

발 간 등 록 번 호

11-1471057-000113-01

유전자변형식품등의 안전성 심사 가이드라인 II

알레르기성

2015. 3.

식품의약품안전처

유전자변형식품등의 안전성심사 가이드라인 II

- 알레르기성 분야 -

유전자변형식품등의 안전성 심사 가이드라인 II

- 알레르기성 분야 -

2015. 3.



식품의약품안전처

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY

신 소 재 식 품 과



【공직자 부조리 및 공익신고안내】 ※ 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패·공익신고 상담” 코너

발 간 등 록 번 호

11-1471057-000113-01

www.mfds.go.kr

유전자변형식품등의 안전성심사 가이드라인 Ⅱ

- 알레르기성 분야 -

2015. 3.



식품의약품안전처
MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY
신 소 재 식 품 과

목 차

I 유전자변형식품의 알레르기성 심사 기준 / 1

- 1. 개요 3
- 2. 알레르기성 심사 과정 4
- 3. 알레르기성 심사 기준 5
- 4. 알레르기성 심사 체크 리스트 12

II 국가별 유전자변형식품 알레르기성 심사 기준 / 19

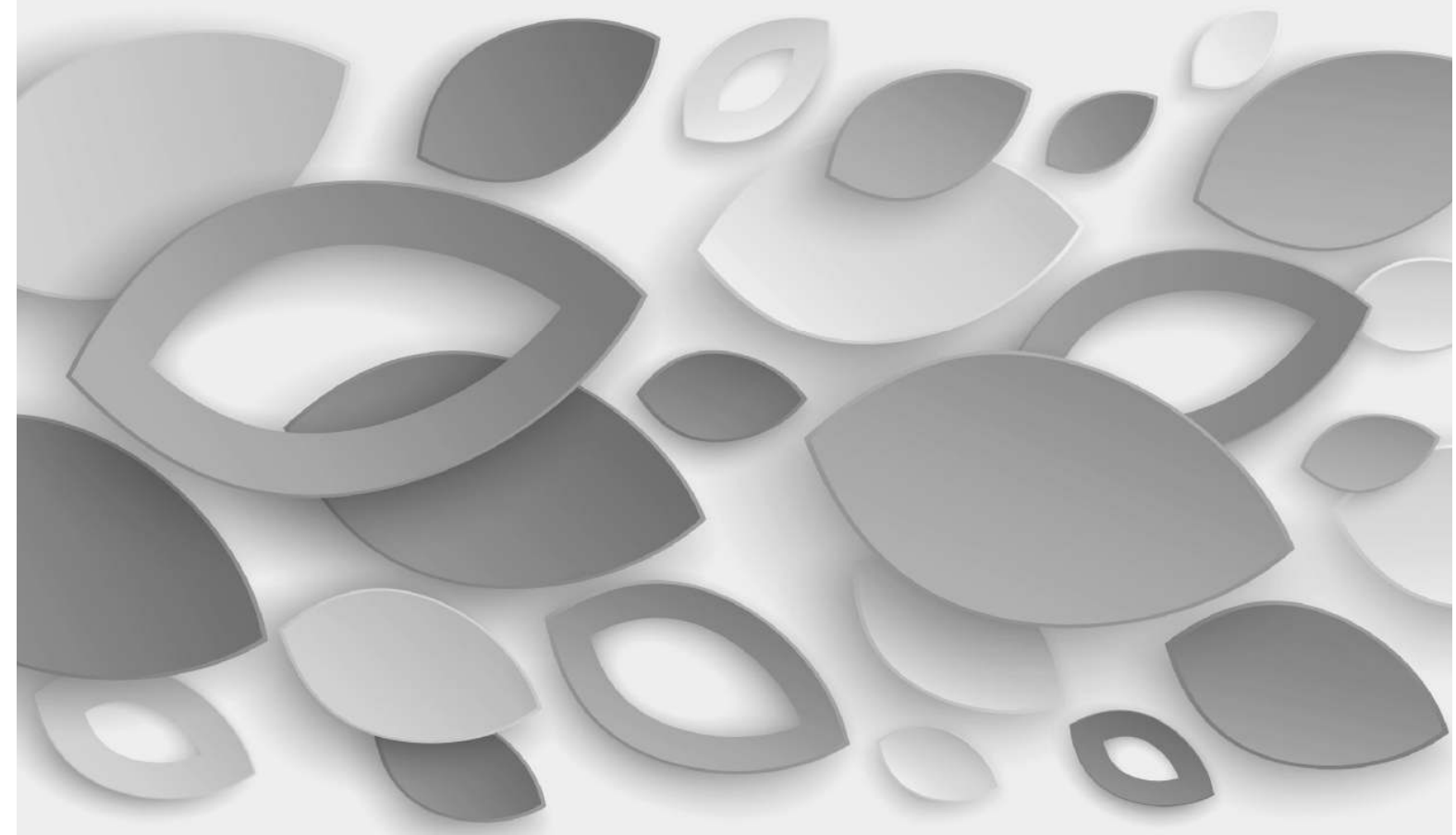
- 1. 국가별 알레르기성 심사 항목 비교 21
- 2. 코덱스 22
- 3. EU (유럽연합) 31
- 4. 일본 35
- 5. 미국 38
- 6. 캐나다 40

III 유전자변형식품의 알레르기성 심사에 대한 FAO/WHO 전문가 회의 보고서 / 47

IV 참고문헌 / 79

I.

I. 유전자변형식품의 알레르기성
심사 기준





1 개요

알레르기성(allergenicity)이란 과민한 면역반응을 유발하는 알레르겐으로 작용할 수 있는 가능성이 있음을 말한다. 대다수의 식품 알레르겐은 단백질이며, 알레르기 유발 단백질은 열·산(acid)·소화효소에 의한 분해에 저항성을 나타낸다. 식품으로 이용되는 작물에는 다양한 단백질이 존재하나 이 중 일부 소수의 단백질만이 알레르기성을 나타낸다.

그렇지만, 식물의 유전인자에 변화를 주는 유전자변형 기술의 사용은 식물 본래의 잠재적 알레르기성을 변화시킬 수도 있다. 도입단백질이 알레르기성을 가지는 공여체로부터 유래한 경우, GM 작물에 알레르기성이 생성될 수 있다. 일례로, Brazil nut(알레르기 유발 식품)의 메티오닌 잔기가 풍부한 단백질이 도입된 GM 콩은 nut에 민감한 환자에게 알레르기 반응을 유발하는 것으로 확인되어, 개발 및 상업화가 중단된 바 있다.

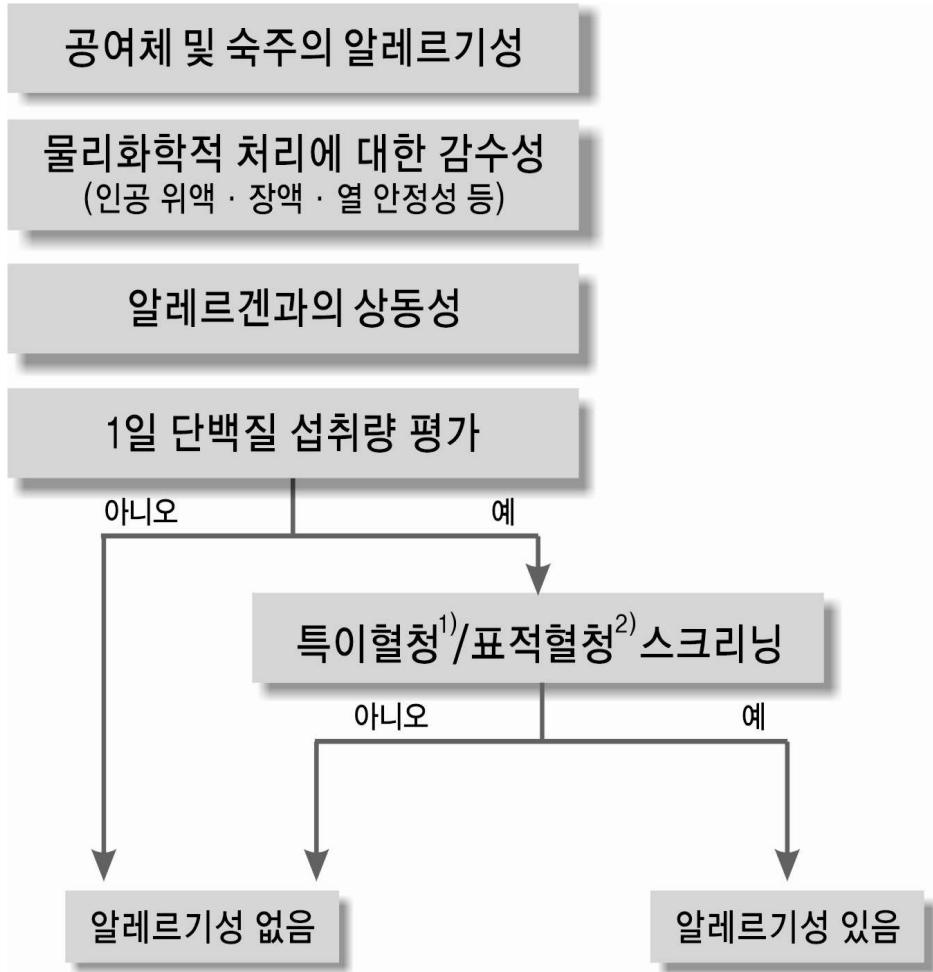
알레르기성이 있는 숙주의 경우, 새로운 유전자의 도입에 따라 기존 알레르겐의 발현을 증가시켜 해당 작물의 알레르기성이 높아질 수 있으며, 새로운 알레르겐이 발현될 가능성도 있다.

또한, 유전자변형 단계에서 “비의도적 영향”이 나타날 수 있기 때문에, 알레르기를 일으키지 않는 것으로 알려진 공여체로부터 유전자를 도입했더라도 GM 작물은 알레르기성을 가질 수 있다.

본 가이드라인에서는 유전자변형식품 안전성 심사 중 알레르기성 분야에 대해 심사기준 및 중점 체크리스트 등 주요 고려사항에 대하여 서술하였다.



2 알레르기성 심사 과정



1) 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력

2) 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력

3

알레르기성 심사 기준

국내에서 유전자변형식품의 알레르기 심사는 식품위생법 제18조에 따른 식품의약품안전처 고시(제2014-203호, 2014.12.30)인 「유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정」에 의하여 실시되고 있으며, 세부적인 심사 방법은 다음과 같다.

가. 공여체 및 숙주의 알레르기성

- 1) 유전자변형 작물 개발에 이용된 공여체가 알레르기성이 있는지를 검토하여 도입 유전자에 의한 알레르겐의 발현 가능성을 확인한다.
 - 가) 유전자변형 농산물에서 발현된 새로운 단백질이 알레르겐으로 알려져 있는지 여부 및 글루텐 과민성 장질환을 일으킬 수 있는지 확인한다.
 - 나) 특히, 도입된 유전물질이 밀, 보리, 호밀, 귀리 혹은 관련 곡물에서 유래되었을 때는 반드시 심사의 대상이 된다.
- 2) 숙주가 주요 알레르겐을 가지고 있을 경우 유전자 도입에 따라 기존 알레르겐의 발현을 증가시키거나 새로운 알레르겐이 발현될 가능성이 있으므로, 다음을 확인한다.
 - 가) 환자 혈청과 비유전자변형 농·축·수산물 추출액을 이용한 immunoblot 또는 ELISA inhibition 등 실험 결과를 확인한다.
 - 나) 숙주의 알레르기성 등에 관계되는 단백질의 구성성분에 대해 숙주와 비교하여 변화가 있는 경우, 알레르기성 등에 어떻게 영향을 주는지에 대해 검토한다.



나. 물리화학적 처리에 대한 감수성

- 1) 유전자산물이 인공 위·장액, 열처리에 안정성이 있는지를 검토한다.
 - 가) 인공 위·장액의 조성, 반응조건(pH, 효소농도, 기질농도 등), 열처리 조건(설정 근거 포함) 및 측정방법 등을 확인한다.
 - 나) 유전자산물이 인공 위·장액에 대한 분해 내성이 있을 경우, 추가적인 혈청 실험이 필요하다.
- 2) 대체산물을 사용하여 실험한 경우 유전자산물과의 생화학적, 구조적, 기능적 동질성에 관한 자료를 확인한다.

※ 대체산물의 경우

: 유전자변형 농·축·수산물에서 유래하는 단백질 대신 미생물과 같은 다른 생물체에서 유래한 단백질을 사용하는 경우에는 생화학적·구조적·기능적으로 유전자변형 농·축·수산물에서 생성된 것과 같음을 증명해야 한다.

- N-말단 서열 분석
- 펩타이드 질량 분석
- SDS-PAGE 및 웨스턴 분석을 통한 분자량 분석
- 당화 분석
- 효소로 작용할 경우 효소 역가 비교 실험



다. 이미 알려져 있는 알레르겐과 아미노산 서열 상동성

- 1) 유전자산물과 이미 알려져 있는 알레르겐의 아미노산 서열을 비교하여 구조적으로 유사한지를 확인한다.
 - 2) FASTA 또는 BLASTP 등 다양한 알고리즘 분석을 실시하여 구조적 유사성을 확인한다.
 - 유전자 산물의 80개 이상의 아미노산 부분에서 이미 알레르겐으로 알려진 단백질의 아미노산과 35% 이상의 상동성을 가지는지 여부를 확인한다.
 - 3) 연속하는 동일한 아미노산 서열 분석을 실시하여, 직선 에피토프 (epitope)를 나타낼 가능성이 있는 서열을 확인한다.
 - 유전자 산물의 연속된 8개 이상의 아미노산과 이미 알레르겐으로 알려진 단백질 중 일치하는 아미노산 서열이 존재하는지 여부를 확인한다.
- ※ 알려진 알레르겐과 아미노산 서열 상동성을 비교하는데 주로 사용되는 데이터베이스 및 활용예는 다음과 같다.
- (1) FARRP Allergen Protein Database
(<http://www.allergenonline.org>)
 - (2) Structural Database of Allergenic Proteins
(<http://www.129.109.9.107/SDAP>)
 - (3) Allermatch (<http://www.allermatch.org>)
 - (4) Allergen Nomenclature (www.allergen.org)



1. FARRP Allergen Protein Database(<http://www.allergenonline.org>)

AllergenOnline
Home of the farrp allergen protein database

- Navigation
 - Home
 - About AllergenOnline
 - Contact us
 - Browse the Database
 - Version History
 - Sequence Search Allergen Database
 - Search Algorithm Help
 - Database and GMO information links
 - FARRP Home
 - Celiac Disease Novel Protein Risk Assessment tool

Allergenic Protein Sequence Searches

Please enter one or more search protein sequence below in FASTA format.

A sequence in FASTA format begins with a single-line description, followed by lines of sequence data. The description line is distinguished from the sequence data by a greater-than (">") symbol in the first column.

For an explanation of the FASTA search algorithm (FASTA 35.04, 2009) please see the [Support page](#).

Example:

```
>gi|378405189|sp|P86137.2|NLTP1_ACTDE RecName: Full=Non-specific lipid-transfer protein 1; Short=LTP1; Short=nsLTP1; AltName: Allergen=Act d 10.01
AVSCGQVDALTPCLTYLTKGGTPSTQCSCGVRSLKSMGTGKVPDRQAACNCLKQAAARYQGKIDAAAAL
SQKCGVQLSVPISRSTDCSK1S
```

Sequence Entry

Fasta Sequence

2 Structural Database of Allergenic Proteins(<http://www.129.109.9.107/SDAP>)

- ur Software Tools
 - PACK
 - ANTOM
 - ETAREA
 - QAH/DIAMOD
 - ASIA
 - CPMer
 - terProSurf
 - ipiSearch
- rotein Databases
 - DB
 - MDB - Entrez
 - WISS-PROT
 - ICBI - Entrez
 - IR
- rotein Classification
 - ATH
 - IE
 - SSP
 - ProClass
 - rotMap
 - COF
 - QPS
 - AST
- ioinformatics Servers
 - HOME
 - LAST @ NCBI
 - LAST @ PIR
 - ASTA @ PIR
 - eptide Match @ PIR
 - ustalW @ BCM

Enter the name of your sequence

Paste or type your sequence

Select the allergenicity test:

- Full FASTA alignment
- FASTA alignments for an 80 amino acids sliding window
- Exact match for contiguous amino acids

Maximum E score for the results of the full FASTA alignment. Sequences with E value:

Sequence identity cutoff used for the 80 amino acids sliding window alignments

Number of contiguous amino acids

Search made with [FASTA 3.45](#)



3. Allermatch(<http://www.allermatch.org>)



- [Home](#)
- [Search](#)
- [Databases](#)
- [Publication](#)
- [Introduction](#)
- [Example](#)
- [About us](#)
- [Feedback](#)
- [Disclaimer](#)
- [Copyright](#)
- [Thanks](#)
- [References](#)

Allermatch allergen finder: Input Form

This webpage has three ways of analysis to identify a relationship between your input sequence and an allergen from the

- 80 amino acids sliding window. The input sequence is chopped up in 80 amino acids windows. For each 80 amino acid program counts which allergen it hits (with a specific identity).
- Full Alignment: Use Fasta to perform a full alignment.
- Wordmatch: Look for an exact hit of 6 amino acids in a sequence in the database

Copy Paste your Amino Acid sequence here:

Algorithm:

- Do an 80 amino acids sliding window alignment Cutoff Percentage (only applicable to the 80 amino acid)
- Look for a small exact wordmatch Wordlength (only applicable to the exact wordmatch sea)
- Do a full fasta alignment

4. Allergen Nomenclature(www.allergen.org)



ALLERGEN NOMENCLATURE

IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee

Home
Search
Tree View
Publications
Standardization
Executive Committee
Submission Form
Log In

Search The Database

| | |
|---|---|
| By Allergen Name <input style="width: 90%;" type="text"/> | Major Taxonomic Group <input style="width: 90%;" type="text" value="All"/> |
| By allergen source (common or scientific name) <input style="width: 90%;" type="text"/> | Order <input style="width: 90%;" type="text" value="All"/> |
| Limit Search To: <input checked="" type="radio"/> All allergens <input type="radio"/> food allergens <input type="radio"/> non-food allergens | |
| Biochemical Name <input style="width: 80%;" type="text"/> | |
| <input type="button" value="Submit"/> | |

Search Results:



라. 1일 단백질 섭취량 평가

국민건강영양조사, 식품수급표의 식품 섭취량 등을 참고로 하여 유전자 변형식품 섭취시 유전자 산물이 1일 단백질 섭취량의 유의한 양을 차지 하는지 확인한다.

※ 국민건강영양조사, 식품수급표는 최신 자료를 사용하여야 한다.

마. 가 ~ 라의 자료에 의해 알레르기성을 판단하기 어려울 경우 다음 사항을 검토한다.

- 1) 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자 산물과의 결합력에 관한 자료(특히 혈청 스크리닝 실험)
 - 가) 알레르겐과의 서열 상동성이 확인되었거나, 유전자산물이 기존에 알려진 알레르겐과 상동성은 없지만 공여체가 알레르겐을 가지고 있을 경우, 인공 위·장액 분해 내성이 있는 경우, 혈청실험이 요구된다.
 - 나) 유전자 산물 또는 IgE 항체와 교차 반응을 일으킬 수 있는 구조를 가진 특이적 알레르겐 또는 공여체에 대해 특이적으로 반응하는 알레르기 환자 혈청을 이용하여 IgE 항체와 유전자산물의 면역학적 실험 결과를 검토한다.
- 2) 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료(표적 혈청 스크리닝 실험)
 - 가) 알레르겐과의 서열 상동성이 확인되었거나, 유전자산물이 기존에 알려진 알레르겐과 상동성은 없지만 공여체가 알레르겐을 가지고 있을 경우, 인공 위·장액 분해 내성이 있는 경우, 특히 혈청 실험이 불가능하거나 음성인 경우, 표적 혈청 스크리닝 실험이 요구된다.
 - 나) 공여체와 광범위하게 연관된 알레르겐에 대해 반응하는 알레르기



환자 혈청을 이용하여 IgE 항체와 유전자산물의 면역학적 실험 결과를 검토한다.

※ 5개 이상의 혈청을 혼합하여 이용하는 경우 혈청 내 존재하는 교차 반응 가능한 IgE 항체가 희석될 수 있으므로, 개별 혈청(individual serum)을 이용하도록 한다.

3) 그 외 T세포 에피토프, 구조적 모티브, 동물 또는 인간화 동물 면역 세포를 활용한 체외 세포 기반 분석방법 등을 실시할 수 있다.



4 알레르기성 심사 체크 리스트

[참고 1] 1)유전자산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성

| | | | | | |
|---|---|------|---------|--|--|
| 1. 보고서명 | | | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | | | |
| 3. 시험기관 | | | | | |
| 4. 방법 및 조건 | ▪ 인공위액 안정성 <table style="float: right; border: 1px solid black; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">수행여부</td> <td style="width: 40px;"></td> </tr> </table> | 수행여부 | | | |
| | 수행여부 | | | | |
| | - 인공위액 조성 : - 반응 조건(pH, 효소농도, 기질농도 등) : - 확인 방법 | | | | |
| | ▪ 인공장액 안정성 <table style="float: right; border: 1px solid black; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">수행여부</td> <td style="width: 40px;"></td> </tr> </table> | 수행여부 | | | |
| | 수행여부 | | | | |
| | - 인공장액 조건 : - 반응 조건(pH, 효소농도, 기질농도 등) : - 확인 방법 | | | | |
| ▪ 열 안정성() <table style="float: right; border: 1px solid black; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">수행여부</td> <td style="width: 40px;"></td> </tr> </table> | 수행여부 | | | | |
| 수행여부 | | | | | |
| - 열처리 조건 : - 확인 방법 | | | | | |
| 5. 결과 | 인공위액 안정성 | | | | |
| | 인공장액 안정성 | | | | |
| | 열 안정성 | | | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | | | |
| | 문서번호 | 완 료 | 차 심사위원회 | | |

1) 참고1-참고7는 “유전자변형식품 안전성심사 우수심사기준”에서 발췌한 것임



[참고 2] 미생물 유래 대체단백질과 식물체 유래 단백질 비교 실험

| | | | |
|-----------------------|--|------|---------|
| 1. 보고서명 | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | |
| 3. 시험기관 | | | |
| 4. 방법 및 조건 | ▪ 발현 단백질 purity | 수행여부 | |
| | - 분석법 : | | |
| | ▪ Western blot | 수행여부 | |
| | ▪ 펩타이드 질량 분석 | 수행여부 | |
| | - 분해효소 : | | |
| | - 분석기기 : | | |
| | - 예상 펩타이드 미검출 이유 : | | |
| | - Coverage 산출방법 : | | |
| | - 프로그램 : | | |
| | ▪ N-말단 아미노산 서열 분석 | 수행여부 | |
| - 분해효소 : | | | |
| - 분석기기 : | | | |
| ▪ 당화 분석 | 수행여부 | | |
| - 분석법 : | | | |
| ▪ (단백질이 효소인 경우) 효소 역가 | 수행여부 | | |
| - 분석법 : | | | |
| 5. 결과 | Western blot | | |
| | 펩타이드 질량 분석 | | |
| | N-말단 아미노산 | | |
| | 당화 분석 | | |
| | 효소역가 | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | |
| | 문서번호 | 완 료 | 차 심사위원회 |



[참고 3] 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과 상동성에 관한 자료

| | | | | |
|------------|--|------|-----|---------|
| 1. 보고서명 | | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | | |
| 3. 시험기관 | | | | |
| 4. 방법 및 조건 | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 8개 연속하는 아미노산 서열과의 일치 | 수행여부 | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> - 프로그램 : - DB(version, 개수 포함) : - 조건 : | | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 80개 이상의 아미노산 절편 상동성 (35% 이상) | 수행여부 | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> - 프로그램 : - DB(version, 개수 포함) : - 조건 : | | | |
| 5. 결과 | 8개 연속하는 아미노산 서열과의 일치 | | | |
| | 80개 이상의 아미노산 절편 상동성(35% 이상) | | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | | |
| | 문서번호 | | 완 료 | 차 심사위원회 |



[참고 4] 유전자산물이 1일 단백질섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지에 관한 자료

| | | | |
|------------|--|------|----------------------------------|
| 1. 보고서명 | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | |
| 3. 시험기관 | | | |
| 4. 방법 및 조건 | ▪ 국민건강영양조사 이용 | 수행여부 | |
| | - version : - 발현단백질 발현량 : - 농산물 섭취량(평균, 최대) : - 단백질 섭취량 : | | |
| | ▪ 식품수급표 이용 | 수행여부 | |
| | - version : - 단백질 섭취량 : - 농산물 섭취량 : | | |
| 5. 결과 | 국민건강영양조사 | | |
| | 식품수급표 | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | |
| | 문서번호 | | 완 료 차 심사위원회 |



[참고 5] 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자 산물과의 결합력에 관한 자료

| | | | |
|------------|--|-----|---------|
| 1. 보고서명 | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | |
| 3. 시험기관 | | | |
| 4. 방법 및 조건 | <ul style="list-style-type: none"> ▪ 혈청 스크리닝 분석 | | |
| | - 혈청개수 : | | |
| 5. 결과 | | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | |
| | 문서번호 | 완 료 | 차 심사위원회 |



[참고 6] 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료

| | | | |
|------------|--|--|------------------|
| 1. 보고서명 | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | |
| 3. 시험기관 | | | |
| 4. 방법 및 조건 | ▪ 혈청 스크리닝 분석 | | |
| | - 혈청개수 : | | |
| 5. 결과 | | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | |
| | 문서번호 | | 완 료 차 심사위원회 |

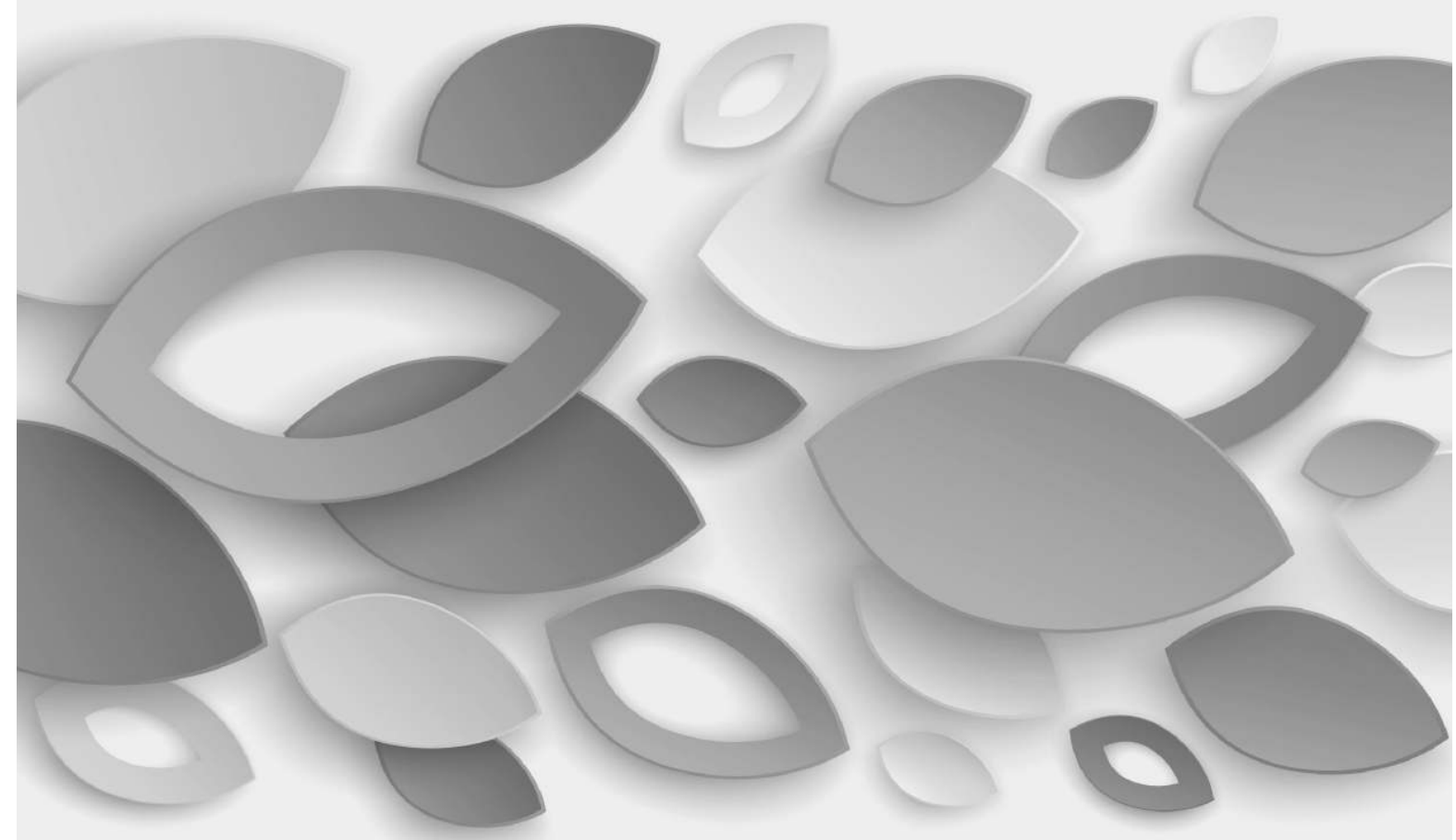


[참고 7] 숙주와의 차이 중 알레르기 유발성분 비교

| | | | |
|------------|--|------|---------|
| 1. 보고서명 | | | |
| 2. 자료의 요건 | <input type="checkbox"/> 전문학술지 <input type="checkbox"/> 전문기관 보고서 <input type="checkbox"/> 기타 | | |
| 3. 시험기관 | | | |
| 4. 방법 및 조건 | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Immunoblot | 수행여부 | |
| | - 혈청개수 : | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Inhibition test | 수행여부 | |
| | <ul style="list-style-type: none"> - 방법 : - 대조구 : | | |
| 5. 결과 | Immunoblot | | |
| | Inhibition test | | |
| 6. 보완 | 내 용 | | |
| | 문서번호 | 완 료 | 차 심사위원회 |

Ⅱ.

국가별 유전자변형식품 알레르기성
심사 기준





1 국가별 알레르기성 심사 항목 비교

| 구 분 | | 한국 | 코덱스 | 유럽연합 | 일본 | 미국 | 캐나다 |
|-----------------|---------------------|----|-----|------|----|----|-----|
| 유전자산물의 알레르기성 | 알려진 알레르겐 여부 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | 물리화학적 처리에 대한 감수성 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | 알려진 알레르겐과의 상동성 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | 예상 노출량 | ○ | ○ | ○ | ○ | × | × |
| | 환자 IgE 항체와의 결합력 | △* | ○ | △* | △* | × | ○ |

* : 상기 자료로 알레르기성을 판단하기 어려운 경우 제출

2 코덱스

가. 유전자변형 식물 유래 식품의 알레르기 심사

1) 알레르기성의 심사(단백질)

삽입 유전자에 기인하는 단백질이 식품에 함유되는 경우, 반드시 알레르기성을 심사해야 한다. 신규 발현 단백질의 알레르기성 심사에서 이용하는 종합적이고 단계적인 개별 수법은 여러 가지 기준을 조합해서 이용해야 한다(1개의 기준으로는 알레르기성의 유무를 충분히 판단할 수 없기 때문이다). 앞서 식품안전성 심사의 틀에서 서술한 바와 같이, 데이터는 과학적으로 신뢰할 수 있는 방법을 이용해서 얻어야 한다.

도입 유전 물질이 밀·호밀·보리·귀리 등의 곡물에서 유래하는 경우에는 새롭게 발현한 단백질에 의한 글루텐(gluten) 과민증 장질환의 유도 가능성에 대해 평가해야 한다.

일반적으로 알레르기성 식품 또는 글루텐 과민성 장질환 유발 식품은 유전자 공여체로 사용하지 않는다. 이들 식품이 유전자 공여체로 사용될 경우 전달된 유전자가 알레르겐 또는 글루텐 과민성 장질환에 관여하는 단백질을 합성하지 않음을 확인해야 한다.



2) 유전자변형 식물유래 식품의 알레르기성 심사에 관한 첨부 자료

가) 단백질의 공급원

유전자변형 식물유래 식품의 안전성을 증명하는 데이터의 일부로서 공여체의 알레르기성에 관한 정보를 보여야 한다. 유전자의 알레르기성 공여체는 IgE 매개성 경구 또는 호흡성·접촉성 알레르기를 일으킬 수 있기 때문이다. 공여체에 대한 정보는 도입 단백질의 알레르기 심사에서 고려해야 할 사항들을 구체화하는데 도움을 준다. 이에는 스크리닝을 목적으로 하는 혈청의 이용 가능성, 알레르기 반응의 종류·정도·빈도의 기재, 구조적 특징 및 아미노산 서열, 그 공급원에 유래하는 기존의 알레르기성 단백질의 물리화학적·면역학적 특성(얻을 수 있는 경우)이 포함된다.

나) 아미노산 서열 상동성

80개 이상의 아미노산 부분에서 35%이상의 동일성(2001년 FAO/WHO)이 인정되는지, 또는 그 밖의 과학적으로 정당한 기준이 있는 경우는 새롭게 발현한 단백질과 기존 알레르겐 사이의 IgE 교차 반응의 가능성을 고려해야 한다. 개별적인 과학적 심사를 가능하게 하기 위해, 새롭게 발현한 단백질과 기존의 알레르겐의 사이의 서열 상동성 비교로부터 얻어진 정보는 모두 보고해야 한다.

서열 상동성 연구에는 일부 한계가 존재한다. 특히, 비교에서 일반적으로 이용할 수 있는 데이터베이스와 과학 문헌에 열거된 기지의 알레르겐의 서열로 한정된다. 아미노산 서열 상동성 비교를 통해서만 IgE 항체와 특이적으로 결합 가능한 비연속 에피토프의 검출에는 한계가 있다.



서열 상동성 비교에서 음성의 결과가 나오면, 새롭게 발현한 단백질은 기지의 알레르겐이 아니고, 기지의 알레르겐에 대한 교차 반응성이 낮다는 것을 의미한다. 유의적인 서열 상동성이 없다는 결과는 새롭게 발현한 단백질의 알레르기성 심사에 대해 확인한 그 밖의 데이터와 함께 고려해야 한다. 제시된 데이터가 발현 단백질의 알레르기성을 판단하는데 불충분한 경우 필요에 따라 추가 실험 데이터를 확인해야 한다. 서열 상동성 비교로 양성 결과가 나왔을 경우, 새롭게 발현한 단백질은 알레르기성일 가능성이 높다는 것을 의미한다. 이 제품을 한층 더 검토할 필요가 있는 경우는 동정된 알레르기성 공급원에 대해서 감각된 개인의 혈청을 이용해 평가한다.

다) 펩신 내성

몇 가지 식품 알레르겐에 대하여 펩신 소화에 대한 내성이 인정되고 있으며 펩신 내성과 알레르기성에는 상관관계가 있다. 따라서 적절한 조건하에서 펩신이 존재하는 경우에 분해에 대한 단백질의 내성이 인정되면, 새롭게 발현한 단백질이 알레르기성일 가능성을 조사하기 위해서 더 분석을 실시해야 할 것이다. 일관성 있게 검증된 펩신 분해 프로토콜이 확립되면, 이 방법의 유효성이 높아질 가능성이 있다. 그러나 펩신 내성이 없는 경우도 새롭게 발현한 단백질이 관련 알레르겐일 가능성을 배제할 수는 없다는 것을 고려해야 한다.

펩신 내성 프로토콜은 강력하게 추천되지만, 다른 효소에 대한 감수성 프로토콜도 있다. 과학적 근거를 통해 다른 프로토콜을 이용해도 좋다.



라) 특이 혈청 스크리닝

알레르기성이거나 또는 기지의 알레르겐과의 서열 상동성이 명확한 공급원에서 유래하는 단백질에 대해서는 혈청을 이용할 수 있는 경우에는 면역학적 검사에 의한 시험을 실시해야 한다. 해당 단백질의 공급원에 대한 알레르기가 임상적으로 검증된 개인의 혈청을 이용하여 *in vitro* assay로 단백질의 IgE 클래스 항체와의 특이적 결합을 조사한다. 이 실험에 있어 중요한 제한 요소는 충분한 수의 알레르기 환자 혈청 확보 여부이다. 더욱이 혈청의 질과 분석 절차를 표준화하여 유효한 시험결과를 낼 필요가 있다. 공급원이 알레르기성 여부를 알 수 없고, 기지의 알레르겐에 대한 서열 상동성을 보이지 않은 단백질에 대해서는 앞서 서술한 바와 같이 표적 혈청 스크리닝을 이용할 수 있는 경우는 이를 고려할 수 있다.

기존의 알레르기성 공급원에서 유래하는 새롭게 발현한 단백질의 경우, *in vitro* 면역학적 검사에서 음성 결과만으로는 충분하지 않은 경우가 있어, 피부 반응검사나 *ex vivo* protocol 등 보완적 실험을 해야 한다. 이러한 시험에서의 양성 결과는 잠재적 알레르겐의 가능성을 나타낸다.

마) 그 밖의 검토 사항

새롭게 발현한 단백질에 대한 절대적 노출과 관련된 식품 가공의 영향은 사람의 건강에 대한 위해의 가능성에 관한 종합적인 결론에 영향을 준다. 이 때문에, 적용되는 가공의 종류나 최종 식품 중 단백질의 존재에 대한 영향을 판단하는데 있어서 대상 식품의 본질을 고려해야 한다.

과학적 지식과 기술의 진보에 따라 심사방법의 일환으로서 새롭게 발현한 단백질의 알레르기성 심사에 대해 그 밖의 방법이나 수단도 고려할 수 있다. 이러한 방법은 과학적인 신뢰를 얻을 수 있는 것 이어야 한다. 이에는



표적 혈청 스크리닝(광범위한 관련 영역의 식품에 대한 알레르기 반응이 임상적으로 입증되고 있는 환자의 혈청에서의 IgE 결합의 평가), 국제 혈청 은행의 개발, 동물 모델의 사용, 새롭게 발현한 단백질의 T세포 에피토프나 알레르겐에 관련되는 구조적 모티프의 연구 등이 포함된다.



나. 유전자변형 미생물 유래 식품의 알레르기 평가

1) 단백질 유래(기원)

유전자변형미생물을 이용하여 생산하는 식품의 안전성을 입증하는 자료의 일부로서 공여체와 관련된 알레르기성에 대해 설명해야한다. 유전자의 알레르기성 유래(source)는 IgE가 매개하는 경구, 호흡기 또는 접촉 알레르기에 대한 합당한 증거가 있는 생물로 정의될 수 있을 것이다. 도입단백질의 유래를 알면 알레르기성의 평가에서 고려할 수 있는 수단과 관련 자료를 확인할 수 있다. 여기에는 스크리닝 단계를 위한 혈청의 이용능, 알레르기 반응에 대한 문서화된 자료, 알레르기의 심각성 및 빈도, 그러한 원료 유래의 알려진 알레르기 유발 단백질의 물리화학적·면역학적인 특성들이 포함된다.

2) 아미노산 서열 상동성

서열 유사성 비교의 목적은 새롭게 발견된 단백질이 알려진 알레르겐과 구조적 유사 가능성 범위를 측정하는 것이다. 이 정보는 신규 발견된 단백질이 알레르겐으로 작용할 수 있는 잠재성이 있는지를 추측할 수 있게 한다. 서열상동성은 새롭게 발견된 단백질과 모든 알려진 알레르겐을 비교하는 검색을 통해 확인한다. 이러한 검색은 모든 구조적 유사성을 예견하기 위하여 FASTA나 BLASTP와 같은 다양한 알고리즘들을 사용하여 수행되어야 한다. 직선 에피토프 가능성을 알기 위한 서열확인 방법으로는 단계적인 형태로 인접하는 동일 아미노산 절편을 찾아야 한다. 인접한 아미노산 검색을 위한 크기는 위음성이나 위양성 결과를 최소화 하기 위하여 과학적으로 증명된 정당성에 근거를 두어야 한다. 생물학적



으로 의미 있는 결과를 만들기 위하여 검정된 검색과 평가 과정을 사용해야 한다.

새롭게 발현된 단백질과 기존에 알려진 알레르겐 사이의 IgE의 교차반응(cross-reactivity)는 80개 이상의 아미노산 절편에서 35% 이상의 동일성(FAO/WHO 2001)을 나타낼 경우이다. 알려진 알레르겐과 새롭게 발현된 단백질 사이의 서열유사성 비교 결과에서 나온 모든 정보는 사례별로 과학적 평가를 위하여 제출되어야 한다.

서열 유사성 검색만으로는 한계가 있다. 특히, 비교할 수 있는 것은 공식적으로 이용할 수 있는 데이터베이스나 과학적 문헌들에서 알려진 서열에 한정되어 있다. 그러므로 단백질 자체가 IgE 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 인접하지 않은(non-contiguous) 에피토프를 검출하기 위한 비교 가능성에서는 한계가 있다.

서열 유사성이 “음성”이라는 것은 새롭게 발현된 단백질이 알려진 알레르겐이 아니며, 알려진 알레르겐에 교차반응하지 않다는 것을 나타낸다. 특이한 서열 유사성이 없다는 결과는 새롭게 발현된 단백질의 알레르기성 평가에서 이러한 전략으로 수행된 개략적인 다른 결과와 함께 고려되어야 한다. 필요에 따라서는 합당한 추가적인 연구가 수행되어야 한다. 서열 상동성 검색에서 “양성” 염기서열이 있다는 것은 새롭게 발현된 단백질이 알레르기성이 있을 가능성이 높다는 것을 의미한다. 만약 산물을 더 검토해야 할 경우, 확인된 알레르겐에 감작된 환자혈청을 이용하여 평가한다.

3) 펩신 내성

펩신 소화에 대한 저항성이 몇몇 식품 알레르겐에서 관찰되어 왔다. 즉



펩신에 의한 소화에 대한 저항성과 알레르기성 사이에는 상호 연관성이 있다. 그러므로 단백질이 적절한 조건에서 펩신에 의한 분해 저항성이 있는 경우 새롭게 발현된 단백질의 알레르기 가능성을 결정하기 위해 추가 분석이 수행되어야 한다. 일관성 있고 잘 검증된 펩신 분해 실험 방법의 확립은 이 방법의 이용을 고무할 수 있다. 그러나 펩신에 대한 저항성이 없다고 하여 새롭게 발현된 단백질이 알레르겐과 연관성이 없다고 배제하여서는 안 된다.

비록 펩신 저항성 프로토콜이 강력하게 추천되어지긴 하지만, 다른 효소에 대한 감수성 실험도 있다. 이러한 대체 가능한 프로토콜은 증명된 곳에서만 사용될 수 있다.

4) 혈청 스크리닝

알레르기성이 있다고 알려진 생물 유래이거나 기지의 알레르겐과 서열 유사성이 있는 단백질은 혈청을 이용하여 면역학적 분석실험을 해야 한다. 단백질 원료에 대해 임상학적으로 알레르기로 검증된 환자의 혈청은 *in vitro* 분석에서 단백질이 IgE 계통의 항체와 특이적 결합하는 지를 검사하는데 이용할 수 있다. 이 실험에서 가장 중요한 문제는 충분한 수의 환자로부터 혈청 이용 가능성일 것이다. 또한 정확한 실험결과를 얻기 위하여 혈청의 질과 분석과정을 표준화할 필요가 있다. 알레르겐으로 알려져 있지 않은 생물 유래의 단백질과 기지의 알레르겐과의 서열 유사성을 나타내지 않은 단백질에 대해서는 표적 혈청 조사는 앞서 설명된 것과 같은 실험을 이용하는 것을 고려할 수 있다.

기지의 알레르기식품에서 유래하여 새롭게 발현된 단백질일 경우, *in vitro* 면역실험에서 음성이란 것만으로는 안전성이 충분하지 못하며,



피부반응검사(skin test)이나 생체외실험 방법(*ex vivo* protocol)과 같은 부가적인 실험을 해야한다. 이 실험에서 양성이란 것은 잠재적 알레르겐이란 것을 시사한다.

5) 기타 고려사항

새롭게 발현된 단백질에 대한 절대 노출량(absolute exposure)과 관련 식품가공공정의 영향이 인간의 건강에 위험을 줄 수 있는 잠재성에 대한 전반적인 결정을 내릴 수 있게 할 것이다. 이러한 관점에서 소비용으로 생산된 식품의 성질(nature)이 적용 될 가공형태와 최종식품에서의 단백질 존재에 대한 효과를 결정하는데 고려되어야 하는 부분이다.

과학적 지식이나 기술이 발달함에 따라 다른 방법이나 수단들이 평가전략의 한 부분으로서 새롭게 발현된 단백질의 알레르기성을 평가하는데 고려될 수 있다. 이러한 방법들은 과학적으로 건전해야 하고, 표적 혈청 스크리닝(즉, 광범위한 관련 영역의 식품에 대해 임상적으로 검정된 알레르기반응을 가진 환자혈청에서의 IgE 결합에 대한 평가), 국제혈청은행의 개발, 동물 모델의 사용, T-세포 에피토프에 대하여 새롭게 발현된 단백질의 실험과 알레르겐과 관련 있는 구조적 원인 등을 포함할 수 있다.



3 EU (유럽연합)

가. 유전자변형 식물 및 그 유래 식품의 알레르기 평가

새로 도입된 유전자의 숙주가 알레르기성으로 알려져 있다면, 기존 비-유전자변형 품종과 알레르기 유발 물질 레퍼토리를 비교하는 식으로 전체 유전자변형 식품의 알레르기성 변화 가능성을 평가한다.

이런 식의 접근 방식은 숙주와 출처 개체의 알레르기성에 관한 정보를 바탕으로 각각의 경우별로 적용해야 한다.

사람 및 동물 혈청이나 세포 기반 분석과 연계하여 프로파일링 기법을 포함한 최신 분석 도구를 개발할 필요가 있다. 이런 도구는 유전자변형 작물 전체와 (가공된) 유전자변형 식품의 알레르기성을 지닌 새로운 단백질이나 펩타이드 절편을 검출하는데 활용할 수 있는 효율적이고 효과적인 도구라 할 수 있다.

위에서 설명한 통합적 절차를 유전자변형 농작물의 꽃가루와 먹을 수 있는 부분의 알레르기성 평가에 적용한다.

이외에도 유전자변형 식물과 농작물이나 부유 알레르기 물질에 유의미하게 노출된 농부나 작업자의 직업성 알레르기 유병률 데이터도 위해 평가에 유용한 정보가 될 수 있다.



나. 유전자변형 미생물 및 그 유래 식품의 알레르기 평가

새로 발현된 단백질의 알레르기성 평가

단백질의 출처, 아미노산 서열 상동성 비교, 펩신 분해 저항성에 관한 정보가 이에 포함된다.

현재는 새로 발현된 단백질에 대한 사람의 알레르기 반응을 예측할 수 있는 확실한 검사 방법이 없다.

알레르기성은 특정 단백질의 본질적이고 완전히 예측 가능한 특징이 아니다. 알레르기성은 특정 기질의 사람과 상호작용하여 나타나는 생물학적 반응이다. 따라서 아토피성인 사람의 유전적 특성 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있어 예측이 불가능하므로, 해당 단백질과 관련된 불확실성을 최소화하면서 여러 위해 평가 단계를 거치며 정보를 축적하는 것이 필요하다.

생명공학기술응용식품에 대한 정부간 특별위원회(Codex *ad hoc* Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology)의 권고에 따라 아래에 기술한 바와 같은 통합적인 단계별 접근 방식을 적용하여 새로 발현된 단백질의 알레르기성을 평가한다.

트랜스진(transgene)의 유래를 신중하게 검토하여 트랜스진이 알레르기 유발물질을 인코딩하는지 조사한다. 적절한 경우에는 제공 생명체와 관련된 알레르기성 정보를 제공한다.

숙주(진핵세포 vs. 원핵세포)별 번역 이후 변형이 단백질의 알레르기성에



영향을 줄 수 있으므로, 발현 숙주의 선택에도 주의를 기울인다.

도입 유전물질을 밀, 호밀, 보리, 귀리 또는 관련 곡물에서 확보한 경우, 새로 발현된 단백질이 글루텐 민감성 장질환이나 IgE가 매개하지 않은 기타 장질환을 유발하는데 역할을 하는지 평가한다.

교차 반응성 단백질에 이미 감작된 사람이 새로 발현된 단백질에 노출되면서 알레르기 반응을 보일 가능성을 평가하는 두 번째 단계는, 알레르기성 환자의 혈청에서 확보한 특이 IgE가 실험 대상 단백질과 결합하는 능력을 평가하는 체외 검사를 실시하는 것이다.

도입 DNA 서열의 출처가 알레르기성이라고 생각되지만 새로 발현된 단백질과 기지의 알레르기 유발물질 사이에 서열 상동성이 전혀 없다면, 유래 물질에 알레르기를 보이는 환자로부터 혈청을 확보하여 검증된 면역 화학적 방법으로 발현 단백질의 혈청 스크리닝을 실시한다. IgE 양성 반응이 나타나면, 새로 발현된 단백질은 알레르기성이 매우 높다고 볼 수 있다. IgE 결합이 관찰되지 않으면, 펩신 저항성 검사와 아래의 다른 검사를 실시한다.

도입 DNA 서열의 출처가 알레르기성이 아니라고 알려져 있지만 기지의 알레르기 유발물질과 서열 상동성이 일관되게 나타난다면, 이 알레르기 유발물질에 감작된 환자로부터 혈청을 확보해 특이적 혈청 스크리닝을 실시하여 새로 발현된 단백질과 이 알레르기 유발물질 사이의 IgE 교차 반응성을 확인하거나 배제한다. 스크리닝 결과는 위와 같이 해석한다. 추가로 실시할 필요가 있는 검사 항목은 다음과 같다.

펩신 저항성 검사: 단백질 분해 효소에 대한 저항성은 알레르기성 단백질의 특성이라 할 수 있다. 절대적 상관성은 없다는 것이 밝혀졌지만, 펩신



소화 저항성은 전반적인 위해 평가 시에 고려해야 할 사항이다. 펩신이 있는 상태의 적절한 조건에서 단백질의 신속하고 광범위한 분해가 확인되지 않으면, 추가 분석을 실시하여 새로 발현된 단백질이 알레르기성일지 확인한다. 또한 완전한 단백질, 펩신 분해 단백질, 변성(열처리) 단백질의 IgE 결합능을 비교하는 것도 유용하다.

표적 혈청 스크리닝: 전문가 회의에서 제시된 바와 같이 표적 혈청 스크리닝은 유전자 출처와 광범위하게 관련이 있는 각종 식품에 대하여 임상적으로 검증된 알레르기 반응을 보이는 사람의 혈청에 있는 IgE와 새로 발현된 단백질이 결합하는지 평가하는 것이다.



4

일 본

유전자 산물(단백질)의 알레르기성에 관한 사항

(항생물질 내성 마커 유전자를 이용하는 경우에는 그 유전자 산물(항생물질 대사효소)에 대해서도 평가할 것.)

다음의 (1)에서 (4)까지의 사항에서 종합적으로 판단하여 안전성이 확인될 것. 또한, (1)에서 (4)까지의 사항으로 판단할 수 없는 경우에는 (5)의 사항을 포함하여 종합적으로 판단하여 안전성이 확인될 필요가 있다. 또한, 합리적인 이유가 있는 경우에는 일부를 생략할 수 있다.

- (1) 삽입 유전자의 공여체(항생물질 내성 마커 유전자 공여체 포함)의 알레르기성(글루텐 과민성 장염 유발성 포함. 이하 동일)에 관한 지식이 명확할 것.
- (2) 유전자 산물(단백질)에 대해 그 알레르기성에 관한 지식이 명확할 것.
- (3) 유전자 산물(단백질)의 물리화학적 처리에 대한 감수성에 관한 사항

이하 ①에서 ③의 처리로 유전자 산물(단백질)의 분자량, 효소활성, 면역반응성 등이 변화하는지가 명확할 것. 분자량은 SDS 폴리아크릴아미드 겔 전기영동으로 나타나 있을 것. 면역반응성은 처리 전 유전자 산물(단백질)에 대한 polyclonal 항체를 이용하여 Western blotting법 및 ELISA법 혹은 이들과 동등한 방법에 의해 제시되어 있을 것.

- ① 인공 위액에 의한 산 처리 및 효소(펩신) 처리
- ② 인공 장액에 의한 알칼리 처리 및 효소(판크레아틴) 처리



③ 가열처리; 가열조건은 사람이 경구 섭취할 때에 처리되는 경우와 동등한 조건으로 실시한다.

(4) 유전자 산물(단백질)과 이미 알고 있는 알레르겐(글루텐 과민성 장질환에 관여하는 단백질 포함. 이하 알레르겐 등)과의 구조 상동성에 관한 사항

유전자 산물(단백질)에 대해 이미 알고 있는 알레르겐 등과 1차 구조를 비교하여 이미 알고 있는 알레르겐 등과 구조 상동성을 갖지 않을 것 (항원결정기(에피토프)를 나타내는 가능성이 있는 배열을 명확히 하기 위해서는 아미노산 배열에 관한 상동성 검색 등을 실시할 필요가 있다). 그때 이용한 알레르겐 데이터베이스의 명칭, 검색조건, 검색방법, 검색 결과를 명확히 할 것.

(5) 유전자 산물(단백질)의 IgE 결합능 검토

(1)에서 (4)까지의 사항 등에 의해 사람의 건강을 저해할 우려가 없다고 판단할 수 없는 때에는 유전자 산물(단백질)의 IgE 결합능을 검토할 것.

사용하는 알레르기 환자 혈청의 선택은 다음 ①에서 ④의 어느 하나로 실시한다.

- ① 삽입 유전자의 공여체가 알레르기성을 갖는 경우에는 그 공여체에 대한 특이적 IgE 항체가가 높은 혈청,
- ② 이미 알고 있는 알레르겐과의 구조 상동성이 인정된 경우에는 해당 알레르겐을 포함하는 생물에 대한 특이적 IgE 항체가가 높은 혈청,
- ③ 이미 알고 있는 알레르겐과의 구조 상동성이 나타나지 않지만, 상기 (1)~(3)의 항목에서 알레르기성을 부정할 수 없는 경우에는 유전자 공여체의 근연종 생물에 대해 특이적 IgE 항체가가 높은 혈청,



- ④ ①에서 ③에서 적절한 혈청을 얻지 못하는 경우에는 주요한 알레르겐 (계란, 우유, 콩, 쌀, 밀가루, 메밀, 대구, 새우 및 땅콩)에 대해 특이적 IgE 항체가 높은 혈청을 이용한다.

도입 유전자의 공여체가 알레르기성을 갖는 경우에 유전자 산물(단백질)에 대한 알레르기 환자 혈청을 이용한 IgE 결합능 검토에서 음성 결과를 얻었기는 하나 안전성 증명이 충분하지 않다고 판단된 경우에는 피부 반응검사와 경구유발검사 등의 임상시험데이터가 필요하다.



5 미 국

유전자변형식품의 알레르기성 평가

알레르기성(Allergenicity)

모든 식품의 알레르기 유발원은 단백질이다. 그러나 식이에서 수천 개의 단백질 중 작은 단편만이 음식물의 알레르기 유발원으로 발견된다. FDA에서 우려하는 사항은 유전자를 주는 공여체가 가지고 있던 알레르기 유발 단백질이 유전자변형을 한 숙주에게로 이행되는 것이다. 그러므로 예를 들어 땅콩의 알레르기 유발물질을 암호화하는 유전자가 옥수수로 도입되는 것은 일반적으로 땅콩에 알레르기가 있는 사람에 대하여 새로운 알레르기가 있는 옥수수 품종을 만들 것이다.

식품 중에서 알레르기를 잘 일으키는 것들은 우유, 계란, 갑각류, 어패류, 견과류, 밀이나 두류(특히 땅콩이나 대두콩) 등이다. 어떤 식품을 먹으면 알레르기가 생긴다는 것을 아는 사람들은 해당 식품이 들어있는 음식을 이미 알고 있으므로 그 음식을 먹지 않는다. 그러나 알레르기를 전혀 일으키지 않던 어떤 식품에 알레르기를 일으키는 물질이 도입된다면 알레르기 환자들은 그 음식이 알레르기를 일으킨다는 사실을 모르기 때문에 부득이 피할 방법이 없게 되는 것이 문제이다.

따라서 FDA는 육종가들에게 도입된 유전자 산물은 알레르기를 일으킨다고 가정하고 새 품종을 개발할 것을 권고한다. 새로이 도입된 유전자 산물이 알레르기를 일으키는지 알아보기 위해 세포실험 및 동물 실험을 수행하게 되며, 유전자 공여체에 알레르기 증상을 나타내는 환자가 유전자변형식품에



알레르기 증상을 나타내는지를 검사하여 확인할 수 있다. 알레르기를 나타내는 경우에는 FDA와 이 문제에 대한 논의를 해야 하며, 만일 이 식품을 상업용으로 개발하고자 한다면 소비자에게 그 사실을 알릴 수 있도록 표시하여야 한다.

알레르기와 관련하여 또 다른 이슈는 새로이 도입된 단백질이 극소수의 사람들에게만 알레르기를 일으키는 경우인데 이러한 경우에 FDA는 알레르기를 유발하는 식품에서 새로운 단백질에 대한 잠재성을 평가하고 예측하는 실질적인 방법에 대해 자문을 요청한다.

6 캐나다

가. 유전자변형 식물 유래 식품의 알레르기성 평가

1) 안전한 사용 이력이 없는 성분

가) 알레르기성 고려 사항

새로운 식품의 알레르기성 심사에서 가장 중요하게 고려해야 할 사항은, 민감한 사람이 식품 알레르기 유발 물질에 예상치 못하게 노출되거나 불가피하게 노출되는 사태를 예방하는 것이다. 안전한 사용 이력이 없는 식품인 경우, 하나 이상의 단백질 성분이 기지의 식품 알레르기 유발원과 교차 반응하거나 새로운 과민반응을 유발할 가능성이 존재한다. 하지만 식사로 소비되는 많은 단백질은 알레르기를 유발하지 않는다.

나) 새로운 단백질

식품 전체 또는 개별 단백질의 알레르기성을 직접적으로 측정할 수 있고 신뢰성 있는 확정적 시험 방법은 없다. 단백질의 알레르기성을 위한 기존의 심사 전략은 주요 단백질 각각의 심사에 맞춰져 있으므로, 식품 전체의 단백질 구성분 모두에 용이하게 적용할 수 없다. 안전한 사용 이력이 없는 식품의 단백질 구성분에 대한 특성 분석은 이 심사 전략을 적용할 수 있는 수준까지 진행되지 않는다.

다) 내재성 알레르기 유발원의 함량변화

안전한 사용 이력이 없는 식품의 알레르기성 심사를 위한 예비 전략은, 식품으로 흔히 사용되며 분류학적으로 동일한 과에 속하는 식물이 알레르기



반응을 유도하는지 조사하는 것이다. 특정 과의 식물이 알레르기 반응 유도와 관련이 있다고 해서 관련 종 유래 신규 식품의 도입을 반드시 배제할 필요는 없지만, 그 식품의 식별이 분명하지 않은 경우에는 표시 사항과 시판후 감시 활동 등 위해 관리 대책을 검토할 필요가 있다. 동질성 유지가 보장되지 않는 경우에는 알레르기 유발원 유래 단백질을 식품에 투입해서는 안 된다.

2) 신규 공정

이는 “1) 안전한 사용 이력이 없는 성분 에 대한 고려사항”과 동일함.

3) 유전자 변형

일차 평가

가) 단백질의 유래

변형 DNA 생명체 유래 식품의 안전성을 뒷받침하는 데이터의 일부로, 제공 생명체 관련 알레르기성 정보를 제공해야 한다. IgE-매개 경구, 호흡기, 또는 접촉성 알레르기 발생 증거가 합리적으로 있는 생명체의 유전자는 알레르기성이라 할 수 있다. 일부 알레르기성 생명체의 단백질을 대상으로 알레르기성을 확인할 수 있는 특이적 도구와 관련 데이터가 있다. 스크리닝 목적의 혈청 가용성, 알레르기 반응의 종류와 심각성, 그리고 빈도, 그 생명체 유래 알레르기 단백질의 구조적 특성과 아미노산 서열 (활용 가능한 경우) 등이 이에 해당된다.



나) 아미노산 서열 상동성

아미노산 서열 상동성 비교를 통해 새로 발견된 단백질의 구조가 기지의 알레르기 유발물질과 유사한 정도를 평가하고, 그 단백질이 알레르기성 또는 교차반응성을 갖고 있는지 결정해야 한다. FASTA 또는 BLASTP 같은 각종 알고리즘을 활용하여 알려진 모든 알레르기 유발물질과 새로 발견된 단백질의 구조를 비교해야 하며, 이런 서열 상동성 조사를 통해 전반적인 구조적 유사성을 예측할 수 있다. 선형 에피토프에 해당될 수 있는 서열 파악을 위해, 단계별 인접 동일 아미노산 절편 검색 등의 전략을 추진할 수 있다. 인접 아미노산 검색 크기는 위양성 또는 위음성 결과를 최소화하기 위하여 과학적 타당성을 갖추어 정한다. 생물학적으로 유의미한 결과를 확보하려면, 검증된 검색 및 평가 절차를 활용해야 한다.

80개 이상의 아미노산 절편에서 35% 이상이 동일한 경우에는 새로 발견된 단백질과 기지의 알레르기 유발물질 사이의 IgE 교차 반응 가능성도 검토해야 한다.

서열 상동성 검색 방법도 한계는 있다. 특히 활용 가능한 데이터베이스와 과학 문헌에 포함된 기지의 알레르기 유발 물질 서열에 국한하여 비교한다. 또한 이런 비교를 통해 비인접성 IgE-결합 에피토프를 파악하는데 한계가 있다.

서열 상동성 결과가 음성이라면, 이는 새로 발견된 단백질이 기지의 알레르기 유발 물질이 아니며 기지의 알레르기 유발물질과 교차 반응할 가능성이 없음을 의미한다. 새로 발견된 단백질의 알레르기성을 심사할 때는 이 전략에 따른 기타 데이터와 함께, 유의미한 서열 상동성 부재를 보여주는 결과를 검토해야 한다. 그렇다고 해서 필요하다고 판단되는 다른 실험을 하지 않아도 되는 것은 아니다. 서열 상동성 결과가 양성



이라면, 새로 발현된 단백질이 알레르기를 유발할 가능성이 높다는 의미이다. 특정 알레르기 유발원에 민감한 사람의 혈청을 사용하여 추가 평가를 해야 한다(“특정 혈청 스크리닝” 참조).

다) 펩신 저항성

펩신 소화 저항성이 여러 식품 알레르기 유발물질에서 관찰되었다. 그러므로 펩신 소화 저항성과 알레르기성 사이에는 상관관계가 존재한다. 적절한 조건에서 펩신 분해에 저항성을 나타내는 단백질이라면, 추가 분석을 실시하여 새로 발현된 단백질의 알레르기 유발 가능성을 조사해야 한다. 일관성을 갖춘 검증된 펩신 분해 프로토콜을 확립하여 적용하면, 이 방법의 효용성이 커질 수 있다.

펩신 저항성 프로토콜의 확립과 사용이 특히 권장되지만, 다른 효소 민감성 프로토콜도 있음을 인정한다. 적절한 타당성을 제시할 수 있는 경우에는 다른 프로토콜을 사용할 수 있다.

라) 특정 혈청 스크리닝

알레르기성이 있는 것에서 유래한 단백질이나 기지의 알레르기 유발물질과 서열 상동성을 갖는 단백질인 경우, 면역학적 분석이 필요하다. 단백질에 대하여 임상적으로 검증된 알레르기를 보이는 사람에게서 혈청을 확보하여, 체외 분석을 통해 그 단백질의 IgE 결합 능력을 조사할 수 있다. 이때 충분한 수의 사람에게서 혈청을 확보하는 것이 중요하다. 또한 혈청과 분석 방법의 질적 수준을 표준화해야 유효한 검사 결과를 확보할 수 있다.

기지의 알레르기 유발원에서 새로 발현된 단백질인 경우, 체외 면역 분석에서 음성 결과가 나왔다고 하여 충분하지 않다. 피부 반응검사나 생체 시료의 체외 검사 등 추가적인 조사를 실시해야 한다.



면역학적 분석을 통해 새로 발현된 단백질이 알레르기 유발물질로 확인되면, 그 제품의 판매와 유통 과정 전체에 걸쳐 적절한 위해 관리 및 위해 전파 대책을 갖추지 않은 상태에서 그 제품의 추가적인 상업화 개발 활동을 실시하지 않는 것이 바람직하다. 새로운 알레르기 유발원의 분리와 동질성 유지가 어렵거나 불가능할 수 있기 때문이다.

마) 내재 알레르기 유발물질에 대한 의도하지 않은 영향

유전자변형 때문에 유전체가 의도하지 않은 영향을 받고, 그에 따라 내재 알레르기 유발물질의 발현이 증가될 수 있다. 그와 같은 증가가 건강에 미칠 영향은 확실하지 않지만, 어떤 경우건 바람직한 것은 아니다. 내재 알레르기 유발물질 발현에 미칠 영향을 평가하는 기법은, 변형 생명체 가운데 식용 부위의 단백질 조성을 정량적으로 비교하거나 그 식품에 알레르기 반응을 보이는 충분한 수의 사람에게서 혈청을 확보할 수 있는 경우에는 변형 생명체 가운데 식용 부위를 상대로 면역블로팅 기법을 통해 비교 면역 반응성을 조사할 수 있다.



나. 유전자변형 미생물 유래 식품의 알레르기성 심사

1) 안전한 사용 이력이 없는 성분

가) 알레르기성 고려 사항

새로운 식품의 알레르기성 심사에서 가장 중요하게 고려해야 할 사항은, 민감한 사람이 식품 알레르기 유발 물질에 예상치 못하게 노출되거나 불가피하게 노출되는 사태를 예방하는 것이다. 안전한 사용 이력이 없는 식품인 경우, 하나 이상의 단백질 성분이 기지의 식품 알레르기 유발원과 교차 반응하거나 새로운 과민반응을 유발할 가능성이 존재한다. 하지만 식사로 소비되는 많은 단백질은 알레르기를 유발하지 않는다.

나) 새로운 단백질

식품 전체 또는 개별 단백질의 알레르기성을 직접적으로 측정할 수 있고 신뢰성 있는 확정적 시험 방법은 없다. 단백질의 알레르기성을 위한 기존의 평가 전략은 주요 단백질 각각의 평가에 맞춰져 있으므로, 식품 전체의 단백질 구성분 모두에 용이하게 적용할 수 없다. 안전한 사용 이력이 없는 식품의 단백질 구성분에 대한 특성 분석은 이 평가 전략을 적용할 수 있는 수준까지 진행되지 않는다.

다) 내재성 알레르기 유발원의 함량 변화

안전한 사용 이력이 없는 식품의 알레르기성 심사를 위한 예비 전략은, 식품으로 흔히 사용되며 분류학적으로 동일한 과에 속하는 미생물이 알레르기 반응을 유도하는지 조사하는 것이다. 특정 과의 미생물이 알레르기 반응 유도과 관련이 있다고 해서 관련 종 유래 신규 식품의 도입을 반드시 배제할 필요는 없지만, 그 식품의 식별이 분명하지 않은 경우에는 표시 사항과 시판 후 감시 활동 등 위해 관리 대책을 검토할



필요가 있다. 동질성 유지가 보장되지 않는 경우에는 알레르기 유발원 유래 단백질을 식품에 투입해서는 안 된다.

2) 신규공정

가) 알레르기성 고려 사항

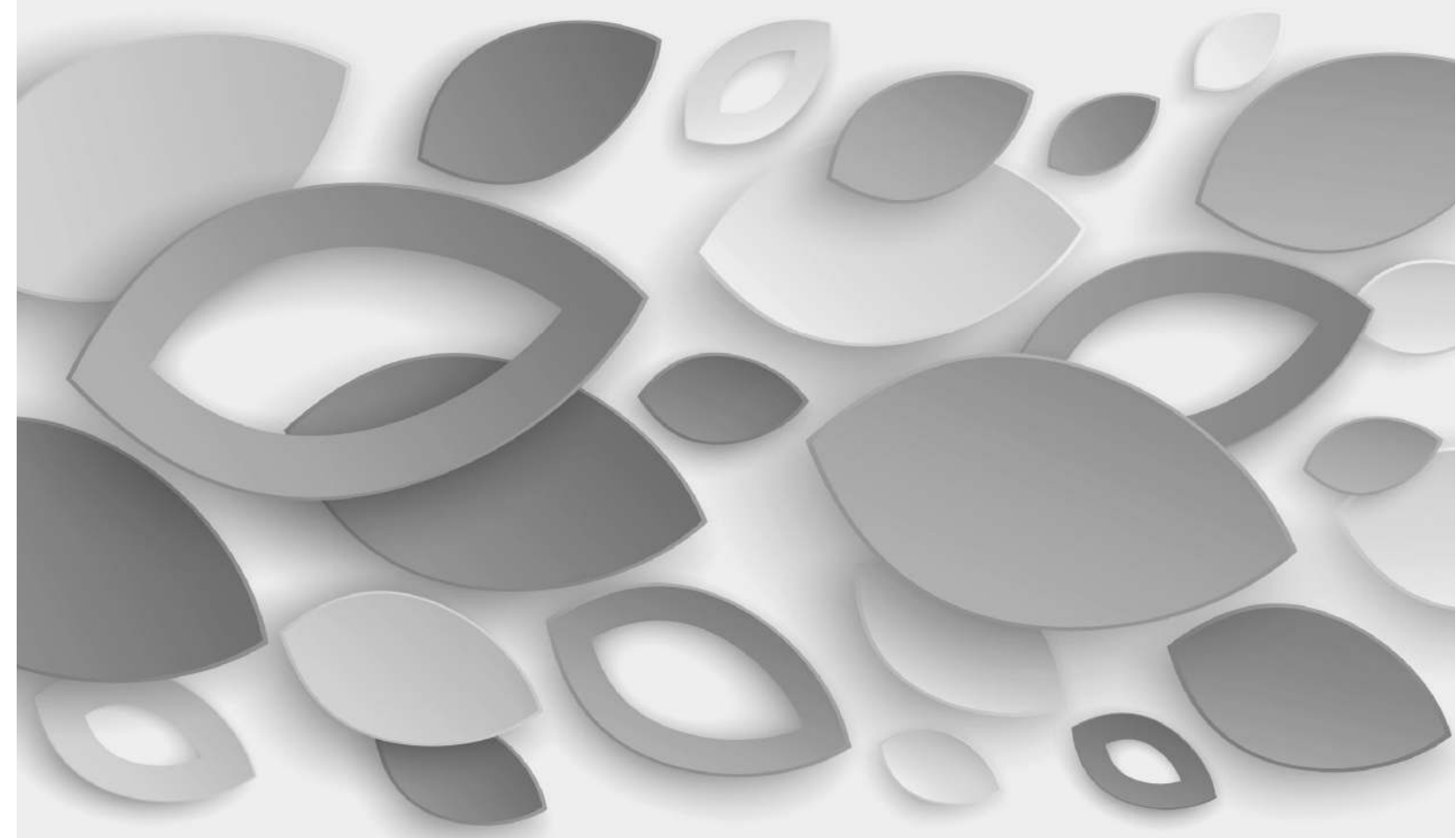
새로운 식품의 알레르기성 심사에서 가장 중요하게 고려해야 할 사항은, 민감한 사람이 식품 알레르기 유발 물질에 예상치 못하게 노출되거나 불가피하게 노출되는 사태를 예방하는 것이다. 식품에 새로운 공정을 적용함으로써 새로운 단백질이 생성되거나 알레르기성 단백질을 함유한 식품의 단백질 함량이 바뀌는 경우, 새로운 식품의 알레르기성을 검토할 필요가 있다.

나) 새로운 단백질

식품 전체 또는 개별 단백질의 알레르기성을 직접적으로 측정할 수 있고 신뢰성 있는 확정적 시험 방법은 없다. 새로운 공정을 식품에 적용함으로써 새로운 단백질이 생성되고 이를 분리하여 특성을 분석할 수 있는 경우, 변형 DNA 기술로 만든 식품을 대상으로 개발된, 섹션 평가 전략을 활용하여 알레르기성을 평가할 수 있다. 이 전략은 기지의 식품 알레르기 유발원과의 아미노산 서열 상동성을 평가하는 것으로, 특히 포유류 위장관에서 소화 저항성 등 각종 특징을 기지의 식품 알레르기 유발원과 비교하여 평가한다.

Ⅲ.

유전자변형식품의 알레르기성 심사에 대한 FAO/WHO 전문가 회의 보고서





Food and Agriculture Organization
of the United Nations



World Health Organization

Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods

Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation
on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology
22 – 25 January 2001

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)
Rome, Italy

The opinions expressed in this report are those of the participants at the Consultation and do not imply any opinion on the part of FAO and WHO



CONTENTS

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCTION | 1 |
| 2. BACKGROUND | 1 |
| 3. SCOPE | 2 |
| 4. OVERVIEW OF FOOD ALLERGIES | 3 |
| 5. DECISION TREE APPROACH TO THE EVALUATION OF THE ALLERGENICITY OF GENETICALLY MODIFIED FOODS | 5 |
| 5.1. INTRODUCTION | 5 |
| 5.2. THE FAO/WHO 2001 DECISION TREE | 6 |
| 5.3. FOOD CONTAINING A GENE DERIVED FROM A SOURCE KNOWN TO BE ALLERGENIC | 7 |
| 5.4. FOOD CONTAINING A GENE DERIVED FROM A SOURCE NOT KNOWN TO BE ALLERGENIC | 8 |
| 5.5. POST MARKETING SURVEILLANCE | 9 |
| 5.6. OTHER CRITERIA THAT WERE CONSIDERED | 9 |
| 6. STANDARDIZATION OF METHODOLOGIES | 10 |
| 6.1. SEQUENCE HOMOLOGY AS DERIVED FROM ALLERGEN DATABASES | 10 |
| 6.2. SPECIFIC SERUM SCREENING | 11 |
| 6.3. TARGETED SERUM SCREENING | 12 |
| 6.4. PEPSIN RESISTANCE | 12 |
| 6.5. ANIMAL MODELS | 13 |
| 7. CONCLUSIONS | 14 |
| 8. RECOMMENDATIONS | 16 |
| 9. LIST OF ABBREVIATIONS | 17 |
| 10. REFERENCES | 18 |
| ANNEX 1: LIST OF PARTICIPANTS | 20 |
| EXPERTS | 20 |
| AUTHORS OF WORKING PAPERS | 21 |
| OBSERVERS FROM INTERNATIONAL ORGANIZATIONS | 22 |
| CHAIRMAN OF THE CODEX AD HOC TASK FORCE ON FOODS DERIVED FROM BIOTECHNOLOGY | 22 |
| CHAIRPERSON OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD LABELLING | 23 |
| FAO/WHO SECRETARIAT | 23 |
| ANNEX 2: LIST OF DOCUMENTS | 24 |
| ANNEX 3: FAO/WHO 2000 DECISION TREE | 25 |
| ANNEX 4: FAO/WHO 2001 DECISION TREE | 26 |



1. Introduction

A Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology was held at the Headquarters of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) in Rome from 22 to 25 January 2001. The Consultation was a follow-up of the Joint FAO/WHO Consultation held in Geneva, Switzerland from 29 May to 2 June 2000 and focused on the question of allergenicity of genetically modified foods. A total of 28 experts, including authors of discussion papers, participated in the Consultation. The complete list of participants is given in Annex 1.

Mr Jacques Vercueil, Director of the Agriculture and Economic Development Analysis Division, Economic and Social Department of FAO, opened the Consultation on behalf of the Directors-General of the World Health Organization (WHO) and FAO. In his statement, Mr Vercueil indicated that allergenicity was one of the most frequently asked questions in connection with the safety of genetically modified foods. It was urgently needed to establish a reliable methodology to assess the allergenicity of new foods produced by the recombinant DNA technique. Applying appropriate risk management measures could reduce the risk of allergenicity of genetically modified foods.

The Consultation elected Dr Dean Metcalfe as Chairperson and Dr Harris Steinman as Vice-Chairperson. Dr Steve Taylor was elected as Rapporteur. The Consultation agreed to base its discussion on the decision tree adapted by the previous FAO/WHO Consultation in 2000 (Annex 3). The Consultation decided to form two working groups to draft the report and to delegate the working groups to elect their chairpersons and rapporteurs: the first working group, considering mainly products created with genes obtained from known allergenic sources (the left-hand side of the existing decision tree, Annex 3) and post-market surveillance, decided that Dr Carsten Bindslev-Jensen be its Chairman and Dr David Hill be its Rapporteur and the second working group, considering mainly products created with genes obtained from sources with no history of allergenicity (the right-hand side of the existing decision tree, Annex 3), decided that Dr Rob Aalberse be its Chairperson and Dr Ricki Helm be its Rapporteur, respectively. The list of working documents is reproduced in Annex 2 to this report. The report entitled "Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corn" (EPA, 2000) was also introduced as an actual case where methodologies under discussion by the Consultation had been applied.

The Consultation further noted the specific questions in documents Biotech 01/02, submitted by the Joint FAO/WHO Secretariat of the Consultation.

2. Background

In 1990 and 1996 FAO and WHO organised joint expert consultations to consider the safety and nutritional aspects of genetically modified foods. The 1990 Consultation regarded biotechnology as a continuum, embracing traditional breeding techniques and modern techniques based on recombinant DNA technologies and concluded that foods from modern biotechnology were inherently not less safe than those from traditional biotechnology (WHO, 1991). The 1996 Consultation recommended that substantial equivalence be an important component in the safety assessment of foods and food ingredients derived from genetically modified plants intended for human consumption (FAO, 1996). The Codex Alimentarius Commission and its relevant subsidiary bodies had reflected the results of the both consultations.

Recognizing the rising concern among the world population about the safety and nutritional aspects of foods derived from biotechnology, the Codex Alimentarius Commission,



at its 23rd Session in 1999, decided to establish an *Ad Hoc* Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology to develop standards, guidelines or recommendations, as appropriate, for foods derived from biotechnology or traits introduced into foods by biotechnology. The first meeting of the Task Force was held in Japan in March 2000. FAO and WHO expressed their intention to organize a series of scientific expert consultations to support the work of the Task Force.

In June 2000, a Joint FAO/WHO Consultation on Foods Derived from Biotechnology was held in Geneva (WHO, 2000). It addressed the overall safety aspects of foods derived from genetically modified plants and focused on the applicability of substantial equivalence as a general guidance for scientific risk assessment. This Consultation identified specific areas on which further expert consultation was needed and recommended that FAO/WHO should convene an expert consultation on the assessment of allergenicity of genetically modified foods and the novel proteins contained therein as a matter of priority.

The 2000 Consultation adapted a decision-tree (Annex 3) for the evaluation of allergenicity of novel proteins introduced into genetically modified foods. It agreed that the reliability of the risk assessment procedures for allergenicity of genetically modified foods using the decision-tree approach should be further enhanced, including the consideration of additional criteria.

3. Scope

The Consultation was convened to provide FAO, WHO and their Member States with scientific advice in relation to the assessment of allergenicity in genetically modified foods. This would cover in particular:

- General consideration of allergenicity of genetically modified foods
 - consideration of allergenicity specifically relevant to genetically modified foods
- Consideration of the decision-tree approach
 - consideration and possible revision of the decision-tree for the assessment of allergenicity of genetically modified foods developed preliminarily by the June 2000 Joint FAO/WHO Consultation on Foods Derived from Biotechnology.
 - development of standardised procedures for consideration of the use of individual criteria used in the decision tree, with a view to a harmonised application of the decision-tree
 - consideration of the possibility of post market surveillance for inclusion in the decision-tree and technologies supporting the implementation of post market surveillance.
- Specific questions arising in relation to the assessment of allergenicity of genetically modified foods
 - use of databases in the assessment of allergenicity of genetically modified foods
 - use of animal testing
 - other related issues



4. Overview of Food Allergies

Food allergies are adverse reactions to an otherwise harmless food or food component that involves an abnormal response of the body's immune system to specific protein(s) in foods. True food allergies may involve several types of immunological responses (Sampson and Burks, 1996). The most common type of food allergy is mediated by allergen-specific immunoglobulin E (IgE) antibodies¹. IgE-mediated reactions are known as immediate hypersensitivity reactions because symptoms occur within minutes to a few hours after ingestion of the offending food. IgE-mediated reactions may occur to pollens, mould spores, animal danders, insect venoms and other environmental stimuli as well as foods. IgE-mediated reactions affect perhaps 10-25% of the population in developed countries (Mekori, 1996), although food allergies represent a small fraction of all allergic diseases. Infants and young children are more commonly affected by IgE-mediated food allergies than adults; the prevalence among infants under the age of 3 may be as high as 5-8% (Bock, 1987; Sampson, 1990a; European Commission, 1998).

True food allergies also encompass delayed hypersensitivity reactions whose mechanisms are less clear. Such reactions include cell-mediated reactions that involve sensitised lymphocytes in tissues rather than antibodies (Sampson, 1990b). In cell-mediated reactions, the onset of symptoms occurs more than 8 hours after ingestion of the offending food. The overall prevalence of food-induced, cell-mediated reactions remains uncertain (Burks and Sampson, 1993), but these reactions are well documented in infants. Delayed, food-induced enteropathy has been observed in infants on exposure to milk, soybeans, and less frequently, other proteins. The most common cell-mediated hypersensitivity reaction affecting all age groups of the population is celiac disease, also known as gluten-sensitive enteropathy. Celiac disease affects 1 in every 300 to 3000 individuals in the population depending upon the specific geographic region.

Food allergies are caused by a wide variety of foods. The Codex Committee on Food Labelling established, after considerable debate, a list of the most common allergenic foods associated with IgE-mediated reactions on a worldwide basis that includes peanuts, soybeans, milk, eggs, fish, crustacea, wheat, and tree nuts. This list was presented to the Codex Alimentarius Commission and adopted in 1999 at its 23rd Session. These commonly allergenic foods account for over 90% of all moderate to severe allergic reactions to foods, although an extensive literature search has revealed more than 160 foods associated with sporadic allergic reactions (Hefle et al., 1996). Theoretically, any food that contains protein would be capable of eliciting an allergic reaction, although foods vary widely in their likelihood of provoking allergic sensitisation. In addition to the Codex list, allergic reactions to fresh fruits and vegetables, associated with the oral allergy syndrome (OAS), are also rather common (Ortolani et al., 1988). These foods are not included in the Codex list. The symptoms are typically mild and mostly confined to the oropharyngeal region. Some of the most significant allergens from these foods are unstable to heating and digestion. However, OAS in patients allergic to fruits and vegetables may, in some individuals, be followed by a systemic reaction (Ballmer-Weber et al., 2000). The list established by the Codex Committee on Food Labelling also includes gluten-containing cereals (wheat, rye, barley, oats and spelt) that are implicated in the aetiology of gluten-sensitive enteropathy.

In IgE-mediated food allergies, exposure to a specific food and the proteins contained therein elicits the development of food allergen-specific IgE antibodies. These IgE antibodies

¹ IgE, or immunoglobulin E, is a protein antibody that recognizes an allergen. It circulates in the blood, and becomes fixed on the surfaces of specific cells (basophils and mast cells). When IgE on the cell surface binds to allergen, this triggers the release of chemical mediators that provoke the symptoms associated with allergic reactions.



attach to the surfaces of mast cells and basophils, thus sensitising the individual to react upon subsequent exposure to the specific food. Thus, to become sensitised, individuals must first be exposed to the food in question. Some food proteins are more likely than others to elicit allergic sensitisation. Very limited information exists on the levels of exposure to a food that are minimally necessary to elicit allergic sensitisation in susceptible individuals. However, infants are much more likely to be sensitised than adults and are possibly sensitised to comparatively low levels of exposure to the offending food. Subsequent exposure of a sensitised individual to the offending food will likely elicit an allergic reaction. The allergen cross-links IgE antibodies on the surfaces of mast cells or basophils triggering the release of various mediators of the allergic reaction. These mediators are released into the tissues and blood, interacting with various receptors that provoke the symptoms characteristic of allergic reactions. The amount of exposure to an ingested, allergenic food protein needed to elicit a discernable reaction in already sensitised and highly sensitive individuals is not precisely known but appears to be in the microgram to low milligram range.

The manifestations of IgE-mediated food allergies range from mild to severe to life-threatening events. Individuals display different thresholds for elicitation of a reaction following ingestion of the offending food. However, the most sensitive food-allergic individuals will experience reactions from exposure to microgram to low milligram quantities or perhaps less of the offending food (limited studies have been conducted on threshold doses so the lowest-observed adverse effect level cannot be deduced precisely for any given allergenic food). Severe reactions can take place after intake of minute amounts of the offending food, and a safe threshold level below which reactions will not occur has not been defined.

Gluten-sensitive enteropathy or celiac disease is a T cell-mediated immunological response triggered by gluten (gliadin) which affects genetically disposed individuals. The active phase of the disease consists of an inflammatory process in the small intestine leading to malabsorption with body wasting, anaemia, diarrhoea, and bone pain along with other symptoms. The disease demands lifelong avoidance of gluten from wheat, rye, barley, and related cereals.

Celiac disease and other enteropathies, although recognized by this Consultation as important medical conditions, were not included in the assessment strategies considered by this Consultation.

Both IgE-mediated food allergies and non-IgE-mediated reactions are treated with specific avoidance diets. Since in both cases, the threshold dose is low and not precisely defined, affected individuals can experience difficulties in the adherence to the avoidance diets.

Almost all food allergens are proteins, although the possibility exists that other food components may act as haptens². While some food allergens have been identified and characterized, many others remain unknown. Many of the known food allergens fall into certain classes of proteins which may aid in the identification of unknown allergens from other sources. Similarly, prolamin proteins from wheat, rye, barley, etc. are involved in the elicitation of gluten-sensitive enteropathy. While the crops from which staple foods are derived contain thousands of different proteins, relatively few are allergenic. The distribution of these proteins varies in different parts of the plant and can be influenced by environmental factors such as climate and disease stress.

Conventional breeding introduces additional protein diversity into the food supply. However, variations in the protein composition of our diets brought about through conventional

² Haptens are small molecules, which may interact with body proteins or food proteins and cause these proteins to become allergenic.



crop improvement practices have had little, if any, effect on the allergenic potential of our major foods. In contrast, altered dietary preferences and changes in food manufacturing and food formulation practices can have significant implications for the development of food allergies. For example, allergy to peanut (groundnut) occurs at a significant frequency in North America and Western Europe but not in other countries where peanuts are less commonly eaten. Also, recent food introductions such as kiwi fruit have proven to be additional sources of food allergens. With respect to food formulations, the wider distribution of certain ethnic foods, such as those containing sesame seeds, may contribute to increases in allergic sensitivity to certain foods. These observations provide confidence that there are not a large number of potential allergens in the food supply, but show that new allergenic foods are sometimes introduced into the marketplace.

Because of the above, a clear need exists to pay particular attention to allergenicity when assessing the safety of foods produced through genetic modification. In the assessment of the allergenicity of genetically modified foods, the characteristics of the novel gene products (proteins) must be evaluated in light of their similarities to known food and environmental allergens. In addition, if an examination of the genetically modified food in comparison to its conventional counterpart reveals the presence of any unintended, new proteins resulting from the transformation events, these unintended, new proteins should also be assessed for their possible allergenicity using a similar approach.

5. Decision Tree Approach to the Evaluation of the Allergenicity of Genetically Modified Foods

5.1. Introduction

In 1996, the International Food Biotechnology Council and the Allergy and Immunology Institute of the International Life Sciences Institute (IFBC/ILSI) presented a decision-tree approach to the evaluation of the potential allergenicity of the novel gene products (proteins) in genetically modified foods (Metcalfé et al., 1996). This allergy assessment strategy has been widely adopted by the agricultural biotechnology industry. It is a strategy which focuses on the source of the gene, the sequence homology of the newly introduced protein to known allergens, the immunochemical binding of the newly introduced protein with IgE from the blood serum of individuals with known allergies to the transferred genetic material, and the physicochemical properties of the newly introduced protein (Metcalfé et al., 1996; Taylor, 1997).

In the 1996 Joint FAO/WHO Consultation on Biotechnology and Food Safety, the issue of allergenicity of genetically modified foods was specifically addressed for the first time. An assessment approach similar to that developed by IFBC/ILSI was advocated that included the following criteria: source of the transferred genetic material, molecular weight, sequence homology, heat and processing stability, effect of pH and/or gastric juices (digestive stability), and prevalence in foods. The 1996 Consultation concluded that “a rational scientific approach to the assessment of the allergenicity of genetically modified organisms can and should be undertaken” as part of the overall safety assessment approach. Furthermore, the 1996 Consultation made several recommendations relative to allergenicity of genetically modified foods:

- The transfer of genes from commonly allergenic foods should be discouraged unless it is documented that the gene transferred does not code for an allergen.



- Foods found to contain an allergen transferred from the organism which provided the DNA should not be considered for marketing approval unless such products can be clearly identified in the marketplace and this identity will not be lost through distribution and processing. Further, that labelling approaches may not be practical in these situations, and that particular problems exist for consumers who cannot read, or who may not be provided with labels.
- Involved organizations should consider the appropriateness of, and/or actions to take, in respect to foods containing new protein(s) that are determined to have the characteristics of an allergen, even though no patient population is known to exist which has an allergy to this gene product.
- The identification of food allergens and the characteristics of these allergens that define their immunogenicity be encouraged.

In the 2000 Joint FAO/WHO Consultation on Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin, the issue of the allergenicity of genetically modified foods was specifically addressed again. The IFBC/ILSI decision-tree approach was adapted, with minor changes, for the evaluation of novel proteins introduced into genetically modified foods (Annex 3). The said Consultation concluded “that if a genetically modified food contains the product of a gene from a source with known allergenic effects, the gene product should be assumed to be allergenic unless proven otherwise. The transfer of genes from commonly allergenic foods should be discouraged unless it can be documented that the gene transferred does not code for an allergen. The novel proteins introduced into genetically modified food should be evaluated for allergenicity on the basis of the decision-tree shown in Annex 3.” The 2000 Consultation noted that the IFBC/ILSI decision tree as adapted by FAO/WHO in Annex 3 had received some criticism related to certain of the criteria involved in the decision tree. The 2000 Consultation further concluded, “additional criteria should be considered for the addition to the decision-tree approach when the source of the genetic material is not known to be allergenic. The level and site of expression of the novel protein and the functional properties of the novel protein would be two such criteria.”

The 2000 Joint FAO/WHO Consultation recommended that “WHO/FAO should be encouraged to convene an Expert Consultation on the assessment of the allergenicity of genetically modified foods and the novel proteins contained therein. The Consultation should focus on the development of an improved decision-tree approach for the assessment of the allergenicity of genetically modified foods and on the standardization/validation of specific criteria, such as optimal methods for assessment of digestive stability.” With this background, the current consultation undertook efforts to develop an improved decision-tree approach using as a start, the existing IFBC/ILSI decision tree as adapted by the 2000 FAO/WHO Consultation (Annex 3).

5.2. *The FAO/WHO 2001 Decision Tree*

After consideration of the current status of scientific information and extensive discussion, the Consultation developed a new decision tree (Annex 4) that will be referred to throughout the remainder of this report as the FAO/WHO 2001 decision tree. This new decision tree builds upon previous approaches to examining allergenicity but also encompasses several additional strategies.



5.3. Food containing a gene derived from a source known to be allergenic

When the expressed protein comes from a source known to be allergenic, the analysis presented in the FAO/WHO 2001 decision tree focuses on both sequence homology and subsequent assessment of potential allergenicity of the expressed protein with sera of patients allergic to the source material (Annex 4). Sequence homology is the initial step to be performed. Criteria for a positive outcome in the analysis of sequence homology are reviewed in Section 6.1. When sequence homology to a known allergen is demonstrated, the product is considered allergenic, and no further testing is typically undertaken. If no sequence homology to a known allergen is demonstrated, specific serum screening for the expressed protein is undertaken. These investigations focus on assessment of the possible allergenicity of the expressed protein using sera from patients allergic to the source material (Section 6.2). These patients should be carefully defined according to international guidelines. If the patients donating sera have a low level of sensitisation, the usefulness of those sera in exhibiting reactivity to the expressed protein may be compromised. Therefore, it is suggested to include only patients with a level of sensitisation to the allergen source of more than 10 kIU/L of specific IgE.

In contrast to previous decision-tree strategies, the FAO/WHO 2001 decision tree makes no distinction between commonly and less commonly allergenic source materials with respect to specific serum screening. Thus, specific serum screening is undertaken irrespective of the relative frequency of allergy to the source material in question, provided sera are available (Section 6.2). Insufficient information exists in the literature supporting an increased risk of a severe reaction for patients with hypersensitivity to commonly allergenic foods as opposed to less commonly allergenic foods.

The degree of confidence in the results of the specific serum screening will depend upon the number of sera that are available for analysis. To achieve 95 % certainty that a major allergen (a major allergen is defined as one to which more than 50 % of individuals sensitive to that substance react in IgE-specific immunoassays) from the source material has not been transferred, a negative result must be obtained with at least 6 relevant sera. To achieve 99 % certainty that a major allergen from the source material has not been transferred, a negative result must be obtained with at least 8 relevant sera. To achieve 99.9 % certainty that a major allergen from the source material has not been transferred, a negative result must be obtained with at least 14 relevant sera. Furthermore, by using 17 relevant test sera, a 95 % probability exists of detecting a minor allergen (a minor allergen is defined as one to which less than 50 % of individuals sensitive to that substance react in IgE-specific immunoassays) from the source to which at least 20 % of the affected population are reactive. By using 24 relevant sera, a 99 % probability exists of detecting a minor allergen from the source to which at least 20 % of the affected population are reactive. An argument can be made for using fewer sera if relevant sera are not available, but this modified approach carries the risk of a false negative outcome. However, the use of larger numbers of sera is advocated, whenever possible, to increase the confidence associated with negative immunoassay results as described above. The Consultation also recognizes that the use of a smaller number of very well documented, high quality sera may be preferable to the use of larger numbers of lesser-quality sera. The in vitro method applied should be a validated assay measuring specific IgE (Section 6.2).

Any positive outcome defines the product as likely allergenic, and will normally lead to discontinuation of product development. A negative outcome of the specific serum screening prompts further analysis using targeted serum screening (Section 6.3), pepsin resistance (Section 6.4) and animal models (Section 6.5) (see Annex 4). Additionally, in vivo/ex vivo³ testing in

³ "in vivo (using allergic human subjects)/ex vivo (using cells or tissue culture from allergic human subjects)



allergic patients may also be appropriate in circumstances where confirmation of positive results in the specific serum screening is wished; or where a negative outcome of appropriate in vivo/ex vivo testing would be more convincing than a positive outcome of the specific serum screening provided that well documented allergic subjects were used in the in vivo/ex vivo testing. The ex vivo/in vivo methods include skin prick testing (Bruijnzeel-Koomen et al, 1995), basophil histamine release (Bindslev-Jensen and Poulsen, 1996) and oral challenge (Bock et al, 1988; Bruijnzeel-Koomen et al, 1995). It is anticipated that these procedures will require approval from Ethics Committees (Internal Review Boards). Therefore, the FAO/WHO 2001 decision tree does not include human in vivo testing as a mandatory tool, but in vivo testing may be considered in selected cases.

An equivocal outcome of the specific serum screening would lead to further analysis using targeted serum screening, pepsin resistance or animal models (see Annex 4). Again, ex vivo/in vivo testing involving patients allergic to the source material may also be considered.

The FAO/WHO 2001 decision tree is not applicable to the evaluation of foods where gene products are down-regulated for hypoallergenic purposes. In such cases, in vivo testing including skin prick testing, open challenges, and double-blind, placebo-controlled food challenges would be required.

5.4. Food containing a gene derived from a source *not* known to be allergenic

When the expressed protein comes from a source that is not known to be allergenic, the FAO/WHO 2001 decision tree focuses on (1) sequence homology to known allergens (food and environmental), (2) targeted serum screening for cross-reactivity with sera from patients allergic to materials that are broadly related to the source material for the gene, (3) pepsin resistance and (4) immunogenicity testing in animal models (Annex 4). In this situation the search for homologous allergens is based on two procedures.

The first step is a database search for an allergen with a homologous amino acid sequence, according to the principles described in Section 6.1. If this search reveals a level of homology with a known allergen that suggests a potential for cross-reactivity, the expressed protein is considered to be an allergenic risk. No further evaluation for allergenicity would typically be necessary.

The second step is conducted if no such homologous protein is found. In such cases, cross-reactivity is tested with a panel of serum samples that contain high levels of IgE antibodies with a specificity that is broadly related to the gene source (Section 6.3). For this “targeted serum screen”, 6 groups of source organisms are distinguished: yeast/moulds, monocots, dicots, invertebrates, vertebrates and “others”. A panel of 50 serum samples with high levels of IgE to allergens in the relevant group is used to search for IgE antibodies that are cross-reactive with the expressed protein. If a positive reaction is obtained with one of these sera, the expressed protein is considered to be an allergenic risk and further evaluation for allergenicity would typically not be necessary. If a gene were obtained from a bacterial source, no targeted serum screening would be possible, since no normal population of individuals are known to be sensitised (IgE mediated) to bacterial proteins.

When a positive outcome is obtained in targeted serum screening, further evaluation using in vivo/ex vivo approaches as described in Section 5.3 may be conducted if desired to seek confirmation of the results of the targeted serum screening. If the results obtained with in vivo/ex vivo testing differ from those obtained with targeted serum screening, these results would be more convincing than a positive outcome in the targeted serum screening provided that appropriate, well documented allergic subjects were used in the in vivo/ex vivo testing.



If no cross-reactive serum is found, the protein is analysed for pepsin resistance and for evidence of immunogenicity in appropriate animal models according to the protocols provided in Sections 6.4 and 6.5.

5.5. *Post marketing surveillance*

The Consultation acknowledges that the pre-market allergenicity assessment of the genetically modified food gives a satisfactory safety assurance. However, it is recognised that due to the wide genetic variability in the human population and different geographical dietary intake, further evaluation for adverse effects of the genetically modified food should be considered once the product has reached the market. This could provide additional safety assurance.

Ideally, a notifying, self-reporting system for any adverse health effects, both for consumers and for employees in the food production industry should be put in place. Reported data should be validated with respect to:

- the clinical outcome in relation to allergenicity
- the causality between the reported adverse effect and the specific genetically modified food/food ingredient exposure

These validated data should be recorded, consolidated and published. Such a system could benefit from experiences of existing national surveillance systems (e.g. disease control centres, poisoning centres).

However, the feasibility of post-marketing surveillance systems should be further explored, since there are number of problems to be addressed, including:

- traceability and labelling of the genetically modified food/food ingredient
- lack of background data on prevalence and incidence in food related allergies
- existence of many confounding food and non-food related factors
- changes in diets over time
- lack of trained experts and infrastructure, especially in developing country settings

5.6. *Other Criteria that were Considered*

5.6.1. **Level of expression**

Highly allergenic proteins are often expressed at relatively high levels. However, allergens can sensitize susceptible individuals at less than milligram levels, possibly at less than microgram levels (Sorva et al., 1994; Jarvinen et al., 1999). The elicitation of objective symptoms in already sensitized individuals can also occur at low levels of exposure, but has not been documented below 500 micrograms (Rance and Dutau, 1997; Hourihane et al., 1997). It is therefore not possible to define a level of expression below which a protein can be considered safe from the allergenicity point of view. Thus, level of expression cannot yet be incorporated into the assessment of the allergenicity of genetically modified foods.

5.6.2. **Unintended effects**

In achieving the objective of conferring a specific target trait (intended effect) to the host organism by the insertion of DNA sequences, additional traits could, theoretically, be acquired or existing traits lost or enhanced (unintended effects). Unintended effects may be due to factors such as random insertion events, which might result in disruption of existing genes and



modification of protein expression. While unintended effects are not specific to the use of recombinant DNA techniques, any such effects should be identified to the maximum extent possible and their impact upon the allergenicity of the genetically modified food should be assessed.

With respect to allergenicity, two types of unintended effects could be envisioned. First, the gene insert may activate or suppress existing host genes in an inordinate fashion leading to either over-expression or under-expression of specific proteins. If the host plant contains known allergenic proteins, then the possibility that the levels of these allergens has been elevated should be considered as part of the safety evaluation process. Secondly, if evidence is obtained from comparison of the genetically modified food to its conventional counterpart that the insertion of the gene creates additional new proteins, then these proteins should be evaluated for their potential allergenicity using the approach described herein.

6. Standardization of Methodologies

6.1. Sequence Homology as Derived from Allergen Databases

The commonly used protein databases (PIR, SwissProt and TrEMBL) contain the amino acid sequences of most allergens for which this information is known. However, these databases are currently not fully up-to-date. A specialized allergen database is under construction.

Suggested procedure on how to determine the percent amino acid identity between the expressed protein and known allergens.

Step 1: obtain the amino acids sequences of all allergens in the protein databases (for SwissProt and TrEMBL: see <http://expasy.ch/tools>; for PIR see <http://www-nbrf.georgetown.edu/pirwww>) in FASTA-format (using the amino acids from the mature proteins only, disregarding the leader sequences, if any). Let this be data set (1).

Step 2: prepare a complete set of 80-amino acid length sequences derived from the expressed protein (again disregarding the leader sequence, if any). Let this be data set (2).

Step 3: go to EMBL internet address: <http://www2.ebi.ac.uk> and compare each of the sequences of the data set (2) with all sequences of data set (1), using the FASTA program on the web site for alignment with the default settings for gap penalty and width.

Cross-reactivity between the expressed protein and a known allergen (as can be found in the protein databases) has to be considered when there is:

1) more than 35 % identity in the amino acid sequence of the expressed protein (i.e. without the leader sequence, if any), using a window of 80 amino acids and a suitable gap penalty (using Clustal-type alignment programs or equivalent alignment programs)

or:

2) identity of 6 contiguous amino acids.

If any of the identity scores equals or exceeds 35 %, this is considered to indicate significant homology within the context of this assessment approach. The use of amino acid



sequence homologies to identify prospective cross-reacting allergens in genetically modified foods has been discussed in more detail elsewhere (Gendel, 1998a; Gendel, 1998b).

Structural similarity with known allergens may still be important if significant amino acid identity is found, but it is below 35 %. In this case significant cross-reactivity is unlikely. However, some families of structurally related proteins are known to contain several allergens. Some examples are:

- lipocalins
- non-specific lipid transfer proteins
- napins (2S albumins from seeds)
- parvalbumins.

If the expressed protein belongs to such a family, it may be considered to have a higher probability to be an allergenic protein.

Functional similarity without structural similarity is unlikely to result in significant cross-reactivity. For example, protease inhibitors that belong to distinct protein families are not known to be cross-reactive. Similarly, proteins belonging to structurally unrelated classes of pathogenesis-related proteins (PR-proteins) are not known to be cross-reactive.

Since identity of 6 contiguous amino acids has an appreciable risk of occurring by chance, verification of potential crossreactivity is warranted when criterion (1) is negative, but criterion (2) is positive. In this situation suitable antibodies (from human or animal source) have to be tested to substantiate the potential for crossreactivity.

6.2. *Specific serum screening*

In the evaluation of the reactivity of IgE antibodies in the sera of patients with known allergies to relevant source materials, an appropriate in vitro method should be applied. A variety of well validated immunoassays are available for this purpose. The Consultation agrees that any of these tests can be used.

In addition to the precautions cited earlier with respect to selection of suitable sera for such screening, the importance of glycosylation and glycan epitopes must also be considered. Proteins to be expressed in plant hosts may be posttranslationally modified, which may have an impact on their allergenic potential. The effects of glycosylation are particularly relevant to consider, because:

1. The degree of glycosylation may affect the susceptibility of the protein to processing and proteolysis;
2. Glycosylation may alter the epitope structure, either by shielding part of the protein surface (particularly if the glycosylation is extensive), or by introducing glycan epitopes. Glycan epitopes are known to be highly cross-reactive

Glycans may be attached either via an N-link or via an O-link. N-linked sites can be predicted with some accuracy, but the prediction of sites for O-glycosylation is still unreliable.

Cross-reactivity of IgE antibodies to glycan epitopes is important not so much because of their potential contribution to allergic symptomatology (which may be minimal in many cases), but because the structure of the protein part of these glycoproteins is in this situation largely irrelevant: all proteins with these glycan structures will be cross-reactive. When target glycoproteins are screened for cross-reactivity, it is important to make a clear distinction between IgE antibodies to the glycan part on the one hand and IgE antibodies to the protein part



on the other hand. In general, it is advisable to select serum samples without IgE antibodies to glycans, absorb out such IgE antibodies with irrelevant glycoproteins obtained from the same host, or perform such tests with non-glycosylated variants, e.g. expressed in a bacterial host.

Information on glycan epitopes in relation to allergy is largely based on work with plant glycoproteins and invertebrate glycoproteins. Less is known about glycoproteins of eukaryotic microorganisms such as yeast. However, it is likely that similar precautions may need to be taken.

6.3. Targeted serum screening

When no sequence homology has been found between the expressed protein and an allergen, this does not mean that there is no such homologous allergen. It may be due to a lack of information on the relevant allergen. Random screening of serum samples from the allergic population is unlikely to be rewarding. However, some more targeted approach may, in some situations, be more appropriate.

- If the recombinant protein is derived from a monocot, it is proposed to test serum samples from patients with high levels of IgE antibodies to monocot allergens such as grass and rice.
- If the recombinant protein is derived from a dicot, it is proposed to test serum samples from patients with high levels of IgE antibodies to dicot allergens such as tree pollen, weed pollen, celery, peanuts, tree nuts and latex.
- If the allergen is derived from a mould, it is proposed to test serum samples from patients with high levels of IgE antibodies to moulds, yeast and fungi, such as *Alternaria* or *Cladosporium*, and of patients with aspergillosis or *Trichophyton* sensitivity.
- If the allergen is derived from an invertebrate, it is proposed to test serum samples from patients with high levels of IgE antibodies to invertebrates such as mites, cockroach, shrimp, chironimids or silk.
- If the allergen is derived from a vertebrate, it is proposed to test serum samples from patients with high levels of IgE antibodies to mammalian pets, laboratory animals, cow's milk, fish, chicken egg white and chicken egg yolk/serum proteins.
- If the allergen is derived from another source, e.g. a bacterium, no general screen using targeted sera is currently available.

The use of large serum pools (> 5 sera) is discouraged, because this will dilute any cross-reactive antibody present. For maximal sensitivity, individual sera should be tested.

Typically, a screen with 25 individual serum samples with high levels of IgE to the selected group of airborne allergens and (if applicable) 25 with IgE to the selected group of food allergens would be used.

6.4. Pepsin Resistance

Purified or enriched expressed protein (non-heated and non-processed) should be subjected to pepsin degradation conditions using Standard Operating Procedures and Good Laboratory Practices (SOP/GLP). In addition, the expressed protein should be assessed in its principal edible form under identical pepsin degradation conditions to those used to examine the expressed protein. Both known non-allergenic (soybean lipoxygenase, potato acid phosphatase or equivalent) and allergenic (milk beta lactoglobulin, soybean trypsin inhibitor or equivalent) food proteins should be included as comparators to determine the relative degree of the expressed proteins pepsin resistance. The protein concentrations should be assessed using a colorimetric



assay (e.g., Bicinchoninic acid assay (BCA), Bradford Protein Assay, or equivalent protein assay) with bovine serum albumin (BSA) as a standard. Pepsin proteolytic activity should be assessed (Ryle). Enzyme/protein mixtures should be prepared using 500 µg of protein in 200 µL of 0.32% pepsin (w/v) in 30 mM/L NaCl, pH 2.0, and maintained in a shaking 37 C water bath for 60 minutes. Individual 500 microgram aliquots of pepsin/protein solution should be exposed for periods of 0, 15, 30 seconds and 1, 2, 4, 8, 15, and 60 minutes, at which time each aliquot should be neutralised with an appropriate buffer. Neutralised protein solutions should be mixed with SDS-PAGE sample loading buffer with and without reducing agent (DTT or 2-ME) and heated for 5 minutes at 90°C. Samples containing 5µg/cm gel of protein should be evaluated using 10-20% gradient Tricine SDS-PAGE gels or equivalent gel system under both non-reducing and reducing electrophoretic conditions. Protein in the gels should be visualised by silver or colloidal gold staining procedures. Evidence of intact expressed protein and/or intact fragments greater than 3.5 kDa would suggest a potential allergenic protein. Evidence of protein fragments less than 3.5 kDa would not necessarily raise issues of protein allergenicity and the data should be taken into consideration with other decision tree criteria. For detection of expressed protein in an edible food source, a polyclonal IgG immunoblot analysis should be performed according to the laboratory procedures. The immunoblot analysis should be compared to the silver or colloidal gold stained SDS-PAGE gel and reflect the stained pattern of the expressed protein run under identical conditions.

The investigator should be aware of and consider the following precautions. Edible food sources may contain protease inhibitors or other substances that may promote or reduce protein degradation. Resulting fragments may not be reactive with the polyclonal IgG antibody source. Finally, there is no absolute certainty that pepsin resistance or complete degradation of a protein will predict the allergenicity of novel proteins and must be taken into consideration with other decision tree criteria. Although the present pepsin resistance protocol is strongly recommended, it is recognized that other enzyme susceptibility protocols exist. Alternative protocols may be used for which adequate justification is provided. The producer is expected to take these results into consideration in combination with other decision tree criteria.

6.5. *Animal Models*

For additional assessment of the potential allergenicity of expressed proteins, informative data can be generated using animal models in development. A number of animal models may be considered to assess on a relative scale the potential allergenicity using oral sensitisation routes with the Brown Norway rat model (Knippels et al., 1998) or intraperitoneal administration in murine models (Dearman et al 2000) or other relevant animal models. Results should be presented in characteristic Th1/Th2 antibody (isotype) profiles for assessing the potential immunogenic/allergenic activity. The different routes of administration in animal models (oral versus intraperitoneal) may not give the same results. Therefore, selection of one route of administration is not meant to exclude other routes of sensitisation. It is recommended to consider the results from two sensitisation routes in the same or different animal species.

It is recommended that the potential allergenicity of the expressed protein be ranked against well known strong and weak food allergens and non-allergenic proteins in the animal model. As additional information becomes available with respect to animal models, protocols may need to be modified to give optimal conditions for assessing protein allergenicity.

Although the present animal models provide additional information on potential allergenicity of novel proteins, they do not reflect all aspects of IgE-mediated food allergies in humans.



7. Conclusions

1. The Consultation agreed that the safety assessment of foods derived from biotechnology requires an integrated and stepwise, case-by-case approach, and that this method also be applied to the evaluation of the allergenicity of food derived from biotechnology.
2. The Consultation emphasized that all foods derived from biotechnology must be assessed for allergenic potential.
3. The original decision tree from the FAO/WHO 2000 Consultation served as a basis for this consultation. The Consultation concurred that this decision tree be modified as a consequence of more recent research and which is reflected in the FAO/WHO 2001 decision tree.
4. When the expressed protein is derived from a source with known allergenicity, the FAO/WHO 2001 decision tree proposes that the initial investigation be analysis of sequence homology to known allergens in the source. If this is negative, the next step will be investigations on possible IgE binding using immunoassays and may also include investigations in vivo in patients allergic to the source food.
5. When the expressed protein is derived from a source with no known allergenicity, the FAO/WHO 2001 decision tree proposes that the initial investigation would also be analysis of sequence homology to known allergens from food and environmental sources. If positive matches are found with known allergens, then the protein is considered likely allergenic. If no significant sequence homology is identified, then targeted serum screening is conducted with serum samples that contain high levels of IgE antibodies with a specificity that is broadly related to the gene source. If the targeted serum screening is positive, then the protein is considered likely allergenic. If the targeted serum screening is negative, then pepsin resistance of the expressed protein and the immunogenicity of the expressed protein in suitable animal models are to be assessed to determine the likelihood that the protein will be allergenic.
6. The Consultation agreed that the FAO/WHO 2001 decision tree is not applicable to the evaluation of foods where hypo-allergenicity has been induced by down-regulation of genes.
7. The Consultation was of the opinion that an evaluation of proteins for sequence homology with sufficient sensitivity and specificity to detect potential cross-reactivity is an important part of the process for the assessment of the allergenicity of the expressed protein.
8. The Consultation agreed that further studies would be required to determine the amount of allergen that sensitises and elicits allergic events.
9. The Consultation recognized the need to constantly update allergen databases.
10. The Consultation concluded that animal models have not been evaluated for all food allergens but there is sufficient scientific evidence that using these models will contribute valuable information regarding the allergenicity of foods derived from biotechnology.
11. The Consultation agreed that pepsin susceptibility is a relevant parameter for the identification of potential allergens and that the protocol described is not intended to mimic the physiologic conditions of gastric digestion.



12. The use of human in vivo methods to evaluate the allergenicity of foods derived from biotechnology may in many circumstances raise ethical issues and their use will have to be considered on a case-by-case basis.
13. Post-market surveillance is a valuable tool in the monitoring of adverse effects and long-term sequelae of foods derived from biotechnology and the Consultation recognized that the feasibility of certain aspects of its implementation would need further investigation.
14. The Consultation accepted that the FAO/WHO 2001 decision tree and its accompanying clarifying text will require modification in the future as a result of the rapidly expanding scientific base in the allergy and biotechnology fields but that this decision tree is appropriate based on our present knowledge.



8. Recommendations

1. The Consultation recommends that the FAO/WHO 2001 decision tree be used for determining allergenicity of foods derived from biotechnology.
2. The Consultation recommends that FAO and WHO should endeavour to update the decision tree as and when required.
3. The identification of food allergens and the characteristics of these allergens that define their immunogenicity are encouraged.
4. Protein and gene databases required for the assessment of allergenicity of foods derived from biotechnology should be frequently updated and maintained.
5. Further research is needed on the development and validation of suitable animal models and procedures for the assessment of allergenicity of foods derived from biotechnology.
6. The Consultation recommends that the possibility of implementing post-marketing surveillance should be further studied.
7. The Consultation recommends that FAO and WHO provide technical support to member countries to strengthen their capacity and infrastructure to enable those countries to undertake the evaluation of the allergenicity of foods derived from biotechnology.
8. The Consultation recommends to FAO and WHO the establishment of a coordination network to promote and strengthen the interaction between experts to improve standard operating procedures, good laboratory practices and good clinical practice to facilitate the evaluation of the allergenicity of foods derived from biotechnology.



9. List of Abbreviations

BCA: Bicinchoninic acid assay

BSA: Bovine Serum Albumin

DNA: Deoxyribonucleic acid

DTT: Dithiothreitol

EAACI: European Academy of Allergology and Clinical Immunology

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

GM: Genetically Modified

GLP: Good Laboratory Practices

IFBC: International Food Biotechnology Council

Ig: Immunoglobulin

IgE: Immunoglobulin E

IgG: Immunoglobulin G

ILSI: International Life Science Institute

kIU/L: Kilointernational Units/Litre

kDa: Kilodalton

ME: Mercaptoethanole

OAS: Oral allergy syndrome

PR-proteins: Pathogenesis-Related proteins

Th1: T-helper lymphocytes 1, which assist the differentiation of cytotoxic cells and also activate macrophages, which after activation play a role as effectors of the immune response.

Th2: T-helper lymphocytes 2, which are mainly involved in the amplification of B lymphocyte responses.

SCOOP/NUTR/REPORT/2: Scientific Cooperation Programme/Nutrition/Report/2

SDS-PAGE: Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis

SOP: Standard Operating Procedures

WHO: World Health Organization



10. References

1. Ballmer-Weber BK, Vieths S, Luttkopf D, Heuschmann P, Wuthrich B (2000): *Celery allergy confirmed by double-blind, placebo-controlled food challenge: a clinical study in 32 subjects with a history of adverse reactions to celery root*. J Allergy Clin Immunol, 106(2): 373-8
2. Bindslev-Jensen C, Poulsen LK (1996): *In vitro diagnostic tests*. Chapter 7 In: Sampson HA, Simons E, Metcalfe DD: Food Allergy 2nd edition, Blackwell Scientific Publications: 137-150
3. Bock SA (1987): *Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first three years of life*. Paediatrics, 79: 683-688
4. Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Lehrer S, Sachs M, Bush RK, Metcalfe DD (1988): *Double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual*. J Allergy Clin Immunol, 82(6): 986-97
5. Burks AW, Sampson H (1993): *Food allergies in children*. Current Problems in Paediatrics 23: 230-252
6. Bruijnzeel-Koomen C, Ortolani C, Aas K, Bindslev-Jensen C, Björkstén B, Moneret-Vautrin D, Wütrich B (1995): *Adverse reactions to food. Position Paper*. Allergy, 50: 623-635
7. Dearman RJ, Caddick H, Basketter DA, Kimber I (2000): *Divergent antibody isotope responses induced in mice by systemic exposure to proteins: a comparison of ovalbumin with bovine serum albumin*. Food Chem Toxicol, 38: 351-360
8. EPA (2000): *A Set of Scientific Issues Being Considered by the Environmental Protection Agency Regarding Assessment of Scientific Information Concerning StarLink Corm*. FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting, Environmental Protection Agency of the United States
9. European Commission (1998): *Consideration of the Epidemiological Basis for appropriate Measures for the Protection of the Public Health in Respect of Food Allergy*, SCOOP/NUTR/REPORT/2, European Commission, Brussels
10. FAO (1996): *Biotechnology and food safety, Report of a joint FAO/WHO consultation*. FAO Food and Nutrition Paper 61, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome
11. Gendel SM (1998a): *Sequence databases for assessing the potential allergenicity of proteins used in transgenic foods*. Adv. Food Nutr. Res. 42: 63-92
12. Gendel SM (1998b): *The use of amino acid sequence alignments to assess potential allergenicity of proteins used in genetically modified foods*: Adv. Food Nutr. Res. 42: 45-62
13. Hefle SL, Nordlee JA, Taylor SL (1996): *Allergenic foods*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S69-S89
14. Hourihane JO'B, Kilburn SA, Nordlee J, Hefle S, Taylor SL, Warner JO (1997): *An evaluation of the sensitivity of subjects with peanut allergy to very low doses of peanut protein: a randomized, double-blind, placebo-controlled food challenge study*. J. Allergy Clin. Immunol, 100: 596-600
15. Jarvinen KM, Makinen-Kiljunen S, Suomalainen H (1999): *Cow's milk challenge through human milk evokes immune responses in infants with cow's milk allergy*. J. Pediatr, 135:506-512



Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology, January 2001

16. Knippels et al. (1998): *Oral sensitization to food proteins: a Brown Norway rat model*. Clin Exp Allergy, 28: 368-375
17. Mekori YA (1996): *Introduction to allergic diseases*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S1-S18
18. Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL (1996): *Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 36: S165-S186
19. Ortolani C, Ispano M, Pastorello E, Bigi A, Ansaloni R (1988): *The oral allergy syndrome*. Ann Allergy 61(6 Pt 2): 47-52
20. Rance F, Dutau G (1997): *Labial food challenge in children with food allergy*. Pediatr Allergy Immunol 8: 41-44
21. Sampson HA (1990a): *Food Allergy*. Current Opinion in Immunology 2: 542-547
22. Sampson HA (1990b): *Immunologic mechanisms in adverse reactions to foods*. Immunology and Allergy Clinics of North America 11: 701-706
23. Sampson HA, Burks AW (1996): *Mechanisms of food allergy*. Annual Review of Nutrition 16: 161-177
24. Sorva R, Makinen-Kiljunen S, Juntunen-Backman K (1994): *B-Lactoglobulin secretion in human milk varies widely after cow's milk ingestion in mothers of infants with cow's milk allergy*: J Allergy Clin Immunol 93: 787-792
25. Taylor, S. L. (1997): *Food from genetically modified organisms and potential for food allergy*. Environ Toxicol Pharmacol 4: 121-126
26. WHO (1991): *Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology*. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, World Health Organization, Geneva
27. WHO (2000): *Safety aspects of genetically modified foods of plant origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, World Health Organization, Geneva



Annex 1

List of Participants

EXPERTS

CALDAS, Luiz Q de A, Director, Poison Control Center, Antonio Pedro University Hospital, Fluminense Federal University, Rua Marques do Paraná, 353 – 3º. andar – Centro-Niterói – Rio de Janeiro, Brazil
Tel: +55-21-717-0148
Fax: +55-21-717-4459/717-0521
E-mail: ccilqac@vm.uff.br

EGWANG, Thomas, Med Biotech Laboratories, P. O. Box 9364, Kampala, Uganda
Tel: +256-41-268251/266445
Fax: +256-41-268251
E-mail: egwang@imul.com

KUIPER, Harry A., Head, Department of Food Safety and Health, State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT), Wageningen UR, PO Box 230, NL-6700 AE Wageningen, The Netherlands
Tel: + 31 317 475 463
Fax: +31 317 417 717
E-mail: h.a.kuiper@rikilt.wag-ur.nl

LEE, Sang H., Professor, SungKyunKwan University, School of Medicine, Department of Pediatrics, Samsung Seoul Hospital, #50 Ilwon-dong, Kangnam-ku, Seoul, Republic of Korea
Tel: +82-2-3410-3521
Fax: +82-2-3410-0043
E-mail: silee@smc.samsung.co.kr

MALMHEDEN YMAN, Ingrid, Senior chemist, National Food Administration, Research & Development, P.O.Box 622, SE-751 26 Uppsala, SWEDEN
Tel + 46 18 17 56 82
Fax + 46 18 10 58 48
E-mail: iyma@slv.se

METCALFE, Dean, Chief, Laboratory of Allergic Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health Building 10, Room 11C205, 10 Center Dr. MSC 1881, Bethesda, MD 20892-1881 USA (Chairperson)
Tel: +1-301-496-2165
Fax: +1-301-480-8384

MOUSSA, Amel, Etablissement Publique de Santé, Charle Nicolle, Tunis, Tunisia
Tel: +216-1-575-575
Fax: +216-1-237-076
E-mail: sa.benecib@planet.tn

STEINMAN, Harris, Allergy Clinic, Red Cross Children's Hospital, University of Cape Town, c/o P.O. Box 565, Milnerton, 7435, South Africa
Tel / Fax: +27-21-551-2993
E-mail: harris@zingsolutions.com



TRYPHONAS, Helen, Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, Sir Frederick G. Banting Research Center PL2202D1, Ross Avenue, Tunney's Pasture, Ottawa, Ontario, Canada
Tel: +1-613-957-0996
Fax: +1-613-941-6959
E-mail: Helen_Tryphonas@hc-sc.gc.ca

AUTHORS OF WORKING PAPERS

AALBERSE, Rob⁴, Department of Immunopathology, CLB, Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam, The Netherlands
Tel: +31-20-512-3158
Fax: +31-20-512-3170
E-mail: aalberse@clb.nl

BECKER, Wolf-Meinhard⁵, Division of Allergology, Research Institute Borstel, Parkallee 35, D-23845 Borstel, Germany
Tel: +49-4537-188-337
Fax: +49-4537-188-328
E-mail: wbecker@fz-borstel.de

BINDSLEV-JENSEN, Carsten⁶, Associate professor, Odense University Hospital, Dept. of Dermatology, DK 5000 Odense, Denmark
Tel: +45 65411343, secr +45 65412717
Fax: +45 66123819
E-mail: cbj@imbmed.sdu.dk

HELM, Ricki M.⁷, Associate Professor of Paediatrics, University of Arkansas for Medical Sciences, Arkansas Children's Hospital Research Institute, 1120 Marshall Street, Little Rock, Arkansas, USA,
Tel: +1-501-320-1060
Fax: +1-501-320-3173
E-mail: HelmRickiM@uams.edu

HILL, David J.⁸, Director, Department of Allergy, Royal Children's Hospital, 151 Flemington Road, NORTH MELBOURNE 3051, Australia
Tel: +61-3-9345-5701
Fax: +61-3-9326-6418
E-mail: allergy@cryptic.rch.unimelb.edu.au

PENNINKS, André H.⁹, Department of Experimental Immunology, TNO Nutrition and Food Research Institute, Utrechtweg 48, P.O. Box 360, 3700 AJ Zeist, The Netherlands
Tel: + 31 30 6944564
Fax: + 31 30 6960264
E-mail: Penninks@voeding.tno.nl

⁴ author of Topic 3

⁵ author of Topic 4

⁶ author of Topic 6

⁷ author of Topic 5

⁸ author of Topic 7

⁹ author of Topic 8



TAYLOR, Steve¹⁰, Professor and Head, Department of Food Science and Technology, University of Nebraska, 143 Food Industry Complex, East Campus
PO Box 830919, Lincoln, NE 68583-0919, USA (Rapporteur)
Tel: +1 402 472 2833
Fax: +1 402 472 1693
E-mail: Staylor2@unl.edu

URISU, Atsuo¹¹, Department of Pediatrics, Fujita Health University, The Second Teaching Hospital, 3-6-10, Otobashi, Nakagawa-ku, Nagoya, 454-8509 Japan,
Tel: +81-52-323-5670
Fax: +81-52-322-4734
E-mail: urisu@fujita-hu.ac.jp

WAL, Jean-Michel¹², Directeur du Laboratoire d'Immuno-Allergie Alimentaire, Service de Pharmacologie et Immunologie (SPI), INRA-CEA SACLAY Bât 136,91191 Gif sur Yvette cedex, France
Tel: +33 1 69 08 92 24
Fax: +33 1 69 08 59 07
E-mail : wal@dsvidf.cea.fr

OBSERVERS FROM INTERNATIONAL ORGANIZATIONS

FERRAILOLO, Giovanni, Programme Officer, Biosafety Unit, International Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Padriciano 99, 34012 Trieste, Italy,
Tel: +39-040-3757364
Fax: +39-040-226555
E-mail: ferraiol@icgeb.trieste.it

MAEKAWA, Tetsuya, Administrator, OECD, ENV/EHS
2, rue André Pascal, 75775 Paris Cedex 16, France
Tel: +33-1-45-24-76-19
Fax: +33-1-45-24-16-75
E-mail: Tetsuya.MAEKAWA@oecd.org

CHAIRMAN OF THE CODEX AD HOC TASK FORCE ON FOODS DERIVED FROM BIOTECHNOLOGY

YOSHIKURA, Hiroshi, Food Sanitation Division Environmental Health Bureau
Ministry of Health and Welfare
1-2-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8045, Japan
Tel: +81 3 3595 2252
Fax: +81 3 3595 2251
Email: codexj@mhw.go.jp

¹⁰ author of Topic 1
¹¹ author of Topic 2
¹² author of Topic 9



CHAIRPERSON OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD LABELLING

MACKENZIE, Anne, Associate Vice-President, Science Evaluation Unit, Canadian Food Inspection Agency,
59 Camelot Drive, Nepean, Ontario K1A 0Y9, Canada
Tel: +1-613-225-2342, ext. 4188
Fax: +1-613-228-6638
E-mail: amackenzie@em.agr.ca

FAO/WHO SECRETARIAT

BOUTRIF, Ezzeddine, Senior Officer (Food Control and Consumer Protection), Food Quality and Standards Service, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 56156
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: ezzeddine.boutrif@fao.org

TABATA, Makoto, Food Standards Officer, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Nutrition Division, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 54796
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: makoto.tabata@fao.org

LEE, Seoung-Yong, Associate Professional Officer, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Nutrition Division, FAO
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy
Tel: +39 06 570 56243
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: SeoungYong.Lee@fao.org

SAHARA, Yasuyuki, Scientist, Programme of Food Safety, WHO, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
Tel: +41 22 791 4324
Fax: +41 22 791 4807
E-mail: saharay@who.int

EIJKEMANS, Gerry, Medical Officer, Department of Protection of Human Environment, WHO, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
Tel: +41 22 791 3758
Fax: +41.22.791 4123
E-mail: eijkemansg@who.int

JERMINI, Marco, Acting Director and Food Safety Regional Adviser
WHO Regional Office for Europe - European Centre for Environment and Health
Via Francesco Crispi, 10 I-00187 Rome Italy
Tel: +39-06-487-7525
Fax: +39-06-487-7599
E-mail: maj@who.it



Annex 2

List of Documents¹³

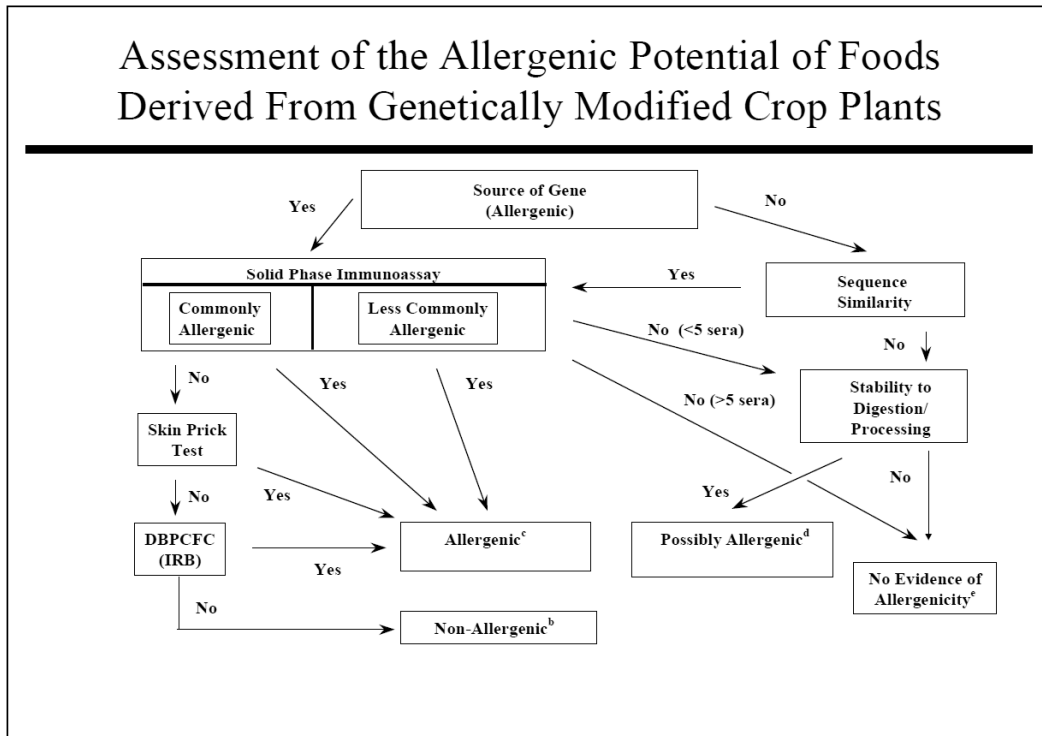
| | |
|---------------|--|
| Biotech 01/01 | Provisional Agenda and Timetable |
| Biotech 01/02 | Questions about the Assessment of Allergenicity of Foods Derived from Modern Biotechnology |
| Biotech 01/03 | Topic 1: Overview of the Current Approach to Determine the Allergenicity of Genetically Modified Foods (Decision Tree Approach) |
| Biotech 01/04 | Topic 2: Commonly Known Allergenic Sources (IgE-Mediated and Non IgE-Mediated Food Allergens as well as Environmental Allergens) |
| Biotech 01/05 | Topic 3: Allergen Databases/Class of Proteins/Allergen Function |
| Biotech 01/06 | Topic 4: Sequence Homology and Allergen Structure |
| Biotech 01/07 | Topic 5: Stability of Known Allergens (Digestion and Heat Stability) |
| Biotech 01/08 | Topic 6: Solid phase Immunoassay, Immunoreactivity and Other Criteria |
| Biotech 01/09 | Topic 7: Prevalence of Allergen in Food and Threshold for Sensitization |
| Biotech 01/10 | Topic 8: Animal Model for Allergenicity Assessment |
| Biotech 01/11 | Topic 9: Post-market Surveillance of Allergenicity |

¹³ Working Documents are posted on the following FAO and WHO websites:
FAO : <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/ECONOMIC/ESN/biotech.htm>
WHO: <http://www.who.int/fsf>



Annex 3

FAO/WHO 2000 Decision Tree

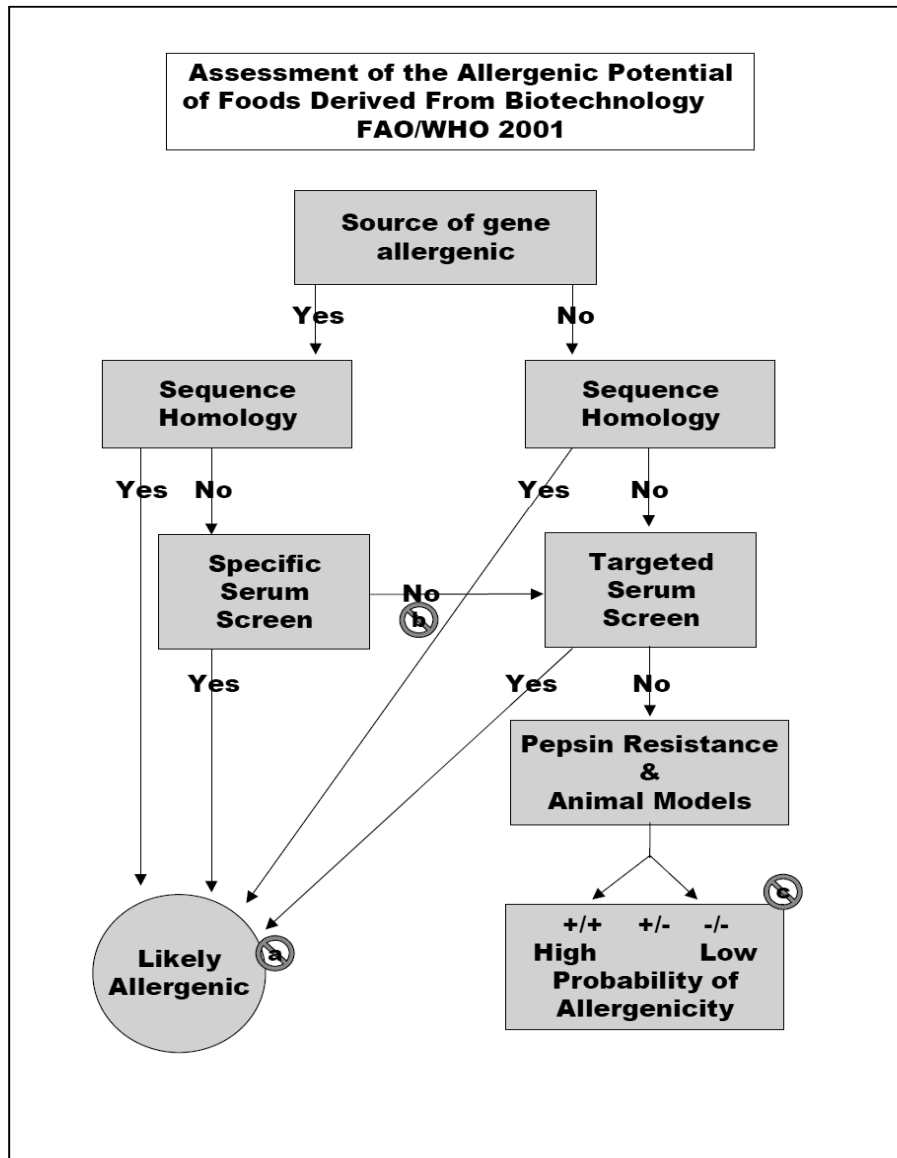


Footnotes to Figure

- (a) The figure was adapted from decision-tree approach developed by International Food Biotechnology Council and Allergy and Immunology Institute of the International Life Sciences Institute (Metcalf *et al.*, 1996).
- (b) The combination of tests involving allergic human subjects or blood serum from such subjects would provide a high level of confidence that no major allergens were transferred. The only remaining uncertainty would be the likelihood of a minor allergen affecting a small percentage of the population allergic to the source material.
- (c) Any positive results obtained in tests involving allergic human subjects or blood serum from such subjects would provide a high level of confidence that the novel protein was a potential allergen. Foods containing such novel proteins would need to be labelled to protect allergic consumers.
- (d) A novel protein with either no sequence similarity to known allergens or derived from a less commonly allergenic source with no evidence of binding to IgE from the blood serum of a few allergic individuals (<5), but that is stable to digestion and processing should be considered a possible allergen. Further evaluation would be necessary to address this uncertainty. The nature of the tests would be determined on a case-by-case basis.
- (e) A novel protein with no sequence similarity to known allergens and that was not stable to digestion and processing would have no evidence of allergenicity. Similarly, a novel protein expressed by a gene obtained from a less commonly allergenic source and demonstrated to have no binding with IgE from the blood serum of a small number of allergic individuals (>5 but <14) provides no evidence of allergenicity. Stability testing may be included in these cases. However, the level of confidence based on only two decision criteria is modest. The Consultation suggested that other criteria should also be considered such as the level of expression of the novel protein.





FAO/WHO 2001 Decision Tree






Footnotes

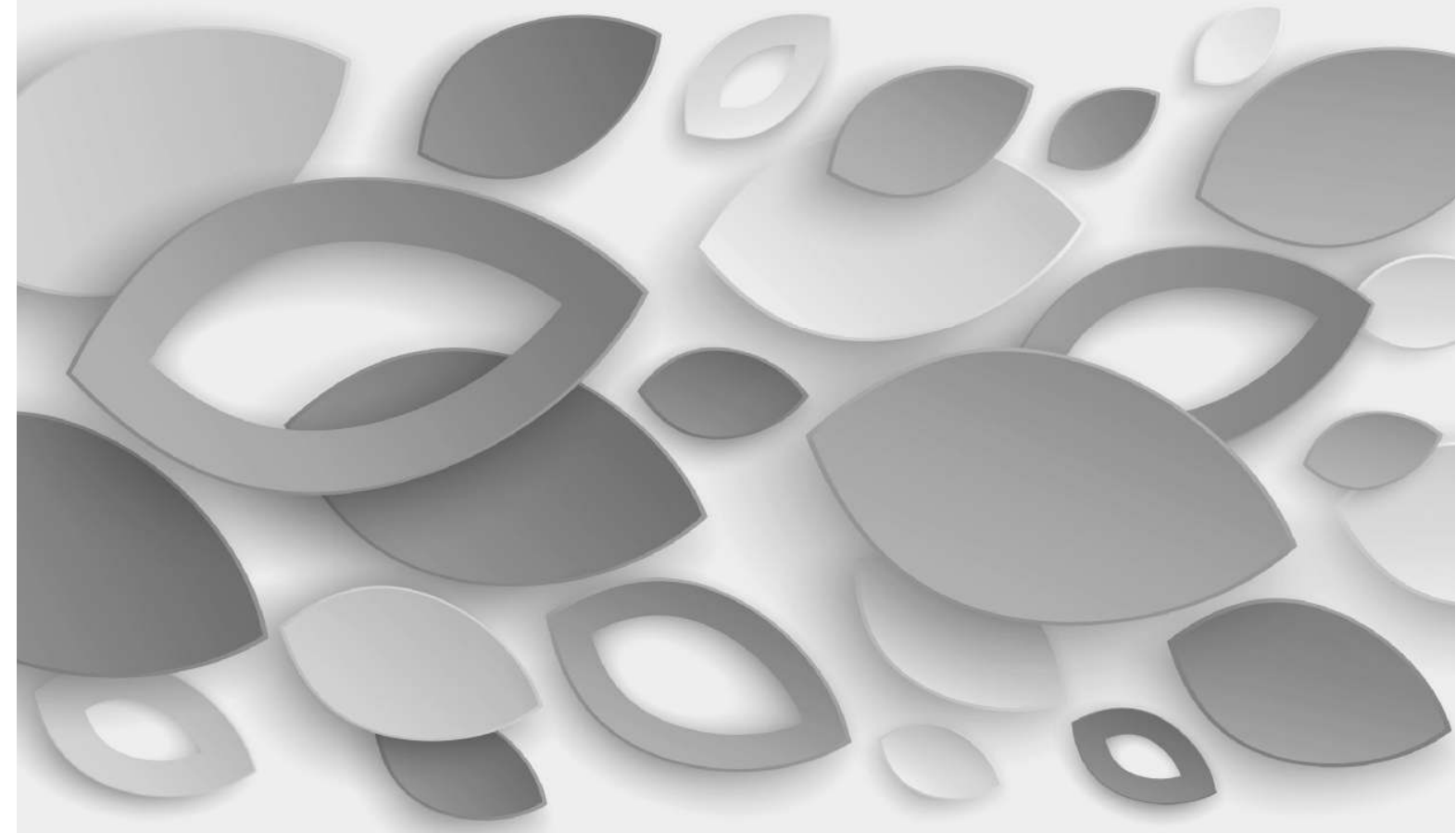
-  Any positive results obtained from sequence homology comparisons to the sequences of known allergens in existing allergen databases or from serum screening protocols, both conducted in accordance with the guidelines established in Sections 6.1, 6.2 and 6.3, indicate that the expressed protein is likely allergenic.

-  The degree of confidence in negative results obtained in the specific serum screen is enhanced by the examination of larger numbers of individual sera as explained in Section 5.3. Conducting the specific serum screen with small numbers of individual sera when larger numbers of such sera are readily available should be discouraged.

-  When positive results are obtained in both the pepsin resistance and animal model protocols, the expressed protein has a high probability to become an allergen. When negative results are obtained in both protocols, the expressed protein is unlikely to become an allergen. When different results are obtained in the pepsin resistance and animal model protocols, the probability of allergenicity is intermediate, although rational explanations may be possible in some situations.

IV.

참 고 문 헌





1. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. <http://www.isaaa.org/>
2. OECD. Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology, Concepts and Principles. Organisation for Economic Cooperation and Development. Paris. 1993.
3. Ladics GS, Holsapple MP, Astwood JD, Kimber I, Knippels LMJ, Helm RM, et al. Workshop Overview: Approaches to the Assessment of the Allergenic Potential of Food from Genetically Modified Crops. *Toxicol Sci.* 2003;73:8-16.
4. FAO/WHO. Strategies for Assessing the Safety of Foods Produced by Biotechnology, Report of a Joint FAO/WHO Consultation. World Health Organization. Geneva. 1991.
5. FAO/WHO. Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods derived from Biotechnology. World Health Organization. Geneva. 2000.
6. FAO/WHO. Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Rome. 2001.
7. Codex Alimentarius Commission. Alinorm 03/34, Report of the 3rd Session of the Codex ad hoc International Task Force on Foods Derived from Biotechnology. p57-60. Codex Alimentarius Commission. Rome. 2002.
8. Lidemann J. Biotechnologies and Food: a summary of major



- issues regarding safety assessment assurance. Regul Toxicol Pharmacol. 1990;12:96-104.
9. Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL. Assessment of the Allergenic Potential of Foods Derived from Genetically Engineered Crop Plants. Crit Rev Food Sci Nutr. 1996;36(Sup):165-86.
 10. Codex Alimentarius Commission. Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Plants, Annex on the Assessment of Possible Allergenicity. Codex Alimentarius Commission. Rome. 2003.
 11. Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush BK. Identification of Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. N Engl J Med. 1996;334:688-92.
 12. Aalberse RC. Structural biology of allergens. J Allergy Clin Immunol. 2000;106:228-38.
 13. Goodman RE, Vieths S, Sampson HA, Hill D, Ebisawa M, Taylor SL, et al. Allergenicity assessment of genetically modified crops-what makes sense? Nat Biotechnol. 2008;26:73-81.
 14. Astwood JD, Leach JN, Fuchs RL. Stability of food allergens to digestion *in vitro*. Nat Biotechnol. 1996;14:1269-73.
 15. Shon DH, Improvement of assessment system for the allergenicity of genetically modified food. p34. 식품의약품안전청 최종연구보고서. 2003.
 16. Yagami T, Haishima Y, Nakamura A, Hiroyuki O, Ikezawa Z. Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and



- vegetable foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:752-62.
17. Fu TJ, Abbot UR, Hatzos C. Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid—a comparative study. *J Agric Food Chem.* 2002;50:7154-60.
 18. Jiang B, Qu H, Hu Y, Ni T, Lin Z. Computational analysis of the relationship between allergenicity and digestibility of allergenic proteins in simulated gastric fluid. *BMC Bioinformatics.* 2007;8:375.
 19. Prescott VE, Hogan SP. Genetically modified plants and food hypersensitivity disease: Usage and implications of experimental models for risk assessment. *Pharmacol Thera.* 2006;111:374-83.
 20. Taylor SL, Hefle SL, Bindslev-Jensen C, Bock SA, Burks AW, Christie L, et al. Factors affecting the determination of threshold doses for allergenic foods: How much is too much? *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:24-30.
 21. Batista R, Nunes B, Carmo M, Cardoso C, José HS, de Almeida AB, et al. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:403-10.
 22. Kim SH, Kim HM, Ye YM, Kim SH, Nahm DH, Park HS, et al. Evaluating the Allergic Risk of Genetically Modified Soybean. *Yonsei Med J.* 2006;47:505-12.

본 가이드라인은 「유전자변형식품등 안전성 심사 등에 관한 규정」에 따라 알레르기성 분야의 표준화된 심사를 위한 것으로, 법적인 규정은 아니며 새로운 과학적 근거가 있을 경우 언제든지 개정될 수 있습니다.

유전자변형식품등의 안전성 심사 가이드라인 II

- 알레르기성 분야 -

| | |
|-------|---|
| 발행일 | 2015년 3월 |
| 발행인 | 왕진호 |
| 편집위원장 | 서세정 |
| 편집위원 | 강윤숙, 이우영, 권용관, 문명희, 신지은, 김은정, 이지은, 나혜민, 김수미 |
| 발행처 | 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 신소재식품과 (우)363-700 충북 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 |
| 전화 | 043-719-2360 |
| 팩스 | 043-719-2350 |
| 홈페이지 | www.mfds.go.kr / www.nifds.go.kr |
