

Nachweis von ZNS-Kontaminationen in Fleisch

B. Sandmeier¹, C.-M. Becker², R. Rotheneder³, M. Gareis³, M. Pischetsrieder¹

¹Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Universität Erlangen-Nürnberg

²Institut für Biochemie, Universität Erlangen-Nürnberg

³Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach

Das zeitlich dicht aufeinanderfolgende Auftreten der Prionenkrankheiten Scrapie beim Schaf, BSE beim Rind und der neuen Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit vCJD beim Menschen legen die Folgerung nahe, dass die Aufnahme von erregertauglichem Material mit der Nahrung solche übertragbaren spongiformen Enzephalopathien (TSE) auslösen kann. Die Erreger der TSE sind pathogene Prionen, die vor allem in Hirn und Rückenmark, aber auch in einigen anderen Organen nachgewiesen werden. Diese Gewebe werden daher als „spezifiziertes Risikomaterial“ definiert und sind für die Herstellung von Lebensmitteln nicht zugelassen [1]. Darüber hinaus entspricht die Verwendung von ZNS-Gewebe jeder Art für Fleischwaren nicht der allgemeinen Verkehrsauffassung [2].

Um sicherzustellen, dass Lebensmittel nicht mit Risikomaterial kontaminiert sind, wird in unserer Arbeitsgruppe eine immunochemische Nachweismethode für Gewebe des zentralen Nervensystems (ZNS) in Fleisch und Fleischerzeugnissen entwickelt.

Als Target dient das Proteolipid Lipophilin, oft auch als Myelin Proteolipidprotein (PLP) bezeichnet, das in relativ großen Mengen und äußerst selektiv im ZNS enthalten ist, und das sich aufgrund seiner Hydrophobizität leicht mit organischen Lösungsmitteln aus dem Probenmaterial extrahieren lässt [3].

Der Lösungsmittelextrakt wird entfettet und dann direkt zum Western Blot eingesetzt. Mit dieser Methode ist es möglich, Kontaminationen von 0,05% ZNS-Gewebe in Fleisch nachzuweisen.

Dass es sich um eine sehr selektive Nachweismethode handelt, belegen Versuche mit diversen anderen Geweben, z.B. Leber, Lunge, Niere oder Herz, die durchwegs keine positive Reaktion im Western Blot zeigten. Auch peripheres Nervengewebe wurde untersucht, und es konnte dort kein Lipophilin nachgewiesen werden. Die Wahrscheinlichkeit, ein falsch positives Ergebnis bedingt durch andere Gewebearten zu erhalten ist deshalb relativ gering. Hingegen in Rückenmark und Rückenmarkshäuten, die als Risikomaterial eingestuft werden, wurde die Anwesenheit von Lipophilin eindeutig belegt.

Da Proteine des zentralen Nervensystems hochgradig konserviert sind, können mit dieser Methode Kontaminationen von Hirn- oder Rückenmarksgewebe nahezu aller Tierarten nachgewiesen werden.

In ersten Versuchen zur Stabilität des Targets konnte bisher eine Hitzebeständigkeit von bis zu 90 min bei 75 °C festgestellt werden; allerdings können Lebensmittelzusatzstoffe, die bei der Wurstherstellung Anwendung finden, offensichtlich das Epitop derart verändern, dass es vom Antikörper nicht mehr erkannt wird.

Damit ist die vorliegende Methode sehr gut geeignet, ZNS-Kontaminationen auf Fleisch, die zum Beispiel während der Schlachtung erfolgen können, sehr selektiv und empfindlich nachzuweisen.

Literatur

1. VO (EG) Nr. 999/2001 Kapitel III
2. Deutsches Lebensmittelbuch: Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse
3. Folch J (1942) J. Biol. Chem. 146: 35

Isolierung, Klonierung und Expression von Glucosyltransferasen reifer Erdbeerfrüchte

S. Lunkenbein¹, A. Aharoni², R. Kaldenhoff³, W. Schwab¹

¹Biomolekulare Lebensmitteltechnologie, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TU München

²Plant Research International, BU Cell Cybernetics, Wageningen, Niederlande

³Lehrstuhl für molekulare Pflanzenphysiologie und Biophysik, Universität Würzburg

Glucosyltransferasen, die im pflanzlichen Sekundärmetabolismus eine wichtige Rolle spielen sind Enzyme, die einen Glucoserest von UDP-aktivierter Glucose auf niedriger-molekulare Substrate, wie Flavonoide, Alkaloide, Thiohydroximate, Cyanhydrine und Phenylpropanoide übertragen und dabei deren Stabilität und Wasserlöslichkeit erhöhen. Es entstehen hierbei entweder O-Glucoside oder O-Glucoseester. Nach Sequenzierung mehrerer zufällig ausgewählter ESTs einer Erdbeerfrucht-cDNA-Bibliothek (*Fragaria x ananassa*) erhielten wir vier Klone, die hohe Homologien mit Glucosyltransferasen bzw. Rhamnosyltransferasen aufwiesen. Diese vier Klone wurden vollständig sequenziert. Nach Transformation von kompetenten *E. coli* BL21 Zellen mit einem Konstrukt aus dem offenen Leserahmen (ORF) jeder der vier Glucosyltransferasen und dem Expressionsvektor pRSET B (Invitrogen) konnten wir, nach Aufreinigung der heterolog exprimierten Enzyme durch Affinitätschromatographie an einem Cobalt-Harz, bei einer der Glucosyltransferasen (SGT2) Aktivität gegenüber Zimtsäure und Zimtsäurederivate, sowie Benzoesäure und Benzoesäu-