

OGM : les protéines transgéniques sont-elles allergéniques ?

Drs. Mae-Wan Ho, Arpad Pusztai, Susan Bardocz and Prof. Joe Cummins¹

Traduction, définitions, compléments d'information : Jacques Hallard²

Environ deux tiers de toutes les protéines transgéniques ont des similitudes avec des allergènes connus. Faudrait-il s'en inquiéter outre mesure ? Pourquoi nous avons de bonnes raisons de nous en inquiéter

Il y a des similitudes avec des allergènes connus

Un rapport publié en 2002 [1] devrait soulever des inquiétudes concernant la sécurité des molécules étrangères qui sont incorporées dans les plantes **modifiées génétiquement** et qui sont commercialement autorisées.

Des chercheurs de l'Institut de Sécurité Alimentaire de Wageningen aux Pays-Bas, ont testé les protéines **transgéniques** de plantes alimentaires génétiquement modifiées, pour la présence de courtes séquences d'acides aminés identiques à celles d'**allergènes** connus et pour rechercher si ceux-ci sont impliqués comme **IgE**, une classe d'anticorps produits dans des réactions allergiques.

Ils ont examiné 33 protéines transgéniques pour des ensembles continus d'au moins 6 acides aminés identiques à des protéines allergéniques connues. Vingt-deux des protéines transgéniques ont montré des résultats positifs avec des ensembles de 6 ou 7 acides aminés; ceux-ci incluent toutes les **toxines Bt** (ou **protéines Cry**), les gènes CP4 EPSPS et GOX qui confèrent la tolérance au **glyphosate**, la protéine capsidale du *Papaya Ring Spot Virus*, de même qu'une protéine *GUS* servant de marqueur génétique.

Mais à cause des données limitées qui sont disponibles, seulement un petit nombre pourrait être identifié en tant qu'**épitopes** linéaires qui pourraient se lier aux anticorps **IgE**. Bien que la plupart des éléments puissent être des "faux positifs", les chercheurs ont conclu que ces résultats "*justifient des tests cliniques complémentaires pour déterminer une allergénicité potentielle*".

Quelle est la fiabilité des tests courants en matière d'allergénicité potentielle ?

L'allergénicité potentielle est un aspect principal de l'évaluation de la sûreté des plantes génétiquement modifiées. Comme de nouvelles protéines sont introduites dans les plantes alimentaires génétiquement modifiées, il est important de faire appel à des méthodes fiables pour évaluer leur potentiel à causer des réactions allergiques, soit après leur ingestion comme nourriture, soit par contact ou encore par inhalation (comme le pollen, par exemple).

L'une des premières étapes dans l'évaluation d'une protéine pour ses potentialités comme allergène, réside dans la comparaison des séquences d'acides aminés avec celles de protéines allergéniques connues qui sont stockées dans des bases de données, en utilisant des algorithmes disponibles avec l'aide d'un ordinateur.

¹ Membres de "The Institute of Science in Society" (ISIS), organisation non gouvernementale basée à Londres, Grande Bretagne : <http://www.i-sis.org.uk> . Les informations générales de cet institut sont disponibles auprès de Sam Burcher : sam@i-sis.org.uk . L'institut ISIS est dirigé par Mae-Wan HO : m.w.ho@i-sis.org.uk

² Ingénieur CNAM, consultant indépendant . jacques.hallard@wanadoo.fr

Quand de telles comparaisons sont faites, l'identification de séquences continues de 8 acides aminés ou plus, sont considérées comme "*immunologiquement appropriées*". Mais des ensembles linéaires plus courts peuvent également être appropriés selon des résultats existants; par exemple, de petites séquences de quatre et six acides aminés peuvent être identifiés et liés par des anticorps IgE à partir de patients allergiques [2].

Indépendamment de ces épitopes continus ou linéaires, des épitopes discontinus peuvent également être présents : ils consistent en acides aminés provenant de différentes parties d'une chaîne polypeptidique, et qui se retrouvent finalement réunis l'un à l'autre quand la chaîne polypeptidique est repliée dans sa conformation tridimensionnelle. Ainsi, la similitude globale d'acides aminés avec une protéine allergénique, par exemple 35% d'identité avec une séquence de 80 acides aminés, pourrait être suspecte. Actuellement, il est difficile de prévoir quels acides aminés peuvent former des épitopes discontinus, car nous avons besoin de connaître la structure tridimensionnelle de la protéine.

En plus des épitopes linéaires et des épitopes de conformation, des glycanes (des chaînes d'hydrates de carbone liées à la protéine) se sont également avérés être des sites majeurs de liaison avec les **IgE** dans les glycoprotéines allergéniques.

Dans une étude complémentaire publiée en septembre 2004 [3], un nouvel outil faisant appel au web a été employé pour prévoir l'allergénicité potentielle des protéines et des peptides conformément aux recommandations actuelles par la Consultation Experte de la *FAO* et de l'*OMS*, conformément au *Codex Alimentarius* [4, 5]. La Commission du *Codex Alimentarius* a été créée par la *FAO* (l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture) et la *WHO* ou *OMS* (l'Organisation Mondiale de la Santé) pour fixer des normes alimentaires internationales.

La séquence des acides aminés d'une protéine est comparée à toutes les protéines allergéniques connues et recherchées à partir des bases de données des protéines pour identifier des ensembles linéaires de 80 acides aminés avec une similitude de plus de 35%, ou des petites séquences identiques d'au moins 6 acides aminés.

La capacité du procédé de prévoir des allergènes est évaluée en examinant des ensembles connus d'allergènes et de non-allergènes. Indépendamment de la réalisation de prévisions correctes, les deux méthodes sont tombées sur des " faux positifs " et des " faux négatifs ".

Le nombre des " faux négatifs » diminue lorsque l'on fait appel à une plus grande base de données des séquences allergéniques, tandis que le nombre de " faux positifs " augmente avec la taille de la base de données.

Des " faux négatifs ", des " faux positifs " et un besoin de précaution

Les chercheurs précisent que le nombre de " faux positifs " peut être surestimé, parce que certains des 'non-allergènes' utilisés sont liés et montrent des similitudes avec leurs contreparties allergéniques.

Mais c'est précisément pourquoi nous devons prendre au sérieux toutes les réponses positives. En fait, au moins 5 des 12 séquences de protéines utilisées comme 'non-allergènes', ont été rapportées comme réagissant avec d'autres classes d'anticorps **IgG** et **IgM** : elles sont de ce fait **immunogènes**, sinon allergéniques.

Un autre avertissement, précisé par les chercheurs, est qu'une protéine appartenant à un groupe d'allergènes complètement nouveau est susceptible de produire des résultats " faux négatifs". Ceci s'appliquerait à la majorité de protéines transgéniques qui n'ont jamais fait partie de notre chaîne alimentaire.

Comme conseillé dans la publication antérieure et également par les organismes *FAO* et *OMS*, les résultats devraient donc être combinés avec d'autres méthodes d'évaluation de l'allergénicité, telles que la digestibilité et la liaison d'antisérums à partir d'autres patients, ou encore, si possible, des tests d'expositions chez des animaux. Mais, là aussi, il y a encore beaucoup à faire.

Il est très difficile d'évaluer l'allergénicité des aliments provenant d'**OGM** quand le gène transféré dans la plante provient d'un organisme dont le potentiel allergénique est inconnu. D'ailleurs, il est également possible qu'en raison du transfert de gène ou de l'insertion de l'ADN transgénique, un nouvel allergène soit développé, ou encore que l'expression d'un allergène mineur soit augmentée dans une plante génétiquement modifiée.

Le produit du gène peut également avoir un effet auxiliaire d'aide comme allergénique (facteur *helper*) sur un composant alimentaire de bas potentiel allergénique; ou réciproquement, un certain composant

dans l'aliment génétiquement modifié peut avoir un effet auxiliaire sur l'allergénicité du produit de transgène.

Malheureusement, alors qu'il y a de bons modèles animaux pour des tests nutritionnels ou toxicologiques, aucun modèle animal satisfaisant n'a été jusqu'ici développé pour déterminer l'allergénicité [6]. Pour l'instant, des méthodes indirectes sont seulement disponibles pour évaluer le potentiel allergénique des aliments génétiquement modifiés dérivant de sources inconnues d'allergénicité. Les essais de criblage décrits ci-après sont une étape préliminaire utilisable.

Si le résultat est positif, alors des essais *in vitro* doivent être réalisés pour la réaction d'IgE, particulièrement lorsque la plupart des épitopes sont discontinus. L'absence d'une réaction positive *in vitro* ne garantit pas que la protéine transgénique ne soit pas un allergène.

Dans un type d'approche indirecte, sous forme d'arbre décisionnel, la prochaine étape est de considérer : le poids moléculaire, la **glycosylation**, la stabilité, la solubilité et le **point isoélectrique** de la protéine transgénique, comparativement aux allergènes connus [7].

Malheureusement, dans la plupart des études disponibles à ce jour, la capacité – tout à fait importante - de la protéine transgénique à résister à la dégradation dans l'intestin est étudiée dans un système gastro-intestinal simulé *in vitro* [8, 9]; et c'est fondamentalement défectueux. De ce fait, les résultats sont faux dans le meilleur des cas, ou ils sont incorrects, dans le pire des cas.

La confiance élevée dans le concept qui reconnaît que la plupart des allergènes sont des protéines quantitativement abondantes, n'est probablement pas justifiée : par exemple, *Gad1*, l'allergène principal chez la morue, n'est pas une protéine prédominante chez cet animal [10].

En l'absence de méthodes nouvelles et fiables pour l'évaluation de l'allergénicité, en particulier le manque de bons modèles animaux, il est actuellement presque impossible d'établir avec certitude qu'une nouvelle plante génétiquement modifiée soit allergénique ou pas, avant sa dissémination dans la chaîne alimentaires des animaux et des êtres humains.

Selon notre point de vue, avec des aliments consommés par des millions de personnes, tous les résultats positifs devraient être considérés comme significatifs jusqu'à ce qu'un ensemble de tests appropriés puisse définitivement les exclure comme des " faux positifs ".

En Amérique du Nord et ailleurs, les aliments génétiquement modifiés ne sont pas étiquetés et ceci a pu conduire à la dissémination d'allergènes non identifiés qui peuvent en fait trouver leur origine dans des aliments dérivés d'OGM.

Références bibliographiques

1. Kleter GA and Peijnenburg Ad ACM. Screening of transgenic proteins expressed in transgenic food crops for the presence of short amino acid sequences identical to potential, IgE-binding linear epitopes of allergens. *BMC Structural Biology* 2002, 2:8 <http://www.biomedcentral.com/1472-6807/2/8>
2. Becker WM. Sequence homology and allergen structure (Topic 4). In *Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology – Allergenicity of Genetically Modified Foods – Rome, 22 – 25 January 2001*. Rome, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, 2001.
3. Fiers MWEJ, Kleter GA, Nijland H, Peijnenburg Ad ACM, Nap JP and van Ham R CHJ. Allermatch TM, a webtool for the prediction of potential allergenicity according to current FAO/WHO Codex alimentarius guidelines. *BMC Bioinformatics* 2004, 5:133 <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/5/133>
4. FAO/WHO: *Allergenicity of Genetically Modified Foods*, 2001 [http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec_jan2001.pdf]. Rome, Italy, FAO/WHO
5. FAO/WHO: *Codex Principles and Guidelines on Foods Derived from Biotechnology*, 2003 [<ftp://ftp.fao.org/codex/standard/en/CodexTextsBiotechFoods.pdf>]. Rome, Italy, Joint FAO/WHO Food Standards Programme
6. Helm RM and Burks AW. Mechanisms of food allergy. *Current Opinion in Immunology* 2000, 12, 647-53.
7. O'Neil C, Reese G and Lehrer SB. Allergenic potential of recombinant food proteins. *Allergy and Clinical Immunology International* 1998, 10, 5-9.
8. Astwood JD, Leach JN and Fuchs RL. Stability of food allergens to digestion *in vitro*. *Nature Biotechnology* 1996, 14, 1269-1273.
9. Metcalf DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL and Fuchs RL. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. In: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 36(S) 1996, S165-86. CRC Press Inc. Boca Raton, USA.
10. Bindslev-Jensen C and Poulsen LK. Hazards of unintentional/intentional introduction of allergens into foods. *Allergy* 1997, 52, 1184-6.
11. Stemmer WPC. Molecular breeding of gene, pathways and genomes by DNA shuffling. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2002, 19-20, 2-12.

Définitions et compléments d'information en français

Allergène : c'est une substance chimique (atome, molécule, protéine) capable de provoquer une réaction allergique chez un sujet préalablement sensibilisé lorsqu'il est à son contact (le plus souvent par contact avec la peau, inhalation, ou ingestion). Poussières, pollens, moisissures, poils d'animaux sont les allergènes les plus fréquents, bien que toute substance puisse devenir un allergène pour un sujet donné. On ne devient allergique qu'avec au moins *deux* contacts avec un allergène. Le premier contact n'entraîne aucune réaction visible : les cellules responsables de l'allergie deviennent hypersensibles (par un mécanisme mal connu) à une substance normalement inoffensive. Puis, dès le deuxième contact, l'allergène va entraîner, en se liant aux cellules citées plus haut, la cascade de réactions aboutissant à une manifestation allergique (du simple rhume des foins au choc anaphylactique, en passant par la crise d'asthme).

Pour en savoir plus, voir : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Allerg%C3%A8ne>

Bt : voir Toxine Bt.

Cry : voir Toxine Bt.

Epitope ou déterminant antigénique : c'est la partie d'un antigène qui est reconnue par un anticorps ou par un récepteur qui est situé à la surface d'un lymphocyte.

Glyphosate : c'est une matière active utilisée comme herbicide sous différentes marques commerciales dont le "*Roundup*", mis au point par la société Monsanto et dont le brevet de fabrication est tombé dans le domaine public en 2000. Pour agir, le glyphosate doit pénétrer dans les "mauvaises herbes" par les feuilles puis il est ensuite transporté par la sève dans toute la plante (des feuilles aux racines) jusqu'aux organes en croissance. C'est à ce niveau qu'il va inhiber la synthèse des acides

aminés nécessaires à l'élaboration des cellules. Une plante génétiquement modifiée "*Roundup Ready*" est une plante transgénique capable de résister à une application de glyphosate. Ainsi, un champ de plantes "*Roundup Ready*" peut être traité avec de l'herbicide "*Roundup*" sans que la culture ne soit atteinte. L'entreprise Monsanto, qui commercialise ces plantes, a ainsi compensé la perte de son brevet sur le glyphosate, en distribuant des semences de plantes résistantes à cet herbicide, en brevetant ces plantes et en vendant avec le "*Roundup*" dans le cadre d'un contrat obligeant cette vente liée. La toxicité du "*Roundup*" (et donc du glyphosate) a souvent été mise en cause. Information inspirée du site : http://www.infogm.org/article.php3?id_article=962

Glycolysation : processus d'accrochage d'une unité glucidique à des acides aminés ou à des protéines.
IgE, IgG et IgM ou Immunoglobulines : protéines du sérum sanguin sécrétées par les plasmocytes, issus des lymphocytes (globules blancs intervenant dans l'immunité cellulaire) de type B en réaction à l'introduction dans l'organisme d'une substance étrangère (antigène). À sa naissance, le nouveau-né possède certaines des immunoglobulines de sa mère, qui ont traversé le placenta pendant la grossesse et qui persistent quelques mois. Ensuite, il crée lui-même son immunité au contact des antigènes. Les **IgE** (450 nanogrammes par litre), ont un rôle clé dans la défense contre les parasites et dans le mécanisme de l'allergie. Elles sont sécrétées contre les allergènes (certains types d'antigènes) et entraînent dans l'organisme la libération d'histamine, substance responsable de l'apparition des symptômes de l'allergie. Les **IgG** (12 grammes par litre de sang), sont produites lors d'un contact avec un antigène qui se prolonge ou lors d'un second contact de l'organisme avec un antigène. C'est la réponse mémoire, principe selon lequel fonctionnent l'immunité acquise et les vaccins. Une immunoglobuline est capable de se fixer spécifiquement sur l'antigène qui a provoqué sa synthèse ; elle prend alors le nom d'anticorps. Les **IgM** sont des immunoglobulines sécrétées lors du premier contact de l'organisme avec un antigène. Pour en savoir plus, se reporter au site suivant : http://www.actions-traitements.org/mot.php3?id_mot=440

Modification ou manipulation ou transformation génétique ou transgénèse : ensemble de manipulations de laboratoire qui consistent à intégrer de l'ADN recombiné d'origine(s) diverse(s) dans du matériel vivant receveur pour donner naissance à un **Organisme Génétiquement Modifié** ou **OGM**.

OGM : **Organismes Génétiquement Modifiés** (on dit également transformés ou manipulés ou **transgéniques**). Nom donné à un être vivant issu d'une cellule dans laquelle a été introduit un fragment d'ADN recombiné, étranger. L'individu OGM qui en résulte, possède dans toutes ses cellules l'ADN recombiné étranger introduit au départ et intégré dans son patrimoine génétique.

Point isoélectrique ou pHi ou pH isoélectrique ou encore point isoionique : propriété d'un composé peptidique ou protéique qui se présente sous la forme zwitterion ou ion mixte, et dont la charge globale est nulle : il y a autant de charges positives que de charges négatives. Il est fonction des chaînes latérales ionisables et des parties terminales. Il peut être déterminé expérimentalement pour chaque composé.

Toxine Bt : *Bacillus thuringiensis* est une bactérie du sol qui produit de grandes quantités d'une substance toxique pour les insectes : la protéine "crystal" (**Cry**) ou **toxine Bt**. Pour de plus amples informations sur les **plantes Bt**, l'on peut se reporter à la note de J. Gaffé, Maître de Conférences à l'Université Joseph Fourier en consultant : <http://www.ujf-grenoble.fr/PDC/OGM/protection2.html>

Transgène : c'est une suite ou séquence de bases nucléiques, isolées d'un ou de plusieurs gènes, qui est construite et utilisée en vue de son intégration dans une cellule dans le but de modifier ou de transformer génétiquement celle-ci. Le but est de régénérer ensuite un individu fonctionnel ou OGM = Organisme Génétiquement Modifié. Un transgène peut être conçu et réalisé à partir d'une ou de plusieurs espèces différentes.