

Ökar genteknik risken för allergier?

SAMMANFATTNING:

Genmodifiering görs för att ge en växt egenskaper som är svåra att uppnå med vanliga korsningar, till exempel motståndskraft mot insektsangrepp eller bekämpningsmedel. Man försöker även förbättra växters näringsvärde, till exempel genom att förändra fettets sammansättning. Ofta innebär genmodifieringen att nya proteiner uttrycks i växten. Alla sådana nya egenskaper och den modifierade växten måste säkerhetsbedömas ur toxikologisk, mikrobiologisk och allergisynpunkt. De vetenskapliga kriterierna för denna bedömning har utretts av FAO/WHO. Inom EU görs bedömningen av EFSA (European Food Safety Authority). Bedömningen från allergisynpunkt sker enligt en stegvis procedur. En grundläggande princip har slagits fast: överföring av gener från kända allergenkällor får endast ske när det kan bevisas att den överförda genen inte ger upphov till ett allergent protein.

Ingrid Malmheden Yman är Farmacie Dr, 1:e kemist, Livsmedelsverket, Forsknings- och Utvecklingsavdelningen, Uppsala

KONTAKTADRESS:

Ingrid Malmheden Yman
Livsmedelsverket
Box 622
751 26 Uppsala
ingrid.malmheden-yman@slv.se

INGRID MALMHEDEN YMAN, Livsmedelsverket, Uppsala

Växtförädling kan sägas vara människans förändring av växters ärftliga egenskaper, så att de på något vis passar och tjänar hennes syften. I denna mening är växtförädlingen lika gammal som jordbruket och de äldsta odlade växterna. Kulturväxterna uppkom genom att människan omedvetet eller medvetet förändrade vilda växter till det vi idag betraktar som separata kulturväxter. Nästan alla sådana arter har ett ursprung i det tidiga jordbrukets historia.

Den intensiva debatten om arters uppkomst och evolutionen under 1800-talet, inspirerad av Darwin, stimulerade intresset att förbättra kulturväxterna. På många håll i Europa uppstod såväl offentlig som privat växtförädling. Också den moderna växtförädlingens genombrott år 1900, genom återupptäckten av Mendels arbeten, fick en direkt och snabb inverkan på växtförädlingen. Redan något decennium in på 1900-talet kan man säga att en helt modern växtförädling vuxit fram. Vid denna tid utvecklades den agrara växtförädlingen mycket snabbt och man tog fram förädlingsmetoder som var anpassade till grödornas olika reproduktionssätt. Den svenska växtförädlingen gjorde banbrytande insatser när det gällde att utveckla metodiken för förädling av självbefruktande växtslag såsom vete, korn och havre. Växtförädlingens tre grundläggande element är förekomst av en genetisk variation, den omkombination av arvsanlag som sker spontant under den sexuella förökningen (rekombination) och det urval som kan göras bland avkomman. Vid konventionell förädling erhålls ofta de önskade egenskaperna, till exempel nya proteiner, först efter ett flertal korsningar som

kan ta många år i anspråk. Dessutom erhålls ofta flera andra proteiner «på köpet».

Modern bioteknik

Ibland talar man om bioteknik och modern bioteknik. Båda dessa är ett vidare begrepp än själva gentekniken. Inom modern genteknik arbetar man på molekyl-nivå för att skräddarsy organismer så att de får speciella egenskaper, detta beskrivs så att man genmodificerar organismer och man pratar då om GMO, som är förkortning för genmodifierade organismer. Enligt miljöbalkens definition är en genetiskt modifierad organism en organism, där det genetiska materialet har ändrats på ett sätt, som inte sker naturligt genom parning eller naturlig rekombination. Vid genteknisk förädling tillförs enbart den intressanta genen från en annan organism vilket leder till ett eller ett fåtal nya proteiner.

Lagstiftningen

I Sverige är det på GMO-området inte mindre än sju olika tillsynsmyndigheter, som utfärdar föreskrifter, handlägger ärenden och utför inspektioner. Dessa är Arbetsmiljöverket, Fiskeriverket, Jordbruksverket, Kemikalieinspektionen, Livsmedelsverket, Läkemiddelverket och Skogsstyrelsen. Dessutom finns två samrådsmyndigheter, Gentekniknämnden och Naturvårdsverket, med ansvar för övergripande frågor inom genteknikområdet.

Inom den europeiska unionen gäller gemensam lagstiftning på området. Det finns flera olika EG-förordningar. De mest aktuella på livsmedel och foderområdet är från 2003 och berör ansvarsområden, spårbarhet och märkning av genetiskt



Sojaböner, majs, bomull och raps är de GMO-grödor som odlas mest i världen. Andra grödor på frammarsch är ris, sockerbeta och potatis.

modifierade organismer (EG 1829/2003, EG 1830/2003). En förordning på läkemedelsområdet (EG 726/2004) reglerar humana och veterinärmedicinska läkemedel och en förordning (EG 1946/2003) rör gränsöverskridande förflyttning av GMO.

Europaparlamentets och rådets direktiv 2001/17/EG behandlar avsiktlig utsättning av genetiskt modifierade organismer i miljön. Miljöeffekterna av sådana utsättningar bör beaktas. I detta övervägande ingår att bedöma eventuella risker som hör samman med arbetsmiljön.

Godkännande krav på GMO

Innan en ny GMO får släppas ut på marknaden ska den säkerhetsbedömas. Det är tillverkarens sak att för myndigheten visa upp tillräcklig dokumentation om att en speciell gen eller ett nytt protein inte kan orsaka skada till exempel genom att vara toxiskt eller allergent. Ett godkännande av GMO för livsmedel- och/eller foderändamål går till på följande sätt. En ansökan lämnas in till behörig myndighet i en medlemsstat, till exempel Livsmedelsverket. Ansökan skickas till EFSA (European Food Safety Authority), som gör

en säkerhetsbedömning och avger ett yttrande till kommissionen inom sex månader. Därefter får allmänheten 30 dagar på sig att lämna synpunkter till kommissionen. Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa (SKLD) fattar beslut i ärendet. Beslutet är tidsbegränsat och gäller under tid 10 år, sedan krävs en ny säkerhetsbedömning.

Riskvärdering av GMO

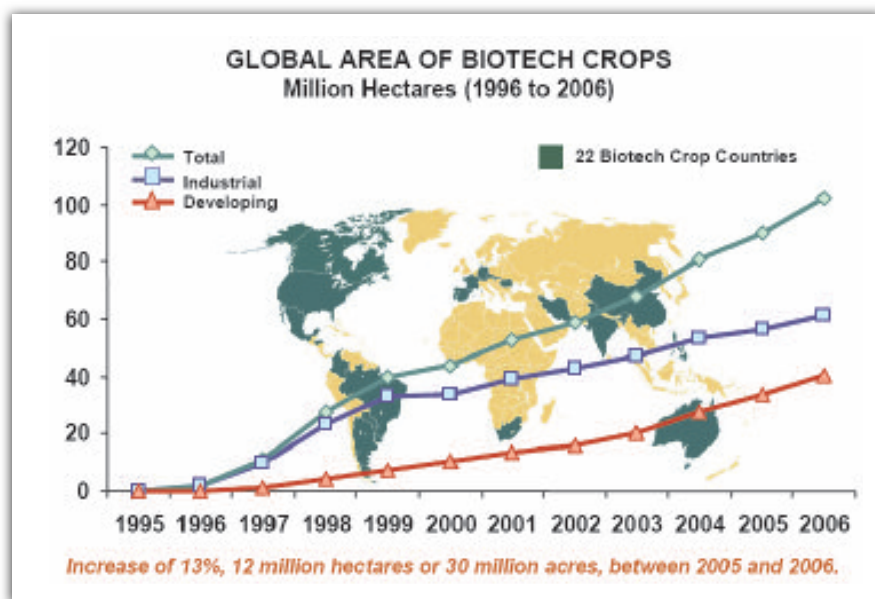
Flera olika moment karakteriserar riskvärderingen. En detaljerad molekylär karakterisering görs på såväl DNA som proteinnivå. Man tittar på agrara egenskaper och kemisk sammansättning hos GMO:n. En bedömning görs av toxiciteten hos nya proteiner som uttrycks tack vare vid genmodifieringen, eventuell toxicitet hos GMO:n, eventuell förändrad allergenitet hos GMO:n och eventuella risker vid utsättande av den genmodifierade växten i miljön. Anmärkningsvärt är att konventionellt producerade grödor inte kräver någon riskbedömning medan lagen ställer stora krav på riskbedömning av GMO-grödor. Fram till och med idag har ett 25-tal grödor utvärderats inom EU (1).

Transgena grödor

De egenskaper som man framförallt har satsat på när det gäller transgena grödor, eller som det numera oftare kallas, bioteknikgrödor, har varit resistens mot virus-, svamp- och insektsangrepp samt tolerans mot ogräsbekämpningsmedel. Även kvalitetsegenskaper som förlängd hållbarhet, liksom ett ökat nutritionsvärde är möjligt att åstadkomma hos bioteknikgrödor. Försök har också gjorts att nedreglera gener för att på så sätt ta bort proteiner som är toxiska för personer med celiaki eller proteiner som är kända allergener.

Insektsresistens

Flera olika metoder har utvecklats för att göra kommersiellt intressanta växter resistenta mot glupska insekter. Den vanligaste metoden bygger på att man i växten introducerar en gen som svarar för produktion av ett kristallint protein (Bt-toxin). Genen är hämtad från bakterien *Bacillus thuringiensis* (Bt). Flera olika stammar av *Bacillus thuringiensis* har isolerats och de uppvisar var för sig en specifik toxicitet mot vissa typer av insekter speciellt vissa fjärilsarter (*Lepidoptera*) ▶



FIGUR 1. Total yta i miljoner hektar som odlades med GMO-grödor 1996–2006. KÄLLA: CLIVE JAMES, 2006.

och flygfän inom ordningarna tvåvingar (*Diptera*) och skalbaggar (*Coleoptera*).

När insektslarverna äter av GMO-växter som producerar Bt-toxin når bakterietoxinet insektslarvernas mag-tarmkanal. Där binder proteinet till epitelcellernas membran. Bindningen leder till att transporten av natrium och kalium över membranen förstörs, cellerna brister och larven dör. Ingen bindning av proteinet till högre djurs cellmembran har påvisats och därmed bedöms inte heller proteinet vara toxiskt i högre växter.

Tolerans

Hos flera olika växter förekommer naturlig tolerans mot ogräsbekämpningsmedel. Studier har vistat att sådan tolerans oftast styrs av ett enda arvsanlag. Med genteknik kan sådan tolerans åstadkommas på flera olika sätt. Sojabönor har till exempel gjorts toleranta mot bekämpningsmedlet Roundup (glyphosat) genom att man har förändrat uttrycket från ett arvsanlag som deltar i syntesen av aromatiska aminosyror. Tolerans mot ogräsbekämpningsmedel kallas också för herbicidtolerans.

GMO-grödor

Globalt är herbicidtolerans det dominerande anlaget i bioteknikgrödor, följt av insektsresistens (2). På senare tid har så kallade staplade gener börjat användas (stacked genes), där flera anlag finns i samma gröda. År 2006 utgjorde sådana grödor 13% av de totala GMO-grödorna. De grödor som är allra störst inom GMO-området är sojabönor, majs, raps och

bomull. Andra grödor på framväxt är ris, sockerbeta och potatis, speciellt framtagen för stärkelseindustrin (fig 1).

År 2006 var det 22 länder som odlade transgena grödor, däribland några EU-länder. De dominerande länderna var USA, där över hälften av världproduktionen sker, följt av Argentina, Brasilien, Kanada och Kina. De transgena grödor som odlas varierar i olika länder. I USA odlas sojabönor, majs, bomull, raps, squash och papaya, i Argentina är det sojabönor, majs och bomull och i Brasilien sojabönor. I andra länder som Indien, Kina och Australien dominerar bomullen. I Europa odlas majs, utom i Rumänien som också odlar sojabönor.

Eftersom Rumänien hade en nationell lagstiftning som godkände odling av GMO innan de inträdde i EU vid årsskiftet, riskerar vissa av de grödor som varit godkända i Rumänien, men ännu inte är det i EU, att över en natt bli olagliga.

Produktionen av transgena grödor i i-länder visar ingen ökning utan en tendens att plana ut medan den i u-länder visar en uppåtgående trend.

Synen på bioteknik i Europa

Tio år efter att herbicidtoleranta sojabönor kommersialiserades gjordes en enkät bland EU:s medborgare, en så kallad EU-Barometer. 25 000 individer tillfrågades om synpunkter på bioteknik och genteknik. Bara 27% anser att genmodifierad mat bör uppmuntras. En majoritet av de svarande anser att genmodifierad mat är moraliskt oacceptabelt, riskabelt

och utan nytta. Européer anklagas ibland för att vara teknikfientliga i allmänhet och bioteknikrädda i synnerhet men det stämmer inte med undersökningen. De svarande har generellt en optimistisk syn på teknikens möjligheter och är positiva till annan bioteknik än just på livsmedelsområdet. Bland annat är man positiv till farmakogenetik där man kan skraddarsy läkemedel och genterapi av medicinska skäl. De ser risker också med denna användning, men menar att nyttan är så stor att den överväger farorna. Amerikaner ser färre risker och mer nytta med genmodifierad mat än vad européer och kanadensare gör. Av EU:s 25 länder hamnar svenskarna bland de 10 länder inom unionen som har lägst förtroende för utveckling av genmodifierade livsmedel.

Genmodifierade tomater

Det började för många år sedan, närmare bestämt 1989, med en tomat som hade gjorts nästan oändligt hållbar, Flavr Savr™ tomaten. Vanligen mjuknar tomater under mognaden. Det beror på ett enzym, polygalakturonas, som sakta bryter ned pektin bland annat i cellväggarna. Tomaten blir mjuk och vattning. Den genmodifierade tomaten hade tillförts en DNA-konstruktion som innehöll en bak- och framvänd gen för polygalakturonas, vilket ledde till en hämning av genuttrycket och bildning av endast ytterst små mängder av enzymet. Detta i sin tur ledde till en mycket långsam nedbrytning av cellskelett och således en längre hållbarhet hos tomaten. I tomaten hade man också infört en markörgen, vilket resulterade i ett nytt protein som gav kanamycinresistens hos tomaten.

Tomaten hade tagits fram i USA och tillverkaren kontaktade myndigheterna där för att få veta vilka krav som ställs på produkter av detta slag. Det tog fyra år av utredningar innan man 1994 kom fram till bedömningen att tomaten kunde betraktas som ofarlig. Säkerhetsbedömningen hade omfattat flera olika delar, både med avseende på det nya DNA:t och det nya proteinet. Proteinets hade värderats med avseende på eventuell toxicitet liksom eventuell allergenicitet. Dessutom hade en biologisk/biokemisk funktion gentemot vissa antibiotikaläkemedel värderats. Det är sannolikt den mest omsorgsfullt utvärderade färsk grönsak som utvecklats i USA, där tre olika myndigheter reglerar säkerheten: Food and Drug Administration (FDA),

United States Department of Agriculture (USDA) och Environmental Protection Agency (EPA).

Transgen sojaböna

För drygt 10 år sedan ville en forskargrupp förbättra den näringsmässiga sammansättningen av sojabönor. Innehållet av aminosyran metionin är lågt, vilket gäller många andra baljväxter också. Det innebär att sojabönor till foder och barnmat måste kompletteras med avseende på denna svavelhaltiga aminosyra. Väl känt var att vissa fröer och nötter, bland annat paranöt, innehöll hög halt av aminosyran metionin. Man beslöt att modifiera sojabönan på så sätt att paranöts lagringsprotein, ett 2S albumin, uttrycktes i en transgen sojaböna. Som ett led i kontrollen av den transgena sojabönan testade man soja-bönan mot nio serum från paranötsallergiker. Hos åtta av dessa bands IgE till den transgena sojabönan. Tre allergiker hudtestades också med sojabönan – samtliga fick en positiv reaktion (3). Den genmodifierade sojabönan kom aldrig i produktion men på köpet hade man identifierat ett dominerande allergen i paranöten.

Transgen ärt

I Australien utvecklade ett universitetsteam en genetiskt modifierad ärt under en 10-års period. Ärtan innehöll ett protein, alfa-amylasinhibitor, som skulle skydda mot angrepp av en skalbagge. Proteinet förekommer naturligt hos bönor (*Phaseolus vulgaris*). Det visade sig vid studier på möss att immunsystemet aktiverades och mössen producerade antikroppar (IgG1) mot proteinet. Inga IgE antikroppar bildades. När proteinet injicerades på dessa möss fick de en svullnad på injektions-stället. Då de exponerades för proteinet via inhalation fick de allergiliknande astmasymtom. Dessutom visade forskarna att om mössen utfodrades med ett vanligt livsmedelsallergen (äggviteprotein) samtidigt med det genmodifierade proteinet fick de också reaktioner mot äggviteprotein (4). Hela projektet lades omedelbart ned. Karaktärisering av proteinet visade att den transgena expressionen av proteinet i ärtor ledde till syntes av en modifierad form med förändrade antigena egenskaper.

FAO/WHO riktlinjer

Den transgena sojabönan som uttryckte ett paranötsallergen ledde till att man

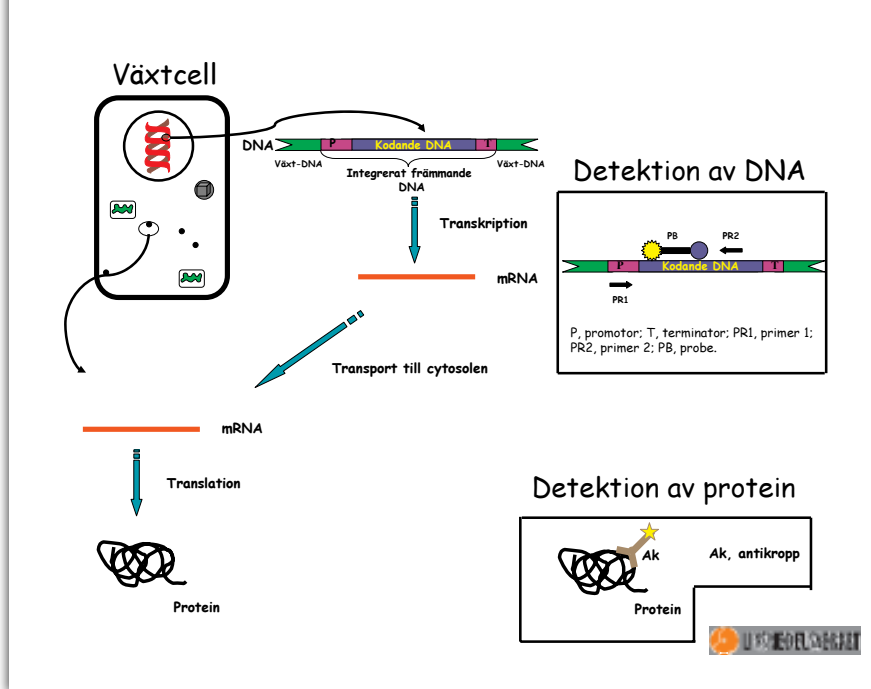
beslöt att upprätta riktlinjer för bedömning av allergenitet hos transgena grödor. Ett beslutsträd bestående av definierade, på varandra följande, steg var det första förslaget 1996 (5). Food and Agricultural Organization /World Health Organization sammankallade 2001 experter från hela världen för en diskussion om GMO och allergirisker, vilket utmynnade i riktlinjer efter vilka bedömning av nya proteiner skulle kunna ske (6). Detta arbete har sedan legat till grund för den standard från 2003 inom FAO/WHOs organ för livsmedelsfrågor, Codex alimentarius, som för närvarande gäller (7) och de riktlinjer som EFSA använder vid sin säkerhetsbedömning (8).

För närvarande genomför en arbetsgrupp under EFSA:s GMO-panel en ingående granskning av om den föreslagna metodiken kan förfinas ytterligare.

Bedömning av proteinet

I Codex standard säger man att alla nya proteiner ska bedömas utifrån möjligheten att de kan orsaka allergiska reaktioner. Trots att det inte finns några säkra metoder att avgöra detta bör man ändå gå fram längs vissa dragna riktlinjer. Första steget är att redovisa källan till det nya proteinet och om den är allergen. Huvudprincipen ska vara att gener från vanligt förekommande allergena livsmedel eller från livsmedel som är kända för att orsaka celiaki ska undvikas, såvida det inte är dokumenterat att den överförda genen inte kodar för ett allergen eller ett protein, involverat vid celiaki. I nästa steg ska aminosyresekvensen hos det nya proteinet jämföras med den hos kända allergen. Man inser att detta inte ger hela sanningen men att det för närvarande är den bästa metoden.

Forskarna har resonerat kring hur många aminosyror som ska jämföras, men anser att det bör sättas i relation till andelen sanna eller falska resultat. Om ett litet antal aminosyror på till exempel sex jämförs kommer i stort sett alla proteiner att klassificeras som allergener. Man får ett stort antal falskt positiva resultat. Om man ökar antalet aminosyror till sju eller åtta får man färre som klassificeras som positiva utan att därför riskera att inte hitta de proteiner som faktiskt kan utgöra en risk. Dessutom ska en sekvens på 80 aminosyror från det nya proteinet jämföras med proteinsekvenser från kända allergener som finns i databanker. Om 35 % homologi förelig-



FIGUR 2. För att analysera GMO finns det två möjliga vägar, antingen analyserar man det nya proteinet som uttrycks eller så analyserar man förändringar på DNA-nivå. KÄLLA: LIVSMEDELSVERKET.

ger mellan sådana sekvenser är sannolikheten hög för att proteinet är allergent. Proteinets stabilitet mot värme och sur miljö kan också vara avgörande för dess allergenicitet. Därför bör stabiliteten studeras, bland annat i simulerad magsaft, inte bara innehållande pepsin utan även andra enzymer.

Andra möjliga metoder

Serum från allergiska patienter med relevanta IgE antikroppar kan användas för analyser i immunoassayer (9). Om proteinet är ett dominerande allergen krävs minst åtta serum. Om det är ett mindre dominerande allergen bör 24 sera kontrolleras. I FAO/WHO:s riktlinjer påpekas svårigheten att få tillgång till så många allergikersera. Helst ska serumerna också spegla olika individer i olika världsdelar. Därför hoppas man att internationella serumbanker i framtiden ska kunna ge ett bättre underlag för bedömning. Under vissa förhållanden kan human hudtester också bli aktuellt (10). Bedömningen görs också att djurmodeller (11), liksom cell- och vävnadskulturer, kan användas för att säkerställa att proteiner som uttrycks vid genmodifieringen inte utgör en risk.

Bioinformatik

Ämnet kan brett definieras som användning av datorer för att insamla, karaktärisera och analysera biologiska data. Bioinformatik omfattar både konstruktion av databaser och utnyttjande av de data de innehåller (12). Utveckling av allergenspecifika databaser och förbättrade analysmetoder baserade på datorers förmåga

till lärande kan användas vid säkerhetsbedömning av allergirisker hos sådana proteiner som uttrycks i genmodifierade livsmedel. Vid toxikologiska enheten vid Livsmedelsverket har en sådan strategi prövats (13) och ett internetbaserat verktyg finns nu att bli tillgängligt.

Tillsyn av GMO

Livsmedelsverket är ansvarig myndighet för tillsyn av livsmedel som antingen innehåller, består av eller är framställda från GMO. Ett av de redskap som myndigheten förfogar över är inspektioner av sådana livsmedelsanläggningar där Livsmedelsverket har tillsynsansvaret. Livsmedelsverket ger också stöd och råd till kommunernas livsmedelsinspektörer, som ansvarar för den lokala tillsynen. På Livsmedelsverket finns ett laboratorium för metodutveckling och analys av GMO. För närvarande finns ett 30-tal olika metoder för soja, majs, ris, raps, bomull och potatis uppsatta. Livsmedelsverket är nationellt referenslaboratorium för analys av GMO och har ett nära samarbete med EU:s centrala referenslaboratorium för GMO i Ispra, Italien.

Analys av GMO

Vid analys av GMO finns det två möjliga vägar – antingen analyserar man det nya proteinet som uttrycks eller så analyserar man förändringar på DNA-nivå (fig 3). Proteinanalys görs med antikroppar i immunoassayer, till exempel i dipstick-format (lateral flow). Metoden lämpar sig bra på fröer och icke processade livsmedel, men fungerar sämre i sammansatta och upphettade livsmedel till exempel ett bröd. Därför används uteslutande

DNA-metoder vid analys av livsmedel.

Vanligen görs först en screening för att utröna om livsmedlet innehåller någon GMO. Vid genmodifiering används ofta samma promotor och samma terminator oberoende av vilken kodande sekvens som introducerats i grödan. Därför kan man i ett första steg leta efter dessa gemensamma element. Om detta steg blir positivt sker en mer specifik identifiering av ett övergångselement. För kvantifiering av en GMO krävs dels ett referensmaterial, dels att man har en referensgen att mäta mot. Som referensgen för soja används vanligen lektingenen och som referensgen för majs antingen genen för zein eller för invertas. Kvantifiering av GMO sker med realtidsPCR och hela PCR reaktionen sker vanligen i mikrotiterbrunnar, utan att någon överföring av PCR produkt görs efter att reagens tillsatts. Detta är en bra förutsättning för att hindra kontamination. Från amplifieringskurvan sker en avläsning i exponentiella fasen och detta plottas mot en standardkurva, varpå resultatet fås i % GMO.

Resultat av GMO-analyser

De första analyserna av GM soja gjordes 1998. Då analyserades drygt 40 livsmedel varav 11 var positiva för herbicidtolerant soja. Positiva prover var köttbullar, sojakorv, tofu, muffinsmix, sojaglass och baconchips. Köttbullarna som innehöll soja som en ingrediens var svenska, de andra produkterna var från USA, Japan och Tyskland.

Enligt nuvarande lagstiftning ska alla produkter som innehåller, består av eller är framställda av GMO, märkas med detta. Detta innebär en skärpning mot tidigare lagstiftning då enbart de som innehöll eller bestod av GMO skulle märkas. Sojaolja framställd från genmodifierade sojaböner kan tas som ett exempel på skärpningen. Trots att det inte är möjligt att med analys avgöra om sojaoljan är gjord från GM sojaböner, eftersom varken DNA eller protein i regel återfinns, måste detta ändå framgå av märkningen. Kontroll får då ske av till exempel handlingar och dokument eftersom lagen kräver att GMO ska vara spårbart i hela tillverkningskedjan. Ett tröskelvärde har satts för oavsiktlig eller tekniskt oundviklig inblandning av GMO på 0,9%. Om halten GMO överstiger detta värde måste produkten genetikmärkas. Livsmedelsverket gör kontroller

av GMO varje år. Resultat av undersökningarna kan läsas på vår hemsida www.slv.se. 2006 års undersökning har just avslutats.

Risker för GMO i handeln

Sex års analyser kan sammanfattas på följande sätt: svenska producenter är medvetna om problematiken kring GMO och de ställer krav på dokumentation av råvaror. Därför påvisas inte GMO vid analys av råvaror eller produkter från svenska tillverkare. När det gäller livsmedel som tillverkats inom EU så är kontrollen av råvaror relativt bra men i enstaka produkter, till exempel vissa vegetariska produkter, har GMO halter över 0,9% påvisats. Sådana produkter ska vara genteknikmärkta. För produkter som importerats från tredje land, det vill säga länder utanför EU är det vanligare att de innehåller GMO utan att det framgår av märkningen. I enstaka produkter har GMO-halten legat på 40–80%. Produkterna har varit importerade från USA och från Asien.

Det förekommer nästan inga produkter på den svenska marknaden som är märkta med att de innehåller GMO. Ett undantag är ölet «Kent» som produceras av Ystads bryggeri. Däremot används uttrycket «GMO fri» på produkter. Sådan märkning är inte tillåten.

Riskbedömning i framtiden

Metodiken för att identifiera nya allergener hos GMO kommer att förbättras ytterligare. En arbetsgrupp inom EFSA utreder flera olika frågeställningar, vilka omfattar kliniska aspekter, djurmodeller, cellbaserade metoder, provrörsmetoder, moderna molekylära metoder, så kallad profilering och om bioinformatik kan utvecklas till att även omfatta strukturella aspekter.

Referenser

1. http://www.europa.eu.int/comm/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
2. James C. 2006. Executive summary of global status of commercialized biotech/GM crops:2006. ISAAA Briefs No 35. ISAAA: Ithaca, NY. <http://www.isaaa.org>
3. Nordlee JA, Taylor AL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *N Engl J Med* 1996;334:688-692.
4. Prescott VE, Campbell PM, Moore A, Mattes J et al. Transgenic expression of bean alpha-amylas inhibitor in peas results in altered structure and immunogenicity. *J Agric Food Chem* 2005;53:9023–9030.
5. Metcalfe DD. Genetically modified crops and allergenicity. *Nature Immunol* 2005; 6:857–860.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nation/World Health Organization (2001). 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. FAO, Rome. <http://www.fao.org/ag/agn/food/pdf/allergygm.pdf>

7. Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology (2003). Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10021/CXG_045e.pdf
8. EFSA (2005). Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organism for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_guidance/660_en.html
9. Goodman RE, Leach JA. Assessing the allergenicity of protein introduced into genetically modified crops using specific human IgE assays. *J AOAC Int* 2004;87:1423–1432.
10. Batista R, Nunes B, Carmo M, Cardoso C et al. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:403–410.
11. Westphal CD, Raybourne RB. Potential allergenicity of novel proteins in murine models. *J AOAC Int* 2004;87:1433–1440.
12. Gendel SM. Bioinformatics and food allergens. *J AOAC Int* 2004;87:1417–1422.
13. Soeria-Atmadja D, Lundell T, Gustafsson MG, Hammerling U. Computational detection of allergenic proteins attains a new level of accuracy with in silico variable-length peptide extraction and machine learning. *Nucl Acids Res* 2006;34(13):3779–3793. ●