

Nofima's New Food Safety Lab

Food safety, including all of its different aspects, is an important area of public concern. So much so, that a food mini- production facility has been built at Nofima-Ås for conducting research on improved food safety technologies. NBS Nytt interviewed Senior Researcher Askild Holck about the lab's goals and technologies.



FORFATTER: JOHN EINSET, UNIVERSITET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP, ÅS
E-post: john.einset@nmbu.no

Many of us probably remember what happened in 2006, when several people were food-poisoned by eating food contaminated with shiga protein-producing *E. coli*. Mattilsynet, which has responsibility for insuring that our food is safe, asked Folkehelse and Veterinary Institutes to identify the source of contaminated food. Early results pointed to a ground beef product and stores were directed to destroy all reserves of this product. Later, Mattilsynet had to admit that the ground beef product was not the culprit and that they had made a mistake in having this product destroyed. In the end, a sausage product from Gilde was identified as the *E. coli* source. Meanwhile, over 100 people had suffered from food-poisoning, including 13 children who suffered severe kidney damage and a 4-year old boy who died of kidney failure (1).

In the aftermath of this tragedy, NFR and the food industry asked Nofima to conduct research on improved methods for food production that would minimize contamination in the factory and during storage. This work eventually led to the establishment of the new Food Safety Lab whose purpose is to be a mini-production factory for food products. Consisting of 3 rooms for setting up pilot food-production lines, a room for handling pathogenic microorganisms and post-production storage rooms, the whole facility is P3-level in relation to containment with negative net pressure, a sterile air source and equipment for disposal of all contaminated material.

Initially, the lab will focus on sausage production as a model and contamination caused by pathogenic *E. coli* or *Listeria*.



Askild Holck.

Goals are to generate knowledge on how to make safe foods, to develop better production processes and to optimize storage and decontamination methods. The lab will actually add pathogens to the food it produces, and then study how these pathogens grow and develop as well as their gene expression. According to Askild Holck, Nofima expects that industry will also use the unique food safety lab for special projects as things develop.

Nofima has already had considerable experience with pathogenic *E. coli* (2). They have conducted systematic studies on sausage production, using different levels of added glucose and salt during the fermentation step of sausage production and have looked at *E. coli* concentrations. They have also studied post-production treatments such as freeze/thawing or different temperature regimes to identify conditions that minimize bacterial growth.

As far as *Listeria* is concerned, outbreaks have been fairly frequent in Norway with contaminated fish reported in 2013 and an even more serious case in 2007 involving poisoning of 19 hospital patients in Oslo by *Listeria*-contaminated cheese, an outbreak which resulted in 5 deaths. Together with NMBU

and the Norwegian Veterinary Institute, Nofima has profiled gene expression in pathogenic *Listeria* using microarrays (3). The idea is that this basic knowledge has the potential to suggest possible strategies for limiting *Listeria* growth in food products.

An area that is currently not a part of the research plan for the Food Safety Lab involves gene-modified organisms (GMO). Holck says that GMO may become a part of the research program, if this is interesting to the Food Safety Lab's customers. Nofima has already developed expertise for detecting GMO in foods (4). Askild Holck served from 1994-98 on the board of the Bioteknologinemnda where several applications for use of GMO plants in Norway were reviewed. He is currently a member of the board of the National Committee on Food Safety.

When NBS Nytt asked Holck if he had any concluding remarks about the Food Safety Lab, he said, 'The containment requirements for doing these types of experiments are very strict, so the Food Safety Lab is a one-of-a-kind facility in Europe. The Lab also adds one more mini-production facility here at Ås where there already are facilities for meat, fish, vegetables and dairy products.'

References:

1. Hvem, Hva, Hvor 2006 Gilde i hardt vær. Aftenposten. p. 71
2. Heir et al.: Meat Science 94 (2013) 47.
3. Tessema et al.: Can. J. Microbiol. 58 (2012) 1112.
4. Holck: Encyclopedia of Anal. Chem., published online: 15 June 2012. DOI: 10.1002/9780470027318.a9248

Annexiner

"The 7th International Conference on Annexins" ble avholdt i London 9.-11. september 2013. Konferansen var lagt til Chaterhouse Square campus ved Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University of London. Campusen ligger i området Barbican, kun en kort gåtur fra St Pauls Cathedral, Tower of London og Tower Bridge. Dette var en relativt liten konferanse med rundt 100 deltagere fra hele verden. Av disse var det 34 som holdt foredrag mens det var 38 pos-
tere.



FORFATTER: ANN KARI GRINDHEIM, INSTITUTT FOR BIOMEDISIN, UNIVERSITETET I BERGEN.
E-post: Ann.Grindheim@biomed.uib.no

Annexiner er definert som proteiner som binder negativt ladde lipider på en kalsium-avhengig måte, og som har den såkalte «annexin kjerne-strukturen» som er dominert av -helikser. I tillegg har annexinene en fleksibel N-terminal hale som er unik for hvert medlem, og som man derfor mener kan ha innvirkning på de ulike funksjonene som de forskjellige annexiner har. Frem til i dag er det funnet over 165 ulike annexiner, og de finnes i pattedyr, planter, protister og sopp, men ikke i bakterier. Til tross for høy homologi mellom de ulike medlemmene og konservering på tvers av ulike arter er annexinene involvert i svært mange ulike prosesser, noe som ble gjenspeilet i de ulike innleggene under konferansen.

Fra Norge var vi to deltakere, Tove Irene Klokke fra Oslo og jeg fra Bergen. Tove Irene holdt foredrag om at «knockdown» av både Annexin A1 og Annexin A2 påvirker intracellulær transport av Shiga-toksin, men ikke av plantetoksinet ricin. Knockdown av Annexin A1 hadde størst effekt, og førte til økt retrograd transport av Shiga-toksinet fra endosomer til Golgi apparatet. Denne effekten er avhengig av cytoplasmatiske fosfolipase A2 (cPLA2), som kan danne kompleks med Annexin A1. Det ser dermed ut som den negative effekten Annexin A1 har på Shiga-toksin transport kommer av at Annexin A1 hemmer cPLA2. Det er også interessant at Shiga-toksinet fører til en kalsium-avhengig dissosiering av AnnexinA2-cPLA2 komplekset, og dermed stimulerer sin egen transport.

De fleste annexiner binder som nevnt til lipider og lipid-membraner, og Annette Draeger (Bern, Sveits) holdt foredrag om

annexiners rolle i å reparere celle- og membran-skader. Dette er noe mange celler blir utsatt for, enten pga. mekanisk stress eller ved å bli utsatt for pore-dannende toksiner eller lipaser fra patogener. Når cellemembranen blir skadet vil det oppstå en kalsium-innstrømming som fungerer som et fare-signal for cellen. Annexiner forflytter seg fra cytosol til plasmamembranen som respons på økt intracellulær kalsium-konsentrasjon, og hver type Annexin har en individuell grense-verdi for når denne forflyttingen skjer. Når det dannes porer i cellemembranen får man en lokal økning i kalsium-konsentrasjon ved poren, en «kalsium hotspot». Kalsiumet vil diffundere fra poren til cytoplasma og overskuddet vil etter hvert bli fjernet av ER og mitokondrier. Annexin A6 er svært kalsium-sensitiv og blir dermed raskt rekruttert til poren og deltar i forsegling av plasmamembranen. Dersom det derimot dannes mange porer vil kalsium-konsentrasjonen i cellen bli så høy at Annexin A6 vil binde også til uskadde membran-regioner, og er dermed ikke tilgjengelig for rekruttering til nydannede porer. Annexin A1 har lavere kalsium-sensitivitet enn Annexin A6, og kan i en slik situasjon bli rekruttert spesifikt til porene der det er høyest kalsium-konsentrasjon. En lignende situasjon vil oppstå ved skade på cellemembranen i tynne utløpere av cellen. Pga. det begrensede området og at det heller ikke finnes organeller som kan ta opp kalsium her, vil den intracellulære kalsium-konsentrasjonen stige raskere og annexin A6 blir uspesifikt rekruttert til membraner, mens Annexin A1 deltar mer aktivt i membran-reparasjon. Annette Draegers gruppe har fokusert på Annexin A1 og Annexin A6, men det kan tenkes at også flere av annexinene er involvert i membran-reparasjon, og at det der-

med eksisterer en enda finere justering av når og hvor de ulike annexinene deltar i denne prosessen.

Annexin A10 er det sist oppdagede medlemmet av annexin-familien. Proteinene er derfor relativt dårlig karakterisert, men har i flere tilfeller blitt vist å ha tumor-suppressor egenskaper. Ursula Rescher (Münster, Tyskland) holdt foredrag om Annexin A10 og fokuserte på dets funksjon i cellekjernen. Reschers gruppe har vist at Annexin A10 er en komponent i de nylig oppdagede «paraspeckles», som er underavdelinger i kjernen. De er lokalisert til områder mellom kromatin og dannes ved interaksjon mellom lange ikke-kodende RNA og RNA-bindende proteiner. «Paraspeckles» kontrollerer genuttrykk ved å holde igjen RNA som inneholder dobbelt-trådede regioner pga. adenosin-til-inosin utbytting. Gjennom denne mekanismen kan «paraspeckles» representere en kontrollmekanisme for proteinuttrykk under mange cellulære tilstander, for eksempel differensiering og stress-responser. Sammenlignet med de andre annexinene er Annexin A10 svært lite kalsium-sensitiv og binder antagelig ikke membraner in vivo. Det ser derfor ut som Annexin A10 kan ha en funksjon som skiller seg merkbart fra de andre annexinene.

I tillegg til poster og foredrag var det også galla-middag i Haberdasher's Hall mandag kveld. Haberdasher's Hall tilhører The Haberdashers' Company som har sin opprinnelse i middelalderen da de var involvert i handel med bl.a. knapper, bånd, vesker, hansker, leker og tekstiler. Det ble også avklart av neste annexin-møte skal avholdes i Maastricht, Nederland, i 2015.