

Anti-*Salmonella gallinarum* Immunoglobulin 생산을 위한 계란의 이용

노정해* · 김미현 · 김영봉 · 정순희¹

한국식품연구원, ¹성균관대학교 식품생명공학과

Effect of Charcoal on the Production of Anti-*Salmonella gallinarum* IgY

Jeonghae Rho*, Mihyun Kim, Young Boong Kim, and Soon Hee Jung¹

Ginseng Research Group & Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

¹Department of Food Science & Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

ABSTRACT

In order to produce the antibody rich eggs against *Salmonella gallinarum* (S.G) causing fowl typhoid, the productions of immunoglobulin in eggs were compared and examined with the feed additives, the variety of adjuvants in vaccines to layers, and the existence of additive antigens other than target microorganism. The examination of the average contents of specific IgY in immunized group by supplying hardwood charcoal showed that the group supplied with 0.5% hardwood charcoal had the highest contents, implying that the supply of hardwood charcoal promoted the production of specific IgY. Adjuvant appeared to have little effect on the average contents of total IgY, but specific IgY contents increased in the immunized group with Freund's adjuvant. Addition of BCG in adjuvant treatment increased specific IgY however, this feature was not seen in aluminum hydroxide treated group. Immunization at 15 week layers resulted in higher laying rate than immunization at 21 week and addition of hardwood charcoal in feed recovered laying rate. It was therefore, concluded that the feed supplement, such as hardwood charcoal followed by a proper immunization program concerning adjuvant, vaccination period and supplementary microorganism hastened the production of IgY.

Key words : eggs, IgY, *Salmonella gallinarum*, immunoglobulin

서 론

난생 동물의 경우 어미닭이 획득한 면역항체는 난황 중으로 이행되어서 축적되고 자손에 전해진다. 난황 중의 항체는 포유류의 IgG 계통의 항체에 해당되나 단백질화학적 성질이 약간 다르고 또한 난황유래의 항체이므로 비교 면역학 분야에서는 IgY(immunoglobulin Y)라 부른다(Lee *et al.*, 1991). 어미 닭에서 알을 통해 병아리로 면역항체의 이행은 1893년에 Klemberer에 의해 발견되었다(Larsson *et al.*, 1995).

현재 난황의 특이 항체를 이용한 연구들은 여러 분야에서 활발히 이루어지고 있는데 예를 들어, 충치균에 대한 항체(Hamada *et al.*, 1991), 설사를 일으키는 바이러스에 대한 항체(Yolken *et al.*, 1988), 대장균에 대한 항체

(Shimizu *et al.*, 1998), 양식어 감염증에 대한 항체(Gutierrez *et al.*, 1993) 등을 계란을 통해 대량 생산해내려는 연구 등이 있다.

살모넬라 갈리나룸(*Salmonella gallinarum*)은 가금티푸스의 원인균으로서 국내에서 발생빈도는 해마다 증가하고 있는 실정이다(Kim *et al.*, 2000; 나, 1999). 가금티푸스의 발생 방지를 위해서는 예방 접종을 실시하고, 항생제를 급여하는 등 여러 방법 등이 있다(박, 1995; 정, 1993). 그러나 산란중인 닭에 항생제를 급여하면 그 산란계로부터 생산된 계란에는 잔류약제 성분이 일부 이행되어 계란을 식용할 수 없게 된다. 그러므로 *S. gallinarum* 항체를 안전한 방법으로 산란계에 공급할 수 있는 새로운 기술이 필요하다(오, 1999).

참숯은 주로 재질이 단단한 갈참나무, 굴참나무와 같은 참나무를 사용해서 만들기 때문에 참숯이라 하는데, 주성분은 85%가 탄소이고 수분이 10%이며 그 외 미네랄이 4%정도이다. 참숯은 공기정화, 악취 제거 뿐 아니라 항균 및 해독작용이 있다고 알려져 있어 실생활에서 여러 곳에

*Corresponding author : Jeonghae Rho, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea. Tel: 82-31-780-9060, Fax 82-31-709-9876, E-mail: drmo@kfri.re.kr

활용되고 있다. 또한 참숯은 여러 한약재와 함께 양계사료를 제조하는데 쓰이고 참숯을 사용하면 계란 난황의 색이 더 좋아지고 비린 맛도 제거한다고 보고하였다(이, 2004).

본 연구에서는 산란계에 *S. gallinarum*를 면역시켜 *S. gallinarum* 항체를 생성하고 더불어, IgY 대량 생산을 위하여 난황 내에서의 IgY 함량을 높일 수 있는가에 대한 기초 연구를 수행하고자 하였다. 산란계에 항원을 투여하고 사료 첨가제를 일반사료와 혼합하여 급여한 후, 항체 함량 증진 효과를 알아보고 산란계에 immunization 때 adjuvant 종류에 따른 계란 내의 면역단백질 생산을 비교하였다. 또한 산란계의 면역에 따른 산란을 감소 방지를 위하여 산란계의 면역 연령과 사료첨가물에 따른 산란을 감소 방지 효과를 분석하고자 하였다.

이 연구를 통하여 계란의 난황으로부터 부가가치가 높은 기능성 식품의 소재를 개발함으로써 계란의 이용을 높이고 수익성을 증대시켜 추가적이고 안정적인 수요기반의 확충을 도모하고자 하였다.

재료 및 방법

공시 재료

산란계는 양지 부화장으로부터 구입한 Isabrown 종(13주령)을 사용하였으며 사료는 대추용 제일 사료를 사용하였다. *Salmonella gallinarum*(ATCC, 9148)은 Tryptic soy broth(DIFCO, USA)에 균을 접종한 후 37°C 항온기에 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 원액은 원심분리를 하고 균체를 회수하여 초저온 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 균체는 60°C에서 30분간 열처리하고 원심분리하여 균체를 회수하였다. 회수된 균체는 식염수로 현탁 후 원심분리하여 재회수하여 사용하였다. 이렇게 준비된 항원은 emulsion을 만든 후 산란계에 접종하였으며 *S. gallinarum* 균 면역 처리시에 1회 주사량은 1 mL로 하였고, 이 때 균수는 10^8 CFU/mL이며 첫 접종한 후 2주 간격으로 2회 boosting하였다.

난황으로부터 항체(IgY)의 분리

난황 중에서 IgY(immunoglobulin Y) 분리정제는 Hatta(1990)의 방법을 기준으로 하였다. 즉, 난황을 같은 양(w/v)의 증류수와 함께 잘 섞은 후 수 분간을 방치하고, 난황의 4배 분량(w/v)의 0.1% λ -Carrageenan(Sigma C3889)을 섞었다. 이것을 상온에서 30분간 방치한 다음 $10,000 \times g$, 15분간 원심분리를 한 후 Whatman #2 여과지로 여과하여 수용성 단백질 분획(water soluble protein fraction; WSPF)을 얻었다. 수용성 단백질 분획을 여러 단계로 회수하여 IgY 함량을 측정하는데 사용하였다.

Total IgY 함량의 측정

Total IgY 함량의 측정을 위하여 microplate에 rabbit anti-

chick IgG antibody의 (Sigma C2288) 단백질 농도가 2 μ g/well이 되도록 조정하여 coating하고 세척하였다. 회석된 난황의 수용성 단백질 분획을 넣고 반응시킨 후 세척하여 1/30,000 회석된 rabbit anti-chick IgG Ab-HRP(Promega G135A)를 넣었다. 여기에 HRP의 기질로는 3,3',5,5'-Teramethylbenzidine tablets dihydrochloride(Sigma T3405)를 사용하였고 2 N 황산을 이용하여 반응을 정지시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 병아리 IgY를 이용하여 표준 농도 곡선을 작성하여 회석된 수용성 단백질 분획 내의 IgY 농도를 측정 후 계산하였다(Rho et al., 2005).

Specific IgY의 함량

Specific IgY 함량의 측정도 ELISA 방법에 의해 수행하였다. 원심분리된 *S. gallinarum* 균체를 흡광도 값이 660 nm에서 0.05가 되도록 원추액으로 회석하였다. 회석된 *S. gallinarum* 균체를 microplate에 코팅하고 세척하였다. 회석된 난황의 수용성 단백질 분획을 넣고 반응시킨 후 세척하고 1/3,000 회석된 rabbit anti-chick IgG Ab-HRP를 넣었다. 여기에 HRP의 기질로는 3,3',5,5'-Teramethylbenzidine tablets dihydrochloride(Sigma T3405)를 사용하였고 반응 정지액으로 2 N 황산을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 농도 곡선과 비교하여 수용성 단백질 분획 내의 anti-*S. gallinarum* IgY의 역가를 계산하였다.

난황 내 항체 함량 제고 기술 개발

IgY의 함량이 높은 계란을 생산하기 위하여 산란계용 닭 250수로 사양실험을 실시하였다(Table 1). 백신 투여하지 않은 일반사료에 급여구를 대조구(F1)로 하여, 백신 투여 없이 참숯 0.5% 첨가 사용 급여구(F2)를 비교 대상으로 하였다. 또한 15주령의 산란계에 *S. gallinarum* 항원과 Freund's adjuvant를 사용하여 2주 간격으로 3회 면역시킨 후 일반사료를 급여한 처리구(F3), 참숯 0.5%첨가 사료 급여구(F4), 참숯 0.25% 첨가 사료 급여구(F5)를 처리구로 하여 total IgY와 specific IgY를 측정하였다. 참숯(charcoal)은 사료 첨가용(대명)을 사용하였다.

효율적인 면역프로그램 기술 개발

S. gallinarum 항원 백신 주사시 adjuvant 종류, target 균

Table 1. Experimental design of trial for enhancing IgY production

Treatment	Immunization	Feeds
F1	-	no charcoal
F2	-	charcoal 0.5%
F3	+ (<i>S. gallinarum</i>)	no charcoal
F4	+ (<i>S. gallinarum</i>)	charcoal 0.5%
F5	+ (<i>S. gallinarum</i>)	charcoal 0.25%

Table 2. Experimental design of trial for various immunization methods

Treatment	Immunization program	
	First	Second
A1	No immunization	No immunization
A2	<i>S. gallinarum</i> 1 Freund's complete adjuvant 1	<i>S. gallinarum</i> 1 Freund's incomplete adjuvant 1
A3	<i>S. gallinarum</i> 1 BCG 1 Freund's complete adjuvant 2	<i>S. gallinarum</i> 1 BCG 1 Freund's incomplete adjuvant 2
A4	<i>S. gallinarum</i> 2 aluminium hydroxide 1	<i>S. gallinarum</i> 3 ISA 1
A5	<i>S. gallinarum</i> 1 BCG 1 aluminium hydroxide 1	<i>S. gallinarum</i> 3 ISA 1

의 첨가균의 여부에 따른 면역 단백질의 생산을 비교하는 실험을 실시하고자 산란계용 닭 250수를 사용하였다. 시험처리의 항원으로는 *S. gallinarum*(ATCC 9148) 균주를 사용하였고, Freund구(A2)의 첫 면역처리시는 Adjuvant complete Freund's(Difco 0638-60-7)을 *S. gallinarum* 균체와 1:1(V/V) 비율로 유화시켜 닭의 가슴근육에 주사하였고, 2회 면역처리부터는 Adjuvant incomplete Freund's(Difco 0638-60-6)을 사용하였다. 결핵균구(A3)는 adjuvant가 Freund 구와 같으며, *S. gallinarum* 균체와 결핵균(BCG) 및 adjuvant의 비율을 1:1:2로 혼합하여 주사하였다. 수산화알루미늄구(A4)는 첫 면역처리 시 수산화알루미늄을 *S. gallinarum* 균체와 1:2의 비율로 하여 1 mL씩 주사하였고, 2회 면역처리부터는 *S. gallinarum* 균과 ISA 25(Montanide)의 비율을 3:1로 하였다. 수산·결핵균구(A5)는 첫 면역처리시 *S. gallinarum*, 수산화알루미늄 및 결핵균의 비율은 1:1:1로 하여 1 mL씩 주사하였고, 2회 면역처리부터는 균액과 ISA 25를 3:1의 비율로 유화시켜 사용하였다. 1회 주사량은 1 mL로 하였고, 이때 균수는 10^8 CFU/mL이며, 첫 접종 후 2주 간격으로 3회 주사하였다.

Table 3. Experimental design of trial for improving laying rates

Treatment	Immunization	Immunization ages (week)	Feeds
W1	-		no charcoal
W2	-		charcoal 0.5%
W3	+	15	no charcoal
W4	+	15	charcoal 0.5%
W5	+	21	no charcoal
W6	+	21	charcoal 0.5%

실험기간 중 산란계에는 모두 0.5% 참숯이 포함된 사료를 급여하였다.

산란율 감소 방지 기술 개발

항원을 산란계에 접종하면 산란율이 감소하는데 이를 방지하기 위하여 사료 첨가제와 접종시기를 달리하여 비교하였다. 이때 산란계는 각 처리군(W5, W6) 별로 50수를 사용하였다. 일반산란계 사료에 참숯을 0.5% 첨가하여 급여하여 참숯 첨가에 따른 효과를 산란율과 IgY 역가로 비교하였다. 산란계의 연령에 따라 산란 이전(15주령) 또는 산란 중(21주령)에 항원을 접종하고 이들의 효과를 산란율과 IgY 역가로 비교하였고 시험 처리구는 Table 3과 같이 실험하였다.

통계처리

조사된 결과는 SAS(Statistical Analysis System, 1996) 8.0 프로그램을 이용하여 분산분석으로 검증하였다.

결과 및 고찰

난황내 항체 함량 제고 기술 개발

계란의 IgY 생산제고를 위하여 산란계용 사료에 참숯을 첨가한 후 그 영향을 살펴보았다. Lee 등(1999)은 여러 가지 사료 첨가제 마늘, 쑥, 생강, 참숯 중 특히 참숯은 IgY 함량 제고에 효과적이면서 동시에 계란 특유의 비린내 등을 억제하는 것으로 보고하였다.

Fig. 1에 면역처리와 참숯에 첨가에 의한 계란 중의 total IgY 함량 비교를 도식하였다. 면역 처리를 한 처리군(F3, F4, F5)와 면역처리를 실시하지 않은 처리군(F1, F2) 사이에는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 total IgY의 경우, 참숯 첨가에 의한 효과도 없는 것으로 나타났다.

계란 중의 specific IgY의 평균 함량을 구하였을 때는, Fig. 2에서 볼 수 있듯이 면역 처리구(F3, F4, F5)가 비면

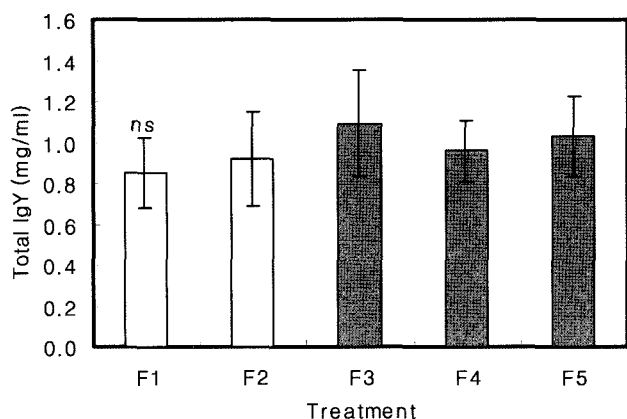


Fig. 1. Effects of feeds on total IgY. F1: no immunization, F2: no immunization, charcoal 0.5%, F3: immunization, F4: immunization, charcoal 0.5%, F5: immunization, charcoal 0.25%. Ns: no significantly different.

역처리구(F1, F2) 보다 55~97%정도 높은 함량을 나타내었다. 면역처리에 의한 효과를 통계적으로 분석한 결과 비면역처리구(F1, F2)와 면역 처리구(F3, F4, F5)간에 유의적 차이가 있는 것으로 나타났다. 실험기간 동안의 specific IgY의 함량변화를 보면 비면역처리구(F1, F2)에서는 역가가 나타나지 않았고 면역처리구(F3, F4, F5)에서는 120일째까지 매우 높은 함량을 보이다가 그 이후에는 서서히 감소하는 경향을 나타내었다.

참숯을 급여한 면역처리구의 평균 specific IgY 함량을 비교해 보면 참숯을 급여한 처리구(F4, F5)와 참숯을 첨가하지 않은 처리구(F3)간에는 유의적 차이가 있었다 ($p < 0.05$). 이 때 0.5% 참숯을 급여한 F4 처리구가 가장 높은 함량을 나타내었으며, 0.25% 참숯급여(F5), 그리고 일반사료 급여(F3) 순으로 나타나 specific IgY의 생산에 있어서 참숯의 급여가 항체 생산에 큰 영향을 미치는 것으로 사료되었다. 한편 Kim 등(2001)은 산란계 사료 첨가제로 마늘, 쑥, 양파, 참숯을 사용하였고 이들 첨가제에 따

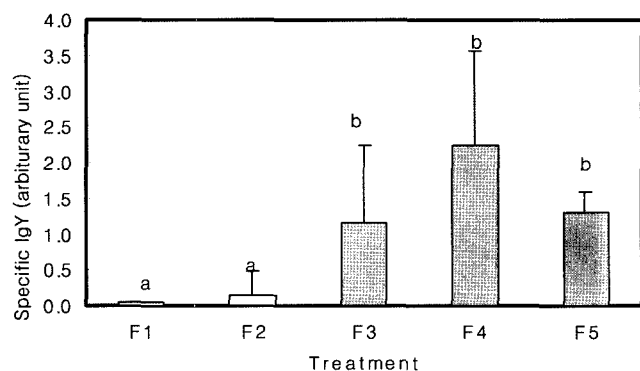


Fig. 2. Effects of feeds on specific IgY. F1: no immunization, F2: no immunization, charcoal 0.5%, F3: immunization, F4: immunization, charcoal 0.5%, F5: immunization, charcoal 0.25%. ^{a,b}Bars with different superscript are significantly different at $p < 0.05$.

른 유의적 차이를 제시하지 못하였으나 참숯에 의해 오히려 specific IgY가 감소되는 경향이 있다고 보고하여 이 연구와는 상이한 양상을 보여주었다.

효율적인 면역프로그램

효율적인 면역처리 방법 정립을 위하여 adjuvant에 의한 영향과 첨가 균주에 의한 영향을 살펴보았다. Adjuvant 처리에 따른 total IgY 함량은 차이가 거의 없는 것으로 나타났다(Fig. 3).

그러나 specific IgY의 함량은 수산화 알루미늄 처리구(A4, A5)에 비해 Freund's adjuvant 처리구(A2, A3)가 3배 이상 많은 함량을 나타내어 수산화 알루미늄이 Freund's adjuvant에 비해 백신제조 시 다소 효과가 낮은 것으로 나타났다(Fig. 4). Freund's adjuvant 처리구(A2, A3)와 수산화 알루미늄 처리구(A4, A5)사이에서는 유의적 차이가 있는 것으로 나타났고($p < 0.05$), 수산화 알루미늄 처리구와 immunization을 하지 않은 처리구 간에는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다. Immunization에 있어서 adjuvant를 이용하면 항원이 산란계의 체내에서 서서히 분산되어 항체의 생산이 높아진다. 그러나 Freund's의 경우 용액이 매우 dense 하여 emulsion을 만드는데 용이하지 않은 단점이 있고 수산화 알루미늄의 경우 주사액을 만드는데 용이하다(Rho *et al.*, 1999). 또한 Freund's adjuvant는 수산화 알루미늄에 비하여 높은 가격이므로 대량의 anti-*S. gallinarum* IgY의 생산을 위해서는 경제성 분석이 세심히 이루어져야 할 것이다.

Freund's adjuvant 사용 시 *S. gallinarum*균에 결핵균 사균(BCG)을 같이 첨가하여 면역을 실시한 경우(A3) 더 많은 specific IgY가 생성되었으나 수산화 알루미늄 처리구에

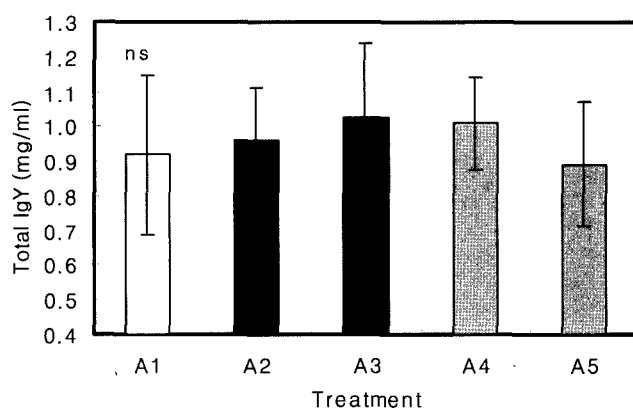


Fig. 3. Effects of immunization methods on total IgY. A1: no immunization, A2: *S. gallinarum* 1 + Freund's complete adjuvant 1, *S. gallinarum* 1 + Freund's incomplete adjuvant 1, A3: *S. gallinarum* 1 + BCG 1 + Freund's complete adjuvant 2, *S. gallinarum* 1 + Freund's incomplete adjuvant 2, A4: *S. gallinarum* 2 + aluminium hydroxide 1, *S. gallinarum* 3 + ISA 1, A5: *S. gallinarum* 1 + BCG 1 + aluminium hydroxide 1, *S. gallinarum* 3 + ISA 1. Ns: no significantly different.

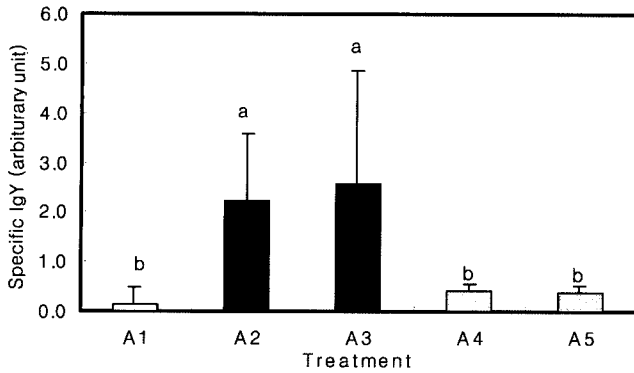


Fig. 4. Effects of immunization methods on specific IgY. A1: no immunization, A2: *S. gallinarum* 1 + Freund's complete adjuvant 1, *S. gallinarum* 1 + Freund's incomplete adjuvant 1, A3: *S. gallinarum* 1 + BCG 1 + Freund's complete adjuvant 2, *S. gallinarum* 1 + BCG 1 + Freund's incomplete adjuvant 2, A4: *S. gallinarum* 2 + aluminium hydroxide 1, *S. gallinarum* 3 + ISA 1, A5: *S. gallinarum* 1 + BCG 1 + aluminium hydroxide 1, *S. gallinarum* 3 + ISA 1. ^{a,b}Bars with different superscript are significantly different at $p < 0.05$.

서 결핵균 첨가(A5)에 의한 영향은 나타나지 않았다. 면역을 실시할 때 항체 이외의 균이 첨가되면 항체생산이 더욱 촉진되는 것으로 알려져 있어 이 연구에서도 보조균으로 결핵균을 사용하여 항체생산을 촉진하려 하였으나 별다른 효과가 없는 것으로 나타났다.

산란율 감소 방지 기술 개발

일반적으로 항원을 산란계에 접종하면 산란율이 감소하는데, 이를 방지하기 위하여 사료 첨가제와 접종시기를 비교하였다. 시험 기간 동안의 산란율 평균을 Fig. 5에 나타내었다. 면역처리군(W3, W5)은 면역처리(W1)하지 않은 처리군에 비해 산란율이 저하되는 것을 볼 수 있는데 이는 면역에 의한 stress로 인한 것으로 보여진다(Rho *et al.*, 1999). 대량의 anti-*S. gallinarum* IgY 생산을 위해서는 높은 함량의 specific IgY와 동시에 높은 산란율이 두가지가 모두 중요하다. 즉, 면역 쇼크에 의해 산란율이 저하되면 계란의 생산자체가 줄어 아무리 높은 농도의 anti-*S. gallinarum* IgY가 생산되더라도 효율적인 생산을 할 수 없게 된다.

최초 접종시기에 따른 영향을 살펴보면 15주령에 면역처리(W3)를 하는 것이 21주령에 면역처리(W5)하는 경우보다 산란율이 높았으며 이는 면역시기가 빠르면 산란율 감소에 영향을 덜 미칠 수 있을 것으로 보여준 보고(Lee *et al.*, 1999)와 같은 경향을 보여주었다. 참숯을 사료에 첨가한 경우 산란율의 저하를 완화시킬 수 있는 것으로 보여졌는데 예를 들어 참숯 처리를 하지 않은 경우(W5) 산란율이 저하되는 것을 볼 수 있었으나 참숯을 사료에 첨가한 경우(W6) 산란율 저하가 감소되었다. 즉 21주령에 면역 처리를 실시 한 경우 산란율 감소가 매우 컸으며 이

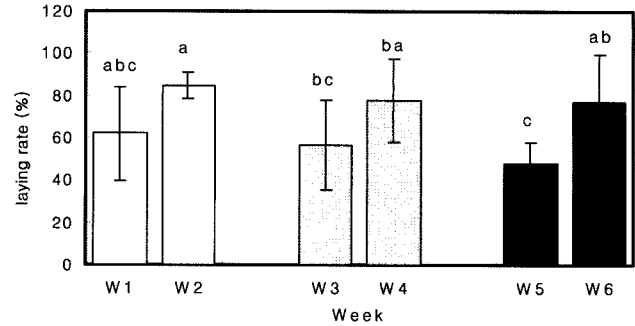


Fig. 5. Effects of layers' age and feeds on laying rate (%). W1: no immunization, no charcoal, W2: no immunization, charcoal 0.5%, W3: immunization, immunity age = 15 week, no charcoal, W4: immunization, immunity age = 15 week, charcoal 0.5%, W5: immunization, immunity age = 21 week, no charcoal, W6: immunization, immunity age = 21 week, charcoal 0.5%. ^{a,b,c}Bars with different superscript are significantly different at $p < 0.05$.

러한 산란율 감소는 참숯의 첨가로 인하여 산란율 감소가 완화되어 면역처리를 실시하지 않은 처리군의 산란율 정도로 회복되는 것을 볼 수 있었다. 이는 Kim 등(2001)의 연구에서도 나타났는데, 참숯을 사료에 첨가하였을 때 산란율이 약 10% 증가하여 면역처리를 하지 않은 처리군과 같은 정도로 나타나 참숯의 첨가가 산란율의 회복에 영향을 주는 것으로 보고하였다.

Total IgY 함량은 면역 주령에 대한 차이가 없는 것으로 나타났으며, 사료 첨가물인 참숯에 의한 영향도 없는 것으로 나타났다. Specific IgY 함량은 면역 처리하지 않은 처리군(W1)에 비하여 면역처리를 한 처리군(W3, W5)에서 높은 함량을 나타내었으며, 면역처리 시기에 따른 specific IgY의 함량을 비교하였을 때 15주령 면역 처리군(W3)과 21주령 면역 처리군(W5)에서는 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 6).

면역 처리한 후 참숯을 급여한 처리군(W4, W6)과 참숯을 첨가하지 않은 처리군(W3, W5) 간에는 유의적 차이가 나는 것으로 나타났으며($p > 0.05$), 이로써 면역 처리한 후 사료에 참숯을 첨가하여 급여하게 되면 specific IgY의 함량을 높일 수 있는 것으로 사료된다.

한편 같은 기간 중 사료 섭취량은 평균 118 g/day로서 처리군에 의한 차이가 없었다. 이상과 같은 결과로 볼 때 특수사료의 급여는 산란율 회복에 효과를 나타냈고 specific IgY 함량을 증가시켰다. 위의 결과들을 종합하여 보면 산란계의 항원접종은 15주령, 즉 산란이 개시되기 전에 항원접종이 완료되는 것이 좋고, 항원 주사는 Freund's adjuvant를 사용하여 제조하는 것이 anti-*S. gallinarum* IgY 생산에 더욱 효과적일 수 있다. 이 때 사료에 참숯을 첨가하면 anti-*S. gallinarum* IgY 생산도 높이고 산란율에도 효과적일 수 있었다.

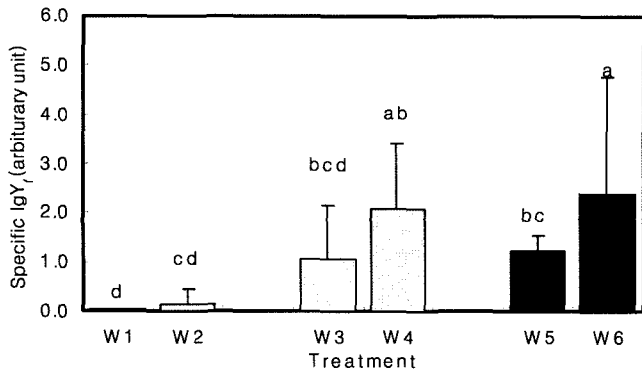


Fig. 6. Effects of layers' age and feeds on specific IgY. W1: no immunization, no charcoal, W2: no immunization, charcoal 0.5%, W3: immunization, immunity age = 15 week, no charcoal, W4: immunization, immunity age = 15 week, charcoal 0.5%, W5: immunization, immunity age = 21 week, no charcoal, W6: immunization, immunity age = 21 week, charcoal 0.5%. ^{a,b,c} Means with different superscript are significantly different at $p < 0.05$.

요 약

주요 가금티푸스 유발균인 *Salmonella gallinarum*에 대항하는 항체를 계란으로부터 효율적으로 얻기 위하여 사료 첨가제, 산란기에 백신 주사 시 adjuvant 종류, target 균 외의 첨가균의 여부에 따른 계란 내의 면역 단백질 생산을 비교 측정하였다. 참숫의 급여에 의한 면역처리구의 specific IgY 함량을 보면 0.5% 참숫을 급여한 처리구가 가장 높은 함량을 나타내었으며, specific IgY의 생산에 참숫의 급여가 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. Adjuvant 처리에 따른 total IgY 함량의 변화는 거의 없는 것으로 나타났으나 specific IgY는 Freund's adjuvant를 사용하여 백신 처리한 처리구에서 높게 나타났다. Adjuvant 사용 시 결핵균을 같이 첨가한 경우 더 많은 specific IgY가 생성되었으나, 수산화 알루미늄 처리구에서는 결핵균 첨가에 의한 영향이 나타나지 않았다. 15주령에 면역처리를 해준 경우 21주령에 면역처리를 해준 경우 보다 산란율이 높았으며, 사료에 참숫을 첨가한 경우 일반사료 급여군에 비해 산란율저하가 완화되었다.

참고문헌

- Gutierrez, M. A., Miyazaki, T., Hatai, H., and Kim, M. (1993) Protective properties of egg yolk IgY containing anti-*Edwardsiella tarda* aninck & Schlegel. *J. Fish Diseases* **16**, 113-120.
- Hamada, S., Horikoshi, T., Minami, T., Kawabata, S., Hiraoka, J., Fujiwara, T., and Ooshima, T. (1991) Oral passive immunization against dental caries in rats by use of hen egg yolk antibodies specific for cell-associated glucosyl-

- transferase of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* **59**, 4161-4167.
- Hatta, H., Kim, M. and Yamamoto T. (1990) A novel isolation method for hen egg yolk antibody "IgY". *Agric. Biol. Chem.* **54**, 2531-2535.
- Kim, Y. B., Rho, J. H., Shon, D. H., Kim, J. H., Sung, K. S., and Lee, N. H. (2000) Antimicrobial activity of specific IgY against *streptococcus mutans*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 1319-1325.
- Larsson, A., Balow, R. M., Linda, T. L., and Forsberg, P. O. (1995) Chicken antibodies ; Taking advantage of evolution - A review. *Poult. Sci.* **72**, 1807-1812.
- 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**, 2141-2143.
- Lee, N. H., Rho, J. H., Han, C. K., and Sung, K. S. (1999) Effect of various hen feed supplements on IgY level in eggs and laying rates. *Kor. J. Anim. Sci.* **41**, 155-166.
- Rho, J. H., Kim, Y. B., Han, C. K., Lee, N. H., Sung, K. S., and Shon, D. H. (1999) The effect of age of hens and vaccination on anti- *streptococcus mutans* IgY level. *Kor. J. Anim. Sci.* **41**, 563-574.
- Rho, J. H., Kim, M. H., Kim, Y. B., Sung, K. S., and Lee, N. H. (2005) Formation and processing properties of anti-*Salmonella gallinarum* specific IgY from yolk. *Kor. J. Anim. Sci.* **47**, 637-646.
- SAS. (1999) SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS institute, Cary, NC, U.S.A.
- Shimizu, M., Fitzsimmons, R. C., and Nakai, S. (1998) Anti - *E. coli* immunoglobulin Y isolated from egg yolk immunized chickens as a potential food ingredient *J. Food Sci.* **53**, 1360-1366.
- Shon, D. H., Rho, J. H., Kim, Y. B., Han, C. K. Sung, K. S., and Lee, N. H. (1998) Properties of anti-*S.mutans* IgY separated form egg yolk. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **30**, 1029-1034.
- Yolken, R. H., Leister, F., Wee, S.-B., Miskuff, B., and Vonderfecht, S. (1998) Antibodies to rotavirus in chickens' eggs : A potential source of antiviral immunoglobulins suitable for human consumption. *Pediatrics* **81**, 291-295.
- 김영봉, 노정해, 한찬규, 성기승, 손동화, 김영동, 이성희, 허강준 (2001) 넙치의 질병 예방 치료를 위한 항생제 대용 특수면역 단백질 개발. *해양수산부* pp. 66-104.
- 나만재 (1999) 국내 산란계에서 다발하는 주요 질병 및 대책. *월간양계* **2**, 85-89.
- 박경운 (1995) 양계장의 살모넬라 감염실태와 대책. *양계연구* **6**, 54-58.
- 오경록 (1999) 가금용 살모넬라균 백신의 장단점. *월간양계* **1**, 52-53.
- 이성춘 (2004) 참숫과 한약재를 이용한 닭 사료. *대한민국특허청* 10-2004-0064557.
- 정운익 (1993) 훌륭한 면역항체 공급원 계란 난황속의 항체. *양계연구* pp. 40-42.