

PRACE POGLĄDOWE

Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 1001–1010
ISSN 1230-025X

KRZYSZTOF GOŁĄB, MARIA WARWAS

Białka jaja kurzego – właściwości biochemiczne i zastosowania

Chicken Egg Proteins – Biochemical Properties and Applications

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Od tysiącleci jaja ptasie, a kurze w szczególności, stanowią dla ludzi ważne źródło pożywienia. Rozwój nauk biochemicznych doprowadził do poznania poszczególnych składników jaja, w tym białek, i pozwolił wykorzystać ich właściwości w przemyśle, spożywczym, kosmetycznym i farmaceutycznym. Takim białkiem jest np. lizozym – określany mianem naturalnego antybiotyku. Stosuje się go w przemyśle spożywczym jako biokonserwant, a dzięki właściwościom przeciwbakteryjnym i przeciwwirusowym często jest kojarzony z syntetycznymi lekami w celu zwiększenia skuteczności terapii. Prowadzone są badania nad jego wykorzystaniem w celowanym transporcie leków do nerek i usuwaniu końcowych produktów glikacji białek z organizmu. Do białek badanych pod kątem potencjalnego zastosowania w leczeniu należą m.in.: owomukoid, cystatyna, IgY. Osiągnięciem ostatnich kilku lat jest rozwój technologii otrzymywania kur transgenicznych i ich klonowania. Dzięki tej technologii będzie można wkrótce wytwarzać ludzkie białka o znaczeniu terapeutycznym (*Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 1001–1010*).

Słowa kluczowe: jajo kury, białko, żółtko, proteiny, zastosowanie.

Abstract

For many centuries birds eggs, especially chicken eggs, have been important multifunctional food products. Progress in biochemical sciences effected in isolation and characterisation of egg components, including proteins, what allows their use in food, cosmetic and pharmaceutical industry. For example lysozyme, one of the oldest egg components, is used in various foods either as a preservative or to control microbial process. Due to its antibacterial and antiviral properties lysozyme is applicated in combination with synthetic drugs what enhances the effectiveness of human therapy. In progress are investigations concerning the value of lysozyme in specific drug delivery to the kidney and to bind and remove of AGE from the circulation. Such egg proteins as: ovomucoid, cystatin and IgY are also extensively investigated in order to find prospective therapeutic value. Recent successes in avian transgenic methods allow their application in pharmaceutical protein production (*Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 1001–1010*).

Key words: chicken egg, white, yolk, proteins, application.

Spośród wszystkich białek białka jaja były jednymi z najlepiej poznanych we wczesnym etapie rozwoju biochemii. Zadecydowały o tym: dostępność surowca, prostota ekstrakcji i bardzo dobra rozpuszczalność [1, 2]. Zainteresowanie nimi nie minęło. Niektóre, np. lizozym, już znalazły praktyczne zastosowanie w przemyśle spożywczym i lecznictwie, inne, np. cystatyna, immunoglobuliny Y, są badane pod tym kątem. Znaczenie jaj jako surowca wykorzystywanego w lecznictwie wzrosło dzięki opracowaniu, po niemal 20 latach, metod otrzymywania kur transgenicznych oraz po-

znaniu ich całego genomu. Umożliwi to w przyszłości wykorzystanie kur jako żywych bioreaktorów w produkcji białek stosowanych w leczeniu wielu chorób [3].

Właściwości biochemiczne najważniejszych białek jaja

Substancje białkowe stanowią około 10% w białku jaja i 16,6% w żółtku. Wyróżnia się wśród nich białka: strukturalne, wiążące i trans-

portujące witaminy lub mikroelementy, enzymy proteolityczne, inhibitory proteaz oraz immunoglobuliny [1, 2, 4–7]. Większość posiada komponenty węglowodanowe, są to głównie: mannoza, galaktoza, glukozamina oraz acetyloglukozamina. Najważniejsze białka wyizolowane z jaj, ich funkcje i zastosowania przedstawia tabela 1. Szczegółowe informacje o wszystkich składnikach jaj oraz metody ich izolacji zawierają prace zbiorcze i bazy danych [1, 2, 4–7, baza MEROPS].

Proteiny białka jaja

Główną proteiną białka jaja kury i jedną z najwcześniej wyizolowanych w czystej postaci była owoalbumina, która stanowi 54% wszystkich protein jaja kurzego. Jest fosfoglikoproteiną zbudowaną z 385 reszt aminokwasowych, z których połowa posiada charakter hydrofobowy, o masie cząsteczkowej 44,5 kDa i punkcie izoelektrycznym (pI) 4,5. N-terminalne reszty glicyny występują w połączeniu z resztami acetylowymi. Zawiera cztery grupy sulfhydrylowe, z których trzy są odkryte, a czwarta zamaskowana i odsłania się dopiero po denaturacji. Komponenta cukrowa, stanowiąca 3%, zawiera głównie mannozę i acetyloglukozaminę. Łatwość krystalizacji owoalbuminy spowodowała, że jest wykorzystywana jako wzorzec w badaniach krystalograficznych. Krystaliczna owoalbumina składa się z trzech postaci: nieufosforylowanej, ufosforylowanej i difosforylowanej. Miejsca fosforylacji zidentyfikowano przy serynach w pozycji 68 i 344. Wyróżnia się dwie polimorficzne odmiany owoalbuminy, A i B. Różnią się położeniem kwasu asparaginowego w pozycji 311 [5]. Opisano także S-owoalbuminę powstającą spontanicznie podczas dłuższego przechowywania jaj, o większej odporności termicznej i większej podatności na proteolizę. Powstanie S-owoalbuminy jest spowodowane deaminacją asparaginy i glutaminy oraz wiąże się z utratą przez jaja wartości odżywczych. Ścinanie się białka jaja z wysokim poziomem S-owoalbuminy nie przebiega tak efektywnie jak w przypadku formy pierwotnej [1]. Odkrycie pokrewieństwa owoalbuminy z rodziną serpin spowodowało ponowny wzrost zainteresowania tym białkiem. Do serpin należy ponad 300 homologicznych protein, w tym inhibitorów proteaz serynowych, uczestniczących w procesach koagulacji, fibrynolizy i kaskadzie kinin. Mimo 30% homologii sekwencyjnej z innymi serpinami, owoalbumina nie posiada aktywności inhibitorowej. Przypuszcza się, że utraciła ją w trakcie ewolucji. Pierwotna sekwencja owoalbuminy zawiera informację potrzebną do wystąpienia aktywności inhibitorowej i tworzenia kompleksu z proteazą, ale nie zawiera informacji wy-

maganej do stabilizacji tworzącego się kompleksu enzym–inhibitor [2].

Owotransferyna występuje w białku, żółtku i cytoplazmie jaja. Stanowi 12% wszystkich protein w białku. Jest glikoproteiną zbudowaną z 686 reszt aminokwasowych. Posiada 6 mostków disiarczkowych w N-domenie i 9 w C-domenie, co wpływa na wysoką stabilność białka. Tylko jeden mostek, który jest bardziej odsłonięty i obejmuje regiony od 478 do 671 w C-domenie, łatwo ulega redukcji, pozostałe znajdujące się wewnątrz cząsteczki nie ulegają redukcji bez wcześniejszej denaturacji. Główną funkcją owotransferyny jest wiązanie jonów Fe^{3+} , Cu^{2+} i Al^{3+} . Kompleksy z jonami żelaza mają barwę różową i stąd takie zabarwienie białka w starych jajach. Wiązanie jonów Fe^{3+} jest ważne dla właściwości przeciwbakteryjnych tego białka. Skompleksowane żelazo nie jest przyswajane przez drobnoustroje, np. z rodzaju *Pseudomonas*, dla których jest niezbędnym czynnikiem wzrostowym [1, 5]. Aby transportować żelazo do wnętrza komórek, cząsteczki owotransferyny oddziałują z receptorami błony erytrocytów kurzego embrionu. W wiązaniu uczestniczą obie domeny białka [5].

Owomukoid stanowi 10–11% protein białka jaja. Jego masa to 28 kDa, a pI 4,1–4,6. Jest glikoproteiną o charakterze kwaśnym, zbudowaną z 185 reszt aminokwasowych. Łańcuch cukrowy zawiera: 14% glukozaminy, 7% mannozy i ok. 1% kwasu sialowego. Nie koaguluje podczas ogrzewania. Sekwencja aminokwasowa tworzy trzy homologiczne podwójne domeny. Domeny I i II określa się jako typ A, a domenę III jako typ B. Każda domena posiada 3 wewnętrzne mostki disiarczkowe warunkujące termostabilność. Właściwości inhibitorowe owomukoidu poszczególnych gatunków ptaków zależą od sekwencji aminokwasowej w końcowych regionach każdej z domen. Inhibitor białka jaja kurzego hamuje tylko trypsynę, jaja kaczego i indyczego trypsynę i chymotrypsynę, a jaja bażanciego tylko chymotrypsynę [5–7].

Lizozym, inaczej muramidaza [EC 3.2.1.17], został odkryty przez Fleminga w 1922 r. Powszechnie występuje w komórkach roślin, zwierząt, bakterii i w bakteriofagach. Największą koncentrację stwierdzono w ludzkich łzach i białku jaja kurzego, które jest bogatym i łatwo dostępnym źródłem lizozymu. Jest to białko globularne, zasadowe, o pI 10,7–11,0 i masie 14,4 kDa. Rozkłada wiązania glikozydowe między N-acetyloglukozaminą a kwasem N-acetylmuraminowym w polisacharydach budujących ściany komórkowe bakterii. Hydrolizuje również wiązania glikozydowe w chitynie [2].

Łańcuch polipeptydowy jest zbudowany ze 129 reszt aminokwasowych, a układ przestrzenny

warunkują 4 mostki disiarczkowe. Zasadowy charakter lizozymu umożliwia powstawanie kompleksów z innymi białkami, np. owomucyną i biopolimerami. Kompleks lizozym–owomucyna jest odpowiedzialny za strukturę żelową białka, a jego stan fizykochemiczny jest wskaźnikiem świeżości jaj. W pH 9,3–9,6 następuje dysocjacja kompleksu i rozrzedzenie białka jaja. Brak białka gęstego powoduje wzrost ruchliwości żółtka, co odzwierciedla zaawansowanie procesów starzenia się i spadek jakości jaj. Lizozym jest wysoce stabilny w kwaśnych roztworach. Przy ogrzewaniu do 100°C w pH nieprzekraczającym 8,5 nie traci aktywności enzymatycznej. Powyżej pH 9,0 ulega stopniowej inaktywacji. Stabilność termiczna jest w znacznym stopniu uwarunkowana obecnością 4 mostków disiarczkowych w cząsteczce. W roztworach o niskiej sile jonowej i pH w granicach 5,0–9,0 jest możliwa jego dimeryzacja, a powyżej pH 9,0 oligomeryzacja.

Znane są dwie postacie lizozymu: kurzy (typu c) o masie 14400 Da i gęsi (typu g) o masie 21000 Da. Typ c występuje w jajach kurzych, indyckich, perliczych, bażancich, a także kaczych. Natomiast Typ g występuje w jajach gęsi, dzikiego ptactwa i niektórych ptaków wodnych. Lizozym kurzy jest bardziej odporny na ogrzewanie, ale kilkakrotnie mniej aktywny od gęsiego w swoim litycznym działaniu w odniesieniu do ścian komórek bakterii [1].

Owomucyna stanowi 1,5–3,5% wszystkich protein w białku. Jej stężenie jest około czterokrotnie większe w białku gęstym niż w rzadkim. Wytrąca się podczas rozcieńczania białka jaja wodą lub po obniżeniu pH do 4,0. Odpowiada za lepkość białka jaja i utrzymanie prawidłowej struktury. Jest dużym białkiem o masie rzędu 5,5–8,3·10⁶ Da i pI 4,5–5,0. Owomucyna jest czynnikiem przeciwwirusowej aglutynacji krwinek, nie traci tej właściwości nawet w temperaturze 100°C [6]. Za właściwości żelujące jest odpowiedzialna komponenta cukrowa złożona z N-acetyloglukozaminy, glukozy oraz kwasu sialowego. Owomucyna może tworzyć duże agregaty oraz łączyć się z innymi białkami, np. z lizozymem. Trwałość tych kompleksów maleje wraz ze wzrostem pH i jest najmniejsza przy pH 10,4–10,7. Uważa się, że rozluźnienie kompleksu owomucyna–lizozym jest główną przyczyną rozrzedzenia się białka gęstego podczas starzenia się jaj [1]. Owomucyna wpływa wyraźnie na właściwości piankowania białka jaj, które zmniejszają się wraz ze spadkiem masy cząsteczkowej i redukcją za pomocą β-merkaptanołu. Właściwości emulgujące zwiększają się natomiast proporcjonalnie do ilości powierzchni hydrofobowej w cząsteczce [6].

Owoinhibitor, hamujący proteazy serynowe, ma właściwości podobne do owomukoidu. W biał-

ku jaja kurzego stanowi około 1,5% protein. Masa cząsteczkowa to 49 kDa, a pI 5,1. Składa się z 7 domen. Owoinhibitor białka jaja kurzego hamuje: trypsynę, α-chymotrypsynę, subtylizynę i alkaliczną proteinazę z *Aspergillus oryzae*. Jedna cząsteczka może zahamować dwie cząsteczki trypsyny i dwie chymotrypsyny, przyłączając każdą do innej domeny. Subtylizyna natomiast rywalizuje z α-chymotrypsyną o to samo miejsce wiązania [6, 7]. Hamuje także proteazy bakteryjne i pleśniowe. Przypuszcza się, że odgrywa główną rolę jako czynnik ochronny przed rozwojem pleśni, które mogą ewentualnie przenikać do treści jaj podczas ich inkubacji i przechowywania [1].

Cystatyna jest pierwszym i najlepiej poznanym inhibitorem proteaz cysteinowych rodziny papainowej. Składa się z pojedynczego łańcucha polipeptydowego zbudowanego z 116 reszt aminokwasowych, o masie 13131 Da. Nie zawiera komponenty węglowodanowej, ale posiada dwa wiązania disiarczkowe. Łańcuch polipeptydowy wykazuje około 44% homologię sekwencyjną z ludzkim odpowiednikiem. Występuje w dwóch postaciach: ufosforylowanej o pI 5,6 i nieufosforylowanej o pI 6,5. Cystatyna kurza jest białkiem o dużej termo- i pH-stabilności. Nie traci aktywności podczas 30-minutowej inkubacji w temperaturze 100°C i jest stabilna w szerokim zakresie pH [2, 7]. Zamrażanie lub liofilizacja powodują znaczny spadek aktywności. Ochronę może stanowić zamrażanie w 20% glicerolu lub liofilizacja ze zbuforowanego roztworu o pH 7,5 [8]. Kurza cystatyna C należy do białek podlegających procesowi oligomeryzacji na drodze wymiany domen (ang. *3D domain swapping*). Postać monomeryczną stabilizują przeciwciała monoklonalne i karboksymetylopapaina [9]. Stężenie cystatyny C w białku jaja to około 80 mg/l. W surowicy kurcząt obu płci oraz komórkach mięśniowych stężenie wynosi około 1 mg/l. Wykazano różne stopnie ekspresji genu kodującego cystatynę, zależnie od rodzaju tkanki oraz fazy rozwoju organizmu. Cystatyna, występująca zarówno w białku jak i żółtku, pełni prawdopodobnie funkcję regulacyjną w czasie rozwoju jaja [10]. Przede wszystkim jednak stanowi ochronę przed bakteryjnymi lub wirusowymi peptydazami cysteinowymi [11, 12].

Awidyna, stanowiąca jedynie 0,05% zawartości białka jaja, zwróciła na siebie uwagę przede wszystkim jako związek wiążący biotynę (K_{dis} 0,6 × 10⁻¹⁵ M), niezbędną do wzrostu wielu drobnoustrojów. Stąd też traktuje się ją jako naturalny czynnik przeciwbakteryjny. Awidyna jest jedynym białkiem jaja zawierającym w cząsteczce kwasy nukleinowe. Jest glikoproteiną z jednym mostkiem disiarczkowym, o masie 63300 Da i charakterze silnie zasadowym, pI ok. 10 [1, 6]. Jest zbu-

dowana z czterech podjednostek, z których każda ma pojedyncze miejsce wiążące biotynę. Powstający kompleks jest bardzo trwały w szerokim zakresie pH, w obecności różnych czynników denaturujących, enzymów proteolitycznych i rozpuszczalników organicznych. Łańcuchy oligosacharydowe nie są ważne dla wiązania z biotyną i jego siły. Wiązanie to jest bardzo obniżone po zmodyfikowaniu reszt tryptofanu lub lizyny [5].

Proteiny żółtka jaja

Główną frakcję białkową żółtka stanowią lipoproteiny, zawierające około 20% lipidów, z których 40% to triacyloglicerole, a 60% – fosfolipidy, głównie fosfatydylocholina i fosfatydyloetanoloamina. Fosfolipidy są bardzo ważnymi związkami z farmaceutycznego punktu widzenia, gdyż są wykorzystywane do produkcji liposomów – kulistych pęcherzyków przenoszących substancje lecznicze.

Lipoproteiny można rozdzielić na frakcję plazmatyczną oraz granularną. W pierwszej występują lipoproteiny o małej gęstości (LDL) stanowiące 65% wszystkich substancji białkowych. Charakteryzują się zdolnością do emulgacji, która może być zniszczona podczas zamrażania [2]. We frakcji plazmatycznej znajdują się rozpuszczalne w wodzie frakcje γ określane jako liwetyna (10% masy żółtka). Z frakcji liwetynowej wyodrębniono transferynę oraz immunoglobulinę klasy G, nazwaną od angielskiego określenia żółtka (*yolk*) immunoglobuliną Y (IgY). Frakcję granularną żółtka jaj kurzy tworzą lipoproteiny o dużej gęstości (HDL) występujące w kompleksie z białkiem foswityną [1].

Foswityna powstaje z dużej cząsteczki prekursorowej – witellogeniny. Szacuje się, że 80% fosforu znajdującego się w żółtku pochodzi od foswityny. Charakterystyczną cechą tego białka jest duża zawartość seryny (54%) oraz brak metioniny, tryptofanu czy tyrozyny. W roztworach o małej sile jonowej i niskim pH tworzy kompleksy z jonami metali (np. Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+}). W związku z tym foswitynę uważa się za nośnik Ca^{2+} i Fe^{2+} . Wiąże prawie całe żelazo zawarte w żółtku, nawet po jego ogrzewaniu. Emulgujące właściwości foswityny, w tym szczególnie stabilność emulsji, zostały uznane za lepsze niż właściwości innych białek używanych w wytwarzaniu żywności. N- i C-terminalne fragmenty peptydu i reszty fosforanowe są kluczowe dla właściwości emulgujących. Foswityna jest stabilna podczas pasteryzacji, ale ulega denaturacji podczas gotowania i sterylizacji [2].

Podstawową rolę immunoglobulin, przetransportowanych do żółtka z surowicy krwi, jest wywołanie biernej odporności u zarodka aż do mo-

mentu, gdy sam będzie w stanie wytwarzać w pełni funkcjonalne przeciwciała. Żółtko zawiera 8–20 mg/ml immunoglobulin Y, które powstają po 5–6 dniach od pojawienia się antygeny. IgY są ewolucyjnymi prekursorami IgG i IgE swoistych dla ssaków, stąd mają podobną do nich budowę. Charakteryzują się niską masą – około 180 kDa. Posiadają dwa ciężkie łańcuchy (65–70 kDa) i dwa lekkie (19–21 kDa). Łańcuchy ciężkie mają jeden zmienny i cztery stałe obszary domen. Immunoglobulina Y są stabilne w szerokim zakresie pH 4–9 i dobrze znoszą wysoką temperaturę [1, 2, 13].

Białka jaja jako alergeny pokarmowe

Białka jaja, ze względu na pełnowartościowy skład aminokwasowy, zostały uznane za międzynarodowy wzorzec przez organizację FAO/WHO. Przystawalność składników jaja jest bardzo duża i w pełni zaspokaja zapotrzebowanie organizmu człowieka na wszystkie substancje niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania. Jaja stanowią najlepsze źródło aminokwasów (w tym egzogennych), kwasów tłuszczowych (także nienasyconych z rodziny omega-3 i omega-6), witamin i związków mineralnych. Są szczególnie wskazane w żywieniu ludzi młodych, w okresie wzrostu i rozwoju. Są także polecane w żywieniu ludzi starszych, których potrzeby energetyczne są stosunkowo małe, ale pokrycie zapotrzebowania na niezbędne składniki odżywcze warunkuje zachowanie i utrzymanie wszystkich funkcji starzejącego się organizmu [1].

Współczesna wiedza pozwala wzbogacać jaja w substancje aktywne biologicznie przez odpowiednie żywienie niosek. Do jaj wprowadza się takie substancje, jak: wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny omega-3 oraz witaminy A, D, E, a także mikroelementy, w tym selen, żelazo, jod i krzem. Są to naturalne antyoksydanty niezbędne do utrzymania prawidłowych funkcji życiowych i sprzyjające zachowaniu młodości, z czego wynika, że jaja, poza swoją tradycyjną rolą żywieniową, przejmują obecnie funkcje lecznicze (nutraceutyki). Najwięcej wzbogaconych jaj wytwarza się w Japonii i USA. Przykładowo, japońska firma produkuje jaja wzbogacone w witaminę D, żywiąc nioski paszą zawierającą specjalną grzybnię o dużej zawartości witaminy D i żelaza. Jedno takie jajo pokrywa dzienne zapotrzebowanie człowieka na powyższe składniki [1].

Trzeba jednak zauważyć, że jaja są jednym z najczęstszych i najbardziej rozpowszechnionych powodów alergii (około 1,3% wszystkich alergii). Większość dzieci uczulonych na jaja pozbywa się

tej klinicznej reaktywności w ciągu pierwszych 3–4 lat życia [14]. Alergeny są zawarte zarówno w żółtku, jak i białku jaja. Do silnych alergenów zaklasyfikowano: owomukoid, owoalbuminę, owotransferynę i lizozym. W nazewnictwie alergenów określa się je jako: Gal d1, d2, d3 i d4. W surowicy uczulonych dochodzi zwykle do wzrostu poziomu IgG i IgE, co wykorzystuje się w diagnostyce. Dominującym alergenem z tej grupy jest owomukoid. Po usunięciu owomukoidu aktywność alergiczna zanika. Gotowanie jaja w temperaturze 100°C przez 45 min tylko częściowo eliminuje jego immunoreaktywność. Udowodniono znaczącą rolę mostków disiarczkowych w cząsteczce owomukoidu w oporności na enzymy trawienne. Pepsyna znacznie łatwiej trawi zredukowaną formę owomukoidu niż formę pierwotną. Redukcja mostków disiarczkowych poprawia zatem strawność i ogranicza wywoływanie uczuleń. Zmiany antygenowości owomukoidu można także uzyskać przez zamianę fenyloalaniny na metioninę w trzeciej domenie owomukoidu [15]. Podobnie, modyfikacja lizozymu przez przyłączenie do glicyny w pozycji 49 łańcucha polimannozowego znacznie obniża zdolność tego białka do wywołania alergii [16]. Zidentyfikowanie miejsc o dużej antygenowości jest szansą na zmniejszenie reakcji alergicznej dla wszystkich interesujących nas alergenów w przyszłości. Będzie tego można dokonać na drodze inżynierii genetycznej. W niektórych krajach, np. w Japonii, we Włoszech, jest na szeroką skalę rozpowszechniona produkcja jaj przepiórki, które nie wywołują objawów alergicznych [1].

Właściwości funkcjonalne białek jaj i ich znaczenie w przemyśle spożywczym

Jaja kurze oraz jaja innych gatunków ptaków, takich jak: kaczka, przepiórka i struś, mają duże właściwości funkcjonalne i są interesującymi produktami dla przemysłu spożywczego. Zagadnienie to jest wyczerpująco przedstawione w opracowaniach z dziedziny bromatologii, a w szczególności jajczarstwa [1, 2, 17]. W niniejszym opracowaniu przedstawimy jedynie zagadnienia, które są obiektem aktualnych badań naukowych.

Z protein części białkowej jaja można uzyskać dużą objętość stabilnej piany, która koagulując (żelując) podczas ogrzewania, działa spulchniająco np.: w wyrobach cukierniczych (biszkopty, bezy). Główną masę piany tworzy owoalbumina, która dzięki swoim właściwościom do denaturacji powierzchniowej pozwala na utrzymanie sztywnej

struktury piany podczas ogrzewania. Na wyraźnie zwiększenie piankowania białka wpływa też obecność owomucyny, owotransferyny, owomukoidu oraz owoglobulin [1, 2]. Oprócz właściwości piankujących wykazano pozytywny wpływ zmodyfikowanej owoalbuminy na hamowanie lipooksydacji [1]. Cystatyna białka jaja kurzego z dołączonym łańcuchem polimannozowym, co zwiększa jej odporność termiczną, jest wykorzystywana do poprawy jakości potrawy o nazwie Surimi, przyrządzanej z mięsa ryb (makreli, łososia, ikry śledzi). Proteazy cysteinowe występujące w tym mięsie cechują się dużą aktywnością w stosunku do łańcucha miozyny mięsa ryb i powodują jego degradację podczas gotowania i obróbki, co osłabia strukturę żelową potrawy. Stosując rekombinowany inhibitor, można poprawić strukturę Surimi o około 40% [18]. Prowadzone są prace nad uzyskaniem opakowań (folii) z wbudowanymi substancjami o właściwościach antibakteryjnych, np. lizozymem, co zwiększyłoby bezpieczeństwo mikrobiologiczne pakowanych w te folie produktów spożywczych [19].

Zastosowanie białek jaj w medycynie

Owoalbumina jest wykorzystywana w badaniach jako modelowe białko wywołujące odpowiedź immunologiczną. Zainteresowanie budzą ponadto biologicznie aktywne peptydy powstające z owoalbuminy pod wpływem enzymów proteolitycznych. Kiedy spożywamy całe jaja, z zawartej w nich owoalbuminy pod działaniem pepsyny powstaje oktapeptyd – owokinina, który ulega natychmiastowej emulsyfikacji i jest dobrze absorbowany przez jelita. Owokinina obniża skurczowe ciśnienie krwi [2]. Działając trypsyną na owoalbuminę otrzymano pięć peptydów, zaś chymotrypsyną – trzy o aktywności bakteriobójczej w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, takich jak: *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis* i *Streptococcus zooepidermicus* i bakterii Gram-ujemnych: *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* oraz grzybów, np. *Candida albicans*. Jeden z uwolnionych przez chymotrypsynę peptydów, oprócz właściwości bakteriostatycznych, wykazywał właściwości wazorelaksacyjne [20]. Owoalbumina przyłączona do powierzchni liposomów zabezpiecza je przed agregacją i przedłuża ich trwałość. Okazało się, że odpowiedź immunologiczna wywołana przez owoalbuminę i inne białka opłaszczające liposomy, zbudowane z polietylenoglikolu i disterolu fosfatydyloetanoloami-

ny, jest blokowana po zamknięciu w nich leków cytotoksycznych (doksorubicyna) [21].

Owomukoid próbuje się wykorzystać do rozwiązania problemu doustnego podawania leków białkowych i polipeptydowych, w tym insuliny. Mimo ogromnych wysiłków nie zdołano do tej pory zastąpić iniekcji insuliny innymi formami podawania. Badano rozmaite warianty: plastry, inhalacje, kapsułki pokryte specjalnym płaszczem ochronnym, ale żaden nie zapewniał wymaganego stężenia insuliny we krwi, które wystarcza do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Doustnie podane polipeptydy lub białka, aby dostać się do krwiobiegu muszą pokonać trzy naturalne bariery ludzkiego organizmu, jakimi są: silnie kwaśne środowisko i pepsyna w żołądku, enzymy trzustkowe oraz absorpcja jelitowa. Próbuje się umieścić lek, np. insulinę, wewnątrz polimerów hydrożelowych, których średnica nie przekracza 0,05 mm, opłaszczonych owomukoidem. Chemicznie związany z otoczką żelową owomukoid hamuje aktywność enzymów proteolitycznych, chroniąc insulinę przed degradacją, oraz łączy się z lektynami błony śluzowej jelita, powodując wzrost miejscowego stężenia insuliny. W rezultacie wzrasta jej szybkość dyfuzji do krwiobiegu. Sam hydrożel nie jest trawiony przez ludzki organizm, więc związany z nim inhibitor nie dostaje się do krwi i opuszcza organizm naturalną drogą [22].

Lizozym, określane mianem endogennego antybiotyku, znalazł już zastosowanie w terapii zakażeń bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych związanych z leczeniem ran oraz w terapii leukopenii wywołanej promieniowaniem jonizującym [2]. Na rynku farmaceutycznym są dostępne preparaty lizozymu mające postać sztyftów lub maści aplikowanych na błony śluzowe jamy ustnej, gardła oraz skórę, czy do oczu. Dostępne są także tabletki podjęzykowe o działaniu mukolitycznym oraz lecznicze gummy do żucia stosowane w schorzeniach jamy ustnej i przyzębia. Lizozym ma zdolność inaktywacji wirusów, na zasadzie tworzenia nierozpuszczalnych kompleksów z ich DNA, jak również wzmacnia syntezę interferonu [2]. Przeciwbakteryjna aktywność lizozymu jest najwyższa w stosunku do szczepów bakterii Gram-dodatnich. Bakterie Gram-ujemne charakteryzują się mniejszą wrażliwością na lizozym. Postacie fuzogeniczne z przyłączonymi resztami hydrofobowymi, np. kwasu palmitynowego lub pięciopeptydu Phe-Phe-Val-Ala-Pro, oraz postacie z kowalencyjnie przyłączonym do lizyny polisacharydem-galaktomannozą są aktywne w stosunku do bakterii Gram-ujemnych. Lizozym neutralizuje substancje kwaśne powstające w przebiegu procesu zapalnego. Jego właściwości fagocytarne przyczyniają się do cofnięcia procesów degenera-

cyjnych i nekrotycznych, jednakże trawienie pozostałości ścianek uszkodzonych bakterii prowadzi do powstania glikopeptydowych fragmentów, które inicjują powstawanie przeciwciał. Wiązanie się lizozymu z polisacharydami, glikolipidami oraz glikoproteidami błon komórkowych wpływa na jego funkcje regulatora procesów membranowych. Chroni błony komórkowe przed transformacją nowotworową [1]. Zasadnicze znaczenie ma stosowanie lizozymu jako czynnika wspomagającego terapię antyseptykami, antybiotykami, kortykosteroidami lub enzymami proteolitycznymi. Przykładem może być podawanie ceftazydymu (cefalosporyny III generacji) łącznie z lizozymem. Antybiotyk podany bez lizozymu hamuje wzrost *Pseudomonas aeruginosa*, powodując silny i szybki rozpad bakterii. W wyniku tego uwalniają się bakteryjne endotoksyny, których wysokie stężenie powoduje wzrost stężenia TNF- α i tlenu azotu. Podanie ceftazydymu łącznie z lizozymem blokuje rozpad bakterii bez wpływu na aktywność przeciwbakteryjną. Lizozym może być wykorzystany w zapobieganiu pojawiania się endotoksyn we krwi w przypadku posocznicy leczonej antybiotykami [23].

Ze względu na możliwość odczynu alergicznego na lizozym zainteresowanie budzą jego peptydy, które, mimo braku aktywności proteolitycznej, wykazują aktywność bakteriostatyczną. Peptyd o sekwencji Ile-Val-Ser-Asp-Gly-Asp-Gly-Met-Asn-Ala-Trp hamuje rozwój bakterii Gram-ujemnych *Escherichia coli* K-12, a o sekwencji His-Gly-Leu-Asp-Asn-Tyr-Arg hamuje rozwój bakterii *Staphylococcus aureus* [24]. Peptydy mogą stać się potencjalnymi lekami zarówno z uwagi na małą masę cząsteczkową, jak i brak reakcji immunologicznej. Antidotum na wystąpienie odczynu anafilaktycznego może być także podawanie lizozymu jako koniugatu z kwasem linolenowym lub podawanie tego ostatniego w formie doustnej. Przy takim leczeniu obserwowano zahamowanie natychmiastowej reakcji nadwrażliwości [25].

Nowsze badania skupiają się nad wykorzystaniem lizozymu w celowanym transporcie leków do nerek. Jako białko niskocząsteczkowe (< 30 kDa) lizozym czy też jego połączenia z lekami (kaptopryl, naproksen) są swobodnie przesączone przez kłębuszek nerkowy, a następnie ulegają rozpadowi w lizosomach komórek kanalikla bliższego. Podając lek w postaci kompleksu z lizozymem, osiąga się wyższą nerkową selektywność i możliwość manipulowania tempem uwalniania leku w nerce. Białka niskocząsteczkowe nie kumulują się poza nerką, dzięki czemu unika się niekorzystnych efektów oddziaływania na inne komórki ludzkiego organizmu. Wiadomo, że nerka odgrywa ważną rolę w rozwoju chorób układu sercowo-naczynio-

Tabela 1. Najlepiej poznane białka jaja kury – funkcje i zastosowania [1, 2, 30, 35]**Table 1.** The best known chicken eggs proteins – function and application

	Przypisywana funkcja (Fuction)	Zastosowanie (Application)
Białko jaja (Egg white)		
Owoalbumina (Ovalbumin)	transporter, źródło aminokwasów dla zarodka	standard, stabilizator, czynnik blokujący, białko modelowe w badaniu immunogenności, składnik liposomów źródło biologicznie aktywnych peptydów
Owotransferyna (Ovotransferrin)	wiązanie żelaza i innych metali	potencjalny lek, źródło peptydów o aktywności przeciwbakteryjnej, biochromatografia
Owomukoid (Ovomucoid)	hamowanie aktywności proteaz serynowych	doustne podanie leków polipeptydowych i białkowych, biochromatografia
Lizozym (Lysozyme)	liza ścian komórkowych bakterii	lek przeciwbakteryjny, przeciwwirusowy, przeciwgrzybiczy, biokonserwant, źródło peptydów o aktywności biologicznej, celowany transport leków, testy ELISA
Owomucyna (Ovomucin)	interakcja z lizozymem	testy ELISA
Owoinhibitor (Ovoinhibitor)	hamowanie aktywności proteaz serynowych	potencjalny lek
Owostatyna (Ovostatin)	hamowanie aktywności proteaz wszystkich klas	potencjalny lek
Cystatyna (Cystatin)	hamowanie aktywności proteaz cysteinowych	potencjalny lek, testy ELISA, poprawa jakości potraw (Surimi)
Awidyna (Avidin)	wiązanie biotyny	biochromatografia, testy diagnostyczne, próby genowe, celowany transport leków
Żółtko jaja (Egg yolk)		
Foswityna (Phosvitin)	nośnik Fe ³⁺ i Ca ²⁺	emulgator, składnik liposomów, źródło fosfopeptydów do leczenia osteoporozy
Lipoproteiny (LDL i VLDL) (Lipoprotein)	transport cholesterolu	
Immunoglobulina Y (Immunoglobulin)	odporność	immunoterapia, immunodiagnostyka
Białka wiążące witaminy (Vitamin binding protein)	wiązanie biotyny, kobalaminy, ryboflawiny	

wego. Zatem celowany transport leku do nerek może nie tylko ulepszyć terapię chorób nerek, ale również przyczynić się do poprawy terapii chorób sercowo-naczyniowych [26].

Lizozym poprawia nerkowy klirens końcowych produktów glikacji białek (AGE – *advanced glycation endproduct*) *in vivo* i znosi komórkowe efekty ich działania *in vitro*. Zahamowanie kumulacji AGE zapobiega nerkowym i naczyniowym powikłaniom u chorych na cukrzycę oraz u osób starych. Miejsce wiążące AGE, określane mianem

pętli ABCD, zostało zlokalizowane wewnątrz jednego z dwóch katalitycznych centrów lizozymu w postaci domeny o wyraźnie zaznaczonych właściwościach hydrofilowych. Niewiele wiadomo o mechanizmie nerkowego wychwytu AGE, poza tym że klirens AGE koreluje z klirensem kreatyniny oraz zarówno kłębuszek, jak i proksymalny kanalik są włączone w te przemiany [27].

Kurza cystatyna C była badana pod kątem leczenia chorób przyzębia, których patomechanizm jest związany z występowaniem w jamie ustnej

Gram-ujemnych bakterii, tj.: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacterioides forsythus* oraz *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Mikroorganizmy te wydzielają cysteinowe endoproteiny oraz składniki ściany komórkowej zdolne do destrukcji macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki dziąsłowej oraz aktywacji procesów osteoklastycznej resorpcji tkanki kostnej. Inaktywując proteiny z *Porphyromonas gingivalis* cystatyna białka jaja kurzego już w stężeniu 1 μM hamuje w 50% wzrost bakterii [28]. Cystatyny (ludzka, kurza) przenikają do cytoplazmy komórek ludzkich w hodowlach tkankowych, gdzie hamują proteazy wydzielane przez wirusa paraliżu dziecięcego (wirus polio), co pozwoliło na sugestię, że mogą być użyteczne w leczeniu chorób wirusowych [12]. Wzorując się na strukturze N-terminalnego sekwencji centrum aktywnego ludzkiej cystatyny C, zsyntetyzowano peptyd – Cystapep 1, który wykazywał aktywność przeciwbakteryjną w stosunku do opornych na metacylinę szczepów *Staphylococcus aureus* oraz wieloopornych, koagulazonegatywnych szczepów stafylokoków [29]. Wykorzystując znaną właściwość cystatyny do indukowania syntezy NO przez makrofagi aktywowane interferonem γ , użyto ją w leczeniu choroby kala-azar, która jest wywoływana przez wiciowiec *Leishmania donovani* z rodzaju *Leishmania* i uzyskano całkowite wyleczenie, stosując model myszy BALB/c [30].

Proteazy cysteinowe są zaangażowane w nowotworową kaskadę proteolityczną – stąd zainteresowanie cystatynami w kontekście hamowania tej kaskady. Inwazja komórek nowotworowych i ich przerzutowanie są wielostopniowymi procesami będącymi wynikiem zintegrowanych cykli: antyadhezji, adhezji, migracji i proteolizy. Udział w tych procesach biorą metaloproteiny, proteazy cysteinowe (katepsyny B i L), serynowe (plazmina, aktywator plazminogenu) i aspartylowe (katepsyna D). Metaloproteiny wraz z katepsynami niszczą strukturalne komponenty macierzy pozakomórkowej i błon, pozwalając komórkom guza na migrację poza jego obręb [31].

Z myślą o terapii przeciwnowotworowej zaprojektowano dwu- i trójfunkcyjne inhibitory, które nie tylko hamują proteazy cysteinowe i metaloproteiny, ale także interakcję urokinazowego aktywatora plazminogenu z jego receptorem. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że dodatek rekombinowanych inhibitorów silnie zmniejsza inwazję komórek raka jajnika [31]. U szczurów z wszczepionym rakiem sutka poddanych terapii fotodynamicznej z równoczesną aplikacją kurzej cystatyny C zaobserwowano zmniejszenie głębokości martwicy tkanek i dłuższy okres przeżycia [32]. Opracowując postać leku, która byłaby wchłaniana przez śluzówkę lub nabłonek jelita po

podaniu doustnym, otrzymano stabilne nanokapsułki o średnicy 300 do 350 nm, o zachowanej aktywności inhibitorowej. Do ich sporządzenia użyto kurzej cystatyny C oraz kopolimeru kwasu mlekowego i kwasu glikolowego. Nanokapsułki cechują się zwiększonym pobieraniem przez komórki nowotworowe, a cystatyna w nich zamknięta nie ulega degradacji lub agregacji i może wywierać swoje działanie w komórkach nowotworowych [33].

Przeciwciała obecne w jaju są potencjalnymi białkami terapeutycznymi znajdującymi coraz szersze zastosowanie praktyczne. Wiąże się to z opracowaniem doskonalszych i bardziej efektywnych metod oczyszczania immunoglobulin. Immunizację kur prowadzi się przez podanie odpowiedniej szczepionki drogą podskórną, doustną lub domięśniową. Ten sposób otrzymywania przeciwciał jest metodą nieinwazyjną – nie wymaga zabijania zwierząt do produkcji antyosurowicy. Jest to rozwiązanie idealne, zważywszy na regulacje prawne i problemy etyczne związane z użyciem zwierząt w badaniach. IgY mogą skutecznie konkurować z przeciwciałami wytwarzanymi we krwi ssaków. Zaletą immunizowanej kury jest to, że znosi dużą liczbę jaj, z których można rocznie uzyskać 40 g IgY, w porównaniu z 1,3 g IgG otrzymanych od jednego królika. Poza tym IgY nie aktywują ludzkiego systemu komplementarnego i nie wykazują zdolności do reakcji krzyżowych z immunoglobulinami surowicy krwi ssaków [2].

IgY stanowią ochronę przed dużą grupą mikroorganizmów gromadzących się w płycie nazebnej, włączając w to *Streptococcus mutans*, który odgrywa zasadniczą rolę w etiologii próchnicy u ludzi i dlatego znalazły zastosowanie w prewencji próchnicy [2]. Chronią także organizm przed patogenami żołądkowo-jelitowymi, zwłaszcza z rodziny *Enterobacteriaceae*, tj.: *Salmonella*, *Escherichia coli* [34]. Służą również do wzmacniania odpowiedzi immunologicznej szczególnie u dzieci i niemowląt. IgY próbuje się także wykorzystywać jako nośniki leków w terapii raka [2].

Inne zastosowania

Białka wyizolowane z jaj, głównie kurzych, znalazły także zastosowanie w laboratoriach biochemicznych jako standardy, stabilizatory (albumina), znaczniki, czynniki wychwytyjące lub blokujące w testach immunologicznych typu ELISA (lizozym, owomucyna, awidyna, cystatyna, albumina), czynniki wiążące w mikrochipach DNA (awidyna) oraz w biochromatografii do rozdzielania racemicznych postaci leków (owomucoid, owotransferyna) [1, 2, 35].

Kury transgeniczne jako żywe bioreaktory

Kury w roli żywych bioreaktorów wytwarzających biofarmaceutyki od dawna budziły szczególne zainteresowanie naukowców. Przemawiało za tym kilka unikatowych cech tego gatunku. Po pierwsze, zarówno u ludzi, jak i u kur białka są podobnie glikozylowane. Po drugie, znamy dzisiaj cały genom kury, a jajo kurze zostało poznane niemal pod każdym względem z uwagi na produkcję szczepionek antywirusowych, więc bezpieczeństwo tego surowca jest dobrze znane i nie budzi zastrzeżeń. Po trzecie, kury stanowią odnawialne źródło surowca, z którego izolowanie poszczególnych substancji jest stosunkowo łatwe. Rocznie kury znoszą około 250 jajek, co pozwala na wyi-

zolowanie kilku gramów rekombinowanego białka. Po czwarte, hodowla kur jest dobrze rozwinięta i to powoduje, że produkcja biofarmaceutyków tą metodą jest 10-krotnie tańsza w stosunku do innych. Przeprowadzenie transgenezy kur było jednak utrudnione. Wynikało to głównie z niemożności zidentyfikowania i wyodrębnienia komórki jajowej z jajowodów w celu poddania jej manipulacjom genetycznym, co udało się dopiero w 2000 r. szkockim naukowcom z Instytutu Roślin, tego samego w którym sklonowano owieczkę Dolly. Transgenowano i sklonowano kurę o imieniu Britney, która produkowała białka przydatne w leczeniu nowotworów [36]. Klonowanie kur stwarza możliwość obniżenia kosztów produkcji biofarmaceutyków [37]. Obecnie kilka ludzkich białek jest produkowanych tą drogą: interferon alfa-2b, przeciwciała monoklonalne i α_1 -antytrypsyna [38–40].

Piśmiennictwo

- [1] **Trziszka T (red.):** Jajczarstwo. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2000.
- [2] **Davis C, Reeves R:** High value opportunities from the chicken egg. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation 2002, 02/094 (<http://www.rirdc.gov.au>).
- [3] **Marshall SA, Lazar GA, Chirano AJ, Desjarlais JR:** Rational design and engineering of therapeutic proteins. *Drug Disc Today* 2003, 8, 212–221.
- [4] **Pihlanto A, Korhonen H:** Bioactive peptides and proteins. *Adv Food Nutr Res* 2003, 47, 175–276.
- [5] **Stevens L:** Egg proteins: what are their functions? *Science Progress* 1996, 79, 65–87.
- [6] **Stevens L:** Egg white proteins. *Comp Biochem Physiol* 1991, 100B, 1–9.
- [7] **Saxena I, Tayyab S:** Protein proteinase inhibitors from avian egg whites. *Cell Mol Life Sci* 1997, 53, 13–23.
- [8] **Chen GH, Tang SJ, Chen CS, Jialg ST:** Overexpression of soluble form of chicken cystatin in *Escherichia coli* and its purification. *J Agric Food Chem* 2000, 48, 2602–2607.
- [9] **Nilsson M, Wang X, Rodziejcz-Motowidlo S, Janowski R, Lindstrom V, Onnerfjord P, Westermarck G, Grzonka Z, Jaskólski M, Grubb A:** Prevention of domain swapping inhibitors dimerization and amyloid fibril formation of cystatin C – Use of engineered disulphide bridges, antibodies, and carboxymethylpapain to stabilize the monomeric form of cystatin C. *J Biol Chem* 2004, 270, 2336–24245.
- [10] **Gołąb K, Gburek J, Gawel A, Warwas M:** Changes in chicken egg white cystatin concentration and isoforms during embryogenesis. *Br Poult Sci* 2002, 42, 394–398.
- [11] **Wesierska E, Saleh S, Trziszka T, Kopec W, Siewinski M, Korzekwa K:** Antimicrobial activity of chicken egg white cystatin. *World J Microbiol Biotechnol* 2005, 21, 59–64.
- [12] **Korant BD, Towatori T, Ivanoff L, Petteway S Jr, Brzin J, Lanarcic B, Turk V:** Viral therapy: prospects for protease inhibitors. *J Cell Biochem* 1986, 32, 91–95.
- [13] **Tini M, Jewell UR, Camenisch G, Chilov D, Gassmann M:** Generation and application of chicken egg-yolk antibodies. *Comp Biochem Phys Part A* 2001, 131, 569–574.
- [14] **Leung DY, Boguniewicz M:** Advances in allergic skin diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 111, Suppl 3, 805–812.
- [15] **Mine Y, Sasaki E, Zhang JW:** Reduction of allergenicity modified egg white allergen, ovomucoid third domain. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, 302, 133–137.
- [16] **Usui M, Shimizu T, Goto Y, Saito A, Kato A:** Effective reduction of antigenicity of hen egg lysozyme by site-specific glycosylation. *FEBS Lett* 2004, 557, 169–173.
- [17] **Mine Y:** Recent advances in egg protein functionality in the food system. *Worlds Poult Sci J* 2002, 58, 31–39.
- [18] **Tzeng SS, Jiang ST:** Glycosylation modification improved the characteristics of recombinant chicken cystatin and its application on mackerel surimi. *J Agric Food Chem* 2004, 52, 3212–3216.
- [19] **Cargi A, Ustunol Z, Ryser ET:** Antimicrobial edible films and coatings. *J Food Protec* 2004, 67, 833–848.
- [20] **Pellegrini A, Hulsmeier AJ, Hunziker P, Thomas U:** Proteolytic fragments of ovalbumin display antimicrobial activity. *Biochem Biophys Acta* 2004, 1672, 76–85.
- [21] **Tardi PG, Swartz EN, Harasym TO, Cullis PR, Bally MB:** An immune response to ovalbumin covalently coupled to liposomes is prevented when the liposomes used contain doxorubicin. *J Immunol Meth* 1997, 210, 137–148.
- [22] **Plate NA, Valuev IL, Sytov GA, Valuev LI:** Mucoadhesive polymers with immobilized proteinase inhibitors for oral administration of protein drugs. *Biomaterials* 2002, 23, 1673–1677.

- [23] **Liang AH, Xue BY, Liang RX, Wang JH, Wang D:** Inhibitory effect of egg white lysozyme on ceftizidime-induced release of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*. Yao Xue Xue Bao 2003, 38, 801–804.
- [24] **Mine Y, Ma F, Lauriau S:** Antimicrobial peptides related by enzymatic hydrolysis of hen egg white lysozyme. J Agric Food Chem 2004, 52, 1088–1094.
- [25] **Ishiguro K, Oku H, Suitani A, Yamamoto Y:** Effects of conjugated linoleic acid on anaphylaxis and allergic pruritus. Biol Pharm Bull 2002, 25, 1655–1657.
- [26] **Haas M, Moolenaar F, Meijer DKF, De Zeeuw D:** Specific drug delivery to the kidney. Cardiovasc Drugs Ther 2002, 16, 489–495.
- [27] **Zheng F, Cai W, Mitsuhashi T, Vlassara H:** Lysozyme enhances renal excretion of advanced glycation endproducts in vivo and suppress adverse AGE-mediated cellular effects in vitro: A potential AGE sequestration therapy for diabetic nephropathy? Mol Med 2001, 7, 737–747.
- [28] **Warwas M, Kaczmarek U, Gołąb K:** Udział proteaz cysteinowych i cystatyn w patogenezie i diagnostyce laboratoryjnej chorób przyzębia. Post Hig Med Dośw 2000, 54, 879–894.
- [29] **Jasir A, Kasprzykowski F, Lindstron V, Scalen C, Grubb A:** New antimicrobial peptide active against Gram-positive pathogens. Indian J Med Res 2004, 119, 74–76.
- [30] **Warwas M:** Cystatyna C – potencjalne zastosowanie w medycynie. Farm Pol 2002, 58, 648–690.
- [31] **Krol J, Kopitz C, Kirschenhofer A, Schmitt M, Magdolen U, Kruger A, Magdolen:** Inhibition of intraperitoneal tumor growth of human ovarian cancer by bi- and trifunctional inhibitors of tumor-associated proteolytic systems. Biol Chem 2003, 384, 1097–1102.
- [32] **Saleh Y, Ziolkowski P, Siewiński M, Milach J, Marszałik P, Rybka J:** The combined treatment of transplantable solid mammary carcinoma in Wistar rats by use of photodynamic therapy and cysteine proteinase inhibitor. In Vitro 2001, 15, 351–357.
- [33] **Cegnar M, Kos J, Kristl J:** Cystatin incorporated in poly(lactide-co-glycoside) nanoparticles: development and fundamental studies on preservation of its activity. Eur J Pharm Sci 2004, 22, 357–364.
- [34] **Mine Y, Kovacs-Nolan J:** Chicken egg yolk antibodies in enteric infectious disease: a review. J Med Food 2002, 5, 159–169.
- [35] **Mano N, Asakawa V, Goto J:** Highly selective molecular recognition of biologically active substances using liquid phase separation. Chromatography 2003, 24, 19–34.
- [36] **Alper J:** Hatching the golden egg: a new way to make drugs. Science 2003, 300, 729–730.
- [37] **Harvey AJ, Ivarie R:** Validating the hen as a bioreactor for the production of exogenous proteins in egg white. Poult Sci 2003, 82, 927–930.
- [38] **McGrew MJ, Sherman A, Ellard FM, Lillico SG, Gilhooley HJ, Kingsman AJ, Mitrophanous KA, Sang H:** Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors. EMBO Rep 2004, 7, 728–733.
- [39] **Moździak PE, Petite JN:** Status of transgenic chicken models for developmental biology. Dev Dyn 2004, 229, 414–421.
- [40] **Rapp JC, Harvey AJ, Speksnijder GL, Hu W, Ivariae R:** Biologically active human interferon α -2b produced in the egg white of transgenic hens. Transgenic Res 2003, 12, 569–575.

Adres do korespondencji:

Krzysztof Gołąb
Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej AM
ul. Szewska 38/39
50-139 Wrocław
e-mail: golab@bf.uni.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 29.12.2004 r.

Po recenzji: 20.01.2005 r.

Zaakceptowano do druku: 31.01.2005 r.

Received: 29.12.2004

Revised: 20.01.2005

Accepted: 31.01.2005