

고성능 모세관 전기이동법

(High Performance Capillary Electrophoresis)

金宅濟

〈경기대학교수·화학/분자 운영자문위원〉

전기이동법(electrophoresis)은 완충 용액이나 고체 지지체에서 (+)전하나 (-)전하를 띠는 물질에 외부에서 전장을 걸어주면 각 이온들은 반대 전하를 띤 전극으로 이동하여 분리되는 기법이다. 이 기본적인 원리는 이미 1930년대에 Tiselius가 전하를 띤 혈청 단백질을 분리하는데 이용하였다. 그 후 분리 원리 및 장치의 개발에 따라 1979년 Mikker에 의해 모세관을 이용한 모세관 전기이동법이 선을 보였으며 Jorgenson과 Lukac 등이 지름이 100 μ m 이하의 모세관을 이용한 모세관 전기이동법(capillary electrophoresis, CE)을 개발하였다. 이러한 새로운 분리법을 더러 모세관 띠 전기이동법(capillary zone electrophoresis, CZE) 또는 고성능 모세관 전기이동법(high performance capillary electrophoresis, HPCE)이라고 부른다.

CE는 모세관을 사용해서 Joule heating 등의 문제점을 해결하여 분리능을 증가시킬 수 있었고(이론단수가 10⁶ 정도)nL 이하의 시료를 분석

할 수 있으며, 고전압을 사용할 수 있어 분리시간을 30분 이하로 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에서 사용하는 검출기를 사용할 수 있고 기기의 자동화가 쉽고, 재현성이 좋은 새로운 분석방법이다.

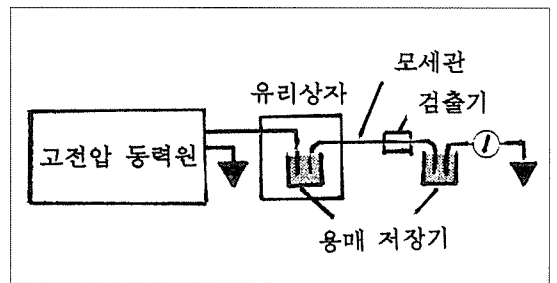
CE가 전하를 띤 물질만을 분리할 수 있는 한계점을 84년 Terabe 등은 이온성 계면활성제로 된 micelle을 사용함으로써 전하를 띠지 않은 중성분자를 지용성(hydrophobicity)에 따라 분리해 내는 micellar electrokinetic chromatography(MEC)를 개발해 내어 CE가 유기물의 분석에 폭넓게 사용할 수 있도록 되었다.

기본원리 및 기기

CE의 기기구조는 그림 1-a에서 보여주는 바와 같이 적당한 전해질 완충 용액이 채워진 모세관(내경이 10~

200 μ m, 길이 10~100cm)의 양끝이 완충 용액에 담겨 있고 10~40kV 전압을 이용하여 모세관 양끝에 전장을 걸어준다. 용질이 완충액을 통과하여 나오는 것을 모세관의 끝(음극)에 있는 검출기에서 감지하게 된다.

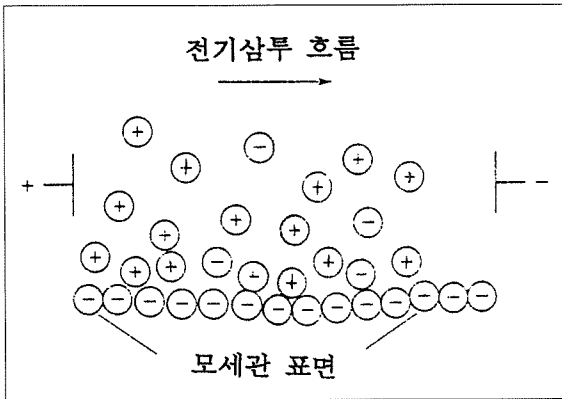
모세관에서 전하를 띤 물질이 분리되어지는데 기여하는 유체의 움직임은 두가지가 있는데, 반대 전하에 의한



〈그림1-a〉 전기 이동법

전기이동흐름(electrophoretic flow)과 유체가 일정한 방향으로 움직이게 하는 전기삼투흐름(electroosmotic flow)이 있다.

전기삼투흐름이 (+)전하를 띤 시료의 전기이동흐름과 같은 방향이므로 빨리 모세관에서 나온다. 반면 (-)전



〈그림1-b〉 실리카모세관/용액계면의 전자분포

하를 띤 물질은 전기이동흐름이 전기삼투흐름과 반대방향이므로 모세관을 통과하는 속도는 느리다.

그러나 전기삼투흐름이 존재하므로 모든 시료가 한 방향으로 움직이므로 분리되는 것을 음극에서 검출하는 것이 가능하다.

MEC의 경우에는 완충용액에 임계미셀농도(critical micelle concentration) 이상의 전하를 띤 계면활성제를 넣어 주므로써 micelle상과 수용액상 사이에서 용질이 지용성이나 이온성 인력에 의해 분배평형이 일어나 움직이는 속도가 변하게 된다.

예를 들면 그림 1-b에서와 같이 sodium dodecyl sulfate(SDS)와 같은 음이온 계면활성제를 넣어 줄 경우 미셀은 표면이 음전하를 띠므로 양극 쪽으로 이동하고 용질중 SDS와 강하게 반응하는 물질은 SDS와 결합하여 양극쪽으로 이동해 감으로써 늦게 나오는 SDS용질이 있고 반응하지 않는 물질은 전기삼투흐름에 따라 음극쪽으로 빨리 이동하게 된다.

이때 미셀상(micellar phase)은

HPLC에서의 정지상과 비슷한 역할을 한다는 의미에서 유사 정지상(pseudo-stationary phase)의 역할을 하므로 분석법의 이름이 micellar electrokinetic chromatography라고 불리게 되었다.

UV흡수와 형광을

근거로 한 광학 검출기가 CE의 검출기로써 현재는 가장 많이 사용되고 있다.

검출은 oncolumn detector를 사용하며 UV흡수가 있는 모든 유기물 및 생화학 물질의 감지에 사용할 수 있다.

응용 분야

CE의 분리능과 검출기에 따라서 CE의 응용 범위는 다양화 될 수 있다. MEC와 CE를 사용하여 분리할 수 있는 물질로는 이온화합물 뿐만 아니라, 역상 HPLC(RP-HPLC)에 의하여 분리할 수 있는 화합물들을 생각할 수 있다.

즉 지용성이나 전하를 띤 물질을 분석하는데는 RP-HPLC에 비해 분리능이 좋고 사용이 간편하다는 점에서 의약품, 환경시료 등의 분석에 응용되기 시작하고 있다. 이외에 전기 전도도 검출기를 사용하

여 금속이온들과 유기산류 등을 분리한 것이 보고되어 있으며, 아미노산 등의 광학 이성체를 분리하는데도 활용되고 있다.

이밖에 생화학 물질들인 단백질, 펩타이드, 핵산의 분리에도 응용에 관한 수많은 논문이 발표되어 있으며, 세계적인 게놈 프로젝트에서 유전자의 배열순서 결정을 위한 가장 빠르고 정확한 분석 기술로써 사용될 수 있으리라는 가능성이 커져 gel을 채운 CE를 이용하여 형광 검출기를 이용한 유전자 배열순서 결정에의 응용을 위한 연구가 다양하게 이루어지고 있다. 분석 기술이 아직 응용면에서 초기 단계이므로 거의 끝이 없는 응용연구가 진행되리라 예상된다

실례로써 MEC에 의한 16종 페놀화합물류에 대해 동시 분리분석한 결과는 그림 2에서 보여주는 바와 같다.

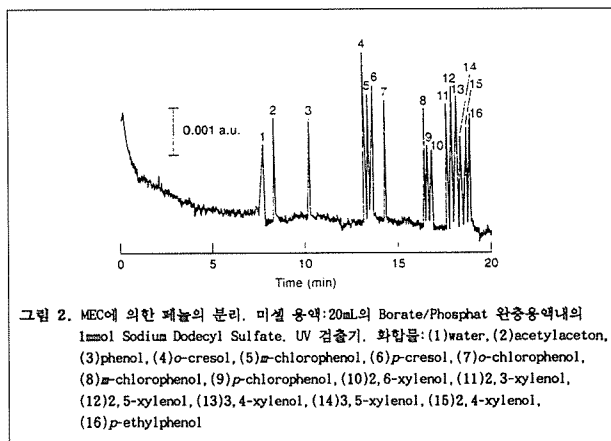


그림 2. MEC에 의한 페놀의 분리. 미셀 용액: 20mL의 Borate/Phosphat 완충용액내의 1mmol Sodium Dodecyl Sulfate. UV 검출기. 화합물: (1)water, (2)acetylacetone, (3)phenol, (4)o-cresol, (5)m-chlorophenol, (6)p-cresol, (7)o-chlorophenol, (8)m-chlorophenol, (9)p-chlorophenol, (10)2, 6-xyleneol, (11)2, 3-xyleneol, (12)2, 5-xyleneol, (13)3, 4-xyleneol, (14)3, 5-xyleneol, (15)2, 4-xyleneol, (16)p-ethylphenol

CE장치를 판매하고 있는 국내 대리점은 동영과학(주) (Beckman Instruments, TEL: 02-547-1758)와 비엠에스(주) (BIO-RAD, TEL: 02-569-6902) 등이 있다.