

유전자재조합 식품의 알레르기성 평가

식품의약품안전청 바이오식품팀

박선희 · 구용의 · 오재명

서 론

대표적인 생명공학기술인 유전자재조합기술로 개발된 유전자재조합(Genetically Modified) 농산물은 1996년부터 북미와 남미 6개국에서 상업적으로 재배되기 시작하여, 2007년에는 23개국에서 재배되고 있다. 다양한 가공식품에 이용되는 식물성 단백질과 식용유의 주요 원료인 콩의 경우 이미 전세계 콩 생산면적의 64%가 유전자재조합 콩으로 재배되고 있다. 아르헨티나에서는 2000년부터 생산되는 콩의 거의 100%가 유전자재조합 콩이며, 미국에서도 2007년에 생산된 콩의 91%가 유전자재조합 콩이라고 보고되고 있다.¹⁾ 비록 1980년대부터 유전자재조합기술로 개발된 미생물을 이용하여 의약품이나 식품첨가물 등이 생산되고 있었으나, 이들은 유전자재조합체 그 자체를 섭취하는 것은 아니다. 그러나 유전자재조합체 그 자체인 유전자재조합 농산물을 식품으로 이용하는 경우 기존의 식품 안전성평가체계에서 관리가 가능한지에 대한 의문점이 개발 초기부터 제기되었다.

일반적으로 식품의 안전성평가 대상은 잔류농약, 오염된 중금속이나 미생물 등의 위해물질들이었다. 식품 그 자체는 과학적으로 안전성 평가를 하여 섭취해 온 것이 아니고, 오랜 섭취 경험을 통해 형성된 ‘안전하다’는 인식을 바탕으로 별도의 평가 없이 섭취하여 왔다. 그런데 유전자재조합기술을 응용하여 품종 개량된 농산물에서 유래하는 식품은 섭취해 본 경험이 없었다. 따라서 이들 제품에 대한 안전성을 어떻게 보증할 것인가가 새로운 과제로 된 것이다. 이에 이들 유전자재조합기술로 개발된 농산물에서 유래하는 식품, 이른바 유전자재조합 식품은 개발단계에서부터 환경 및 인체 안전성에 대해 과학자, 위생행정당국, 경제개발협력기구(OECD), 세계보건기구(WHO), 국제연합식량농업기구(FAO), 그린피스 등 환경단체 등과 같은 다양한 이해관계집단에서 각각 또는 함께 논의되어 왔다.

1993년 경제개발협력기구는 “현대생명공학에서 유래하는 식품의 안전성 평가-개념과 원리”라는 보고서를 발표하였으며, 이 보고서에서 실질적 동등성(Substantial Equivalence) 개념을 정립하였다.²⁾ 이 개념은 유전자재조합 식품의 안전성 평가기준을 오래전부터 식품으로 먹어서 경험적으로 안전하다고 인식되고 있는 비교가 가능한 기존의 식품으로 한다는 것이다. 즉 기존의 식품과 비교하여 유전자재조합기술에 의한 영향으로 판단되는 차이점을 도출하고, 그 차이점에 대해 독성학적 평가 등 안전성 평가를 실시하여 안전성에 문제가 없다고 하면 그 유전자재조합 식품의 안전성은 기존 식품의 안전성과 같다고 평가하는 방법이다.

이 개념은 국제연합식량농업기구/세계보건기구(FAO/WHO)에서도 지지되었으며, 2003년 국제연합식량농업기구와 세계보건기구 공동 산하의 국제식품규격위원회(CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION)는 이 개념을 바탕으로 “현대 생명공학응용식품의 위해도 분석에 관한 원칙”과 “유전자재조합식물유래 식품의 안전성 평가의 실시에 관한 지침”을 합의하여 마련하였다. 이에 앞서 미국(1992년), 일본(1996년), 유럽연합(1997년), 한국(1999년) 등도 식품위생행정에 유전자재조합 식품의 안전성 평가 심사를 하는 제도를 도입할 때 이 개념에 근거하여 평가지침을 마련하였다.

유전자재조합 식품의 안전성을 고려할 때 유전자재조합 식품과 기존 식품과의 기본적인 차이는 재조합 유전자의 삽입에 의해 만들어지는 단백질(의도된 변화)과 새로운 유전자가 삽입됨으로써 게놈상의 발현 유전자의 변화에 의해 나타나는 단백질(의도하지 않은 변화 또는 예상하지 못한 변화) 및 이를 효소로 하여 만들어지는 2차 대사산물을 들 수 있다. 이들 의도되거나 의도되지 않은 변화에서 유래하는 1차 산물인 단백질의 안전성이 우려될 수 있다. 지금까지 단백질의 안전성은 급성독성과 알레르기성이 알려져 있으며, 이 중 알레르기성이 가장 주목받고 있다. 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가는 ‘기존의 식품 알레르겐이 새로운 식품에 전달되었거나 숨겨지지 않았다는 확신’, ‘도입된 단백질이 새롭게 식품 알레르겐으로 될 가능성 없다는 확신’을 얻는 것을 목표로 하고 있다.³⁾

책임저자 : 박선희, 서울시 은평구 녹번동 5
식품의약품안전청 바이오식품팀, 우: 122-704
Tel: 02) 380-1331, Fax: 02) 358-2157
E-mail: shp1023@kfda.go.kr

이에 본고에서는 유전자재조합 식품의 안전성 평가 방법 중 알레르기성에 대한 평가방법에 대한 국제적인 논의 동향을 살펴보고, 국제적으로 합의된 국제식품규격위원회의 알레르기성 평가방법을 고찰하며, 실제 국내에서 승인된 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가 결과를 정리하여 소개하고자 한다.

국제기구 및 단체의 유전자재조합 식품 알레르기성 평가방법 논의 경위

1. 국제연합식량농업기구/세계보건기구(FAO/WHO) 전문가회의

국제연합식량농업기구와 세계보건기구는 특정 의제를 주제로 관련분야의 전문가에 의한 합동전문가회의를 개최하여 과학적 지견에 대한 보고서를 발표하고 있다. 1990년 회의에서는 유전자재조합 식품의 안전성과 영양성에 대한 합동전문가회의를 개최하여 생명공학은 종래의 교배육종기술과 유전자재조합기술 등 현대 기술이 융합한 것으로 간주하고, 유전자재조합 식품이 종래의 식품과 비교해서 안전성 면에서 본질적으로 떨어지는 것이 아니라고 결론지었다.⁴⁾

2000년에는 유전자재조합 식품에 대한 전문가회의가 개최되어, 유전자재조합 식품 중에 새롭게 발현하는 단백질의 알레르기성 평가를 위한 의사결정 분지도(decision tree)가 채택되었다.⁵⁾ 2001년에는 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가를 위한 전문가회의가 개최되어 2000년에 채택된 의사결정 분지도를 재검토하여 수정하고, 알레르기 유발물질에 대한 데이터베이스, 동물 실험, 및 그 밖의 관련 사항 등의 의사결정 분지도의 각 기준의 실제 이용가능성을 고려하여 표준화된 검토 절차 등을 제안하였다.⁶⁾

2. 국제식품규격위원회(CODEX 위원회)

국제식품규격위원회는 식품의 국제 규격을 설정하여 소비자의 건강을 보호함과 동시에 식품무역의 공정성을 확보하기 위해 1962년 국제연합식량농업기구와 세계보건기구가 합동으로 설립한 국제기구이다. 국제식품규격위원회가 마련한 식품 규격은 세계무역기구(WTO)의 다각적 무역협정의 근거가 되어 국제적인 제도의 조화에 이용되고 있다. 국제식품규격위원회의 현재 회원국은 174개국과 1개 기관(유럽연합)이며, 우리나라는 1971년에 가맹했다.

1999년 제23회 총회에서 유전자재조합 식품의 안전성 관리를 위해 과학적인 지견과 위해도 분석에 근거하여 필요한 기준, 지침 또는 권고를 책정하기 위해 ‘생명공학응용식품 특별작업반(Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex

Ad Hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology)’을 구성하고 2000년부터 2003년의 4년에 걸친 회의들을 통해 “생명공학 응용 식품의 위해도 분석을 위한 원칙”, “유전자재조합 식물유래 식품의 안전성 평가의 실시에 관한 지침”, “유전자재조합 미생물 이용 식품의 안전성 평가의 실시에 관한 지침”을 작성하였다.

이 지침을 마련하는 과정에서 알레르기성 평가와 관련하여 별도의 특별작업반이 구성되어 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의에서 도출한 알레르기성 평가를 위한 의사결정 분지도를 토대로 알레르기성 평가에 대한 방법이 마련되었다. 이 특별작업반 회의에서는 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의의 보고서가 비록 과학 이론적으로는 매우 중요하나, 실제 평가과정에서 의사결정 분지도의 ‘예’ 또는 ‘아니오’를 분명히 할 수 없는 경우도 발생한다는 점이 지적되어 최종적으로는 의사결정분지도의 방식을 채택하지 않고 축적된 증거에 입각한 방식(weight of evidence)이라고 불리는 방법을 채택하고 증거 자료는 검증된 실험법에 의해 확보되어야 함을 강조하였다.⁷⁾

3. 국제식품생명공학위원회(International Food Biotechnology Council) 및 국제생명과학위원회(International Life Science Institute)

국제식품생명공학위원회는 학계와 산업계의 다양한 전문분야의 과학자들로 구성된 조직으로, 1990년 유전자재조합 식품의 안전성 평가방법에 대한 규제방안에 대해 제안하였다.⁸⁾ 이어 1996년 국제식품생명공학위원회는 국제생명과학 위원회와 공동으로 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가에 대한 포괄적인 보고서를 발표하였다.⁹⁾

국제식품규격위원회의 유전자재조합 식품 알레르기성 평가방법

아래의 내용은 2003년 국제식품규격위원회에서 채택한 “유전자재조합식물 유래 식품의 안전성 평가 가이드라인”의 첨부 문서인 “알레르기성 평가”의 내용을 정리한 것이다.¹⁰⁾

1. 서론

유전자재조합 식품에서 새로 발현한 단백질로서 최종 식품에 포함될 가능성이 있는 것은 모두 알레르기성에 대해 평가되어야 한다. 현재로서는 새롭게 발현한 단백질에 의한 알레르기 반응을 예측할 수 있는 결정적인 시험은 없기 때문에 종합적이고 단계적인 개별의 수법을 이용하여 새롭게 발현한 단백질의 알레르기성을 평가하도록 권고하고 있다. 단일 판단기준으로는 충분한 예측을 할 수 없기 때문에 이 방법에

서는 여러 종류의 정보·데이터에 유래하는 근거를 고려한다.

2. 평가방법

새롭게 발현한 단백질의 알레르기성 평가에서의 제1 단계는 도입 단백질의 기원, 해당 단백질과 기존 알레르겐의 아미노산 서열에서의 유의적인 유사성, 구조적 특성을 조사하는 것이다. 여기에는 효소 분해에 대한 감수성, 열 안정성, 산·효소 처리 등이 포함되나 이에 한정되지 않는다.

단일의 시험만으로는 경구 노출에 대한 사람 IgE 반응의 가능성을 예측할 수 없기 때문에, 새롭게 발현한 단백질의 특징을 분명히 하기 위한 제1 단계는 새롭게 발현한 단백질과 이미 확립되어 있는 알레르겐에서의 아미노산 서열 및 특정한 물리화학적 성질에 대하여 근거를 중시해 비교하는 것이다. 이를 위해서는 새롭게 발현한 단백질을 유전자재조합 식물로부터 분리하거나 다른 공급원으로부터 그 물질을 합성·제조할 필요가 있다. 이때 대상 물질이 유전자재조합 식물에서 생성되는 것과 구조적·기능적·생화학적으로 동등하다는 것을 보여줘야 한다. 숙주가 다르므로써 일어날 수 있는 번역 후 변형이 발생하여(즉, 진핵계와 원핵계) 단백질의 알레르기성에 영향을 줄 가능성이 있기 때문에 발현 숙주의 선택에는 특별히 주의를 기울여야 한다.

단백질의 기원에 관해서는 알레르기 반응을 유발하는 것이 알려져 있는지 여부를 밝히는 것이 중요하다. 기존의 알레르기 유발 물질에서 유래하는 유전자는 그렇지 않다는 것이 과학적으로 입증되지 않는 한 알레르겐을 코드화한다고 가정해야 한다.

3. 최초의 평가

1) 단백질의 기원(source): 유전자재조합 식물유래 식품의 안전성을 증명하는 데이터의 일부로서 공여체에 관한 알레르기 성에 관한 정보를 보여야 한다. 알레르기를 유발한다는 기원은 IgE 매개성 경구 또는 호흡성·접촉성 알레르기의 합리적 근거를 얻을 수 있는 공여체로서 정의될 것이다. 도입 단백질의 기원에 대한 정보를 얻을 수 있으면, 알레르기성 평가에서 고려해야 할 수단이나 관련 데이터가 명확해진다. 이에겐 스크리닝을 목적으로 하는 혈청의 이용 가능성, 알레르기 반응의 종류·정도·빈도, 구조적 특징 및 아미노산 서열, 그 기원에 유래하는 기존의 알레르기 유발성 단백질의 물리화학적·면역학적 성질이 포함된다.

2) 아미노산 서열 상동성: 서열 상동성 비교의 목적은 새롭게 발현한 단백질의 구조가 기존의 알레르겐과 어느 정도 유사한지를 평가하는 것이다. 이 정보는 단백질이 알레르기성을 가지는지 여부를 시사하게 될 것이다. 서열 상동성의 조사는 새롭게 발현한 모든 단백질의 구조를 모든 기존의 알

레르겐과 비교해 실시할 필요가 있다. FASTA 또는 BLASTP 등 여러 가지 알고리즘을 이용한 검사를 실시하여 포괄적인 구조적 유사성을 예측하여야 한다. 선형 항원결정기(epitope)를 나타낼 가능성이 있는 서열을 분명히 하기 위해서, 단계적인 연속하는 동일한 아미노산 부분의 검사 등의 방법을 실시하는 경우도 있다. 연속 아미노산 검사의 규모는 위음성 또는 위양성 결과가 생길 가능성을 최소한으로 하기 위해서는 과학적 정당성에 근거해야 한다. 생물학적으로 의미가 있는 결과를 얻기 위하여 검증이 끝난 조사·평가 수법을 이용해야 한다.

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

서열 상동성 연구에는 한계가 있다. 특히 비교는 일반적으로 이용할 수 있는 데이터베이스와 과학 문헌에 열거된 기존의 알레르겐의 서열로 한정된다. IgE 항체와 특이적으로 결합 가능한 비연속 항원결정기의 검출에 대해서도 그 비교 능력에 한계가 있다.

서열 상동성 비교에서의 음성의 결과는 새롭게 발현한 단백질이 기존의 알레르겐이 아니며 기존의 알레르겐에 대한 교차 반응성이 낮다는 것을 나타낸다. 유의적인 서열 상동성이 없다는 것을 나타내는 결과를 얻은 경우는 새롭게 발현한 단백질의 알레르기성 평가에 대해 그 밖의 데이터와 함께 고려해야 한다. 필요에 따라 더 연구를 실시해야 한다. 서열 상동성 비교에서 양성의 결과는 새롭게 발현한 단백질은 알레르기성일 가능성이 높다는 것을 나타낸다. 이 제품을 한층 더 검토할 필요가 있는 경우는 동정된 알레르기성 기원에 대해서 감작된 개인의 혈청을 이용해 평가 한다.

3) 펩신 내성: 몇 가지 식품 알레르겐은 펩신 소화에 대한 내성이 인정되고 있으며 펩신 내성과 알레르기 유발성에는 상관관계가 있다. 따라서 적절한 조건하에서 펩신이 존재하는 경우에 분해에 대한 단백질의 내성이 인정되면 새롭게 발현한 단백질이 알레르기성일 가능성을 조사하기 위해서 분석을 더 실시해야 할 것이다. 그러나 펩신 내성이 없는 경우도 새롭게 발현한 단백질이 알레르겐일 가능성을 배제할 수는 없다는 것을 고려해야 한다.

펩신 내성 프로토콜이 강력하게 추천되지만 다른 효소 감수성 프로토콜도 있으며, 정당성이 있으면 다른 프로토콜을 이용해도 좋다.

4. 특정 혈청 스크리닝

알레르기를 유발하는 것으로 알려진 기원으로부터 유래한 단백질 또는 기존의 알레르겐과의 서열 상동이 있는 단백질에 대해서는 혈청을 이용할 수 있는 경우에는 면역학적 검사에 의한 시험을 실시해야 한다. 해당 단백질의 기원에 대한 알레르기가 임상적으로 검증된 개인의 혈청을 이용하여 *in vitro* 시험으로 단백질의 IgE 항체와의 특이적 결합을 조사할 수가 있다. 이 시험에 있어 중요한 문제는 충분한 수의 사람 혈청을 얻을 수 있는지 여부이다. 더욱이 혈청의 질과 분석 절차를 표준화하여 유효한 시험결과를 낼 필요가 있다. 기원이 알레르기성 여부를 알 수 없고 기존의 알레르겐에 대한 서열 상동을 보이지 않은 단백질에 대해서는 뒤에서 서술하는 표적 혈청 스크리닝을 이용할 수 있는 경우는 이를 고려할 수 있다.

기존의 알레르기성 기원에서 유래하는 새롭게 발현한 단백질의 경우 *in vitro* 면역학적 검사에서 음성 결과만으로는 충분하지 않다고 생각되는 경우가 있어, 피부 테스트나 *ex vivo* 프로토콜 등 추가적인 시험을 해야 한다. 이러한 시험에서의 양성 결과는 알레르겐의 가능성을 나타낸다.

5. 그 밖의 고려 사항

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

과학적 지식과 기술의 진보에 따라 평가방법의 일부분으로서 새롭게 발현한 단백질의 알레르기성 평가에 대해 그 밖의 방법이나 수단도 고려할 수 있다. 이러한 방법은 과학적인 신뢰를 얻을 수 있는 것이어야 한다. 이에 는 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 항원결정기나 알레르겐에 관련되는 구조적 모티프(motif)의 연구 등이 포함된다.

국제식품규격위원회의 유전자재조합 식품 알레르기성 평가방법에 대한 고찰

국제식품규격위원회에서는 단일 판단 기준으로는 알레르기성을 충분히 예측할 수 없기 때문에 2001년 채택한 의사결정 분지도 방식을 포기하고 weight of evidence 방식을 채택하였으며, 이 방법에서는 여러 종류의 정보·데이터에서 유래

하는 근거를 고려한다. 여기에 사용되는 기법에는 도입 단백질의 기원, 알려진 알레르겐과의 유사성 비교, IgE 항원결정기(epitope)를 위한 혈청 스크린, *ex vivo* 세포 시험, 펩신 내성과 같은 물리화학적 성질, 동물모델에서의 알레르기성 평가가 있다.

1. 단백질의 기원

브라질 너트(Brazil nut)의 2S 알부민 유전자가 도입된 콩에서도 알레르기 반응이 일어난다는 사실¹¹⁾이 알려진 이후 새로운 유전자의 도입으로 발현되는 단백질의 알레르기성 평가가 중요하게 대두되었으며, 도입된 단백질의 기원에 대한 평가로 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가가 시작된다.

2001년 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의에서 결정된 의사결정분지도 방식에서는 단백질의 기원에 따라 다음과 같이 추가 실험을 제시하고 있는데 이러한 방식은 2003년 국제식품규격위원회의 weight of evidence 방식에서도 적절한 것으로 판단된다. 발현 단백질이 알레르기를 유발하는 식품에서 유래하는 경우 아미노산 서열 상동성 비교와 혈청을 이용한 발현 단백질의 알레르기성 평가가 필요하다. 알레르겐으로 알려진 것과 서열상동성을 보이면 그 산물은 알레르기성으로 간주하고, 추가적인 시험은 더 이상 하지 않는다. 기존의 알레르겐에 대한 아미노산 서열 상동성이 없다면, 발현 단백질에 대하여 특정 혈청 스크리닝을 행한다. 결과가 양성인 경우 그 식품은 알레르기를 유발할 가능성이 높다고 여겨져 통상적으로 개발이 중지된다. 특정 혈청 스크리닝의 결과가 음성인 경우 표적 혈청 스크리닝, 펩신 내성 검사, 동물 모델에 의한 검사를 이용하여 분석이 진행된다. 발현 단백질이 알레르기성 유무가 불명확한 식품에서 유래하는 경우 아미노산 서열 상동성 비교, 표적 혈청 스크리닝, 펩신 내성 시험, 동물모델 시험을 실시한다.

2. 아미노산 서열 상동성

아미노산 서열 상동성의 비교는 도입 단백질의 알레르기성 가능성을 확인하는 방법이지 그 자체가 독립적인 방법이 아니다. 오히려 혈청 검사가 필요한 단백질을 확인하는 방법이라고 볼 수 있다. 기존의 알레르겐과 아미노산 서열 상동성이 높을수록 도입 단백질의 알레르기 유발 가능성은 높아진다. 국제식품규격위원회에서 제시한 80개 아미노산 창에서의 35% 이상이라는 기준은 보수적이라고 평가되고 있다. Aalberse는 알레르기 교차반응은 전체 단백질 서열의 비교에서 50%의 동일성에서는 거의 없으며, 대개 70% 이상 동일성에서 교차반응을 나타낸다고 발표하였다.¹²⁾

이에 비하여 짧은 펩타이드의 서열 상동성 비교는 논란이 많다. 2001년 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회

의에서도 지적인 것처럼 이용하는 펩티드 서열이 적으면 적을수록 위양성이 될 가능성이 높다. 반대로 이용하는 펩티드 서열이 많으면 많을수록 위음성의 가능성이 높아져, 비교의 유효성이 떨어진다. 2001년 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의에서는 사용하는 인접한 아미노산 개수를 8에서 6으로 줄이도록 권고하였으나, 6개의 아미노산을 사용할 경우 위양성이 높다는 반론이 꽤 많다. 국제생명과학위원회/국제식품생명공학위원회(1996)에서도 서열 상동성을 조사할 때에는 8개의 아미노산을 사용하도록 하고 있다.

이러한 서열 상동성 비교를 위해서는 적절한 알레르기 데이터베이스를 사용하는 것이 중요한데 현재 인터넷상으로 이용할 수 있는 데이터베이스 중에는 AllergenOnline(<http://www.allergenonline.com>)이 충분히 검증된 데이터베이스로서 대표적으로 활용되고 있다.¹³⁾

3. 펩신 내성

Astwood 등¹⁴⁾이 땅콩과 대두의 주요 알레르겐(예 : 콩의 β -conglycinin)은 시금치의 ribulose bis-phosphate carboxylase/xygenase와 같이 알레르겐이 아닌 것보다 인공위액에서 더 안정하다는 사실을 보고한 이후 펩신 소화에 대한 내성이 알레르기성의 주요한 요인으로 인식되어 왔다.

식품 알레르겐들은 식품 중 상당 부분을 차지하며(예 : ovalbumin은 난백 단백질의 54%를 차지), 식품 가공 공정에 저항성이 있으며(예 : 식품 알레르겐들은 요리와 같은 가공 공정과정 후에도 알레르기성을 유지) 위장관 벽에서의 소화에도 안정하다.¹⁵⁾

그러나 Yagami 등¹⁶⁾, Fu 등¹⁷⁾은 소화성과 알레르기성의 상관관계는 절대적이 아니라는 것을 보고하였다. 즉, 저장단백질이나 구조단백질과 같은 특정 단백질 그룹들은 효소와 같은 다른 그룹의 단백질보다 원천적으로 세포환경에서 단백질 분해에 더 안정하다. 그럼에도 불구하고 알레르겐을 적절히 분류하고 소화에 대한 안정성을 알레르겐 분류에 따라 검토한다면 펩신 내성은 식품 알레르겐과 비 알레르겐을 구별하는 중요하고도 근거 있는 파라미터의 하나가 될 수 있을 것이다.¹⁸⁾

특히 도입 단백질의 펩신 내성에 대한 실험시 효소나 단백질의 양, pH, 온도 등 실험의 조건에 따라 다양한 결과가 나타날 수 있으므로 실험방법을 표준화하는 것이 필요하다. 국제생명과학위원회/국제식품생명공학위원회(1996)에서는 pH1.2에서 펩신 내성 실험을 하도록 정하고 있으나 국제식품규격위원회(2003)에서는 Astwood가 사용한 미국 약전(1995)에서 사용하는 방법(pH2.0)을 권고하고 있다.

펩신 내성 실험에는 원래의 유전자재조합 식품에 함유되어 있는 단백질을 사용하기 보다는 대장균 같은 미생물에서

대량으로 발현하여 분리한 것을 사용하기 때문에 두 단백질이 동일하다는 것이 입증되어야 한다.

4. 특정 혈청 스크리닝 방법

단백질이 알레르기성 기원에서 유래하였거나 서열 상동성이 80개 아미노산 창에서 35% 이상일 경우 이 방법은 적절히 잘 실험된다면 좋은 결과를 얻을 수 있다. 그러나 실험 방법의 유효성을 입증하기 위해서는 적당한 양성, 음성 대조군을 사용하여야 하며, 혈청 IgE 결합력에 대한 기준을 명확히 설정할 수 없는 등 실험에 어려움이 있다.¹³⁾

생명공학 응용 식품의 알레르기 유발성에 관한 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의(2001) 보고서에 의하면 주요 알레르겐의 경우 새로운 단백질이 알레르겐이 아님을 99% 확신하기 위해서는 최저 8개의 관련 혈청이 필요하다. 마찬가지로 비주요 알레르겐에 대해 같은 확신을 하기 위해서는 최저 24개의 관련 혈청이 필요하다. 그러나 이 만큼의 환자 혈청을 확보하기가 어렵다는 것이 문제점으로 인식되고 있다.

5. 동물 모델이용 알레르기성 실험

동물모델을 이용한 알레르기성 실험은 섭취 경험이 없는 단백질의 알레르기성 평가에 중요할 수 있다. 이에 따라 Brown Norway 랫드, BALB/c 마우스, 개, 돼지를 이용한 실험법이 개발되었다. 이러한 방법들은 알레르기 반응 기작을 연구하는데에는 유용하나 알레르기성 평가에서는 아직까지 검증되지 못했다는 한계가 있다.^{13,19)} 그러나 동물 모델을 이용한 알레르기성 실험이 알레르기 반응에 대한 기전을 보다 명확히 밝혀내어 알레르기성 평가가 지금보다 정확히 된다면 이 방법은 아주 유용한 수단이 될 것이다.

국내 승인된 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가 결과

1. 국내의 유전자재조합 식품 알레르기성 평가 규정

국내에서 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가는 식품위생법에 따라 식품의약품안전청 고시인 「유전자재조합 식품의안전성평가심사 등에 관한 규정」에 의하여 실시되고 있으며, 평가에 사용하는 자료는 다음과 같다.

- 1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는 가에 관한 자료
- 2) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성(대체산물의 경우 유전자 산물의 생화학적, 구조적, 기능적 동질성에 관한 자료 포함)

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과 상동성에 관한 자료

4) 유전자산물이 1일 단백질취량의 유의한 양을 차지하고 있는지에 관한 자료

5) 1) 내지 4)의 자료에 의해 알레르기성을 판단하기 어려운 경우 다음 자료

(1) 구조 유사성이 확인된 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료

(2) 주요 알레르겐에 대한 환자 IgE 항체와 유전자산물과의 결합력에 관한 자료

국내에서도 국제식품규격위원회의 축적된 증거에 입각한 방식처럼 상기의 1)에서부터 4)의 자료는 모두 평가하고 있으며, 5)의 자료는 필요한 경우에 평가하고 있다.

2. 승인된 유전자재조합 식품의 알레르기성 평가 결과

1) 유전자산물이 알레르겐으로 알려지고 있는 가에 관한 평가: 국내에서 유전자재조합 식품의 안전성 평가 시작된 1999년부터 2008년 2월 현재까지 승인된 유전자재조합 농산물은 7작물 34품목(후대교배종제외)이다. 농산물별로는 옥수수가 14개 품목으로 가장 많으며, 면화(7개 품목), 캐놀라(6개 품목), 감자(4개 품목), 콩(1개 품목), 사탕무(1개 품목), 알팔파(1개 품목) 순이다. Table 1과 같이 승인된 대부분의 유전자재

조합 농산물들은 제초제 내성 혹은 해충저항성 등의 기능을 나타내는 단백질을 발현하고 있으며, 몇몇 품목은 바이러스 내성, 옹성 불임, 선발표지 등과 같은 특성을 나타내는 단백질을 생산하고 있다. 제초제 내성의 기능을 나타내게 하는 대표적인 단백질은 CP4EPSPS, PAT이며, 이 들은 각각 글리포세이트와 글루포시네이트에 대한 내성을 만들게 한다. 해충 저항성을 나타내게 하는 발현단백질의 경우 9 종류가 있는데, 이는 각 지역별로 다르게 발생하는 해충을 방제하고자 개발사들이 이에 적합한 유전자재조합 농산물을 많이 개발하였기 때문이다.

국내에서 승인된 유전자재조합 농산물에 도입된 단백질을 중에는 알레르겐으로 알려진 단백질은 없다. 이는 개발사들이 알레르기 문제를 야기할 수 기존의 알레르겐들은 개발 당시부터 연구대상에서 제외하였기 때문이라고 판단된다.

2) 유전자 산물의 물리화학적 처리에 대한 감수성에 관한 평가: 펩신 소화에 대한 저항성이 몇몇 식품 알레르겐에서 관찰됨에 따라 펩신 소화성에 대한 저항성과 알레르기성 사이에 상호 연관성 있는 것으로 확인되고 있다. 이를 위한 실험으로 통상 *in vitro*상의 인공위액(simulated gastric fluid)에서의 분해실험을 활용한다. Table 2는 인공위액을 이용해 90% 이상 분해되는 시간대별로 도입 단백질별을 나열한 것이다. 보통 1분 이내에 90% 이상 분해되었고, 이에 비해 상대

Table 1. The expressed proteins of genetically modified agricultural products

Trait	Expressed protein	Donor organism	Function
Herbicide tolerance	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (CP4EPSPS)	<i>Agrobacterium</i> sp. strain CP4	Glyphosate tolerance
	Phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT)	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> , <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Glufosinate tolerance
	Modified 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (mEPSPS)	<i>Zea mays</i> L	Glyphosate tolerance
	Glyphosate oxidoreductase (GOX)	<i>Achromobacter</i> sp. (<i>Ochrobactrum anthropi</i>) CP4	Glyphosate tolerance
Insect resistance	Cry1Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	European corn borer resistance
	Cry1F	<i>Bacillus Thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>	European corn borer resistance
	Cry1Ac	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	Lepidopteran caterpillars resistance
	Cry2Ab	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	Lepidopteran caterpillars resistance
	Cry3Bb1	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Kumamotoensis</i>	Corn rootworm resistance
	Cry3A	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i>	Colorado potato beetle resistance
	Cry34Ab1	<i>Bacillus thuringiensis</i> PS149B1	Corn rootworm resistance
	Cry35Ab1	<i>Bacillus thuringiensis</i> PS149B1	Corn rootworm resistance
	mCry3A	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i>	Diabrotica spp resistance
Virus resistance	PVYcp	Potato Virus Y	Potato virus Y resistance
	PLRVrep	Potato leafroll virus	Potato leafroll virus resistance
Selectable marker	neomycin phosphotransferase II (NPTII)	<i>Escherichia coli</i>	Selectable marker
	beta-D-glucuronidase (GUS)	<i>Escherichia coli</i> K12	Selectable marker
	phosphomannose isomerase (PMI)	<i>Escherichia coli</i>	Selectable marker
Male sterility	BARSTAR	<i>Bacillus amyloqueliciens</i>	Male sterility
	BARNASE	<i>Bacillus amyloqueliciens</i>	Male sterility

적으로 분해시간이 긴 mCry3A, Cry1Ab, Cry34Ab1, Cry34Ab1 등도 10분 이내에 분해됨을 확인할 수 있다. 이러한 결과를 통해 대부분의 발현 단백질이 펩신에 대한 저항성 거의 없음을 확인할 수 있었다.

인공 위액을 통한 펩신 내성 실험에 사용하는 단백질은 대부분 유전자재조합 식물에서 분리된 것이 아니라 대장균과 같은 미생물에서 분리된 것으로 유전자 산물과의 동질성을 입증하기 위하여 SDS-PAGE, western blot 분석, 애드만 분해법(Edman degradation chemistry)에 의한 N 말단 서열화, MALDI-TOF MS 분석, 당화(glycosylation) 분석, 기능적 동등성을 평가하기 위한 생물 검정 등을 실시하였다.

3) 유전자산물 중 이미 알려져 있는 알레르겐과 상동성에 관한 평가: 유전자재조합 식품 안전성 평가 자료 중 기존 알레르겐과의 상동성에 대한 비교 자료는 대개 2가지 방법이 보편적으로 사용되고 있다. 첫 번째는 각 발현 단백질 서열에서 연속한 80개 아미노산 서열을 기존 알레르겐 서열과 비교하여 35% 이상의 동일성을 보이는지 확인하는 것으로 전

체적인 아미노산 서열의 상동성 비교를 대신한다. 두 번째는 선형 IgE 항원결정기로 도입 발현 단백질의 8개의 연속한 아미노산 서열과 기존의 알레르겐의 서열과 일치하는 것이 있는지를 확인하는 것이다. 이러한 아미노산 서열 상동성 비교에 사용되는 데이터베이스로는 Table 3과 같이 SwissProt, trEMBL, PIR, GenPept 및 개발사에서 보유하고 있는 AD6, SBI Allergen DB, Allergen3 등이 있다.

앞선 두 가지의 방법을 통한 아미노산 서열 상동성 비교에서 PMI를 제외하고는 기존의 알레르겐과 유의적인 상동성을 보이지 않았다. 그러나 PMI도 혈청 스크리닝에서 비교 알레르겐과 생물학적으로 연관되지 않음이 확인되었다.

4) 유전자산물이 1일 단백질 섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지에 관한 평가: 국제연합식량농업기구/세계보건기구 전문가회의(2001)에서는 알레르기성의 관점에서 보아 안전하다고 생각할 수 있는 단백질의 하한을 정의하는 것은 불가능하다고 결론지었다. 즉, 유전자재조합 식품의 알레르기성의 평가에 발현 단백질의 양을 기준으로서 도입할 수 없다. 반면 국제생명과학위원회/국제식품생명공학위원회(1996)은 단백질 발현의 수준이 중요하다고 결론지었으며, Taylor 등²⁰⁾도 알레르기 반응을 유발하기 위한 알레르겐의 최소 섭취량을 보고하였다.

유전자산물이 1일 단백질 섭취량의 유의한 양을 차지하고 있는지에 대한 정확한 산출이 어렵기 때문에 유전자산물을 최대로 섭취할 수 있는 경우를 가정하여 이를 유도하게 된다. 유전자재조합 콩을 예로 들면 우선 국민영양조사(보건복지부에 따라 한국인의 1인 1일 평균 ‘두류 및 그 제품’ 섭취량을 기준으로 하여 유전자산물의 단백질 섭취량을 추정하

Table 2. Degradation time in simulated mammalian gastric fluid for the expressed protein

Degradation time (minute)	Expressed protein
~ 0.5	CP4EPSPS, mEPSPS, GOX, Cry1Ac, Cry2Ab, Cry3Bb1, Cry3A, NPTII, GUS
~ 1	PAT, Cry1F
~ 10	mCry3A (2 min), Cry1Ab (5 min), Cry34Ab1 (6.3~6.8 min), Cry34Ab1 (5 min)

Table 3. Allergen databases using in amino acid sequence homology comparison

Name	Description
SwissProt	Protein sequence database which strives to provide a high level of annotations (e.g. protein function, post-translational modification, etc...), and has been developed by SIB(Swiss Institute of Bioinformatics) and EBI (European Bioinformatics Institute)
trEMBL	Computer-annotated supplement of SwissProt that contains all the translations of EMBL nucleotide sequence entries not yet integrated in SwissProt
PIR	Integrated computer system processing a number of protein sequence databases combined with a software that identifies and analyses protein sequences and their related coding sequences (Protein Identification Resources)
PDB	Single international repository for public data on the 3-dimensional structures of biological macromolecules (Protein Data Bank)
DAD	Protein database translated from the DNA Data Bank of Japan (DDBJ) which is officially certified to collect DNA sequences from researchers and to issue the internationally recognized accession number to data submitters (DDBJ Amino acid sequence Database)
GenPept	Amino acid sequence database translated from the GenBank DNA sequence of the NCBI as a division of the National Library of Medicine at the National Institutes of Health
AD4	Allergen Database of Monsanto Company
SBI Allergen DB	Syngenta Biotechnology Incorporated (SBI) allergen database
Allergen3	Sequences database of known allergens and gliadin

게 된다. 이러한 추정을 위해 한국인이 섭취하는 모든 ‘두류 및 그 제품’이 해당 유전자재조합 콩을 원료로 사용했고, 식품가공 중 손실이 전혀 없으며, 제품의 중량을 모두 건조물 중량으로 하여 계산하게 된다. 이런 과정을 통해 한국인의 1인 1일 섭취예상 유전자산물 단백질 양을 추정하게 되고, 이 값을 한국인 1인당 1일 평균 단백질 섭취량으로 나누어 이를 산출하게 된다. 이렇게 산출된 값은 거의 모두 한국 소비자의 단백질 섭취량에서 차지하는 비율은 극히 낮아 유의한 것이 없는 것으로 평가되었다.

5) 혈청 스크리닝 실험: 지금까지 승인된 유전자재조합 농산물의 도입된 발현 단백질 중 PMI를 제외한 다른 발현 단백질들은 기존 알레르겐과 상동성 비교를 실시한 결과 유의한 상동성을 보이지 않아 혈청 스크리닝 실험을 실시하지 않았다. 다만 PMI의 경우 최근에 알레르겐으로 밝혀진 α -parvalbumin (개구리의 일종인 *Rana species* CH2001에서 유래하며, 110개 아미노산으로 구성됨)의 8개의 인접 아미노산에서 서열 상동성 영역이 확인되어 혈청 실험을 실시한 결과, 사람(α -parvalbumin에 알레르기 반응을 나타냄)의 혈청 IgE와 PMI 사이에 교차-반응성은 없는 것으로 나타났다. 음성 대조군에서 BSA와의 교차 반응성은 없었으며, *Rana species* CH2001에서 추출한 양성 대조군에서는 예상대로 교차 반응성이 나타났다. 이는 알레르기성 환자의 혈청 IgE가 PMI 단백질 중 어떠한 부분도 알레르기성 항원결정기로 인식하지 않는다는 것을 의미한다.

결 론

지금까지 수많은 사람들이 위에서 기술한 방법에 의하여 알레르기성을 평가하여 승인된 유전자재조합 식품을 먹어 왔지만 알레르기를 비롯한 부작용이 발생하였다고 입증된 사례가 없었다. 또한 유전자재조합 작물과 비유전자재조합 작물의 알레르기성에 대한 IgE 반응 실험에서도 차이점이 나타나지 않았다.^{21,22)} 이러한 사실들이 현재의 알레르기성 평가과정이 유효하다는 것을 입증하고 있다. 그러나 새로운 특성을 가진 유전자재조합 식품이 계속 출현하고 있으며, 무엇보다도 유전자재조합 식품은 사전에 위해요소를 제거하는 것이 중요하기 때문에 알레르기성 평가를 지금보다 더 명확히 할 수 있는 알레르기 평가방법에 대한 연구 개발은 지속되어야 한다. 특히 단백질의 구조 및 기능과 알레르기성의 상관관계를 보다 명확히 규명할 수 있는 기법, 보다 직접적으로 알레르기성을 평가할 수 있는 *in vitro* 모델과 동물 모델의 개발이 필요하다고 본다. 또한 철저한 사전 평가체계 구축이외에 시장 유통 후 모니터링 조사를 위한 방법 개발과 알레르기 문제 발생시 이를 확인 검증할 수 있는 체계 구축

도 필요할 것으로 본다. 이러한 관리 체계를 통하여 알레르기 발생 보고와 유전자재조합 식품 섭취의 인과관계가 명확하게 밝혀질 수 있을 것이고, 이렇게 된다면 소비자의 불안감을 해소할 수 있을 것이다. 알레르기 환자청청 은행의 구축은 사후 확인 검증 체계의 좋은 예라고 볼 수 있다. 이상과 같이 유전자재조합 식품과 같은 새로운 소재의 식품의 등장에 따른 이들 식품의 안전성 확보를 위해 안전성평가 체계가 구축되고, 안전성 평가결과에 대한 소비자의 이해가 따른다면 소비자의 안전한 식생활이 보장될 것이다.

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(Suppl):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. Korean FDA Final Report, 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. *BHC 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
-