

Surface modification of nano-pore silica particles for immobilization of proteins

Hyung Min Cho, Eun Kyu Lee[†]

Bioprocessing Research Laboratory,

Department of Bionanotechnology, Graduate School

Hanyang University

Ansan, Korea 425-791

[†]Tel : 031-400-5275, ekleee@hanyang.ac.kr

금속 및 비금속 산화물을 이용한 많은 소재들이 생체촉매의 지지체로 사용되고 있다. 이에 대한 연구는 지지체에 효소를 고정화 한 것을 시작으로 현재까지도 표면 개질 및 단백질 고정화 등에 이용하고 있다. 효소 고정화에 이용되는 담체들은 대부분 유기화합물로 구성되었다. 하지만 효소 고정화 기술은 담체의 기계적 물성에 한계가 있다는 점과, 효소 재사용에 따른 활성의 저하라는 문제가 있다. 그러므로 유기 화합물에 비해 견고하며, 세공크기 제어가 쉽고, 기계적 물성이 우수한 무기화합물이 지지체로 많이 이용되는 추세이다. 이러한 장점으로 무기 지지체는 대규모, 산업적 적용에 유리한 점이 있다.

본 연구에서는 나노 세공 지지체로 50nm pore size인 silica를 사용하였다. silica는 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 의 축합중합에 의해 효소의 고정화에 필요한 active site 및 세공제어가 용이하다는 장점이 있다. 원활한 고정화를 위하여 silica와 DETA solution, glutaraldehyde solution을 반응시켜 표면에 NH_2 및 CHO 기능기를 도입하여 표면 개질을 시도하였다. 이를 lucifer yellow와 반응 형광 이미지를 통하여 확인해 보았다. 실험결과 아래와 같이 표면 개질이 이루어졌음을 보여주는 결과를 얻을 수 있었다.

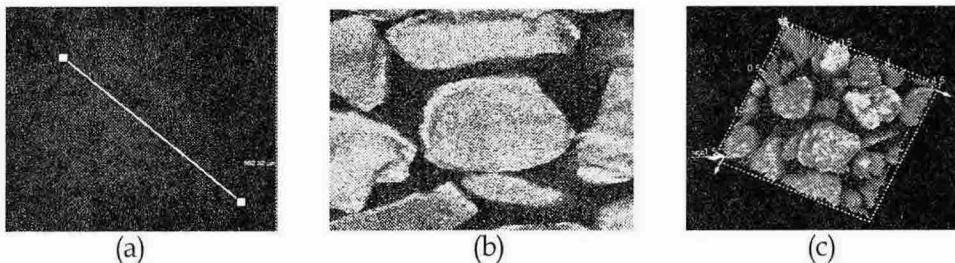


Fig 1. (a) silica(amine기) (b) silica(aldehyde기) (c) (b)의 3D image

이처럼 표면 개질된 silica 내외부에 존재하는 aldehyde기에 trypsin을 공유결합을 통해 고정화 시켰다. 실험 결과 2.11×10^{16} (molecules/cm²)의 고정화 결과를 얻을 수 있었다.

Table 1. trypsin 고정화 결과

@ 655nm	trypsin 고정화량 (mg)	단위 질량 당 고정화량 (mg/mg-silica)	단위 면적 당 고정화량 (molecules/cm ²)
0.122	0.449	0.035	2.11×10^{16}

또한, 효소의 재사용에 따른 활성 저하의 문제를 방지하고자, 활성을 유지해주는 최적화 조건을 찾아보았다. 고정화가 된 효소의 활성을 기준으로 반응, 측정, 세척의 3 step을 하나의 cycle로 실험을 진행하였다. 그 결과 일정한 조건 아래에서 명확한 활성의 저하 없이 12회까지 사용 할 수 있었다.

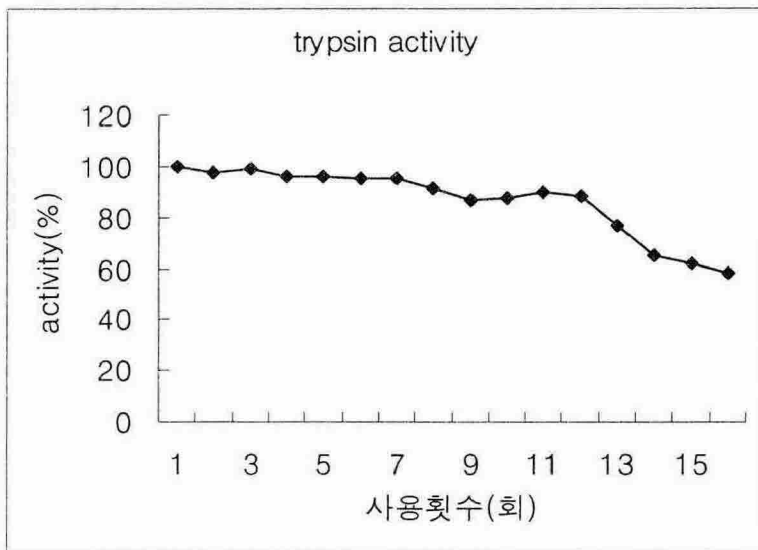


Fig 2. trypsin 반복 사용 시 활성 측정 결과

본 연구를 통해, 고정화에 이용되는 담체에 기능기를 도입하여 표면 개질을 시도하여, 고정화 실험에 편리성을 도입하였다. 표면 개질 된 지지체 위에 고정화가 충분히

이루어짐을 볼 수 있었고, 반복 사용 또한 가능함을 확인하였다.
이를 통하여 고정화 효소 시스템의 문제점을 보완, 산업적 이용을 위한 가능성을 확인하였다.

Key words : 효소, 고정화, 표면 개질, 나노 세공 지지체