

Egg Antibody Farming and IgY Technology for Food and Biomedical Applications

식품과 생의학을 위한 계란 항체 생산과 IgY 기술의 활용

Jeong S. Sim and Hoon H. Sunwoo
*Ph.D. Professor Department of Agricultural,
Food and Nutritional Science
University of Alberta, Edmonton,
AB T6G 2P5 Canada*

심정석 박사
알버타대학, 캐나다



Egg Antibody Farming and IgY Technology for Food and Biomedical Applications

Jeong S. Sim and Hoon H. Sunwoo

*Department of Agricultural, Food and Nutritional Science
University of Alberta, Edmonton, AB T6G 2P5 Canada*

Abstract

It has been recognized that the hen, like its mammalian counterparts, provides young chicks with antibodies as protection against hostile invaders. This system facilitates the transfer of specific antibodies from serum to egg yolk, and provides a supply of antibodies called immunoglobulin Y (IgY) to the developing embryo and the hatched chick. The protection against pathogens that the relatively immuno-incompetent newly hatched chick has, is through transmission of antibodies from the mother via the egg. Egg yolk, therefore, can be loaded with a large amount of IgY against pathogens which can immobilize the existing or invading pathogens during the embryo development or in day-old chicks. Thus, the immunization of laying hens to various pathogens results in production of different antigen-specific IgY in eggs.

Egg yolk contains 8~20 mg of immunoglobulins (IgY) per ml or 136~340 mg per yolk, suggesting that more than 30 g of IgY can be obtained from one immunized hen in a year. By immunizing laying hens with antigens and collecting IgY from egg yolk, low cost antibodies at less than \$10 per g compared to more than \$20,000 per g of mammalian IgG can be obtained.

This IgY technology opens new potential market applications in medicine, public health, veterinary medicine and food safety. A broader use of IgY technology could be applied as biological or diagnostic tool, nutraceutical or functional food development, oral-supplementation for prophylaxis, and as pathogen-specific antimicrobial agents for infectious disease control. This paper has emphasized that when IgY-loaded chicken eggs are produced and consumed, the specific antibody binds, immobilizes and consequently reduces or inhibits the growth or colony forming abilities of microbial pathogens.

This concept could serve as an alternative agent to replace the use of antibiotics, since today, more and more antibiotics are less effective in the treatment of infections, due to the emergence of drug-resistant bacteria.

Introduction

The avian egg is a reserved life form to the next generation which turns into a bird. An egg is a storehouse of all the substances necessary for a potential new life. Chickens produce immunoglobulins in blood against almost all kinds of antigens including bacteria, virus, and foreign substances in host defense. As described more than 100 years

ago, avian maternal antibodies are transferred to egg yolk to protect embryos and neonates [1].

Circulating immunoglobulin G(IgG) from the hen plasma is first sequestered in the yolk of maturing oocytes in the ovarian follicle via a receptor mediated process which recognizes intact Fc and hinge region of IgG [2]. As an egg is oviposited, as much as 200 mg of antibodies are present in the egg yolk, hence the term immunoglobulin of egg yolk(IgY) [3,4].

Using chicken as an antibody producer brings a number of advantages over conventional mammalian antibody and recombinant antibody production and serves as an alternative to antibody sources(Box 1). Combined with the egg industry's capacity to produce thousands of eggs per day and an existing technology for the efficient fractionation and purification of IgY, it is conceivable that kilogram quantities of antibodies could be produced on a daily basis.

Thus, IgY has been widely used as an important application of IgY for passive immunization therapy to treat enteric infections in humans and animals. Another application is the use of IgY as an immunological tool in the field of diagnostics as well as biomedical research. In this review, we summarize published data on properties and applications of IgY for prophylactic and diagnostic uses and suggest directions for its future use.

Structure of IgY

IgY is considered to be the evolutionary ancestor of mammalian IgG and IgE antibodies [5]. Despite the similarities between IgY and mammalian IgG antibodies, there are somewhat differences in their structure. IgY consists of two identical heavy(H) chains and two identical light(L) chains, which are linked by disulfide bridge(Figure 1).

IgY has a molecular mass of ~180 kDa

BOX 1. Advantages of IgY Production

- Maintenance of a large flock of laying hens is inexpensive and practical, because large scale feeding of hens and the collection of eggs are less labor intensive and well integrated.
- Eggs as the source of IgY can be collected from laying hens by the non-invasive method, which is compatible with animal protection regulations, as compared to mammal's sera from which IgG is separated.
- Also, immunization of hens (vaccination) has long been applied to prevent hens from infectious diseases, indicating that immunization of hens is much more systematized to be effective than doing it for animals.
- A laying hen produces an average of 285 eggs in a year with a yolk of approximately 15 g whereas an immunized rabbit provides about 40 ml of sera. One gram of egg yolk contains about 10 mg of IgY whereas 1 ml of rabbit serum yields about 35 mg of IgG. An immunized hen produces about 43 g of antibodies per year.
- As egg yolk is known as a perfect food package, the isolation of IgY from the yolk is much easier than that of IgG from animal blood sera. For separation IgY, a large scale method is now applicable by automatic separation of the egg yolk with a machine.
- The immune response of chickens could be maintained for a long period of more than 20 weeks with two injections.
- On the contrary to the conventional method sacrificing animals to collect blood, using chicken is simple eggs laid by superimmunized hens.

which is heavier than that (~150 kDa) of mammalian IgG. The greater molecular mass of IgY is due to an increased number of heavy-chain constant domains and carbohydrate chains. The H chain of IgY is 67~70 kDa and possess one variable domain(V), four constant domains(C) and no genetic hinge, unlike that of mammalian IgG (approximately 50 kDa) which has three C domains and a hinge region. Comparisons of C-region sequences in IgG and IgY show that the C2 and C3 domains of IgG are most closely related to the C3 and C4 domains of IgY, respectively, and that the equivalent of the C2 domain is absent in chains of IgG. The hinge region of IgY is much less flexible compared to that of mammalian IgG [5]. It has also suggested that IgY is a more hydrophobic molecule than IgG [6].

Immunological Property of IgY

The structural characteristics of IgY is relevant to the immunological properties (Table 1). The differences of Fc regions between IgY and mammalian IgG, which include number and nature of carbohydrate

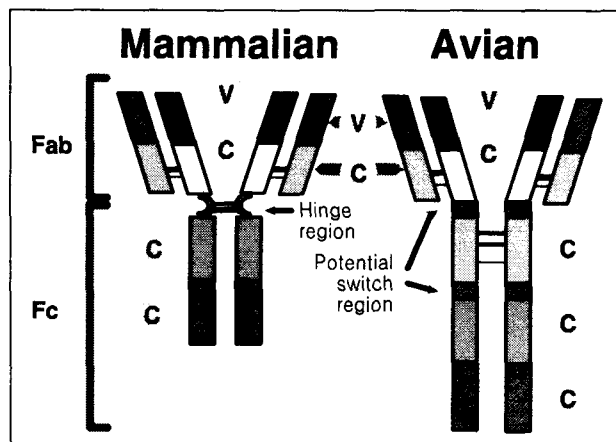


Figure 1. Comparison of mammalian and avian immunoglobulin G.

chains, flexibility of switch region and the number of constant regions, lead to the different interaction of IgY with molecules as an antigen in comparison to that of mammalian IgG.

Most biological effector functions of Igs are activated by the Fc region. Such a role of Fc region of IgY is very poor in secondary effector capabilities in opsonization and complement fixation, although IgY is capable of binding to antigen strongly. IgY does not bind to protein A or G which are present on the surface membrane of *Staphylococci* and *streptococci* other than mammalian IgG. The

Table 1. Comparison of immunological properties of IgY and mammalian IgG

Physico-chemical Properties	Avian IgY	Mammalian IgG
Molecular weight	180 kDa	150 kDa
Isoelectric point	>acidic	<acidic
Heat stability	>sensitive	<sensitive
pH stability	>sensitive	<sensitive
Immunological properties		
Protein A / protein G binding	no	yes
Interference with mammalian IgG	no	yes
Interference with rheumatoid factor	no	yes
Interference with human anti-mouse IgG antibody	no	yes
Activation of mammalian complement	no	yes
Fc receptor binding activity	Low	High

role of Fc region of IgY still remains unclear, but it is sure that chicken antibodies do not activate mammalian complement system and show no interaction with mammalian Fc receptors. Likewise, the reaction of antibody to cellular components may mediate inflammatory responses in the gastrointestinal tract. The vulnerable point makes IgY antibodies very attractive for peroral immunotherapy [7].

Another property in Fc region of IgY is no interaction with rheumatoid factor which causes disease associated with rheumatoid arthritis resulting from inflammatory responses by reacting with the Fc region of mammalian IgG. Due to the phylogenetic difference, IgY antibodies do not cross react with mammalian IgG and show no interference with human antimouse antibodies [8]. These differences bring great advantages to the application of IgY technology in many medical areas, such as xenotransplantation which is inhibition of xenograft rejection [9], diagnostics, prophylaxis of pathogens and antibiotic-alternative therapy.

Passive Immunization

Passive immunization differs from active immunization(vaccination) in that the former employs an antibody obtained from other animals. The oral administration of pathogen-specific antibodies is considered to be one of the most valuable applications of antibodies to result in prevention of infectious diseases. Such an important application requires antibodies to be made available in large quantities, at an acceptable cost and with high affinity for their targets. Thus, the laying hens may be alternative, as IgY from hen

plasma is actively accumulated to egg yolk in daily basis and is present in high concentrations. The specific IgY preparations against enteric pathogens such as viruses, bacteria and parasites have been prepared on an industrial scale from eggs laid by hens immunized with selected pathogens and have previously shown to be effective as prophylaxis against infections.

Rotavirus are a major cause of diarrhea illness in human infants and young animals, including calves and piglets. Infections in adult humans and animals are also common. In a randomized, double-blind study, children with proven rotavirus diarrhea were treated with specific IgY for human rotavirus strains, indicating the effect of IgY in the treatment of rotavirus-induced diarrhea in children[10].

Characteristics of pathogenic bacteria include the initiation of the infectious process and mechanisms such as transmissibility, adherence to host cells, invasion of host cells and tissues, ability to evade the host's immune system and symptoms of disease. Once pathogenic bacteria reside in the body, they must attach or adhere to host cells, usually epithelial cells. After the bacteria have established a primary site of infection, they multiply and spread directly through tissues or via the lymphatic system to the bloodstream.

The recent outbreaks of *E. coli* O157: H7 have been attributed to food-borne contamination in countries around the world. To cause disease, *E. coli* must first adhere to host intestinal epithelium, followed by bacterial colonization. Antibiotic therapy is not recommended early in the infectious process, because of disruption of the bacteria

in the gut releasing Shigalike toxins. Antibodies can, in principal, bind the bacterial surface and then inhibit the bacterial adhesion to host intestinal epithelium. The complex of antibody and bacteria can be eliminated as a waste, so could antibodies replace antibiotics? The effectiveness of IgY in suppressing the activity of *E. coli* O157:H7 has been demonstrated by our study [11].

The specific binding activity of IgY leading to the inhibition of bacterial growth was explored by using immunoelectron microscopy by a negative staining and ultrathin sectioning method. These studies could visualize the interaction of bacteria with IgY in more detail than the ELISA technique and growth inhibition assay. The observation of immunogold particles labeling bacteria, furthermore, revealed the distribution of gold particles on and structural alterations of the bacterial surface. A similar result was also obtained from the growth inhibition study of IgY against *salmonella* [12].

Salmonellosis is known to be a non-host restricted serotype causing diseases syndrome like gastroenteritis and systemic infections in human and animal species. The immune response of chickens against lipopolysaccharide [13], 14 kDa fimbriae [14] and whole cell [15] of salmonellae has been investigated on the possible control of salmonellosis. IgY specific against 14 kDa fimbriae of *S. enteritidis* was orally administered to mice infected with the corresponding bacteria. The result showed decrease of bacterial virulence.

The passive immunization with IgY specific for *S. typhimurium* and *S. dublin* could prevent fatal salmonellosis in calves

[15]. This indicates that IgY against the microbial pathogen may be used for the feed additives, which provide prophylactic and therapeutic function.

Streptococcus mutans is a major etiologic agent of human dental caries. It has been shown in an experimental animal model that oral passive immunization using IgY specific to *S. mutans* was effective in protecting dental caries. The oral administration of IgY specific to *S. mutans* glucan binding protein B resulted in a statistically significant reduction in caries development in an experimental rat model [16]. Furthermore, the effects of a mouth rinse containing IgY to *S. mutans* by the treatment of specific IgY powder prevented the establishment of this bacterium in dental plaque of humans in vitro and in vivo. The results supported the effectiveness of IgY with specificity to *S. mutans* grown in the presence of sucrose as an efficient method to control the colonization of *S. mutans* in the oral cavity of humans [17]. Therefore, these studies provide evidence for the potential advantages of using IgY with specificity to *S. mutans* for controlling plaque levels and subsequent oral health problems associated with plaque accumulation.

Therefore, antibacterial properties of IgY demonstrated a protective role in foods or feeds, preventing contamination by pathogenic bacteria and consequently reducing the risk of pathogens-causing infection in humans or animals. To date there have been efforts to develop effective means for controlling or preventing foodborne diseases, which are mainly caused by pathogenic bacteria contaminating foods. IgY, as a food-based deterrent, may serve as a novel

protective measure characterized by being economical, efficacious and safe.

Diagnosis

Antibodies have been used extensively as diagnostic tools in many different formats. Antibody-based immunoassays are the most commonly used type of diagnostic assay and still one of the fastest growing technologies for the analysis of biomolecules, toxins, and haptens. The first major milestone in antibody-based immunoassays was the development of the competitive binding assay, using radioisotope and later enzymelabeled immunoassays. A frequently used approach for the detection of antigens involves an immobilized capture antibody, an antigen, and a labeled detection antibody. The antibodies in this assay are usually derived from mammals and the samples to be tested are often serum and plasma (Table 2). If anti-mammalian IgG antibodies or complement are present in the samples, they may block the antigen binding sites of the capture antibody and cause false positive reactions. In a bacterial or viral specimen test, mammalian capture antibody may also result in erroneous reactions due to the binding activity to protein A/G expressed by

bacteria probably existing in samples. In contrast, IgY does not possess such immunological properties and thus can be used to avoid these interference problems. Many studies, therefore, have been conducted to show the feasibility of IgY application in diagnostic assays.

Moreover, IgY has been successfully used as immunological tools for other immunoassays such as western blotting [18-20], dot blot [21,22], fluorescence [12,19,23-25], immunoprecipitation [25-27], immunogold labelling [11,12,28,29], and immunohistochemistry [18, 30-32]. Immunoaffinity chromatography is a process for the isolation and purification of target molecules, using immobilized specific antibodies directed against the target molecule. This technique is considered a simple and mild process which can isolate materials with high purity, activity and stability. However, a more widespread use has been limited by high cost of the technique requiring large amounts of antibodies which should fall within parameters such as the efficiency of immobilization, antigen-binding capacity, useful life and reusability of immunoabsorbents. IgY, which can be simply produced in large quantities and high titers, may reduce such limitations and replace other sources of polyclonal anti-

Table 2. Production of IgY specific to low immunogenic antigens against mammals

Antigen	Reference
Human insulin growth factor II receptor	[27]
Heat-shock protein (Hsp 70)	[44]
Bovine interferon alpha	[32]
alpha-subunit of hypoxia-inducible factor-1	[25]
human melatonin mt1 receptor	[19]
naked DNA	[45]
E7 oncogenic protein of human papillomavirus type 16	[26]
cartilage glycoprotein-39	[46]

bodies or monoclonal antibodies conventionally used in immunoaffinity chromatography [33-35]. Therefore, immobilized IgY has been used successfully for the purpose of immunoaffinity isolation of lactoferrin [36] and immunoglobulins from colostrums [37].

Limitation of IgY

The immunization of chickens and the production of IgY have been well recognized to be simple, practical and economical as described in the above sections. Whole egg yolk and crude egg yolk can be used as an antibody source of prophylactics. However, the lipids in the yolk may interfere with the antibody activity in diagnostic assay. In this case, antibodies are usually purified from the yolk. Since IgY is mainly composed of γ -livetins, which is a larger molecule than any other α -, β -livetins in egg yolk, it is relatively easy to separate from other proteins in the water-soluble fraction of egg yolk. Various methods used for the purification of IgY have been explored in acidic condition [38], anionic polysaccharides [39], and affinity chromatography [25,40,41].

A number of studies have also provided sufficient evidences of the suitability of IgY preparations for food supplementation: a safe and stable preparation of IgY by the water dilution method requiring no chemicals and resulting in no significant loss of IgY activity (60~90 % of recovery): the stability of IgY to pasteurization at 60°C for 3.5 min. However, the susceptibility of IgY to heat (> 75°C) and acid (< pH 3.0) may be a hindrance to the application of IgY as a food supplement. Some investigations have solved this problem by developing effective means, which is

addition of sugars, glycerol, or glycine to IgY solution to improve the stability of IgY under processing conditions such as heat, acid, and high-pressure treatment [42,43].

The preparation of IgY having appropriate storage properties is another essential consideration in its application. This may include storage of liquid products in the frozen state or at 2~4 °C with added preservatives to retard microbial growth, or storage of dried products. IgY preparations could be stored for 5 to 10 years at 4 °C without significant loss in antibody activity and also retain their activities after 6 months at room temperature or 1 month at 37 °C. Freeze-drying for a purified IgY dried powder is a low temperature process, which is considered to minimize risk of bacterial growth and less destructive than spray-drying. To dry the egg yolk with IgY, spray-drying method should be used in economical ways, however, careful attention should be paid to this process which may lead to drying stresses at a high temperature more than 65 °C.

Future applications of IgY

Microbial food-borne diseases are responsible for serious health problems in humans and animals due to pathogens such as *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Campylobacter* spp., *Enteropathogenic E. coli*, viruses and parasites. IgY studies at our laboratory have demonstrated that specific IgY against *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* is able to inhibit the growth of pathogens, eventually resulting in bacterial death. This research offers many advantages over traditional antibiotics and will probably

provide the basis of a highly effective means of producing inexpensive antibodies in egg yolks as functional food and nutraceutical ingredients for the prophylactic treatment of humans and animals against enteric diseases.

It may also be the potential standard procedure to remove or reduce the health risk of pathogens contaminated in beef and food products. Most raw North American meat processed into ground beef patties may be tainted with the illness-causing *E. coli* O157:H7. It is also reported that over 60 % of beef cattle in North America are infected and shedding *E. coli* O157:H7 bacteria to the environment. The public health importance of *E. coli* O157: H7 depends on the prevention of the bacterial contamination on the beef carcass. In this matter, a new approach to food safety is being investigated whether IgY can be sprayed onto carcass to help prevent bacterial contamination during processing or can be applied to a final packaging to inhibit bacterial growth and extend shelf life. At the industrial level, the IgY can be dissolved in water and sprayed onto meat carcasses to complement other processing methods, such as irradiation, or applied to final packaging. Such extra-protection methods would be welcome news for an industry that has been recently plagued with record-high meat recalls.

A new concept of IgY cocktail, pool of specific IgY against food-borne pathogens mentioned above, can be applied to the development of IgY powder, capsule and spice for the preventing bacterial infections from beef, salad, and other food products. The IgY cocktail may be most useful when traditional sanitation safeguards (i.e. rinsing,

refrigeration, and thorough cooking) are unavailable or unreliable. There are possible uses of IgY cocktail for the prevention of food-borne illness caused by foods prepared outdoors or meals that are eaten away from home, especially at salad bars and food bars. The IgY cocktail could be helpful for travelers to foreign countries in which food-handling practices are suboptimal.

References

- Akita, E.M. and Li Chan, E.C.Y.(1998) Isolation of bovine immunoglobulin G subclasses from milk, colostrum, and whey using immobilized egg yolk antibodies. *Journal of Dairy Sci.* 81(1), 54-63
- Akita, E.M. and Nakai, S.(1992) Immunoglobulins from egg yolk : isolation and purification. *J Food Sci. Off Publ Inst Food Technol* 57 (3), 629-634
- Al-Haddad, S. et al.(1999) Psoriasis(S100A7) expression and invasive breast cancer. *American Journal of Pathology* 155 (6), 2057-2066
- Benkirane, R. et al.(1998) Immunochemical characterization of an IgG-binding protein of *Streptococcus suis*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 20 (2), 121-127
- Blais, B.W. and Phillippe, L.M.(2000) A cloth-based enzyme immunoassay for detection of peanut proteins in foods. *Food and Agricultural Immunology* 12 (3), 243-248
- Camenisch, G. et al.(1999) General applicability of chicken egg yolk antibodies : the performance of IgY immunoglobulins raised against the hypoxia-inducible factor 1 α . *FASEB Jour.* 13 (1), 81-88
- Carlander, D. et al. (2000) Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunologic Research* 21 (1), 1-6
- Chang, H.M. et al. (1999) Productivity and some properties of immunoglobulin specific against

- Streptococcus mutans serotype c in chicken egg yolk (IgY). *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 47 (1), 61-66
- Chang, H.M. et al.(2000) Isolation of immunoglobulin from egg yolk by anionic polysaccharides. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 48 (4), 995-999
- Chang, H.M. et al.(2002) Microencapsulation protects immunoglobulin in yolk(IgY) specific against Helicobacter pylori urease. *Jour. of Food Sci.* 67(1), 15-20
- Cipolla, A. et al.(2001) Campylobacter fetus diagnosis : direct immunofluorescence comparing chicken IgY and rabbit IgG conjugates. *Altex-Alternativen Zu Tierex-perimenten* 18 (3), 165-170
- Cook Carrie, L. et al.(2001) Simple purification methods for an alphagalactose-specific antibody from chicken eggs. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91 (3), 305-310
- Davalos-Pantoja, L. et al.(2000) A comparative study between the adsorption of IgY and IgG on latex particles. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 11 (6), 657-673
- De Ceuninck, F. et al. (2001) Development of an enzyme-linked immunoassay for the quantification of YKL-40 (cartilage gp-39) in guinea pig serum using hen egg yolk antibodies. *Journal of Immunological Methods* 252 (1-2), 153-161
- Dera-Tomaszewska, B. et al. (2003) Hsp60 specific antibodies in egg yolks from laying hens naturally infected with Salmonella enterica subspecies enterica serovar Enteritidis. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 26, 37-45
- Di, L.A.D. et al.(2001) Egg yolk antibodies against the E7 oncogenic protein of human papillomavirus type 16. *Archives of Virology* 146 (1), 117-125
- Fortgens Philip, H. et al. (1997) Anti-cathepsin D chicken IgY antibodies : Characterisation, cross-species reactivity and application in immunogold labelling of human splenic neutrophils and fibroblasts.
- Fryer, J. et al.(1999) IgY antiporcine endothelial cell antibodies effectively block human antiporcine xenoantibody binding. *Xenotransplantation* 6 (2), 98-109
- Halper, J. et al. (1999) Development of chicken antibodies to bovine interferon alpha. *Immunological Investigations* 28 (1), 19-27
- Hatta, H. et al.(1997) Passive immunization against dental plaque formation in humans : effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to Streptococcus mutans. *Caries Research* 31 (4), 268-274
- Holt, P.S. et al.(2000) Application of the agar gel precipitin test to detect antibodies to Salmonella enterica serovar enteritidis in serum and egg yolks from infected hens. *Poul. Sci.* 79 (9), 1246-1250
- Kim, H.O. et al.(1999) Reusability of avidin-biotinylated immunoglobulin Y columns in immuno-affinity chromatography. *Analytical Biochemistry* 268 (2), 383-397
- Klemperer, F. (1893) XV. Ueber naturliche Immunitat und ihre Verserthung fur die Immunisierungstherapie. In: Naunyn, B., Schmiedeberg, O.(eds.), *Archiv fur Experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Verlag von F.C.W. Vogel, Leipzig, Einunddreissigster Band.*
- Larsson, A. et al.(1993) Chicken antibodies : taking advantage of evolution-a review. *Poultry Science* 72, 1807-1812
- Lee, E.N. et al. (2002) In vitro studies of chicken egg yolk antibody(IgY) against Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium. *Poul. Science* 81 (5), 632-641
- Lemamy, G.J. et al.(1999) High-affinity antibodies from hen's-egg yolks against human mannose-6-phosphate/insulin-like growth-factor-II receptor (M6P/IGFII-R):characterization and potential use in clinical cancer studies. *International Journal of Cancer* 80 (6), 896-902
- Li Chan, E.C.Y. et al.(1998) Isolation of lactoferrin

- by immunoaffinity chromatography using yolk antibodies. *Jour. of Food Biochemistry* 22(3), 179-195
- Li, X. et al.(1998) Production of chicken egg yolk antibody(IgY) against bovine proteoglycan. *Canadian Jour. of Animal Science* 78 (3), 287-291
- Morrison Sherie, L. et al.(2002) Sequences in antibody molecules important for receptor-mediated transport into the chicken egg yolk. *Molecular Immunology* 38(8), 619-625
- Noack, F. et al.(1999) CD87-positive tumor cells in bone marrow aspirates identified by confocal laser scanning fluorescence microscopy. *International Journal of Oncology* 15 (4), 617-623
- Orsini, G. et al.(2001) Immunochemical characterization of a chicken egg yolk antibody to secretory forms of rat incisor amelogenin. *Jour. of Histochemistry & Cytochemistry* 49 (3), 285-292
- Romito, M. et al.(2001) Eliciting antigen-specific egg-yolk IgY with naked DNA. *Biotechniques* 31 (3), 670
- Ruiz, E. and Ruffner, H.P.(2002) Immunodetection of Botrytis-specific invertase in infected grapes. *Jour. of Phytopathology Berlin* 150 (2), 76-85
- Sarker, S.A. et al.(2001) Randomized, placebo-controlled, clinical trial of hyperimmunized chicken egg yolk immunoglobulin in children with rotavirus diarrhea. *Jour. of Pediatric Gastroenterology & Nutrition* 32 (1), 19-25
- Shelver, W.L. et al.(1998) Use of an immunoaffinity column for tetrachlorodibenzo-p-dioxin serum sample cleanup. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences & Applications* 705 (2), 261-268
- Sim, J.S. et al. (2000) Ovoglobulin IgY. In : Naidu AS, editor. Natural food antimicrobial systems. *CRC press*, p 227-252
- Smith, D.J. et al. (2001) Passive transfer of immunoglobulin Y antibody to *Streptococcus mutans* glucan binding protein B can confer protection against experimental dental caries. *Infection & Immunity* 69 (5), 3135-3142
- Sunwoo, H.H. et al.(2000) Preparation of antigen-specific IgY for food application. In: Sim JS, Nakai S, Guenter W, editors. Egg nutrition and biotechnology. *CAB International*, p 311-322
- Sunwoo, H.H. et al.(2002) Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody(IgY) on *E. coli* O157:H7. *Journal of Food Science* 67, 1486-1494
- Sunwoo, H.H. et al.(1996) Immune responses in chickens against lipopolysaccharide of *E. coli* and *Salmonella typhimurium*. *Poultry sci* 75 (3), 342-345
- Tini, M. et al.(2002) Generation and application of chicken egg-yolk antibodies. *Comparative Biochemistry & Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology* 131 (3), 569-574
- Tu, Y. et al.(2001) Isolation of immunoglobulin in yolk(IgY) and rabbit serum immunoglobulin G(IgG) specific against bovine lactoferrin by immunoaffinity chromatography. *Food Research International* 34 (9), 783-789
- Verdoliva, A. et al.(2000) Affinity purification of immunoglobulins from chicken egg yolk using a new synthetic ligand. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences & Applications* 749 (2), 233-242
- Warr, G.W. et al. (1995) IgY : clues to the origins of modern antibodies. *Immunology Today* 16 (8), 392-398
- Williams, L.M. et al. (2001) Characterization of an antibody to the human melatonin mt1 receptor. *Journal of Neuroendocrinology* 13 (1), 94-101
- Yokoyama, H. et al.(1998) Prevention of fatal salmonellosis in neonatal calves, using orally administered chicken egg yolk *Salmonella*-specific antibodies. *American Journal of Veterinary Research* 59 (4), 416-420

식품과 생의학을 위한 계란 항체생산과 IgY 기술의 활용

Jeong S. Sim and Hoon H. Sunwoo

Department of Agricultural, Food and Nutritional Science
University of Alberta, Edmonton, AB T6G 2P5 Canada

요약문

포유동물과 마찬가지로 암탉은 태어날 병아리에게 계란을 통해서 면역항체를 이행시켜 해로운 병원균의 침입으로부터 병아리를 보호해준다. 즉 어미 닭의 혈청으로부터 특정항체가 난황에 이행되고 이 면역항체를 IgY라고 부르며 이것이 발육중인 태아와 갓 부화한 병아리의 면역항체가 되는 것이다. 상대적으로 면역능력이 낮은 갓 부화한 병아리는 병원균에 대한 방어능력을 계란을 통해 어미로부터 받은 항체를 통해 얻는다. 그 결과, 난황 내에는 많은 양의 IgY를 보유하게 되고 이 면역물질이 있으므로 말미암아 계란 내에 들어와 있는 병원균이나 외부에서 들어오려는 병원균을 무력화시켜 아무 탈 없이 병아리가 부화하게 된다. 이처럼 산란계에 각종 병원균을 접종함으로써 면역항체 IgY가 많이 들어 있는 계란을 생산할 수 있다.

난황 1개에는 136~340 mg의 IgY가 들어있고, 이는 난황 ml당 8~20 mg의 IgY가 함유되어 있는 셈이다. 그리고 산란계 한 마리로부터 일년에 30 g 이상의 IgY를 얻을 수 있다. 산란계에 항원을 접종하여 난황으로부터 IgY를 수확하면 IgY g당 10\$도 안 되는 낮은 비용으로 항체를 얻을 수 있게 된다. 이에 비하여 포유동물의 경우 1g의 IgG를 얻는데 20,000\$가 소요된다.

이와 같은 IgY 제조기술을 의학, 공중 보건, 수의학, 식품안전과 같은 분야에 응용을 함으로써 잠재력이 높은 새로운 시장을 여는 장이 될 것이다. IgY 기술을 더욱 폭넓게 활용할 수 있는 분야들로는 생물체제나 의학진단기구, 생리적 기능성 물질이나 기능성식품의 개발, 질병예방을 위한 경구투여제 그리고 질병감염을 막는 특정 병원균성 항미생물 제제와 같

은 것들을 들 수 있다.

이 논문에서 우리가 강조하고자 하는 것은 IgY가 함유된 계란을 생산하고 섭취하였을 때 특정항체들의 결합을 통해 병원성 미생물의 성장이나 군체를 형성하는 것을 무력화시켜 결과적으로 병원균을 감소시키거나 억제시킨다는 점이다. 오늘날 약물에 내성을 지닌 박테리아의 출현으로 질병감염을 막는데 항생제의 사용효과가 점차 감소하고 있기 때문에 이러한 항생제를 대체할 수 있는 방안으로 계란항체를 이용할 수 있다.

서론

가금에서의 계란이 갖는 의미는 생명체의 압축 저장된 형태로서 훗날 병아리로 성장하여 다시 다음 세대로 생명을 유지해 나가는 과정이라고 할 수 있다. 즉 계란은 새로운 생명에게 필요한 모든 물질을 저장하는 장소라고도 할 수 있다. 닭은 혈액내에 면역글로블린을 생성하여 박테리아, 바이러스 등 거의 모든 종류의 항원으로부터 몸을 보호한다. 100여 년 전에 이미 기술되었듯이 조류의 모체항체는 난황으로 전이되어 외부에서 침입하는 병원균으로부터 배자와 갓 부화된 어린 병아리를 보호한다(1). 처음으로 산란계의 혈액내 면역물질인 IgG를 분리한 것은 IgG의 경첩부위와 Fc를 인식하는 수용체를 써서 난포의 성숙한 난모세포로부터 얻게되었다(2). 계란을 산란하였을 때 200mg정도의 항체가 난황내에 존재하며 그때 난황내에 들어있는 면역항체를 IgY라고 부르게 되었다(3,4).

기존의 포유동물을 이용한 항체생산이나 유전자재조합에 의한 방법에 비해 닭을 항체생산에 이용하게 되면 몇 가지 이점이 있기 때문에 이들 기존의 항체

생산 체계를 대체할 수 있다(Box 1). 일당 수천 개의 계란을 생산할 수 있는 양계산업의 수용능력과 IgY의 효율적인 분류와 불순물 제거에 대한 기술들의 결합을 통해서 수천 Kg 정도의 항체를 매일 생산하는 것이 가능하다. 그래서, IgY는 인간과 동물에서 전염성 장질환을 치료하기 위한 수동 면역 치료요법으로 가장 널리 사용되고 있으며 생물의학연구나 진단의학 분야에서 면역학적인 도구로 이용되고 있다. 여기서는 IgY의 특성과 예방과 진단에 관련된 연구자료를 종합해보고 향후 활용전망을 생각해보기로 한다.

IgY 의 구조

진화론상으로 볼 때 계란 면역항체인 IgY는 포유동물의 면역항체인 IgG와 IgE항체의 전신이라고 보여진다[5]. IgY와 포유동물의 IgG 항체가 매우 비슷하지만 구조상의 다소 다른점도 있다. IgY는 2개의 동일한 중량체인(H chains)과 2개의 동일한 경량체인(L chains)으로 구성되어 있고, 그것은 두개의 유황(S-S) 결합으로 연결되어 있다(Figure 1).

IgY는 포유류의 IgG (~150 kDa)보다 더 무거운 ~180 kDa의 분자량으로 구성되어 있다. IgY가 분자량이 더 큰 것은 탄수화물 부분과 H 체인불변영

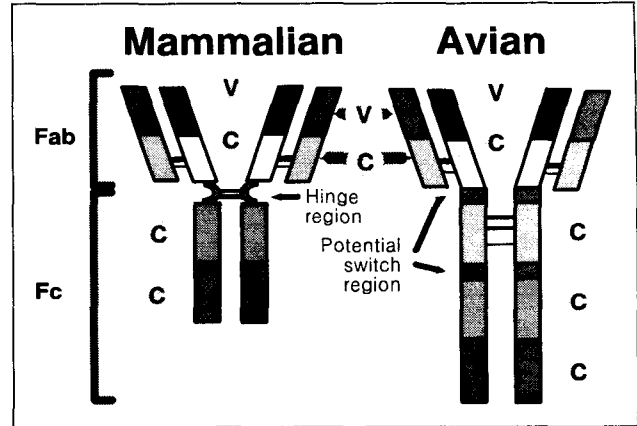


Figure1. Comparison of mammalian and avian immunoglobulin G.

역의 수가 증가했기 때문이다. IgY의 H 체인은 67-70 kDa이고 3개의 C 부위와 경첩부위를 가진 포유류의 IgG (약 50 kDa)는 달리 경첩부위가 없고 1개의 가변부위, 4개의 불변부위를 갖고 있다. IgG와 IgY의 C-부분의 염기서열의 비교에서 IgG의 C γ 2와 C γ 3 부위는 IgY의 C γ 3와 C γ 4와 밀접하게 관련되어 있다. 그리고 C γ 2 부위에서 IgG의 γ 체인은 존재하지 않는다. IgY의 접속부위는 포유류의 IgG의 것과 비교했을 때 훨씬 덜 유연하다[5]. 그것은 또한 IgY가 IgG보다 훨씬 더 많은 소수성분자를 갖고 있다는 것을 의미한다[6].

Box1. IgY 생산의 효과

- 산란계를 대규모로 사육하는 것은 경제적이고 실용적이다. 왜냐하면 산란계의 대규모 사육과 집란으로 노동 의존적인 경영을 벗어나 통합경영을 이룰 수 있기 때문이다.
- 포유동물 혈청으로부터 IgG를 얻는 것에 비해서 계란으로부터 IgY를 수확하기 때문에 산란계를 도계할 필요가 없고 비공격적인 동물친화적인 방법이기 때문에 동물보호 차원에서의 규정이나 법규에 잘 부합된다.
- 또한, 닭의 균주 집종은 닭에 감염된 질병을 예방하는데 오래 전부터 응용되어 왔던 예방접종의 일환이므로 다른 동물에서보다 훨씬 더 효과적으로 활용 될 수 있다.
- 병원균을 접종시킨 토끼는 약 40ml의 혈청을 제공하는 반면 산란계의 경우는 한해 평균 285개의 계란을 생산해내고 한 난황 내에 약 15 g 정도를 함유하고 있다. 난황 1 g당 약 10 mg의 IgY를 함유하고 있는 반면에 토끼혈청의 1 ml는 약 35 mg의 IgG를 함유하고 있다. 따라서 닭 한 마리를 쓰게 되면 일년에 43g의 면역 항체를 생산해 낼 수 있다.
- 난황이 완전식품으로 잘 알려져 왔듯이 난황으로부터의 IgY는 다른 동물의 혈청에서 추출한 IgG보다 분리해내기 훨씬 쉽다. 다량으로 IgY를 분리해내기 위해서는 기계를 써서 난황을 자동적으로 분리해내는 방법들이 적용될 수 있다.
- 닭의 면역반응은 2번의 주입을 통해 20주 이상 지속 될 수 있다.
- 동물을 죽여서 혈액을 채취하는 과거의 방법에 비해 닭을 이용하면 엄청난 면역성을 가진 닭이 생산한 계란을 통해서 얻을 수 있다.

IgY의 면역학적 성질

IgY의 구조적인 특성은 면역학적인 성질과 관련되어 있다(Table 1). IgY와 포유동물의 IgG의 구조를 비교해 볼 때 Fc 부위에서 차이가 있음을 알 수 있는데 이는 탄수화물 체인의 성질과 수, 회전부위의 유연성 그리고 불변부위의 수에 있어서 다른 점이 있음을 의미한다. 이러한 구조적인 차이점은 결국 IgY가 어떤 항원분자들과 상호작용을 일으킬 때 포유동물의 IgG가 항원에 작용하는 것과는 다르게 작용하게 됨을 의미한다. 면역항체(Igs)의 대부분의 생물학적인 기능은 Fc 부위에 의해서 활성화된다. 비록 IgY가 항원을 강하게 결합하고 있을 지라도 IgY의 Fc 부위가 갖는 2차적 작동체(secondary effector) 수능능력 즉 옵소닌작용(opsonization)과 보체고정화(complement fixation)능력은 약하다. IgY는 포유류의 IgG와는 달리 staphylococci와 streptococci의 외부막에 존재하는 단백질 A나 G와 결합하지 않는다. IgY의 Fc regions에 대한 역할은 아직 분명하지 않지만, 닭의 항체들은 포유류의 보체 시스템을 활성화시키지 않고 포유류의 Fc 수용체와 상호작용을 하지 않는다. 게다가 세포내 성분들에 대한 항체의 반응은 장기관내에 염증반응을 유발시키는 중재역할을 한다. 이러한 약점 때문에 오히려 IgY 항체는 경구적 면역치료에 매우 유용하게 이용될 수 있다(7).

IgY의 Fc 부위에서의 또다른 성질은 포유류의 IgG의 Fc 부위에 반응함으로써 염증반응을 유발하는 류마티스 관절염과 관련된 질병을 일으키는 류마

티스를 유발하는 인자와는 다른 상호작용을 한다. 계통 발생학적인 차이 때문에 IgY 항체는 포유류의 IgG와는 잘 반응하지 않고 인간항체와 실험용 쥐 항체 사이에는 어떠한 문제점도 없이 잘 반응한다(8). 이와 같은 차이는 이중간의 거부반응의 억제, 의학진단법, 병원균의 예방 그리고 항생제 대체치료와 같은 이중간 이식과 같은 여러 의료분야에서 IgY 기술을 응용하는데 가장 좋은 장점이 될 수 있다.

수동 면역

수동면역은 다른 동물에서 획득한 항체를 사용했다는 점에서 능동면역(예방접종)과는 분명히 다르다. 특정병원성 항체를 경구투여 함으로써 병원성 질병을 예방한다는 것은 면역 항체의 활용 면에서 가장 중요한 것으로 간주된다. 이처럼 면역항체의 활용을 높이기 위해서는 면역항체 생산량이 충분해야하고 비용이 저렴하면서도 질병 예방에 효과적이어야 한다. 이를 위해서 산란계를 이용하면 닭의 혈장으로부터 IgY가 매일 난황으로 이행되어 IgY 함량이 높은 계란을 얻게 되어 양질의 면역항체를 저비용으로 다량 생산할 수 있다. 위에서 언급한대로 산란계에 바이러스나 박테리아 및 기생충 등 특정 장내 병원성 균주를 접종하여 여기서 얻어지는 계란으로부터 특정 IgY를 추출하는 IgY의 생산체계를 대규모화하여 기업형으로 생산하여 질병예방에 획기적인 기여를 할 수 있다.

로타바이러스는 어린 송아지나 돼지와 같은 어린 가축과 인간의 유아기 때에 설사를 유발하는 중요한 병원체 중의 하나이다. 뿐만 아니라 성인이나 성장한

Table 1. Comparison of immunological properties of IgY and mammalian IgG

Physico-chemical Properties	Avian IgY	Mammalian IgG
Molecular weight	180 kDa	150 kDa
Isoelectric point	>acidic	<acidic
Heat stability	>sensitive	<sensitive
pH stability	>sensitive	<sensitive
Immunological properties		
Protein A / protein G binding	no	yes
Interference with mammalian IgG	no	yes
Interference with rheumatoid factor	no	yes
Interference with human anti-mouse IgG antibody	no	yes
Activation of mammalian complement	no	yes
Fc receptor binding activity	Low	High

가축의 경우에도 일반적으로 설사를 일으킨다. 무작위로 눈을 가린 채 시행한 실험에서 로타바이러스로 인한 설사치료에 효과가 있다고 지적되었듯이(10) 로타바이러스로 인한 설사가 유발된 어린이들에게 인체 로타바이러스 계통에 속하는 특정 IgY를 투여함으로써 효과가 있음이 입증되었다. 병원성 박테리아의 특징을 보면 병원균의 전염 및 전이, 숙주세포에 부착, 숙주세포와 조직 공격, 숙주면역 체계를 공격 그리고 질병증세 발현으로 나타난다. 일단 병원성 박테리아가 체내에 들어오면 흔히 상피세포라고 불리는 숙주세포에 부착하게 된다. 박테리아가 주요감염부위에 자리잡게 되면 혈류에서 림프계와 조직을 통해 직접 증식하거나 퍼지게 된다.

대장균(*E. coli*) O157:H7의 최근 발생의 원인은 전 세계 여러 국가에서 발생하는 식품오염 때문이다. 대장균의 원인을 보면 맨 먼저 대장균이 장내 숙주상피세포에 착상하면서 균체 형성 현상이 발생한다. 항생제 치료요법은 장내에서 박테리아가 파괴되면 시가(Shiga)와 같은 독성물질을 방출하기 때문에 초기 감염치료로는 적합하지 않다. 항체는 박테리아 표면에 부착 후 장내 숙주상피세포에 박테리아가 착상하는 것을 억제할 수 있다. 그리하여 항체와 박테리아가 결합된 복합체는 쓸모 없는 폐기물로 없어진다. 따라서 면역항체로서 항생제를 대체 할 수 있지 않을까? 대장균 O157:H7의 활성을 억제시키는 IgY의 효과는 이번 연구를 통해서 논증되어졌다(11). 박테리아의 성장을 억제하는 IgY의 특수 결합성은 네가티브 염색법(negative staining)과 초미결편술 방법에 의한 면역전자 현미경을 이용함으로써 관찰할 수 있다. 이와 같은 방법은 ELISA 기술과 성장억제 분석법보다 더 상세하게 IgY와 박테리아의 상호관계에 대해 관찰할 수 있다. 더군다나 박테리아를 표지한 표지물질의 관찰을 통해 박테리아 표면의 구조적인 변화와 표지물질의 배열을 관찰할 수 있다. 또한 유사한 결과가 살모넬라에 대항하는 IgY의 성장억제 연구를 통해서도 잘 알 수 있다.

살모넬라증은 인간과 동물에서 온몸의 조직내에 감염되거나 위장염과 같은 증후군을 띠는 질병을 일으키는 비특정숙주 혈청형으로 알려져 있다. 살모넬라증 발병을 막는 예방대책을 강구하기 위해서 닭이 지

질다당류(13), 14 kDa 섬모(14) 및 살모넬라 균체에 대한 면역반응이 연구되고 있다(15). 살모넬라 엔테리티디스(*S. enteritidis*)의 14 kDa 섬모에 대한 IgY를 박테리아와 비슷한 질병에 감염된 실험쥐에게 경구투여 하였다. 그 결과 악성 박테리아성 세균 감소현상이 일어났다. 살모넬라 티피무리움(*S. typhimurium*)과 살모넬라 두부린(*S. dublin*)에 대한 IgY의 수동 면역은 소에 치명적인 살모넬라증을 억제할 수 있다(15). 이와 같은 것을 이용하여 병원성 미생물에 대한 IgY를 사료 첨가제로 사용하여 질병을 예방하거나 치료하는 기능을 할 수 있다.

연쇄상구균인 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*)는 인간의 치아 부식을 일으키는 주요한 원인균주이다. 실험동물모델을 이용한 결과 뮤탄스 연쇄상구균에 대한 IgY 항체를 이용한 경구수동면역은 치아부식을 예방하는데 효과적이라고 하였다. 쥐 실험을 통해 뮤탄스 글루칸 결합 단백질 B에 대한 IgY 항체의 경구투여 결과 부식이 일어나는 것이 통계적으로 유의하게 감소했다(16). 더군다나, 특이 IgY 분말처리를 통해서 뮤탄스균에 IgY를 함유한 구강세척의 효과는 인간에서 치과질환과 같은 전염병을 막는 효과가 있었다.

인체 구강 내에 설탕이 남아 있을 때 잘 자라는 뮤탄스균에 대하여 특이성을 지닌 IgY가 충치로 생긴 구멍에서 뮤탄스균이 군집을 형성하는 것을 막는데 효과적이었다(17). 그 결과, 이와 같은 연구를 통해서 뮤탄스균에 특이성을 가진 IgY를 사용함으로써 구강내 치석을 예방하고 동시에 구강위생에 기여할 수 있음을 알게 되었다.

그 결과, IgY의 항박테리아성 특징은 병원성 박테리아의 오염을 억제하고 결과적으로 인간과 동물에서 전염병과 관련된 질병감염의 위험을 감소시켜 식품이나 사료를 안전하게 보호하는 역할을 할 수 있음을 보여주었다. 주로 병원성 박테리아를 통해 오염된 식품에서 일어나는 식중독을 예방하거나 억제하는데 효과적인 방법을 개발하기 위해 많은 노력을 기울여 왔다. 식이성 병원균 억제제로서 IgY는 경제성, 효율성 그리고 안전성이라는 특성이 있기 때문에 병원균으로부터 몸을 보호하는 보호조치로 유용하게 활용될 수 있다.

진단분석용

항체는 다양한 형태의 진단도구로 광범위하게 사용되어 왔다. 항체를 기반으로 한 면역학적분석방법은 주로 진단분석용으로 가장 많이 사용되며 여전히 생체분자, 독소, 합텐(haptens)의 분석을 위해 가장 빨리 발전하는 기술분야 중 하나이다. 항체와 관련된 면역학적인 분석법에서 가장 중요한 획기적인 이정표를 세울만한 것은 방사성동위원소나 ELISA를 이용한 경쟁적 결합분석법의 개발이다. 항원을 검출하는데 가장 많이 사용된 접근방법은 완전히 고정시켜 움직이지 못하게 만든 항체, 항원과 연관이 있고 표시된 항체를 검출하는 것도 포함된다. 이와 같은 분석법에 의한 항체는 주로 혈청과 혈장을 이용해 시험되어진 시료와 포유류로부터 유래되어 진다(Table 2). 만약 IgG 항체나 보체가 시료내에 존재하면 포획항체의 항원과 결합하는 부위를 막고 가성 양성반응을 나타내게 된다. 박테리아나 바이러스 시험에서 포유류의 포획 항체는 시료에 존재하는 또 다른 박테리아에 의해 표현된 A/G 단백질이 결합할 수 있기 때문에 잘못된 반응이 나타날 수도 있다. 그러나 IgY는 그와 같은 면역학적인 성질을 가지고 있지 않기 때문에 이와 같은 문제들을 예방하는데 사용되어 왔다. 이러한 이점 때문에 IgY를 진단분석법에 활용하기 위한 많은 연구개발이 이루어지고 있다. 더군다나, IgY는 웨스턴 블라팅(western blotting) [18-20], 도트 블라트(dot blott)[21,22], 형광분석법 [12,19,23-25], 면역침강분석법[25-27], 면역금속표지법[11,12,28,29], 그리고 면역조직화학법[18,30-32]과 같은 면역분석법을 위한 면역학 도구로 사용되어져 왔다. 면역친화크로마토그래피는 직접 부동항체를 이용하여 목표분자의 분리와 정제를 수행한

다. 이와 같은 기술은 단순하고 쉽게 적용시킬 수 있으면서도 순도와 활성이 높고 안전성을 지닌 물질을 분리시킬 수 있다. 그러나 많은 양의 항체가 필요한 높은 기술 비용 때문에 이와 같은 사용에 제한을 받아 왔다. 이처럼 다량의 면역항체가 필요한 이유는 부동성, 항원결합능력, 유용 가능한 생존력 그리고 면역흡착제의 재 이용능력과 같은 것들이 어떤 범위 내에 들어야 하기 때문이다. IgY는 역가도 높을뿐더러 다량으로 생산 될 수 있기 때문에 그와 같은 제한을 덜 받게 되고 단순 또는 다중 클론성 항체를 대체할 수도 있다[33-35]. 그 좋은 예로 부동성 IgY는 초유로부터 락토페린과 면역글로블린의 면역친화적분리의 목적으로 사용되어져 왔다[37].

IgY의 활용시 제한

위에서 보았듯이 닭이 면역을 획득하게 해서 IgY를 생산하는 것은 단순하고도 실용적이며 경제적이다. 이렇게 해서 난황전체를 특별한 가공처리하지 않은 상태로도 질병을 예방하는 항체 공급원으로 사용될 수 있다. 그러나 난황 전체를 진단분석에 쓰고자 할 때에는 난황지방질이 항체활성도에 영향을 미칠지도 모른다. 따라서 이런 경우에는 난황으로부터 면역항체를 순수 분리해야할 것이다. IgY는 주로 γ -livetino로 구성되어 있고, 그것은 난황내에 있는 어떤 다른 α -, β -livetino보다 분자량이 더 크기 때문에 난황의 수용성 부분의 단백질로부터 상대적으로 분리해내기 쉽다. IgY의 정제에 사용되는 다양한 방법들은 산성조건[38], 음이온 다당류[39], 면역친화 크로마토그래피[25,40,41]에서 찾아 낼 수 있다.

식품첨가제로 사용하기 위해 IgY 추출이 타당함에 대하여 많은 연구를 수행한 결과 충분한 타당성이

Table 2. Production of IgY specific to low immunogenic antigens against mammals

Antigen	Reference
Human insulin growth factor II receptor	[27]
Heat-shock protein (Hsp 70)	[44]
Bovine interferon alpha	[32]
alpha-subunit of hypoxia-inducible factor-1	[25]
human melatonin mt1 receptor	[19]
naked DNA	[45]
E7 oncogenic protein of human papillomavirus type 16	[26]
cartilage glycoprotein-39	[46]

도출되었다 : 물 회석법에 의하여 안전하고 안정된 IgY를 추출해 낼 수 있으며 이를 위해 화학물질이 필요하지도 않고 IgY 활성도의 감소가 별로 심하지 않다(60-90%의 회수율); 60°C에서 3.5분간 시행하는 살균(pasteurization)에도 안정적이다.

그러나 열(>75°C) 그리고 산(<pH 3.0)에 대한 IgY의 불안정성은 식품첨가물로서의 IgY를 이용하는데 장애물이 될지도 모른다. 몇몇 연구결과 열, 산, 고압처리와 같은 상태에서 IgY의 안정성을 향상시키기 위해 당, 글리세롤, 글라이신과 같은 IgY 용액의 첨가와 같은 효과적인 방법을 개발함으로써 이와 같은 문제들을 해결하였다(42,43).

적절한 저장능력을 보유한 IgY를 생산함으로써 IgY 활용도는 증폭될 것이다. 이것은 냉동상태에서의 액상제품의 저장, 2-4°C에서 미생물의 성장을 지연시키는 저장첨가물, 건조제품의 저장 등을 포함한다. IgY의 추출은 항체활성의 심각한 손실 없이 4°C에서 5~10년 동안 저장시킬 수 있고 또한, 37°C에서 한 달 정도나 실내온도에서 6개월 동안 활성을 유지할 수 있다.

정제된 IgY 건조 파우더의 냉동건조는 낮은 온도에서 처리되고, 그것은 분사건조법 보다 덜 파괴되고 박테리아 증식의 위험을 최소화시킬 수 있다. IgY를 가진 난황을 건조시키기 위해서는 분사건조 방법이 일반적으로 사용되지만 65°C 이상 되는 높은 온도에서 건조과정에서 스트레스를 받기 때문에 세심한 주의가 필요하다.

IgY의 활용전망

미생물 오염에 의한 식중독은 대장균(*E. coli*) O157:H7, 살모넬라, 리스테리아, 캄필로박터, 장병원성 대장균, 바이러스와 해충과 같은 그런 병원체들 때문에 인간과 동물의 건강을 위협한다. 이는 매우 치명적이다. 본 연구실에서 수행했던 IgY의 연구는 대장균 O157:H7과 살모넬라에 대한 특정 IgY가 박테리아들의 성장을 억제하고 최종적으로 병원균을 괴사시킨다는 것을 보여주었다.

본 연구를 통해서 IgY는 종래의 항생제보다 이점이 많다는 것을 보여주었다. 뿐만 아니라 사람이나

동물체들에게서 발생하는 장 질환을 예방 및 치료하는데 면역항체가 들어 있는 계란을 값싸게 생산하여 기능성식품으로 섭취하는 것이 효과적이라는 것을 보여주고 있다.

또한 그것은 소고기나 식품에서 오염된 병원성균의 위험을 낮춰주거나 제거해주는 방법이 될 수 있음을 보여준다. 대부분의 북미산 신선육을 분쇄우육 패티로 가공할 때 대장균 O157:H7을 일으키는 질병에 감염되기 쉽다. 또한, 북미에서 사육되는 소의 60%가 대장균 O157:H7 박테리아에 감염되어 있고 이들이 대장균을 퍼뜨리고 있다고 한다.

공중보건 관련자들은 대장균인 O157:H7이 소고기 지육에 감염되는 것을 어떻게 방지하느냐에 많은 관심을 가지고 있다. 이와 같은 문제에 대해서 식품의 안전성에 대한 새로운 연구가 현재 진행중에 있는데, IgY를 지육위에 분사처리하여 가공과정 중에 오는 박테리아성 세균의 오염을 예방하는데 도움이 되는지에 대해 연구가 진행중이며 저장기간을 연장하거나 박테리아의 성장을 억제시킬 수 있도록 포장기술과 연계하는 연구 또한 진행 중에 있다.

산업계에서는 IgY를 물에 녹여 도체 표면에 분사 처리 한 다음 방사선 조사를 시키거나 육제품을 포장할 때에 살포하여 식품의 안전성을 높일 수 있다. 최근 기록적인 제품 리콜이 유행처럼 번지는 때에 이와 같은 안전조치는 산업사회의 희소식이 될만한 일이다.

위에 언급된 식중독 병원성균에 대한 특이 IgY 칵테일(cocktail)과 같은 IgY 활용의 새로운 개념들을 써서 소고기, 샐러드, 그리고 다양한 식품들로부터 박테리아의 감염을 예방할 수 있는데 이러한 조치를 시행하는 데에는 IgY 분말, 캡슐 그리고 스파이스의 제조기술 등이 응용될 수 있다.

IgY 칵테일은 통상적인 위생 안전 예방수단(행균처리, 냉장, 조리)을 이용할 수 없거나 신뢰할 수 없을 때 널리 유용하게 사용될 수 있다. 식품과 관련된 식중독 병원성균을 예방하기 위한 IgY 칵테일은 집밖에서 외식하거나 샐러드 바 또는 음식점에서 식사시 잘 이용될 수 있다. 또한 IgY 칵테일은 음식을 휴대하고 다니는 외국여행을 하는 여행자에게도 도움을 줄 것이다. ♣