

Lampiran 1. Ringkasan Pengkajian Keamanan Pangan Jagung PRG Event DAS-40278-9

I. Pendahuluan

Jagung PRG event DAS-40278-9 merupakan jagung produk rekayasa genetik dari PT. Dow AgroSciences Indonesia. Jagung PRG event DAS-40278-9 dikembangkan untuk mengekspresikan protein ariloksialkanoat dioksigenase-1 (AAD-1). Ekspresi protein AAD-1 dalam Jagung PRG event DAS-40278-9 memberikan sifat toleran terhadap asam 2,4-diklorofenoksi asetat (2,4-D) dan R-haloksifop (herbisida ariloksifenoksi propionat atau AOPP) asetil koenzim A karboksilase (ACCase) inhibitor (ACCOPS) inhibitor ("fop" herbisida).

Jagung PRG event DAS-40278-9 telah memperoleh sertifikat aman pangan di 17 negara, yaitu Amerika Serikat (2011), Australia dan Selandia Baru (2011), Meksiko (2011), Taiwan (2011), Afrika Selatan (2012), Jepang (2012), Kanada (2012), Kolombia (2013), Korea (2014), Brazil (2015), Cina (2017), Malaysia (2017), Taiwan (2017), Uni Eropa (2017), Argentina (2018), dan Rusia (2019).

Jagung PRG event DAS-40278-9 juga telah memperoleh sertifikat aman pakan di 13 negara, yaitu Amerika Serikat (2011), Meksiko (2011), Jepang (2012), Kanada (2012), Afrika Selatan (2012), Kolombia (2013), Korea (2014), Brazil (2015), Taiwan (2017), Uni Eropa (2017), Cina (2017), Malaysia (2017), dan Argentina (2018). Sertifikat aman lingkungan untuk jagung PRG event DAS-40278-9 telah diperoleh di 5 negara, yaitu Jepang (2012), Kanada (2012), Amerika Serikat (2014), Brazil (2015), dan Argentina (2018).

Pengkajian keamanan pangan jagung PRG event DAS-40278-9 dilakukan berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 6 Tahun 2018 tentang Pengawasan Pangan Produk Rekayasa Genetik dan surat penugasan Ketua KKH PRG kepada Wakil Ketua Bidang Keamanan Pangan KKH PRG Nomor B-37/KKH-PRG/06/2019 tanggal 13 Juni 2019 perihal Penugasan Pengkajian Keamanan Pangan Produk Rekayasa Genetik (PRG) Komoditas Jagung PRG event DAS-40278-9. TTKH telah melakukan pengkajian keamanan pangan jagung PRG event DAS-40278-9 berdasarkan informasi genetik dan informasi keamanan pangan yang terdiri atas kesepadanan substansial, alergenitas, dan toksisitas sebagaimana diuraikan di bawah ini.

II. Informasi Genetik

II.1. Elemen Genetik

Jagung PRG event DAS-40278-9 mengandung satu gen sisipan yaitu gen *aad-1* yang mengekspresikan protein ariloksialkanoat dioksigenase-1 (AAD-1) bertanggung jawab dalam toleransi terhadap herbisida 2,4-D dan R-haloxifop (herbisida ariloksifenoksi propionat atau AOPP). Gen *aad-1* diregulasi oleh promotor *ZmUbi1* dan terminator *ZmPer5 3' UTR* yang ditambahkan *RB7 matrix attachment region (MAR) v4* (Christensen dan Quail, 1996; Ainley *et al.*, 2002).

II.2. Sumber Elemen Genetik

Gen *aad-1* berasal dari bakteri *Sphingobium herbicidovorans* (Wright *et al.*, 2009), promotor *ZmUbi1* berasal dari tanaman jagung (*Zea mays*) (Christensen dan Quail, 1996), dan terminator *ZmPer5 3'UTR* berasal dari tanaman jagung (Ainley *et al.*, 2002) dan *RB7 MAR v4* berasal dari tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) (Han *et al.*, 1997; Allen *et al.*, 2000; Abranches *et al.*, 2005; Verma *et al.*, 2005).

II.3. Sistem Transformasi

Jagung PRG event DAS-40278-9 dirakit dengan metode transformasi langsung menggunakan silikon karbit *Whisker fiber* dengan plasmid pDAS1740 (Petolino *et al.*, 2003; Petolino dan Arnold, 2009). Transformasi langsung DNA fragmen dilakukan ke suspensi sel embrio jagung galur Hi-II. Selanjutnya, transforman diseleksi berdasarkan toleransi terhadap herbisida R-haloksifop dan diregenerasikan menjadi tanaman jagung T0.

II.4 Stabilitas Genetik

Karakterisasi molekuler Jagung PRG event DAS-40278-9 dilakukan dengan metode Southern blot (Zhuang *et al.*, 2009), analisis sekuen DNA (Mo *et al.*, 2009), dan analisis pewarisan Mendel. Hasil analisis menunjukkan bahwa Jagung PRG event DAS-40278-9 mengandung salinan kaset ekspresi *aad-1* yang utuh dan terintegrasi pada satu lokus. Analisis Southern blot juga menunjukkan bahwa transgen terintegrasi secara stabil pada enam generasi (T1, T2, BC1, BC2, BC3, dan BC3S1), dan diwariskan mengikuti hukum Mendel, dan tidak ada *backbone* plasmid yang terdapat dalam Jagung PRG event DAS-40278-9. Analisis ketiadaan sekuen *backbone* melalui Southern blot menggunakan *probe* fragmen *backbone*. Fragmen pDAS1740/*Fsp* I yang dimurnikan digunakan untuk menghasilkan jagung PRG event DAS-40278-9 selama transformasi tidak mengandung urutan *backbone* dari plasmid pDAS1740, oleh karena itu, tidak ada sinyal hibridisasi khusus dari analisis Southern yang diharapkan dengan kombinasi *probe backbone*. Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada sinyal hibridisasi spesifik terdeteksi dengan *probe backbone* di semua sampel jagung PRG event DAS-40278-9. Dapat disimpulkan bahwa jagung PRG event DAS-40278-9 tidak mengandung urutan vektor *backbone* di luar wilayah fragmen transformasi plasmid pDAS1740.

Berdasarkan hasil kajian informasi genetik dapat disimpulkan bahwa:

1. Jagung PRG event DAS-40278-9 mengandung satu gen sisipan yaitu gen *aad-1* yang terintegrasi satu kopi pada genom.
2. Gen *aad-1* pada jagung PRG event DAS-40278-9 stabil pada enam generasi (T1, T2, BC1, BC2, BC3, dan BC3S1) dan diwariskan mengikuti hukum Mendel; dan

3. Jagung PRG *event* DAS-40278-9 tidak mengandung fragmen *backbone* plasmid transformasi pDAS1740.

III. Informasi Keamanan Pangan

III.1 Kesepadanan Substansial

Bahan yang digunakan untuk uji kesepadanan substansial adalah jagung PRG *event* DAS-40278-9 dan jagung non-PRG konvensional sebagai kontrol. Jagung ditanam pada musim tanam tahun 2009 dalam rancangan *randomized complete block* di delapan lokasi penanaman di Amerika Serikat, yaitu di Richland, IA; Carlyle, IL; Bradford, IL; Rockville, IN; La Plata, MO; Dudley, MO; York, NE; dan Germansville, PA. Setelah dipanen, biji dan tanaman jagung dikirim untuk analisis komposisi ke Covance Laboratories, Inc., Madison, WI, Amerika Serikat, yang sudah menerapkan *good laboratory practices* (GLP).

Komposisi biji jagung dianalisis untuk kadar proksimat (protein, lemak, abu, air, dan karbohidrat *by-difference*); serat (*total dietary fiber* (TDF), *acid detergent fiber* (ADF) dan *neutral detergent fiber* (NDF)); mineral (kalsium, kalium, tembaga, magnesium, mangan, natrium, besi, fosfor, selenium, dan seng); profil asam amino (alanin, arginin, asam aspartat, sistin, asam glutamat, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin); profil asam lemak (kaprilat, kaprat, laurat, miristat, miristoleat, pentadekanoat, pentadekenoat, palmitat, palmitoleat, heptadekanoat, heptadekenoat, stearat, oleat, linoleat, linolenat, gamma-linolenat, arakhidat, eikosanoat, eikosadienoat, eikosatrienoat, arakhidonat, dan behenat); vitamin (beta-karoten, B1, B2, B6, C, E, niasin, dan asam folat); metabolit sekunder (inositol, furfural, p-asam kumarat, asam ferulat); dan zat anti gizi (asam fitat, rafinosa, dan inhibitor tripsin). Komposisi tanaman jagung dianalisis untuk kadar proksimat (protein, lemak, abu, air, dan karbohidrat *by-difference*); mineral (kalsium dan fosfor); dan serat yaitu ADF dan NDF.

Hasil analisis komposisi biji jagung dan tanaman jagung menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata di antara jagung PRG *event* DAS-40278-9 dan jagung non-PRG dan masuk ke dalam kisaran komposisi jagung komersial.

Dari hasil pengkajian kesepadanan substansial di atas dapat disimpulkan bahwa jagung PRG *event* DAS-40278-9 sepadan secara substansial dengan jagung non PRG.

III.2 Alergenisitas

Pengkajian alergenitas terhadap protein AAD-1 yang diekspresikan pada jagung PRG *event* DAS-40278-9 dilakukan melalui analisis bioinformatika, analisis konsentrasi protein, dan pengujian stabilitas protein yang meliputi stabilitas cerna dan stabilitas panas. Pengujian alergenitas dilakukan di laboratorium yang telah menerapkan GLP.

III.2.1 Analisis Bioinformatika

Analisis kemiripan sekuen protein AAD-1 dengan sekuen protein alergen dilakukan dengan menggunakan *database* protein alergen COMPARE

(COMprehensive Protein Allergen Resource) versi 2019 dengan perangkat FASTA, serta pencarian kesamaan sekuen delapan atau lebih asam amino dengan sekuen protein dalam *database* dengan menggunakan program FUZZPRO (EMBOSS Package v6.4.0) (Song dan Leathers, 2019a).

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat kemiripan yang relevan secara biologis (35% atau lebih kesamaan asam amino di dalam sekuen yang mengandung 80 asam amino) antara sekuen asam amino protein AAD-1 dengan sekuen asam amino protein alergen. Selain itu, tidak ada kesamaan delapan asam amino atau lebih pada protein AAD-1 dengan sekuen asam amino protein alergen dalam *database* (Song dan Leathers, 2019a).

III.2.2 Analisis Konsentrasi Protein AAD-1

Konsentrasi protein AAD-1 pada jaringan jagung PRG *event* DAS-40278-9 ditentukan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Konsentrasi protein AAD-1 di dalam biji jagung PRG *event* DAS-40278-9 ditemukan sebesar 1,97 hingga 8,18 µg/g berat kering. Kandungan protein AAD-1 hanya merupakan sebagian kecil, yaitu 0,0053% dari protein total dalam biji jagung PRG *event* DAS-40278-9 (Phillips dan Lepping, 2010).

III.2.3 Analisis Stabilitas Protein

Protein AAD-1 dihasilkan dalam jumlah yang sedikit oleh tanaman jagung PRG *event* DAS-40278-9, sehingga untuk keperluan pengujian stabilitas protein digunakan protein yang diproduksi pada bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Pengujian kesetaraan protein AAD-1 yang diekspresikan di dalam tanaman jagung PRG *event* DAS-40278-9 dengan yang dihasilkan oleh bakteri *P. fluorescens* diuji dengan menggunakan metode SDS-PAGE, *Western blot*, analisis imunoreaktivitas, analisis glikosilasi, sekuensing protein dengan MS/MS-Spektrofotometri dan analisis pemetaan massa peptida dengan MALDI-TOF MS dan ESI-LC/MS. Hasil analisis menunjukkan bahwa protein AAD-1 yang dihasilkan oleh bakteri *P. fluorescens* ekuivalen dengan protein AAD-1 yang dihasilkan oleh jagung PRG *event* DAS-40278-9 (Schafer dan Embrey, 2009).

III.2.3.1 Analisis Stabilitas Cerna Protein

Analisis stabilitas cerna protein AAD-1 dilakukan menggunakan cairan lambung simulasi (*Simulated Gastric Fluid* - SGF) dan cairan usus simulasi (*Simulated Intestinal Fluid* - SIF) dalam rentang waktu 60 menit pada suhu 37°C. Hasil hidrolisis protein dievaluasi dengan menggunakan metode SDS PAGE dan *Western blot* (Embrey, 2008; Embrey dan Korjagin, 2008). Evaluasi dengan SDS-PAGE dan *Western blot* menunjukkan bahwa setelah inkubasi selama 30 detik dalam SGF dengan menggunakan pepsin pada pH 1,2, tidak terdeteksi adanya pita protein AAD-1 maupun fragmen-fragmennya (Embrey, 2008). Demikian pula setelah inkubasi selama 60 detik dalam SIF dengan menggunakan pankreatin pada pH 7,5, tidak terdeteksi adanya pita protein AAD-1 maupun fragmen-

fragmennya yang menunjukkan bahwa protein utuh AAD-1 maupun fragmen-fragmennya dapat terhidrolisis sempurna (Embrey dan Korjagin, 2008)

III.2.3.2 Analisis Stabilitas Panas Protein

Analisis efek pemanasan terhadap stabilitas protein AAD-1 yang diproduksi oleh *P. fluorescens* dilakukan melalui evaluasi dengan SDS-PAGE serta melalui pengujian immunoreaktivitas dan aktivitas enzimatik (Schafer, 2010). Hasil evaluasi dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa setelah pemanasan pada suhu 95°C selama 30 menit, pita protein AAD-1 tetap terdeteksi, yang menunjukkan bahwa protein AAD-1 tidak terdegradasi atau tidak terjadi perubahan migrasi protein pada SDS-PAGE (Schafer, 2010).

Hasil uji stabilitas panas menunjukkan, bahwa protein AAD-1 kehilangan seluruh immunoreaktivitasnya (<LOD ELISA) setelah pemanasan selama 30 menit pada suhu 50°C atau lebih. Pengujian aktivitas enzimatik menunjukkan bahwa aktivitas enzimatik protein AAD-1 tidak terdeteksi setelah pemanasan selama 30 menit pada suhu 50°C atau lebih (Schafer, 2010).

Berdasarkan pengkajian alergenitas yang meliputi analisis bioinformatika, analisis konsentrasi protein, maupun analisis stabilitas cerna dan stabilitas panas protein, dapat disimpulkan bahwa protein AAD-1 tidak menunjukkan adanya potensi menimbulkan alergi.

III.3 Uji Toksisitas

Pengkajian toksisitas terhadap protein AAD-1 yang diekspresikan pada jagung PRG *event* DAS-40278-9 dilakukan melalui analisis bioinformatika dan toksisitas oral akut yang dilakukan di laboratorium yang menerapkan GLP.

III.3.1 Analisis Bioinformatika

Analisis kemiripan sekuen protein AAD-1 dengan sekuen protein toksin dilakukan dengan BLASTP menggunakan *DuPont Pioneer Toxin Database* yang dikembangkan berbasis pada database sekuen protein dalam UniProtKB/Swiss-Prot (<https://www.uniprot.org/>). *DuPont Pioneer Toxin Database* tersebut disusun dengan mengumpulkan seluruh sekuen protein dalam UniProtKB/Swiss-Prot yang difilter dengan menggunakan kata kunci yang mengindikasikan toksisitas atau efek buruk bagi kesehatan lainnya seperti toksin, hemagglutinin, vasoaktif dan lain sebagainya (Song dan Leathers, 2019b). Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat kemiripan sekuen asam amino antara protein AAD-1 dengan sekuen asam amino protein toksin dalam *DuPont Pioneer Toxin Database* (Song dan Leathers, 2019b).

III.3.2 Uji Toksisitas Akut

Jumlah protein yang dihasilkan oleh tanaman jagung sangat sedikit, sehingga untuk keperluan pengujian, protein AAD-1 diproduksi pada bakteri *P. fluorescens*.

Ekivalensi protein AAD-1 yang dihasilkan oleh tanaman Jagung PRG *event* DAS-40278-9 dengan yang dihasilkan oleh bakteri *P. fluorescens* telah diuji, dan disimpulkan bahwa kedua protein tersebut ekivalen secara biokimiawi (Schafer dan Embrey, 2009).

Tujuan pengujian adalah melakukan uji toksisitas akut terhadap bahan uji yang mengandung protein AAD-1 yang diproduksi oleh *P. fluorescens*, dengan kemurnian 40% (b/b), pada mencit strain Crl:CD1 (ICR), secara oral dengan cara cekokan tunggal. Bahan uji ditambahkan ke dalam suspensi metilselulosa 0,5%.

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan dan betina strain Crl:CD1 (ICR), berumur 8 minggu yang diperoleh dari Charles River Laboratories Inc., Michigan USA, dengan berat badan 29,6 – 31,2 g (jantan) dan 21,6 – 24,0 g (betina) pada awal pengujian (hari ke-1). Mencit ditempatkan dalam kandang *stainless steel* secara individual dan mengalami aklimatisasi selama 7 hari. Kandang ditempatkan dalam ruangan bersuhu 22 ± 1 °C dan kelembaban nisbi 40 - 70 %, dengan pencahayaan selama 12 jam terang 12 jam gelap. Ransum berupa pellet dari LabDiet Certified Rodent Diet #5002 (PMI Nutrition International, St. Louis, Missouri) diberikan secara *ad libitum*. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Laboratorium hewan percobaan yang digunakan telah terakreditasi.

Sebanyak 5 ekor mencit betina dan 5 ekor mencit jantan diberi cekokan tunggal suspensi yang mengandung protein AAD-1 dengan dosis 2000 mg/kg BB. Sebelum pencekokan, mencit dipuaskan selama 3 jam. Observasi secara detil untuk mendeteksi adanya abnormalitas klinis dilakukan beberapa saat setelah pencekokan dan juga setiap hari sampai hari ke-15.

Pengukuran berat badan dilakukan sebelum pencekokan, hari ke-1 (saat pencekokan), kemudian hari ke-2, 8, dan 15. Pada hari ke 15, semua mencit dianestesi menggunakan inhalasi CO₂ dan dimatikan dengan dekapitasi, serta dilakukan nekropsi lengkap.

Hasil pengujian yang diperoleh yaitu: (1) tidak ada mencit yang mati hingga akhir pengujian; (2) berat badan mencit mengalami peningkatan di akhir pengujian; dan (3) tidak ditemukan kelainan patologis akibat pemberian bahan uji.

Berdasarkan pengkajian toksisitas dapat disimpulkan bahwa protein AAD-1 termasuk ke dalam bahan yang tidak toksik sampai dosis 2000 mg/kg BB.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengkajian tentang informasi genetik, kesepadanan substansial, alergenisitas, dan toksisitas disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Jagung PRG *event* DAS-40278-9 mengandung satu gen sisipan yaitu gen *aad1* yang terintegrasi satu kopi pada genom serta stabil sampai enam generasi (T1, T2, BC1, BC2, BC3, dan BC3S1), diwariskan mengikuti hukum Mendel, dan tidak mengandung fragmen *backbone* plasmid transformasi pDAS1740.
2. Jagung PRG *event* DAS-40278-9 sepadan secara substansial dengan jagung non PRG; tidak berpotensi menimbulkan alergi; dan termasuk ke dalam bahan yang tidak toksik.

3. TTKH menilai bahwa jagung PRG *event* DAS-40278-9 yang diajukan adalah aman untuk dikonsumsi sebagai bahan pangan.
4. Apabila kemudian ditemukan data dan informasi baru yang tidak sesuai dengan data keamanan pangan yang diperoleh hingga saat ini, maka status keamanan pangan jagung PRG *event* DAS-40278-9 perlu dikaji ulang.
5. Apabila setelah ditetapkan aman pangan, kemudian jagung PRG *event* DAS-40278-9 tersebut terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan manusia maka pemohon wajib melakukan tindakan pengendalian dan penanggulangan, serta menarik jagung PRG *event* DAS-40278-9 dari peredaran.
6. Jagung PRG *event* DAS-40278-9 tidak boleh digunakan sebagai pakan sampai memperoleh sertifikat aman pakan.
7. Jagung PRG *event* DAS-40278-9 tidak boleh dibudidayakan sampai ditetapkan aman lingkungan.

V. Daftar Acuan

Christensen dan Quail. 1996. Ubiquitin Promoter-Based Vectors for High-Level Expression of Selectable and/or Screenable Marker Genes in Monocotyledonous Plants. *Transgenic Research* 5(3): 213-218.

Han et al., 1997. Matrix Attachment Regions (MARs) Enhance Transformation Frequency and Transgene Expression in Poplar. *Transgenic Research* 6: 415-420.

Allen et al. 2000. Use of matrix attachment regions (MARs) to minimize transgene silencing. *Plant Molecular Biology* 43: 361–376, 2000. M.A. Matzke and A.J.M. Matzke (Eds.), *Plant Gene Silencing*. © 2000 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Ainley et al. 2002. United States Patent: No. US 6,384,207 B1.

Abranches et al. 2005. Matrix Attachment Regions and Regulated Transcription Increase and Stabilize Transgene Expression. *Plant Biotechnology Journal* 3: 535–543.

Verma et al., 2005. Molecular Dissection of The Tobacco Rb7 Matrix Attachment Region (MAR): Effect of 50 Half on Gene Expression in Rice. *Plant Science* 169: 704–711.

Embrey, S.K. 2008. *In Vitro Simulated Gastric Fluid Digestibility of Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (abbreviation AAD-1)*. Study Report No. 080062. Regulatory Sciences and Government Affairs—Indianapolis Lab Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on September 9, 2008.

Embrey, S.K. dan Korjagin, V.A. 2008. *In Vitro Simulated Intestinal Fluid Digestibility of Recombinant Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1)*. Study Report No. 080063. Regulatory Sciences and Government Affairs—Indianapolis Lab Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on December 12, 2008.

Mo *et al.* 2009. Cloning and Characterization of DNA Sequence in the Insert and the Flanking Border Regions of AAD-1 Corn Event DAS-40278-9. Dow AgroSciences LLC. Study ID: 091023.

Petolino and Arnold. 2009. Whiskers-Mediated Maize Transformation. *Methods Mol. Biol.* 526; 58-67.

Phillips, A.M. dan Lepping, M.D. 2010. *Field Expression, Nutrient Composition and Agronomic Characteristics of a Hybrid Maize Line Containing Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1) - Event DAS-40278-9.* Study Report No. 091033.02. Regulatory Sciences and Government Affairs—Indianapolis Lab Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on September 10, 2010.

Schafer B.W. 2010. *Summary of The Effect of Heat Treatment on A Recombinant Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 Protein.* Study Report No. 090134. Regulatory Sciences and Government Affairs—Indianapolis Lab Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on June 07, 2010.

Schafer B.W. dan Embrey, S.K. 2019. *Characterization of the Aryloxyalkanoate Dioxygenase-1 (AAD-1) Protein Derived from Transgenic Maize Event DAS-40278-9.* Study Report No. 080142. Regulatory Sciences and Government Affairs—Indianapolis Lab Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on April 12, 2019.

Song, P. dan Leathers, J. 2019a. *Comparison of the Amino Acid Sequence of the AAD-1 Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens.* Study Report No. PHI-2019-073/201. Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on April 12, 2019.

Song, P. dan Leathers, J. 2019b. *Comparison of the AAD-1 Protein Sequence to the Protein Sequences in the DuPont Pioneer Toxin Database.* Study Report No. PHI-2019-058/211. Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, IN 46268-1054, USA. Report Completed on March 10, 2019.

Wiescinski CM dan RM Golden, 2007. AAD-1: Acute Oral Toxicity Study In CRL: CD1(ICR) Mice. Company Report. Laboratory Project Study ID 071128. Performing laboratory: Toxicology & Environmental Research and Consulting. The Dow Chemical Company, Midland, Michigan 48674. Sponsor: Dow AgroSciences LLC, 9330 Zionsville Road, Indianapolis, Indiana 46268.

Zhuang *et al.* 2009. Molecular Characterization of AAD-1 Corn Event DAS-40278-9. Dow AgroSciences LLC. Study ID: 081052.