

## TOJÁSTERMELÉS ELLENANYAG-TERMELÉS CÉLJÁBÓL

*A lap előző számaiban hasznos összefoglaló cikkeket olvashattunk a baromfi immunrendszerének működéséről és sajátosságairól (2002/1. 50-57), valamint az immunválasz-képesség megfelelő szintjének kialakításában is lényeges, tudományos eredményeken alapuló, okszerű takarmányozás szerepéről (2002/2 38-41). Mindkét cikk a termelő baromfiállomány egészségének megóvása érdekében alkalmazható ismeretekre irányítja a figyelmet.*

*A baromfi jól működő immunrendszere viszont nemcsak a betegségek kivédésében játszik szerepet, hanem a rendszer által előállított fajlagos immunglobulinok révén egyfajta terméket is nyújthat.*

Ezt a termelés/termék célzatosságot minden bizonnyal jól igazolja az, hogy a „yolk IgY” kulcsszó kombinációra az egyik leghatékonyabb internetes kereső, a „Google” 795 találatot ad. (Ez a július végi, a cikk keletkezésének megfelelő számadat, ami a megjelenés idejére minden bizonnyal növekedni fog.) A találatok között nemcsak hírek és referenciák szerepelnek, de több, erre az ún. IgY-technológiára alapuló kisebb nagyobb vállalkozásra, cégre és termékeikre is találhatunk.

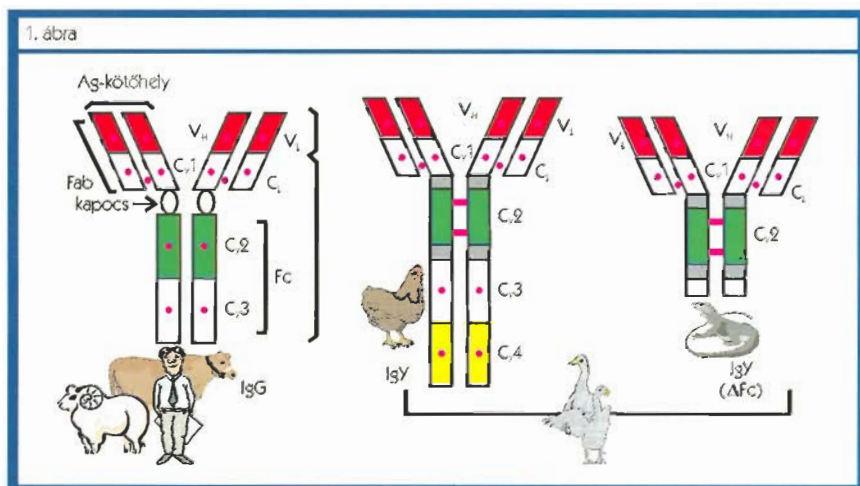
### Miért IgY?

A madarak immunglobulinjai különböznek az emlősökétől. Ezen újkeletű ismeretek magyar nyelvű témadokumentációban (9), de immár tanácsadói adatokként (6, 16) is hozzáférhetők. Néhány fontos ismerv mégis említést érdemel. A madárszérum legnagyobb IgG-frakciójának jelölésére Leslie és Clem (8) javasolták az IgY-t. A megkülönböztetést a tyúkra jellemző Ig-nek az emlősökétől eltérő szerkezetével (pl.: a kapocs régió hiánya, ami miatt a molekula két karja mindig Y-t formál), és eltérő tulajdonságával is indokolták. A H-lánc vagy hosszabb, vagy rövidebb, mint az emlősök IgG-jének esetében

(1. ábra). Az IgY tipikus kis molekulatömegű - tehát nem IgM - szérumanitist a madarakban, a hüllőkben, a kétélűekben, és valószínűleg egyes halakban is. Az emlősök IgG-jének és az IgY tulajdonságainak összehasonlítását az 1. táblázat mutatja be.

A tojómadár vérből a petefészek-tüszőkbe folyamatosan szekretálódik

ez a madarakra jellemző fő ellenanyag-típus. (A sárgája angol nevének /yolk/ Y-ja szintén lehet a molekula névadója.) A tüszőkben az IgY koncentráció közel állandó, tehát a beépülés folyamatos, amit japánfürjekben végzett saját vizsgálatainkkal sikerült igazolni (3). A tojássárgájában lévő immunglobulin kiváló poliklonális ellenanyag (pAB) forrás. A mada-



1. táblázat

Jellemzők	Emlős IgG	Madár IgY
Antitest forrás és nyeres	Vérbocsátás ("invazív")	Tojásgyűjtés (nem-invazív)
Antitest mennyiség	200 mg IgG vérvételenként (40 ml vérbocsátás mellett)	50-100 mg IgY tojásonként (a heti tojás szám 5-7 lehet!)
Egy hónap alatt nyerhető antitest mennyisége	200 mg	1500 mg
Ebből a specifikus antitest	5%	92-10%
Protein-A, vagy G kötőképesség	van	nincs
Emlős IgG-vel kölcsönhatás	van	nincs
Rheumatoid faktoral való kölcsönhatás	van	nincs
Emlős komplementrendszer aktiváló hatás	van	nincs
Bakteriális, ill. emlős Fc-receptor kötőképesség	van	nincs

\*Schade és mtsai (1991) szerint

2. táblázat		Baromfi immunizálási javaslat
Ajánlás		
Adjuváns	Freund incomplete adjuváns, Specol, lipopeptide (Pam3-Cys-Ser-[Lys] <sub>4</sub> ; 250 µg)	
Antigén adag	10 ng-1 mg (általában 10-100 µg)	
Az oltás módja	i.m. (fiatal állatokban) s.c. (idősebb állatokban)	
Oltási térfogat	< 1 ml	
Az oltások száma	2-3-szor; ráoltás (booster)	
Az oltások gyakorisága	2*-4-8** hét	
A tyúkok felhasználhatósága	A teljes tojószakasz	

\*Haak-Frendescho (1994) \*\*Schade és mtsai (1996)

rakban – felhasználás céljából főleg házityúkban és kacsában - termelt "tartós" ellenanyag molekula már említett, némely IgG-től eltérő tulajdonsága jelenti a felhasználás szempontjából az előnyöket (9).

## IgY produkció

A tyúkfélék nem hagyományos laboratóriumi állatok, de már a hús- és tojástermelésre használt állományok tartási körülményeit szabályozó előírások megjelenése (4, 17) előtt EU direktívákban (1, 2) szabályozták a kísérleti állatként való felhasználásukat is. A kívánatosnak tekinthető, természetesebb és állatbarát mélyalmos tartás a tojások azonosítása miatt az IgY-termelésre tartott állományokban esetében kevésbé járható. Leginkább az SPF állomány tekinthető kívánatosnak, ráadásul, amennyiben terápiás célú ellenanyag-termelés a cél, akkor kötelező ilyen állatok felhasználása! A használt fajta szinte mellékes, bár bizonyos antigénekkal szembeni rezisztenciát, ill. csökkent válaszadó készséget írtak le pl. beltenyésztett vonalakban a *Salmonella*-antigénnel, a humán szérum albuminnal (HSA) és egyes szintetikus peptidekkel történő immunizálás esetében. (15).

A madarak immunizálása alapjaiban azonos módon történik, mint a specifikus antiszérum termelésre felhasznált emlősök (nyúl, kecske, ló) esetében. A folyamat menetét és

ajánlásait a 2. táblázatban mutatjuk be. Az antigénnel együtt adott adjuváns alkalmazásával kapcsolatban megoszlanak a vélemények. A leggyakrabban alkalmazott Freund's adjuváns nem (13) vagy csak kissé befolyásolja a tojásprodukción (5), valamint az ellenanyag-termelő állat általános állapotát (11). Mivel gyakorlatilag egy nyúlból a tojás pAB-tartalma megegyező egy nyúlból vérbocsátással nyerhető savó ellenanyag-tartalmával, a tojásból való kinyerés ún. „nem invazív” módszere összehasonlíthatatlanul gazdaságosabb, és nem

utolsó sorban napjaink állatvédelmi előírásaival is összhangban álló lehetőséget kínál (1).

## Az IgY kivonása és felhasználása

Az előnyökhöz hozzájárul még az is, hogy egy jó antigénválaszt produkáló állat hosszú ideig, jó esetben napi rendszerességgel tojik egy tojást, míg egy nyúlból a 40-50 ml vérbocsátás csak hosszabb (három-négyhetes) pihenő után lehetséges újra. Az immunizált tyúkok tojásainak összegyűjtése, megfelelő tárolása (ami nem kíván nagyobb körültekintést, mint egy étkezési tojás esetében), valamint a tojássárgájából történő ellenanyag kinyerés technológiailag jól ütemezhető. Az IgY kivonási folyamat igen hatékonyra tehető. A laboratóriumi technikától kezdve, aminek alkalmazására már a diagnosztikai vegyszerkészletek mintájára

## Forrásmegjegyzés

- Anonim (1986). Council Directive of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations, and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Off. J. Eur. Comm.* L358: 1-29.
- Anonim (1986). *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes*, 51 pp. Strasbourg: Council of Europe.
- Bárdos L., Szabó M., Losonczy S., Szabó Cs., Lengyel L., Kiss Zs. (2001): Madár immunoglobulin (IgY) kapcsolatos vizsgálatok, Proc. Innováció, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumában konfer., Godóllő, pp. 338-345
- Bonyhádi I. (2001) Tojástermelés: új európai direktíva *A baromfi* – IV(4)18-21.
- Broderson J. (1989) - A retrospective review of lesions associated with the use of Freund's adjuvant. - *Lab Anim Sci*, 39:400-405.
- Gergely J. Erdei A. (1998): *Immunobiológia, Medicina*, Budapest
- Haak-Frendescho, M. (1994) - Why IgY? Chicken polyclonal antibody, an appealing alternative - *Promega Notes Magazine* No 46. 11-14. ([www.promega.com/pnotes/46/2259e/2259e.html](http://www.promega.com/pnotes/46/2259e/2259e.html))
- Leslie G. és Clem L.W. (1969): cit: Losonczy S.; Batke J: Madarak tojásszék eredetű, specifikus immunoglobulinjainak felhasználása az állatorvosi immundiagnosztikában és immunterápiában. - *Magy. Áo. Lapja*. 119: 339-343, 1997
- Losonczy S., Batke J., Bárdos L. (1999) - Ellenanyagok indukálása madárfajokban és az IgY tisztítása tojássárgájából - *Klin. Kísér. Lab. Med.* 26: 73-79. 1999.
- Losonczy S.; Batke J: Madarak tojásszék eredetű, specifikus immunoglobulinjainak felhasználása az állatorvosi immundiagnosztikában és immunterápiában. - *Magy. Áo. Lapja*. 119: 339-343, 1997
- Niemi SM, Fox JG, Brown LR, Langer R. (1985) - Evaluation of ethylene-vinyl acetate copolymer as non-inflammatory alternative to Freund's complete adjuvant in rabbits. - *Lab Anim Sci*; 35:609-612.
- Schade R., Behn I., Erhard M., Hlinak A., Staak C. (2001) - Chikén tojásszék antitestek, előállításuk és alkalmazásuk - IgY technológia. Springer, Heidelberg
- Schade R., Bürger, W., Schöneberg, T., és mtsai (1994). Avian egg yolk antibodies. The egg laying capacity of hens following immunisation with antigens of different kinds, origin, and the efficiency of egg yolk antibodies in comparison to mammalian antibodies. *Alternat. Tierexper* 11: 75-84.
- Schade R., Pfister, C., Halatsch, R. és Henklein, P. (1991). Polyclonal IgY antibodies from chicken egg yolk - an alternative to the production of mammalian IgG type antibodies in rabbits. *ATLA* 19: 403-419.
- Schade R., Staak, Ch., és mtsai. (1996): The production of avian (egg yolk) antibodies: IgY - *ATLA* 24: 925-934.
- Szabó Cs., Bárdos L., Pusztai A. (2000): Immunológiai alapok (262-274) in *A gazdasági állatok élettana az anatómia alapjaival* (szerk. Husveth F) Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Székely, Gy., Székely Cs. (2002) - Az EU csatlakozás gazdasági hatása az étkezési tojást termelő vállalkozásokra - *A baromfi* - V(1)34-39.

egységcsomagok (sárgáját elválasztó eszköz, vegyszerek, eljárási utasítás) is beszerezhetők (7), az üzemi méretű eljárásokig léteznek. Ezek a módszerek a méretüktől függetlenül azonos elv alapján működnek. A fehérjétől elválasztott sárgáját homogenizálják, majd kicsapják és leválasztják a lipideket. A maradékot pufferben szuszpendálják, és az elegyből kivonják a fehérjét, amik közül elkülönítik az immunglobulin frakciót. Ezen utolsó lépés ismétlésével, valamint érzékeny fehérje-szeparációs technikák bevezetésével gyakorlatilag maga a tiszta IgY molekula lesz az eredmény.

Ezek a madár IgY-ok nemcsak az emlős antitestekkel nem mutatnak keresztreakciót (így az egyéb poliklonális ellenanyagok előállításánál a fel-

használásukat lehetővé tevő immunabszorpciós lépés sem szükséges), de nem reagálnak az emlősök komplementumaival, valamint az Fc-receptorok sem kötik ezeket a molekulákat (9, 10).

A termék felhasználása igen sokrétű lehet. Egyes ún. "erősen konzervatív" emlős antigének (pl.: sejtszerkezeti fehérjék, enzimek) ellen gyakorta nem is lehet megfelelő ellenanyagot termeltetni más emlős fajokban. Így az említett fehérjék immunológiai vizsgálata igen nagy nehézségekbe ütközik. Ezt a nehézséget kiküszöböli a madarakban történő ellenanyag termeltetés (12). Szintén a diagnosztikai fegyvertárat gazdagítja a specifikus IgY amikor az emlősökben termelt ellenanyaggal keresztreakciók alakulnak ki.

Mivel az IgY a környezet pH-ja iránt kevésbé érzékeny, nagyobb a hőtűrő képessége is mint az IgG-nek, valamint az emésztőenzimeknek is jobban ellenáll, ezért a szájon át történő immunoterápiás felhasználása is lehetséges. Ez lehet pl. IgY-hoz kötött gyógyszer tumor-sejtekhez történő célba juttatása, a cariest okozó baktériumok elleni ellenanyag-tartalmú élelmiszerekben való felhasználás, és az antibiotikumok kiváltására is alkalmas orvosi/állatorvosi készítmények kifejlesztése. A felsorolás korántsem teljes, az IgY alkalmazási lehetőségei egyre bővülnek (12).

SZABÓ MÁRIA - BÁRDOS LÁSZLÓ

SZENT ISTVÁN EGYETEM

ÁLLATELETTANI ÉS ÁLLAT-EGÉSZSÉGTANI TANSZÉK