

고전압장에서 미수계를 이용한 단백질이동

박중곤 · 김준균

경북대학교 공과대학 화학공학과
(1993년 8월 4일 접수, 1993년 11월 26일 채택)

Protein Migration in the High Electrical Field Using the Micro-Aqueous System

Joong Kon Park and Joon Kyun Kim

Dept. of Chem. Eng., Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea
(Received 4 August 1993; accepted 26 November 1993)

요 약

새로이 개발된 전기영동조에서 완충용액 대신 혼합유기용매를 매질로 사용하였고 단백질용액은 분자수준의 미수계로 제조하여 전극양단에 7 KV의 전압을 가하여 단백질의 이동을 시도하였다. 본 연구에서는 유기용매의 전도도를 측정하고 안정된 미수계를 이룰 수 있는 protic 유기용매를 선정하였으며 분자수준 미수계 단백질용액의 용액조성과 온도에 따른 안정성도 조사하였다. 분자수준 미수계의 단백질은 고전압하에서 단백질분자의 미수계 덩이상태로 이동하였고 단백질의 이동방향은 기존의 전기영동과는 반대방향이었으며, 이동속도는 약 100배 이상의 증가가 있었다.

Abstract—Mixed organic solvent was used as a medium instead of buffer solution in the new developed filter paper electrophoresis cell. The sample protein solution was prepared as the micro-aqueous system and the protein of the sample protein solution migrated at the high electrical voltage of 7 kilo volts applied between two electrodes. We could select usable protic organic solvents by measuring the electrical conductivities of organic solvents and checking the stability of the sample protein solution. The protein of the sample protein solution moved lump by lump. The direction of the protein movement was reverse and the migration speed was more than 100 times faster than that of conventional electrophoresis system.

1. 서 론

단백질은 생체내에서 촉매작용, 운반, 조정된 운동, 흥분성 및 성장과 분화의 조정 등과 같이 다양한 역할을 하는 고분자이다. 단백질분리의 구체적 방법으로는 전기영동, 초원심분리 그리고 크로마토그래피 등 크게 세 가지로 구분된다. 이들중 전기영동을 이용하면 가장 높은 분리도를 얻을 수 있으며 단백질의 분자량측정[1], 유전자조작을 거친 해산의 분리확인[2], 단백질의 분리

[3-6] 등에 사용되고 있다. 전기영동의 형태에는 여러가지가 있으나 현재 사용되고 있는 방법은 moving boundary 전기영동, zone 전기영동[7], gel 전기영동[8], iso-electrofocusing 등으로 크게 구분된다. 그러나 이들은 고전압을 사용할 수가 없거나 고전압을 사용할 수 있는 경우에도 열발생이 아주 심하다. 그러므로 전기영동법에 의한 단백질분리에는 근본적으로 개선되어야 할 점이 있다. 즉 전기영동중에 발생하는 열의 제거와 batch job 이 아닌 연속적 계의 반응기를 scale up하는 것이다.

단백질의 이동속도는 양쪽 전극사이에 걸린 전압과 단백질 자신의 전하량에 의존하므로 완충용액 대신 유기용매를 사용한 미수계 단백질분리는 유기용매의 낮은 전기전도도로 열발생을 줄일 수 있으므로 전극의 양단에 고압을 가할 수 있고 단백질의 이동속도는 증가시킬 수 있으며 연속공정에도 쉽게 적용될 수 있다. 최근 N. Haber[9]는 양쪽전극에 고압을 가하고 유기용매의 매체 내에서 염료를 이동시킴으로써 염료의 이동속도를 증대시키고 발생열량을 줄일 수 있었으며 이를 전기분자 추진으로 명명하였다. 또한 최근에는 Hong 등[10]이 유기용매 매체의 고전압장에서 단백질을 분리하기 위하여 기존의 전기영동조에서 완충용액 대신 유기용매 매체를 이용한 filter paper상에 단백질 수용액과 혼합 유기용매로 이루어진 단백질혼합용액을 가하여 단백질의 이동실험을 행하였다.

이 경우 단백질혼합용액이 분자수준의 미수계로 이루어졌음에도 불구하고 유기용매의 매체내에서 잘 섞이어 분산되지 못하고 단백질혼합용액의 덩이로서 이동하게 되었다. 그러므로 열발생량은 현저히 줄일 수 있었으나 단백질의 이동속도는 겨우 2배에 불과하였다. 따라서 고압하에서 미수계를 이루는 혼합단백질용액내의 단백질이 이동하는 양태를 보다 더 체계적으로 연구할 필요가 있다. 본 연구에서는 분자수준의 미수계인 단백질혼합용액이 유기용매의 매체내에서 분자수준 미수계의 특성이 제대로 나타날 수 있도록 새로이 개발된 전기영동조를 사용하였다. 또한 유기용매의 전기전도도를 측정하여 분석하고 안정한 미수계를 형성할 수 있는 protic, aprotic 유기용매의 조를 파악하였으며 유기용매의 조성과 온도에 따른 분자수준 미수계의 안정성을 조사하였다. 마지막으로 유기용매 매체내에서 분자수준 미수계내의 단백질 이동양태도 조사하였다.

2. 실험

2-1. 실험재료

단백질의 이동에 사용한 단백질은 촉매성과 특이성이 현저하고 계란 흰자위로부터 얻은 것으로서 등전점이 pH 11인 lysozyme과 등전점이 pH 5.6인 bacillus subtilis의 α -amylase를 사용하였다. Protic 유기용매로 제조된 단백질 미수계의 유기용매 종류에 따른 안정성 조사에는 α -amylase, lysozyme, casein, pepsin, protease, albumin 등을 더 사용하였다. 미수계의 안정성 조사를 위하여 사용한 유기용매는 Table 1에 보이는 바와 같이 protic 유기용매 9종, aprotic 유기용매는 benzene, toluene, ethyl acetate, propylene carbonate 등 11종을 사용하였다. 새로이 개발된 여지전기영동조는

Fig. 1에서 보이는 바와 같이 기존의 여지전기영동조 [10]를 변형하여 여지와 전기영동조의 바닥이 서로 접촉되지 않도록 제작하였고 양쪽 챔버에 유기용매를 채워 넣지 않았다. 즉 아크릴덩이를 이용하여 filter paper가 평평히 퍼질 수 있도록 하여 미수계용액이 잘 스며들 수 있게 하였고 아크릴덩이의 양단끝에 0.5 mm의 백금선전극을 설치하여 filter paper와 전극간의 접촉이 좋도록 하였다. 여지는 Toyo사의 여지전기영동형 paper No. 51을 사용하였고 고전압 DC power supply는 최고 15 KV까지 출력가능하며 특수 의뢰 제작하여 사용하였다.

2-2. 실험방법

여러 가지 유기용매들은 protic 유기용매와 aprotic 유기용매로 구분하여 전기전도도를 실온(15.5°C)에서 conductivity meter로 측정하였다. 단백질수용액은 단백질을 pH 4, 7.2, 8, 10의 각 완충용액에 녹여 제조하였으며 각각의 단백질수용액 30%와 protic 유기용매 70%를 섞어 water-protic 유기용매 미수계를 준비하였다. 미수계는 육안으로 확인함과 동시에 분광광도계를 사용하여 410 nm에서 3시간동안 흡광도를 측정하여 미수계 단백질의 안정성을 조사하였다.

위의 실험결과 안정한 water-protic 유기용매 단백질 미수계를 만드는 protic 유기용매와 전기전도도가 낮은 aprotic 유기용매를 각각 1:1, 6:4, 7:3의 비로 섞어서 혼합유기용매를 제조하였다. 혼합유기용매와 단백질수용액을 7:3의 비로 섞어서 분자수준의 미수계를 제조하였다. 각 미수계 단백질의 온도에 따른 안정성은 5°C에서 35°C까지 5°C 간격으로 육안으로 관찰하고 분

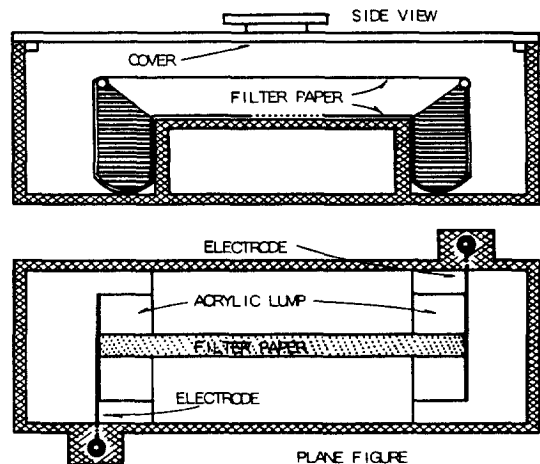


Fig. 1. Schematic representation of developed horizontal paper electrophoresis cell.

Table 1. Stability of micro-aqueous system composed of water-protic organic solvent at 25°C(O: stable, X: unstable)

		α -Amylase	Casein	Lysozyme	Pepsine	Protease	Albumin
Acetone	pH 4	O	X	X	X	X	X
	pH 7.2	O	X	X	X	X	X
	pH 8	O	X	X	X	X	X
	pH 10	O	X	X	X	X	X
1,4 Dioxane	pH 4	O	O	X	X	X	X
	pH 7.2	O	X	X	X	X	X
	pH 8	O	X	X	X	X	X
	pH 10	O	X	X	X	X	X
Methanol	pH 4	O	X	O	X	X	X
	pH 7.2	O	X	X	X	X	X
	pH 8	O	X	X	O	X	X
	pH 10	O	X	X	O	X	X
Ethanol	pH 4	O	X	O	X	X	X
	pH 7.2	O	X	X	X	X	X
	pH 8	O	O	O	X	X	X
	pH 10	O	O	X	X	X	X
DFA	pH 4	O	O	O	O	X	X
	pH 7.2	O	X	O	O	X	X
	pH 8	O	O	O	O	X	O
	pH 10	O	O	X	O	O	O
DMSO	pH 4	O	O	O	O	X	X
	pH 7.2	O	X	O	O	X	X
	pH 8	O	O	O	O	X	O
	pH 10	O	O	O	O	O	O
Propylene glycol	pH 4	O	O	O	O	O	X
	pH 7.2	O	O	O	O	X	X
	pH 8	O	O	O	O	X	O
	pH 10	O	O	O	O	O	O
Ethylene glycol	pH 4	O	O	O	O	O	O
	pH 7.2	O	O	O	O	O	O
	pH 8	O	O	O	O	O	O
	pH 10	O	O	O	O	O	O
Glycerol	pH 4	O	O	O	O	O	O
	pH 7.2	O	O	O	O	O	O
	pH 8	O	O	O	O	O	O
	pH 10	O	O	O	O	O	O

광광도계를 사용하여 410 nm에서 흡광도를 측정함으로써 고찰하였다.

단백질이동을 측정하기 위한 미수계에 사용된 혼합 유기용매는 propylene glycol과 ethyl acetate를 7:3의 비로 섞은 것을 사용하였다. 미수계 단백질용액은 혼합유기용매와 단백질수용액을 1:1로 섞어 제조하였다. 단백질의 이동실험은 약 20°C의 상온에서 여지상단부 분인 전극사이의 여지에만 혼합유기용매를 40-60 μ l 적셔준 후 미수계 단백질용액 0.5 μ l을 여지중앙에 떨어뜨려 여지상에 충분히 스며들게한 후 6-7 KV의 전압을

수분간 가하였다. 이 여지를 취하여 Fuwa의 blue-value 개량법[7]을 이용하여 90-100°C에서 10분정도 건조시킨 후 ninhydrin 용액을 뿌려 발색시킨 다음 단백질의 위치를 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

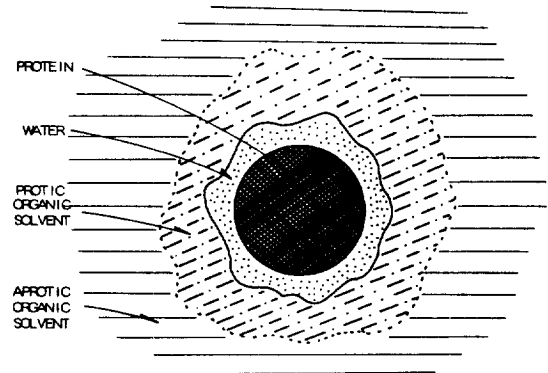
3-1. Water-protic 유기용매 미수계의 안정성

단백질은 열에 의해서도 변성을 일으키지만 유기용매와의 직접적인 접촉에 의해서도 변성을 일으키게 된

Table 2. Classification of protic organic solvents for the stability of micro-aqueous system

Organic solvent	Dielectric constant	Density 20°C, g/cm ³	Viscosity 25°C, cp
Glycerol	42.5	1.26	945
Ethylene glycol	37	1.11	21
Propylene glycol	35	1.04	56
Dimethyl sulfoxide	46.6	1.1	2
N,N-Dimethyl formamide	36.7	0.945	0.80
Ethanol	24.3	0.789	1.08
Methanol	32.6	0.787	1.54
1,4-Dioxane	2.2	1.033	1.20
Acetone	20.7	0.788	0.34
Water	78.4	1.0	1

다. 전기전도도가 낮은 aprotic 유기용매와 단백질수용액을 섞는 경우 두 층으로 나누어지며 계층에서 단백질이 엉키게 되었다. 따라서 안정한 한 상의 미수계를 이루기 위하여서는 비슷한 polarity로 aprotic 유기용매와 섞이고 수소결합에 의하여 물과도 섞일 수 있으며 동시에 단백질에 안정성을 부여할 수 있는 protic 유기용매의 선정이 필요하다. 먼저 단백질수용액과 protic 유기용매를 섞어서 안정한 미수계를 이룰 수 있는 protic 유기용매를 조사하였다. 네 종류 pH의 단백질수용액과 protic 유기용매로 이루어진 water-protic 유기용매 미수계의 안정성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 미수계의 안정성은 용액의 탁도를 측정함으로써 분석가능하므로 분광광도계로 410 nm에서 측정하여 3시간 동안 absorbance의 값이 0.1 이하로 유지되는 경우를 안정하다고 정의하였다. Ethylene glycol과 glycerol은 모든 단백질 미수계에 대하여 안정하며 propylene glycol, dimethylsulfoxide, tetrahydrofurfuryl alcohol은 부분적으로 안정함을 알 수 있다. 단백질수용액과 protic 유기용매를 혼합하여 미수제내의 단백질이 안정한 경우는 단백질 주변을 다음과 같이 설명할 수 있다. 구형단백질 표면의 친수성기와 물분자가 얇은 층을 이루며 이 물층과 protic 유기용매가 수소결합 등에 의하여 녹아 있는 상태가 된다. 단백질이 응고하거나 침전하지 않고 안정한 한개의 상을 이루고 있으므로 단백질과 결합하고 있는 얇은 물층이 단백질과 유기용매의 직접적인 접촉을 막아주고 있는 것으로 유추할 수 있다. 안정한 단백질 미수계를 만드는 것을 기준으로하여 유기용매를 Table 2와 같이 분류를 하였다. 분류된 유기용매들의 밀도, 유전상수 및 점도가 특이하다. 밀도는 안정한 미수계를 이루는 경우 유기용매의 밀도가 물의 밀도보다도 크며 유전상수의 값도 안정한 미수계를 이루는 유기용매의

**Fig. 2. Schematic representation of micro-aqueous system of molecular level.**

값들이 그렇지 않은 유기용매들의 값보다 상대적으로 크다. 점도와 밀도가 크면 동종분자간의 인력이 크므로 구상단백질과 결합하고 있는 분자수준의 물층으로 녹아드는 것이 어려워 오랜시간 안정한 미수계를 형성할 수 있는 것으로 사료된다. 유전상수가 크다는 것은 분자간의 dipole-dipole 결합이 세다는 것을 나타내므로 유전상수가 크면 유기용매분자들간의 인력이 커지고 따라서 위와 같이 안정된 미수계를 형성할 수 있는 것으로 사료된다. 본 연구에서는 유기용매의 점도, 밀도, 유전상수의 값이 중요한 변수임을 알 수 있으나 이들의 연관관계는 더 깊은 연구가 필요하다고 사료된다.

3-2. 분자수준 단백질 미수계의 조성 및 온도에 따른 안정성

Protic 유기용매는 점도가 크고 밀도가 1보다 크며 유전상수가 클수록 안정한 미수계를 형성하지만 점도가 너무 크면 사용이 용이하지 않다. 또한 단백질수용액과 aprotic 유기용매만을 사용하면 층의 분리가 일어나며 단백질은 계면에서 침전하게 된다. 따라서 점도가 낮은 aprotic 유기용매를 섞어 만든 혼합유기용매를 이용하여 단백질 미수계를 만들게 되면 점도가 낮아져 사용이 용이할 뿐만 아니라 전기전도도도 더 낮아지게 된다. Protic 유기용매와 aprotic 유기용매를 섞은 혼합유기용매를 이용하여 안정한 단백질 미수계가 만들어지는 경우 Fig. 2에서 보이는 바와 같이 친수성기를 표면에 지닌 구상단백질 표면에 얇은 물층이 존재하고 물과 aprotic 유기용매에 모두 녹을 수 있는 protic 유기용매가 주변을 둘러싸고 그 외부에는 aprotic 유기용매가 존재하게 된다. 단백질표면의 친수성기로 인하여 결합된 물분자는 protic 유기용매와 수소결합 등의 인력에 의하여 서로 녹게 되고 protic 유기용매와 aprotic 유기용매는

Table 3. Stability of micro-aqueous system prepared with mixed organic solvents and protein solution depending on the composition and temperature

Temp. (°C)	PG+EA			PG+PC		EG+EA		EG+PC	PG+EA	PG+EA+NMAA+THFA	PG+PC	PG+PC+NMAA+THFA
	1:1	6:4	7:3	1:1		1:1	7:3	1:1	1:1	10:10:4:1	1:1	10:10:4:1
5	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
10	X	X	O	X		X	X	X	X	X	X	O
15	X	X	O	X		X	X	X	X	X	X	O
20	X	X	O	O		X	X	X	X	O	O	O
25	X	O	O	O		X	X	X	X	O	O	O
30	X	O	O	O		X	X	X	X	O	O	O
35	X	O	O	O		X	X	X	X	O	O	O

O: stable, X: unstable, PG: propylene glycol, PC: propylene carbonate, EG: ethylene glycol, EA: ethyl acetate, NMAA: N-methylacetamide, THFA: tetrahydrofurfuryl alcohol

유사극성 정도에 따라 서로 섞이게 된다. 그러므로 혼합유기용매로 형성되는 단백질 미수계는 온도에 민감하게 될 것이다. 본 연구에서는 단백질수용액과 부피비 1:1로 섞여진 4개의 혼합유기용매로 propylene glycol-ethyl acetate, propylene glycol-propylene carbonate, ethylene glycol-ethyl acetate, ethylene glycol-propylene carbonate로 이루어진 단백질 미수계 각각의 온도에 따른 안정성을 조사하여 Table 3에 나타내었다. 혼합유기용매와 단백질수용액을 부피비 1:1로 섞어서 제조된 ethylene glycol-ethyl acetate 미수계, ethylene glycol-propylene carbonate 미수계, propylene glycol-ethyl acetate 미수계는 모두 35°C 이하의 온도범위에서 미수계를 형성할 수 없고 두 개의 층으로 나뉘어진다. 다만 propylene glycol-propylene carbonate 미수계만 17°C 이상의 온도에서 안정한 한상의 미수계가 형성된다. 물과 aprotic 유기용매사이를 이어주는 protic 유기용매의 양을 증가시켜 미수계가 안정화될 수 있는 온도범위를 늘려 보려고 시도하였다. Table 3에서 보이는 것처럼 propylene glycol-ethyl acetate 미수계는 혼합유기용매중의 propylene glycol 비율을 60%, 70%로 각각 증가시키에 따라서 25°C 이상 및 10°C 이상의 온도에서 안정한 미수계를 형성할 수 있었다. 그러나 ethylene glycol-ethyl acetate 혼합유기용매의 경우는 ethylene glycol의 부피비를 증가시켜도 35°C 이하의 범위에서 안정한 미수계를 이룰 수가 없었다. 또한 유전상수가 매우 큰 N-methylacetamide와 tetrahydrofurfuryl alcohol을 혼합유기용매에 미량 첨가함으로써 Table 3에서 보는 것처럼 propylene glycol-ethylacetate의 경우 20°C 이상, propylene glycol-propylene carbonate의 경우 10°C 이상에서 안정한 단백질 미수계를 이룰 수가 있었다. 따라서 혼합유기용매로 단백질 미수계를 제조하는 경우 protic 유기용매와 aprotic 유기용매의 조성비와 온도가 중요한 변수로 작용함을 알 수 있다.

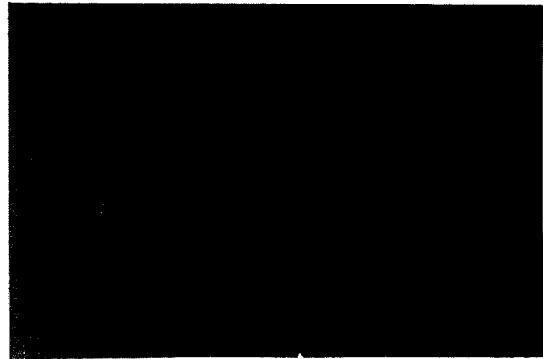


Fig. 3. Migration of lysozyme of the micro-aqueous system on the paper wetted with mixed organic solvents for the electric pressure 7 KV.

Composition of the protein solution: 120 g protein; 60 μ pH 7.2 buffer solution, 140 μ organic solvent.

3-3. 고전압에 의한 단백질이동

pH 7.2인 완충용액에 lysozyme을 녹여 만든 단백질수용액과 7:3의 비율로 섞어 만든 propylene glycol-ethyl acetate 혼합유기용매를 3:7의 비로 섞어 준비한 미수계 단백질용액을 0.5 μ 가하고 전극양단에 7 KV의 전압을 가하여 단백질을 이동시킨 결과는 Fig. 3과 같다. 단백질은 미수계를 이루는 단백질의 한 분자당이상태로 이동을 하여 기존의 전기영동에서 단백질들이 한개의 띠를 이루며 이동하는 것과는 상당히 다른 양상을 보여주고 있다. 즉 단백질은 혼합유기용매 매체내에서 단백질을 둘러싸고 있는 매우 얇은 물층과 protic 유기용매를 유지한 분자수준의 미수계를 유지하며 이동하는 것으로 사료된다. 단백질은 약 1.5분 내지 2분이면 모두 전극쪽으로 이동을 하여 이동속도는 4.67 cm/min 이상이 된다. 따라서 단백질의 이동속도는 혼합유기용매를 매체로 사용하고 기존의 전기영동조에서 샘플 단백질을

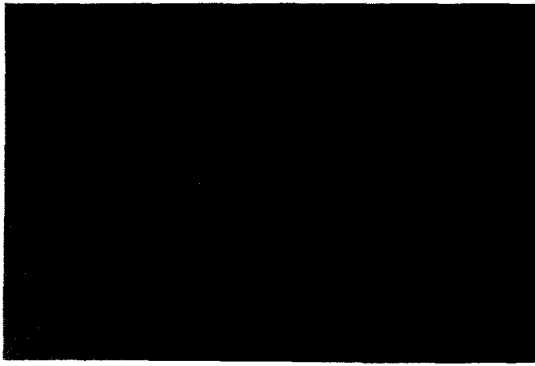


Fig. 4. Migration of α -amylase of the micro-aqueous system on the paper wetted with mixed organic solvents for the electric pressure 7 KV.

용액이 용액 덩이째로 이동되는 경우[10]보다 약 78배의 속도증가를 이룰 수가 있었다. 단백질의 이동방향은 Hong 등[10]의 결과와 같이 기존의 전기영동법에서와는 반대로 양극쪽으로 이동하고 있다. 등전점이 pH 5.6인 α -amylase를 pH 7.2인 완충용액에 녹여 단백질 수용액을 제조하고 동일한 방법으로 단백질을 이동시킨 바 Fig. 4와 같이 30초 이내에 모두 음극쪽으로 모이고 있다. 이 경우도 단백질의 이동방향은 기존의 전기영동과는 반대가 된다. 이동속도는 14 cm/min 이상으로서 Hong 등[10]의 결과에 비하여 약 280배의 속도증가가 있으며 분자량이 α -amylase에 가까운 사람 혈청 단백질을 사용한 기존의 전기영동법[11]에 비하여는 약 420배 정도의 속도증가를 꾀할 수가 있었다.

본 연구에서 lysozyme, α -amylase, casein, pepsin 등 수종류의 단백질을 pH 4.0, 5.6, 7.2, 10.0 네 종류의 완충용액에 녹여 단백질수용액을 제조하고 이를 혼합유기용매를 이용해 각각 미수계를 형성한 후 단백질을 이동시키는 경우 모두 기존의 전기영동에서와는 반대방향으로 단백질이 이동하였다. 이러한 현상은 단백질 미수계의 구조와 특징으로서 해석이 가능하다. 기존의 전기영동에서는 완충용액의 매체내에서 단백질 분자가 이동하지만 분자수준의 미수계에서는 단백질 분자가 표면의 얇은 물층을 유지한 상태로 이동을 하게 된다. 따라서 콜로이드의 double ionic layer의 개념과 같이 얇은 물층에 단백질과 반대 전하의 이온들이 둘러싸게 되므로 단백질 미수계는 표면이 마치 반대 전하로 둘러싸인 것과 같이 되어 이동방향은 기존의 전기영동에서와는 반대가 되는 것으로 사료된다. 본 연구에서 단백질이 이동되는 동안의 단백질 실험에 대한 검토는 Hong [10] 등의 연구에서 검토한 바와 동일한 계의 동일한 실험이며 유기용매에 의한 단백질의 실험은 없는 것으로

사료된다. 또한 본 연구에서도 propylene glycol, propylene carbonate, N-methyl acetamide 및 tetrahydrofurfuryl alcohol의 네가지 유기용매를 사용하여 단백질을 분리할 때[12]와 같이 샘플 단백질 용액을 구성하는 단백질 수용액의 pH를 두개의 목적단백질 pI 값들의 중간값을 취함으로써 두 단백질을 각각 음극, 양극으로 이동시켜 분리할 수 있었다. 발생한 열량은 0.0067 W/cm^2 이하로서 기존전기영동법의 발생열량 $0.10\text{--}0.80 \text{ W/cm}^2$ 보다 매우 작았다.

4. 결 론

혼합유기용매를 이용하여 분자수준 단백질 미수계를 만들고 분자수준미수계의 단백질을 이동시키는 실험을 행한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

(1) 단백질 수용액과 protic 유기용매로써 단백질 미수계를 만드는 경우 protic 유기용매는 glycerol, ethylene glycol, propylene glycol, dimethylsulfoxide, N,N-dimethylformamide와 같이 점도가 크고 밀도가 1보다 크며 유전상수가 클수록 안정된 미수계를 형성할 수 있었다.

(2) 단백질 수용액과 protic 및 aprotic 혼합유기용매로 제조된 분자수준의 단백질 미수계의 안정성은 혼합유기용매의 조성비와 온도에 절대적인 영향을 받는다. 혼합유기용매의 조성비에 약간의 영향을 받지만 낮은 온도에서는 단백질 미수계가 두층으로 나뉘어 경계면에서 단백질이 응고하며, 높은 온도에서는 aprotic 유기용매와 단백질수용액의 접촉이 좋아 단백질용액이 탁하게 되며, 약 $10\text{--}35^\circ\text{C}$ 사이에서 하나의 맑은 액상인 안정한 단백질 미수계가 형성이 된다.

(3) 전압밀도 0.5 KV/cm 의 고전압을 가하여 혼합유기용매 매체내에서 분자수준 단백질 미수계의 단백질을 이동시킬 때 단백질의 이동속도는 기존의 전기영동에 비하여 100배이상의 속도증가를 꾀할 수 있었다. 단백질의 이동방향은 단백질수용액의 pH와 단백질의 pI에 의하여 결정이 되며 기존의 전기영동과 비교하여 반대방향이었다. 단백질의 이동양태는 기존의 전기영동에서는 단백질이 띠를 형성하며 이동하지만 혼합유기용매내에서는 단백질 분자의 미수계가 이동을 하므로 띠를 형성하지 않는다.

감 사

본 연구는 과학재단 연구비('87-'90)의 일부로써 완성되었음.

참고문헌

1. Weber, K. and Osborn, M.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406(1969).
2. De Wachter, R. and Fiers, W.: *Methods Enzymol.*, **21**, 167(1971).
3. Longworth, L. G. and MacInnes, D. A.: *J. Am. Chem. Sci.*, **62**, 705(1940).
4. Larson, D. L. and Feinberg, R.: *Science*, **120**, 426 (1954).
5. Nielsen, L. E. and Kirkwood, J. G.: *J. Am. Chem. Sci.*, **68**, 181(1946).
6. Landstein, K., Longworth, L. G. and Van der Scheer, J.: *Science*, **88**, 83(1938).
7. Yoo, Y. J., Hong, J. and Hatch, R. T.: *Biotech. Bioeng.*, **30**, 147(1987)
8. Chramach, A. and Rodbard, D.: *Science*, **172**, 440 (1971).
9. Haber, N.: *Biochem. J.*, **79**, 272(1982).
10. Hong, H. C., Ryu, W. K., Park J. K. and Song, B. H.: *J. Kor. Ins. Chem. Eng.*, **29**, 457(1991).
11. Durrum, E. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4875(1951).
12. Park, J. K. and Kim, J. K.: *Biochemical Engineering for 2001*, 517, Springer-Verlag, Tokyo(1992).