

IMMUNOLOGISCHE NACHWEISVERFAHREN IN DER MYKOTOXINANALYTIK

Was ist Immunologie / Immunchemie?

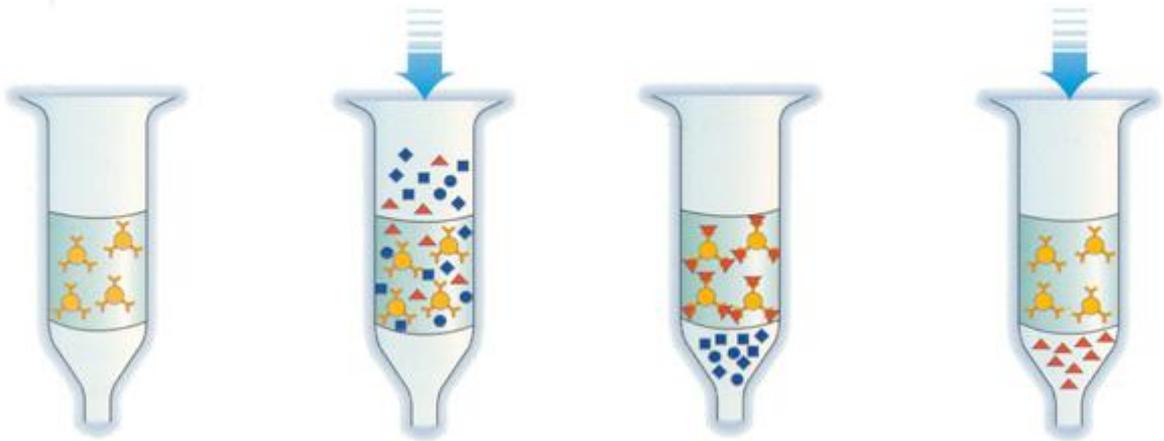
Unter der Bezeichnung Immunchemie versteht man ein von dem schwedischen Physiker ARRHENIUS 1907 eingeführtes Teilgebiet der Immunologie, das sich mit der Chemie und Physik der Abwehr-Reaktionen des menschlichen und tierischen Körpers befasst. Hierbei geht es im Wesentlichen um eine äußerst spezifische Reaktion zwischen Antigenen und Antikörpern. Bei den Antikörpern bzw. Immunglobulinen handelt es sich um Glycoproteine, welche im Verlauf einer Immunreaktion als Antwort auf das Eindringen von körperfremden Molekülen (den sog. Antigenen) vom Immunsystem gebildet werden.

Die Ära der Immunoassays zum Nachweis von Makromolekülen mittels Antikörpern begann bereits 1959. Derartige Techniken haben daher im Laufe der Zeit eine breite Anwendung, sowohl in der biomedizinischen Forschung als auch in der Routinediagnostik gefunden. Hingegen stellt der immunologische Nachweis von niedermolekularen Substanzen, wie beispielsweise den Mykotoxinen, eine relativ junge Entwicklung dar. Voraussetzung für die Durchführung immunologischer Verfahren ist der Besitz spezifischer Antikörper. Aufgrund des niedrigen Molekulargewichts bildet der Organismus jedoch nicht ohne weiteres Antikörper gegenüber Mykotoxinen.

Wie gewinnt man die Antikörper?

Mykotoxine besitzen ein durchschnittliches Molekulargewicht von lediglich 300–400 Dalton, während das minimale Gewicht einer immunologischen Substanz ca. 3.000–5.000 Dalton betragen muss. Zur Gewinnung von spezifischen Antikörpern gegen Mykotoxine ist daher ein Trick erforderlich – die synthetische Kopplung an ein Makromolekül, einem Trägerprotein (Carrier). Auf diese Weise wird das Mykotoxin quasi „vergrößert“ und somit für die Antikörper als fremder Stoff erkennbar. Mit Hilfe dieser synthetisierten, immunologischen Substanzen werden nach Applikation an Versuchstieren polyklonale (polyspezifisch) und monoklonale (monospezifisch, d. h. sie können nur ein einziges Zielmolekül binden) Antikörper gewonnen.

Wie funktioniert die Analytik?



Auf der Immunoaffinitätssäule sind sog. monoklonale Antikörper, die auf ein bestimmtes Mykotoxin spezifisch reagieren, in eine Gelschicht eingebettet.

Der mykotoxinhaltige Probenextrakt wird auf die Säule gegeben und sollte diese langsam passieren.

Die in der Gelschicht implementierten Antikörper isolieren und konzentrieren das entsprechende Mykotoxin und binden es auf der Säule.

Mit Hilfe eines geeigneten Elutionsmittels (meist Methanol) denaturieren die Antikörper, der Antigen-Antikörper-Komplex wird zerstört und das Mykotoxin für die weitere Analytik freigesetzt.



Antikörper



Mykotoxin



Andere Stoffe

Für die Quantifizierung der Mykotoxine aus dem so gewonnenen Eluat kommen insbesondere hochleistungsflüssig-chromatographische Verfahren (HPLC) mit diversen Detektoren zum Einsatz. Die Fluoreszenzdetektion ist hierbei in der Regel die Methode der Wahl, da viele Mykotoxine von Natur aus fluoreszieren. In neuer Zeit werden jedoch oft auch massenspektrometrische Detektionsverfahren (LC-MS) angewandt.

Fazit

Die Mykotoxinanalytik mittels Immunoaffinitätssäulen zeichnet sich aufgrund der äußerst spezifischen Antikörper durch eine hohe Selektivität aus, die insbesondere bei komplexen Matrices zu sehr saubereren Extrakten führt. Allerdings stellt sie aufgrund der nur einmaligen Verwendbarkeit der Säulen einen nicht unerheblichen Kostenteil der Analytik dar.

SÜSSWAREN (2005) Heft 11