

Élelmiszer eredetű fehérje antigének sorsa a tápcsatornában

Gelencsér Éva

Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
Budapest, 2012. november 8.

Tartalom

1. Tápcsatorna emészthetőségi vizsgálatok patkánymodellben (SBA, KTI, BBI) (COST 98)
2. Tápcsatorna emészthetőségi vizsgálatok sertésmodellben (CryIAb)(GMSAFOOD)

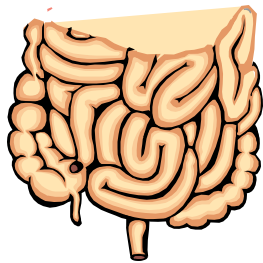


I. Tápcsatorna emészthetőségi vizsgálatok patkánymodellben (SBA, KTI, BBI)



Gyomorszondás adagolás
20 mg/ml of SBALB

90 perc múlva



Extrakció a bélfalról

0,01M PBS-0,1M N-galaktóz (pH=7,4)

Lektinek (SBA)

Gyomor, béltartalom mosás aprotinin tartalmú jeges DV
vízzel

Tripszin inhibitorok (BBI, KTI) és más bioaktív fehérjék/allergének

Növényi lektinek túlélése a tápcsatornában

Lektin	Forrás	Cukor specificitás	Visszanyerés, %
ConA	Jack bab	α -D-mannóz, α -D-glükóz	>90
PHA	Vörös vesebab	N-acetil- galaktózamin	>90
GNA	Hóvirág hagyma	α -1-3 mannóz	>90
SBA	Szójabab	N-acetil - D-galatózamin	40-50
WGA	Búzacsíra	N-acetil- β -D- glükózamin	50-60
PSA	Borsó	α -D-mannóz	30-40
VFL	Lóbab	α -D-mannóz	20-30

► Proteins: Biochemistry and Biotechnology. G. Walsh (ed). Wiley, 2001, 137; Pusztai et al. In: COST 98, Bardocz et al. (eds.), EC, 1996, 1, 22-28.

Szója lektin (SBA)

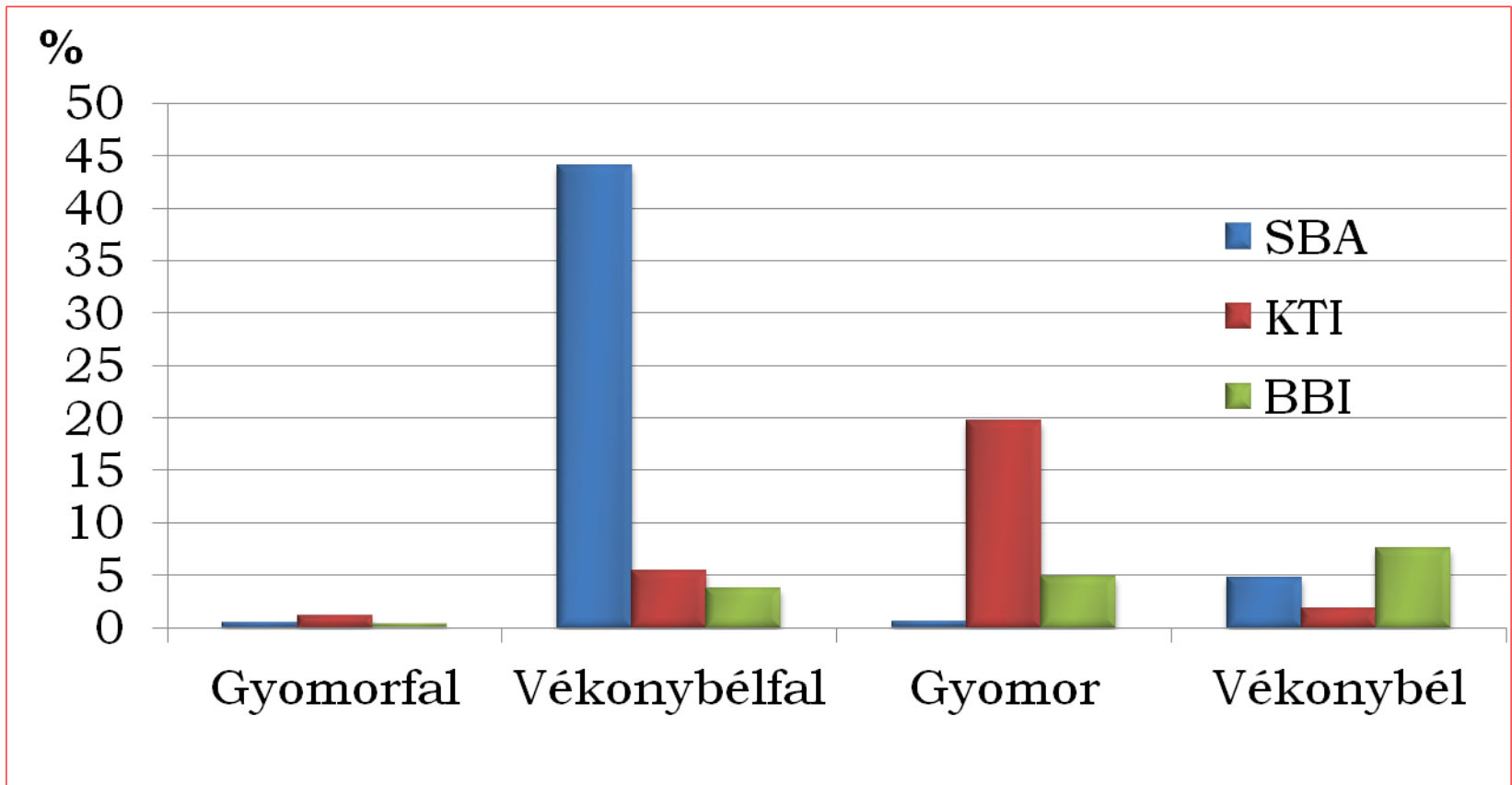
- ▶ proteolízisnek ellenálló a tápcsatornában
- ▶ specifikus kötődés glükó-konjugátumokhoz (tápcsatorna/mikroba)
- ▶ mitogén hatás (vékonybél proliferáció)
- ▶ endocitózis (szisztémás hatás a szerveken/ immunmodulálás)
- ▶ hosszantartó etetésnél negatív N-mérleg

Szója proteáz inhibitorok (KTI, BBI)

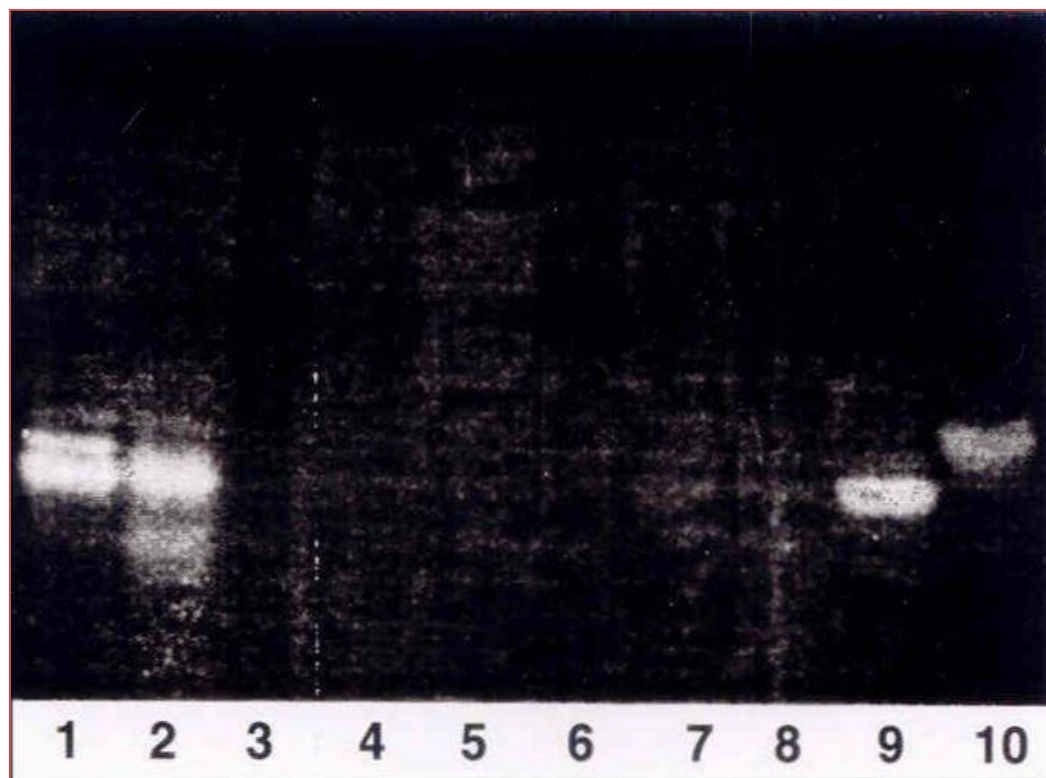
- ▶ specifikus 3D szerkezet-tripszin aktív kötőhely blokkolása
- ▶ csökkent fehérje/peptid emészthetőség
- ▶ pankreász hiperplázia és hiperszekréció
- ▶ megnövekedett endogén fehérje szekréció
- ▶ negatív N-mérleg



Tápcsatornában rezisztens immunreaktív szója lektin és proteáz inhibitorok



Az enzim inhibitorok aktivitása patkány gyomorban és bélben

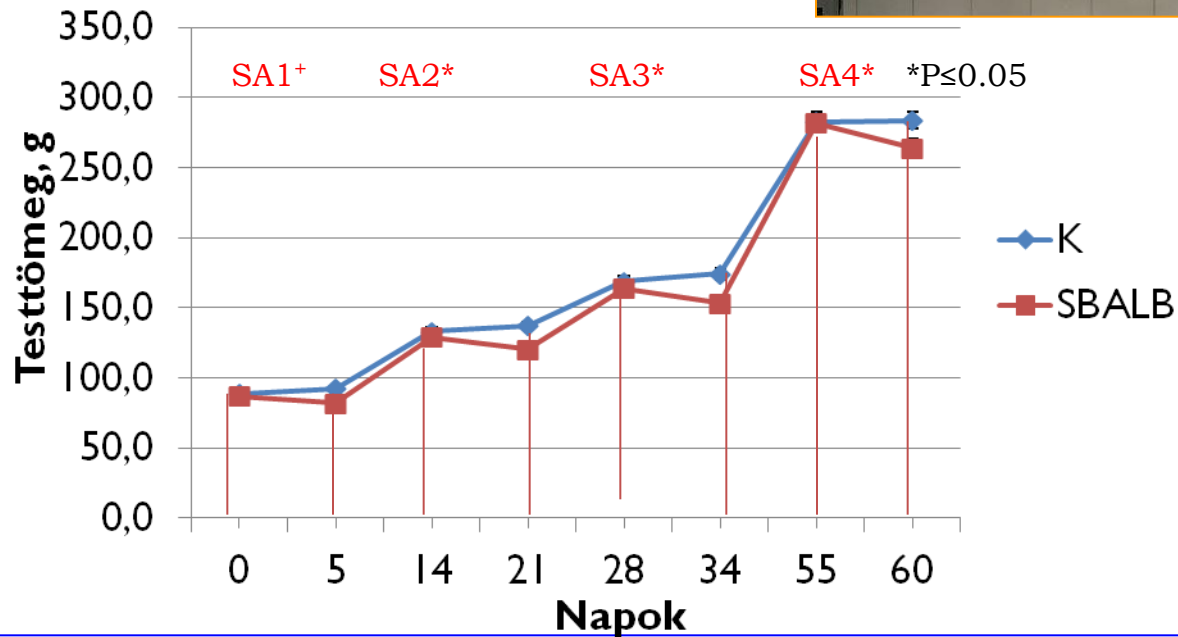


1. SBALB
2. Gyomor
- 3-8. Vékonybél
9. BBI (TRY/CHY)
10. KTI (TRY)



SBALB/LA terheléses patkányetelési kísérlet

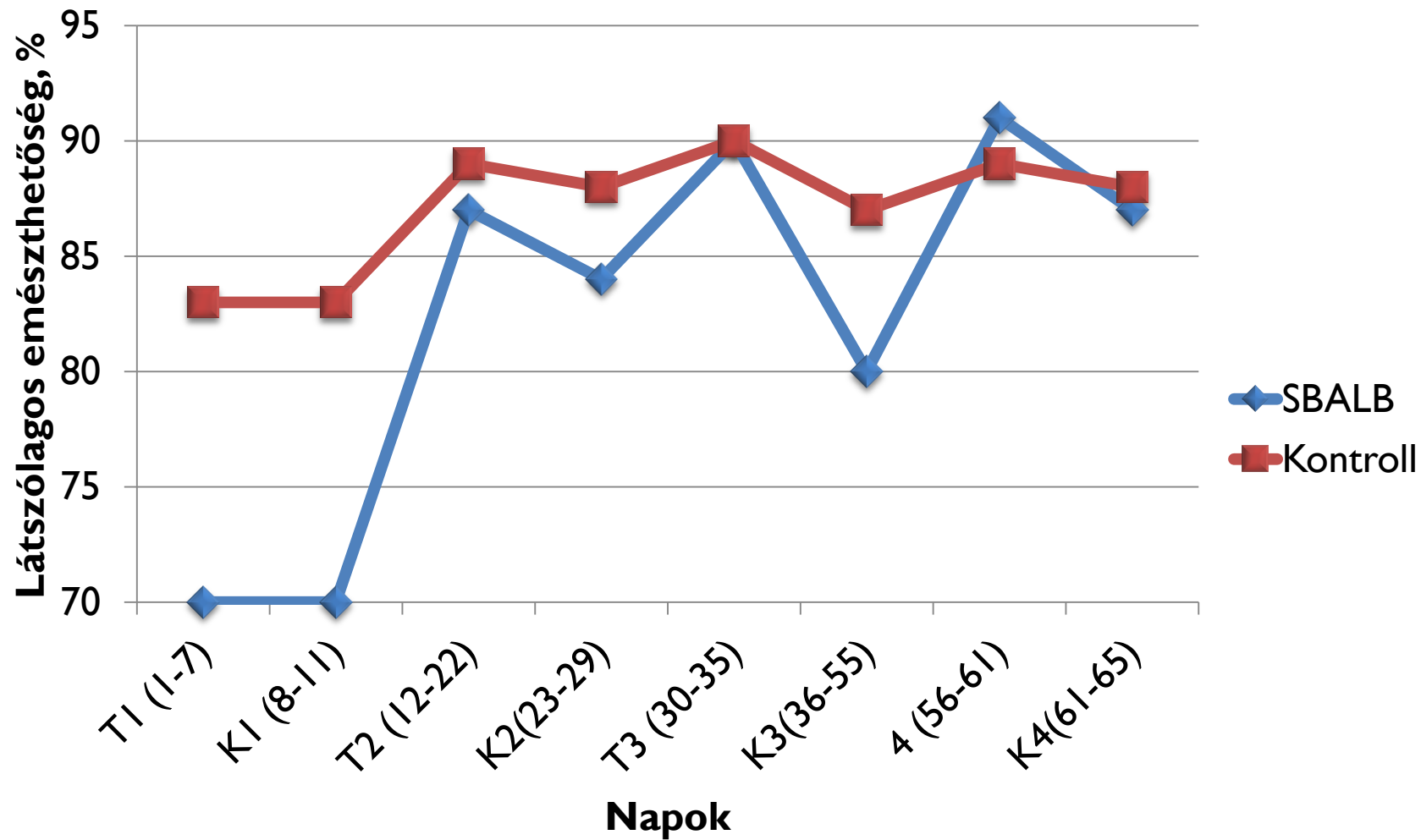
SBA bevitel: 210 mg/kg testtömeg/nap



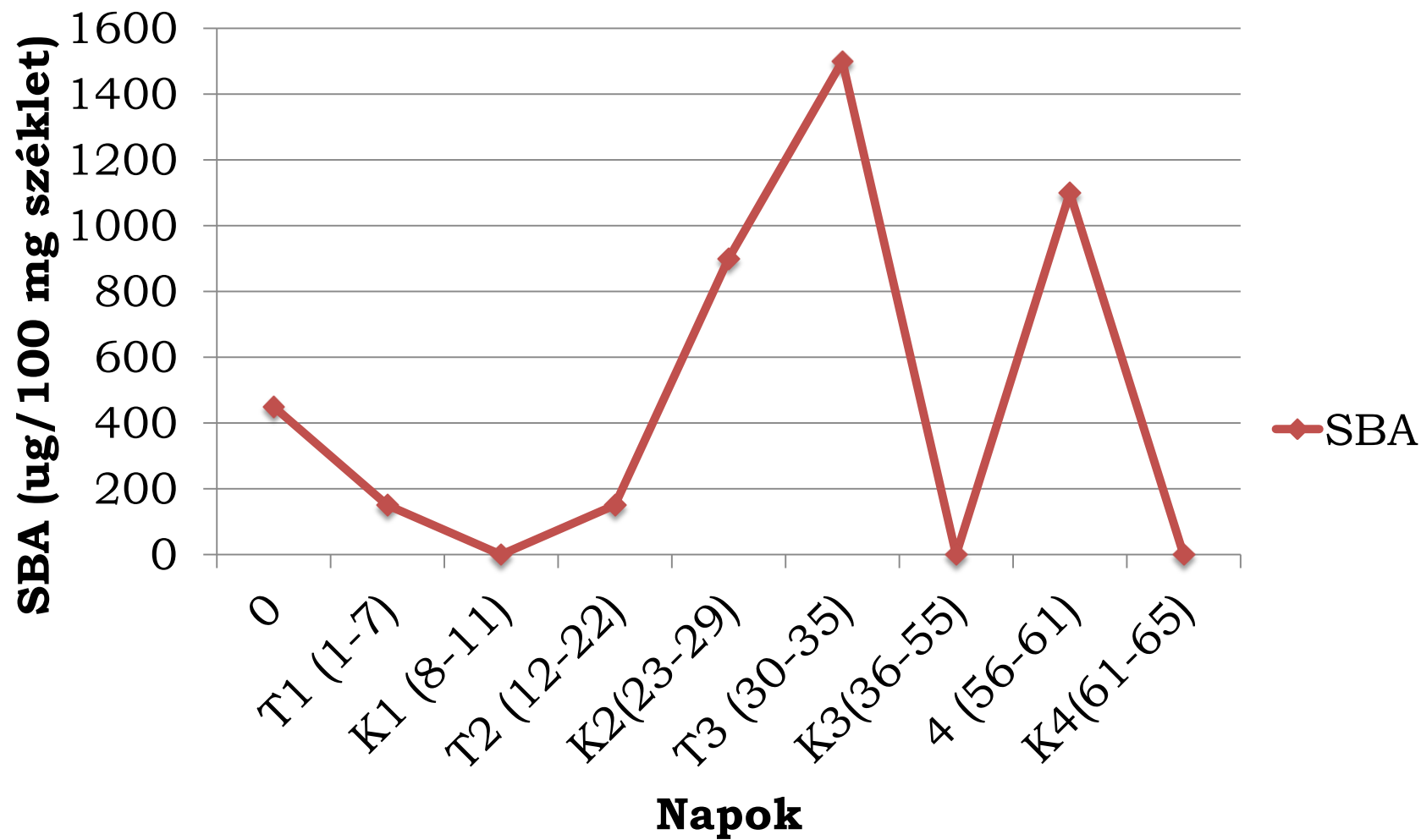
Sz.ttg (mg)	vékonybél	1491	1520	pankreász	334	439*
				máj	2304	2101*



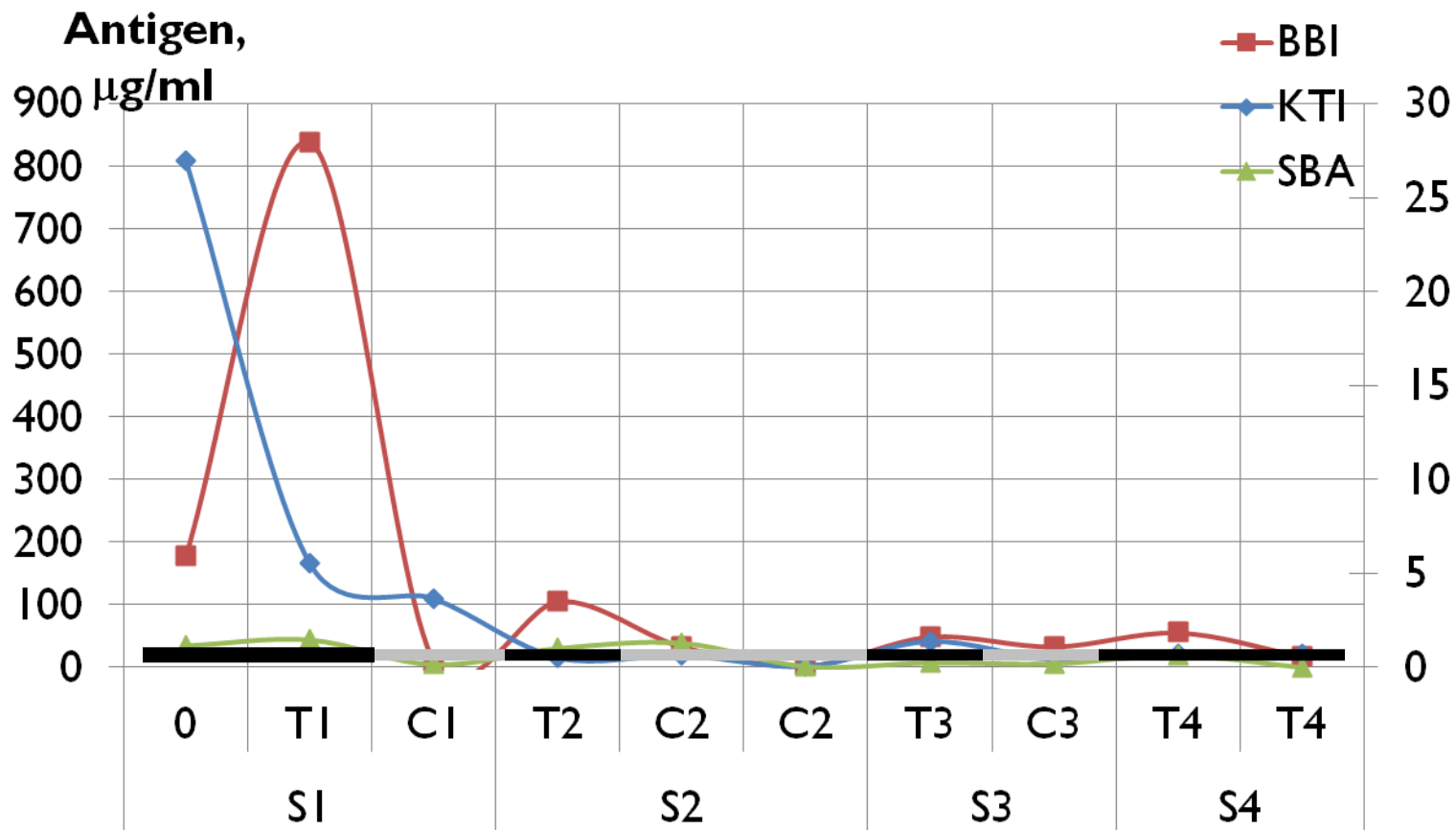
Látzólagos emészthetőség (%)



Székletbe kiválasztott SBA szintje



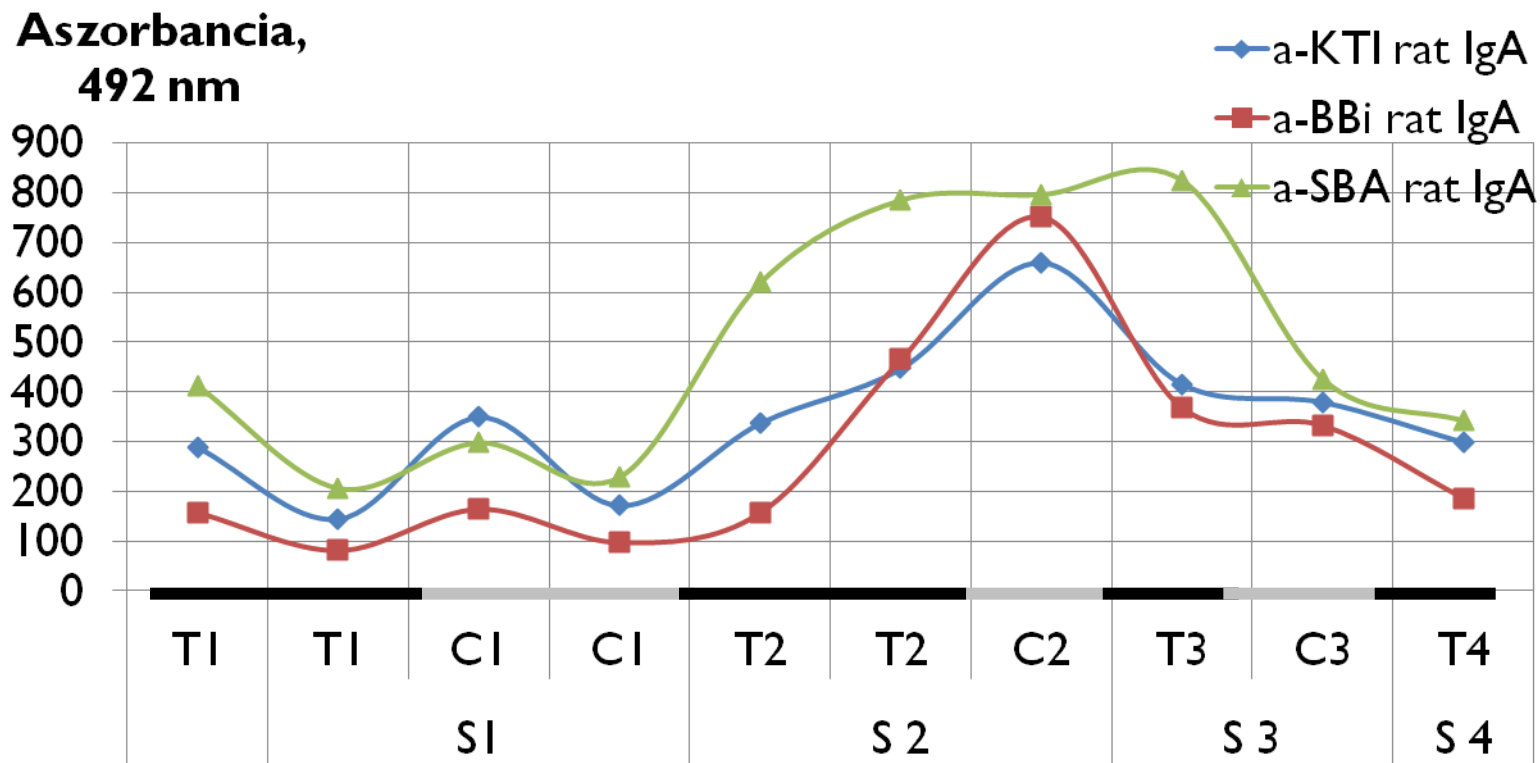
Immunreaktív SBA, KTI, BBI szintje patkány szérumban



SBALB: 1-7, 16-22, 30-35, 55-61; LA 8-15, 23-29, 36-55



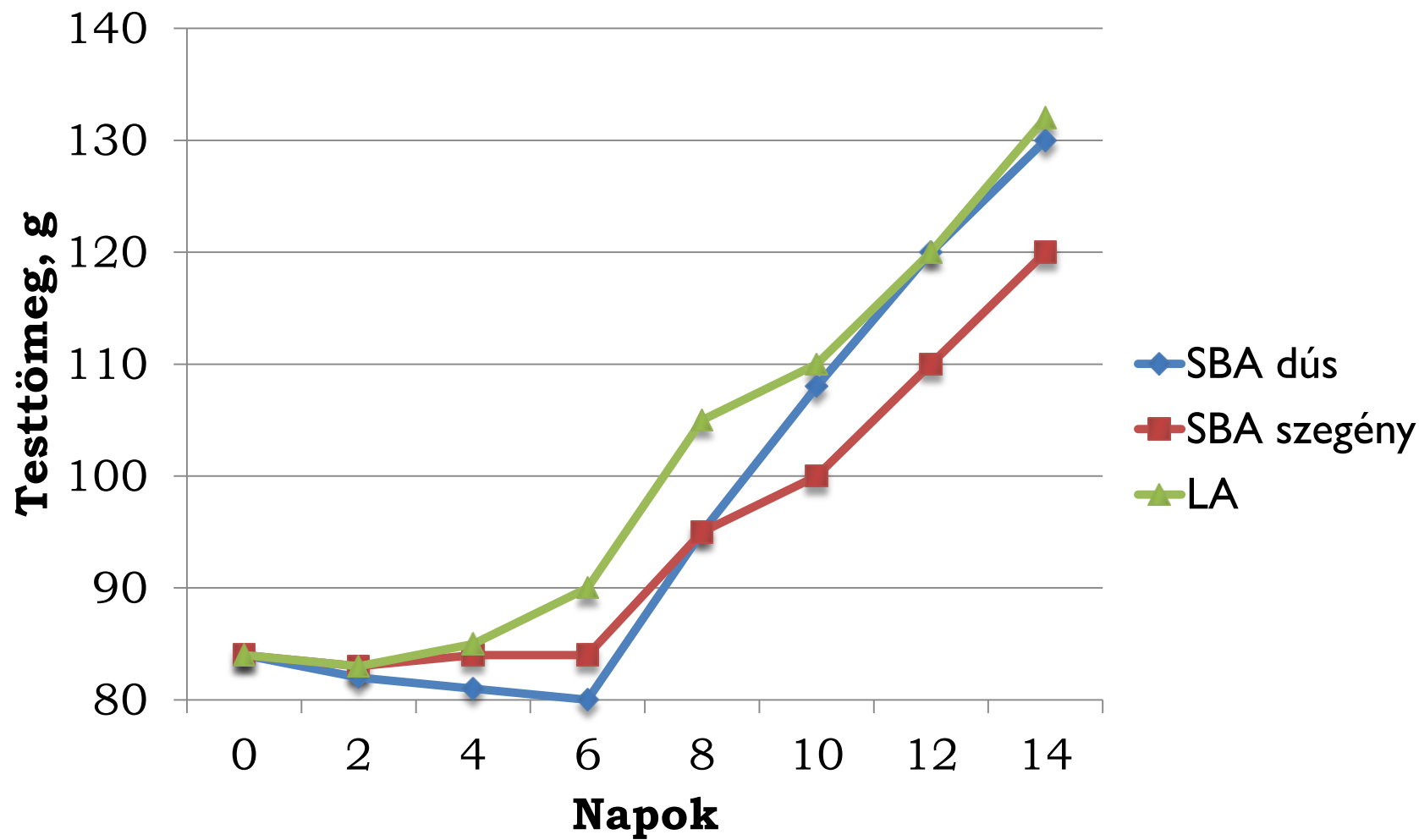
Specifikus IgA szintje a székletben



SBALB: 1-7, 16-22, 30-35, 55-61; LA 8-15, 23-29, 36-55



SBA hatást igazoló testtömeg növekedési görbe



Következtetések

- ▶ KTI, BBI jelentősen degradálódott a tápcsatornában
- ▶ SBA funkcionálisan aktív formában mérhető volt a tápcsatornában és jelentős mértékben javította a fehérjehasznosulást a LA szakaszban.
- ▶ SBA csökkentett SBALB etetésénél a pozitív hatás elmaradt a LA szakaszban
- ▶ a funkcionálisan aktív SBA vékonybél proliferációt eredményezett, segítve ezzel a tápcsatorna felszívó felületének gyorsabb megújulását, mely kedvezőbb látszólagos emészthetőséget és jobb takarmány hasznosulást biztosított
- ▶ az immunaktív SBA a tápcsatornához kapcsolt immunitásra is kedvező hatást gyakorolhat

2. Tápcsatorna emészthetőségi vizsgálatok sertésmodellben

Large White × Landrace



Cry1Ab (*Bacillus thuringiensis*) fehérjét hordozó kukorica

- rövid ideig tartó
- hosszú ideig tartó
- keresztgenerációs kísérletek

Teagasc

Breed Evaluation Unit,
Moorepark Research
Centre, Ireland



KÉKI



Cry I Ab fehérje

- ▶ Cry I Ab (*Bacillus thuringiensis*) fehérjét nem találták toxikusnak haszonállatokban
- ▶ Cry I Ab nem mutatott homológiát ismert allergénekkal és sikeresen lebomlott szimulált gyomor és bélfolyadékokban
- ▶ Kukoricamoly ellenálló MON 810 kukoricával etetett patkányok immunválaszában eltérést tapasztaltak a nGM kukoricával szemben

EFSA (2009) Scientific opinion of the panel on genetically modified organisms on applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for the renewal of authorisation for the continued marketing EFSA J 1149.

W. Xu, S. Cao, X. He, Y. Luo, X. Guo, Y. Yuan, K. Huang (2009) Safety assessment of Cry I Ab/Ac fusion protein Food and Chemical Toxicology, 47., 1459–1465

Finamore et al. (2008) Intestinal and peripheral immune response to MON810 maize ingestion in weaning and old mice. J Agric Food Chem 56: 11533–11539.



Rövid ideig tartó sertés etetési kísérlet (31 nap)

Csoportok: 10 állat/csoport

1. GM kukorica (Pioneer PR34N44 event MON810)
2. nGM kukorica (Pioneer PR34N43)

Tápok: 38.9% GM (CryIAb 103 ppb) vs nGM kukorica
31 napig

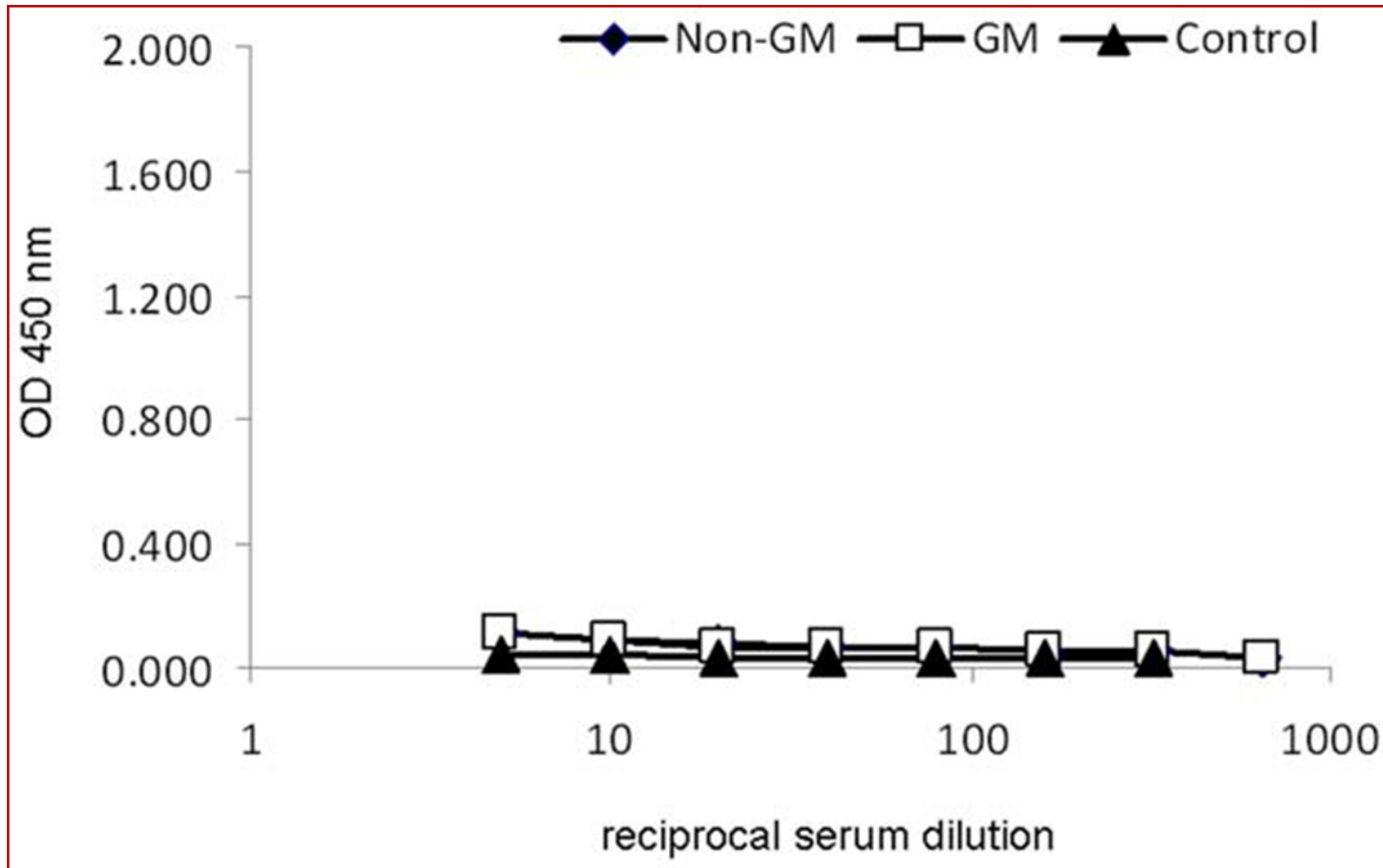
Minták: (CryIAb; CryIAb IgG/IgA): gyomor és vékonybél
folyadék, plazma, szervek, ST izom)

Cry I Ab fehérje sorsa tápcsatornában

Minták	Pozitív minták száma		Cry I Ab, konc. (ng/ml)	Pozitív esetek gyakorisága (%)
	nGM	GM		
Gyomor	0	3	2.74	30
Vékonybél	0	8	2.45	80
Vagbél	0	3	2.41	30
Vastagbél	0	8	2.67	80
Plazma	0	0	<LOD	0
Máj	0	0	<LOD	0
Lép	0	0	<LOD	0
Vese	0	0	<LOD	0
ST izom	0	0	<LOD	0

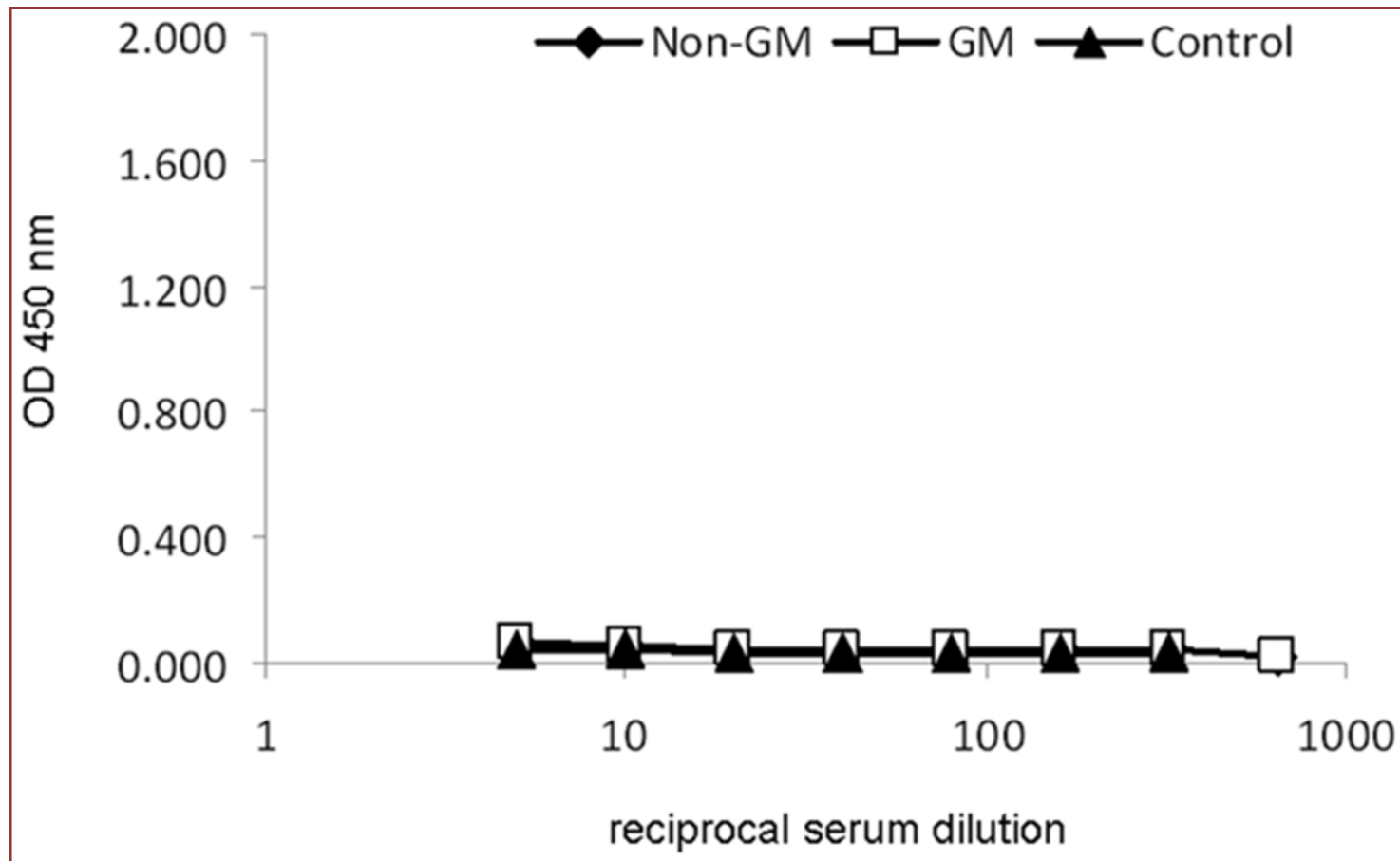


GM vs nGM kukorica rövidtávú etetésének hatása a sertés plazma Cry I Ab IgG szintjére



Cry I Ab IgG nem volt detektálható (ELISA) egyik vizsgált mintában sem (N=10; n=2)

GM vs nGM kukorica rövidtávú etetésének hatása a sertés plazma Cry I Ab IgA szintjére



Cry I Ab IgG nem volt detektálható (ELISA) egyik vizsgált mintában sem (N=10; n=2)

Közepesen hosszú ideig tartó sertés etetési kísérlet (110 nap)

Csoportok: 10 állat/csoport

1. GM kukorica (Pioneer PR34N44 event MON810)
2. nGM kukorica (Pioneer PR34N43)

Tápok: választástól 110 napig (CryIAb 103 ppb)

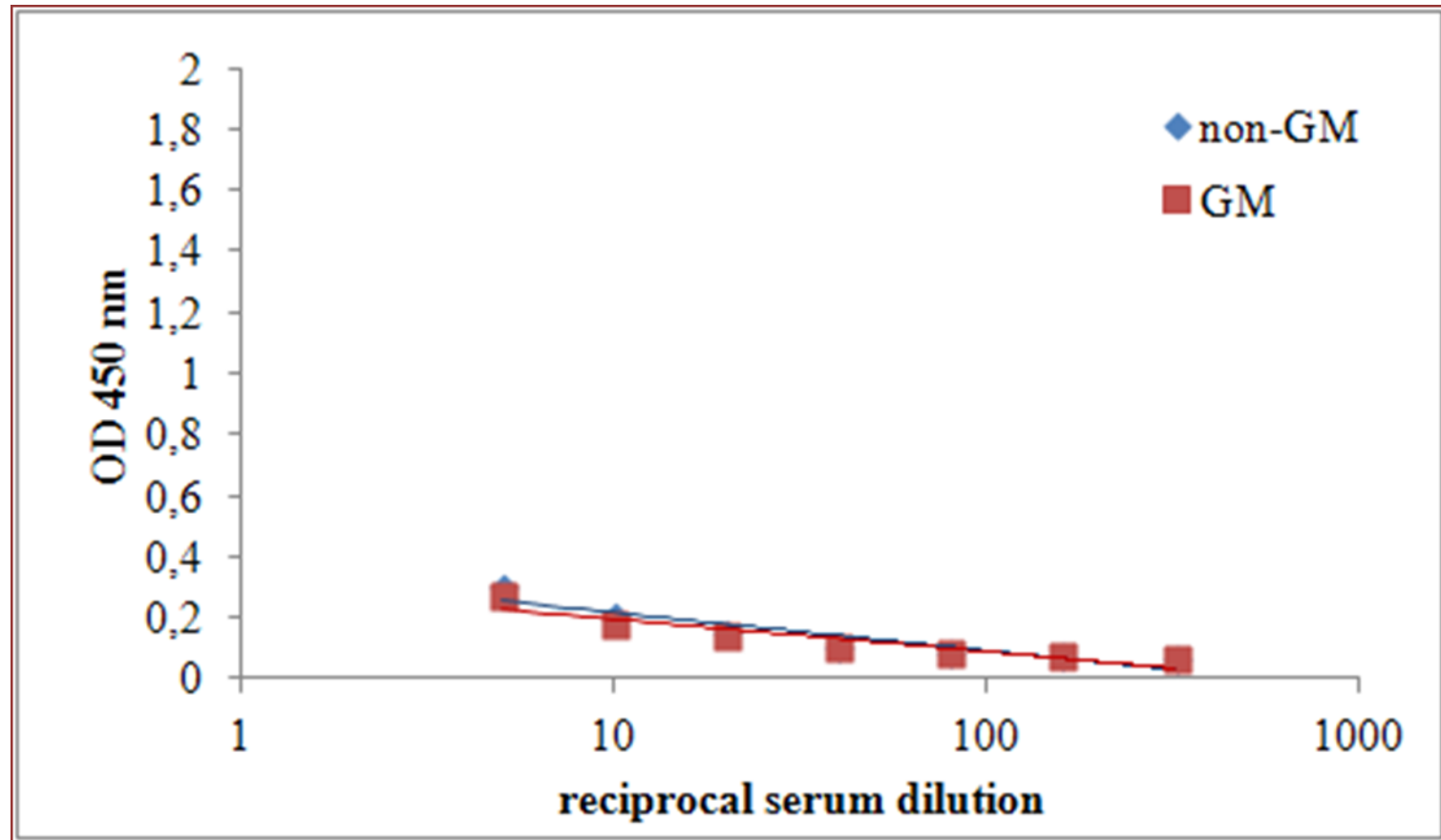
indító	27.3%	12 napig
szoktató	38.9%	30 napig
választási	65.3%	28 napig
hizlaló 1	73.4%	42 napig
hizlaló 2	79.1%	47 napig

Minták: (CryIAb; CryIAb IgG/IgA) gyomor és vékonybél folyadék, plazma, (0, 27, 55, 97, vágási nap) szervek, ST izom

Cry I Ab fehérje tápcsatorna rezisztencia és transzlokáció vizsgálata

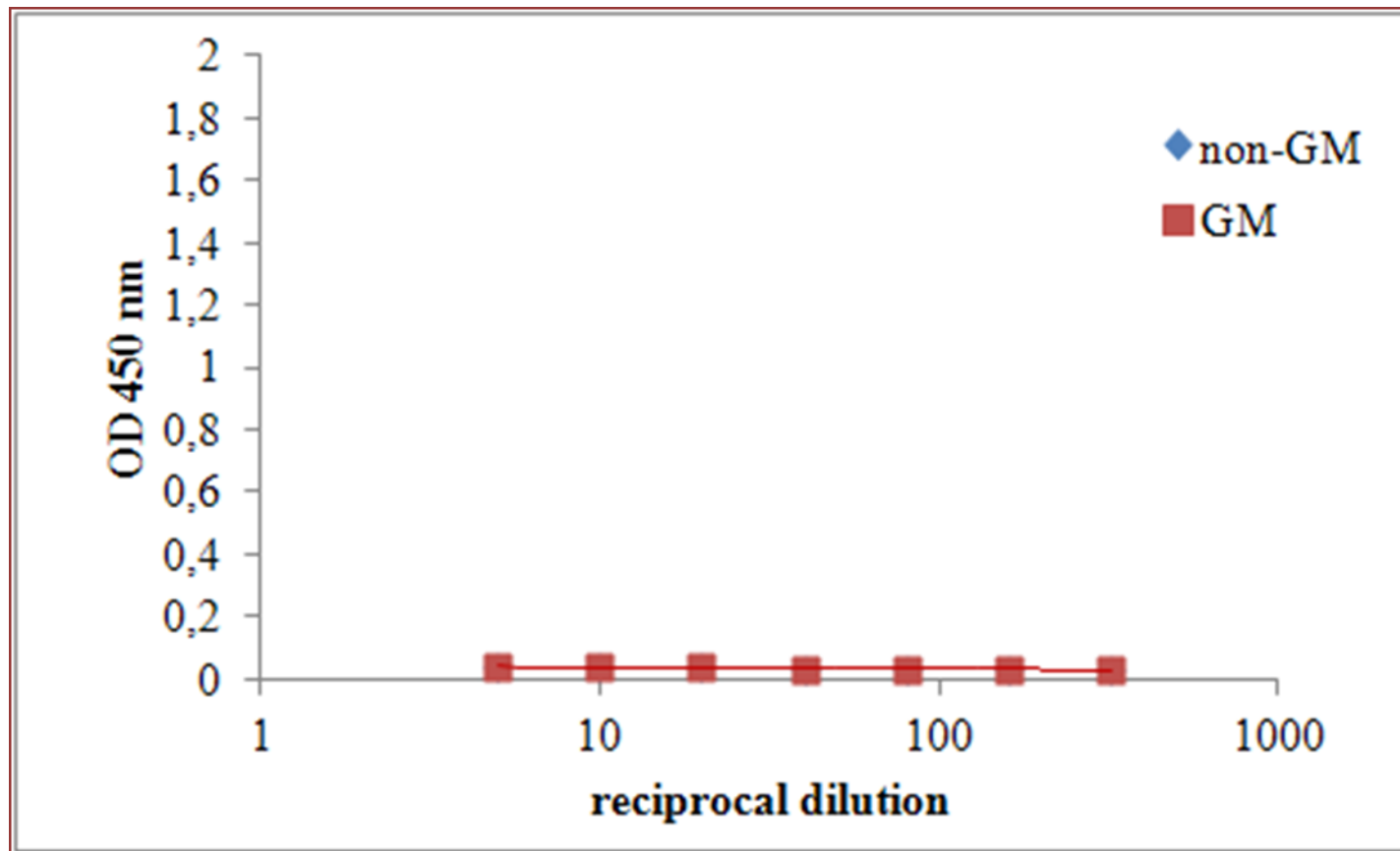
Minták	Pozitív minták száma		Cry I Ab, konc. (ng/ml)	Pozitív esetek gyakor. (%)
	nGM	GM		
Gyomor	0	10	25.45	100
Vakbél	0	8	8.69	80
Vastagbél	0	10	32.74	100
Bélfodri nyirokcsomó	0	0	<LOD	0
Plazma 27	0	0	<LOD	0
Plazma 55	0	0	<LOD	0
Plazma 97	0	0	<LOD	0
Plazma vágási	0	0	<LOD	0
Máj	0	0	<LOD	0
ST izom	0	0	<LOD	0

GM vs nGM kukorica középtávú etetésének hatása a sertés plazma Cry I Ab IgG szintjére



Cry I Ab IgG nem volt detektálható (ELISA) egyik vizsgált mintában sem (N=10; n=2)

GM vs nGM kukorica középtávú etetésének hatása a sertés plazma Cry I Ab IgA szintjére



Cry I Ab IgG nem volt detektálható (ELISA) egyik vizsgált mintában sem
(N=10; n=2)

Kereszt-generációs sertés etetési kísérlet

Csoportok: 10 állat/csoport

1. GM kukorica (Pioneer PR34N44 event MON810)
2. nGM kukorica (Pioneer PR34N43)

Tápok: inszeminációtól a laktáció végéig (Cry I Ab 103 ppb)

143 nap GM vs nGM kukorica

kocatáp a vemhesség alatt **86.55%**

kocatáp a laktáció alatt **74.42%**

Minták: (Cry I Ab; Cry I Ab IgG/IgA): plazma (koca 0, 28, 110 nap és a laktáció végén; választási malac 28 nap), kolosztrum (koca)

Cry I Ab és Cry I Ab IgA/IgG nem volt kimutatható a mintákban

Következtetések

Kukoricamoly ellenálló MON 810 kukoricával különböző ideig etetett sertésekben

- a Cry I Ab fehérje a tápcsatornában ellenállt az emésztésnek, de már nem tapasztaltunk transzlokációt a keringésbe, a szervekbe és az izomba
- a sertések Cry I ab specifikus ellenanyag válaszában nem tapasztaltunk eltérést a nGM kukoricával szemben
- adataink a korábbi irodalmi adatokkal nem voltak ellentmondásban
- további vizsgálatok szükségesek a tápcsatornában túlélő Cry I Ab fehérje lektin aktivitásának vizsgálatára

-
- Reuter, T., Aulrich, K. (2003): Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of feed ingested foreign DNA in pig bodies. Europ. Food. Res. Technol. 216:185-192

Köszönet a KÉKI
Biológiai Osztály
munkatársainak, akik
munkájukkal aktívan
vettek részt a kutatási
eredmények
létrehozásában!

Köszönöm megtisztelő
figyelmüket !

