

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 132 (1990)

Heft: 6

Artikel: Das Hühnerei als Lieferant Polyklonaler Antikörper

Autor: Gassmann, M. / Weiser, T. / Thömmes, P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-591592>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

DAS HÜHNEREI ALS LIEFERANT POLYKLONALER ANTIKÖRPER

M. GASSMANN, T. WEISER, P. THÖMMES, U. HÜBSCHER

ZUSAMMENFASSUNG

Polyklonale Antikörper können nicht nur aus dem Blut immunisierter Säugetiere, sondern auch aus dem Eigelb geimpfter Hühner isoliert werden. Diese alternative Methode hat folgende Vorteile: (1) Hühner produzieren auch gegen hochkonservierte Proteine Immunglobuline. (2) Bereits geringe Mengen Antigen (total 20–30 µg Protein) genügen, um eine effiziente Immunantwort zu induzieren. (3) Ein langanhaltender Antikörpertiter wird dank der Verwendung von komplettem Freund'schem Adjuvans erreicht und führt zu einer Ausbeute von mehr als 65 mg spezifischen Antikörpern pro Huhn und Monat. (4) Die Isolierung der Antikörper ist dank einfachen Präzipitationsschritten mit Polyäthylenglykol kostengünstig, schnell und führt zu 90% reinen Antikörpern. (5) Die Hühnerantikörper sind sehr säure- und hitzestabil. Daher ist die perorale Einnahme der Eier zur Prophylaxe und Therapie intestinaler Infektionen von Tier und Mensch denkbar. (6) Die Immunisierung hinterlässt beim Huhn keine sichtbaren Entzündungsreaktionen und (7) das Einsammeln der Eier ist bedeutend einfacher als Blutentnahmen. Die vorliegende Übersichtsarbeit beschreibt die Methode zur Produktion und Gewinnung von Antikörpern aus dem Eigelb und geht auf mögliche Anwendungsbereiche in Grundlagenforschung, Diagnose, Prophylaxe und Therapie ein.

SCHLÜSSELWÖRTER: Huhn — Eigelb — Antikörper — IgY — konservierte Proteine

THE EGG YOLK - A RICH SOURCE OF POLYCLONAL ANTIBODIES

Polyclonal antibodies can be isolated not only from the blood of immunized mammals but also from the egg yolk of immunized chickens. The advantages of this alternative method are: 1) Birds produce antibodies against highly conserved mammalian proteins. 2) The quantity of antigen needed for an efficient immune response is very low (20–30 µg). 3) The use of complete Freund's adjuvans leads to long lasting titers of yolk antibodies yielding a total amount of 65 mg specific antibodies per month. 4) The purification of antibodies is simple, unexpensive and quick. Polyethylene glycol precipitation is sufficient to obtain a purity of more than 90%. 5) Chicken antibodies are acid- and heat-resistant and might therefore be orally applied to prevent or to cure infectious intestinal diseases of young animals or humans. 6) Immunization with complete Freund's adjuvans is well tolerated and produces no inflammatory reactions and 7) collecting eggs is, in contrast to bleeding animals, non-invasive. In this review we present both, the method how to produce and to isolate yolk antibodies as well as their possible application in science, diagnosis, prophylaxis and therapy.

KEY WORDS: chicken — egg yolk — antibodies — IgY — conserved protein

EINLEITUNG

Antikörper sind ein nicht wegzudenkendes Hilfsmittel in der modernen Forschung, Diagnostik und klinischen Anwendungen. Polyklonale Antikörper werden üblicherweise aus dem Serum immunisierter Säugetiere gewonnen. Eine Alternative zur Antiserumproduktion besteht darin, Legehennen zu immunisieren. Ein Teil der gebildeten Hühnerantikörper werden

vom Blut ins Eigelb übertragen (*Patterson et al., 1962; Rose et al., 1974*). Auf diese Weise schützen Vögel — analog zur Kolostralmilch von Säugern — ihre Nachkommen mit mütterlichen Antikörpern. Diese Tatsache wurde bereits im letzten Jahrhundert von *Klemperer (1893)* erkannt und klinisch erforscht. Er stellte bei tetanusinfizierten Mäusen fest, dass nur diejenigen überlebten, die vorher mit dem Eigelb von tetanusgeimpften Hühnern behandelt worden waren. In der

Zwischenzeit sind die Hühnerantikörper von verschiedenen Arbeitsgruppen charakterisiert und auf ihre Anwendbarkeit hin untersucht worden.

Hühner besitzen zwei Immunglobulinklassen mit verschiedenen Sedimentationskoeffizienten (sog. Svedbergeinheiten, S). Die kleinere Immunglobulinklasse (7S) unterscheidet sich biochemisch nur geringgradig vom Immunglobulin gamma (IgG) der Säugetiere und wird als IgY bezeichnet (Leslie und Clem, 1969). IgY hat ein Molekulargewicht von 180 000 Dalton (Song et al., 1985) und besteht aus zwei schweren (67 000–70 000) und zwei leichten Ketten (22 000–30 000). Im Gegensatz zu IgG bindet das Fc-Fragment des IgY weder an Protein A von *Staphylokokkus aureus* noch an Protein G von Streptokokken (Ankerström et al., 1985). Daher mussten alternative Reinigungsmethoden für IgY entwickelt werden (siehe Methoden und Resultate).

Gottstein und Hemmeler (1985) verglichen die quantitative Ausbeute von IgY und IgG nach Immunisierung von Hühnern und Kaninchen. Sie konnten nachweisen, dass die Menge an spezifischen IgY 18mal grösser war als diejenige an IgG. Carroll und Stollar (1983) zeigten, dass das Immunsystem von Hühnern in der Lage ist, auch gegen hochkonservierte Proteine Antikörper zu produzieren. Diese Resultate konnten von unserer Arbeitsgruppe bestätigt werden (Gassmann et al., 1990). Als Antigen verwendeten wir das Kernantigen proliferierender Zellen (engl. Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA), ein zellzyklusreguliertes Protein, das die Verdoppelung der eukaryontischen Erbinformation steuert (Spadari et al., 1989; Burgers, 1989). PCNA ist ein hochkonserviertes Protein und kann im Reagenzglas funktionell zwischen Hefen und Kalbsthymuszellen ausgetauscht werden (Burgers, 1988). Bei Immunisierung von Legehennen mit verschiedenen Antigenmengen stellten wir fest, dass bereits 20 bis 30 µg Totalprotein genügte, um eine effiziente Immunantwort zu induzieren. Aus den gesammelten Eiern eines Huhnes konnten wir monatlich bis zu 65 mg spezifische anti-PCNA IgY isolieren.

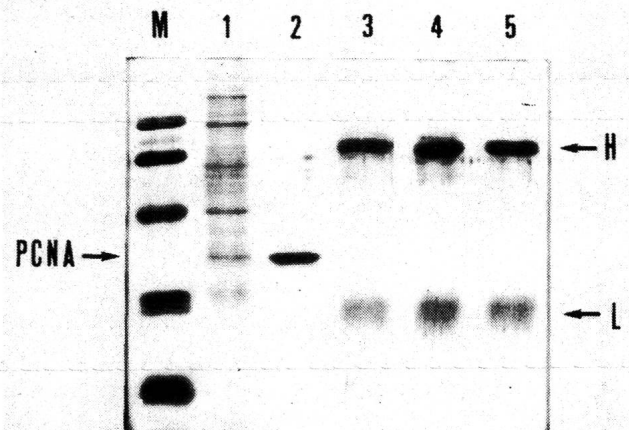
ANTIKÖRPERPRODUKTION IM HUHN: METHODE UND BEISPIEL

Die Immunisierungsmethode der Legehennen und das Isolationsverfahren der IgY aus dem Eigelb haben wir aus verschiedenen Publikationen entnommen (Polson et al., 1980; Jensenius et al., 1981; Bade und Stegemann, 1984; Hassl und Aspöck, 1988), modifiziert und veröffentlicht (Gassmann et

al., 1990). Deshalb wird an dieser Stelle nur übersichtsmässig auf die Methodik eingegangen.

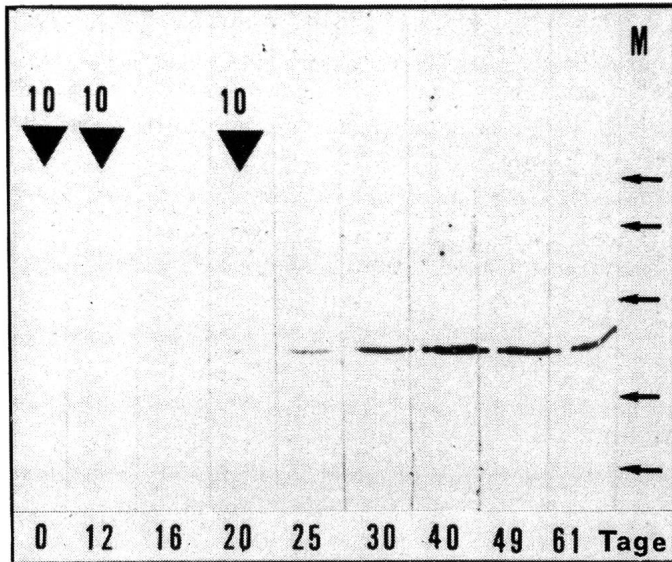
Sechs 22 bis 24 Wochen alte Legehennen wurden wie folgt immunisiert (weitere Details können in Gassmann et al., 1990, entnommen werden): Das gewünschte Antigen wurde auf 30–500 µl/ml verdünnt und mit gleichem Volumen komplettem Freundschem Adjuvans gemischt. Die intramuskuläre Injektion dieser Emulsion erfolgte an zwei Stellen der Pektoralmuskulatur. Eine Boosterinjektion wurde nach 12 Tagen verabreicht. Die Eier wurden täglich gesammelt, markiert und bei 4°C gelagert. Verschiedene Methoden, Antikörper aus dem Eigelb zu extrahieren, sind übersichtsmässig beschrieben worden (Lösch et al., 1986). Wir haben die einfache Fällungsmethode mit Polyäthylenglykol (PEG) gewählt (Polson et al., 1980). Nach diesem Protokoll wird das Eigelb vom Eiweiss getrennt und anschliessend mit 3,5% (Gewicht/Volumen) PEG-6000 gefällt. Nach Zentrifugation

Abb. 1: SDS-Polyacrylamid Gelelektrophorese des Antigens und der IgY Antikörper.



Bahn M: Molekulargewichtstandards (97 400, 66 200, 42 700, 31 000 und 21 500 Dalton). Bahn 1: Vorgereinigte PCNA-Fraktion (12 µg), die als Antigen für die Western-Blot-Analyse verwendet wurde. Bahn 2: Gereinigte PCNA-Fraktion (1,5 µg), die zur Immunisierung von Legehennen verwendet wurde. Bahn 3: IgY Fraktion (30. Tag nach der ersten Injektion), gereinigt durch PEG-Fällung. Weitere Aufreinigung derselben IgY Fraktion über DEAE-Zellulosechromatographie (Bahn 4) und MonoQ FLPC (Bahn 5). Die Proteine wurden in einem 12% Gel elektrophoretisch aufgetrennt und mit Coomassie Brilliant Blau gefärbt. H: Schwere Kette; L: Leichte Kette des Immunglobulins Y.

Abb. 2: Zeitlicher Verlauf der anti-PCNA IgY Antikörperproduktion im Eigelb des Huhnes.



Für die Western-Blot-Analyse wurde eine vorgereinigte PCNA-Fraktion (siehe Abb. 1, Bahn 1) als Antigen und eine PEG-gefällte IgY Fraktion (siehe Figur 1, Bahn 3) als Antikörper (1:500 Verdünnung) verwendet. Die Pfeile geben Zeitpunkt sowie Menge (μg) injiziertes PCNA an. M: Molekulargewichtstandards (siehe Legende von Figur 1).

(14 000 x g, 10 Minuten) wird der Überstand mit 12% PEG erneut gefällt und das Sediment resuspendiert. Diese Lösung enthält bereits eine über 90% reine Fraktion an IgY (Abb. 1, Bahn 3) und kann direkt für den immunologischen Antigen-nachweis eingesetzt werden (siehe unten). Pro Ei wurden bis zu 100 mg IgY isoliert. Hiervon waren durchschnittlich 3 mg spezifisch gegen PCNA. Die Antikörperfraktionen wurden mittels einer DEAE-Ionenaustauschersäule (Abb. 1, Bahn 4) und eine FPLC MonoQ-Säule (Abb. 1, Bahn 5) weiter aufgereinigt.

Wie erwähnt, benutzten wir das gereinigte PCNA (Molekulargewicht: 36 000 Dalton; Abb. 1, Bahn 2) zur Immunisierung der Legehennen. Die anti-PCNA IgY wurden mittels Western-Blot-Analyse (Towbin et al., 1979) nachgewiesen. Diese immunologische Methode beruht darauf, dass der eingesetzte Antikörper (Primäantikörper) ein elektrophoretisch aufgetrenntes Protein (Antigen) erkennt und daran bindet. Ist dies der Fall, so wird der Primäantikörper mit einem käuflichen Sekundäantikörper nachgewiesen. Letzterer ist mit einem Enzym gekoppelt, das nach Zugabe von Substrat eine sichtbare Farbreaktion katalysiert. Als Antigen für die Western-Blot-Analyse verwendeten wir eine vorgereinigte

PCNA-Fraktion (Abb. 1, Bahn 1). Der Zweitantikörper, ein anti-Huhn IgG, der im Kaninchen produziert und an alkalische Phosphatase gekoppelt worden war, wurde uns freundlicherweise von Dr. B. Gottstein (Institut für Parasitologie, Zürich) zur Verfügung gestellt. Zweitantikörper können auch bei Sigma (Deutschland) oder Southern Biotechnology Associates (Alabama, USA) gekauft werden.

Die Western-Blot-Analyse in Abb. 2 zeigt, dass eine beginnende Immunantwort bereits am 20. Tag nach der ersten Injektion nachweisbar ist und am 30. Tag eine Sättigung erreicht. Dieses Huhn wurde am Tag 0, 12 und 20 mit jeweils 10 μg Antigen immunisiert. Noch am 81. Tag, als das Einsammeln der Eier eingestellt wurde, waren Antikörper im gleichen Masse wie nach 30 Tagen nachweisbar. Dieser langandauernde Antikörpertiter entspricht den Resultaten von Lösch et al. (1986) und ist wahrscheinlich auf die Mykobakterien zurückzuführen, die im kompletten Freundschens Adjuvans vorhanden sind. Diese verursachen die Bildung von Granulomen, aus denen das eingeschlossene Antigen kontinuierlich freigesetzt wird (French et al., 1970; Tam und Benedict, 1975).

ANTIKÖRPERPRODUKTION IM HÜHNEREI: PRAKTISCHE ANWENDUNGSBEREICHE

Wie bereits erwähnt, genügen 20 bis 30 μg eines hochkonservierten Proteins, um spezifische Hühnerantikörper in grossen Mengen zu produzieren, die anschliessend mit kleinem Aufwand aus dem Eigelb extrahiert werden können. Die Tabelle zeigt eine Übersicht über die Antigenarten und -mengen, die bereits erfolgreich zur Herstellung von IgY eingesetzt worden sind. Wichtig ist dabei die Tatsache, dass auch gegen schwach immunogene Substanzen wie Vitamin D (gekoppelt an bovines Serumalbumin) oder Insulinrezeptoren die Bildung von Antikörpern induziert werden kann. Aus derselben Tabelle ist ferner ersichtlich, dass die vorgereinigten IgY Antikörper direkt für verschiedene immunologische Nachweismethoden wie ELISA, RIA usw. angewendet werden können.

In der **Grundlagenforschung** ist der Einsatz von Legehennen als Antikörperproduzenten von grossem Interesse, da es vielfach unmöglich ist, grosse Antigenmengen zu isolieren. Auch wirken hochkonservierte Proteine im Säugetier nur schwach immunogen. Ähnliches gilt für die heute weitverbreitete **Immundiagnostik**. Eine Übersichtsarbeit über immunologische Nachweismethoden von Parasiten wurde von Gottstein und Deplazes (1989) publiziert. Soll ein Nachweisverfahren etabliert werden, müssen üblicherweise grosse Mengen an Antikörpern vorhanden sein. Hühner produzieren IgY ohne Boosterinjektionen bis zum 200. Tag bei gleichbleibendem Anti-

Tab. 1: Antikörperherstellung im Hühnerei: Vergleich verschiedener Antigenmengen und Nachweismethoden

Antigen	Injizierte Totalmenge ^{a)}	Nachweismethode	Autoren
<i>Brucella abortus</i> ^{b)}	1–2x10 ¹⁰ Zellen	ELISA, Rocket-IE	<i>Lösch et al. (1986)</i>
<i>Bacteroides ruminicola</i> (B ₁₄)	3–5 mg	ELISA	<i>Ricke et al. (1988)</i>
<i>Selenomonas ruminantium</i> (D)	3–5 mg	ELISA	<i>Ricke et al. (1988)</i>
<i>Toxoplasma gondii</i>	4 mg	IHA	<i>Hassl und Aspöck (1988)</i>
<i>Echinococcus granulosus</i>	3 mg	ELISA	<i>Gottstein und Hemmeler (1985)</i>
Unreifes Protein aus Tomatenknollen	6 mg	RID, Tocket-IE	<i>Bade und Stegemann (1984)</i>
Kaninchen IgG	24 mg	Rocket-IE	<i>Altschuh et al. (1984)</i>
Rinder RNA-Polymerase II	0,4 mg	ELISA, Western, Inh.	<i>Caroll und Stollar (1982)</i>
Kernantigen proliferierender Zellen (PCNA) aus Kalbsthymus	0,03 mg	Western	<i>Gassmann et al. (1990)</i>
Humanes Serumalbumin ^{b)}	40–80 mg	ELISA, Rocket-IE	<i>Lösch et al. (1986)</i>
Humanes IgG und IgM	jeweils 24 mg ^{c)}	Rocket-IE	<i>Altschuh et al. (1984)</i>
Humaner Insulinrezeptor (α subunit)	0,09 mg ^{d)}	IP, Bindungsassay	<i>Song et al. (1985)</i>
Humanes Plasmakallikrein	0,2 mg	IEP, RID	<i>Burger et al. (1985)</i>
Humanes Parathyreoidhormon	0,1 mg	RIA	<i>Vieira et al. (1984)</i>
Prostaglandine ^{e)}	0,13 mg	RIA	<i>Fertel et al. (1981)</i>
1,25-Dihydroxyvitamin D ^{e)}	0,5 mg	RIA, IEP	<i>Bauwens et al. (1987)</i>

- a) Boosterinjektionen nach 45 Tagen sind nicht erwähnt
- b) Immunisierungen ohne komplettes Freundsches Adjuvans sind nicht berücksichtigt
- c) Inkomplettes Freundsches Adjuvans wurde verwendet
- d) Geschätzte Menge, da die Antigene aus einem getrockneten Gel extrahiert wurden
- e) Hapten war an einen Träger gekoppelt
- f) Hohe Titer wurden erst nach drei Boosterinjektionen festgestellt, 5 Monate nach der ersten Immunisierung

Abkürzungen:

ELISA: Enzym-linked Immunosorbent Assay	Inh: Hemmung der Enzymaktivität
Rocket-IE: Rocket Immunelectrophorese	Western: Western-Blot-Analyse
IHA: Indirekte Haemagglutination	IP: Immunopräzipitation
RID: Radiale Immunodiffusion	IEP: Immunolectrophorese

körpertiter (*Lösch et al., 1986*). In der **klinischen Anwendung** wird der prophylaktische und therapeutische Einsatz von Eiern immunisierter Legehennen diskutiert. Es wurde nachgewiesen, dass die IgY sehr säureresistent sind und das Kochen im intakten Ei während sechs Minuten überstehen (*Lösch et al., 1986*). Somit könnten spezifische IgY, die nach Verzehr von gekochten Eiern in den Magen gelangen, unbeschadet den Dünndarm erreichen und dort ihre Wirkung gegen unerwünschte Mikroorganismen entfalten. Aus diesen Überlegungen wurden in der Arbeitsgruppe von *Lösch* Legehennen mit der Porcimune-R-Vakzine für tragende Sauen immunisiert (*Kühlmann et al., 1988*). Spezifische IgY Antikörper gegen die Vakzinebestandteile sind im Eigelb nachge-

wiesen worden. Es bleibt abzuwarten, ob eine passive Immunisierung der Ferkel dank dem Verzehr dieser Eier erfolgreich sein wird. Auf diese Weise könnte der Weg offen sein, Ferkel gegen Darminfektionen bakteriellen (z. B. *E. coli* und Salmonellenstämme) sowie auch viralen Ursprungs (z. B. Transmissible Gastroenteritis, TGE und Enzootische Virusdiarrhoe, EVD) zu schützen. Analog könnten junge Kälber gegen Corona- und Rotavirusinfektionen geschützt werden. Ähnliche Versuche mit dem Ziel, neugeborene Menschen dank dieser passiven Immunisierung zu schützen, werden zur Zeit von *Yolken* und Mitarbeitern (1988) durchgeführt. Diese Arbeitsgruppe hat anti-Rotavirus IgY aus dem Eigelb isoliert, mit einer infektiösen Dosis muriner Rotaviren inkubiert und

jungen Mäusen peroral appliziert. Nach anschliessender Infektion zeigte keine dieser Mäuse Anzeichen von Diarrhoe oder Gastroenteritis (Yolken et al., 1988).

Die Produktion polyklonaler Antikörper im Hühnerei ist eine vielversprechende Methode, da die Handhabung von Legehennen bei der Immunisierung, das Sammeln von Eiern und die schnelle, ertragreiche Extraktion von IgY aus dem Eigelb einfach sind. Gleichzeitig soll erwähnt werden, dass auch tierschützerische Überlegungen eine grosse Rolle spielen: Die Hühner zeigen trotz der Anwendung von komplettem Freundeschem Adjuvans keinerlei entzündliche Lokalreaktionen, wie man sie häufig bei Kaninchen und Ziegen beobachtet. Zusätzlich ist das Sammeln von Eiern nicht invasiv und die Antikörperausbeute viel grösser als bei einer Blutentnahme. Aus allen diesen Gründen stellt das Eigelb eine sehr wertvolle Quelle für polyklonale Antikörper dar.

LITERATUR

Altschuh D., Hemmache G., Van Regenmortel M. H. V. (1984): Determination of IgG and IgM levels in serum by rocket immunoelectrophoresis using yolk antibodies from immunized chickens. *J. Immunol. Methods* 69: 1–7. — *Ankerström B., Brodin Th., Reis K., Börg L.* (1985): Protein G: A powerful tool for binding and detection of monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Immunol.* 135: 2589–2592. — *Bade H., Stegemann H.* (1984): Rapid method of extraction of antibodies from hen egg yolk. *J. Immunol. Methods* 72: 421–426. — *Bauwens R. M., Kint J. A., Devos M. P., Van Brussel K. A., De Leenheer A. P.* (1987): Production, purification and characterization of antibodies to 1, 25-dihydroxyvitamin D raised in chicken egg yolk. *Clin. Chem. Acta* 170: 37–44. — *Burger D., Ramus M.-A., Schapira M.* (1985): Antibodies to human plasma kallikrein from egg yolks of an immunized hen: preparation and characterization. *Thromb. Res.* 40: 283–288. — *Burgers P. M. J.* (1988): Mammalian cyclin/PCNA (DNA polymerase δ auxiliary protein) stimulates processive DNA synthesis by yeast DNA polymerase III. *Nucleic Acids Res.* 16: 6297–6307. — *Burgers P. M. J.* (1989): Eukaryotic DNA polymerases α and δ : conserved properties and interactions from yeast to mammalian cells. *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* 37, 235–280. — *Carroll S. B., Stollar B. D.* (1983): Antibodies to calf thymus RNA polymerase II from egg yolks of immunized hens. *J. Biol. Chem.* 258: 24–26. — *Fertel R., Yetiv J. Z., Coleman M. A., Schwarz R. D., Greenwald J. E., Biaine J. R.* (1981): Formation of antibodies to prostaglandins in the yolk of chicken eggs. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 102: 1028–1033. — *French, V. I., Stark J. M., White R. G.* (1970): The influence of adjuvants on the immunological

response of the chicken. II: Effects of Freund's Complete Adjuvant on later antibody production after a single injection of immunogen. *Immunology* 18: 645–655. — *Gassmann M., Thömmes P., Weiser T., Hübscher U.* (1990): Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conserved mammalian protein. *FASEB J.* 4: 2528–2532. — *Gottstein B., Hemmeler E.* (1985): Egg yolk immunoglobulin Y as an alternative antibody in the serology of echinococcosis. *Z. Parasitenkd.* 71: 273–276. — *Gottstein B., Deplazes P.* (1989): Indirekter Erregernachweis bei ausgewählten Parasitosen von Tieren mit Hilfe immunologischer und molekularbiologischen Methoden. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 131: 465–477. — *Hassl A., Aspöck H.* (1988): Purification of egg yolk immunoglobulins. *J. Immunol. Methods* 110: 225–228. — *Jensenius J. C., Andersen I., Hau J., Crone M., Koch C.* (1981): Eggs: Conveniently packaged antibodies. Methods for purification of yolk IgG. *J. Immunol. Methods* 46: 63–68. — *Klemperer F.* (1893): Über natürliche Immunität und ihre Verwertung für die Immunisierungstherapie. *Ark. f. Exptl. Path. u. Pharmakol.* 31: 356–382. — *Kühlmann R., Wiedemann V., Schmidt P., Wanke R., Lösch U.* (1988): Chicken egg antibodies for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases. *J. Vet. Med.* B35: 610–616. — *Leslie G. A., Clem L. W.* (1969): Phylogeny of immunoglobulin structure and function. III. Immunoglobulins of the chicken. *J. Exp. Med.* 130: 1337–1352. — *Lösch U., Schraner I., Wanke R., Jürgens L.* (1986): The chicken egg, an antibody source. *J. Vet. Med.* B33: 609–619. — *Patterson R., Younger J. S., Weigle W. O., Dixon F. J.* (1962): The metabolism of serum proteins in the hen and chick and secretions of serum proteins by the ovary of the hen. *J. gen. Physiol.* 45: 501–513. — *Polson A., von Wechmar B., Fazakesley G.* (1980): Antibodies to proteins from yolk of immunized hens. *Immunol. Comm.* 9: 495–514. — *Ricke S. C., Schäfer D. M., Cook M. E., Kang K. H.* (1988): Differentiation of ruminal bacterial species by enzyme-linked immunosorbent assay using egg yolk antibodies from immunized chicken hens. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 596–599. — *Rose M. E., Orlans E., Buttress N.* (1974): Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation in yolk and white. *Europ. J. Immunol.* 4: 521–523. — *Song C.-S., Yu J.-K., Bai D. H., Hester P. Y., Kim K.-H.* (1985): Antibodies to the α -subunit of insulin receptor from eggs of immunized hens. *J. Immunol.* 135: 3354–3359. — *Spadari S., Montecucco A., Pedrali-Noy G., Ciarrocchi G., Focher F., Hübscher U.* (1989): A double-loop model for the replication of eukaryotic DNA. *Mutation Res.* 219: 147–156. — *Tam L. Q., Benedict A. A.* (1975): Elevated 7S immunoglobulin and acute phase proteins in adjuvant-injected chickens. *Proc. Soc.*

Exp. Biol. and Med. 150: 340–346. — *Towbin H., Staehelin T., Gordon J.* (1979): Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 4350–4354. — *Vieira J. G. H., Oliveira M. A. D., Russo E. M. K., Maciel R. M. B., Pereira A. B.* (1984): Egg yolk as a source of antibodies for human parathyroid hormone (hPTH) radio-immunoassay. J. Immunoassay 5: 121–129. — *Yolken R. H., Leister F., Wee S.-B., Miskuff R., Vonderfecht S.* (1988): Antibodies to rotaviruses in chickens' eggs: A potential source of antiviral immunoglobulins suitable for human consumption. Pediatrics 81: 291–295.

Le jaune d'oeuf — une source riche d'anticorps polyclonales

Les anticorps polyclonales peuvent être isolés non seulement à partir de sang de mammifères immunisés, mais aussi de jaune d'oeuf de poules vaccinées. Cette méthode alternative présente les avantages suivants: 1) Les poules produisent des anticorps contre des protéines strictement conservées de mammifères. 2) Une très petite quantité d'antigènes (20–30 µg) suffit pour induire une réponse immunitaire efficace. 3) L'usage de l'adjuvant de Freund complet permet d'atteindre un titre durable d'anticorps et un rendement de 65 mg d'anticorps spécifiques par mois. 4) L'isolation des anticorps est simple, rapide et bon marché. On obtient par des précipitations avec du polyéthylène glycole une pureté de plus de 90%. 5) Les anticorps de poules sont très résistants à l'acide et à la chaleur. Pour cette raison on pourrait envisager leur application par voie orale dans la prévention ou le traitement d'infections intestinales chez l'animal comme chez l'homme. 6) L'immunisation ne provoque aucune réaction inflammatoire visible chez la poule. 7) Le ramassage des oeufs est nettement plus aisé que la prise de sang. Ce travail présente la méthode de production et d'obtention d'anticorps à partir de jaune d'oeufs. Il en décrit différentes possibilités d'utilisation dans la recherche fondamentale, le diagnostic, la prophylaxie et le traitement.

Il tuorlo d'uovo — una ricca fonte di anticorpi policlonali

Gli anticorpi policlonali possono essere isolati non solo dal sangue di mammiferi immunizzati, ma anche dal tuorlo di galline immunizzate. I vantaggi di questo metodo alternativo sono: 1) Gli uccelli producono anticorpi contro proteine di mammifero altamente conservate. 2) La quantità di antigene necessario per una efficiente risposta immunitaria è molto bassa (20–30 µg). 3) L'uso dell'adjuvante di Freund completo

porta a un duraturo titolo di anticorpi nel tuorlo che da una resa totale di 65 mg di immunoglobuline specifiche per mese. 4) La purificazione degli anticorpi è semplice, di poca spesa, veloce e una resa del 90% è facilmente raggiungibile attraverso la precipitazione con polietilenglicole. 5) Gli anticorpi di galline sono resistenti agli acidi ed al calore per cui potrebbero essere somministrati oralmente ad animali ed a uomini per prevenire o curare infezioni dell'apparato intestinale. 6) L'immunizzazione con adiuvante di Freund completo è ben tollerata dall'animale, non dando alcuna reazione infiammatoria. 7) La raccolta delle uova, diversamente da quella del sangue, non è invasiva. In questa rassegna presentiamo sia il metodo per produrre ed isolare gli anticorpi dal tuorlo, sia il loro possibile uso nella ricerca di base, nella diagnostica, nella profilassi o nella terapia.

Adresse: Prof. Dr. Ulrich Hübscher
Institut für Pharmakologie und Biochemie
Universität Zürich-Irchel
Winterthurerstrasse 190
CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 2. Februar 1990