

유전자변형생물체의 알레르기성 평가와 이해

이상구 · 오선우 · 박수윤 · 박현민 · 김은하 · 진소라 · 류태훈

Allergenicity assessment of novel proteins expressed in genetically modified organisms

Sang-Gu Lee · Seon-Woo Oh · Soo-Yun Park · Hyoun-Min Park · Eun-Ha Kim · So-Ra Jin · Tae-Hun Ryu

Received: 20 November 2021 / Revised: 15 December 2021 / Accepted: 16 December 2021

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract To ensure the safety of developing or importing genetically modified organisms (GMOs), Korea has enacted the “LMO Act.” Accordingly, the safety of using GMOs as food or feed is evaluated in accordance with the concept of “substantial equivalence” proposed by OECD. The allergenicity of GMOs is assessed as a part of their safety evaluation. The methods of allergenicity assessment have been discussed by various international organizations, such as the OECD, FAO, and WHO. The main methods used for the allergenicity assessment of proteins newly expressed in GMOs include assessment of the physicochemical stability of these proteins, evaluation of their amino acid homology with existing allergenic proteins, and serum screening. In this study, we describe guidelines and related studies for the allergenicity assessment of GM crops.

Keywords GMO, LMO, Biosafety, Assessment

서론

생명공학기술을 이용하여 외부 유전자를 도입함으로써 유용한 특성을 가지도록 만들어낸 유전자변형작물(Genetically Modified Crop)은 1994년 미국 칼젠社에서 개발한 무르지 않는 토마토를 시초로 현재까지도 사료 및 식품용도 중심으

로 많은 GM작물들이 개발, 재배되고 있다. 이는 교배와 선발을 통한 기존 전통육종방법과 다르게 다양한 종의 유용형질을 이용하거나 육종기한을 단축시킬 수는 있는 등 여러 장점이 있다.

2019년 기준 전세계적으로 29개국이 GM작물을 재배하고 있고 그 면적은 1996년 170만 헥타르에서 2019년 1억 9,040만 헥타르로 약 112배 증가하였다(ISAAA 2019). 국내에서는 GM작물을 재배용으로 승인한 건은 없지만 식용 및 농업용으로 승인하여 2020년 기준으로 약 1,197만 톤을 수입하고 있다. 용도별 수입량으로는 농업용이 998.8만 톤(83.4%), 식품용이 198.5만 톤(16.5%)을 차지하고 있다.

GM작물을 수입, 생산, 이용하기 위해서는 ‘유전자변형 생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률(LMO법)’에 따라 크게 환경위해성과 인체위해성의 두 가지 측면에서 안전성 평가를 한다. 평가방법은 국제식품규격위원회(Codex Alimentarius Commission, Codex) 가이드라인에 따른 ‘실질적 동등성’ 개념을 기반으로 분자생물학적, 영양성분, 독성 및 알레르기성에 대한 특성을 평가한다.

이중, 알레르기성 평가는 외부 유전자 도입에 의해 만들어지는 새로운 단백질이 알레르기원으로 작용할 수 있는지를 확인한다. 유전자변형생물체의 알레르기성 평가 방법은 경제협력개발기구(OECD), 국제연합식량농업기구(FAO), 세계보건기구(WHO) 등 다양한 국제기구를 통해 논의되어 왔다. 주요 평가 방법으로 새로 발현된 단백질의 물리화학적 감수성 확인, 기존 알레르기 단백질과의 상동성 비교, 알레르기 환자의 혈청을 이용한 스크리닝 방법 등이 있다. 국내 식품의약품안전처에서 발행한 유전자변형생물체의 알레르기성 평가 가이드라인은 FAO/WHO 전문가 자문회의나 Codex에서 제시한 가이드라인과 큰 관점에서 유사하나 세부적으로 일부 차이가 있다. 따라서 본 연구는 유전자변

S.-G. Lee, S.-W. Oh (✉), S.-Y. Park, H.-M. Park, E. -H. Kim, S. -R. Jin, T -H Ryu
국립농업과학원 생물안전성과
(Biosafety Division, National Institute of Agricultural Sciences,
370 Nongsaengmyeong-ro, Jeonju, Jollabuk-do 54875, South
Korea)
e-mail: ohsw0507@korea.kr

형생물체의 알레르기성 평가 방법에 대한 국내외 논의 내용과 문헌 연구 정보를 제공하고자 한다.

유전자변형생물체의 알레르기성 평가 방법 논의 경위

1996년 국제식품생명공학위원회(International Food Biotechnology Council, IFBC)와 국제생명과학위원회(International Life Science Institute, ILSI)의 Allergy and Immunology Institute는 유전자변형생물체의 알레르기성 평가를 위한 의사결정 분지도(decision-tree)를 제시하였다(Metcalf et al. 1996). 이 평가방법은 도입 유전자에 의해 발현된 단백질과 기존 알레르기 단백질과의 상동 비교(sequence similarity), 알레르기 환자 혈청을 이용한 면역학적 결합 테스트(immunochemical binding), 피부 시험(skin testing) 등으로 구성되었다.

2001년에는 FAO/WHO 전문가 회의를 통해 유전자변형생물체의 알레르기성 평가를 위한 새로운 의사결정 분지도가 채택되었다. 이는 IFBC/ILSI의 의사결정 분지도와 다르게 윤리적 문제를 고려하여 피부 시험이나 경구 유발시험과 같이 인체를 대상으로 하는 실험 대신 동물 모델을 이용한 실험, 표적 혈청 탐색 등을 도입하여 실제 이용 가능성을 고려한 평가 방법 절차를 제안하였다(FAO/WHO 2001).

FAO와 WHO가 설립한 국제기구 Codex는 2001년에 채택된 FAO/WHO의 의사결정 분지도를 근거로 알레르기성 평가에 대한 방법을 만들었으나, 실제 평가 과정상에 또는 아니오 라고 명확히 판단할 수 없는 경우를 고려하여 의사결정 분지도 방식을 그대로 채택하지 않고 축적된 증거에 입각한(weight of evidence) 안전성 평가 방식을 채택하고 증거 자료는 검증된 실험법에 의해 확보되어야 함을 강조하였다(Codex 2002).

현재 국내에서는 2008년부터 시행된 LMO법 별표 10-1(유전자변형생물체의 위해성평가자료)을 근거로 유전자산물의 잠재적 알레르기성, 유전자산물 및 이의 대사산물 등과 이미 알려진 알레르기 단백질과의 구조적 상동성 유무 등을 평가하고 있고 식품의약품안전처에서 ‘식품위생법’에 따라 유전자변형생물체에 대한 알레르기성 평가 가이드라인을 개발하여 안전성 평가에 활용하고 있다(MFDS 2015).

유전자변형생물체의 알레르기성 평가 방법

유전자변형생물체의 안전성 평가는 ‘실질적 동등성’ 개념을 기반으로 수행된다. 이 개념은 OECD에서 제출하였고 유전자변형생물체와 기존 생물체를 비교하여 유전자변형 기술에 따른 차이점을 도출하고, 그 차이점에 대해 안전성 평가를 하여 문제가 없으면 그 유전자변형생물체의 안전성은 기존 생물체의 안전성과 같다고 하는 것이다(OECD 1993). 우리나라를 비롯한 여러 국가에서 이를 근거로 안전성 심

Table 1 Methods for allergenicity assessment of the newly expressed proteins Korea and Codex

Korea	<ul style="list-style-type: none"> - Allergenicity of donor organism and host - Stability to physicochemical treatment - Allergen homology - Daily protein intake assessment - Specific serum/ target serum screening
Codex	<ul style="list-style-type: none"> - Source of the protein - Amino acid sequence homology - Pepsin resistance - Specific serum screening - Other considerations

사를 진행하고 있다. 이에 따라 유전자변형생물체의 알레르기성 평가도 새롭게 발현된 단백질에 대해서 기존 생물체와 비교하여 평가하고 있다. 유전자변형생물체의 안전성 평가 가이드라인 중 Codex와 국내 식품의약품안전처에서 발간한 알레르기성 평가 방법은 Table1과 같다. 공통 항목으로는 1)공여체 및 숙주의 알레르기성 검토 2)알레르기 단백질과의 아미노산 서열 상동성 비교 분석 3)발현 단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성 4)단백질 섭취량 5)혈청 스크리닝 이 있다. 국내의 경우는 Codex와 다르게 1-4)항목으로 알레르기성을 판단하기 어려울 경우에만 추가적으로 혈청 스크리닝을 진행 한다는 차이가 있고 최종적으로 각각의 평가 결과들을 고려하여 알레르기성 여부를 확인한다. 유전자변형생물체의 알레르기성 주요 평가 방법 및 기타 고려할 사항에 관한 내용은 아래에 서술하였으며 최근 유전자가위 기술을 이용한 산물에 대한 알레르기성 평가방법에 대해서는 구체적으로 논의된 바가 없다.

1) 공여체 및 숙주의 알레르기성 검토

유전자변형생물체의 안전성 평가를 위해서는 새로운 단백질의 발현을 위해 도입된 유전자 공여체와 숙주의 특성을 검토하여 알레르기 발현 가능성을 확인해야 한다. 특히 공여체에 대한 안전한 식경험은 알레르기성을 결정하는 주요 요인이 되며, 밀, 보리, 호밀 등의 글루텐 함유 곡물이 공여체로 사용될 경우 반드시 글루텐 과민성 장질환 등을 일으키는 지 확인한다.

과거 브라질 너트의 2S 알부민 유전자가 도입된 유전자변형 콩이 알레르기 반응을 일으킨다는 결과(Nordlee et al. 1996)가 알려진 후 단백질의 공급원인 공여체에 대한 알레르기성 평가가 중요하게 되었고 이러한 이유로 알레르기를 일으키는 공여체의 유전자는 유전자변형생물체를 만드는 데 거의 이용되지 않고 있다.

숙주가 알레르기 단백질을 가지고 있을 때는 도입 유전자에 따라 기존의 알레르기 단백질 발현이 증가하거나 새로운 알레르기 단백질이 발현될 수 있다. 이럴 경우 환자 혈청을 이용한 면역 반응을 확인하거나 숙주의 알레르기성과

Table 2 Allergen databases for amino acid sequence homology analysis

Database	Web site address
FARRP Allergen Protein Database	https://www.allergenonline.org/
Structural Database of Allergenic Proteins	https://www.fermi.utmb.edu/
Allermatch	http://www.allermatch.org/
Allergen Nomenclature	http://www.allergen.org/
NABIC	https://nabic.rda.go.kr/

관련된 단백질의 구성 성분과 발현량을 확인할 필요가 있다. 단백질의 발현량 측정을 위해서는 효소결합면역측정법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 등이 이용되고 있다.

그러나 이를 통한 알레르기성 평가 방법이 적절한지에 대해 많은 의견 또한 생겼다. 우선 비유전자변형작물 경우 알레르기 단백질 함량도 품종 간의 유전적 특성, 온도, 양분 조건 등 환경적 요인에 따라 자연 변이 범위가 존재한다는 것이다(Houston et al. 2010; McClain et al. 2018). 또한, 교배를 통한 전통육종방법이 생명공학기술을 이용한 방법보다 작물 성분 변화에 더 많은 영향을 미쳤다는 연구도 보고 되었다(Herman and Price 2013; Ladics et al. 2015).

2) 알레르기 단백질과의 아미노산 서열 상동성 비교 분석

알레르기 단백질과의 아미노산 서열 상동성 비교 분석은 새로 발견된 단백질과 기존 알레르기 단백질이 어느 정도 유사한지를 분석하여 알레르기성 여부를 확인하는 것이다. 이것은 알레르기 반응을 일으키는 면역 요소(IgE)와 특정 항원이 관계가 있다는 이론에 근거하며, 새로 발견된 단백질이 기존 알레르기 단백질과 동일한 항원을 가진다면 알레르기 반응을 나타낸다는 것이다.

아미노산의 상동성 비교는 FASTA나 BLASTP 등 다양한 알고리즘 분석을 통하여 확인한다(Pearson and Lipman 1988; Altschul et al 1997). 기존 알레르기 단백질과의 구조적 유사성은 새로 발견된 단백질의 80개 또는 그 이상의 아미노산 부분이 기존 알레르기 단백질의 아미노산과 35% 이상의 상동성 여부를 통해 확인한다. 발현 단백질의 선형 항원(Epitope) 가능성은 발현 단백질의 연속되는 8개 아미노산 서열이 기존 알레르기 단백질 아미노산 서열과 일치하는 부분이 있는지를 통해 확인한다. 알레르기 단백질과 구조적 유사성 확인을 위해 설정한 35% 이상의 상동성 여부 기준은 대표적인 알레르기 단백질인 Betv 1이 일부 채소 알레르기 단백질과 40% 정도의 아미노산 상동성을 가진다는 연구 결과를 근거로 설정되었다(Scheurer et al. 1999). 연속되는 아미노산 서열 상동성 비교에는 다양한 의견이 제시되었다. FAO/WTO 전문가 그룹(2001)은 6개의 연속적인 아미노산 서열 상동성 비교를, IFBC/ILSI는 8개의 연속된 아미노산 서열 상동성 비교를 제안하였다.

연속되는 아미노산 서열의 수가 너무 많거나 적으면 위 음성 또는 위양성의 결과를 나타낼 가능성이 있고 기존의 알레르기 데이터베이스에서 제공하는 정보가 한정적이기 때문에 다른 평가 결과들을 고려하여 알레르기성을 평가해야 한다. 기존에 알려진 알레르기 단백질의 아미노산과 새로 발견된 단백질의 아미노산 서열 상동성을 비교하는데 주로 사용되는 데이터베이스는 Table 2와 같다.

3) 발현 단백질의 물리화학적 처리에 대한 감수성

알레르기성 평가를 위해 시험관 내에서 새로 발견된 단백질에 대해 소화액과 열처리에 대한 감수성 실험을 진행한다. 일부 알레르기 단백질들은 펩신과 같은 소화액이나 열에 대해 안정성을 가진다(Breitender and mills 2005). 알레르기성 단백질과 비알레르기성 단백질의 소화액에서의 안정성 비교 연구 결과는 Table 3과 같고 비알레르기성 단백질의 경우 알레르기성 단백질에 보다 빨리 분해된다(Astwood et al. 1996).

그러나 일부 연구 결과는 저장 단백질이나 구조 단백질과 같은 특정 단백질은 세포 환경에서 분해에 안정하기 때문에 단백질의 소화 여부는 알레르기성과 절대적 관계가 아니라고 보고하였다(Fu et al. 2002; Yagami et al. 2000). 하지만 단백질 종류를 적절히 분류하고 소화액에서의 감수성 검정 결과를 검토한다면 소화액 감수성 실험은 알레르기성 평가에 주요 방법이 될 수 있을 것이다(Jiang B et al. 2007).

IFBC/ILSI는 pH 1.2 조건에서 펩신 내성 실험을 하도록 정하였고 Codex는 pH 2.0 조건 사용법을 권고하고 있다. 그리고 발현 단백질의 소화성 실험을 위해 사용되는 단백질량 또한 실제로 유전자변형생물체 내 발현되는 단백질량을 고려할 필요가 있다. 예를 들어 해충저항성 옥수수 Mon 810 이벤트에서 발현되는 단백질 Cry 1Ab의 양은 약 0.83ppm으로 극히 소량이다(Székács et al. 2010). 이에 단백질의 소화액 내성 실험 표준화를 위해 펩신의 pH, 온도 등 실험 조건 변경에 따른 비교 분석 연구가 보고되었다(Thomas et al. 2004).

소화액 감수성 실험에서 유전자변형작물의 경우 발견된 단백질을 직접 추출하여 사용하기가 어렵다. 그러므로 주로 대장균과 같은 미생물을 이용하여 단백질을 발현, 분리하여 사용한다. 이럴 경우 유전자변형생물체 유래 단백질과 미생물에서 유래한 단백질이 생화학적, 구조적, 기능적

Table 3 Degradation time of allergenic/non-allergenic proteins in simulated gastric fluid

	Protein	Total protein (%)	Stability (min)
Allergenic	Egg ovalbumin	54	60
	Egg ovomucoid	11	8
	Milk casein	80	2
	Milk α -lactoglobulin	4	0.5
	Soy lectin	1-2	15
	Peanut lectin	1.3	8
	Peanut Ara h2	6	60
Non-allergenic	Rubisco LSU (spinach leaf)	25	<15 s
	B-amylase (barley kernel)	<1	<15 s
	Lipoxygenase(soybean seed)	<1	<15 s
	Cry 1	<0.01	<30 s
	CP4 EPSPS	<0.1	<15 s
	GUS	<0.01	<15 s
	GOX	<0.01	<15 s

으로 동일인지에 관해 확인할 필요가 있다. 이때 주로 이용되는 방법은 N-말단 서열 분석, 펩타이드 질량 분석, SDS-PAGE 및 Western blot을 통한 분자량 분석 등이 있다.

4) 단백질 섭취량

새롭게 발견된 단백질의 섭취량 또한 알레르기성에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 이유로 국민건강영양조사, 식품수급표 등의 식품 섭취량을 참고로 발견 단백질의 1일 섭취량을 확인한다. 주요 알레르기 단백질 대부분은 식품 구성에서 많은 양을 차지한다. 따라서 새로 발견된 단백질의 양이 전체 단백질 섭취량의 1% 미만이라면 알레르기성을 나타낼 가능성은 매우 낮다. 그러나 일부 알레르기 단백질은 낮은 농도에서도 T-세포의 활성을 유도하여 IgE의 면역 반응을 일으킨다는 연구 결과가 보고되었다(Björkstén et al. 1996). 게다가 단백질의 섭취량은 단백질의 농도뿐만 아니라 섭취 형태, 방식, 소비자 연령 등 다양한 요인의 영향을 받기 때문에 종합적인 평가가 필요하며, 발견되는 단백질과 함께 최종으로 소비되는 식품 본질 자체를 고려해야 할 필요가 있다.

5) 혈청 스크리닝

새로 발견되는 단백질이 알레르기 유발물질을 가진 공여체로부터 유래했거나 기존 알레르기 단백질과의 아미노산 상동성 등이 확인된다면 혈청을 이용한 면역학적 방법을 실시한다. 면역 스크리닝 방법에는 크게 특이 혈청 스크리닝과 표적 혈청 스크리닝으로 구분할 수 있다. 특이 혈청 스크리닝은 발견 단백질이 기존 알레르기 단백질과 구조 유사성이 확인된 경우 실시한다. 스크리닝 방법은 구조적 유사성이 확인된 알레르기 단백질에 대해 임상적으로 검증된 개인 환자의 혈청과 발견 단백질 간 면역학적 결합을 확인

한다. 표적 혈청 스크리닝은 주요 알레르기 단백질에 대한 환자 혈청들과 발견 단백질 간 면역학적 결합을 확인한다. FAO/WTO의 전문가 회의 보고서에 따르면 발견 단백질이 주요 알레르기 단백질이 아님을 99%로 확신하기 위해서는 최저 8개의 관련 혈청을 이용한 실험이 필요하며, 비주요 알레르기 단백질의 경우는 최저 24개의 관련 혈청을 이용한 실험이 필요함을 권고하고 있다(FAO/WTO 2001).

6) 단백질의 당화(Glycosylation)

단백질에 Lactose나 Fucose와 같은 당이 달라붙는 작용인 당화가 일부 알레르기 단백질에서 확인되었다(Huby et al. 2000; Breitender and Mills. 2005). 당화 작용은 크게 N-당화와 O-당화로 나누어지며 N-당화는 질소 원자를 매개로 올리고당이 아스파라긴과 아미노산 잔기에 결합하는 것이고 O-당화는 산소 원자를 매개로 올리고당이 세린이나 트레오닌과 같은 아미노산 잔기에 결합하는 것을 의미한다.

이런 당화 작용은 단백질의 안정성, 소수성, 용해성 등 물리적인 특성을 바꾸어 알레르기 가능성에 영향을 줄 수 있다. T세포가 항원으로 인식할 수 있도록 짧은 서열의 단백질 조각을 분해하는 항원제시세포(Antigen-Presenting Cell, APC)는 표면에 특별한 당 수용체(Receptor)가 존재하기 때문에 비당화 단백질에 비해 당화 단백질을 더 많이 이입한다(Sallusto et al. 1995; Condaminet et al. 1998). 이렇게 APC의 당 수용체 매개로 인한 단백질의 이입이 알레르기 유발 가능성을 높인다는 연구 결과가 보고되었다(Tan et al. 1997; Agnes et al. 1998).

모든 당화 단백질이 알레르기 단백질로 작용하는 것은 아니지만 축적된 증거에 입각한 안전성 평가 방식을 고려할 때 당화에 의한 알레르기 가능성을 고려할 필요는 있다.

당화 여부 확인은 질량분석기, 크로마토그래프, Glycoprotein staining 등의 방법을 이용한다.

7) 동물 모델을 이용한 알레르기성 실험

동물모델을 이용한 알레르기성 실험은 섭취 경험이 없는 단백질에 대한 알레르기성 평가에 중요할 수 있다. 일부 연구 결과들은 동물을 이용한 알레르기 반응 기전 및 면역 치료 평가에 대한 가능성을 보여주었다(Kulis et al. 2012). 이에 랫드(rat), 쥐(mouse), 개 등 여러 동물을 모델로 단백질의 알레르기 가능성에 대한 연구가 보고 되었다(Ladics et al. 2010). 이러한 모델 실험의 대부분은 테스트 그룹의 항체 반응 정도와 빈도를 근거로 진행되고 있으나 테스트 진행을 위해 동물에 이용되는 단백질의 형태(식품 및 단백질 자체), 투여 방법(구강 및 복강) 등 표준화된 실험 방법이 필요한 실정이다.

게다가 동물 모델을 통한 알레르기성 평가가 사람에게 항상 동일하게 적용되지는 않는다(Goodman et al. 2008). 사람과 동물의 생물학적 차이로 인체에 적용할 수 있는 한계가 있기 때문이다. 동물 실험은 주로 의약품이나 화장품을 개발하였을 경우 인체에 어떤 영향을 미치는지 평가해 왔고 그 결과가 임상 실험과 불일치하는 경우가 많았다. 이와 함께 동물복지에 대한 관심이 증가함에 따라 인공 세포를 이용하는 등 동물을 사용하지 않거나 부득이하게 사용할 경우 그 사용되는 동물의 개체수를 감소시키거나 고통을 경감시킬 수 있는 동물대체시험법 연구가 활발히 진행 중이다. 따라서 기존 동물 실험 연구 결과와 함께 면역 체계가 구성된 생체모사 시스템 개발 등 동물대체시험법 연구를 통해 발현 단백질에 대한 새로운 알레르기성 평가 방법을 개발하여 향후 안전성평가에 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

적 요

우리나라는 유전자변형생물체(GMO)의 개발 및 수입 등에 관한 안전성 확보를 위하여 LMO법을 제정하였다. 이에 따라 국내에서 GMO가 식품 및 사료용으로 수입, 생산될 경우는 OECD가 제시한 '실질적 동등성' 개념에 따라 안전성 심사를 한다. 안전성 심사에는 GMO에 대한 알레르기 평가심사가 포함된다. 알레르기성 평가 방법은 OECD, FAO, WHO 등 다양한 국제기구를 통해 논의되어왔다. 주요 알레르기성 평가 방법으로는 GMO에서 새로 발현된 단백질의 물리화학적 감수성 확인, 기존 알레르기 단백질과의 아미노산 서열 유사성 분석, 혈청 스크리닝 등이 있다. 따라서 본 연구에서는 유전자변형생물체의 알레르기성 평가를 위한 가이드라인과 관련 연구들을 소개하였다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 기관고유 사업(PJ01432203)의 연구지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Agnes M, Tan A, Jordens R, Geluk A, Roep B O, Ottenhoff T, Drijfhout J W, Koning F (1998) Strongly increased efficiency of altered peptide ligands by mannosylation. *International Immunology* 10:1299-1304
- Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D J (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25:3389-3402
- Astwood, J.D., Leach, J.N. and Fuchs, R.L (1996) Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotechnology*. 14: 1269-1273
- Björkstén B, Holt B J, Baron-Hay M J, Munir A K. and Holt P G (1996) Low-level exposure to house dust mites stimulates T-cell responses during early childhood independent of atopy. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 26:775-779
- Breiteneder, H. and Mills, E.N.C (2005) Molecular properties of food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 115:14-23
- Codex Alimentarius Commission (2002) Report of the 3rd session of the Codex ad hoc international Task Force on Foods Derived from Biotechnology 57-60
- Condaminet B, Péguet-Navarro J, Stahl PD, Dalbiez-Gauthier C, Schmitt D and Berthier-Vergnes, O (1998) Human epidermal Langerhans cells express the mannose-fucose binding receptor. *European Journal of Immunology*. 28:3541-3551
- FAO/WHO (2001) 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 Organization of the united nations. Rome 5-10
- Fu T J, Abbott U R, Hatzos C (2002) Digestibility of Food Allergens and Nonallergenic Proteins in Simulated Gastric Fluid and Simulated Intestinal Fluid A Comparative Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:7154-7160
- Goodman R E, Vieths S, Sampson H A, Hill D, Ebisawa M, Taylor S.L, van Ree R (2008) Allergenicity assessment of genetically modified crops—what makes sense? *Nature Biotechnology*. 26:73-81
- Herman R A, Price W.D (2013) Unintended Compositional Changes in Genetically Modified (GM) Crops: 20 Years of Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:11695-11701
- Hoff M, Son D Y, Gubesch, M, Ahn K, Lee S I, Vieths S, Goodman R E, Ballmer-Weber, B K and Bannon G.A (2007) Serum testing of genetically modified soybeans with special

- emphasis on potential allergenicity of the heterologous protein CP4 EPSPS. *Molecular Nutrition & Food Research*. 51:946-955
- Houston N L, Lee D G, Stevenson S E, Ladics G S, Bannon G A, McClain S, Privalle L, Stagg N, Herouet-Guicheney C, MacIntosh S C and Thelen J J (2010) Quantitation of Soybean Allergens Using Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*. 10:763-773
- Huby R D, Dearman R J, Kimber I (2000) Why Are Some Proteins Allergens? *Toxicological Sciences*. 55:235-246
- ISAAA Brief 55 (2019) Global Status of Commercialized Biotech/GM crops in 2019
- Kulis M, Macqueen I, Li Y, Guo R, Zhong X P and Burks A W (2012) Pepsinized cashew proteins are hypoallergenic and immunogenic and provide effective immunotherapy in mice with cashew allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 130:716-723
- Jing B, Qu H, Hu Y, Ni T, Lin Z (2007) Computational analysis of the relationship between allergenicity and digestibility of allergenic proteins in simulated gastric fluid BHC bio-informatics. 8:375
- Ladics, G S, Bartholomaeus A, Bregitzer P, Doerrner N G, Gray A, Holzhauser T, Jordan M, Keese P, Kok E, Macdonald P, Parrott W, Privalle L, Raybould, A, Rhee S.Y, Rice E, Romeis J, Vaughn J, Wal J M and Glenn K (2015) Genetic basis and detection of unintended effects in genetically modified crop plants. *Transgenic Research*. 24:587-603
- Ladics G S, Knippels L M J, Penninks A H, Bannon G A, Goodman R E and Herouet-Guicheney C (2010) Review of animal models designed to predict the potential allergenicity of novel proteins in genetically modified crops. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 56:212-224
- McClain S, Stevenson S E, Brownie C, Herouet-Guicheney C, Herman R A, Ladics G S, Privalle L, Ward J M, Doerrner N and Thelen J J (2018) Variation in Seed Allergen Content From Three Varieties of Soybean Cultivated in Nine Different Locations in Iowa, Illinois, and Indiana. *Frontiers in Plant Science*. 9:1025
- Metcalfe D D, Astwood J D, Townsend R, Sampson H A, Taylor S L and Fuchs R L (1996) Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36:165-186
- Ministry of Food and Drug Safety (2015) Guidance for risk assessment of from genetically food, etc(Allergicity). 1-11
- Nordlee J A, Taylor S L, Townsend J A, Thomas L A and Bush R K (1996) Identification of a Brazil-Nut Allergen in Transgenic Soybeans. *New England Journal of Medicine*. 334:688-692
- OECD (1993) Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology; Concepts and Principles; Organization of Economic Cooperation and Development (OECD): Paris, France
- Pearson W R and Lipman D J (1988) Improved tools for biological sequence comparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 85:2444-2448
- Sallusto F, Cella M, Danielo C, Lanzavecchia (1995) Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *Journal of Experimental Medicine*. 182:389-400
- Scheurer S, Son D Y, Boehm M, Karamloo F, Franke S, Hoffmann A, Hausteiner D and Vieths S. (1999) Cross-reactivity and epitope analysis of Pru a 1, the major cherry allergen. *Molecular Immunology*. 36:155-167
- Székács A, Lauber E, Juracek J and Darvas B (2010) Cry1Ab toxin production of MON 810 transgenic maize. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29:182-190
- Tan, M.C, Mommaas A M, Drijfhout J W, Jordens R, Onderwater J J, Verwoerd D, Mulder A A, van der Heiden A N, Scheidegger D, Oomen L C, Ottenhoff T H, Tulp A, Neeffjes J J and Koning F (1997) Mannose receptor-mediated uptake of antigens strongly enhances HLA class II-restricted antigen presentation by cultured dendritic cells. *European Journal of Immunology*, 27:2426-2435
- Thomas K, Aalbers M, Bannon G A, Bartels M, Dearman R J, Esdaile D J, Fu T J, Glatt, C M, Hadfield N, Hatzos C, Hefle S L, Heylings J R, Goodman R E, Henry B, Herouet C, Holsapple M, Ladics G S, Landry T D, MacIntosh S C and Rice E A (2004) A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. *Regulatory toxicology and pharmacology*. 39:87-98
- Yagami T, Haishima, Y, Nakamura A, Osuna H and Ikezawa Z. (2000) Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 106:752-762