

Mejeriforeningen

Mælkeprotein, undersøgelse og isolation af komponenter med potentielt forebyggende virkning mod virusinduceret diaré

Periode: 1. marts 2003 til 30. april 2006
Budget: Kr. 4.189.992
Intern finansiering: Mejerirationaliseringsfonden
Ekstern finansiering: Innovationsloven
Afslutningsrapport:
Projektleder: Jan Trige Rasmussen
Institution: Aarhus Universitet, Laboratorium for Proteinkemi
Deltagere:
Offentliggørelse:
Link til projekt:
Publikationer: Inhibitory activities of bovine macromolecular whey proteins on rotavirus infections in vitro and in vivo (2007) J. Dairy Sci. 90: 66-74.

Afslutningsrapport (2007) januar.

Højmolekylært valleprodukts virkning på rotavirusinduceret diarré (2007) Mælkeritidende, 8: 186-189.

Formål: Målet er at identificere de virksomme komponenter i WFC, samt dokumentere den bagvedliggende biologiske mekanisme.

Beskrivelse: Rotavirus er en vigtig årsag til diare hos børn, og kan føre til kraftige dehydreringer, sommetider med dødeligt udfald. Tidligere studier har vist at spædbørn, der ammes er langt bedre beskyttet mod symptomatiske infektioner, og det har været foreslået at mælke-fedtkuglemembranproteinet lactadherin kunne være delvist ansvarlig for denne effekt. In vitro studier har vist, at human lactadherin, modsat den bovine ortolog, er i stand til at inhibere rotavirus infektivitet. Derudover har bovine MUC1 og et kommercielt bovint valle proteinkoncentrat (WFC) vist sig at være effektive. Sigtet med dette projekt var at identificere de virksomme komponenter i WFC, samt dokumentere den bagvedliggende biologiske mekanisme.

Vi har i afslutningsrapport beskrevet udførte eksperimenter, der viser at WFC har en bredspektret effekt mod infektion af to humane intestinale celler (Caco-2 og FHs74 Int) med fire forskellige rotavirus stammer. (Wa, RRV, YM og RF). Fra WFC kunne der isoleres en proteinfraktion (CM3Q3), som ligeledes effektivt hæmmer rotavirus in vitro infektivitet. Oprensningen er opnået ved brug af følgende ionbytningskromatografi-trin. Det er vist at hovedkomponenten i CM3Q3 er IgG, og at bioaktiviteten højst sandsynligvis er knyttet til denne komponent.

Der er foretaget yderligere screeninger med henblik på at undersøge, om der skulle være andre proteiner med antirotavirus aktivitet i WFC. Der blev også gennemført

tests med MUC15 og PP3. Der blev ikke identificeret yderligere kandidater, og det blev konkluderet, at det med de tilgængelige teknikker vil blive vanskeligt at identificere nye inhibitoriske komponenter.

Den biologiske aktivitet af det isolerede CM3Q3 viste sig at være relativt holdbar, idet der kun var begrænset effekt af ekstraktion med organiske solventer, samt behandling med urinstof og frysetørring. Ikke desto mindre viser eksperimenterne, at WFC skal behandles på passende vis (temperatur) under fremstillingen.

Evnen til at inhibere rotavirus infektivitet *in vivo* blev analyseret ved brug af voksne BALB/c mus og den murine EMcN stamme i to forskellige mængder (10 og 100 gange mere end 50% viral shedding dosis). WFC, MUC1, lactadherin og CM3Q3 blev testet. Det var kun CM3Q3 der i signifikant grad var i stand til at påvirke afgivelse af rotavirus til afføringen, når den høje viruskoncentration blev anvendt. Detektion af specifikke rotavirus antistoffer i serum viste, at alle musene fra høj-dosis-gruppen var blevet inficeret. Eksperimenterne med den lave dosis rotavirus antydede, at alle de testede proteiner kunne påvirke infektiviteten. Det var dog kun MUC1, WFC and CM3Q3 der kunne forhindre tilstedeværelse af virale serum antistoffer.

Fordelene ved at bruge bovine immunoglobuliner til at inducere passiv immunitet mod rotavirus er allerede dokumenteret indgående. Der har dog været mest fokus på at bruge mælkederivater fra immuniserede køer, specielt kolostrum. Dette arbejde demonstrerer tilstedeværelse af en betragtelig mængde antirotavirale komponenter i et almindeligt valle produkt, der kunne tænkes at blive et alternativ til kolostrumafledte produkter.

Den samlede afslutningsrapport kan fås ved henvendelse til Mejeribrugets ForskningsFond.