

최인옥*, 정순희

한국식품개발연구원 특수연구사업단

혈액으로부터 얻어진 혈장에는 serum albumin, immunoglobulins, transferrin 등 생리에 관여한 다양한 물질이 존재하며 이들의 유효특성, 면역력 증강, 생육인자 등의 생리활성기능은 장차 식품산업에도 유용하게 사용되어질 전망이다. 본 연구의 목적은 기능성식품첨가제로 응용가능한 이들 혈장단백질을 batch type의 ion exchange chromatography (IEC)와 immobilized metal affinity chromatography (IMAC)법으로 효과적으로 분획하는데 있다. 먼저 Q sepharose fast flow를 이용한 IEC를 batch type으로 행하여 혈장단백질의 분획을 시도한 결과, 전체 transferrin의 90.2%와 전체 IgG의 74.4%가 pH 7.0 fraction에서 용출되었다. Serum albumin의 경우, 약 2%만이 pH 7.0 fraction에서 용출되었으나 0.1M NaCl을 첨가한 용매에 의해서는 25.3%의 serum albumin이 용출되었으며 0.2M에서는 51.9%, 0.3M에서는 17.1%가 각각 용출되었다. Transferrin과 IgG의 경우에는 0.1M NaCl fraction에서 9.8%와 21.7%가 각각 용출되었으며, 이들의 결과로부터 serum albumin이 transferrin과 IgG로부터 IEC에 의해 용이하게 분리됨을 알 수 있었다. 2가나 3가의 금속이온을 chelating시켜서 이들과의 친화력에 따라 단백질 등을 분리하는 IMAC 법을 이용하여 혈장단백질의 분획을 시도하였으며 본 연구에서는 Cu^{2+} ion을 chelating sepharose fast flow에 chelating시켜서 사용하였다. 사용된 용출용매는 단백질과 Cu^{2+} ion과의 결합력 정도에 따라 pH 8.2, pH 3.0, 5mM imidazole, 7.5mM imidazole, 0.01M EDTA로 순차적으로 분리시켰으며 pH 8.2와 pH 3.0 용매에 의해서는 대부분의 혈장단백질이 용출되지 않았다. 그러나 5mM imidazole에 의해서는 대부분의 serum albumin(84.5%)과 소량의 transferrin(13.0%)이 용출되었으며 7.5mM imidazole fraction에서는 74.5%의 transferrin이 용출되었다. Cu^{2+} ion과 가장 강한 결합력을 보인 IgG는 0.01M EDTA에 의해서만 용출되었으며 이들 결과로부터 IMAC의 5mM imidazole을 통해서 혈장단백질 중 serum albumin을, 7.5mM imidazole fraction에서는 transferrin을, 그리고 0.01M EDTA fraction에서는 IgG를 각각 분획할 수 있었다. IEC와 IMAC는 column을 사용하지 않고도 용이하게 scale-up 시킬수 있는 단백질 분리방법으로서 본 연구를 통하여 혈장단백질이 이들의 방법을 통해 효과적으로 분획되어 장차 식품이나 의약품산업에 유용하게 이용될 수 있음을 시사하고 있다.