

Allergenitätsbewertung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen

Sicherheitsbewertung gentechnisch veränderter Pflanzen

Im Unterschied zu konventionellen Neuzüchtungen, die als erfahrungsgemäß sicher gelten, erfordert die Vermarktung von Lebens- und Futtermitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen eine Zulassung, die eine Sicherheitsprüfung voraussetzt [1]. Ein relevanter Bestandteil dieser Prüfung ist die Bewertung der Allergenität der zur Verwendung als Lebensmittel bestimmten Pflanzenprodukte und der in ihnen aufgrund der gentechnischen Modifikation gebildeten neuen Proteine.

Schon seit Beginn der 1990er-Jahre waren von internationalen Gremien und nationalen Institutionen Leitlinien zur Sicherheitsbewertung gentechnisch veränderter Pflanzen veröffentlicht worden [2, 3, 4]. Auf dieser Grundlage wurde 1994 das erste von gentechnisch veränderten Pflanzen stammende Lebensmittel, die *Flavr-Savr*-Tomate, von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) als ebenso sicher wie konventionell gezüchtete Tomaten bewertet [5]. Ziel der genetischen Modifikation war die verbesserte Haltbarkeit, die in diesem Fall nicht durch ein neues Protein, sondern durch Inhibierung der Expression eines am Reifeprozess beteiligten endogenen Proteins erreicht wurde. Inzwischen wurde gezeigt, dass Pollenallergiker auch auf dieses Protein allergisch reagieren [6], dessen Sequenz Ähnlichkeit mit einem in Platanen vorkommenden Pollenallergen aufweist [7]. Die im Rahmen der Sicherheitsprüfung durchgeführte Bewertung des zur Selektion der transformierten Tomatenpflanzen eingesetzten, Anti-

biotikaresistenz vermittelnden Proteins (Npt II) hatte keine Hinweise auf allergenes Potenzial ergeben [8].

In der Europäischen Union (EU) wurde, entsprechend der 2004 in Kraft getretenen Rechtsgrundlage (vergleiche [1]), von der zuvor eingerichteten European Food Safety Authority (EFSA) ein gleichermaßen an Antragsteller und die für die Sicherheitsbewertung zuständigen Institutionen gerichtetes Leitliniendokument ihres wissenschaftlichen Gremiums für gentechnisch veränderte Organismen (GMO-Panel) zur Risikobewertung von Lebens- und Futtermitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen veröffentlicht [9].

Das allen Leitlinien und Empfehlungen gemeinsame Konzept der Sicherheitsbewertung beruht auf dem Vergleich der Eigenschaften der gentechnisch veränderten Pflanze mit denen der konventionellen Ausgangspflanze, sofern diese bereits erfahrungsgemäß sicher zur Lebensmittelherstellung verwendet wurde. Ziel der vergleichenden Sicherheitsbewertung ist es, die beabsichtigte genetische Modifikation sowie dadurch möglicherweise ausgelöste unbeabsichtigte Veränderungen auf mögliche nachteilige Auswirkungen auf den Nährwert und auf die Gesundheit der Verbraucher zu untersuchen [10]. Eine Zulassung kann nur dann erfolgen, wenn das Ergebnis der Untersuchungen gezeigt hat, dass sich die aus den gentechnisch veränderten Pflanzen hergestellten Lebensmittel – einschließlich des allergenen Potenzials – von den aus vergleichbaren konventionell gezüchteten Pflanzen hergestellten Erzeugnissen hinsichtlich der Lebensmittelsicherheit nicht wesentlich unterscheiden.

Strategie der Allergenitätsbewertung

Konkrete Anforderungen an die Allergenitätsbewertung neuer Proteine und Hinweise auf geeignete Prüfmethode wurden von einer 2001 von der Codex Alimentarius Commission eingerichteten Task Force als Anhang zur „Codex Alimentarius Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants“ erarbeitet [11]. An diesen Anforderungen orientierte sich auch das der Allergenität gewidmete Kapitel der oben genannten EFSA-Leitlinie.

2010 veröffentlichte die EFSA eine umfangreiche Studie zur Allergenitätsbewertung gentechnisch veränderter Pflanzen und Mikroorganismen und der daraus hergestellten Lebens- und Futtermittel [12]. Ausgehend von einer Beschreibung des derzeit angewendeten Bewertungsprozesses, wird darin ein umfassender Überblick über neue Entwicklungen im Bereich der Allergenitätsbewertung gegeben, und es werden Wissenslücken und Unsicherheiten identifiziert. Daraus abgeleitet werden konkrete Empfehlungen zur Allergenitätsbewertung und zu den dafür geeigneten Untersuchungsmethoden, die Grundlage für die Neufassung des Kapitels zur Allergenität im 2011 aktualisierten Leitliniendokument der EFSA zur Risikobewertung von Lebens- und Futtermitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen [13] waren.

Im Fokus der Allergenitätsbewertung stehen die mit der Transformation der gentechnisch veränderten Pflanze beabsichtigten Veränderungen. Das sind in der Regel neue Eigenschaften, wie beispiels-

weise Herbizidtoleranz oder Insektenresistenz, die auf der Expression von neuen, oft aus Mikroorganismen stammenden Proteinen beruhen. Da Proteine bei Individuen mit entsprechender genetischer Prädisposition durch die Bildung spezifischer IgE-Antikörper verursachte allergische Reaktionen auslösen können, müssen die in der gentechnisch veränderten Pflanze neu gebildeten Proteine auf allergenes Potenzial überprüft werden.

Bei der Auslösung von Soforttypallergien wird zwischen zwei Phasen der Erkrankung unterschieden. In der symptomlos verlaufenden Sensibilisierungsphase bildet der Körper spezifische Antikörper der Klasse Immunglobulin E (IgE), die gegen das jeweilige Allergen gerichtet sind. Bei wiederholtem Allergenkontakt führen diese Antikörper über Effektormechanismen (unter anderem durch Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten) zum Symptombild der allergischen Reaktion. Demzufolge müssen bei der Allergenitätsbewertung von Proteinen, mit denen das Immunsystem des Menschen bisher keinen Kontakt hatte, zwei wesentliche Aspekte einbezogen werden:

1. die Fähigkeit des Proteins, de novo eine IgE-Antwort auslösen zu können (Sensibilisierungspotenzial);
2. die mögliche Reaktion des Proteins mit IgE-Antikörpern, die primär gegen andere Proteine gerichtet sind (Kreuzreaktivität von IgE mit verwandten Proteinen).

Ebenso wie durch die Neukombination von Genen beim Einsatz konventioneller Züchtungsmethoden können durch die mithilfe gentechnischer Verfahren bewirkte Insertion der für die beabsichtigte Veränderung erforderlichen neuen Gene in das Pflanzengenom auch unbeabsichtigte Veränderungen ausgelöst werden [14]. In gentechnisch veränderten Pflanzen könnten Fusionspeptide gebildet oder im Fall von allergenen Ausgangspflanzen Veränderungen des endogenen Allergenmusters ausgelöst werden. Solche unbeabsichtigten Veränderungen müssen identifiziert und ebenfalls auf mögliche allergene Auswirkungen untersucht werden.

Da keine der verfügbaren Untersuchungsmethoden allein eine zuverlässige

Aussage über ein allergenes Potenzial erlaubt, erfordert die Allergenitätsbewertung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen eine Gesamtbewertung aller verfügbaren Informationen und Untersuchungsergebnisse (weight of evidence approach). Der Umfang der Allergenitätsprüfung hängt ab von den Kenntnissen über die Herkunft und die Eigenschaften der neuen Proteine und von den Erfahrungen mit der für die gentechnische Modifikation verwendeten Ausgangspflanze. Welche Studien notwendig und geeignet sind, ist im Einzelfall zu entscheiden.

Im Folgenden wird, basierend auf den Empfehlungen der neuen EFSA-Leitlinie, dargestellt, welche Informationen erforderlich und welche Untersuchungsverfahren zur Allergenitätsprüfung gentechnisch veränderter Nahrungspflanzen geeignet sind.

Neue Proteine

Die Entscheidung über die zur Überprüfung des allergenen Potenzials der in transgenen Pflanzen neu exprimierten Proteine notwendigen Untersuchungen richtet sich nach der Herkunft der Gene, die für die neuen Proteine kodieren. In jedem Fall ist ein Vergleich der Struktur und der Eigenschaften des Proteins mit bekannten Allergenen gefordert. Wenn der Spenderorganismus als Allergieauslöser bekannt ist, kann darüber hinaus durch immunologische Tests festgestellt werden, ob es sich bei dem Protein um ein Allergen handelt.

Molekulare und biochemische Charakterisierung

Im Fall gentechnisch veränderter Pflanzen kann im Unterschied zu konventionell gezüchteten Pflanzen das zur gentechnischen Modifikation eingesetzte Methodenarsenal auch zur präzisen Charakterisierung sowohl der beabsichtigten wie auch der unbeabsichtigten Veränderungen des pflanzlichen Genoms angewendet werden. Mittels Southern-Blot- und PCR-Analysen sowie DNA-Sequenzierung lässt sich überprüfen, an welcher Stelle die rekombinanten Gene in das Pflanzengenom integriert wurden.

Sequenzanalysen der den Insertionsort flankierenden genomischen Regionen liefern Hinweise auf möglicherweise durch die Insertion entstandene offene Leserahmen (ORF). Die daraus ableitbaren putativen Fusionspeptide müssen ebenfalls auf allergenes Potenzial überprüft werden.

Informationen und Untersuchungen zur Struktur und Funktion, zum Molekulargewicht und zu den physikochemischen Eigenschaften sowie zur Konzentration des Proteins in den als Lebensmittel genutzten Pflanzenteilen tragen zum Vergleich mit typischen Lebensmittelallergenen bei. Diese weisen nicht in jedem Fall, aber häufig Molekulargewichte zwischen 10 und 70 kDa auf, liegen meist in hoher Konzentration (>1% des Gesamtproteins) im Lebensmittel vor und sind oft glykosyliert, das heißt, sie enthalten kovalent gebundene Kohlenhydratreste. Zudem haben sich die bekannten Allergene oft als relativ stabil gegenüber hohen Temperaturen und proteolytischem Abbau bei niedrigen pH-Werten erwiesen [15, 16]. Diese Charakteristika sind allerdings wenig spezifisch und treffen auch auf viele nicht allergene Proteine zu.

Bioinformatische (in silico) Analysen

Unabhängig von der Herkunft der Proteine, muss die Aminosäuresequenz des neuen Proteins mithilfe bioinformatischer Analysen auf Ähnlichkeit mit den in regelmäßig aktualisierten Datenbanken, wie beispielsweise der FARRP (Food Allergy Research and Resource Program) Allergen Protein Database [17], enthaltenen Sequenzen bekannter Allergene mithilfe von Algorithmen wie FASTA oder BLAST untersucht werden. Von einer möglichen Kreuzreaktion kann ausgegangen werden, wenn in Abschnitten von jeweils mindestens 80 Aminosäuren Übereinstimmungen von mindestens 35% gefunden werden.

Die von ORFs abgeleiteten Peptidsequenzen sind in der Regel kürzer. In diesem Fall ist der Sequenzvergleich auf die Identifizierung von acht aufeinanderfolgenden, mit dem Vergleichsprotein identischen Aminosäuren gerichtet, die

auf mögliche IgE-Bindungs epitope schließen lassen.

Sequenzvergleiche mithilfe von Proteinendatenbanken können Hinweise auf strukturelle Ähnlichkeiten mit nichtallergenen Proteinen geben und damit negative Befunde der vergleichenden Analysen mit Allergenen unterstützen.

Bioinformatische Analysen eignen sich auch zur Identifizierung von Konsensussequenzen für potenzielle Glykosylierungsorte.

Wenn die in transgenen Pflanzen exprimierten neuen Proteine aus Weizen, Roggen, Gerste oder Hafer stammen, sollten Sequenzvergleiche mit Gliadin- und Glutenin-ähnlichen Proteinen, die bei prädisponierten Individuen Zöliakie (Gluten-sensitive Enteropathie), eine nicht-IgE-vermittelte allergische Reaktion, auslösen können, durchgeführt werden.

Des Weiteren wird empfohlen, die Funktion oder Struktur neuer Proteine auf Ähnlichkeiten mit bekannten Adjuvantien zu prüfen. Adjuvantien, wie beispielsweise bakterielle Enterotoxine [18] verstärken die Immunreaktion auf Antigene und könnten möglicherweise auch allergische Reaktionen verstärken.

In-vitro-Studien zum proteolytischen Abbau

Zur Untersuchung der Stabilität der neuen Proteine gegenüber proteolytischen Enzymen sind Bedingungen geeignet, unter denen sich typische Lebensmittelallergene als relativ stabil erwiesen haben [19, 20]. Empfohlen wird die Anwendung validierter, das heißt auf Reproduzierbarkeit überprüfter, In-vitro-Pepsinverdau-Methoden. Dabei wird das Abbauverhalten des Proteins anhand der in zeitlichen Abständen entnommenen Proben mittels Gelelektrophorese überprüft. In einer von Thomas et al. [30] durchgeführten Validierungsstudie wurde gezeigt, dass Allergene wie der Trypsin-Inhibitor (STI) aus Sojabohnen während des gesamten Untersuchungszeitraums stabil blieben oder wie das Erdnussprotein Ara h 2 zu stabilen Fragmenten abgebaut wurden, während beispielsweise die in transgenen Pflanzen häufig als Selektionsmarker verwendete Phosphinotricin-Acetyl-Trans-

Bundesgesundheitsbl 2012 · 55:402–407 DOI 10.1007/s00103-011-1426-7
© Springer-Verlag 2012

M. Schauzu · A. Pötting · D. Rubin · A. Lampen

Allergenitätsbewertung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen

Zusammenfassung

Das Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen in den Mitgliedstaaten der Europäischen Union (EU) bedarf einer Genehmigung der Europäischen Kommission. Voraussetzung für die Zulassung von Pflanzen, die zur Herstellung von Lebensmitteln verwendet werden können, ist der Nachweis, dass die aus den genetisch veränderten Pflanzen gewonnenen Produkte sich hinsichtlich der gesundheitlichen Unbedenklichkeit nicht von vergleichbaren konventionellen Erzeugnissen unterscheiden. Dazu gehört auch die Bewertung der Pflanzen hinsichtlich möglicher Allergenität gemäß der auf inter-

national vereinbarten Empfehlungen basierenden aktuellen Leitlinie der Europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA). Die bisher in der EU zugelassenen gentechnisch veränderten Pflanzen wurden von der EFSA geprüft. Das für die Sicherheitsbewertung zuständige EFSA-Gremium hat in allen Fällen eine Veränderung der Allergenität als unwahrscheinlich bewertet.

Schlüsselwörter

Lebensmittel · Sicherheitsbewertung · Allergenität · Gentechnik · Gentechnisch veränderte Pflanzen

Assessment of allergenicity of genetically modified food crops

Abstract

The placing on the European Union's market of genetically modified crops requires authorization by the European Commission which is based on the proof that the derived foods are as safe as their conventional counterparts. The assessment of potential allergenicity is part of the necessary investigations recommended in the updated Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) of the European Food Safety Authority (EFSA), which is based on in-

ternationally agreed recommendations. All genetically modified crops which so far have been authorized in the European Union were evaluated by the EFSA GMO Panel which considered it unlikely that their overall allergenicity has been altered.

Keywords

Foods · Safety assessment · Allergenicity · Genetic engineering · Genetically modified plants

ferase (PAT) bereits in der ersten, nach 30 Sekunden entnommenen Probe nicht mehr detektierbar war.

Wenn aufgrund zu geringer Konzentration des neuen Proteins in der gentechnisch veränderten Pflanze der Pepsinverdauertest mit bakteriell produziertem Protein durchgeführt wird, muss durch entsprechende Untersuchungen sichergestellt werden, dass dieses mit dem in der transgenen Pflanze exprimierten Protein identisch ist. Im Unterschied zu Eukaryoten, deren Proteine in der Mehrzahl glykosyliert sind, kommt dies bei Prokaryoten wie *E. coli* praktisch nicht vor [21]. Mittels SDS-PAGE- und Westernblot-Analysen können das Molekulargewicht der Proteine, deren mögliche Glykosylierung und ihre Reaktion mit spezifischen IgE-Antikörpern verglichen werden. MALDI-TOF- und LC-ESI-Massenspektros-

kopie sowie Sequenzierung der N- und C-Termini der Proteine geben Aufschluss über mögliche, beispielsweise durch die Reinigung verursachte Veränderungen der Aminosäuresequenz oder chemische Modifikationen am Protein wie Deamidierung oder Sulfoxidation.

Immunologische In-vitro-Tests

Wenn das für das neue Protein kodierende Gen aus einem Organismus mit endogenen Allergenen stammt oder wenn die bioinformatischen Analysen Hinweise auf Sequenzähnlichkeiten mit einem Allergen ergeben haben, muss das allergene Potenzial des Proteins in einem IgE-Bindungsassay überprüft werden. Dazu eignen sich Verfahren wie Radio-Allergo-Sorbent-Tests (RAST), Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) und Im-

munoblots mit Seren von Allergikern mit gut charakterisierter und klinisch manifester Reaktion auf die Quelle des Gens beziehungsweise mit einem im Sequenzvergleich als ähnlich identifizierten Protein. Jedes Serum sollte individuell getestet werden. Als Negativkontrollen sollten Seren von Individuen mit Allergien gegen andere Proteine und von solchen ohne Allergien getestet werden.

In einer 1996 veröffentlichten Studie konnte mithilfe immunologischer Tests ein in gentechnisch veränderten Sojabohnen exprimiertes Protein aus der Paranuss als Allergen identifiziert werden [22]. Ziel der genetischen Modifikation war die Verbesserung des Futtermittelnährwerts der Sojabohnen durch das an schwefelhaltigen Aminosäuren reiche Speicherprotein 2 S-Albumin. Da Paranüsse als Verursacher allergischer Reaktionen bekannt sind, wurden Seren von Personen mit Paranussallergie mittels RAST und Immunoblotting untersucht. Beobachtet wurde eine vergleichbar starke Bindung des im Sojabohnenextrakt enthaltenen und des partiell gereinigten 2 S-Albumins an IgE-Antikörper in den Seren. Inzwischen haben klinische Befunde gezeigt, dass es sich bei diesem Protein um das Hauptallergen der Paranuss (Ber e 1) handelt [23]. Das Ergebnis der Serumtests veranlasste den Hersteller, von einer Vermarktung der gentechnisch veränderten Sojabohnen abzusehen.

Weitere Untersuchungsmethoden

Die Entwicklung und Standardisierung zellbasierter In-vitro-Tests, beispielsweise mit basophilen Zellen zur Messung der Aktivierung dieser an der Ausprägung allergischer Reaktionen beteiligten Zellen mit hochaffinen Rezeptoren für IgE-Antikörper, wird als Ergänzung des derzeit verfügbaren Methodenspektrums zur Allergenitätsbewertung neu exprimierter Proteine empfohlen.

Von In-vivo-Tests an Modelltieren, beispielsweise Brown-Norway-Ratten, werden Erkenntnisse über das De-novo-Sensibilisierungspotenzial neu exprimierter Proteine erwartet. Validierte Studienprotokolle liegen jedoch bisher nicht vor. In den bislang durchgeführten Tests zeig-

te sich eine große Variabilität bei der induzierten IgE-Reaktion.

Endogene Allergene

Bei Pflanzen mit bekanntem allergieauslösendem Potenzial könnte die Integration rekombinanter DNA in das Genom eine unbeabsichtigte Veränderung der Expression endogener Allergene zu Folge haben. Überprüfen lässt sich das durch einen qualitativen und quantitativen Vergleich des endogenen Allergenmusters der gentechnisch veränderten Pflanze mit dem der Ausgangspflanze. Dazu eignet sich eine zweidimensionale Elektrophorese zur Separation der aus der transgenen und der Ausgangspflanze sowie aus kommerziellen Kontrollsorten extrahierten Proteine, gefolgt von Tests mit Serumproben von Allergikern, die nachgewiesenermaßen auf Produkte der jeweiligen Ausgangspflanze, beispielsweise Sojabohnen, allergisch reagieren (vergleiche Kapitel „Immunologische In-vitro-Tests“). Dies stellt aufgrund selten vorkommender Allergien (beispielsweise gegen Reis oder Zucchini) in der Praxis ein Problem dar, da die Verfügbarkeit einer größeren Anzahl von Serumproben, die in die Untersuchung einbezogen werden müssen, um aussagefähige Ergebnisse zu erhalten, nicht gewährleistet ist.

Angesichts nur begrenzt verfügbarer humaner Seren, wird ein Pre-Screening mit Seren von Tieren empfohlen, die mit den in der vergleichenden Analyse identifizierten relevanten endogenen Allergenen experimentell sensibilisiert wurden.

Bei der Bewertung veränderter Allergenmuster ist die natürliche Schwankung in der Biosynthese von Proteinen, die zu deutlichen Unterschieden im Expressionsniveau führen kann, beispielsweise aufgrund schwankender klimatischer Bedingungen oder unterschiedlichem Nährstoffangebot sowie durch biotischen oder abiotischen Stress, zu berücksichtigen. Dies wurde in einer Studie zur Quantifizierung endogener Sojabohnenallergene deutlich [24]. Jeweils zehn der bekannten Allergene wurden in 20 kommerziellen Sojabohnen quantifiziert. Acht der gemessenen Allergene wiesen Variationen von 18 bis 38% auf, bei einer technischen Varianz von 11%. Die beiden Hauptallerge-

ne, die Speicherproteine Glycinin G1 und G2, wiesen die geringste Variabilität auf. Die Unterschiede in der Varianz der einzelnen Allergene wurden auf ihre Funktion zurückgeführt. Während die Gehalte an Speicherproteinen relativ konstant seien, schwankte die Expression von Proteinen mit Schutzfunktion, wie beispielsweise zur Abwehr von Schädlingen, in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen.

Antragsteller sind außerdem aufgefordert, verfügbare Informationen über die Prävalenzen von Allergien gegen die gentechnisch veränderte Pflanze bei Personen bereitzustellen, die beruflich, beispielsweise während der Ernte oder der Verarbeitung, mit der Pflanze oder mit den in Pollen oder Staub möglicherweise enthaltenen Allergenen in Kontakt kommen.

Allergenitätsbewertung der in der EU zugelassenen gentechnisch veränderten Pflanzen

Mittlerweile wurden in der EU auf Grundlage von Sicherheitsbewertungen durch die EFSA eine Reihe gentechnisch veränderter Mais-, Baumwoll-, Soja-, Raps- und Zuckerrübensorten zur Herstellung von Lebens- und Futtermitteln sowie eine gentechnisch veränderte, für industrielle Zwecke bestimmte Stärkekartoffel zugelassen (■ Tab. 1). Bei den in diesen Pflanzen neu gebildeten Proteinen handelt es sich, mit Ausnahme eines aus Mais stammenden Proteins, um Enzyme oder Toxine aus Bakterien (■ Tab. 2, [25]), die nicht als Allergieauslöser bekannt sind.

Mit allen neuen Proteinen wurden vergleichende bioinformatische Analysen sowie Studien zur Stabilität gegenüber proteolytischem Abbau durchgeführt. Im Fall der transgenen Sojabohnen wurde das endogene Allergenmuster mit dem der Ausgangspflanzensorte verglichen. Die Gesamtbewertung der durchgeführten Untersuchungen ergab, dass alle neuen Proteine

- aus Organismen stammen, die nicht als allergen bekannt sind,
- keine Sequenzähnlichkeit mit bekannten Allergenen aufweisen,
- im Pepsinverdauest schnell abgebaut werden.

Tab. 1 Übersicht über die in der EU zur Herstellung von Lebens- und Futtermitteln zugelassenen gentechnisch veränderten Pflanzen (Stand: 22.12.2011)

Pflanzenart	Herbizidtoleranz	Insektenresistenz	Herbizidtoleranz + Insektenresistenz	Amylopektin-Stärke
Mais	3	6	17	
Baumwolle	3	1	1	
Raps	3			
Sojabohnen	3			
Zuckerrüben	1			
Stärkekartoffel				1 ^a

^aBis zu einem Anteil von 0,9% in Lebens- und Futtermitteln zugelassen.

Tab. 2 Übersicht über die in den zugelassenen gentechnisch veränderten Pflanzen exprimierten neuen Proteine (Stand: 22.12.2011)

Phänotyp/Funktion	Protein	Gen	Spenderorganismus
Insektenresistenz	Delta-Endotoxine	<i>cry1Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
		<i>cry1Ab2</i>	
		<i>cry1A.105</i>	
		<i>cry1Ac</i>	
		<i>cry1F</i>	
Herbizidtoleranz	5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat-synthase (CP4 EPSPS)	<i>cp4epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> sp. Stamm CP4
		<i>mepsps</i>	<i>Zea mays</i>
Herbizidtoleranz	Phosphinothricin-Acetyltransferase (PAT)	<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>
		<i>bar</i>	<i>S. hygroscopicus</i>
Herbizidtoleranz	Glyphosat-Oxidoreduktase (GOX)	<i>gox</i>	<i>Achromobacter</i> sp. Stamm LBAA
Selektionsmarker	Neomycin-Phospho-Transferase (NPTII)	<i>nptII</i>	<i>Escherichia coli</i>
Selektionsmarker	Phosphomannose-Isomerase (PMI)	<i>pmi</i>	<i>E. coli</i>
Ribonuklease	Barnase	<i>barnase</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Ribonuklease-Inhibitor	Barstar	<i>barstar</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>

Da es somit keine Hinweise auf mögliche allergene Wirkungen gab, waren immunologische Untersuchungen nicht notwendig.

Einen Anlass für solche Untersuchungen gab es jedoch in den USA, als sich Personen mit Verdacht auf eine allergische Reaktion bei der U.S. Food and Drug Administration (FDA) meldeten, nachdem sie Lebensmittel verzehrt hatten, die aus *StarLink*-Maiskörnern hergestellte Zutaten enthielten. Die *StarLink*-Maiskörner enthielten das gegen bestimmte Insektenlarven toxisch wirkende Cry9c-Protein aus *Bacillus thuringiensis*, das zwar im Aminosäuresequenzvergleich keine Ähnlichkeiten mit bekannten Allergenen aufwies, jedoch im In-vitro-Pepsin-verdautes bei pH 2 über vier Stunden sta-

bil blieb [26]. Da Stabilität gegen proteolytischen Abbau ein Indikator für allergenes Potenzial sein kann, war der *StarLink*-Mais ausschließlich für Futtermittelzwecke zugelassen worden. Er gelangte jedoch unbeabsichtigt auch in die Lebensmittelkette. Mit den Seren von 16 betroffenen Personen konnte mittels eines Cry9c-spezifischen IgE-ELISA ein gezieltes (targeted) Screening durchgeführt werden. In keiner Serumprobe wurden Cry9c-spezifische IgE-Antikörper gefunden. Die Symptome der untersuchten Personen konnten somit nicht auf den Verzehr des Cry9c-Proteins in den *StarLink*-Maiszutaten enthaltenden Lebensmitteln zurückgeführt werden [27].

Schlussfolgerungen

Das neue Leitliniendokument der EFSA zur Risikobewertung von Lebens- und Futtermitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen (vergleiche [13]) folgt hinsichtlich der Allergenitätsprüfung der in den Pflanzen neu exprimierten Proteine im Wesentlichen den in der CODEX-Alimentarius-Leitlinie vereinbarten Anforderungen (vergleiche [11]). Darüber hinaus enthält es weitergehende Anforderungen, wie beispielsweise den Vergleich des endogenen Allergenmusters im Fall von allergenen Ausgangspflanzen. Diese bereits in der Vorläuferversion der neuen EFSA-Leitlinie und auch in der 2010 veröffentlichten Stellungnahme der EFSA zur Allergenitätsbewertung (vergleiche [12]) enthaltene Forderung war Gegenstand kritischer Kommentare [28]. Eingewandt wurde, dass es weder validierte Analysemethoden noch Klarheit hinsichtlich der Interpretation der Ergebnisse gebe. So sei die klinische Relevanz abweichender Allergenmuster nicht bekannt. Hingewiesen wurde auch auf die natürlicherweise vorkommenden Schwankungen. Einige der aus der 2010 veröffentlichten EFSA-Stellungnahme in die neue EFSA-Leitlinie übernommenen Empfehlungen können zur Verbesserung der bisher üblichen Bewertung des allergenen Potenzials von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen beitragen. Dazu gehört der Hinweis, dass nur regelmäßig aktualisierte Sequenzdatenbanken verwendet und auch Zöliakie auslösende Peptide in den Sequenzvergleich einbezogen werden sollten. Sinnvoll ist auch die Forderung, im IgE-Bindungstest nur Seren von gut charakterisierten, klinisch diagnostizierten Allergikern einzusetzen und diese individuell zu testen. Nicht übernommen wurde der Vorschlag, die Allergendatenbanken mit Informationen zur dreidimensionalen Struktur der Allergene zu ergänzen sowie Sequenzen von Proteinen aufzunehmen, die in Tieren Allergien auslösen könnten, um so auch die Prüfung des allergenen Potenzials der aus gentechnisch veränderten Organismen hergestellten Haus- und Nutztierernährung zu ermöglichen.

Unabhängig von neuen Erkenntnissen über Allergene und von Fortschritten in der Methodik haben die bislang von der EFSA durchgeführten Sicherheitsbewertungen der aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewonnenen Lebensmittel keine Hinweise auf gesundheitliche Gefahren gegeben. Das bestätigen auch die Erfahrungen mit den seit nunmehr 15 Jahren in zunehmendem Umfang vor allem in Nord- und Südamerika auf den Markt gebrachten gentechnisch veränderten Pflanzen [29]. Bis auf den oben geschilderten Fall der *StarLink*-Maissorte, in der ein allergenes Protein vermutet wurde, das sich jedoch in den Tests an Allergikern als unbedenklich erwies, gab es keine Hinweise auf allergene Wirkungen durch den Verzehr von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen.

Korrespondenzadresse

Dr. M. Schauzu

Bundesinstitut für Risikobewertung
Max-Dohrn-Str. 8-10, 10589 Berlin
maria-anna.schauzu@bfr.bund.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel. Amtsbl Europ Union L 268:1–23
- WHO (1991) Strategies assessing the safety of foods produced by biotechnology. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. WHO, Geneva
- FDA (1992) Guidance to industry for foods derived from new plant varieties. FDA Federal Register 57 (104):22984, May 29, 1992
- OECD (1993) Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles. OECD Publishing, Paris
- Redenbaugh K, Hiatt W, Martineau B, Emlay D (1995) Determination of the safety of genetically engineered crops. In: Engel KH, Takeoka GR, Teranishi R (Hrsg) Genetically modified foods – safety issues, ACS Symposium Series 605: 72–87. American Chemical Society, Washington
- Fötisch K, Son DY, Altmann F et al (2001) Tomato (*Lycopersicon esculentum*) allergens in pollen-allergic patients. Eur Food Res Technol 213:259–266
- Ibarrola I, Arilla MC, Matinez A, Asturias JA (2004) Identification of a polygalacturonase as a major allergen (Pla a 2) from *Platanus acerifolia* pollen. J Allergy Clin Immunol 113(6):1185–1191
- Schauzu M (1997) Zur Bewertung der Sicherheit gentechnisch veränderter Lebensmittel: Das Beispiel der „Flavr Savr“ Tomate. Ernährungs Umschau 44 (7):246–250
- EFSA (2006) Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed (adopted on 24 September 2004, updated on 7 December 2005, final edited version of 28 April 2006). EFSA J 99:1–100
- Pötting A, Schauzu M (2010) Sicherheitsbewertung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 53:583–588
- WHO and FAO (2009) Foods derived from modern biotechnology, 2. Aufl. http://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Biotech/Biotech_2009e.pdf
- EFSA (2010) Scientific opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA J 8(7):1700
- EFSA (2011) Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA J 9(5):2150
- Cellini F, Chesson A, Colquhoun I et al (2004) Unintended effects and their detection in genetically modified crops. Food Chem Toxicol 42(7):1089–1125
- Fuchs RL, Astwood JD (1996) Allergenicity assessment of foods derived from genetically modified plants. Food Technol 50:83–88
- Lehrer SB, Horner WE, Reese G (1996) Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology. Crit Rev Food Sci Nutr 36(6):553–564
- University of Nebraska-Lincoln (2011) Food Allergy Research and Resource Program (FARP) allergen protein database Version 11, released on Feb 2011. <http://www.allergenonline.org/>
- Holmgren J, Adamsson J, Anjuère F et al (2005) Mucosal adjuvants and anti-infection and anti-immunopathology vaccines based on cholera toxin, cholera toxin B subunit and CpG DNA. Immunol Lett 97(2):181–188
- Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R et al (1996) Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. Crit Rev Food Sci Nutr 36(5):165–186
- Fu TJ, Abbott UR, Hatzos C (2002) Digestibility of food allergens and non-allergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid – a comparative study. J Agric Food Chem 50:7154–7160
- Sherlock O, Dobrindt U, Jensen JB et al (2006) Glycosylation of the self-recognizing *Escherichia coli* Ag43 autotransporter protein. J Bacteriol 188(5):1798–1807
- Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA et al (1996) Identification of a brazil-nut allergen in transgenic soybeans. N Engl J Med 334:688–692
- Jäger L, Vieths S (2008) Nahrungsmittelallergene. In: Jäger L, Wüthrich B, Ballmer-Weber B, Vieths S (Hrsg) Nahrungsmittelallergien und -intoleranzen. Elsevier Urban & Fischer, München, S 180–181
- Thelen J (2011) Quantitation of soybean allergens using tandem mass spectrometry. Presentation at the ILSI Biotechnology Workshop, May 11, 2011, OECD Conference Center, Paris, France. Presentation Abstract, p 6–7. http://www.ilsa.org/FoodBioTech/Pages/ILSI_Biotech_Workshop.aspx
- European Commission: EU register of genetically modified food and feed. http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
- Center for Environmental Risk Assessment (2001) CERA GM Crop Database Product Description. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=CBH-351
- CDC (2001) Investigation of human health effects associated with potential exposure to genetically modified corn. A report to the U.S. Food and Drug Administration from the Centers of Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/nceh/ehhe/Cry9Crepot/>
- EFSA (2010) Outcome of the public consultation on the draft Scientific Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed. EFSA J 8 (7):1–6
- James C (2010) Global status of commercialized biotech/GM crops: 2010. ISAAA Brief No. 42. ISAAA: Ithaca, NY. <http://www.isaaa.org/>
- Thomas K, Aalbers M, Bannon GA et al. (2004) A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. Regul Toxicol Pharmacol 39:87–98