

최인옥

한국식품개발연구원 특수연구사업단

Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC)법은 2가 또는 3가의 금속이온을 iminodiacetic acid-agarose 등의 polymer에 결합시켜 분리하고자하는 물질과 이들 금속과의 친화력에 따라 분리하는 방식으로 1975년 Porath 등에 의해 소개된 이래 특히 단백질의 분리에 유용하게 이용되고 있다. 본 연구에서는 Cu^{2+} ion을 chelating sepharose fast flow에 고정화 시키고 Cu^{2+} ion과의 친화력 정도를 이용하여 FPLC상에서 유청단백질의 분획을 시도하였다. Cu^{2+} ion과 거의 결합력이 없는 단백질은 washing buffer(pH 8.2)에 의해서 용출되었으며 전체 유청단백질의 13.8%가 용출되었다. 이들 단백질은 주로 β -lactoglobulin(24.9%), lactoferrin(22.7%), bovine serum albumin(17.5%) 등으로 구성되어 있었다. pH 3.0 buffer에 의해서는 전체 유청단백질의 72.1%가 용출되었으며 61.8%가 β -lactoglobulin으로 구성되어 있었으며 나머지 유청단백질은 10mM imidazole에 의해서 분리되었으며 주로 α -lactalbumin(59.2%)이 용출되었다. 특히 고가의 식품첨가제로 이용되고 있는 lactoferrin은 washing fraction에서 80%가 회수되었으며 순도는 5.7배 증가하여 IMAC를 이용하여 용이하게 유청으로부터 crude lactoferrin fraction을 얻을 수 있었다.