

2005. 7. 2 (토)

한국화학공학회 생물화공부문위원회 주최

LG 생명과학 후원

제6회 LG 생물화공 경시대회 시험문제

다음 Group I ~ V 중 4 개의 분야 문제를 택하여 답하시오.
(배점: 각 분야당 100점)

- Group I : 분자생물학 분야
- Group II : 응용미생물학 분야
- Group III : 효소공학 분야
- Group IV : 배양 및 생물공정 분야
- Group V : 생물분리정제 분야

Group 1. 분자생물학 분야

1. PCR (Polymerase Chain Reaction)에 관하여:(50점)

- 1-1. 아래 5'-3' DNA 에 대하여 주어진 primers를 사용했을 때 나오는 PCR 주 생성물 (major product) 의 유전자 염기서열 (DNA sequence) 은 무엇인가?

5' ATGCGTTAACGCGTAATGGCCTAATCTATGTAGCGCGAA

AATGCGCTTCCAGCCAGAGTCTCGGAAGTAGCCTTATGA 3'

with primers: 5' TTCCAGCC 3' 3' CGGAATAC 5'

- 1-2. 아래 염기서열로 주어진 유전자에 대하여 3번째 사이클까지 각 사이클에서 나타나는 생성물은 무엇들인가?

5' TACGACCCGGTGTCAAAG3'

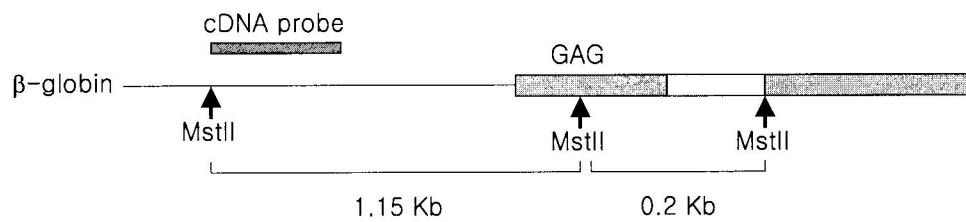
Primer set: 5'CGACC3' 3'AGTTT5'

1st round:

2nd round:

3rd round:

2. Genetic diseases를 진단할 수 있는 분자생물학적 방법 중 Restriction enzyme 방법과 Southern blot analysis를 적용하여 Sick cell anemia를 간단히 진단하는 과정을 아래 그림을 보고 설명하시오. (Sick cell anemia는 point mutation 에 의해 glutamic acid(GAG)가 valine(GUG)으로 변환된 헤모글로빈을 합성. *MstII* restriction enzyme 의 절단 site는 : 5'-C-C-T-N-A-G-G-3' 이다) (50 점)



Group II. 응용미생물학 분야

1. Human growth hormone (hGH) 유전자를 가지고 있는 두 종류의 플라스미드 (PI와 PII)와 특성이 다른 2 종류의 *E. coli* 균주 (ECI과 ECII)가 있다. 두 플라스미드로 두 *E. coli*를 형질 전환하여 다음 4 종류의 재조합 *E. coli* 균주를 제조하였다. (50 점)

ECI/PI : *E. coli* ECI strain carrying the PI plasmid

ECI/PII : *E. coli* ECI strain carrying the PII plasmid

ECII/PI : *E. coli* ECII carrying the PI plasmid

ECII/PII : *E. coli* ECII carrying the PII plasmid

이 4 종류의 재조합 *E. coli*를 다양한 조건에서 배양한 후 Human growth hormone 이 발현되는 지를 조사하여 다음 표와 같은 결과를 얻었다.

	condition		
	Glucose / IPTG / 30°C	Glucose / Nothing / 40°C	Glucose / IPTG / 30°C
ECI/PI	no	yes	no
ECI/PII	yes	no	yes
ECII/PI	yes	yes	yes
ECII/PII	yes	no	yes

Yes, hGH expressed ; No, hGH not expressed.

각 균주와 플라스미드의 유전적 특성을 hGH 유전자 발현의 관점에서 설명하시오. (T7 promoter는 사용되지 않았음. 플라스미드 안정성은 고려하지 않음)

2. DNA의 오류를 복구하지 못하여 유도되는 돌연변이(mutation)는, 경우에 따라 역돌연변이(back mutation) 또는 복귀 (reversion)이라는 기작으로 원래의 표현형이 회복되기도 한다. 가령, 100개의 아미노산으로 구성된 가상의 효소 X가 존재하고, 이 효소의 활성화에 가장 중요한 요소가 20번째의 glutamate와 80번째의 lysine과의 ionic interaction 이라고 가정하고, 20번째의 glutamate에 해당하는 유전자의 코돈(GAA) 부분에 돌연변이가 생겨 arginine의 코돈 (AAA)로 치환된 돌연변이 효소 Y가 만들어 졌다면,(50점)

a) GAA에서 AAA로의 돌연변이와 같이, 특정 purine 염기 하나가 다른 종류의 purine 염기로 치환되는 돌연변이를 무엇이라 하는가?

b)돌연변이 효소 Y에 유도된 20번째 arginine 코돈의 같은 자리에 back mutation이 발생하여, 원래 효소 X의 활성화 대부분이 회복하였다면, 이 복귀주 (revertant)의 20번째에 존재 할 수 있는 2가지 아미노산은 무엇인가?

c) 돌연변이 효소 Y의 80번째 lysine 코돈에서 second-site mutation에 의해서 효소 X의 활성화가 회복되었다면, 이 복귀주 (revertant)의 80번째에 존재할 수 있는 2가지 아미노산은 무엇인가?

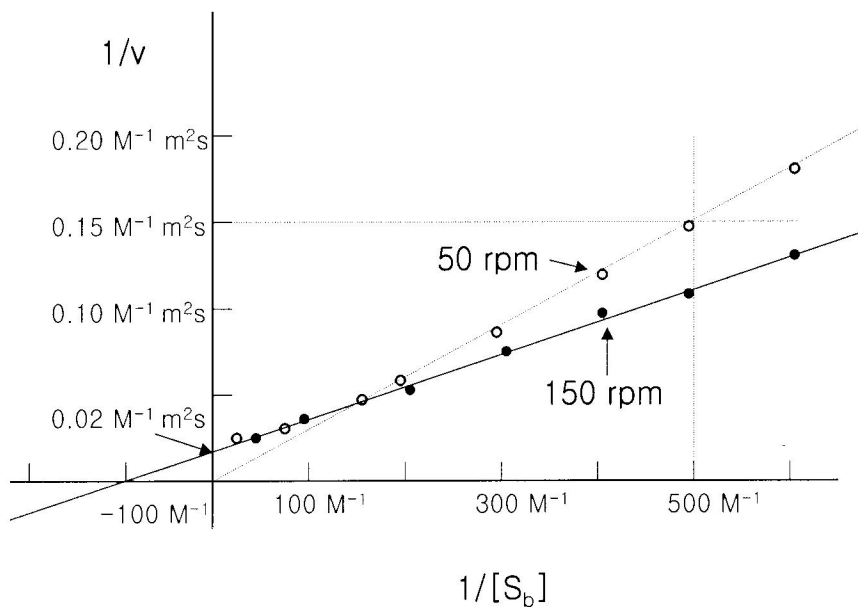
Group III. 효소공학 분야

1. 기공이 없는 (nonporous) 고체입자의 표면에 효소를 고정화 한 후, 이 고정화효소를 50 rpm 과 150 rpm에서 교반하면서 각각 초기 반응속도를 측정하였다. 이 실험결과를 이용해서 고정화 효소의 단위 표면적 당 초기반응속도 v ($M\ m^{-2}s^{-1}$)와 용액 중 기질의 농도 (bulk concentration), $[S_b](M)$ 와의 관계를 Lineweaver-Burk plot에 나타내면 아래 그림과 같다: 150 rpm에서의 반응실험 결과는 직선이 되었으며, 50 rpm에서의 측정결과는 $[S_b]$ 값이 낮을 경우 곡선이 되었다. 이 실험결과를 이용해서 아래의 질문에 답하시오.(60점)

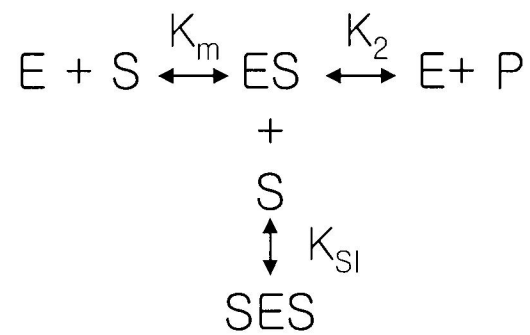
(1) 교반속도가 50 rpm일 때, $[S_b]$ 값이 낮을 경우 Lineweaver-Burk plot에서 곡선이 된 이유는 무엇인가?

(2) 이 고정화 효소의 intrinsic parameter, V_{max} ($M\ m^{-2}s^{-1}$)와 K_m (M) 값을 구하시오.

(3) 교반속도가 50 rpm일 경우 liquid mass transfer coefficient k_L ($m^{-2}s^{-1}$)의 값을 구하시오. 용액과 고정화효소 표면 사이의 물질전달속도 J_s ($M\ m^{-2}s^{-1}$)는 다음식으로 표현된다. $J_s = k_L ([S_b] - [S_s])$. 여기에서 $[S_s]$ 는 고정화효소 표면에서 기질의 농도이다.



2. 기질의 농도가 높은 경우에는 기질저해반응이 일어난다. 기질저해반응의 형태가 다음과 같을 때 빠른 가정 평형으로 속도식을 구하고, 최대반응속도를 갖는 기질의 농도식을 유도하고, $K_m = 0.1 \text{ g/L}$, $K_{SI} = 1000 \text{ g/L}$ 일때 기질의 농도를 구하라. (40 점)



Group IV. 배양 및 생물공정 분야

1. 다음의 특성을 가진 미생물을 chemostat culture할 때 다음에 답하라.
(70점)

$$\mu_{net} = \mu_g - k_d = \frac{\mu_{max} S}{K_S + S} - k_d$$

$$\mu_{max} = 0.3 \text{ h}^{-1}; K_S = 0.2 \text{ g L}^{-1}; k_d = 0.01 \text{ h}^{-1}; Y_{X/S}^M = 0.06 \text{ g g}^{-1}$$

$$Y_{P/S} = 0.46 \text{ g g}^{-1} q_P = 3.4 \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}; S_o = 12 \text{ g L}^{-1}; X_o = 0 \text{ g L}^{-1}$$

$$P_o = 0 \text{ g L}^{-1}; V = 60 \text{ m}^3; F = 6 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$$

(1) 균체에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 기질 농도(S)를 계산하라.

(2) 기질에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 세포 농도(X)를 계산하라.

(3) 생산물에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 생산물 농도(P)를 계산하라.

2. Show that a chemostat can be operated at dilution rates higher than the specific growth rate when cell recycle is used.(30 점)

Group IV. 배양 및 생물공정 분야

1. 다음의 특성을 가진 미생물을 chemostat culture할 때 다음에 답하라.
(70점)

$$\mu_{net} = \mu_g - k_d = \frac{\mu_{max} S}{K_S + S} - k_d$$

$$\mu_{max} = 0.3 \text{ h}^{-1}; K_S = 0.2 \text{ g L}^{-1}; k_d = 0.01 \text{ h}^{-1}; Y_{X/S}^M = 0.06 \text{ g g}^{-1}$$

$$Y_{P/S} = 0.46 \text{ g g}^{-1} q_P = 3.4 \text{ g g}^{-1} \text{ h}^{-1}; S_o = 12 \text{ g L}^{-1}; X_o = 0 \text{ g L}^{-1}$$

$$P_o = 0 \text{ g L}^{-1}; V = 60 \text{ m}^3; F = 6 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$$

(1) 균체에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 기질 농도(S)를 계산하라.

(2) 기질에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 세포 농도(X)를 계산하라.

(3) 생산물에 대한 물질수지식을 세우고, 유출수의 생산물 농도(P)를 계산하라.

2. Show that a chemostat can be operated at dilution rates higher than the specific growth rate when cell recycle is used.(30 점)

Group V. 생물분리정제 분야

1. 막분리 장치를 이용하여 용액 중의 분자량이 200인 용질을 농축하려고 한다. 막의 세공(pore)이 분자크기에 비해 충분히 작으므로 이 물질은 거의 완전히 배제되는 편이며 삼투압이 작용한다. 유입되는 feed 중의 용질 농도는 2 g/L 이고 용매의 막투과상수는 $7.4 \times 10^{-2} \text{ cm/h} \cdot \text{kPa}$ 이다. 이 장치로 운전 온도 20°C에서 $20 \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ 이상의 여과 flux를 얻으려고 한다. (60점)

[1] 여과 초기에 작용하는 삼투압의 크기[kPa]를 구하라. 기체상수 R은 $8.314 \text{ L} \cdot \text{kPa}/\text{mol} \cdot \text{K}$ 이다.

[2] 여과를 수행하기 위하여 필요한 최소 운전압력[kPa]을 구하라. 단, 여과가 진행되면서 용질이 농축됨에 따른 영향은 무시한다.

[3] 시간당 100 L를 여과해야 한다면 위의 flux를 얻기 위하여 요구되는 막의 면적[cm^2]을 구하라

2. 크로마토그래피를 이용한 정제 공정에서 내경 50mm, 길이 500mm의 column에서 1회 주입량을 1g, 분리시간이 30min, 유량이 50mL/min이라고 가정하면, 내경 450mm, 길이 900mm인 column으로 scale-up 될 경우 다음을 각각 계산하시오(40 점).

(1) 1회 주입량

(2) 유량

(3) (2)번에서 구한 유량을 유지할 경우 분리시간은?

2005. 7. 2(토)

한국화학공학회 생물화공부문위원회 주최

LG 생명과학 후원

제6회 LG 생물화공 경시대회 시험문제 해답

다음 Group I ~ V 중 4 개의 분야 문제를 택하여 답하시오.
(배점: 각 분야당 100점)

- Group I : 분자생물학 분야
- Group II : 응용미생물학 분야
- Group III : 효소공학 분야
- Group IV : 배양 및 생물공정 분야
- Group V : 생물분리정제 분야

Group I. 분자생물학 분야

1번(50점)

I. PCR(Polymerase Chain Reaction)에 관하여:

I-1. 아래 5'-3' DNA 에 대하여 주어진 primers를 사용했을 때 나오는 PCR 주 생성물 (major product) 의 유전자 염기서열 (DNA sequence) 은 무엇인가? (20 pt.)

5'ATGCGTTAACGCGTAATGGCCTAATCTATGTAGCGCGAA

AATGCGCTTCCAGCCAGAGTCTCGGAACTAGCCTTATGA 3'

AAGGTCGGTCTCAGAGCCTTGATCGGAATACT

with primers: 5' TTCCAGCC 3' 3' CGGAATAC 5'

채점기준) 1) 상보적 염기서열 (3'-5')을 작성하고

2) 5'TTCCAGCC3' 프라이머는 3' 5' 방향의 염기서열 유전자에 위치를 찾아서 붙게 하고, 3'CGGAATAC5' 프라이머는 5' 3' 방향의 염기서열 유전자에 붙게 위치한후

3) 두 프라이머 염기서열을 포함하여 두 프라이머 사이 염기서열을 포함하는 것이 주 생성물 (32 bp) 임.

I-2. 아래 염기서열로 주어진 double strand 유전자에 1개에 대하여 3번째 사이클까지 각 사이클에서 나타나는 생성물은 무엇들인가? (30 pt)

5'TACGACCCGGTGTCAAAG3'

Primer set: 5'CGACC3'

3'AGTTT5'

1st round:

2nd round:

3rd round:

채점기준) 1) 3'-5'의 상보적 염기서열을 먼저 작성하고

2) 두개의 각 프라이머를 상보적 위치에 붙인후에

3) 첫번째 사이클 유전자 합성반응을 해서 얻어지는 염기서열 4개 (2쌍) (original 2개 포함)

4) 이 염기서열 4개에 대하여 다시 각 프라이머를 상보적인 위치에 붙여서 두번째 사이클 유전자 합성반응을 통해서 얻어지는 염기서열 8개 (4쌍) (original 2개 포함)

5) 다시 각 프라이머를 염기서열 8개에 대하여 불인후에 3번째 사이클 유전자 합성반응을 통하여 나타나는 염기서열 16개 (8쌍) (original 2개 포함)

2번(50점)

Sickle cell anemia

Sickle cell anemia는 헤모글로빈의 유전자가 (chromosome 11) 변질되어 적혈구의 헤모글로빈 분자 중에서 β -globin chain의 6번째 amino acid인 glutamic acid(GAG)가 valine(GUG)으로 바뀐 헤모글로빈이 합성되고, 그 결과로 적혈구가 낫모양으로 변하면서 악성 빈혈증을 일으키는 병이다. 이 변형된 적혈구는 혈관을 막아 물질 수송을 방해하고 적혈구 세포내 산소 함량이 낮아 조직내 산소가 결핍된다.

직접적으로 Genetic diseases를 진단할 수 있는 분자생물학적 접근 방법은

- (1) Restriction enzyme
- (2) Oligonucleotide and Southern blot
- (3) PCR analysis와 DNA sequencing analysis 등이다

첫째, Sickle cell hemoglobin의 mutation 은 제한효소 분해방법을 이용하여 간단히 확인해 볼 수 있다.

MstII restriction enzyme 의 절단 site는 : 5'-C-C-T-N-A-G-G-3' 이다.

beta-globin gene	DNA Sequence at Positions 5 - 7	MstII Action
MstII Site	-C-C-T-N-A-G-G-	
HbA	CCT - GAG - GAG	restrict (절단)
HbS	CCT - GTG - GAG	ignore (절단 안됨)

따라서 정상적인 beta-globin 유전자는 MstII로 절단될 것이고 mutant 유전자는 이들 제한효소가 인지하는 DNA sequence가 달라지기 때문에 절단하지 못한다.

둘째, 또한 아래 그림에서 보는 것과 같이 특정 cDNA probe를 이용하여 southern blot analysis통해 DNA fragment의 size를 비교함으로써 sickle cell

Group II. 응용미생물학 분야

1번 (50점)

PI 플라스미드

특성 : hGH 유전자 앞에 P_L promoter를 가지고 있음, cI repressor (cI857) 유전자는 없음

이유 : 만일 PI 플라스미드에 cI repressor가 포함되어 있다면, ECII/PI의 경우 30°C에서는 발현이 되지 않아야 함

PII 플라스미드

특성 : hGH 유전자 앞에 tac (혹은, 동일한 조절기작을 가진) promoter를 가지고 있음. 단, lac promoter는 아님. lacI^Q 유전자를 가지고 있음

이유 : PII 플라스미드를 가진 균주는 IPTG 존재 시에만 hGH 발현. 그런데, 이 promoter는 glucose에 의해 repression이 되지 않음. 따라서, 적어도 lac promoter는 아님

ECI 균주

특성 : 온도감수성 cI repressor (cI857) 유전자를 크로모솜에 가지고 있음

이유 : PI 플라스미드에 cI repressor가 없으면 온도와 상관없이 hGH가 발현되어야 하나 40 °C에서만 발현된다는 것은 숙주인 ECI이 cI repressor를 만들기 때문임.

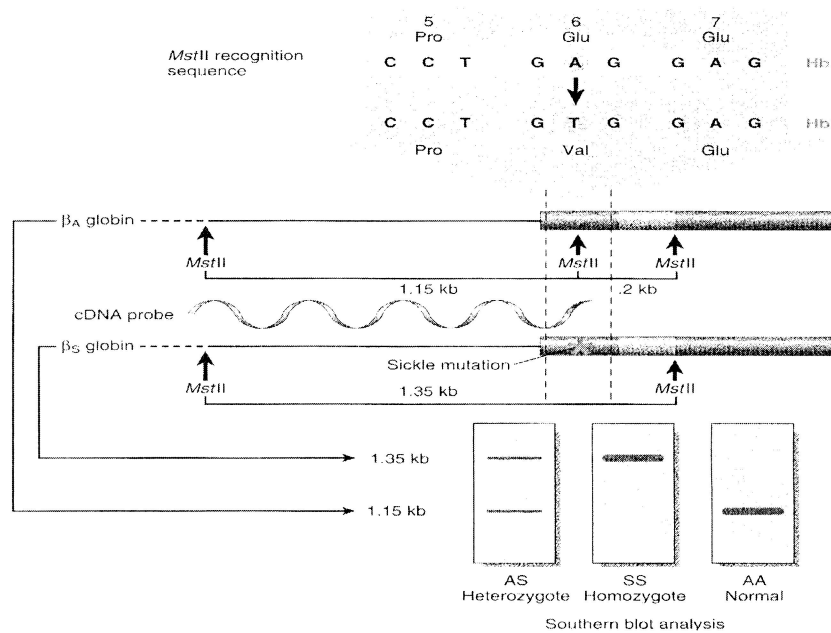
2번 (50점)

a) transition

b) aspartate와 glutamate

c) aspartate와 glutamate

anemia를 진단할 수 있다. 간단히 설명하면 먼저 환자로부터 genomic DNA를 분리한다. 이들 DNA를 MstII로 절단하고 agarose gel에 전기영동 후 membrane에 transfer한다. 아래 cDNA 단편을 P³² labelling 하고 membrane과 hybridization 하여 x-ray film상에서 비교해보면 정상적인 beta-globin 유전자를 MstII로 절단한 DNA상에서는 1.15kb single band를 얻을 수 있다. 반면 mutant beta-globin 유전자는 이들 제한효소가 인지 못하는 DNA sequence를 가지고 있기 때문에 1.35kb DNA fragment가 나타난다. 따라서 정상적인 beta-globin 유전자는 mutant beta-globin 보다 DNA size가 작게 나타난다.



Group III. 효소공학 분야

1번(60점)

(1) $[S_b]$ 의 값이 낮을 수록 외부 확산저항의 영향이 커지기 때문임.

(2) 이 고정화 효소의 intrinsic parameter, V_{max} 와 K_m 값을 구하시오.
50 rpm의 data로부터 intrinsic parameter의 값을 구한다.

$$\begin{aligned} \text{x축 절편으로부터 } K_m &= 1/100 \text{ M}^{-1} = 1 \times 10^{-2} \text{ M (0.01 M or 10 mM)} \\ \text{y축 절편으로부터 } V_{max} &= 1/0.02 \text{ M m}^{-2}\text{s}^{-1} = 50 \text{ M m}^{-2}\text{s}^{-1} \end{aligned}$$

(3) 교반속도가 50 rpm일 경우 liquid mass transfer coefficient k_L 의 값을 구하시오

Steady-state equation for immobilized enzyme reaction with external mass transfer:

$$v = k_L ([S_b] - [S_s]) = V_{max} [S_s] / (K_m + [S_s])$$

External diffusion 영향이 나타나는 기질의 농도가 낮은 반응의 경우

즉 $[S_s] < [S_b] \ll K_m$ 일 때

$$k_L ([S_b] - [S_s]) = V_{max} [S_s] / K_m$$

이 식으로부터

$$[S_s] = k_L [S_b] / (k_L + V_{max} / K_m)$$

반응속도 v 는

$$v = V_{max} [S_s] / K_m = \frac{V_{max} k_L [S_b] / K_m}{(k_L + V_{max} / K_m)} = k [S_b]$$

따라서 기질의 농도가 낮을 경우 v 와 $[S_b]$ 는 직선관계를 보인다. Lineweaver-Burk plot에서 50 rpm에서 반응을 일으킬 경우, 기질의 농도가 낮을 때의 점근선 직선의 기울기는 $1/k$ 가 된다. 이 기울기 값으로부터 k_L 값을 다음과 같이 구할 수 있다.

50 rpm 실험에서 기질의 농도가 낮은 부분에서의 점근선의 기울기는

$$\begin{aligned} \text{slope} &= 1/k = 0.15 \text{ M}^{-1} \text{ m}^2\text{s} / 500 \text{ M}^{-1} = 3 \times 10^{-4} \text{ m}^2\text{s} \\ &= (k_L + V_{max} / K_m) / (V_{max} k_L / K_m) \end{aligned}$$

$$V_{max} / K_m = 5000 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1} \text{ 이므로}$$

$$(k_L + 5000 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}) / (5000 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1} k_L) = 3 \times 10^{-4} \text{ m}^2\text{s}$$

$$k_L + 5000 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1} = 1.5 k_L$$

$$0.5 k_L = 5000 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$$

$$k_L = 1 \times 10^4 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$$

$$\text{답: } k_L = 1 \times 10^4 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$$

2번(40점)

$$1. K_m = \frac{[E][S]}{[ES]}, \quad K_{SI} = \frac{[S][ES]}{[SES]} \quad (1)$$

$$v = k_2[ES] \quad (2)$$

$$V_m = k_2[E]_t \quad (3)$$

$$[E]_t = [E] + [ES] + [SES] \quad (4)$$

(4)를 (3)에 대입한 후 (2) ÷ (3)을 하면

$$v = \frac{V_m[ES]}{[E] + [ES] + [SES]} = \frac{V_m[S]}{K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}}} \quad (5)$$

최대반응속도를 갖게 하는 기질의 농도 $[S]_{\max}$ 라고 하면 기질은 농도는 $\frac{dv}{d[S]} = 0$ 으로부터 구한다.

(5)로부터

$$\frac{dv}{d[S]} = \frac{V_m(K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}}) - V_m[S](1 + \frac{2[S]}{K_{SI}})}{(K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}})^2} \quad \text{정리하면}$$

$$\frac{dv}{d[S]} = \frac{V_m(K_m - \frac{[S]^2}{K_{SI}})}{(K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}})^2} = 0$$

$$\text{그러므로 } [S]_{\max} = \sqrt{K_m K_{SI}}$$

$$[S]_{\max} = \sqrt{K_m K_{SI}} = \sqrt{0.1 \times 1000} = 10$$

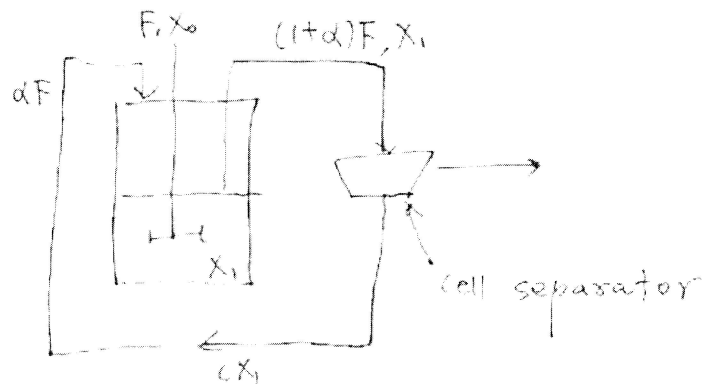
답 10g/L

Group IV. 배양 및 생물공정 분야

1번 답 보내주시지 않음(70점)

2번 (30점)

1. (10점)



where α is the recycle ratio based on volumetric flow rate.

C is the concentration factor,

F is nutrient flow rate,

V is culture volume,

X_0 and X_1 are cell concentrations.

$$F X_0 + \alpha F C X_1 - (1 + \alpha) F X_1 + V \mu X_1 = V \frac{dX_1}{dt}$$

At st. st. $\frac{dX_1}{dt}$ and $X_0 = 0$ (sterile)

$$\mu = (1 + \alpha - \alpha C) D = [1 + \alpha(1 - C)] D$$

$$C > 1, \mu < D.$$

그림을 그리고 Mass Balance를 세우면 6점,
최종 답까지 유도하면 +4점.

Group V. 생물분리정제 분야

1번(60점)

[1]

용질이 완전배제된다고 가정하면 투과된 용매 내에 용질의 농도가 희박하므로

van't Hoff eqn.에 의하여 삼투압 $\Delta\pi \approx RTC_{\text{feed}}$

$$= (8,314 \text{ L}\cdot\text{kPa}/\text{mol}\cdot\text{K})(293\text{K})(2 \text{ g/L})(1 \text{ mol}/200 \text{ g}) = \underline{24.36 \text{ kPa}}$$

[2]

막여과에서 투과되는 용매의 flux는 $J_w = K_p \cdot (\Delta P - \Delta\pi)$ 이므로

$$\Delta P = \frac{J_w}{K_p} + \Delta\pi = (20 \text{ cm/h}) / (7.4 \times 10^{-2} \text{ cm/h}\cdot\text{kPa}) + 24.36 \text{ kPa}$$

$$= 270.27 \text{ kPa} + 24.36 \text{ kPa} = \underline{294.63 \text{ kPa}}$$

[3]

여과 flux $J_w = 20 \text{ cm}^3/\text{cm}^2\cdot\text{h}$ 란 단위시간당 단위면적당 투과되는 용매의 부피를 의미한다.

분당 처리해야할 feed 양이 $Q = 2 \text{ L/min}$ 이므로

$$\text{필요 면적 } A = Q/J_w = (100 \text{ L/h}) / (20 \text{ cm/h}) = \underline{5000 \text{ cm}^2}$$

2번(40점)

2. Scale-up of Chromatography column.

(1) 주량량

$$\frac{\text{load}_2}{\text{load}_1} = \left[\frac{\text{radius}_2}{\text{radius}_1} \right]^2 \left[\frac{\text{length}_2}{\text{length}_1} \right]$$

단면적에 비례하므로 $(450/50)^2 = 81$ 배

길이에 비례하므로 $(900/500) = 1.8$ 배

$$\therefore 1g \times 81 \times 1.8 = 145.8g$$

(2) 유량

$$\frac{\text{flow rate}_2}{\text{flow rate}_1} = \left[\frac{\text{radius}_2}{\text{radius}_1} \right]^2$$

단면적에 비례하므로 $(450/50)^2 = 81$ 배

$$\therefore 50 \text{ ml/min} \times 81 = 4,050 \text{ ml/min}$$

(3) 분리시간 : 유량을 4,050 ml/min으로 할 경우

$$\frac{\text{retention time}_2}{\text{retention time}_1} = \left[\frac{\text{length}_2}{\text{length}_1} \right]$$

길이에 비례하므로 $(900/500) = 1.8$ 배

$$\therefore 30 \text{ min} \times 1.8 = 54 \text{ min}$$