

항충치균(*Streptococcus mutans*)란황항체의 제조와 그것의 몇가지 생물학적특성

정은혁, 박철해, 주명

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《의학부문 과학자, 기술자들은 과학연구사업에서 주체를 철저히 세워 우리 나라의 구체적실정에 맞는 가치있는 과학기술적문제를 많이 연구해내야 합니다.》(《김정일선집》 증보판 제11권 83페이지)

식생활과 이발의 구조적특성으로 하여 이삭기는 어린이들속에서 리병률이 특별히 높은 질병의 하나일뿐아니라 난치성질병인 류마치스성질병(심근염, 콩팥염, 관절염 등)의 주되는 원인으로 되고있다.[1, 3]

이삭기의 주요원인균인 항충치균들(*Streptococcus mutans*, *Str. sanguinis*)에 대한 특이적인 란황항체 IgY는 일반적으로 포유동물의 혈청에서 분리하는 항체에 비하여 제조가 비교적 간단할뿐아니라 항체력가가 높으며 일반항체와 구별되는 독특한 성질을 가지고있다. 이로부터 최근 많은 나라들에서 여러가지 질병들에 IgY를 포함한 닭알을 제조하여 리용하는것이 추세로 되고있다.[2]

이삭기를 예방하기 위하여 이발의 세기를 높이는것과 함께 세균의 증식을 억제할수 있는 일련의 항균물질들을 첨가한 치약을 리용하려는 시도들이 제기되고있으나 그 효과성은 그리 높지 못하다.

그러므로 우리는 이삭기의 기본원인균인 충치균에 특이적인 IgY를 포함하는 닭알을 제조하여 식용으로뿐아니라 자주 마시는 음료에 혼합할수 있게 건조분말형태로 만들어 이삭기예방과 영양목적을 동시에 달성할수 있는 기능성닭알을 제조하고 그것의 몇가지 생물학적특성을 밝히기 위한 기초연구를 하였다.

재료와 방법

재료 항충치균IgY를 포함한 닭알생산용동물로는 신의주닭공장에서 기르고있는 《Hi-Line Brown》계암닭(155~170일나이) 20마리를 리용하였으며 면역항원으로서는 한천배지에서 배양하고 포르말린으로 비동화한 *Str. mutans*균체를 리용하였다. *Str. mutans*의 표준균 주로는 전문균주보관소에 보관되어있는것을 리용하였다.

연구방법 면역은 각이한 농도의 비동화한 균체 1mL를 5일 간격으로 두번 닭날개정맥과 근육에 주사하여 형성시켰으며 필요에 따라 6주후 다시 2차로 면역하였다. 면역에 리용한 균의 농도는 비탁분석방법[2]을 리용하여 측정하였다.

IgY검사는 첫 면역으로부터 2주후에 낳는 닭알에서 노란자위를 분리하여 0.9% 생리

용액으로 10배되게 희석한 다음 5 000r/min의 속도로 원침하여 상층액을 얻고 이 상층액을 다시 배수희석한 다음 유리판우에서 비동화균체와 한방울씩 반응시켜 응집반응을 일으키는 최대희석배수를 항체력가로 하였으며 희석배수는 로그값으로 처리하여 통계처리[1]하였다.

결과 및 론의

1) 면역방법에 따르는 응집력가

면역방법에 따라 항체의 력가가 차이날수 있으므로 먼저 우리는 정맥주사 또는 근육주사의 방법으로 면역을 형성시킬 때 응집력가가 어떻게 변화되는가를 조사하였다.(표 1)

표 1에서 보는바와 같이 항원인 항충치균을 $5 \cdot 10^8$ CFU/mL의 농도로 정맥주사할 때 균체응집력가가 높았으며 그 이상의 항원농도에서는 항체산생이 억제되었고 그 이하의 농도에서는 응집력가가 낮아졌다. 이와 함께 근육주사때에는 높은 농도에서는 정맥주사때에 비하여 면역효과가 높았으나 낮은 농도에서는 정맥주사하는 경우 근육주사때보다 면역효과가 유의성있게 높아졌다.

표 1. 면역방법에 따르는 응집력가의 변화

No.	항원농도 ($1 \cdot 10^8$ CFU · mL ⁻¹)	응집력가(log ₂ X)	
		정맥주사	근육주사
1	10.0	1.60±0.01	3.58 [△] ±0.01
2	5.0	5.78 [*] ±0.02	3.01 [△] ±0.02
3	2.5	3.76 [*] ±0.02	2.41 [*] , [△] ±0.01

n=5, * No. 1과 비교(p<0.05), △ 정맥주사 때와 비교(p<0.05)

2) 항원면역후 항체산생곡선

항원을 주사한 다음 닭알의 응집력가를 사육기일에 따라 조사하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 첫 항원주사로부터 2~6주간까지 약 4주동안 응집력가가 비교적 높은 수준에서 유지되었다. 그러나 그 이후부터는 점차 응집력가가 낮아지다가 2차면역을 진행한 후에야 낮아진 응집력가가 다시 높아졌다.

3) 항원면역과정에 알생산률의 변화

10마리의 암닭에서 항원을 주사하기 전 한주일과 항원주사후 한주일간의 알생산률을 비교하였는데 그 결과는 그림 2와 같다.

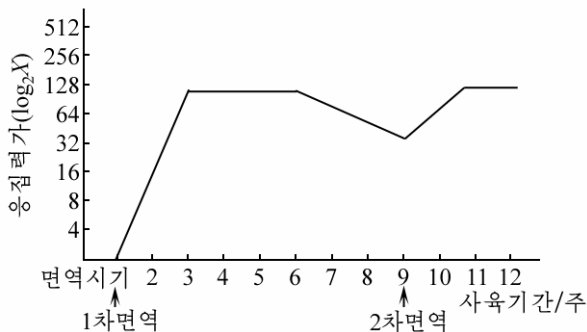


그림 1. 면역후 사육기간에 따르는 응집력가

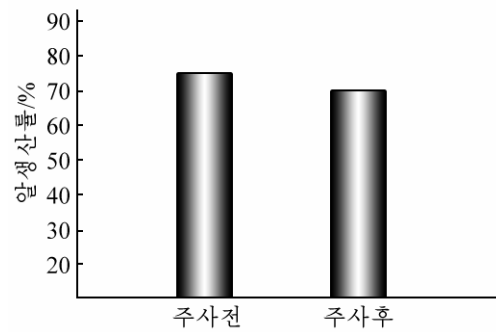


그림 2. 항원주사과정의 알생산률

그림 2에서 보는바와 같이 항원주사후 한주일간의 알생산률을 보면 주사전과 주사후 유의성있는 차이가 나타나지 않았다.

4) IgY의 생물학적특성

IgY의 응집력가에 미치는 온도의 영향을 조사한 결과는 표 2와 같다.

표 2. 온도변화에 따른
응집력가의 변화

작용시간 /min	응집력가(log ₂ X)	
	65℃	75℃
10	5.79±0.02	6.02±0.02
20	5.81±0.02	5.83±0.02
30	6.01±0.02	4.64*±0.02

n=5, * p<0.05, 65℃때와 비교

표 3에서 보는바와 같이 방안온도(25℃)조건에서 생닭알의 IgY의 응집력가는 30일에 현저하게 저하되었다.

건조IgY의 보관기일에 따른 응집력가의 변화 면역시켜 받은 닭알의 노란자위를 건조시켜 4℃에서 보관할 때 항체의 응집력가를 검토한 결과는 표 4와 같다.

표 3. 생닭알의 보관기일에
따르는 응집력가의 변화

보관기일/d	응집력가(log ₂ X)
10	5.81±0.02
20	5.76±0.02
30	3.43*±0.02

n=5, p<0.05, 10d일 때와 비교

표 4. 건조IgY의 보관기일에
따르는 응집력가의 변화

보관기일/개월	응집력가(log ₂ X)
1	5.8±0.02
6	5.8±0.02
12	5.8±0.02

n=5

표 4에서 보는바와 같이 IgY를 건조상태(4℃)로 보관한 경우 1년까지 응집력가에서는 아무런 변화도 없었다.

우리의 실험결과와 4℃ 조건하에서 IgY를 6년동안 보관하는 경우 응집력가가 겨우 5%정도 저하되었다는 선행연구결과[4]를 놓고볼 때 항체치균IgY의 안정성이 아주 높다는 것을 알수 있다.

한마리의 닭이 1년동안에 생산할수 있는 면역글로불린량은 약 40g으로서 30마리의 토끼를 리용하여 혈청에서 제조하는 량과 맞먹는다.[3] 그러므로 IgY제조방법에 의한 기능성약물개발은 높은 경제적실리를 가져다줄수 있다고 본다.

맺 는 말

1) 이삭기원인균인 *Str. mutans*에 대한 IgY는 비동화한 균체(균체농도 5·10⁸CFU/mL)로 정맥주사할 때 균체응집력가가 가장 높으며 1차면역때 닭에서 항체산생기간은 약 4주동안 유지되었고 알낱이틀은 면역하기 전에 비하여 큰 차이가 없다.

2) IgY는 75℃에서 20min간 작용시켜도 자기활성이 변화되지 않으며 건조분말상태로 보관(4℃)할 때 1년동안 자기활성을 유지한다.

참 고 문 헌

- [1] Q. A. Xu; Vaccin, 25, 7, 1191, 2007.
- [2] 李滨 等; 生物机术, 22, 4, 79, 2012.
- [3] 李淑英 等; 中国饲料, 18, 8, 2003.
- [4] 八田一; 鶏の研究, 80, 12, 35, 2005.

주체104(2015)년 10월 5일 원고접수

Preparation of Anti *Streptococcus mutans* Egg Yolk Antibody and Its Some Biological Characteristics

Jong Un Hyok, Pak Chol Hae and Ju Myong

When it was intravenous injected to chicken wing by *Str. mutans* of $5 \cdot 10^8$ CFU/mL inactivated, its bacterial cellular agglutination titer is the highest. The agglutination titer was maintained for about 4 weeks after a simple immunity and there was no big difference in breeding rate as compared with preimmunization.

If we reacted anti *Str. mutans* egg yolk antibody in 75 °C for 20min, the agglutination titer is unchanged and is maintained for a year in exsiccation powder.

Key words: *Streptococcus mutans*, egg yolk antibody, dental caries