

BULLETTIN

EEN UITGAVE VAN HET INSTITUUT VOOR GRAAN, MEEL EN BROOD TNO

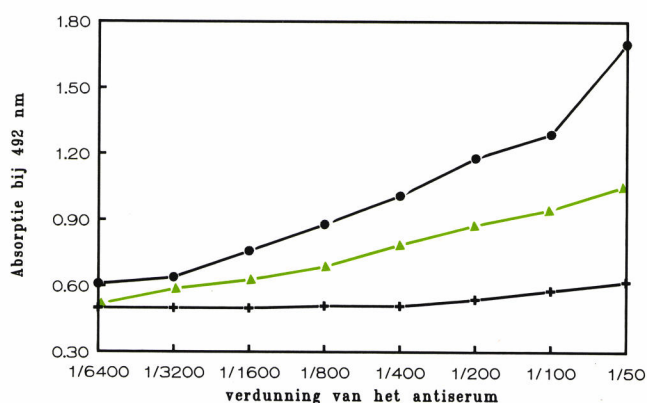
MEI 1990

Allergene eiwitten

*E*r wordt steeds meer zorg besteed aan de samenstelling van diervoeders. Er wordt al volop aandacht besteed aan twee zogenaamde antinutritionele bestanddelen in veevoedergrondstoffen, de trypsineremmers en lectinen. Trypsineremmers kunnen de eiwitvertering belemmeren en lectinen kunnen schade toebrengen aan de darmwand. Op deze wijze kunnen lectinen zelfs de mogelijkheid tot opname van voedingsstoffen belemmeren. Deze effecten dienen zoveel mogelijk vermeden te worden. Daarnaast dient er bij voeders voor jonge dieren ook op de aard van het eiwit gelet te worden. Dit om het ontstaan van een mogelijke voedingsallergie te vermijden. Voedingsallergie is een overgevoelheidsreactie van het lichaam op bepaalde bestanddelen uit het voedsel. Zelfs lage hoeveelheden van die bestanddelen kunnen – indien ze de darmwand passeren – sterke afweerreacties veroorzaken. Hoe zo'n overgevoeligheid verkregen wordt is nog niet helemaal duidelijk. Erfelijkheid speelt een rol, maar de overgevoeligheid kan ook verworven worden. Met name jonge dieren zoals jonge kalveren en jonge biggen zijn gevoelig in dit opzicht. Melkeiwitvervangende grondstoffen van plantaardige oorsprong dienen dan ook veilig ofwel "laag antigeen" te zijn.

Antigeniciteit

Met het begrip antigeniciteit wordt gewoonlijk het vermogen van eiwitten of stoffen aangeduid om de vorming van antistoffen te veroorzaken. In het kader van de ontwikkeling van veevoeders wordt er mee bedoeld: het vermogen van eiwitten om **via de voeding** in een dier een immunologische reactie te veroorzaken. In figuur 1 wordt een voorbeeld gegeven van de reactie van een kalf op een antigeen voeder. De figuur geeft de stijging in de tijd weer van de hoeveelheid antistof in het kalverplasma gericht tegen soja-eiwitten. Aan de dieren werd licht getoaste soja verstrekt. Dit voer geldt als hoog-antigeen. Het is duidelijk dat al na heel korte termijn het kalf zich gaat 'beschermen' tegen dit voedsel door antistoffen aan te maken. Hoewel dit in principe niet ongewenst hoeft te zijn, kan deze immunologische reactie zich ontwikkelen tot een allergische reactie. Dit laatste is zeer ongewenst. Er wordt dan ook door de veevoederindustrie veel aandacht besteed aan het 'laag-antigeen' maken van melkeiwitvervangende grondstoffen. Het is gebleken dat (bio-)technologische behandelingen die het eiwit denatureren of gedeeltelijk hydrolyseren de 'antigeniciteit' van een grondstof kunnen verlagen.



Figuur 1: "Orale immunisatie met soja". Aan kalveren werd licht getoaste sojabloem verstrekt. In de figuur is weergegeven hoe het gehalte aan anti-soja antistoffen in het serum van een kalf stijgt. (+ - +) serum van 17-5-1988, (▲ - ▲) serum van 6-6-1988, (● - ●) serum van 16-6-1988.

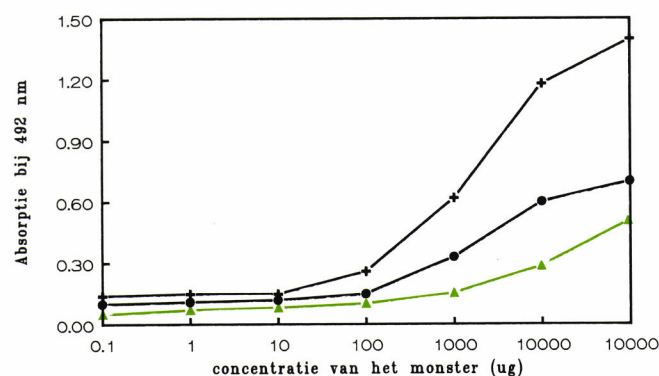
Ontwikkeling van laag-antigene produkten

Het Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO helpt de veevoederindustrie bij de ontwikkeling van laag-antigene produkten. Op basis van dier- en biochemisch onderzoek zijn hiertoe een aantal testen ontwikkeld. In het onderstaande wordt een kort overzicht gegeven van deze testen. Als voorbeeld worden steeds produkten uit soja genomen en als diersoort het vleeskalf.

De ELISA-techniek

Met behulp van enzymimmunoassays, zoals de ELISA-techniek, kan het gehalte aan bepaalde voederbestanddelen specifiek gemeten worden. Wat gemeten wordt is afhankelijk van het gebruikte antiserum. Wanneer we een antiserum gebruiken dat in een jong kalf is opgewekt door dit een rantsoen met een hoog 'antigene' grondstof te verstrekken kan dit serum later gebruikt worden om uit die grondstof gemaakte produkten op hun 'antigeniciteit' te testen. Een voorbeeld hiervan wordt in figuur 2 gegeven.

Onbehandelde sojabloem (= 'hoog-antigeen') geeft duidelijk een hoge respons. Daarentegen werd nauwelijks een signaal waargenomen met een technologisch bewerkt sojaproduct (= 'laag-antigeen'). Een ander produkt geeft een tussenliggend resultaat. De resultaten worden meestal niet in een grafiek weergegeven, maar uitgedrukt als percentage ten opzichte van onbehandelde standaard sojabloem. Deze is op 100% gesteld.



Figuur 2: "Indirekte ELISA van sojaprodukten".

Verskillende concentraties van extracten van sojaprodukten worden getest op de aanwezigheid van antigenen. (+ - +) soja-bloem, (▲ - ▲) laag antigeen sojaproduct, (● - ●) intermediair antigeen sojaproduct.

De ELISA-techniek kan een eerste indruk geven omtrent de antigeniciteit van een produkt. Dit is belangrijk voor produktontwikkeling en produktcontrole. Uiteindelijk beslist echter het dier. Definitieve resultaten worden dan ook verkregen door geselecteerde produkten in het dier te testen. Hierbij wordt dan niet alleen naar gezondheid en groei gekeken, maar wordt ook onderzocht of het dier antistoffen gaat aanmaken tegen het geteste produkt.

Electroforese en immunoblotting

Zoals gesteld zullen niet alle eiwitten in soja even antigeen zijn. Meer kennis omtrent de identiteit van antigeen eiwitten opent mogelijkheden tot gerichte ontwikkeling van laag-antigene produkten en gerichte produktcontrole. Hiertoe werd door de biochemici van het Instituut een zogenaamde immunoblottingstechniek ontwikkeld. Deze techniek is een combinatie van elektroforese (scheiding van eiwitten in een elektrisch veld) en immunologische detectie.

Figuur 3 geeft de elektroforesepatronen weer van verschillende gezuiverde sojaeiwitten en van een aantal sojaprodukten. De aanwezigheid van sommige van de gezuiverde eiwitten kan in de produkten herkend worden. Met behulp van het kalverantiserum en de immunoblottingstechniek kan nu bestudeerd worden welke van deze eiwitten of hun fragmenten door het kalverantiserum herkend worden. Dit is weergegeven in figuur 4.

Vergelijking van de patronen uit figuur 3 en uit figuur 4 geeft aan dat niet alle eiwitten even 'antigeen' zijn. Zo wordt het trypsinremmer eiwit niet herkend, terwijl betaconglycinine en een nog onbekend laag moleculair eiwit (pijl-tjes) wel door het antiserum worden herkend.

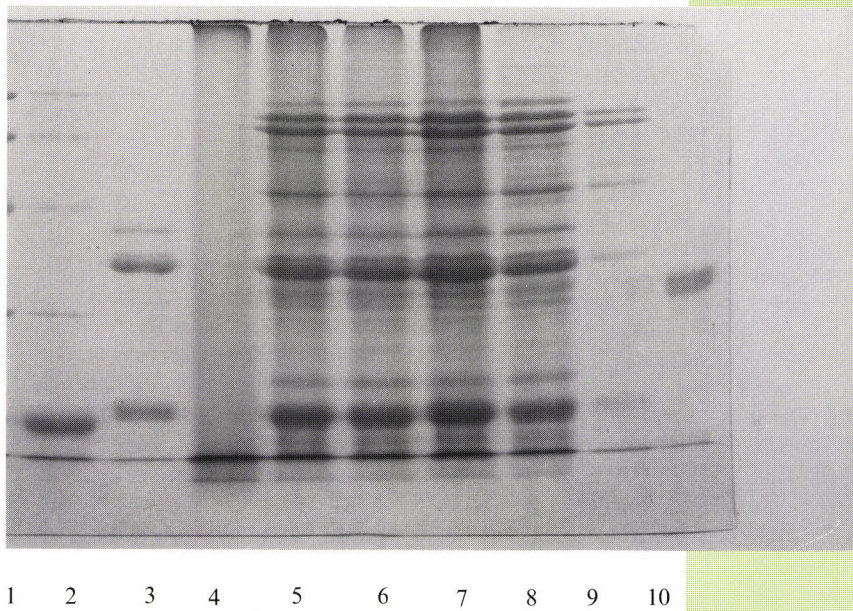
Op naar betere produkten

Het is duidelijk dat deze technieken de industrie nieuwe en effectieve mogelijkheden geven om laag-antigene produkten te ontwikkelen. Series van nieuwe produkten kunnen eerst gescreend worden met de beschreven biochemische tests, waarna gerichte dierproeven kunnen worden uitgevoerd. Daarnaast zijn zowel producent als afnemer nu in staat produkten te laten controleren voordat ze aan het dier verstrekt worden.

Voor meer inlichtingen:

Biochemische tests: dr M.G. van Oort, dr R.J. Hamer, afd. Chemie en Granen.

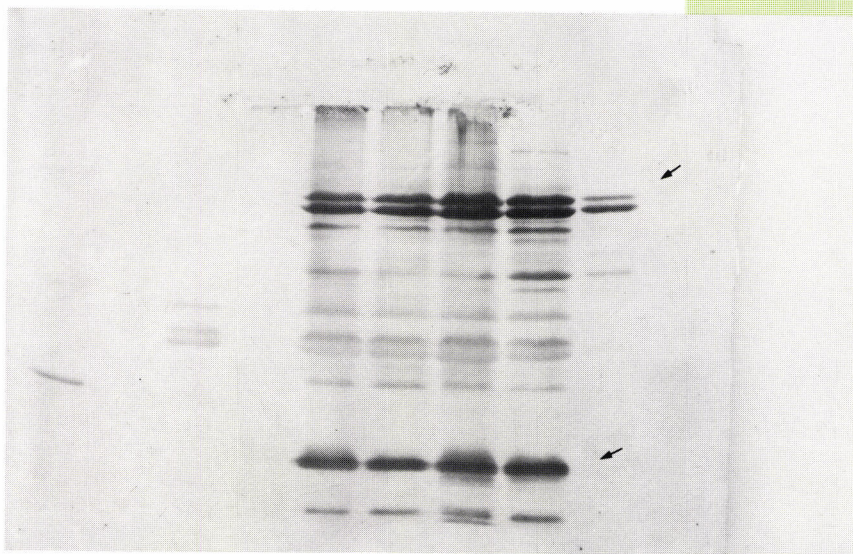
Dieronderzoek: ir G.H. Tolman, afd. ILOB (Instituut voor Voeding en Fysiologie van Landbouwhuisdieren).



Figuur 3: "Electroforese van sojaproteïnen en sojaproducten".

Van links naar rechts zijn op deze gel de eiwitpatronen te zien van 2: trypsinremmer (Kunitz), 3: glycine, 4-8: verschillende sojaproducten, 9: beta-conglycine, 10: lectine (SBA).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



Figuur 4: "Immunoblot van sojaproteïnen en sojaproducten met kalverantiserum".

Van links naar rechts zijn op deze blot dezelfde eiwitten aanwezig als op de gel in figuur 3. Zichtbaar zijn echter alleen die eiwitten die door het kalverantiserum herkend worden.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

De realisatie van dit bulletin werd ondersteund door het Centrum voor Industriële Bioprocessen TNO. Dit Centrum heeft tot taak toepassingen van de Biotechnologie beter toegankelijk te maken voor het bedrijfsleven, met name ook de kleine en middelgrote onderneming.