

## 단백질 고정막에 의한 이성질체의 분리

나원재, 김 민, 김병식\*

동국대학교 안전공학과, 동국대학교 생명·화학공학과\*

### Chiral separation by BSA immobilized membrane

Won-jae Na, Byoung-sik Kim\*, Min Kim

Department of Safety Engineering, Dongguk University

Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University\*

#### 1. 서론

현재 과학에서는 순수한 이성질체를 구함을 목적으로서 인체과학 및 여러 기술 과학에서 연구가 진행되어 가고 있다. 즉, 이성질체 분리기술은 인체의 생리활성에 불필요한 이성질체를 분리함으로써 이들 이성질체들의 생체내 변화과정을 추적하는데 효율적으로 이용되며, 불필요한 물질을 제거할 수 있다는 것이다[1]. 이러한 방법으로 액체 크로마토그래피법에서는 리간드를 고정시켜 비즈를 이용한 칼럼이 지금까지 이용되었다. 그러나 비즈를 이용한 칼럼을 사용하면 이동속도가 리간드 내의 확산에 지배를 받기 때문에 처리 속도에 제한이 있다는 결점이 있다[2]. 본 연구에서는 평막이나 증공사막, 여과막 등의 기존의 소재의 특성은 잃지 않고, 이온교환기를 부여할 수 있는 방사선 그래프트 중합법을 이용하였다. 폴리에틸렌 다공성 증공사막을 소재로 사용하였고, 광학 인식능을 가진 BSA를 다공성막에 고정시킴으로서 BSA모듈을 작성하였다. 방사선 그래프트 중합법을 이용하여 대류 확산에 의한 물질 전달계수에 영향을 받지 않는 BSA고정막을 작성 [3]하여, 두 성분을 가진 이성질체(DL-Tryptophan)를 투과시켜 BSA와의 선택적 차에 의한 상호 작용에 따라 이성질체가 분리가 가능하다는 것을 실현 하였다.

따라서 본 연구에서는 방사선 그래프트에 의한 다공성 증공사막을 합성

하여 음이온 교환재로서 관능기를 도입하여 광학이성질체로서 BSA를 고정시킨 BSA고정막을 작성하여, 두 혼합물(DL-Tryptophan)의 분리에 대한 BSA고정막의 특성을 알고자 하는데 그 목적이 있다.

## 2. 실험

### 2.1 방사선 그래프트막에 BSA 고정

GMA 중합막을 음이온교환기인 DEA(Diethylamine), TEA(Triethylamine)를 도입하여, 음이온 교환막을 합성하였다. 단백질 고정은 투과법으로 수행하였다. 도입경로는 그림 1에 나타내었다. 0.02M의 Tris-Buffer(pH 8)용액에 BSA를 녹여 단백질 용액을 만든 후, 일정유량으로 투과시켰다. 투과해 나온 용액을 분광광도계를 이용하여 고정량을 산출하였다.

### 2.2 BSA고정막에 의한 DL-Tryptophan의 분리

BSA고정막에 의한 DL-Tryptophan의 흡착특성은 투과법에 의해 측정하였다. 0.05mM의 DL-Tryptophan 일정량을 BSA 고정막에 투과시켜 얻어진 용액의 농도를 UV(280nm)을 이용하여 농도를 측정하여, BSA고정막에 대한 DL-Tryptophan의 분리를 조사하였다.

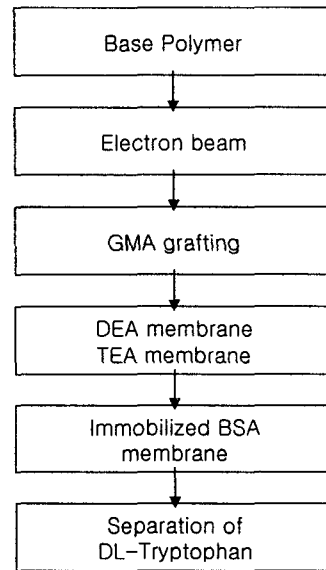


Fig 1. Preparation scheme of The immobilized BSA membrane

## 3. 결과

### 3.1 방사선 그래프트막에 BSA고정

DEA막, TEA막의 단백질 고정층수에 대해서 표 1에 나타내었다. DEA막의 경우 dg 74%일 때 BSA고정층수는 3층으로 나타났으며, dg 156%일

Table 1. Compare of DEA, TEA membrane

	Grafting[%]	74	94	126	156
DEA	고정량[g/g]	0.192	0.338	0.461	0.554
	단층고정량[g/g]		0.06		
	흡착적층수	3.2	5.63	7.68	9.23
TEA	고정량[g/g]	0.069	0.068	0.059	0.064
	단층고정량[g/g]		0.06		
	흡착적층수	1.15	1.13	0.98	1.06

$$\text{고정량 } Q = \int_0^{V_e} (C_0 - C) dV / W \text{ [g/g]} \quad (1)$$

$$\text{단층고정량 [g/g]} = (\text{막의 비표면적}) \times (\text{단백질의 분자량}) / [(\text{단백질 1분자의 점유면적}) \times (\text{아보가드로수})] \quad (2)$$

$$\text{흡착적층수 [-]} = (\text{고정량}) / (\text{단층고정량}) \quad (3)$$

때 9층으로 나타났다. 그래프트율이 증가할수록 BSA의 고정량이 증가하나, TEA막의 경우 dg 74%일 때 1층 dg 156%일 때 1층으로 그래프트율이 증가하여도 BSA고정량이 증가하지 않는 것을 알 수 있다.

그래프트율 변화에 따른 투과유속을 그림 2에 나타내었다. BSA고정량이 많은 DEA막이 TEA막보다 투과유속이 낮은 것은 DEA막에 BSA가 고정되면서 pore면적이 좁아지게 되어 유속이 감소하는 것을 알 수 있었다.

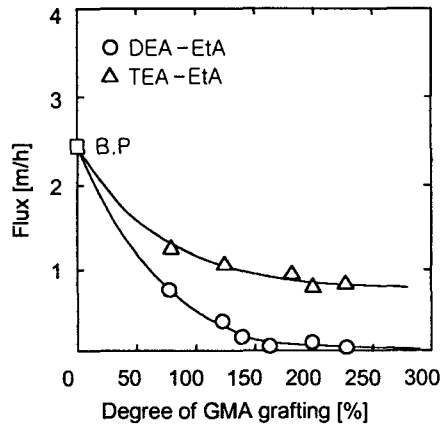


Fig 2. BSA solution flux of the degree of GMA grafting

### 3.2 BSA고정막에 의한 DL-Tryptophan의 분리

DEA막에 BSA를 고정시켜 혼합물(DL-Tryptophan)의 분리특성을 그림

3 에 나타내었다. DEA막의 경우 L-Tryptophan과 D-Tryptophan의 선택적 흡착성능차에 의한 BTC곡선이 나타났다. 따라서, 그림에서 알 수 있듯이 이성질체의 분리가 가능하다는 것을 알 수 있었다.

#### 4. 참고문헌

[1] Afeyan, N. B.; Gordon, N, F.; Mazsaroff, I.; Varady, L.; Fulton, S. P. Flow-through Particles for the High-performance Liquid Chromatographic Separation of Biomolecules: Perfusion Chromatographic. *J. Chromatogr.* 519(1990)

[2] Clifford, D. and X. Liu, "Ion exchange for nitrate removal", *J. AWWA*, 85(4), 135(1993)

[3] N. Kubota, Y. Konno. S. Miura, K. Saito, K. Sugita, K. Watanabe, T. Sugo, Comparison of two conventional protein adsorption methods using membrane and perfusion bead, *Biotechnol. prog.* 12(1996)

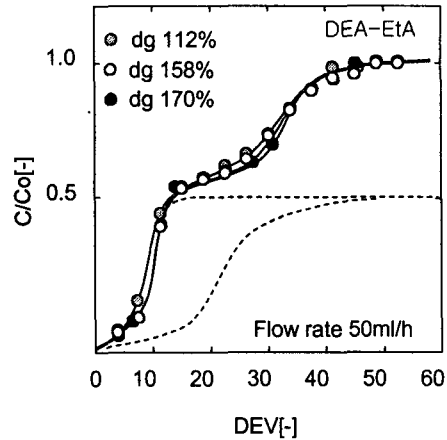


Fig 3. breakthrough curves of DL-Tryptophan for BSA membrane