Protein G를 포함하는 수정미소저울 센서 칩과 정제되지 않은 항혈청을 이용한 헵토글로빈과 트랜스페린의 면역분석

하인영 · 최석정[†]

Immunoassay of haptoglobin and transferrin with protein G-containing QCM sensor chip and unpurified antiserum

Inyoung Ha and Suk-Jung Choi[†]

Abstract

Quartz crystal microbalance immunosensor has a capacity to perform a label-free and real time detection of a trace amount of analyte through the specific interaction between antibody and antigen. However, immobilization of antibody molecules on the sensor surface is a troublesome procedure for researchers who are not experienced in chemistry. Protein G has a specific affinity to antibody and would serve as a capturing agent for antibody when immobilized on the sensor surface. In this work, we prepared a protein G sensor chip by immobilizing protein G on the surface of quartz crystal microbalance and examined its capability to detect human haptoglobin or human transferrin with unpurified corresponding antiserum. Specific and dose dependent response was observed when the protein G chip was used for detection of antigens after saturated with antiserum. We also verified several advantageous aspects of the protein G chip such as improved flexibility and sensitivity.

Key Words : protein G, immunosensor, quartz crystal microbalance(QCM), haptoglobin, transferrin

1. 서 론

항체는 항원과의 강력하고 선택적인 결합으로 인하여 생명과학 연구에서 미량의 물질을 정량적 또는 정성적으로 분석하는데 다양한 형태로 사용되고 있고 의학적인 진단에도 널리 사용되고 있다. 특히 효소결합 면역흡수 분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)과 같이 항체에 표지를 붙여 사용하는 기술은 미량으로 존재하는 항원 물질의 농도를 측정할 수 있는 매우 강력하고 민감한 방법이다. 그러나 이러한 장점에도 불구하고 효소결합 면역흡수 분석법은 시간이 많이 소요되고 실험과정이 복잡할 뿐만 아니라 항체에 미리 표지물질을 부착해두어야 하는 단점이 있기 때문에 보다 손쉽고 간단하며 신속한 분석을 가능하게 해

주는 면역센서(immunosensor)에 대한 관심이 점점 높아지고 있다^[1,2].

면역센서는 항체가 고정된 신호 변환기(signal transducer) 표면에 분석물질인 항원이 결합할 때 나타나는 신호를 감지하도록 되어있다. 면역센서의 민감도와 재현성을 높이기 위해서는 항체가 활성을 유지한 상태로 신호 변환기 표면에 안정하게 고정되어야 한다. 항체를 고정시키기 위해 일반적으로 사용하는 방법은 센서 표면에 자기조립단분자층(self-assembled monolayer, SAM)을 형성한 후에 자기조립단분자층 표면에 N-hydroxy-succinimide (NHS)나 hydrazide와 같은 작용기를 도입하여 화학적으로 고정하는 것이다^[3,4].

그러나 이런 화학적 반응 단계들은 대부분의 바이오센서 사용자들에게는 익숙하지 않은 실험과정일 뿐만 아니라 고정된 항체의 활성에 영향을 미치는 경우도 있기 때문에 항체의 F_c 부분과 결합할 수 있는 protein G나 protein A와 같은 단백질을 미리 고정시켜 놓은 센서 칩이 이와 같은 문제점을 해결할 수 있는 대안으

강릉대학교 화학과(Department of Chemistry, Kangnung National University)

[†]Corresponding author: sjchoi@kangnung.ac.kr

(Received : June 17, 2008, Revised : August 12, 2008)

Accepted : September 19, 2008)

로 제시되었다^[5-7]. 이러한 센서 칩의 또 다른 장점은 한 종류 항체를 결합시켰다가 제거하고 다른 항체를 결합시킬 수도 있기 때문에 한 개의 센서 칩으로도 여러 가지 항원을 분석할 수 있다는 점이다. 뿐만 아니라 센서 표면에는 항체만 선택적으로 결합하기 때문에 정제되지 않은 혈청 상태의 항체를 사용할 수 있는 가능성도 있다.

이 연구에서는 이런 가능성을 실제로 확인하기 위해 수정미소저울(quartz crystal microbalance, QCM) 표면에 형성된 자기조립단분자층 위에 항체 결합용 단백질로 protein G를 고정시킨 센서 칩을 만들었다. 그리고 정제되지 않은 혈청 상태의 항체를 이용하여 사람 헵토글로빈(human haptoglobin, hHp)과 트랜스페린(human transferrin, hTf)에 대한 면역분석을 시도하였다. 헵토글로빈에 결합하는 활성을 가지고 있는 hHp은 염증 반응에 의해 나타나는 급성기 단백질(acute-phase protein) 가운데 하나로 동물의 감염여부를 진단하는 척도가 되며^[8] 최근에는 암을 진단하는 마커 단백질들 가운데 하나로도 밝혀졌다^[9]. hTf는 철과 결합하여 저장할 수 있는 단백질로서 탄수화물이 결합된 hTf는 알코올 중독의 진단에 사용되기도 한다^[10].

2. 실험 방법

2.1. 수정미소저울과 바이오센서 시스템

이 실험에서 사용한 수정미소저울은 Crystal Sun Life(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며 한 변이 8 mm인 정사각형 모양의 AT-cut crystal이다. 고유진동수는 10 MHz이며 직경이 5 mm인 전극 표면은 금으로 코팅되어 있다. 수정미소저울 바이오센서 시스템은 용매를 이송하는 주사기 펌프(KD Scientific, Holliston, USA), 시료를 주입하는 주입 밸브(Upchurch Scientific, USA), 주파수 측정기(Dagatron, Korea), 개인용 컴퓨터, 그리고 실험실에서 제작된 셀로 구성되어 있다. 주입 밸브에서 sample loop의 부피는 200 μ l로 조정하였다. 실험의 편의를 위하여 셀은 상하 두 개의 판으로 구성되어 있고 두 판 사이에 수정미소저울을 수용하도록 설계되었다. 위판은 수정미소저울 표면에 120 μ l 부피의 정적인 반응용액을 접촉시킬 수 있는 우물형 셀(well cell)을 형성하거나 수정미소저울 표면에 액체가 흘러가며 측정을 할 수 있도록 해주는 흐름형 셀(flow cell)을 형성하도록 해준다.

2.2. 자기조립단분자층의 형성

자기조립단분자층을 형성하기 전에 수정미소저울을

1분 동안 60 °C piranha 용액(진한 황산과 30% H₂O₂의 7:3 혼합용액)으로 처리한 후 증류수와 알코올로 행구고 질소 가스로 건조시켰다. 다음으로 알코올에 11-mercapto-undecanoic acid와 6-mercapto-1-hexanol을 각각 0.4 mM과 1.6 mM로 녹인 용액에 표면을 깨끗하게 처리한 수정미소저울을 담그고 12~15시간 동안 천천히 stirring하면서 자기조립단분자층이 형성 되도록 하였다. 마지막으로 자기조립단분자층이 형성된 수정미소저울을 알코올로 행구고 질소 가스로 건조시켰다.

2.3. protein G의 고정

표면에 자기조립단분자층이 형성된 수정미소저울을 우물형 셀에 장착하고 우물에 MES 완충용액(100 mM 2-(N-Morpholino)ethanesulfonic acid, pH 6.0) 100 μ l를 더하였다. 주파수가 안정된 후 수정미소저울 표면을 탈이온수로 3회 행귀주었다. 우물에 MES 완충용액 50 μ l와 0.4 M N-ethyl-N'-(3-dimethyl-aminopropyl)carbodiimide(EDC) 용액 25 μ l 그리고 0.1 M NHS 용액 25 μ l를 더하고 한 시간 동안 반응시켜 자기조립단분자층 표면의 카르복시기가 NHS 기로 전환되도록 하였다. 수정미소저울 표면을 탈이온수로 3회 행구고 PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.4) 완충용액에 0.05 mg/ml로 녹인 protein G 용액을 100 μ l 더하고 한 시간 동안 반응시켰다. 탈이온수로 3회 행군 후 남아있는 NHS 기를 제거하기 위해 ethanolamine 용액(1 M ethanolamine-HCl, pH 8.5)을 100 μ l 넣고 30분 동안 반응시켰다.

2.4. 면역분석

면역분석을 위해서는 항원을 포함하는 시료 용액이 흘러가면서 항체에 결합할 때의 주파수 변화를 실시간에 볼 수 있는 flow injection analysis (FIA)가 더 유리하기 때문에 셀의 위판을 교체하여 우물형 셀을 흐름형 셀로 바꾸주었다. 다음으로 운반 완충용액(carrier buffer)으로 사용된 PBS를 50 μ l/min의 유속으로 흘러 보내며 베이스라인을 안정시켰다. 센서 칩 표면에는 protein G가 고정되어 있기 때문에 면역분석을 위해서는 먼저 항체를 주입하여 결합시키고 7~10분 후에 항원을 주입하여 주파수 변화를 측정하였다[그림 1]. 인간 헵토글로빈 항체(anti-human haptoglobin antibody, anti-hHp Ab)와 인간 트랜스페린 항체(anti-human transferrin antibody, anti-hTf Ab)는 모두 염소에서 생성되었으며 정제되지 않은 혈청 상태로 Sigma에서 구입하였다. 항원인 hHp과 hTf 역시 Sigma에서 구입하였다. 각 분석 후에는 해리용액(0.2 M Glycine-HCl,

그림 1. protein G 센서 칩을 이용한 면역분석 원리
Fig. 1. Principle of immunoassay with the protein G sensor chip.

pH 2.0, 1% DMSO)을 주입하여 결합한 항체와 항원을 모두 제거하고 protein G만 남김으로써 표면을 재생시켰다. Sample loop의 부피가 200 μ l로 고정되어있기 때문에 주입되는 시료나 해리용액의 부피는 항상 200 μ l로 일정하게 유지되었다. 각 측정 실험은 3회 반복하여 평균값을 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 여러 생물체의 항체에 대한 protein G 센서 칩의 반응성

protein G는 서로 다른 생물체의 IgG에 대해 결합력이 조금씩 차이를 보이는 것으로 알려져 있기 때문에 이 실험에서 만들어진 protein G 센서 칩이 염소, 소, 토끼, 생쥐 그리고 사람의 항체에 대해 어떻게 반응하는지 조사하기 위해 anti-goat IgG Ab를 고정시킨 면역센서 칩을 흐름형 셀에 장착한 후 100 μ g/ml 농도의 소, 염소, 사람, 생쥐, 토끼의 IgG를 주입하여 결합에 의한 주파수 변화를 측정하였다. 그 결과 다른 생물체에 비해 생쥐의 IgG에 대한 반응이 특히 약하게 나타났다[그림 2]. 주파수 변화는 IgG의 결합에 따른 질량 변화에 의해 나타나기 때문에 이와 같은 결과는 생쥐 IgG의 protein G에 대한 친화도가 다른 생물체에 비해 낮다는 것을 의미한다.

protein G는 일반적으로 포유류의 IgG에 대해 높은 친화도를 보여주며 이 실험에서 사용한 다섯 종의 생물체의 IgG와는 모두 잘 결합하는 것으로 보고되어 있

다^[11]. 그러나 다른 생물체의 IgG가 일반적으로 중성 pH에서 가장 높은 친화도를 보여주는 반면에 생쥐 IgG의 친화도는 pH 5 정도의 약한 산성에서 친화도가 가장 높은 것으로 알려져 있다^[12]. 이번 실험에서는 모든 IgG의 친화도를 pH 7.4인 중성 pH에서 평가하였기 때문에 생쥐 IgG의 친화도가 낮게 나온 것으로 생각된다.

그림 2. 여러 생물체의 IgG에 대한 protein G 센서 칩의 특이성

Fig. 2. Specificity of the protein G sensor chip toward IgGs from different organisms.

그림 3. protein G 센서 칩을 포화시키는 항체 농도
Fig. 3. Concentration of primary antibody required for saturation of the protein G sensor chip.

3.2. protein G 센서 칩을 포화시키기 위한 항체 농도

이 연구에서 만들어진 protein G 센서 칩을 이용하여 면역분석을 하기 위해서는 먼저 항체를 결합시킨 후 항원 시료를 주입해야 한다. 측정할 수 있는 항원의 농도 범위를 넓히기 위해서는 가능하면 많은 양의 일차항체를 결합시키는 것이 유리하기 때문에 anti-goat IgG Ab를 고정시킨 protein G 센서 칩을 흐름형 셀에 장착한 후 서로 다른 농도의 염소 IgG를 주입하여 주파수 변화를 측정함으로써 protein G 센서 칩을 포화시키는데 필요한 염소 IgG의 농도를 평가하였다. 그 결과 그림 3에서 보는 것처럼 15 μg/ml 까지는 주파수 변화 값이 급격히 증가하다가 그 이상에서는 완만해지는 것을 알 수 있다. 따라서 이후의 면역분석 실험에서 항체의 농도는 항상 25 μg/ml로 맞춰 사용하였다. 주입되는 시료 부피가 0.2 ml이기 때문에 이 농도에서 주입되는 염소 IgG의 양은 5 μg이다. 그러나 FIA에서는 시료가 정지한 상태로 주입되지 않고 계속 흘러가기 때문에 시료에 포함되어 있는 염소 IgG 가운데 센서 칩 표면에 접촉하는 부분의 단백질만 결합할 수 있다. 따라서 실제로 결합하는 양은 그 가운데 일부분일 것이다.

3.3. protein G 센서 칩의 안정성

센서 칩을 반복하여 사용하기 위해서는 동일한 시료를 반복해서 주입할 때 동일한 결과를 얻을 수 있어야 한다. 이와 같은 재현성을 확보하기 위해서는 시료를

그림 4. protein G 센서 칩의 재생 안정성
Fig. 4. Stability of the protein G sensor chip in the repeated regeneration.

주입하여 측정한 후 이미 결합한 물질을 완전히 제거하는 한 편 protein G의 활성은 이전과 동일하게 유지할 수 있어야 한다. 결합한 물질을 제거하기 위해서는 대개 pH가 산성으로 조정된 해리 용액을 사용하는데 때로는 이 조건에서 제거되지 않는 물질이 있을 수도 있고 산성 용액이 센서 칩 표면에 고정된 protein G의 활성에 영향을 줄 수도 있다. protein G 센서 칩의 재현성을 확인하기 위해 단백질 G 센서 칩을 흐름형 셀에 장착한 후 100 μg/ml의 염소 IgG를 주입하여 결합시키고 해리 용액으로 표면을 재생시키는 과정을 9회 반복할 때 염소 IgG의 결합에 의한 주파수 변화를 측정하였다.

그 결과 첫 번째 재생에서는 주파수 변화가 비교적 큰 폭으로 감소하지만 두 번째부터는 서서히 감소하는 것을 볼 수 있었다[그림 4]. 이와 같이 주파수 변화가 감소한다는 것은 표면에 결합할 수 있는 항체의 양이 차츰 감소한다는 것을 의미한다. 첫 번째 재생에서 항체의 결합 능력이 큰 폭으로 감소하는 것은 아마 화학 결합으로 고정되지 않고 물리적으로 표면에 흡착된 protein G가 제거되기 때문일 것으로 추측된다. 반면에 2회 이후의 점진적인 결합 능력 감소는 산성 해리 용액으로 인하여 표면에 고정된 protein G의 활성이 감소하기 때문일 것이다. 따라서 다음 실험부터는 protein G 센서 칩을 만든 후 해리 용액을 2회 주입하여 흡착된 protein G를 제거하고 사용하였다.

그림 5. 항체와 항원 결합에 의한 시간에 따른 주파수 변화곡선
Fig. 5. Time-dependent frequency change upon sequential binding of antibody and antigen.

2회 이후에도 항체의 결합 양이 조금씩 감소하기는 하지만 여전히 많은 양의 항체가 결합하기 때문에 낮은 농도의 항원을 감지하는 데는 문제가 없을 것으로 생각된다. 위의 면역분석 결과를 보면 100 µg/ml의 항원 농도에서도 결합곡선이 포화지점(plateau)에 도달하지 않는 것을 볼 수 있다[그림 6과 7]. 이는 센서 칩 표

그림 6. hHp의 농도에 따른 주파수 변화
Fig. 6. Dose response curve of hHp.

그림 7. hTf의 농도에 따른 주파수 변화
Fig. 7. Dose response curve of hTf.

면에 결합되어 있는 항체의 일부분만 항원과 결합하고 있음을 의미한다. 따라서 항원의 농도가 100 µg/ml 보다 훨씬 낮은 일반적인 측정 조건에서는 센서 칩 표면에 결합된 항체의 양이 약간 감소하더라도 항원과의 결합 정도에는 큰 영향을 주지 않을 것으로 생각된다.

3.4. 면역분석

일차항체를 고정시켜 면역분석을 하는 일반적인 방법에 비해 protein G를 미리 고정시켜놓은 센서 칩이 갖는 장점으로는 일차항체의 고정과정이 없이도 빠른 시간에 측정을 할 수 있다는 점, 서로 다른 항원을 분석할 수 있다는 점, 그리고 정제되지 않은 항체를 사용할 때 유리하다는 점 등을 들 수 있다. 이와 같은 장점을 확인하기 위해 protein G 센서 칩과 정제되지 않은 혈청 상태의 두 일차항체 anti-hHp Ab와 anti-hTf Ab를 이용하여 면역분석을 시도하였다.

protein G 센서 칩을 흐름형 셀에 장착한 후 면역분석 방법을 따라 일차항체인 anti-hHp Ab와 항원인 hHp를 차례로 주입하였을 때 시간에 따른 주파수 변화를 관찰하였다. 여기에서 anti-hHp Ab의 농도는 25 µg/ml로 항상 일정하였고 항원의 농도는 0.16, 0.8, 4, 20, 100 µg/ml의 다섯 농도로 주입하였다. 그림 5는 세 농도(4, 20, 100 µg/ml)에서 시간에 따른 주파수 변화 그래프를 겹쳐서 그린 것이다. 일반적인 EDC/NHS 방법으로 항체를 고정시킬 경우 1~2시간이 소요되고 항체의 탄수화물 영역을 이용하여 고정시킬 경우 3~5시

간이 걸리는 것에 비해 protein G 센서 칩을 이용할 경우 일차항체를 주입하여 결합이 완료되기까지 5분밖에 소요되지 않는다. 그리고 시료까지 주입하여 1회의 면역분석을 완료하는 데는 모두 14분 정도가 소요되었다. 또한 일차항체를 주입할 때의 주파수 변화는 110 Hz 정도로 일정한 반면 항원을 주입할 때는 농도에 비례하여 주파수 변화값도 증가하는 것을 알 수 있다.

또 한 가지 특이한 점은 정제되지 않은 혈청 상태의 일차항체를 주입할 때 정제된 같은 농도의 염소 IgG를 주입할 때보다 주파수 변화가 훨씬 더 크게 나타난다는 점이다. 이는 아마도 혈청에 포함된 다른 단백질들의 결합에 의한 것으로 추측된다. 특히 혈청에 30~50 mg/ml의 높은 농도로 존재하는 알부민(albumin) 단백질은 비특이적인 흡착을 매우 잘하는 단백질로 알려져 있다. 뿐만 아니라 protein G도 알부민 단백질에 대한 결합자리를 가지고 있기 때문에^[13] 주파수 변화값의 상당 부분은 알부민의 흡착 또는 결합에 의한 것으로 생각할 수 있다.

그럼에도 불구하고 protein G 센서 칩과 혈청 상태의 일차항체를 이용한 면역분석은 hHp와 hTf 모두 최저 0.8 µg/ml 농도의 항원까지 검출할 수 있는 민감성을 가지고 있었다[그림 6과 7]. 이 두 그래프는 면역분석 실험에서 항원인 hHp 또는 hTf가 주입되었을 때의 주파수 변화를 농도에 대해 그린 것이다. 특히 그림 7에 있는 hTf의 면역분석 결과를 보면 EDC/NHS 방법으로 정제되지 않은 항혈청 상태의 일차항체를 직접 고정시킨 센서 칩에 비해 protein G 센서 칩이 더 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있다. 그 이유는 EDC/NHS 방법으로 정제되지 않은 일차항체를 고정시킬 때는 IgG 외의 다른 단백질들도 함께 고정되어 표면에 고정된 일차항체의 양이 작고 또 고정된 일차항체의 방향이 일정하지 않기 때문일 것이다. 반면에 protein G 센서 칩을 이용할 경우에는 일차항체가 선택적으로 결합할 수 있을 뿐만 아니라 항체의 항원 결합 부위가 노출되도록 일정한 방향으로 결합하기 때문에 더 나은 민감성을 보일 수 있다. 그러나 혈청 상태의 일차항체를 사용할 경우 알부민 단백질의 결합이 일차항체의 결합을 감소시켜 민감도에 영향을 주는 것으로 보인다. 이러한 문제는 protein G에서 알부민 결합 부위를 제거한 재조합 단백질 형태의 protein G를 사용하면 개선될 수 있을 것으로 생각된다^[14].

4. 결 론

이 연구에서 만들어진 protein G 센서 칩은 실험에

많이 사용되는 염소, 토끼, 사람, 생쥐, 소의 IgG 가운데 생쥐를 제외하고 나머지 동물의 IgG에 대해서는 충분히 높은 친화도를 보여주었다. 염소에서 만들어진 항혈청 상태의 일차항체를 이용하여 hHp와 hTf에 대한 면역분석을 시도한 결과 농도에 비례하여 주파수 변화값이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 두 항원 모두 0.8 µg/ml 농도까지 검출할 수 있었다. 특히 정제되지 않은 항혈청을 사용하는 경우에는 EDC와 NHS로 항체를 직접 고정시키는 일반적인 방법에 비해 protein G 센서 칩이 우수한 민감도를 보여주었다. 이와 같은 결과들을 볼 때 여러 종류의 항체를 사용해야 할 경우나 정제되지 않은 항체를 사용하는 경우에는 protein G 센서 칩을 사용하는 것 더 유리할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업(RTI05-01-02) 지원으로 수행되었음.

참고 문헌

- [1] A. L. Ghindilis, P. Atanasov, M. Wilkins and E. Wilkins, "Immunosensors: electrochemical sensing and other engineering approaches", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 13, pp. 113-131, 1998.
- [2] P. B. Lippa, L. J. Sokoll and D. W. Chan, "Immunosensors-principles and applications to clinical chemistry", *Clin. Chim. Acta*, vol. 314, pp. 1-26, 2001.
- [3] N. K. Chaki and K. Vijayamohan, "Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 17, pp. 1-12, 2002.
- [4] X. L. Su and Y. Li, "A self-assembled monolayer-based piezoelectric immunosensor for rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 19, pp. 563-574, 2004.
- [5] H. C. Lu, H. M. Chen, Y. S. Lin and J. W. Lin, "A reusable and specific protein A-coated piezoelectric biosensor for flow injection immunoassay", *Bio-technol. Prog.*, vol. 16, pp. 116-124, 2000.
- [6] W. Lee, B. K. Oh, Y. M. Bae, S. H. Paek, W. H. Lee and J. W. Choi, "Fabrication of self-assembled protein A monolayer and its application as an immunosensor", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 19, pp. 185-192, 2003.
- [7] J. W. Chung, J. M. Park, R. Bernhardt and J. C. Pyun, "Immunosensor with a controlled orientation

- of antibodies by using NeutrAvidin-protein A complex at immunoaffinity layer", *J. Biotechnol.*, vol. 126, pp. 325-333, 2006.
- [8] H. Van Vlierberghe, M. Langlois and J. Delanghe, "Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease", *Clin. Chim. Acta*, vol. 345, pp. 35-42, 2004.
- [9] H. F. Juan, J. H. Chen, W. T. Hsu, S. C. Huang, S. T. Chen, J. Y.-C. Lin, Y. W. Chang, C. Y. Chiang, L. L. Wen, D. C. Chan, Y. C. Liu and Y. J. Chen, "Identification of tumor-associated plasma biomarkers using proteomic techniques: from mouse to human", *Proteomics*, vol. 4, pp. 2766-2775, 2004.
- [10] T. Arndt, "Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation", *Clin. Chem.*, vol. 47, pp. 13-27, 2001.
- [11] L. Björck and G. Kronvall, "Purification and some properties of streptococcal protein G, a novel IgG-binding reagent", *J. Immunol.*, vol. 133, pp. 969-974, 1984.
- [12] B. Kerström and L. Björck, "A physicochemical study of protein G, a molecule with unique immunoglobulin G-binding properties", *J. Biol. Chem.*, vol. 261, pp. 10240-10247, 1986.
- [13] G. Kronvall, A. Simmons, E. B. Myhre and S. Jonsson, "Specific absorption of human serum albumin, immunoglobulin A, and immunoglobulin G with selected strains of group A and G streptococci", *Infect. Immun.*, vol. 25, pp. 1-10, 1979.
- [14] C. R. Goward, J. P. Murphy, T. Atkinson and D. A. Barstow, "Expression and purification of a truncated recombinant streptococcal protein G", *Biochem. J.*, vol. 267, pp. 171-177, 1990.

하 인 영

- 2005년 2월 강릉대학교 졸업(이학사)
- 2007년 2월 강릉대학교 졸업(이학석사 생화학 전공)
- 2007년 3월~2008년 6월 강릉대학교 자연과학연구소 특별연구원

최 석 정

- 1983년 2월 서울대학교 화학과 졸업(이학사)
- 1985년 2월 서울대학교 화학과 졸업(이학석사 생화학 전공)
- 1989년 8월 서울대학교 화학과 졸업(이학박사 생화학 전공)
- 1989년 9월~현재 강릉대학교 화학과 교수
- 주관심분야 : 생물공학, 분석생화학, 바이오센서