

난황 중의 항-Salmonella gallinarum 특이 항체 생성 및 가공 특성

노정해* · 김미현* · 김영봉* · 성기승* · 이남형**
한국식품연구원*, 에그바이오택**

Formation and Processing Properties of Anti-Salmonella gallinarum Specific IgY from Yolk

J. H. Rho*, M. H. Kim*, Y. B. Kim*, K. S. Sung* and N. H. Lee**
Korea Food Research Institute*, Egg Biotech Corporation**

ABSTRACT

Immunization of layers against *Salmonella gallinarum*(S.G.) which causes fowl typhoid resulted in production of anti-S.G. IgY rich eggs. Water soluble fraction was obtained from egg yolk using various gum solutions such as 0.1%(Sigma C-3889) λ-carrageenan; 1% and 2% cold water soluble carrageenan; 1% and 2% hot water soluble carrageenan; and 1% cold water soluble carrageenan with 1% hot water soluble carrageenan. Among them, λ-carrageenan 0.1% treatment showed a high recovery rate, possessing high IgY contents. In the range of pH 5-9, more than 70 percent of IgY was existent. Moreover, Anti-S.G. IgY was relatively heat-stable. This study revealed that immunoglobulin against fowl typhoid could be produced successfully by layers and the IgY was sustainable to further processing due to its pH and heat stability. IgY is promising to be utilized for prevention and treatment of fowl typhoid in industrial scale.

(Key words : Eggs, IgY, *Salmonella gallinarum*, Stability)

I. 서론

가금티프스 병의 원인균인 살모넬라 갈리나룸(*Salmonella gallinarum*)은 국내에서 1992년 최초로 발생하여 해를 거듭할수록 발생 빈도가 늘고 있으며, 특히 5월부터 9월까지 집중 발생되고 있다(모, 1995; 나, 1999). 가금티프스의 잠복기는 감염주령, 외부 기온, 스트레스 정도에 따라 다양한 형태로 나타나나 일반적으로 성계에서는 4~5일이면 임상증상이 나타나고, 임상증상이 나타난 후 3~4일 이내에 거의 폐사한다(박, 1995). 현재 가금티프스를 완전 예방할

수 있는 백신이나 치료제는 별로 없는 실정이다. 이렇듯 양계산업의 발달을 저해하는 가금티푸스는 균의 특성상 항균제, 항생제의 투여로 인한 완전한 예방 및 치료가 이루어지지 않고 있다(유, 1999). 지금까지 사독, 생독 백신 등 여러 방법들이 개발되었으나 현재까지도 그 대책 방안이 미약하여 가금티푸스로 인한 농가의 피해를 줄이는 연구가 절실한 때이다(오, 1999). 이러한 연구의 일환으로 생산비용이 비교적 저렴한 계란을 이용하여 가금티푸스의 항체를 개발하여 가금티푸스의 예방과 치료에 도움이 되고자 하였다.

Corresponding author : J. H. Rho, Korea Food Research Institute BaekHyun-Dong 46-1 Bundang-Gu, SungNam, Korea. Tel. 82-31-780-9060, Fax 82-31-709-9876 E-mail : drno@kfri.re.kr

난황 중의 항체는 포유류의 IgG(immunoglobulin G)에 해당되나 단백질 화학적 성질이 약간 다르고 또한 난황 유래의 항체이므로 면역학 분야 등에서는 IgY(immunoglobulin Y)라고 부른다(Lee 등, 1991; 김 등, 2000). 어미 닭이 가진 항체가 어미 닭으로부터 알에 이행되는 성질을 이용하여 면역한 산란계의 난황에서 특이항체(specific antibody)를 얻을 수 있다(Polson 등, 1980; Bade 등, 1984).

난황에서 특이항체를 얻는 방법은 기존의 방법에 비하여 여러 가지 이점을 가지고 있다. 즉 채란의 용이함, 간단한 처리로 항체의 분리가 가능함, 생산비용의 저렴함, 시스템화된 면역이 가능함, 항체 섭취 시 안전성이 높음, 포유동물유래의 항원에 대하여는 포유동물의 경우보다 산란계에서 우수한 항체를 얻을 수 있음 등이다(Larsson 등, 1995). 특히 산란계 한 마리가 1년간 생산하는 난황에서 약 40 g IgY가 얻어지며, 그 생산성은 토끼의 경우보다 120배 높은 것으로 보고되었다(Hatta 등, 1998).

본 연구에서는 산란계에 *S. gallinarum*를 면역시켜 그로부터 생산되는 특수면역 단백질의 생산을 관찰하고 난황으로 분리된 항체의 특이성 및 안정성을 알아보려고 하였다. 그리하여 난황으로 생산된 항-*S. gallinarum* 특이 IgY의 가공 적절성을 평가하여 현장 적용 가능성을 살펴보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시 재료

균주는 수의과학검역원에서 동결건조된 *Salmonella gallinarum* (ATCC 9148)을 구입하여 tryptic soy broth(DIFCO, USA)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 원액은 원심분리 후 균체를 회수하여 deep freezer(-70°C)에 보관하면서

사용하였다. *S. gallinarum*의 균체와 Freund's adjuvant(Difco 0638-60-6)를 1:1(v/v)로 emulsion을 제조하여 15주령의 산란계의 근육에 면역하였다. 이 때 면역한 균체는 마리당 10^8 cfu를 사용하였고 주사량은 1 mL를 하였다. 이후 같은 방법으로 2주 간격으로 2차례의 추가 면역(1차-Adjuvant complete, Freund's 사용, 2차-Adjuvant incomplete, Freund's 사용)을 실시하였다(노 등, 1999). 산란계는 양지 부화장으로부터 구입한 Isabrown 48수를 사용하였으며 사료는 대추용 제일 사료에 참숯 0.5%를 첨가하여 사용하였다(이 등, 1999; 한 등, 2000).

2. 난황으로부터 항체(IgY)의 분리

λ -카라기난을 이용한 분리 : 시료 채취는 일주일 동안 산란계 48수로부터 생산된 계란 중 처리구당 일자별로 1개 이상씩 취하여 실험하였다. 분리된 난황은 증류수와 1:1로 섞은 후 난황 무게의 4배의 0.1% λ -카라기난 용액을 첨가하였다. 이후 상온에서 30분간 방치하고 $10,000 \times g$ 에서 15분간 원심분리 후 침전물인 lipoprotein fraction을 제거하고 수용성단백질 분획(water soluble protein fraction; WSF)을 Whatman #2 여과지로 여과하였다. 한편 분리된 시료는 동결건조(Ilshin TD5070A, Korea)를 실시하여 분말로 제조하였다(Hatta 등, 1990).

3. 카라기난의 종류와 농도에 따른 항체의 분리

카라기난의 종류와 농도에 따른 분리 : 카라기난의 종류와 농도 따라 난황의 WSF의 회수율 및 총 IgY 함량과(total IgY)와 항-*S. gallinarum* 특이 항체(specific IgY)의 함량을 비교하기 위하여 냉수가용성 카라기난(Myungshin Chemical, Korea), 열수 가용성 카라기난(Myung-

shin Chemical, Korea) 및 λ -카라기난(Sigma, USA)을 이용하여 IgY를 분리하였다.

4. 총 IgY 함량의 측정(total IgY)

우선 microplate에 rabbit anti-chick IgG antibody(sigma, C2288)의 단백질 농도가 2 $\mu\text{g}/\text{well}$ 이 되도록 조정하여 coating하고 세척하였다. 희석된 난황의 WSF을 넣고 반응시킨 후 세척하여 1/10k로 Hoseradish peroxidase-conjugated anti-chick IgG Ab-HRP(Promega, G135A)를 넣었다. 여기에 HRP의 기질로는 TMB를 사용하였고 2 N 황산을 이용하여 반응을 정지시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 항-S. gallinarum 특이 항체의 함량 (specific IgY)

이 방법도 총 IgY 함량의 측정과 같이 ELISA 방법에 의해 수행하였다. 원심분리된 *S. gallinarum* 균체를 O.D. 값이 660 nm에서 0.05 가 되도록 완충액으로 희석하였다. 희석된 *S. gallinarum* 균체를 microplate에 coating하고 세척하였다. 희석된 난황의 water soluble protein 을 넣고 반응시킨 후 세척하고 적당히 희석된 rabbit anti-chick IgG Ab-HRP를 넣는다. 여기에 HRP의 기질로는 TMB를 사용하였고 반응 정지액으로 2 N 황산을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 항체의 pH-열 안정성 시험

IgY의 pH-열 안정성을 조사하기 위하여 WSF 와 조난황항체 분말을 증류수에 1%, 2%로 resuspend한 시료를 준비하였다. pH 안정성 실험은 phosphate buffer를 사용하여 각 pH를 2~10의 범위로 조정한 다음 37°C에서 4시간 방치

후 다시 pH 7.0으로 조정하여 잔존하는 총 IgY 함량과 항-S. gallinarum 특이 항체의 함량을 측정하였다.

열 안정성을 측정하기 위해서 50, 60, 70, 80 °C의 수욕(JEOL TECH.)에서 5, 10 min 가열한 후 재빨리 냉각시켜서 잔존하는 총 IgY 함량과 항-S. gallinarum 특이 항체의 함량을 분석하였다.

7. 전체 IgY 중에서 항-S. gallinarum 특이 항체의 함량분석 방법

λ -카라기난을 이용하여 분리된 항-S. gallinarum IgY 용액 0.5 mL과 *S. gallinarum* ($A_{660} = 2.3$)을 각각 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL을 혼합한 다음 phosphate buffer로 1.5 mL으로 조절하였다. 37°C에서 1시간 처리한 후 4°C 하루 방치하여 면역 복합체를 형성시켰다. 이 때 균체 분산액에서 유래하는 가용성 물질의 영향을 배제하기 위하여 IgY용액 대신 phosphate buffer를 사용하여 위와 같이 마찬가지로 처리한 것도 함께 준비하였다. 이를 1,100 \times g 으로 20분 원심 분리하여 면역 복합체를 제거하였다. 각 상정액의 흡광도 280 nm에서의 값을 측정하고 각기 그 값에서 항원 무첨가 처리군의 흡광도를 뺀 수치를 균체 밀도에 대하여 최저 흡광도를 구하였다. 이때, 흡광도는 3.0 이하의 범위에서 난황 항체용액의 농도에 정비례함을 확인하였으므로 이를 상대적인 단백질 농도로 간주하였다. 용액의 전체 단백질 중 특이항체의 함량은 다음 식으로 구하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 총 IgY 함량의 측정

*Salmonella gallinarum*를 항원으로 하여 산란

계에 Freund's adjuvant로 면역시킨 후 생산된 계란에서 IgY 함량을 주별로 분석한 결과는 Fig. 1와 같다. 총 사육기간 중 생산된 계란으로부터 얻은 난황중의 IgY 함량은 1 mL water soluble protein fraction(WSF) 중에 0.76 mg/mL으로 이는 난황 1 g에 2.28 mg에 해당하는 양이다. 일반적으로 난황의 무게를 15 g 정도로 예상하였을 때 난황의 한 개당 34.2 mg의 항체 단백질을 추출할 수 있음을 보여 주었다.

Fig. 1. Changes of total IgY content.

* Arrows indicate vaccination of *Salmonella gallinarum*

Fig. 2. Average of total IgY content.

A: *Salmonella gallinarum* vaccination egg yolk
B: Control

*S. gallinarum*로 면역처리를 실시한 처리구의 경우 총 사육기간 중 평균 IgY 함량은 WSF 1 mL당 0.84 mg으로 면역 처리를 하지 않은 산란계에서 생산된 계란내의 IgY 함량과 비교하였을 때 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다.

또한 면역처리를 하고 몇 개월이 지난 후에도 IgY 함량은 별다른 영향이 없는 것으로 나타났다.

2. 항-S. gallinarum 특이 항체의 역가

항-S. gallinarum 특이 IgY는 *S. gallinarum* 처리구의 경우 Fig. 3과 같이 3차 접종(19주) 후 2주째 가장 높은 수치를 보여주었다. 또한 대조구에 비해 약 20배 정도 높은 수치를 나타내었으며 10주 이후에는 다소 감소하는 양상을 보여주었음에도 불구하고 대조구에 비해 여전히 11배 이상 많은 specific IgY가 잔존함이 확인되었다. 3차 접종 후 9주 동안은 specific IgY가 높은 수치가 유지되는 것으로 나타났으며 30주까지 계속 유지하는 것으로 보아 추가적인 접종은 필요 없을 것으로 판단되었다.

Fig. 3. Changes of anti-*Salmonella gallinarum* specific IgY content.

3. 난황항체의 분리 효율 비교

면역시킨 산란계의 난황은 특이항체를 함유하고 있어 난황을 직접 소재로 사용 할 수 있으나 난황 내의 지질은 항체 항원에 대한 반응을 방해 할 수 있어 항체를 난황으로 분리하여 사용하는 것이 바람직하다. 난황으로부터 수용성 단백질의 회수를 비교하기 위하여 카라기난

종류와 농도에 따라 그 효율성을 비교하고 Table 1, Fig. 5, 6에 나타내었다.

Fig. 4. Average of anti-*Salmonella gallinarum* specific IgY content.

A: *Salmonella gallinarum* vaccination egg yolk
B: Control

분리된 난황 25 g을 λ-카라기난(Sigma C-3889) 0.1%, 냉수 가용성(MSC #10387) 1%, 2%, 90℃ 연수 가용성 (MSC #10386) 1%, 2% 및 냉수 가용성(0.1%): 90℃ 가용성(0.1%) = 1 : 1, 1%, 2%로 사용하여 분리하였다. WSF의 회수율은 Table 1과 같이 λ-카라기난 0.1%와

0.2% 냉수 가용성 카라기난이 가장 많았으며, total IgY는 0.1% 90℃ 가용성+0.1% 냉수 가용성 카라기난이 가장 많은 함량을 나타내었다 (Fig. 5). Specific IgY 함량은 Fig. 6와 같이 나타내었다. Specific IgY 또한 0.1%, 90℃ 가용성 +0.1% 냉수 가용성 카라기난이 가장 많았으나, 0.1% 및 0.2% 냉수 가용성과 90℃ 가용성을 비교해 보면 냉수 가용성이 0.1%와 0.2%에서 큰 변화 없이 다소 안정되고 많은 회수율을 나타내었다. λ-카라기난 0.1%, 냉수 가용성 1% 비교적 좋은 회수율과 total IgY, specific IgY 함량을 나타내었지만 λ-카라기난 0.1%가 더 나은 것으로 나타내었다.

효율을 비교한 결과 냉수 가용성 카라기난이 수율이 가장 높은 것으로 나타났다. Sigma 0.1%와 냉수 0.1%를 비교한 결과 회수율과 total IgY, sepecific IgY의 함량면에서는 Sigma 0.1%가 더 좋은 것으로 나타났으나 경제적인 면을 고려할 때 냉수 가용성 카라기난을 사용하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

Hatta (1990)의 보고를 보면 다른 gum solution

Table 1. Comparison of IgY separation methods

	Carrageenans	Recovery rate (%)	Amount of recovery(mL)*
1	λ-carrageenan (Sigma C-3889)	0.1	110
2	MSC #10386 (hot water soluble)	0.1	95
3	MSC #10386 (hot water soluble)	0.2	93
4	MSC #10387 (cold water soluble)	0.1	105
5	MSC #10387 (cold water soluble)	0.2	110
6	MSC #10387 (cold water soluble) : MSC #10386 (hot water soluble) = 1 : 1	0.1	80
7	MSC #10387 (cold water soluble) : MSC #10386 (hot water soluble) = 1 : 1	0.2	104

A) recovery of WSF separated using each carrageenan

λ -카라기난의 방법의 경우 gammaYolk™, EGGstract™ 보다 IgY의 회수율이 매우 높아 1g당 각각 11.3, 1.7, 1.8 mg으로 나타났으며 분리시간은 20분, 1시간이상, 35분 가량씩 소요되었다. 따라서 λ -카라기난이 경제성, 간편성, 효율성에서 우수하여 많은 양의 난황 항체를 생산할 때 유용한 것으로 나타났다.

이번 연구에서 다양한 종류의 카라기난 효율을 비교한 결과 냉수가용성 카라기난이 수율도 높고 가격이 저렴하여 대량생산을 고려하였을 때 냉수 가용성 카라기난을 사용하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

4. 항체의 pH-열 안정성 시험

WSF을 pH 2에서 pH 10까지 변화시켜 total IgY의 역가를 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. pH 2에서 pH 4에서는 total IgY 함량이 급격히 감소하여 IgY가 강산에 불안정한 경향을 보이는 것으로 나타났으나, pH 5에서 pH 10까지는 매우 안정된 상태를 유지하였다. 냉동 건조된 IgY 분말을 재용해시켜 제조한 1%, 2% IgY 용액에서도 specific IgY에서의 잔존의 경향이 WSF과 유사한 결과를 보여 주었다. pH가 specific IgY에 미치는 영향은 Fig. 8에 나타내었다. WSF 또는 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1%, 2% IgY 용액 모두 pH 2와 pH 3에서 specific IgY 잔존활성이 급격히 감소하였으나 pH 4에서 pH 10까지는 매우 안정적인 것으로 나타났다.

Total IgY 활성이 높은 가장 pH 7과 비교하였을 때 WSF와 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액의 total IgY 함량은 각각 35%, 65% 80%로 나타났다. 이로서 WSF은 IgY 분말로 제조된 용액보다 pH의 영향을 더 많이 받는 것으로 나타났다.

Fig. 5. Average of total IgY content.

- A : λ -carrageenan (Sigma C-3889) 0.1%
- B : hot water soluble 0.1%
- C : hot water soluble 0.2%
- D : cold water soluble 0.1%
- E : cold water soluble 0.2%
- F : hot water soluble + cold water soluble 0.1%
- G : hot water soluble + cold water soluble 0.2%

Fig. 6. Average of specific IgY content.

- A : λ -carrageenan (Sigma C-3889) 0.1%
- B : hot water soluble 0.1%
- C : hot water soluble 0.2%
- D : cold water soluble 0.1%
- E : cold water soluble 0.2%
- F : hot water soluble + cold water soluble 0.1%
- G : hot water soluble + cold water soluble 0.2%

에 비해 λ -카라기난이 난황 단백질의 활성을 저해하지 않으면서 난황 지질을 선택적으로 제거하였다. 한편 손 등(1998)의 연구를 보면

한편, specific IgY의 활성은 total IgY와는 달리 pH 9에서 가장 높은 활성을 보여 주었는데 이는 IgY 구조 내에서 *S. gallinarum*에 대한 specificity를 주는 구조 부위가 알칼리에서 더 안정적인 것이 아닐까 추측되었다. pH 9와 비교하여 pH 4에서 WSF와 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액의 specific IgY 함량은 각각 79%, 67%, 42%로 나타났다.

한편 손 등(1998)의 연구를 보면 항-*Streptococcus mutans* 특이 IgY 잔존활성이 pH 9에서 급격히 감소하였으나 pH 4에서 pH 8까지는 매우 안정적인 것으로 나타났는데 이로서 항-*S. gallinarum* specific IgY 잔존 활성이 항-*S. mutans* specific IgY보다 좀 더 안정적인 것으로 나타났다.

위를 종합하여 가공처리 시의 여러 가지 상황을 고려하였을 때, 지금까지의 결과를 토대로 pH 4 미만의 강산에 의한 가공 공정은 IgY 가공법으로 적절치 않는 것으로 사료되었다. 그러나 대부분의 가공 조건이 pH 4 이상에서 이루어지므로 IgY를 이용한 제품의 생산 시에는 일반적인 가공 조건에서는 IgY의 활성이 잘 유지 될 수 있는 것으로 나타나 IgY 활용의 범용성이 입증되었으며 대부분의 가공 조건에서도 잘 견딜 수 있는 것으로 사료되었다.

IgY의 열에 의한 안정성은 가열하지 않은 IgY의 활성을 100으로 기준하여 조사하였다. WSF와 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액을 열처리 한 후에 잔존 활성을 나타낸 결과, 처리 온도와 시간이 증가할수록 WSF, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액 모두 total IgY 잔존 함량은 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 80

℃ 5분 가열 처리한 경우에는 WSF과 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액이 각각 3.95%, 0.85%, 0.47%로 total IgY 잔존 함량 크게 감소하였다.

Fig. 7. Total IgY stability by various pH.

Fig. 8. Specific IgY stability by various pH.

그러나 70℃ 5분 가열에서는 WSF와 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액은 각각 62%, 58%, 62%로 나타나 IgY 용액의 가공 처리 시 낮은 온도의 살균과정 등에서 잘 견딜 수 있는 것으로 사료된다. 한편 70℃ 10분 가열에서는 WSF과 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 2% 용액의 IgY의 잔

손 등(1998)의 연구를 보면 항-*Streptococcus mutans* 특이 IgY의 pH 잔존활성이 70℃ 5분에서 급격히 감소하였으나 pH 4에서 pH 8까지는 매우 안정적인 것으로 나타나는 것으로 보아 항-*Salmonella gallinarum* 특이 IgY의 pH 잔존활성이 좀더 안정적인 것으로 나타났다.

5. 전체 IgY중에서 항-*Salmonella gallinarum* 특이항체의 함량분석 방법

난황중의 IgY 중에서 *S. gallinarum*에 specific한 IgY의 함량을 조사하기 위하여 WSF를 여러 농도의 *S. gallinarum*와 반응시켜 면역복합체를 형성시킨 후 원심분리로 이를 제거하고 상정액 중에 잔존하는 단백질의 양을 280 nm에서 측정하여 Fig. 11같은 결과를 얻었다. 여기에서 상대적인 항원의 농도가 0.6일 때 상정액의 흡광도는 거의 바닥값을 나타내어 *S. gallinarum*에 대한 특이항체는 거의 제거되었음을 알 수 있다. 따라서 방법에 명시한 식에 의하여 수용성 단백질 중 *S. gallinarum* 특이항체의 비율을 구하면 23%이다. 즉 계란 total IgY 함량 중

Fig. 9. Total IgY stability by various temperature.

Fig. 10. Specific IgY stability by various temperature.

존 함량은 각각 45%, 45%, 39%로 활성이 감소하는 것으로 나타났다. 마찬가지로 specific IgY의 역가는 온도가 증가할수록 서서히 감소하는 경향을 나타내었으며, 냉동 건조된 IgY 분말을 용해시켜 제조한 1% 용액의 역가 비율의 감소가 WSF에 비해 다소 높았다. 80℃에서는 total IgY의 경우와 마찬가지로 specific IgY의 역가가 거의 나타나지 않았다(Fig. 9, Fig. 10). 한편

Fig. 11. Quantitative immunoprecipitation of specific IgY and *Salmonella gallinarum*. The results were shown as the absorbance of the supernatants after removal of the immune complexes.

$$\text{Specific IgY} = \frac{A_{280} \text{ of blank} - \min A_{280}}{A_{280} \text{ of blank}} \times 100\%$$

23%가 *S. gallinarum* 특이항체를 알 수 있다. 난황 항체의 분리 효율은 난황으로부터 항충치 항체의 분리 및 그 특성(손 등, 1998)에서 난황 항체중에 함유된 *Streptococcus mutans*의 특이 항체의 비율은 61%으로 나왔지만 본 실험의 경우 *S. gallinarum* 특이항체는 이 보다는 다소 낮다는 것을 알 수 있었다.

IV. 요약

가금티푸스 유발균인 *Salmonella gallinarum* 대항하는 항체의 함량이 높은 계란을 생산하기 위해 면역처리 후 산란계의 난황에서 항체를 분리하여 총 IgY와 특수 IgY의 함량의 변화와 그 특성을 조사하였다. 먼저 난황으로부터 항체의 수율과 경제적인 측면을 비교하기 위하여 난황 분리된 난황 25 g을 λ-카라기난(Sigma C-3889) 0.1%, 냉수 가용성(MSC #10387) 1%, 2%, 90℃ 가용성 (MSC #10386) 1%, 2% 및 냉수 가용성(0.1%) : 90℃ 가용성(0.1%) = 1 : 1, 2%로 사용하여 분리하는 하였을 때 λ-카라기난 0.1%, 냉수 가용성 1% 비교적 높은 회수율과 total IgY, specific IgY 함량을 나타내었지만 λ-카라기난 0.1%가 더 나은 것으로 나타났다. Specific IgY는 마지막 백신 접종 후 44 주간까지 꾸준히 검출되고 있는 것으로 나타났다. 산도 변화에 의한 total IgY의 잔존 함량을 보면 pH 5~9 범위에서 70% 이상 잔존하며, specific IgY도 pH 4~10에서 74% 이상 존재하여 산에 대하여 대체로 안정적임을 알 수 있었다. 열처리 후 조항체 용액을 total IgY, specific IgY 역가 높게 유지되는 것을 관찰 할 수 있었다. 이로써 난황으로부터의 면역 항체 생산의 가능성이 확인되었고 이러한 IgY는 추출과 가공처리 등에 의해 비교적 안정적인 것으로 나

타나 IgY를 이용한 가금티푸스의 예방 또는 치료용의 대량 생산 가능성이 높은 것으로 사료 되었다.

V. 인용 문헌

- Hatta, H., Sim, J. S. and Nakai, S. 1988. Separation of phospholipids from egg yolk and recovery of water soluble proteins. J. Food Sci. 53(2):425-431.
- Lee, K., Ametani, A., Shimizu, M., Hatta, H., Yamamoto, T. and Kimnogawa, S. 1991. Production and characterization of anti-human insulin antibodies in the hen's egg. Agric Biol. Chem., 55(8):2141-2143.
- Larsson, A., Balow, R. M., Linda, T. L. and Forsberg, P. O. 1995. Chicken antibodies ; Taking advantage of evolution - A review. Poultry Sci. 72(9):1807-1812.
- Bade, H. and Stegemann, H. 1984. Rapid method of extraction antibodies from hen egg yolk. J. Immunol. Methods. 72:421-426.
- Hatta, H., Kim, M. and Yamamoto, T. 1990. A novel isolation method for hen egg yolk antibody "IgY". Agric. Biol. Chem. 54(10):231-2535.
- Polson, A. and Von Wechmar, M. B. 1980. Insolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. Immunol. Commun. 9(4):475.
- 한찬규, 이복희, 윤철석, 성기승, 이남형. 2000. 몇 가지 사료 첨가제가 계란의 특성성분에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 42(1):73-85.
- 모인필. 1995. 중추 구입 후 가금티프스 발생으로 폐사 다발. 양계연구. 12:52-53.
- 나만채. 1999. 국내 산란계에서 다발하는 주요 질병 및 대책. 월간양계. 2: 85-89.
- 박경운. 1995. 양계장의 살모넬라 감염실태와 대책. 양계연구. 6:54-58.
- 김영봉, 노정해, 손동화, 김희주, 성기승, 이남형. 2000. *Streptococcus mutans*에 specific IgY의 항균력. 한국식품과학회지. 32(6):1319-1325.
- 손동화, 노정해, 김영봉, 한찬규, 성기승, 이남형. 1998. 난황으로부터 항충치 항체의 분리 및 그 특성. 한국식품과학회지. 30(5):1029-1034.

13. 노정해, 김영봉, 한찬규, 성기승, 이남형, 손동화. 1999. 산란계의 연령과 면역주기에 따른 난황 중의 *Streptococcus mutans* 특이 항체 함량. 한국동물자원과학회지. 41(5):563-574.
 14. 이남형, 노정해, 한찬규, 성기승. 1999. 여러 가지 산란계 사료 첨가제가 계란의 IgY 수준과 산란율에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 41(2): 155-156.
 15. 오경록. 1999. 가금용 살모넬라균 백신의 장단점. 월간양계. 1:52-53.
 16. 유종철. 1999. 전체 가금 질병의 101가지 종류와 국내 필드 대처 상황. 현대양계. 1:54-59.
 17. 오경록. 1995. 살모넬라균의 종합적 방역 프로그램. 양계연구. 6:41-46.
- (접수일자 : 2005. 2. 1. / 채택일자 : 2005. 7. 12.)