(생물분리정제)

1. 고성능 액체크로마토그래피를 이용하여 단백질을 분리한다. 실험 결과 두 단백질에 대한 capacity factor는 각각 k1=0.8, k2=1.1이었다. 다음과 같은 조건을 바탕으로 두 단백질이 완전히 분리 될 수 있는지 분해도(R*N*)를 구하여 설명하시오(40점). HETP(heights equivalent to a theoretical plate) = A + Bu (A = 6.2 × 10-5 m, B = 1.13 s, u = 유체의 속도(m/s))이며, 컬럼의 조작 조건은 다음과 같다. 컬럼의 길이 = 0.6 m, 유체의 속도 = 2.17 × 10-4 m/s, 컬럼의 내경 = 7.5 × 10-3 m, 시료의 부피 = 0.1 × 10-6 m3

(정답) Capacitor factor의 비는 상대적 체류시간을 의미하며 δ = k2/k1 = 1.1/0.8 = 1.37이다.

HETP = 6.2 × 10-5 + (1.13)(2.17 × 10-4 m) = 3.07 × 10-4 (m)이므로 이론단수 Np = L/HETP =0.6/(3.07 × 10-4) = 1,954이다. (/15점)

따라서 R*N* = (1/4)( = 1/4( = 1.56이다. 그러므로 두 단백질은 완전히 분리 될 수 있다. (/25점)

2. 생물공정에 쓰이는 크로마토그래피에 대하여 다음을 설명하시오.

(a) 대표적인 크로마토그래피 4종류에 무엇인가(20점)?

(b) 이 4가지 크로마토그래피 중 물질 분리의 방식이 다른 크로마토그래피와 근본적으로 다른 크로마토그래피를 고르고, 그 이유를 간단히 설명하시오(20점).

(c) 크로마토그래피법을 이용하여 단백질을 분리정제 할 때 단백질의 등전점(pI)에 가장 많은 영향을 받는 방법과 그 이유에 대해서 설명하시오(20점).

(정답)

(a) 1) Ion-exchange chromatography, 2) Gel filtration chromatography, 3) Hydrophobic Interaction chromatography, 4) Affinity chromatography

(b) Gel filtration chromatography 는 단백질의 분자량(크기)에 따른 분리 방법이고, 나머지 세 개는 affinity(친화도)를 이용한 분리 방법이다.

(c) Ion-exchange chromatography이며 단백질과 결합하는 원리가 정전기력이므로 pI 보다 높거나 낮은 pH의 버퍼를 사용하여야만 단백질의 침전 없이 정제를 할 수 있다. pI 보다 높은 pH에서 정제를 하게 되면 음이온교환수지를 반대로 낮은 pH에서 정제하게 되면 양이온교환수지를 사용하게 된다.