. (2009). Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chem Res Toxicol.* **22**(1), 97-105.
- Benachour, N., Sipahutar, H., Moslemi, S., Gasnier, C., Travert, C. and Séralini, G-E. (2007). Time- and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Arch Environ Contam Toxicol* **53**, 126-133.
- Chong, S. and Whitelaw, E. (2004). Epigenetic germline inheritance. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **14**, 692-696.
- Clair E., Mesnage, R., Travert, C. and Séralini, G.É. (2012). A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. *Toxicol In Vitro.* **26**(2), 269-279.
- Dallegre, E., Mantese, F.D.G., Coelho, R.S., Pereira, J.D., Dalsenter, P.R. and Langeloh, A. (2003). The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicol. Lett.* **142**, 45-52.
- de Vendômois, J., Rouiller, F., Cellier, D. and Séralini, G.E. (2009). A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *Int. J. Biol. Sci.* **5**(7), 706-726.
- Finamore, A., Roselli, M., Britti, S., Monastra, G., Ambra, R., Turrini, A. and Mengheri, E. (2008). Intestinal and Peripheral Immune Response to MON810 Maize Ingestion in Weaning and Old Mice. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 11533-11539.
- Gasnier, C., Benachour, N., Clair, E., Travert, C., Langlois, F., Laurant, C., Decroix-Laporte, C. and Séralini, G-E. (2010). Dig1 protects against cell death provoked by glyphosate-based herbicides in human liver cell lines. *J Occup Med Toxicol* **5**, 29.
- Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., Clair, E., Chagnon, M.C. and Séralini, G-E. (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology* **262**, 184-191.
- Heinemann, J.A. (2007). Letter to the Editor. *Environ Plann Law J* **24**, 157-160.
- Jiraungkoorskul, W., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Sahaphong, S., Vichasri-Grams, S. and Pokethitiyook, P. (2003). Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environ. Toxicol.* **18**, 260-267.
- Lippman, Z. and Martienssen, R. (2004). The role of RNA interference in heterochromatic silencing. *Nature* **432**, 364-370.
- Malatesta, M., Biggiogera, M., Manuali, E. et al. (2003). Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* **47**, 385-388.
- Malatesta, M., Boraldi, F., Annovi, G., Baldelli, B., Battistelli, S., Biggiogera, M. and Quaglino, D. (2008). A long-term study on female mice fed on a genetically modified soybean: effects on liver ageing. *Histochem Cell Biol* 2008 Jul 22, 18648843.
- Malatesta, M., Caporaloni, C., Gavaudon, S. et al. (2002). Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical analyses of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Cell Struct Function* **27**, 173-180.

- Marc, J., Mulner-Lorillon, O., Boulben, S., Hureau, D., Durand, G. and Belle, R. (2002).** Pesticide Roundup Provokes Cell Division Dysfunction at the Level of CDK1/Cyclin B Activation. *Chem. Res. Toxicol.* **15**, 326-331.
- Meister, G. and Tuschl, T. (2004).** Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature* **431**, 343-349.
- Mello, C.C. and Conte Jr., D. (2004).** Revealing the world of RNA interference. *Nature* **432**, 338-342.
- Mesnager, R., Clair, E., Gress, S., Then, C., Székács, A. and Séralini, G-E. (2012).** Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac Bt insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide. DOI 10.1002/jat.2712.
- Monsanto (2002).** Additional Characterization and Safety Assessment of the DNA Sequence Flanking the 3' End of the Functional Insert of Roundup Ready® Soybean Event 40-3-2. MSL-17632. Monsanto Company. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/RRSsafetysummary.pdf>.
- Nguyen, H.T. and Jehle, J.A. (2007).** Quantitative analysis of the seasonal and tissue-specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810. *J Plant Dis Protect* **114**, 82-87.
- Rang, A., Linke, B. and Jansen, B. (2005).** Detection of RNA variants transcribed from the transgene in Roundup Ready soybean. *Eur. Food Res. Technol.* **220**, 438-443.
- Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N. and Seralini, G.E. (2005).** Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase. *Environ. Health Perspect.* **113**, 716.
- Rosati, A., Bogani, P., Santarlasci, A. and Buiatti, M. (2008).** Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. *Plant Mol. Biol.* **67**, 271-281.
- Séralini, G-E., Cellier, D. and de Vendomois, J. (2007).** New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* DOI: 10.1007/s00244-006-0149-5, 596-602.
- Séralini, G-E., Clair, E., Mesnager, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., Hennequin, D. and de Vendômois, J. (2012).** Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem. Toxicol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.005>.
- Spok, A., Gaugitsch, H., Laffer, S., Pauli, G., Saito, H., Sampson, H., Sibanda, E., Thomas, W., van Hage, M. and Valenta, R. (2005).** Suggestions for the assessment of the allergenic potential of genetically modified organisms. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **137**, 167-180.
- Traavik, T. and Heinemann, J.A. (2007).** *Genetic Engineering and Omitted Health Research: Still No Answers to Ageing Questions.* Third World Network Biotechnology & Biosafety Series No. 7. ISBN: 978-983-2729-76-1.
- Tudisco, R., Lombardi, P., Bovera, F., d'Angelo, D., Cutrignelli, M.I., Mastellone, V., Terzi, V., Avallone, L. and Infascelli, F. (2006).** Genetically modified soya bean in rabbit feeding: detection of DNA fragments and evaluation of metabolic effects by enzymatic analysis. *Anim Sci* **82**, 193-199.
- Vecchio, L., Cisterna, B., Malatesta, M. et al. (2004).** Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* **48**, 449-454.
- Zolla, L., Rinalducci, S., Antonioli, P. and Righetti, P.G. (2008).** Proteomics as a complementary tool for identifying unintended side effects occurring in transgenic maize seeds as a result of genetic modifications. *J Proteome Res* **7**, 1850-1861.