

콘택트렌즈의 물리화학적 특성에 따른 라이소자임과 알부민의 흡착 특성

성유진, 유근창, 전 진*

동신대학교 안경광학과, 나주 520-714

투고일(2013년 5월 20일), 수정일(2013년 8월 16일), 게재확정일(2013년 9월 14일)

목적: FDA 기준에 의해 분류된 시판용 콘택트렌즈와 실험실에서 제조한 콘택트렌즈의 물리화학적 특성에 따라 라이소자임과 알부민의 흡착 특성을 살펴보고자 한다. **방법:** 실험실에서 제조한 렌즈는 HEMA(2-hydroxyethyl methacrylate)와 TRIM(3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate) 등의 모노머를 사용하였으며 캐스트몰드 방법으로 제조하였다. 라이소자임과 알부민을 함유한 인공눈물을 제조하였다. 각각의 렌즈에 대해 흡착시간(48시간)과 인공눈물의 pH(pH 6, 6.8, 7.4, 8.2, 9)에 따라 단백질 흡착량 변화를 추적하고, 콘택트렌즈에 흡착된 각각의 단백질은 HPLC로 정량하였다. **결과:** 두 단백질의 흡착에 대한 평형상태 도달하는 시간은 하이드로겔 렌즈에 비해 실리콘하이드로겔 렌즈에서 더 오래 걸렸다. 평형상태에서 두 단백질에 대한 흡착량은 실리콘하이드로겔 렌즈에 비해 하이드로겔 렌즈, 비이온성 렌즈에 비해 이온성 렌즈에서 높게 나타났다. 또한, 고탍수 렌즈에서는 라이소자임이, 저타합수 렌즈에서는 알부민의 흡착량이 많았으며, 이온성 고탍수의 Group IV 하이드로겔 렌즈(H4)에서는 라이소자임만이 흡착되었다. 인공눈물의 pH에 따른 두 단백질의 흡착량은 각 단백질의 등전점에 가까워질수록 증가하였다. **결론:** 라이소자임의 흡착량은 콘택트렌즈의 타합수율보다는 렌즈 표면의 이온성에 더 큰 영향을 받으며, 알부민은 렌즈 표면의 이온성보다 타합수율에 더 많은 영향을 받는다. 실리콘하이드로겔 렌즈에서 단백질의 흡착은 콘택트렌즈의 극성뿐만 아니라 실리콘 모노머에 포함된 Si 원자수와 그 화학적 구조에 의해 결정되는 세공의 크기 등이 함께 고려되어야 한다.

주제어: 콘택트렌즈, 단백질 흡착, 라이소자임, 알부민, 인공눈물, 실리콘하이드로겔

서 론

콘택트렌즈는 시력교정 및 미용의 목적으로 많은 사람들에게 상용화 되고 있다. HEMA(2-hydroxyethyl methacrylate)는 친수성과 소수성을 동시에 가지는 양쪽성 물질로서 하이드로겔 콘택트렌즈 제조에 가장 많이 사용되고 있다.^[1] HEMA에 silicone group을 결합시킨 실리콘하이드로겔 렌즈는 silicone으로 인해 산소투과성은 향상되나 소수성이 증가하여 착용감이 감소하는 결과를 가져온다.^[2] 콘택트렌즈는 FDA(United States Food and Drug Administration, 미국식품의약국) 기준에 의해 비이온성 저타합수는 Group I, 비이온성 고탍수는 Group II, 이온성 저타합수는 Group III, 이온성 고탍수는 Group IV로 각각 분류된다.^[3] 이와 같은 렌즈의 타합수율과 이온성은 산소투과성과 밀접한 관계가 있으며 콘택트렌즈 제조에 사용되는 물질에 의해 결정된다. 이러한 렌즈의 물리적 특성들은 지방과 단백질 등의

흡착특성에 영향을 미치게 되고, 착용시간 및 착용주기를 결정하는 중요한 요소가 된다.^[4]

눈물은 각막의 상피와 실질에 산소를 제공하고, 각막의 표면에서 윤향작용을 한다. 눈물의 pH는 혈액의 pH와 유사하여 평균적으로 pH 7.2~7.5를 유지하고, 신체적 요인과 외부의 환경에 따라서 pH 5.8~8.35의 다양한 변화를 나타낸다.^[5] 눈물 속에는 단백질, 지방, 점액, 칼슘, 염분 등의 다양한 성분이 포함되어 있다. 콘택트렌즈를 착용할 경우 눈물에 포함된 단백질 등이 렌즈에 흡착됨에 따라 렌즈의 수명, 착용감, 그리고 시력 저하 등이 유발되고 심한 경우에는 거대유두결막염 등의 문제를 일으킨다.^[6] 또한 콘택트렌즈에서 눈물 속의 전하를 띤 단백질과 상호작용이 일어남에 따라 렌즈의 형태가 변화되고,^[7] 렌즈 표면에서 막을 형성함으로써 각막으로 세균 침투의 위험이 증가된다는 보고가 있다.^[8] 눈물에는 10~2360 kDa의 분자량을 갖는 100여개의 서로 다른 단백질이 존재하는 것으로

*Corresponding author: Jin Jun, TEL: +82-61-330-3551, E-mail: jinjun@dso.ac.kr

보고되고 있으며,^[9] 눈물 속에 단백질 성분으로는 라이소자임, 알부민, 글로불린, 락토페린 등이 있다. 내부적으로 결합력이 강한 성질의 라이소자임과 구조적 안정성이 낮은 성질의 알부민은 콘택트렌즈 침전물 중에 약 60~90%의 많은 양을 차지하고 있고,^[10] 이러한 단백질들이 포함된 인공눈물을 제조하여, 콘택트렌즈에서 단백질의 흡착 특성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 단백질의 흡착 특성은 렌즈의 재질, 함수율, 표면의 전하 등의 물리적인 특성에 많은 영향을 받는 것으로 보고되었다.^[11] 특히, 눈물 속에 라이소자임은 등전점이 pH 11.4로서 생리적인 눈물의 pH에 비해 매우 높음에도 불구하고 콘택트렌즈 침전물에서 발견된 총 단백질의 약 40%를 차지하고 있으며,^[10] 콘택트렌즈에 단단하게 흡착되는 특성이 있다.^[12] 콘택트렌즈는 각막에 직접적으로 접촉되기 때문에 렌즈의 재질과 눈물 속 단백질의 친화력은 콘택트렌즈 착용에 대한 안전성에 영향을 주며,^[13] 최근에는 단백질 흡착을 최소화할 수 있는 생체모방형 콘택트렌즈 재질 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.^[14] 따라서 새로운 콘택트렌즈의 개발을 위해서는 사용한 렌즈의 재료와 렌즈의 물리적 특성에 따른 단백질의 흡착특성에 대한 체계적인 연구가

필요하다.

본 연구에서는 FDA 기준에 의해 분류된 시판용 콘택트렌즈와 제조한 실리콘하이드로겔 렌즈의 단백질 흡착 특성을 비교하고, 그 결과를 실리콘 모노머의 화학적 구조와 연계하여 살펴봄으로써 새로운 실리콘하이드로겔 렌즈 설계에 필요한 기초자료를 제공하고자 한다.

대상 및 방법

1. 실험 재료

콘택트렌즈의 물리화학적인 특성과 재질에 따른 단백질 흡착특성을 알아보기 위해 본 연구에서는 시판용 콘택트렌즈와 실험실에서 제조한 렌즈를 사용하였다. 시판용 콘택트렌즈는 FDA 분류에 의해 Group I, II, IV에 해당하는 렌즈를 각 1종씩, 총 3종류의 하이드로겔 렌즈와 Group I, III에 해당하는 렌즈를 각 1종씩, 총 2종류의 실리콘하이드로겔 렌즈를 선택하였다. 실험실에서 제조한 콘택트렌즈는 하이드로겔과 실리콘하이드로겔 렌즈를 각 1종류씩 제조하여 사용하였다. 실험에 사용된 콘택트렌즈의 특성은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Properties of the contact lenses used in the study

	Hydrogel lens				Silicone hydrogel lens		
	H1	H2	H4	HL	SH1	SH3	SHL
USAN	Polymacon	Nelfilcon A	Etafilcon A	-	Lotrafilcon B	Balafilcon A	-
FDA group	I	II	IV	-	I	III	-
Water content(%)	38	69	58	42	33	36	38
Diameter(mm)	14	13.8	14.2	12.1	14.2	14	12.1
Center thickness(mm)	0.035	0.1	0.084	-	0.08	0.09	-
Oxygen transmissibility ($\times 10^{-9}$ cm/sec)*	24.3	26	25.5	-	138	110	-
Principal Monomers	pHEMA ^a	PVA ^b	HEMA, MA ^c	pHEMA	TRIS ^d , DMA ^e , Siloxane ^f	TPVC ^g , NCVE ^h , PBVC ⁱ , NVP ^j	TRIM ^k
Surface modification	None	None	None	None	Plasma coating	Plasma oxidation	None

*: (mL O₂/mL × mmHg)

HL : hydrogel lens fabricated in the laboratory

SHL : silicone hydrogel lens fabricated in the laboratory

a : poly(2-hydroxyethyl methacrylate)

b : polyvinyl alcohol

c : methacrylic acid

d : trimethylsiloxy silane

e : N,N-dimethylacrylamide

f : siloxane macromer

g : tris-(trimethylsiloxy)silylpropylvinyl carbamate

h : N-carboxyvinyl ester

i : poly[dimethylsiloxy] di[silybutanol] bis[vinyl carbamate]

j : N-vinyl pyrrolidone

k : 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate

콘택트렌즈 제조에 사용된 HEMA(2-hydroxyethyl methacrylate, 96%, Junsei)는 산소와의 접촉을 피하기 위해 질소 가스를 주입한 상태에서 감압농축기(RV-10B, IKA, China)를 이용하여 진공 증류하여 불순물과 첨가된 중합 방지제(hydroquinone)를 제거한 후 사용하였다. 하이드로겔 렌즈는 HEMA, NVP(N-vinyl pyrrolidone, 99%, Junsei), EGDMA(ethylene glycol dimethacrylate, 98%, Aldrich), AIBN(azobis isobutyronitrile, 98%, Junsei)를 사용하였고, 실리콘하이드로겔 렌즈 제조를 위해 실리콘 모너머 TRIM(3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate, 98%, Aldrich), HEMA, NVP, EGDMA, AIBN를 구성비에 따라 혼합한 후, 교반기(MS-2026, MISUNG S&I, Korea)를 이용하여 6 시간 동안 상온에서 교반하였다. 혼합된 모노머는 콘택트 렌즈 몰드에 주입하고, 고온건조기(HST-501S, Hanst, Korea)에서 90°C, 5시간동안 중합하였다.

2. 실험 방법

1) 인공눈물 제조

콘택트렌즈에 단백질 흡착 특성을 살펴보기 위해 인체의 눈물과 비슷한 조성을 갖는 인공 눈물을 제조하였다. 인공눈물은 1.2 mg/mL 라이소자임(chicken egg lysozyme, ≥90%, Aldrich), 3.88 mg/mL 알부민(bovine serum albumin, ≥96%, Aldrich), 7 mg/mL NaCl, 1.7 mg/mL KCl, 0.05 mg/mL CaCl₂, 2.2 mg/mL NaHCO₃을 증류수에 용해시켜 사용하였다.¹¹⁾

2) 콘택트렌즈에 단백질 흡착 및 추출

눈물은 신체적 요인에 따라 눈물 속에 단백질 조성이 다르기 때문에 단백질 흡착실험을 제조한 인공눈물을 사용하여 생체 외 실험(in vitro)으로 진행하였다. 콘택트렌즈에 단백질 흡착과정은 렌즈가 충분히 잠길 수 있도록 2 mL의 인공눈물을 넣어 준 후 37°C를 유지하면서 150 rpm으로 흔들어주었다.

단백질의 흡착 특성은 흡착시간과 인공눈물의 pH에 따라 살펴보았다. 흡착시간에 따른 특성은 pH 7.4의 인공눈물에서 30분에서 48시간까지 흡착시켰으며, 인공눈물의 pH에 따른 특성은 pH 6, 6.8, 7.4, 8.2, 9에서 24시간 동안 흡착시킨 후 정량하였다.

콘택트렌즈에 흡착된 단백질의 추출은 Keith D 등의 연구방법¹⁰⁾에 따라 진행하였다. 추출 용액은 acetonitrile과 0.2%의 trifluoroacetic acid를 1:1로 혼합하여 사용하였으며, 24시간 동안 추출하였다.

3) 단백질 정량 분석

콘택트렌즈에서 추출한 용액에 포함된 단백질은 HPLC

(LC-10AVP, Shimadzu, Japan)를 이용하여 정량하였다. 추출된 용액은 syringe filter(pore size 0.2 μm)로 여과한 후 주입하였으며, lysozyme은 VP-ODS column(4.6×250 mm, Shimadzu, Japan)을 이용하여 분리하였다. 이동상은 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile과 0.1% trifluoroacetic acid in water을 1:1 비율로 혼합한 용액을 사용하였으며, UV-detector(SPD-10A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 검출 파장 220 nm에서 측정하였다.

4) 단백질의 흡착 특성

시간에 따른 단백질 흡착량에 대한 결과를 추적하여 가장 적합한 속도식을 구한 다음 각각의 렌즈에서 라이소자임, 알부민이 평형상태에 도달하는 시간과 흡착량을 살펴 보았다. 실험실에서 제조한 실리콘하이드로겔 렌즈에서 시간에 따른 단백질의 흡착량을 측정한 다음 0차, 1차, 2차 적분 반응속도식에 적용하여 단백질 흡착에 대한 단백질의 농도 의존성을 살펴보았다.

5) 통계 분석

본 연구의 실험 결과는 SPSS 20.0 통계프로그램을 이용하여 분석하였다. 흡착시간에 따라 서로 다른 콘택트렌즈에서 나타나는 단백질 흡착량의 차이에 대한 유의성 여부는 one-way ANOVA 방법을 이용하였다. 인공눈물의 pH에 따라 단백질 흡착량의 비교는 paired t-test를 이용하였다. 통계적 유의성은 신뢰수준 95% 이상에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질의 분리

HPLC에 의해 분리된 라이소자임과 알부민의 peak를 Fig. 1에 나타내었다. 알부민은 2.16분, 라이소자임은 2.62분에 peak가 나타났다.

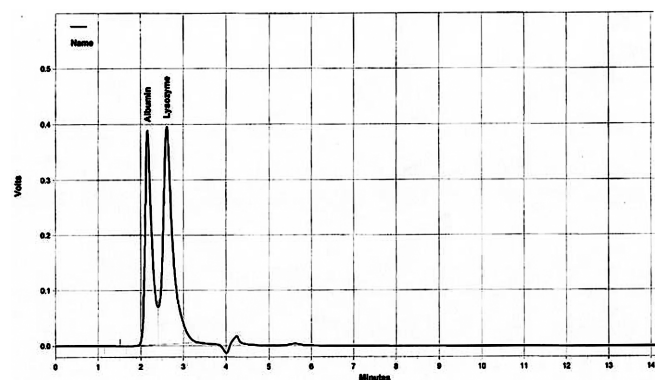


Fig. 1. Peak of separated lysozyme and albumin by HPLC.

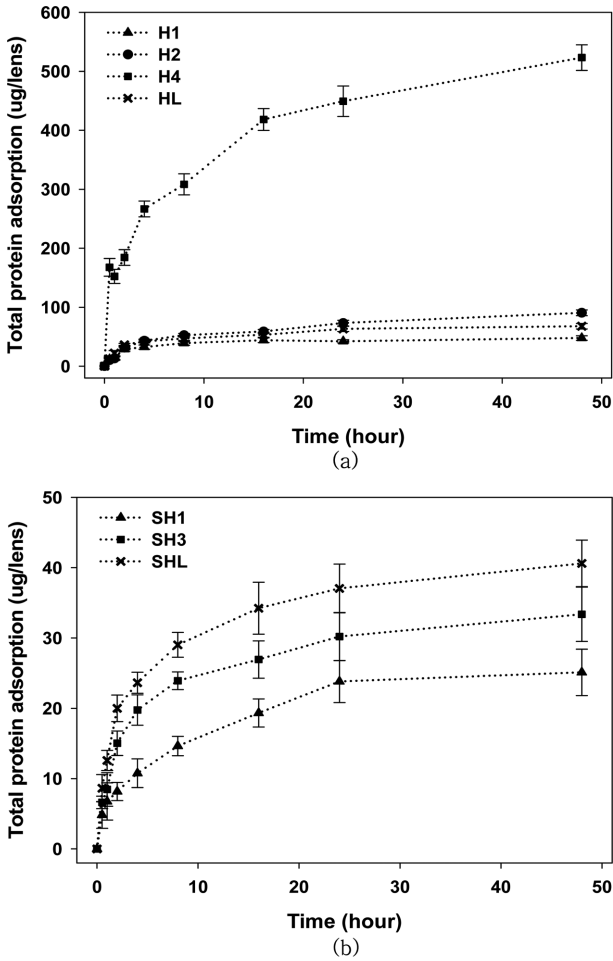


Fig. 2. Total amount of protein adsorbed on the contact lenses with time. (a) Hydrogel lens, (b) Silicone hydrogel lens

2. 흡착시간과 렌즈 종류에 따른 단백질의 흡착량

생리적인 pH(pH=7.4)에서 하이드로겔과 실리콘하이드로겔 콘택트렌즈에 흡착되는 라이소자임과 알부민의 양을 48시간 동안 추적하여 Fig. 2(a)와 (b)에 나타내었다.

라이소자임, 알부민 두 단백질에 대한 총 흡착량은 실리콘하이드로겔 렌즈에 비해 하이드로겔 렌즈에서 더 많았다. 하이드로겔 렌즈 중에 저함수 H1, HL 렌즈보다 고탍수 H2, H4 렌즈의 흡착량이 많았다. 실리콘하이드로겔 렌즈는 비이온성 SH1 렌즈보다 이온성 SH3 렌즈에서 흡착량이 많았으며, 실험실에서 제조한 SHL 렌즈에서 흡착량이 더 많았다. 이온성 고탍수의 H4 렌즈는 모든 흡착시간에서 다른 콘택트렌즈와 비교하여 흡착량이 많았으며, 이는 통계적으로도 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

시판용 1 day 콘택트렌즈를 기준으로 단백질 흡착량을 살펴보기 위해 생리적인 pH에서 각각의 렌즈에 24시간 동안 흡착된 라이소자임과 알부민의 양을 측정하여 Fig. 3에 나타내었다.

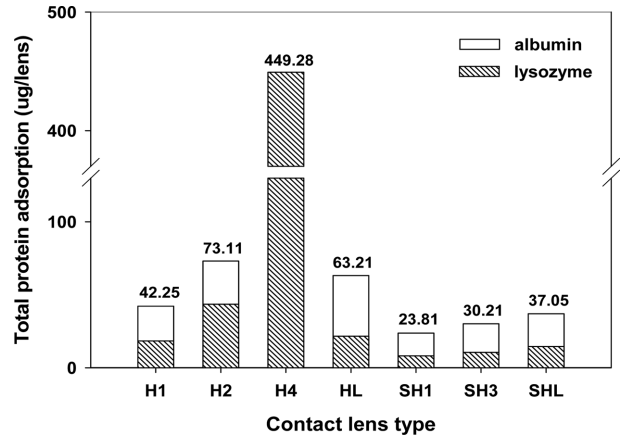


Fig. 3. Amount of lysozyme and albumin adsorbed on the contact lenses after 24 hours.

H4 렌즈를 제외한 모든 콘택트렌즈에서 라이소자임과 알부민의 흡착이 나타났으며, H4 렌즈에서는 라이소자임만 흡착되었음을 알 수 있었다. 또한, H2 렌즈와 H4 렌즈를 제외한 모든 콘택트렌즈에서 라이소자임보다 알부민의 흡착량이 많았으며, H2 렌즈와 H4 렌즈는 라이소자임의 흡착량이 많았다.

단백질은 amino acid로 구성되어 있으며, 양전하의 아민 그룹(-NH₂)과 음전하의 카르복시기(-COOH)으로 이루어져 있다. 콘택트렌즈는 구성하는 성분에 따라 표면에서 이온성을 갖게 되고, 렌즈 표면의 전하 형태와 양에 따라 단백질과 상호작용의 양상이 결정된다. 따라서 이온성 렌즈에서는 전하를 가지고 있는 단백질과 정전기적 인력이 증가하여 렌즈 표면에서 이온결합을 이루게 되면서 단백질의 흡착이 많은 것으로 생각된다.

콘택트렌즈의 흡수율은 사용하는 모노머 재료에 따라 많은 영향을 받게 되고 이를 높이기 위해 주로 사용되는 물질은 NVP, MAA 등이 있다. NVP는 pyrrolidone 부분에서 lactam group에 의해 극성을 띠게 되고, MAA는 carboxyl group에 의해 친수성과 이온성을 갖게 된다.^[11] 또한, 고탍수 렌즈에 사용되는 물질이 비이온성일지라도 고탍수 렌즈가 되기 위해서는 쌍극자 모멘트나 물분자와 수소결합 등을 유발할 수 있는 소제가 포함되어 있어야 한다. H4 렌즈를 구성하는 주요 모노머는 비이온성 HEMA(2-hydroxyethyl methacrylate)와 이온성 MAA(methacrylic acid)로 이루어져 있다. MAA는 생리적인 pH 7.4와 염기성에서 음이온성을 강하게 띠게 되며,^[11] 이에 따라 양전하의 라이소자임과 정전기적 인력이 크게 영향을 미치게 되어 라이소자임의 흡착이 가장 많게 나타난 것으로 생각된다. 또한, H4 렌즈에 음이온성 단백질인 알부민의 흡착이 이루어지지 않는 사실 역시 같은 이유로 설명할 수 있다.

Jone L 등의 연구^[16]에 의하면 콘택트렌즈의 흡수율은

단백질 흡착에 영향을 미치며, 함수율이 증가함에 따라 알부민의 흡착은 감소하고, 라이소자임의 흡착은 증가한다고 보고하였다. 콘택트렌즈에 알부민의 흡착 특성에 대한 연구 결과^[17]에 의하면 알부민은 라이소자임과 다르게 렌즈 표면의 음전하량이 높거나 고함수 친수성 렌즈에서 알부민 흡착이 최소화되며, 흡착량은 렌즈의 세공 크기 (pore size)와 눈물의 이온세기나 눈물 속 알부민 농도 등의 여러 가지 요인이 복합적으로 영향을 미친다고 보고되고 있다. 이와 같은 사실은 이온성 고함수의 H4 렌즈에서는 알부민이 전혀 흡착되지 않았으며, H2 렌즈에서는 알부민이 라이소자임에 비해 더 적게 흡착된 본 연구의 실험 결과와 일치한다. 따라서, H2 렌즈와 H4 렌즈를 제외한 모든 콘택트렌즈는 저함수 렌즈에 속하기 때문에 라이소자임에 비해 알부민의 흡착이 많게 나타난 것으로 생각된다.

실리콘하이드로겔 렌즈는 하이드로겔 렌즈보다 단백질의 흡착이 더 적게 나타났다. 콘택트렌즈는 모노머들의 중합에 의해 사슬 형태로 연결된 고분자 화합물이다. 이들 폴리머는 모노머의 구조 배열에 의해 일정한 크기의 구멍이 생기게 되고, 이에 따라 결정되는 고분자의 세공 크기 (pore size)가 단백질 흡착에 영향을 미치게 된다. 폴리머 사슬의 밀도는 중합방법에 따라 다르지만 일반적으로 하이드로겔 렌즈에 비해 실리콘하이드로겔 렌즈에서 더 높다. 일반적으로 세공 크기가 작은 콘택트렌즈는 단백질 흡착이 렌즈 표면에 국한되고, 세공이 큰 콘택트렌즈에서는 렌즈의 기질(matrix)까지 흡착이 이루어지게 되어, 동일한 조건에서는 세공 크기가 큰 렌즈에서 단백질 흡착이 더 많이 이루어지게 된다.^[18] 또한, 콘택트렌즈 재료나 제조공정에 따라 다소 차이가 있지만 실리콘하이드로겔 렌즈의 세공 크기는 55 Å 이하, 하이드로겔 렌즈는 55 Å 이상으로 보고되었다.^[18] 실리콘하이드로겔 렌즈에서 단백질 흡착이 적게 되는 결과는 이와 같이 렌즈의 세공 크기에 의한 영향을 주된 요인으로 해석할 수 있다.

3. 인공눈물 pH와 렌즈 종류에 따른 단백질의 흡착량

하이드로겔과 실리콘하이드로겔 콘택트렌즈에 24시간 동안 흡착되는 총 단백질의 양을 인공눈물의 pH에 따라 측정하여 Fig. 4(a)와 (b)에 각각 나타내었다.

모든 콘택트렌즈에서 pH가 증가할수록 라이소자임의 흡착량은 증가하고, 알부민의 흡착량은 감소하였다. 두 단백질에 대한 총 흡착량을 생리적인 pH 7.4에서 각각의 pH와 비교한 결과, H4 렌즈를 제외하고 실험에 사용한 모든 콘택트렌즈는 인공눈물의 pH에 따라 단백질 흡착량의 변화가 나타나지 않았다. H4 렌즈는 pH 7.4와 비교하여 pH 6, 6.8에서 단백질 흡착량은 큰 차이가 없었으며, pH

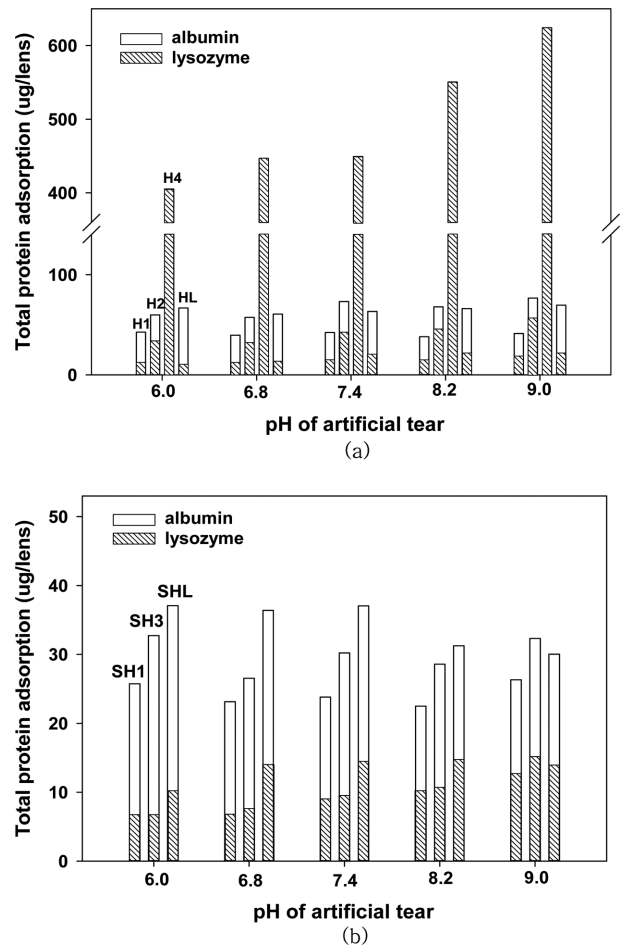


Fig. 4. Amount of lysozyme and albumin adsorbed on the contact lenses with pH of artificial tears. (a) Hydrogel lens, (b) Silicone hydrogel lens

8.2(p=0.044), pH 9(p=0.036)에서 단백질 흡착량이 크게 증가하였다. 단백질은 등전점(isoionic point)에서 최대의 흡착이 이루어지며,^[5] 라이소자임의 등전점은 pH 11.4, 알부민의 등전점은 pH 5.16으로 알려져 있다.^[18] H4 렌즈를 제외한 콘택트렌즈에서 pH가 증가함에 따라 등전점에 의해 두 단백질의 총 흡착량에 대한 pH의 영향은 나타나지 않은 것으로 생각된다. 전술한 바와 같이 라이소자임만이 흡착된 H4 렌즈는 라이소자임의 등전점에 가까운 pH 9에서 흡착량이 최대로 나타났다.

Garrett Q 등의 연구^[11]에서 MAA는 중성 혹은 염기성 pH에서 methacrylate와 수소 이온으로 해리될 수 있다고 하였다. 따라서 MAA는 생리적인 pH(pH=7.4)에서 음전하를 나타낸다. 또한, Luensmann D 등의 연구^[17]에 의하면 H4 렌즈에 흡착되는 단백질 중 라이소자임이 85~92%을 차지한다고 보고하였으며, Keith D 등의 연구^[10]에서도 라이소자임이 대부분 흡착되는 결과가 나왔다. 본 연구에서도 H4 렌즈에 라이소자임만이 흡착되고 알부민은 전혀 흡

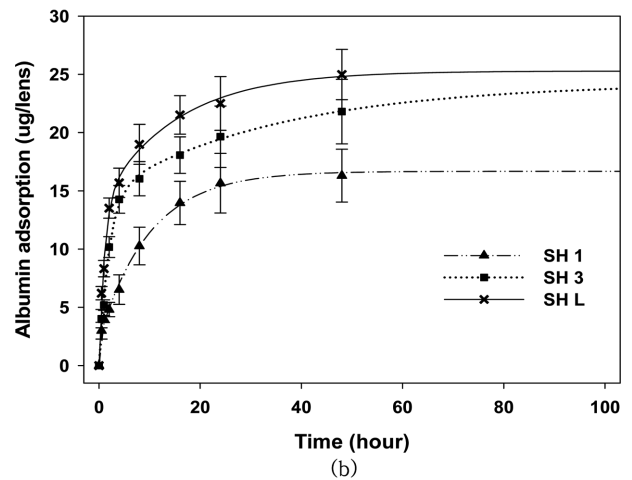
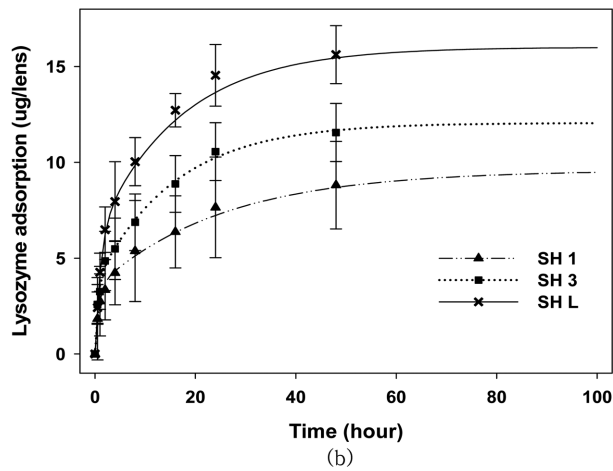
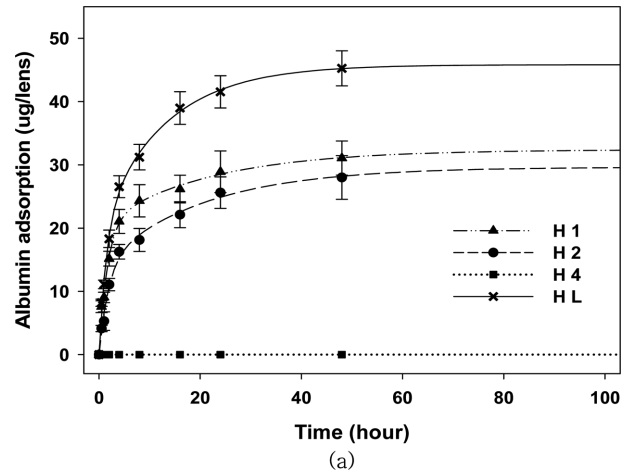
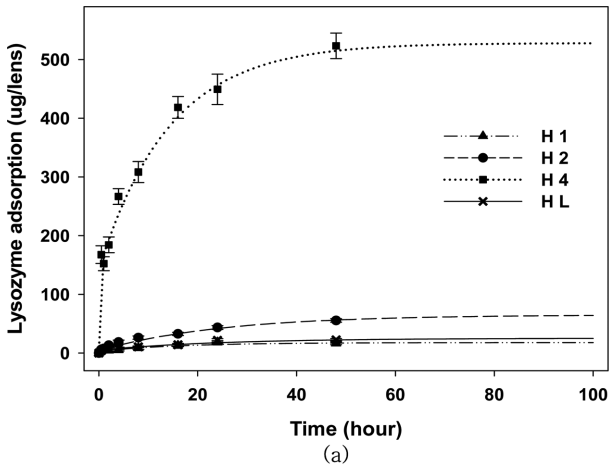


Fig. 5. Kinetics of lysozyme adsorption on the contact lenses. Symbols represent measured value and the lines are fitted to the regressed equation. (a) Hydrogel lens, (b) Silicone hydrogel lens

Fig. 6. Kinetics of albumin adsorption on the contact lenses. Symbols represent measured value and the lines are fitted to the regressed equation. (a) Hydrogel lens, (b) Silicone hydrogel lens

착이 되지 않았다. Lord MS 등의 연구^[19]에 의하면 양전하의 라이소자임은 음전하의 물질과 정전기적 힘에 의해 상호작용이 매우 활발하게 된다고 보고하였다. 따라서 음전하인 MAA와 양전하의 라이소자임 간의 정전기적 상호작용이 매우 높기 때문에, 이온성 H4 렌즈가 pH의 영향을 가장 많이 받은 것으로 생각된다.

4. 단백질의 흡착 특성

실험에 사용된 모든 콘택트렌즈에 대해 단백질의 흡착 특성을 살펴보기 위해 생리적인 pH 7.4에서 흡착시간에 따라 48시간 동안 측정된 흡착량과 회귀식에 적용한 결과를 라이소자임은 Fig. 5(a)와 (b), 알부민은 Fig. 6(a)와 (b)

Table 2. Amount of adsorbed lysozyme and the elapsed time to reach an equilibrium at each contact lens obtained from the regressed equation

Regression Fitted Equation	$f(x) = y_0 + a(1 - e^{-bx})$						
Lens type	H1	H2	H4	HL	SH1	SH3	SHL
Amount of adsorbed lysozyme at equilibrium (ug/lens)	17.9	65.2	583.0	25.3	9.6	14.1	16.0
Time to reach at equilibrium (hour)	175	218	201	208	288	279	242
a	14.6	61.1	386.0	20.13	6.46	6.10	12.06
b	0.06	0.04	0.07	0.04	0.07	0.05	0.12
R ²	0.99	0.99	0.97	0.98	0.98	0.97	0.98

Table 3. Amount of adsorbed albumin and the elapsed time to reach an equilibrium at each contact lens obtained from the regressed equation

Regression Fitted Equation	$f(x) = y_0 + a(1 - e^{-bx})$						
	H1	H2	H4	HL	SH1	SH3	SHL
Lens type							
Amount of adsorbed albumin at equilibrium ($\mu\text{g}/\text{lens}$)	32.39	29.62	-	45.82	16.68	24.12	25.28
Time to reach at equilibrium (hour)	134	143	-	138	147	150	156
a	26.61	24.12	-	39.13	14.98	19.11	20.64
b	0.33	0.19	-	0.21	0.12	0.31	0.34
R ²	0.98	0.98	-	0.99	0.99	0.98	0.98

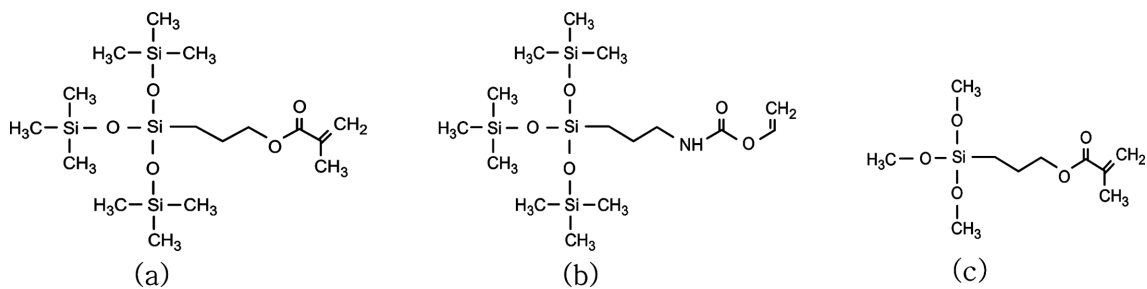


Fig. 7. Chemical structure of the silicone monomer used at each lens. (a) SH1 lens; TRIS(trimethylsiloxy silane), (b) SH3 lens; TPVC(tris-(trimethylsiloxy)silyl)propylvinyl carbamate), (c) SHL lens; TRIM(3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate)

에 나타내었다.

측정 결과에 대한 회귀모형과 회귀계수, 그리고 각각의 렌즈에서 평형상태 도달시간과 평형상태에서의 흡착량을 라이소자임은 Table 2, 알부민은 Table 3에 정리하였다.

회귀식에 대한 결정계수값(R²)은 모든 콘택트렌즈에서 0.97 이상으로 높게 나타나 회귀모형이 적합함을 확인할 수 있었으며, 이로부터 단백질의 흡착 거동이 렌즈의 종류에 따라 크게 다르지 않음을 알 수 있었다.

라이소자임과 알부민의 평형상태 도달시간은 하이드로겔 렌즈에 비해 실리콘하이드로겔 렌즈에서 더 오래 걸렸다. 라이소자임과 알부민은 비이온성 SH1 렌즈에 비해 이온성 SH3 렌즈에서 흡착량이 더 많았다. 라이소자임은 고함수에 속하는 H2, H4 렌즈에서, 알부민은 저함수에 속하는 H1, HL 렌즈에서 흡착량이 많이 나타났다. 이는 라이소자임과 알부민의 흡착 특성이 콘택트렌즈의 함수율에 크게 의존함을 제시한다.

제조한 실리콘하이드로겔 렌즈에서 두 단백질의 흡착량은 시판용 실리콘하이드로겔 렌즈에 비해 약간 많았다. Fig. 7에 각각의 렌즈에 사용된 실리콘 모노머의 화학적 구조를 나타내었다. 시판용 SH1, SH3 렌즈는 단위 실리콘 모노머 당 Si 원자가 4개 포함되어 있으며, 실험실에서 제조한 SHL 렌즈는 Si 원자가 1개 포함되어 있다. Si 원자는 d 궤도를 가지고 있어 C 원자에 비해 상대적으로 크기 때문에 p π -d π 상호작용이 가능하게 되고, 이에 따라 Si-

O-Si 사이각도 커지게 된다. HEMA를 기반으로 하는 콘택트렌즈는 HEMA가 반복적으로 배열됨에 따라 고분자 내에는 빈 공간이 형성하게 되고, 실리콘 모노머를 사용하는 실리콘하이드로겔 렌즈에서는 Si 원자들이 이 빈 공간을 채우게 된다. 실리콘하이드로겔 렌즈는 실리콘 모노머에 포함된 Si의 원자수가 많아짐에 따라 Si-O-Si 결합수가 증가하게 되고 폴리머 네트워크가 상대적으로 느슨해지면서 세공이 생성된다. 사용된 Si 모노머에 포함된 Si 원자수가 증가함에 따라 생성되는 세공의 크기가 다소 증가할 수는 있으나 거대 실리콘 모노머가 아닌 이상 그 변화는 아주 미미하며, 오히려 Si의 원자수가 증가함에 따라 소수성이 크게 증가하여 친수성 단백질의 흡착이 감소하게 된다. 따라서 제조한 실리콘하이드로겔 렌즈에 비해 시판용 실리콘하이드로겔 렌즈에서 단백질의 흡착이 적게 나타난 것으로 생각된다.

실험실에서 제조한 SHL 렌즈에 대해 단백질 흡착의 농도의존성을 살펴보기 위해 시간에 따라 흡착량의 결과를 대표적인

$$0\text{차 } ([A]_0 - [A] = kt), 1\text{차 } (\ln \frac{[A]_0}{[A]} = kt), 2\text{차}, \left(\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = kt \right)$$

적분 반응속도식([A]₀:초기 단백질 농도, [A]:임의 시간에서 단백질 농도, k:속도 상수, t:흡착시간)에 적용하여, 라이소자임은 Fig. 8, 알부민은 Fig. 9에 각각 나타내었다. 라이소자임과 알부민의 흡착은 0차, 1차, 2차에 대한 적분

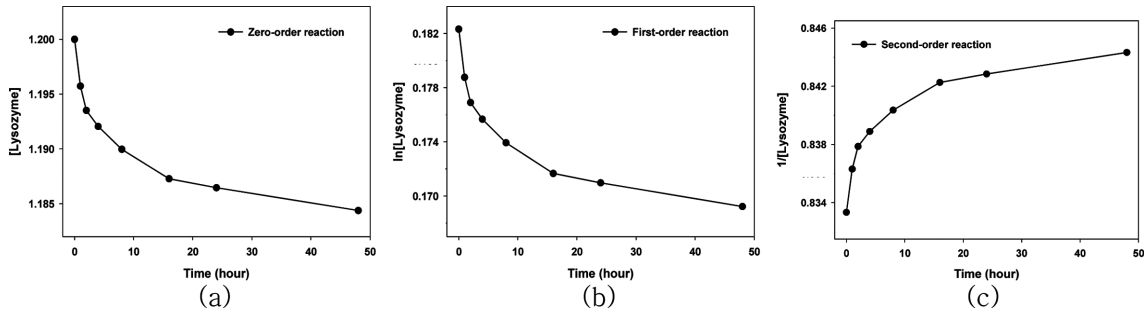


Fig. 8. Reaction rate of lysozyme adsorption on SHL. (a) Zero-order reaction, (b) First-order reaction, (c) Second-order reaction

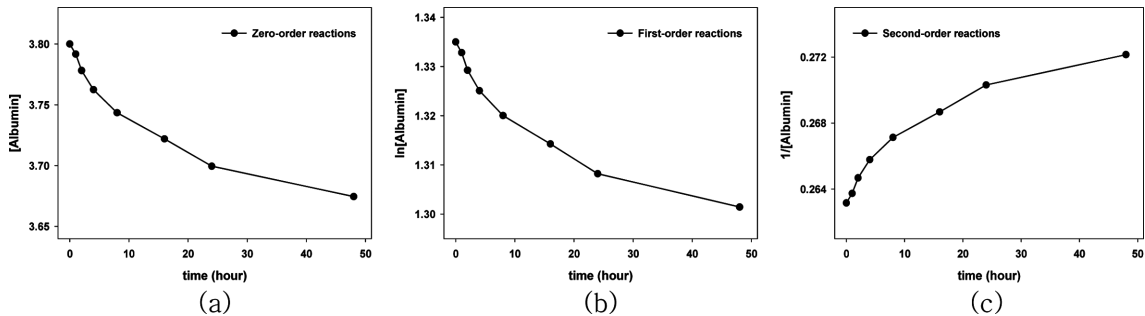


Fig. 9. Reaction rate of albumin adsorption on SHL. (a) Zero-order reaction, (b) First-order reaction, (c) Second-order reaction

반응속도식에 맞지 않았으며, 향후 단백질의 초기 농도에 따른 흡착량 변화에 대한 연구실험이 추가로 요구된다.

결론

FDA 기준에 의해 분류된 시판용 콘택트렌즈와 실험실에서 제조한 콘택트렌즈의 물리화학적 특성에 따라 라이소자임과 알부민의 흡착 특성을 살펴보고, 시판용 콘택트렌즈에서 얻어진 단백질의 흡착 특성과 사용된 실리콘 모노머의 화학적 구조와 연계하여 살펴보았다.

콘택트렌즈에 흡착되는 단백질은 실리콘하이드로겔 렌즈에 비해 하이드로겔 렌즈에서 흡착량이 많았다. 라이소자임과 알부민은 콘택트렌즈의 함수율, 이온성에 따라 단백질의 흡착 특성이 다르게 나타났다. 라이소자임은 고풍수 렌즈에서, 알부민은 저함수 렌즈에서 흡착이 많았다. 또한, 라이소자임, 알부민 모두 이온성 렌즈에서 흡착이 많이 일어나는 것으로 나타났다.

인공눈물의 pH에 따른 두 단백질의 흡착량이 각 단백질의 등전점에 가까워질수록 많아지는 사실로부터 콘택트렌즈에 단백질 흡착은 두 물질간 정전기적 인력에 가장 크게 영향 받는다는 것을 확인할 수 있었다. 실리콘하이드로겔 렌즈보다는 하이드로겔 렌즈에서 두 단백질의 흡착량이 많고, 단위 모노머 당 Si 원자 수가 많은 실리콘 모노머를 사용한 실리콘하이드로겔 렌즈의 함수율이 낮으며, 친수성 단백질의 흡착량이 낮게 나타난 결과로부터 실리

콘하이드로겔 렌즈에서 단백질의 흡착은 렌즈의 극성뿐만 아니라 실리콘 모노머에 포함된 Si 원자수와 그 화학적 구조에 의해 결정되는 세공의 크기 등이 함께 고려되어야 한다.

REFERENCES

- [1] Pedley DG, Skelly PJ, Tighe BJ. Hydrogels in biomedical applications. *Br Polymer J.* 1980;12(3):99-110.
- [2] Jones L, Dumbleton K. Silicone hydrogel contact lenses: part 1 evolution and current status. *Optometry Today.* 2002; 42(1):26-31.
- [3] Phillips AJ, Speedwell L. *Contact lenses*, 5th Ed. New York: Butterworth-Heinemann. 2006;63-77.
- [4] Subbaraman LN, Glasier MA, Senchyna M, Sheardown H, Jones L. Kinetics of in vitro lysozyme deposition on silicone hydrogel, PMMA, and FDA groups I, II, and IV contact lens materials. *Curr Eye Res.* 2006;31(10):787-796.
- [5] Park MJ, Kwon MJ, Hyun SH, Kim DS. The adsorption pattern of protein to the soft contact lens and its effect on the visible light transmission and the contact angle. *J Korean Oph Soc.* 2004;9(1):53-68.
- [6] Choi JY, Park JS, Kim SR, Park MJ. The change in refractive powers of soft contact lenses caused by the deposition of tear proteins. *J Korean Oph Opt Soc.* 2011; 16(4):383-390.
- [7] Park MJ, Cho GT, Shin SH, Lee HS, Kim DS. The diameter and base curve changes of soft contact lens by protein

- deposition. *J Korean Oph Opt Soc.* 2005;10(3):165-171.
- [8] Subbaraman LN. Protein deposition and bacterial adhesion to conventional and silicone hydrogel contact lens materials. PhD Thesis. Waterloo University, Canada. 2009; 39-45.
- [9] Green-Church KB, Nichols KK, Kleinholz NM, Zhang L, Nichols JJ. Investigation of the human tear film proteome using multiple proteomic approaches. *Mol Vis.* 2008; 14(1):456-470.
- [10] Keith D, Hong B, Christensen M. A novel procedure for the extraction of protein deposits from soft hydrophilic contact lenses for analysis. *Curr Eye Res.* 1997;16(5): 503-510.
- [11] Garrett Q, Laycock B, Garrett RW. Hydrogel lens monomer constituents modulate protein sorption. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(7):1687-1695.
- [12] Senchyna M, Jones L, Louie D, May C, Forbes I, Glasier M. Quantitative and conformational characterization of lysozyme deposited on balafilcon and etafilcon contact lens materials. *Curr Eye Res.* 2004;28(1):25-36.
- [13] Richard NR, Anderson JA, Tasevska ZG, Binder PS. Evaluation of tear protein deposits on contact lenses from patients with and without giant papillary conjunctivitis. 1992;18(3):143-147.
- [14] Li L, Wang JH, Xin Z. Synthesis and biocompatibility of a novel silicone hydrogel containing phosphorylcholine. *European Polymer Journal.* 2011;47(9):1795-1803.
- [15] Ju EH, Sung AY, Oh SJ, Lee KJ. The effect of protein deposit on the water content, oxygen transmissibility and contact angle of the soft contact lens. *Korean J Vis Sci.* 2010;12(4):291-302.
- [16] Jones L, Mann A, Evans K, Franklin V, Tighe B. An in vivo comparison of the kinetics of protein and lipid deposition on group II and group IV frequent-replacement contact lenses. *Optom Vis Sci.* 2000;77(10):503-510.
- [17] Luensmann D, Jones L. Protein deposition on contact lenses: the past, the present, and the future. *Contact lens & Anterior eye.* 2012;35(2):53-64.
- [18] Luensmann D, Jones L. Albumin adsorption to contact lens materials: a review. *Contact lens & Anterior eye.* 2008;31(4):179-187.
- [19] Lord MS, Stenzel MH, Simmons A, Milthorpe BK. The effect of charged groups on protein interaction with poly(HEMA) hydrogels. *Biomaterials.* 2006;27(4):567-575.
- [20] Karlgard CCS, Sarkar DK, Jones LW, Moresoli C, Leung KT. Drying methods for XPS analysis of purevision, focus Night&Day and conventional hydrogel contact lenses. *App Sur Sci.* 2004;230(1-4):106-114.

Adsorption Properties of the Lysozyme and Albumin with Physicochemical Properties of the Contact Lens

Yu-Jin Sung, Geun-Chang Ryu, and Jin Jun*

Dept. of Optometry and Optic Science, Dongshin University, Naju 520-714, Korea
(Received May 20, 2013; Revised August 16, 2013; Accepted September 14, 2013)

Purpose: Adsorption properties of lysozyme and albumin according to physicochemical properties of commercial contact lens classified with the FDA categories and a contact lens fabricated in the laboratory were investigated. **Methods:** The contact lens were prepared using HEMA(2-hydroxyethyl methacrylate) and TRIM(3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate) in a cast mold. Artificial tears containing lysozyme and albumin were prepared. We measured the amounts of protein adsorbed on the each lenses with varying adsorbed time (48 hour) and the pH range (6, 6.8, 7.4, 8.2, 9) of artificial tear. Amount of the proteins absorbed on the contact lenses were measured by using HPLC. **Results:** Time to reach the equilibrium of protein adsorption for silicone hydrogel lens was taken longer than hydrogel lens. The amount of adsorbed both lysozyme and albumin at equilibrium were greater for the hydrogel lens than the silicone hydrogel lens, and larger for the ionic lens than the non-ionic lens. Lysozyme was more adsorbed on the higher water content of contact lens, whereas albumin was more adsorbed on the lower water content of contact lens. Only lysozyme was adsorbed on the Group IV hydrogel lens of ionic higher water content. The adsorption of protein on contact lens increased with pH of artificial tears as close to the isoelectric point of each protein. **Conclusions:** The adsorption amount of lysozyme is more affected by the ionic strength of the contact lens surface than the water content of contact lens. Albumin adsorption is more affected by water content than the ionic strength of the contact lens surface. For the adsorption of proteins on the silicone hydrogel lens, the pore size, determined both by the number of Si atoms and the chemical structure of the silicone-containing monomers, as well as the polarity of contact lens should be also considered.

Key words: Contact lens, Protein adsorption, Lysozyme, Albumin, Artificial tear, Silicone hydrogel