

유기용매를 첨가한 이동상에서 중공사막 흐름 장 흐름 분획법을 이용한 생리필수효소(Lipase)의 분리

위 은영, 정 도연, 민 병렬
연세대학교 화학공학과

Separation of Physiologically Critical Enzyme(Lipase) in Carrier Solution added Organic Solvents by Hollow Fiber Flow Field-Flow Fractionation

Eun Young Wi, Do Yeon Jeong, Byuong Ryul Min
Department of Chemical Engineering, Yonsei University

1. 서론

인체를 포함한 생명체의 원활한 신진 대사를 위해 필요한 생리필수효소 즉, 질병들의 진단이라는 중요성에 기반을 두어 여러 산업 분야, 특히 의약 분야에서 중요성과 응용성이 인식되어 온 lipase를 흐름 장 흐름 분획법을 이용하여 분리해내고자 하였다. Lipase는 동물의 소화효소로서 위액, 이자액, 장액 속에 분비되고 폐, 신장, 부신, 지방조직에 있는 효소이다.

장 흐름 분획법(Field-Flow Fractionation, FFF)의 개발은 고분자 및 미세한 콜로이드 입자의 분리 및 분석, 분취를 위한 빠르고, 선택적인 분리방법의 필요성과 액체 크로마토그래피의 고정상에서 유발되는 시료흡착에 의한 칼럼의 효율저하의 문제를 극소화하기 위한 필요에 의해 개발된 분리법이다.

2. 이론

FFF는 크로마토그래피와 같은 용리 기술이며 좁은 채널에서 분리가 일어나지만 충전물과 고정상이 없는 것이 특징이다. FFF는 걸어주는 장에 의해 침강장, 열장, 흐름 장, 전기장 FFF로 나뉘는데 본 연구에서 사용한 것은 2차적인 유체 흐름을 이용한 흐름 장 FFF로 흐름을 방해하는 입자가 없으므로 포물선 모양을 하는 것으로 가정한다. 채널 중앙에서 유속이 가장 빠르고 벽 쪽으로 갈수록 속도가 느려지는 포물선형 흐름을 가진 채널 안에 시료를 주입하고 외부 장을 주어 입자의 크기에 따라 채널 내 유속이

각기 다른 부분에 위치하도록 하여 크기에 따른 속도차이로 입자들은 분리하는 것이다.

3. 실험

기존 흐름 장 흐름 분획법에서 생체물질이나 단백질들의 분리를 위해 Phosphate buffer나 Tris buffer를 많이 사용하였으나 본 연구에서는 0.1M Phosphate buffer pH 7.8에 유기용매(acetonitrile, methanol)를 첨가하여 외부 장을 변화시켜가며 실험함으로써 분리효율을 비교하여보고, 순수 buffer와 유기용매가 첨가된 이동상에서 분리한 분리거동을 비교, 입자의 diameter등을 비교하였다. 본 연구에서 사용된 막은 MWCO 30,000의 PAN(Polyacrylonitrile, KMST), 분리 sample은 lipase(MW 40,000), apoferritin(MW 150,000), thyroglobulin(MW 660,000)을 사용하였다.

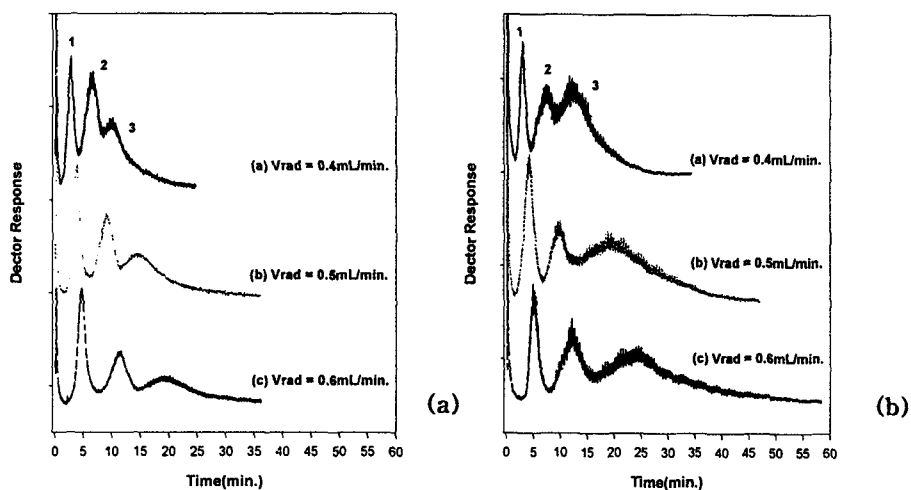
4. 결과 및 토론

본 연구의 결과 buffer에 유기용매를 첨가함으로써 resolution의 변화를 볼 수 있었다. Acetonitrile을 이동상에 첨가함으로써 resolution이 증가하였고 methanol의 경우는 반대로 resolution을 감소시키는 것을 알 수 있었다. 또한 plate height, selectivity 등을 통하여 buffer에 acetonitrile을 첨가한 이동상에서 $V_{out}/V_{rad} = 0.9/0.6 \text{ mL/min}$ 라는 최적조건의 도출과 증공사막이 흐름 장 흐름분획법의 다 성분 생체물질의 분리에도 적당하다는 것을 본 연구를 통해 알 수 있었다.

Acknowledgments

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(No. R01-2001-000-00420-0)지원에 의하여 연구되었기에 이에 감사드립니다.

Fig 1. Influence of elution profile according to varying radial flow rate
 (1 : lipase, 2 : apoferritin, 3 : thyroglobulin / (a) : acetonitrile, (b): methanol)



5. 참고문헌

1. K. G. Wahlund and J. C. Giddings, *Anal. Chem.*, 59, 1332(1987)
2. J. C. Giddings, *Science*, 260, 1456(1993)
3. M. E. Schimpt, K. Caldwell, J. C. Giddings, *Field-Flow Fractionation Handbook*(2000)
4. M. van Bruijnsvoort, W. Th. Kok, and R. Tijssen, *Anal. Chem*, 73, 1736-1742(2001)
5. Cynthia K. Larive, Susan M. Lunte, Min Zhong, *Anal. Chem.* 71, 389R-423R(1999)
6. Xiao-Ping Dai, Zhi-Fa Yang, Robert G. Luo, Kamalesh K. Sirkar, *Journal of Membrane Science* 171, 183-196(2000)