

## 중공사막 흐름장 흐름 분획법을 이용한 단백질 혼합sample의 분리

남현희, 위은영, 민병렬  
연세대학교 화학공학과

### Separation of proteins mixture sample in Hollow Fiber Flow Field-flow fractionation

Hyun Hee Nam, Eun Young Wey, Byuong Ryul Min  
Department of Chemical Engineering, Yonsei University

#### 1. 서론

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 컬럼의 효율저하의 문제를 극소화하기 위한 필요에 의해 시작되었다. 본 연구에서는 flow FFF방법을 선택하여 단백질의 용리거동을 고찰하고 최적 분리 조건을 설정하기 위한 기초연구를 수행하고자 한다. Flow FFF는 단백질분석에 있어서 생체 내에서와 유사한 조건에서 분리가 이루어지기 때문에 변성되지 않고, 빠른 시간에 분석이 이루어질 수 있으며, 구조에 대한 많은 정보를 얻을 수 있는 장점이 있다. 중공사막을 이용할 경우 분리관의 제작에 비용이 대폭 절약됨은 물론 크로마토그래피용 컬럼처럼 소모품처럼 저렴하게 교체할 수 있는 분리관으로의 응용이 가능하다.

#### 2. 이론

FFF는 크로마토그래피와 같은 용리 기술이며 좁은 채널에서 분리가 일어나지만 충전물과 고정상이 없다. 즉 흐름을 방해하는 입자가 없으므로 튜브내의 흐름이 균일 박막면이고 포물선 모양을 하는 것으로 가정한다. 포물선 모양으로 흐름이 형성되기 때문에 채널 중앙에서 유속이 가장 빠르고 벽쪽으로 갈수록 속도가 느려진다. FFF는 이러한 흐름을 가진 채널 안에 시료를 주입하고 외부장을 주어 입자의 크기에 따라 채널 내 유속이 각기

다른 부분에 위치하도록 하여 크기에 따른 속도차이로 입자들은 분리하는 것이다.

### 3. 실험

분획 분자량이 30,000, 내부 지름이 0.88mm인 중공사막(Polyacrylonitrilic, KMST)을 Teflon tube에 삽입한 후 reducing union 및 Tee를 사용하여 24cm인 채널을 제작한다. 이렇게 제작한 채널에 유체를 일정하게 pumping 하면서 metering valve를 이용하여 흐름을 조절하여 흐름장(flow-field)을 형성한다. 이동상은 0.25mM의 Phosphate buffer solution(pH=7.8)을 사용하였다.

### 4. 결과 및 토론

단백질 분리를 위한 흐름장 흐름분획법에서의 중공사막 성능효율을 알아보기 위해 resolutionplate height, 그리고 PSD를 측정해보았다.  $V_{out}/V_{rad} = 0.65/0.85$  일 때 단백질의 분리조건이 optimal값을 가졌다. Resolution은 radial flow rate가 0.85(mL/min)일 때 1.118~1.375로 나타났으며, plate height는 전반적으로 낮은 값을 가져 중공사막의 성능효율이 높음을 알 수 있었다. 그리고, 막의 selectivity는 1.28~1.399로 중공사막이 흐름장 흐름분획법의 다성분 단백질의 분리에도 적당하다는 것을 알 수 있었다.

**Table 1.** Molecular Weight and Isoelectric Point(pI) of Proteins Used in This Work.

proteins	Mw	d (nm)	pI	Source
ovalbumin	44,287	5.2	4.9	Chicken egg
alcohol dehydrogenase	150,000	9.1	5.4-5.8	Yeast
apoferritin	444,000	12.2	5.0	Horse spleen
thyroglobulin	669,000	17.2	5.1	Bovine

### Acknowledgments

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

Figure 1. Effect of field strength

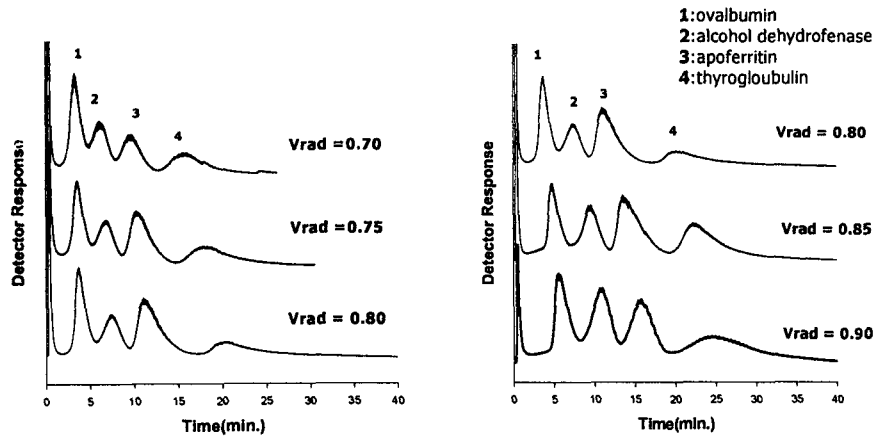
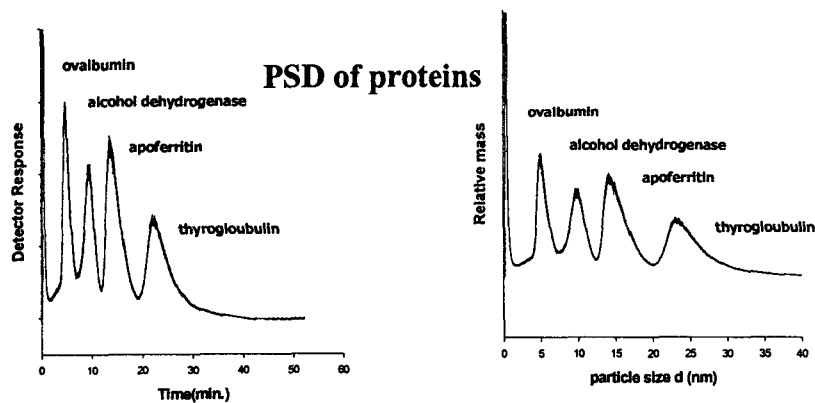


Figure 2. Particle size distribution(PSD)



## 5. 참고문헌

1. K.G. Wahlund and J.C. Giddings, *Anal. Chem.*, 59, 1332(1987)
2. J.C. Giddings, *Science*, 260, 1456(1993)
3. W.J. Lee, B.R. Min, and M.H. Moon, *Anal. Chem.*, 71, 3449(1999)
4. M.E. Schimpt, K. Caldwell, J.C. Giddings, *Field-Flow Fractionation Handbook*(2000)
5. J.A. Carlshaf, *Anal. Chem.*, 61, 11(1989)
6. M.H. Moon, I.M. Hwang, *J. Liq. Chro. & Technol.*, 24(20), 3669-3083(2001)