3장 효소 및 그 응용

3.1 효소의 특성

생명체를 유지시키는 수많은 생화학 반응들은 거의 모두가 효소(enzyme)에 의해 이루어진다. 예를 들어, 제1장 및 제2장에서 다루었던 것처럼 다당류인 녹말의 분해, 이당류인 유당의 분해 및 포도당을 세포 내로 끌어들이기 등 많은 일을 효소가 수행하며 DNA, RNA 및 단백질의 합성 또한 효소에 의해 수행된다. 또한 4장에서 다루게 될 해당과정, TCA 회로, 아미노산의 합성 등 세포 내에서 일어나는 각종 생화학 반응마다 효소가 작용한다. 효소는 단백질의 일종으로 반응을 일으키는 촉매제 역할을 한다. 효소는 화학 촉매제의 일종이지만 몇 가지 관점에서 볼 때 차이가 있다. 화학 촉매에 의한 반응은 대부분 높은 온도와 압력, 매우 높거나 낮은 pH 상태에서 일어나지만, 효소에 의한 촉매반응은 100℃ 이하의 온도, 낮은 압력, 중성에 가까운 pH 상태에서 일어난다.

또 효소는 화학 촉매제보다 기질(substrate)과 생성물(product)에 대한 특이성이 높다. 그러므로 효소에 의한 반응은 거의 부산물(by-product)을 만들지 않는다. 예를 들어, 리보솜(ribosome)에서 단백질을 합성할 때 효소에 의해 촉매되는 경우 1000개의 아미노산이 만들어지지만 실수로 잘못 만드는 경우가 거의 없다. 그러나 화학적으로 합성하는 경우에는 반응이 불완전하게 일어나며 부가적인 다른 반응까지 같이 일어나서 100개 정도의 아미노산밖에 만들지 못한다. 효소는 대부분 기질의 농도에 따라 촉매 작용의 속도가 다양하게 변한다.

효소는 분자량이 15,000달톤～수백 만달톤인 고분자 단백질이며 이미 2,000 종류 이상이 알려져 있다. 효소의 이름은 끝에 -ase의 접미사가 붙는다. 아밀로스(amylose)의 분해효소인 아밀라제(amylase)와 같이 작용하는 기질 이름 위에 붙는 경우와 알코올 탈수소화효소(alcohol dehydrogenase)처럼 촉매가 작용하는 반응명칭 뒤에 붙는 경우가 있다.

3.2 효소의 구조

효소는 구형의 단백질 분자로 활성부위(active site)를 가지고 있다. 이 활성부위는 효소에 의한 촉매반응 동안 기질과 결합한다. 효소는 특정한 기질하고만 결합하여 반응을 촉매하는데, 이러한 효소의 성질을 기질특이성(substrate specificity)이라 한다. 효소의 기질특이성은 효소 활성부위의 모양과 기질 분자의 모양에 의해 결정된다. 이것은 효소와 기질이 마치 퍼즐 조각을 맞추듯 특정한 방식으로 결합해야 하기 때문이다. 많은 효소들은 비단백질을 포함하기도 하는데 이를 보조인자(cofactor)라 한다. 이것은 효소에 영구적으로 붙어있거나 기질에 약하게 붙어있다. 보조인자에는 보결족이라 부르는 아연, 철, 마그네슘과 같은 금속이온과 조효소(coenzyme)라고 부르는 유기분자가 있다. 일부 비타민 (B_1, B_2 등)과 NAD, FAD, CoA 등이 조효소로 작용한다. 이 보조인자들은 적정량만 필요하며 지나치게 많은 경우에는 유해할 수도 있다.

3.3 효소의 분류

효소의 분류와 명명법에 관한 규약에 따라 효소는 촉매하는 화학반응의 형식에 따라 나누어진다.

3.3.1 산화환원 효소(oxidoreductase)

수소 또는 전자를 기질에 첨가 또는 제거하는, 즉 산화환원반응을 촉매하는 효소로서 산화효소, 환원효소, catalase, peroxidase, oxygenase, hydroxylase 등이 포함된다. 생체 내에서는 이 효소계에 의하여 생명유지에 필요한 에너지를 얻는다.

3.3.2 전이효소(transferase)

기질 안에 원자단을 전이시키는 효소로서 amino기, carboxyl기, methyl기, acyl기, 인산기, amino산 잔기 등이 전이(transfer)된다.

3.3.3 가수분해효소(hydrolase)

물분자가 도입되어 기질의 공유결합을 가수분해시키는 효소로서 지질의 ester 결합, 당질의 glycosidic결합, 단백질의 peptide 결합 등을 절단한다.

3.3.4 탈이효소(lyase)

가수분해 이외의 방법으로서 기질로부터 carbonyl기, aldehyde기 등의 원자단을 분리하여 기질에 이중결합을 생성시키거나 이중결합에 이와 같은 원자단을 부가시켜 주는 효소이다.

3.3.5 이성화효소(isomerase)

기질분자의 분해, 전위, 산환환원을 일으키지 않고 분자의 이성화반응을 촉매하는 효소이다.

3.3.6 합성효소(synthetase)

ATP와 같은 고에너지결합의 분해와 동시에 작용하여 2개의 분자를 결합시키는 반응을 촉매하는 효소이다.

3.4 효소의 작용

효소는 기질과 결합하여 효소-기질 복합체(enzyme-substrate complex)를 형성함으로써 반응의 활성화 에너지(activation energy)를 낮추는 촉매 역할을 한다.

어떤 물질들이 모여서 화학반응을 하려면 이 물질들이 서로 결합하거나 충돌할 만큼 에너지를 가져야 하는데, 이런 상태가 되는 데 필요한 에너지를 그 물질의 활성화 에너지라 한다. 효소는 이런 활성화 에너지를 낮추어 줌으로써 생물체 내의 화학반응을 촉진시킨다.

그림 3.1에서 볼 수 있듯이 효소에 의해 촉매되지 않은 반응은 활성화 에너지(E_a)가 많이 필요하지만, 효소에 의해 촉매된 반응은 활성화 에너지(E_a')가 더 적게 필요하다. 두 가지 반응 모두 반응하기 전의 에너지와 반응이 끝난 후의 에너지는 같다. 즉, 두 반응 모두 반응 전과 반응 후의 에너지 차이는 같다. 다만 효소는 반응이 시작하기 위해 필요한 활성화 에너지를 낮추어 줌으로써 반응이 좀더 쉽고 빨리 일어날 수 있도록 도와주는 역할을 한다.

이렇게 효소가 반응에 필요한 활성화 에너지를 낮출 수 있는 것은 효소가 기질과 결합하여 기질이 반응하기 쉽게 도와주기 때문이다. 효소들은 각기 다른 형태의 활성부위

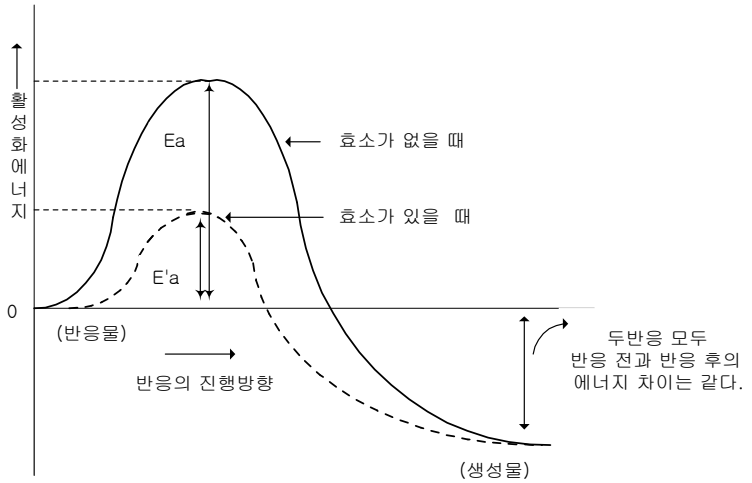

그림 3.1 효소에 의해 촉매 작용을 받은 반응과 받지 않은 반응의 활성화 에너지 비교

(active site)를 가지고 있다. 그러므로 효소는 자신의 활성부위에 알맞게 결합하는 특정한 기질하고만 상호 작용할 수 있다. 효소와 기질은 활성부위에서 결합하여 효소-기질 복합체(enzyme-substrate complex)를 형성한다. 반응이 끝난 후에도 효소의 형태는 변하지 않으며 기질은 새로운 생성물이 된다. 이렇게 효소가 특정 기질과만 결합하여 반응을 촉매하는 성질을 효소의 기질특이성(substrate specificity)이라 한다. 기질은 효소에 비해 작은 분자이므로 효소분자의 특정 부위에 결합하게 된다. 이러한 상호작용을 설명하는 가장 간단한 모형은 열쇠-자물쇠 모형(lock and key model)으로서 효소를 자물쇠로, 기질을 열쇠로 나타낸다(그림 3.2).

그러나 기질과 효소의 활성부위간의 결합이 처음부터 완벽하게 들어맞는 것은 아니다. Induced

fit model에서는 효소와 기질의 반응을 다음과 같이 설명한다. 여러 모양의 기질 중에서 효소의 활성부위와 가장 잘 들어맞는 기질이 선택되어 효소의 활성부위에 붙는

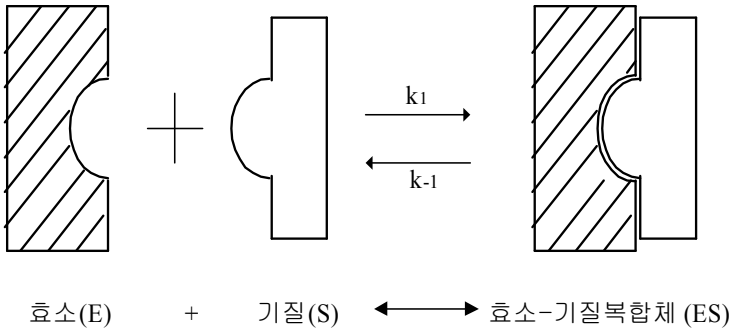

그림 3.2 효소촉매 반응의 자물쇠-열쇠 모델의 개념도

다. 그러면 효소의 활성부위의 모양이 기질의 모양과 비슷해지도록 변형된다. 이때에 기질의 모양도 조금 바뀌게 되는 데 이것이 효소반응에 필요한 활성화 에너지를 낮춰 준다. 그런 후에 효소의 작용을 통해 기질이 새로운 생성물로 만들어진다.

효소와 기질간의 상호작용을 분자수준(molecular level)에서 이해하기 위하여 X-선이나 라만 분광기(Raman spectroscopy)와 같은 다양한 방법으로 효소-기질 복합체(enzyme- substrate complex)의 존재를 확인하였고, 이들 간의 상호작용은 효소-기질 복합체마다 다르기는 하지만 매우 약한 결합으로 대부분 반데르발스(van der Waals) 결합과 수소결합으로 알려져 있다.

온도와 pH는 효소의 활성에 큰 영향을 미친다. 온천지대에서 발견되는 내열성 미생물 등 예외가 있기는 하지만 효소는 대개 40 ℃ 정도까지는 온도증가에 따라 활성이 증가한다. 하지만 그 이상에서는 열에 의한 변성이 일어나서 활성을 잃어버린다. 또, 위(stomach)에서 작용하는 펩신(pepsin)처럼 최적 pH가 2정도로 강산성인 경우도 있으나 효소의 활성은 대부분의 효소의 경우 pH가 중성 부근일 때 가장 좋다.

3.5 의학 및 산업적으로 활용되는 효소의 종류

효소는 의학과 산업분야에 폭넓게 응용되고 있고 모두 동식물이나 미생물 등 생체에서 얻어진다.

3.5.1 산업적으로 사용되는 효소

산업용 효소는 여러 가지가 있다(표 3.1). 이러한 여러 효소 중 가수분해효소의 응용이 가장 광범위하다(표 3.2) 가수분해효소는 효소가 분해하는 결합형태에 따라 크게 나누면 다음과 같다.

1) 펩티드 결합(peptide bond) 등 여러 가지 질소결합의 가수분해에 관여하는 효소 : 단백질 분

해효소

2) 에스테르 결합(ester bond) 분해효소 : 지질 분해효소

3) 글리코시딕 결합(glycosidic linkage) 분해효소 : 아밀레이스, 셀룰레이스, 헤미셀룰레이스

단백질 분해효소

단백질 분해효소는 단백질을 작은 펩티드 단위로 가수분해하는 데 사용된다. 단백질 분해효소는 전체 효소 시장의 60 %를 점유하고 있으며 공업적으로 중요하다. 공업적으로 생산되는 단백질 분해효소는 박테리아(예 : *Bacillus*), 곰팡이(예 : *Aspergillus*, *Rhizopus*), 동물의 췌장, 그리고 식물에서 얻고 있다. 단백질 분해효소는 치즈 제조(rennet), 제빵, 고

표 3.1 산업용 효소의 예

	효소 이름	생산 균주/장기	응용 분야
아밀라아제 (amylase)	디아스타아제(distase)	누룩	소화제, 빵에 첨가, 시럽
	아밀라아제(amylase)	*Bacillus subtilis*	직물의 풀 제거, 시럽, 알코올 발효공업, 포도당 생산
	아밀로글루코시디아제 (amyloglucosidase)	*Rhizopus niveus*	포도당 생산
프로테아제 (protease)	트립신(trypsin)	동물 췌장	의약용, 연육용, 맥주흐림제거
	펩신(pepsin)	동물 위장	소화제, 연육용
	레넷(rennet)	송아지 위장	치즈 제조
	파파인(papain)	파파야	소화제, 의약용, 맥주흐림제거, 연육용
	프로테아제(protease)	*B. subtilis*	세제, 필름에서 젤라틴 제거(은 회수), 연육용
기 타	글루코오스 이소메라아제 (glucose isomerase)	*Lactobacillus brevis*	글루코오스를 프룩토오스로 이성질체화함
	리파아제(lipase)	췌장	소화제, 우유제품 풍미첨가
		곰팡이(*Rhizopus*)	
	셀룰라아제(cellulase)	*Trichoderma koningi*	소화제
		Trichoderma viride	셀룰로오스 가수분해
	펙티나아제(pectinase)	*Sclerotina libertina*	쥬스 수율증가 및 청정화

표 3.2 가수분해효소

효 소	기 질	가수분해 생성물
에스테르 가수분해효소(esterase) :		
리파아제(lipase)		
포스파타아제 : 레시티나아제 (phosphatase : lecithinase)	글리세리드(지방)	글리세린+지방산
탄수화물 가수분해효소(carbohydrase) :		
푸룩토시다아제(fructosidase)	설탕	과당+포도당
α-글루코시다아제(말타아제) (α-glucosidase <maltase>)	맥아당	포도당
β-글루코시다아제(셀로비아제) (β-glucosidase <cellobiase>)	셀로비오스	포도당
β-갈락토시다아제(β-galactosidase)	젖당	갈락토오스+포도당
아밀라아제(amylases)	녹말	맥아당 또는 포도당+말토올리고당
셀룰라아제(cellulase)	셀룰로오스	셀로비오스(cellobiose)
질소함유화합물: (nitrogen-carrying compounds)		
프로테이나아제(proteinase)	단백질	폴리펩티드
폴리펩티다아제(polypeptidase)	단백질	아미노산

기 연화(파파인, 트립신), 주류 제조(트립신, 펩신) 등의 식품 공정과 단백질 얼룩제거, 가죽 무두질 등에 사용되고 있다.

지질 분해효소 (lipase)

리파아제(lipase)는 지질을 가수분해하여 지방산(fatty acid)과 글리세롤(glycerol)을 만들며, 동물의 췌장, 곰팡이와 효모에서 생산된다. 리파아제는 오일(oil)을 가수분해하여 비누를 만드는 데 사용하기도 하고 폐수 속에 존재하는 지질-지방 화합물을 가수분해시키는 데에도 사용할 수 있다. 오일과 지방 사이의 에스테르반응에 리파아제를 촉매로 사용할 수 있다. 리파아제의 중요한 응용 분야 중 하나는 세제(detergent)이다.

글리코시딕 (glycosidic) 결합 분해효소

(1) 아밀라아제 (amylase)

아밀라아제는 전분(starch)의 가수분해에 사용되며, *A. niger*나 *B. subtilis*를 포함한 여러 종류의 미생물로부터 생산된다. 아밀라아제는 3종류로서 α-아밀라아제, β-아밀라아제, 글루코아밀라아제가 있다. α-아밀라아제는 아밀로우스 사슬에 있는 α-1,4-글리코시딕 결합을 무작위로 끊어 아밀로우스를 분해시킨다. 이와 같은 이유 때문에 α-아밀라아제는 전분을 액화시키는 효소로 알려져 있다. β-아밀라아제는 아밀로우스의 비환원성 말단의 α-1,4-글리코시딕 결합을 가수분해시켜 맥아당(maltose)을 생산한다. β-아밀라아제는 당화 효소로 알려져 있다. 전분의 아밀로펙틴에 있는 α-1,6-글리코시딕 결합은 글루코아밀라아제(glucoamylase)에 의해 가수분해된다. 이것 역시 당화 효소로 알려져 있다. 미국에서 전분을 효소로 가수분해하여 생산하는 포도당의 양은 1년에 거의 6×10^5 톤에 달한다. 풀루라네이스(pullulanase)는 α

-1,6-글리코시딕 결합을 선택적으로 가수분해한다.

(2) 셀룰라아제 (cellulase)

셀룰라아제는 섬유소(cellulose)의 가수분해에 이용되며 *Tricoderma viride*나 *T. reesei* 등과 같은 *Tricoderma* 종들이나 *Aspergillus niger*나 *Thermomonospora*와 같은 곰팡이, 그리고 몇 가지 *Clostridium* 종에 의해서 생산된다. *Tricoderma*가 생성하는 셀룰라아제는 결정형 셀룰로오스를 가수분해하나 *Aspergillus*가 생산하는 셀룰라아제는 하지 못한다. 셀룰로오스는 처음 셀룰라아제에 의해 셀로바이오스(cellobiose)로 가수분해되고, β-글루코시다아제(β-glucosidase)는 이것을 포도당으로 가수분해한다. 이 효소들에 의한 반응은 최종 산물인 셀로바이오스와 포도당에 의해 저해(inhibit)된다. 셀룰라아제는 곡류가공, 생물자원으로 부터의 에탄올 발효, 주류 생산, 폐기물 처리 등에 사용된다.

(3) 헤미셀룰라아제 (hemicellulase)

헤미셀룰라아제는 헤미셀룰로오스(hemicellulose)를 5탄당 단량체로 가수분해하며 *A. niger*와 같은 몇 가지 곰팡이에 의해 생산된다. 헤미셀룰라아제는 다른 효소와 공동으로 빵 반죽, 주류 생산, 생물자원으로부터의 에탄올 발효, 폐기물 처리 등에 사용된다.

3.5.2 효소의 의학적 응용

현재 의약품 분야에서 여러 종류의 효소를 이용하고 있다. 콧물이나 눈물과 같은 보호 체액 중에 들어 있는 효소는 라이소자임(lysozyme)이다. 이것은 여러 종류의 그람양성 박테리아 세포벽의 뮤코다당류(mucopolysaccharide)를 가수분해한다. 따라서 이 효소는 항세균제로 사용된다.

효소 L-아스파라기나아제(asparaginase)는 L-아스파라긴(asparagine)의 가수분해를 촉매하는 작용을 한다. 암세포 중에는 L-아스파라긴을 필요로 하는 것이 있으므로, L-아스파라기나아제를 사용하여 이 필수 영양물을 제거함으로써 이러한 암세포의 증식을 억제할 수 있다.

표 3.3 의학적 용도로 중요한 효소의 예

의학적 용도로 중요한 효소의 예	전형적 응용
트립신(trypsin)	함염증제, 상처 세척제
글루코오스 옥시다아제 (glucose oxidase)	혈액 및 소변 중의 글루코오스 검사
리소자임(lysozyme)	특정 궤양, 홍역 반점, 복합 경화증, 몇 가지 피부 질환, 수술 후의 감염 등의 치료(항세균제).
히알루로니다아제(hyaluronidase)	인체 세포 사이에서 발견되는 비교적 비투과성 고분자인 폴리히알루론산 가수분해 : 항생물질, 아드레날린, 헤파린과 같은 동시 주사 화합물과 외과 및 치과에서의 국부 마취제의 확산을 증가시킨다.
소화 효소	소화제(아밀라아제, 리파아제, 프로테아제, 셀룰라아제의 혼합물)
스트렙토키나아제(streptokinase)	함염증제
스트렙토도르나아제(streptodornase)	함염증제, 또는 DNA 소화, 상처 침출물의 점도 감소
페니실리나아제(penicillinase)	알레르기성 개체로부터 페니실린의 알레르기형 제거
우로키나아제(urokinase)	응혈(blood clots) 방지 및 제거
조직 플라스미노겐 활성화제(TPA) (tissue plasminogen activator)	응혈 용해
아스파라기나아제 (asparaginase)	항암제

3.6 효소의 대규모생산

대량으로 생산되고 있는 효소로는 단백질 분해효소인 subtilisin, rennet, 가수분해효소인 펙틴 분해효소(pectinase), 지질 분해효소(lipase), 유당 분해효소(lactase), 포도당 이성화효소(glucose isomerase), 그리고 포도당 산화효소(glucose oxidase)가 있다. 이러한 효소들은 과잉생산균주(over producing strain)로부터 생산된다.

생물체로부터 특정한 효소를 분리, 정제하기 위해서는 세포를 파괴하여 세포찌꺼기와 핵산을 제거한 후 단백질을 침전시키고 원하는 효소를 한외여과(ultrafiltration)와 크로마토그래피를 이용하여 분리하고 결정화(crystallization)와 건조하는 과정 등이 필요하다. 공정의 체계는 생성된 효소가 세포 내부에 남아 있는가(intracellular enzyme) 혹은 세포 외부에 있는가(extracellular enzyme)에 따라 달라진다.

발효 및 세포배양 생성물의 분리정제에 관해서는 제11장에 자세히 기술되어 있다.

효소를 대규모 생산하는 공정의 첫 단계는 효소를 생산하는 생물체를 배양하는 것이다. 이때 생산 조건을 제어하여 효소의 과잉생산을 위하여 배양 조건을 최적화할 수 있다. 단백질 분해효소는 과잉생산 균주인 *Bacillus*, *Aspergillus* 등을 이용하여 생산하고, 펙틴 분해효소는 *Aspergillus niger*, 유당 분해효소는 효모나 *Aspergillus*를 이용해 생산한다. 지질 분해효소(lipase)는 효모나 곰팡이에 의해 생산된다. 포도당 이성화효소는 *Flavobacterium arborescens*나 *Bacillus coagulans*에 의해 생산된다.

효소배양 방법에는 고체배양과 액체배양이 있다. 고체배양은 일반적으로 곰팡이의 세포 외 효소(extracellular enzyme) 생산에 적합한 방법이고, 액체배양은 모든 미생물의 효소생산에 적용되는 방법이다. 액체배양이 고체배양에 비하여 좁은 면적에서 가능하며, 관리가 쉽고, 기계화가 가능하며, 대량생산에 알맞다. 그러나 생산된 효소의 역가가 고체배양의 추출액보다 약간 떨어진다.

배양단계가 끝나면 배지로부터 세포를 분리하는데, 보통은 여과(filtration)를 이용하나 때로는 원심분리도 이용된다. 생성된 효소가 세포 안 또는 세포 밖에 있느냐에 따라 효소의 분리, 정제를 위해서 세포나 배양액을 더 처리하기도 한다. 세포 내 효소(intracellular enzyme)의 회수는 세포 외 효소(extracellular)의 회수에 비하여 더 복잡하여 세포의 파쇄, 세포 찌꺼기와 핵산의 제거가 수반된다.

어떤 경우에는 효소가 세포 안과 밖에 공존하는 경우가 있다. 이러한 경우에는 배양액과 세포를 동시에 처리하여야 한다. 세포 내 효소는 세포막의 투과성(permeability)을 향상 시켜 배양액으로 분비시킬 수도 있다. 이러한 목적을 위해 $CaCl_2$와 같은 염(salt)이나 DMSO (dimethylsulfoxide)와 같은 화학약품 또는 pH 전이(shift)가 사용되고 있다. 효소의 분비가 완전하지 않다면 세포를 파괴해야만 한다.

이러한 공업적 효소를 생산하는 데 사용되는 공정들은 유전자 재조합으로부터 단백질을 생산하는 공정에서도 공통적으로 이용되고 있다.

3.7 효소의 고정화

효소를 화학적 또는 물리적 방법에 의하여 불용성 담체(matrix)에 고정하여 이동성을 제한하는 것을 효소고정화(enzyme immobilization)라고 한다. 효소를 고정화하면 용액상태의 효소에 비하여 장단점이 있다. 장점으로는 첫째, 재사용이 가능하기 때문에 비용이 절감되고 사용 후 분리를 시행할 필요가 없다. 둘째, 고정화 효소는 불용성이기 때문에 연속 반응기에서도 이용이 가능하다. 셋째, 외부 조건 변화에 대한 효소의 민감성을 감소시킬 수 있다. 단점으로는 확산에 의한 물질전달 저항 때문에 효소반응의 효율성이 저하되는 점과 효소의 작용 부위가 불활성화될 수 있다는 점이다.

효소를 고정화하는 방법에는 물리적인 방법과 화학적인 방법이 있다. 물리적 방법에는 흡착법과 포괄법이 있고, 화학적 방법에는 공유결합법과 화학적 가교법이 있다.

1) 고분자 매트릭스막 속에 효소를 포괄적으로 고정화하는 방법

2) 효소를 막에 물리적으로 흡착시키는 방법

3) 고분자 막 또는 무기담체막에 효소를 공유결합시키는 방법

4) 효소끼리 서로 가교화하여 막 모양으로 형성하는 방법

3.7.1 포괄법(가두기)

포괄법(entrapment)은 중합체로 망상구조를 만들고 효소를 이 가교된 중합체 안에 가두어 고정하는 방법(격자형)과 반투막인 고분자의 엷은 막으로 된 미세캡슐(microcapsule) 안에 가두는 방법(microcapsule형)이 있다.

효소 고정화를 위하여 사용되는 격자는 보통 Ca-알진산염(Ca-alginate), 아가(agar), κ-카라지난(κ-carrageenin), 폴리아크릴아미드, 콜라겐(collagen)과 같은 고분자이다. 효소를 고분자 격자 속에 고정화시키기 위해서는 효소용액을 고분자 용액에 혼합하여 중합반응을 시킨다. 그리고 액체상의 고분자-효소 혼합물을 입자형태로 만들기 위하여 중합된 겔을 사출하거나(extrude) 주형내에서 중합한다. 미세캡슐화(microencapsulation)는 미세하면서 속이 빈 다공성막(porous membrane)으로 구(球)를 만들어 효소액을 그 내부에 담는다.

포괄법의 경우에는 효소가 막 안에 고정화되어 있기 때문에 기질의 확산이 반응의 율속단계(rate limiting step)가 되는 경우가 자주 있다. 따라서 고체 겔의 입자 크기를 작게하거나 효소 고정화 막을 얇은 막으로 만든다.

3.7.2 흡착법

흡착(adsorption)이란 효소가 반데르발스 힘 또는 분산력과 같은 약한 물리적 힘에 의하여 지지입자의 표면에 부착하는 것이다. 효소흡착에 사용되는 지지물질로는 무기물질, 유기물질 및 이온교환수지가 있다. 무기물질에는 알루미나, 활성탄, 실리카, 세라믹, 다공성 유기, 규조토 등이 있다. 유기물질로는 활성탄, 전분, 셀룰로오스 등이 있고 이온교환수지에는 엠버라이트(Amberlite), 세파덱스(Sephadex), 다우엑스(Dowex) 등이 있다.

3.7.3 공유결합법

공유결합법이란 효소를 공유결합에 의해 지지물질의 표면에 부착시키는 것이다. 일반적으로 효소는 아미노기(-NH_2), 카르복실기(-COOH), 수산화기(-OH), 황화수소기(-SH) 등 아미노산 잔기를 가지고 있다. 이들 잔기와 막 표면에 노출되어 있는 기능기를 공유결합시켜 효소를 막에 고정화한다. 예를 들면, 지지체의 카르복실기와 효소의 아미노기를 펩티드 형성 반응으로 결합시킬 수 있다. 지지체의 수산기 등은 시안브롬(BrCN) 등으로 활성화시킨 후에 효소를 결합시킨다. 또 아미노기 등을 가지는 막의 경우에는 2개의 기능기를 가지는 글루타르알데히드 등과 반응시켜 시프-베이스(shiff-base)를 형성시켜 여기에 효소를 결합시키는 방법이 널리 이용된다.

3.7.4 가교화법

가교화법이란 효소와 글루타르알데히드(glutaraldehyde) 등 저분자량 물질을 공유결합시켜 가

교를 형성하는 방법이다. 아미노기를 가지고 있는 담체에 효소 용액과 글루타르알데히드를 반응시키면 효소와 담체 사이, 혹은 효소분자 사이에 가교반응이 일어나 효소가 막 위에 고정화되는 방법이다.

담체가 아미노기나 수산기와 같이 가교화될 수 있는 기능기가 없는 경우에는 효소와 함께 알부민 등의 단백질을 동시에 반응시킨다. 그러면 효소와 단백질 중의 아미노기가 반응하여 효소-효소, 효소-단백질, 단백질-단백질 등의 복잡한 반응이 일어나 불용성 망상구조가 생성되어 겔 모양의 고정화 효소를 얻을 수 있다.

3.8 고정화 효소 응용 예

효소 고정화는 공업용뿐만 아니라 의료 및 분석용으로도 많이 응용되고 있다. 공업용 응용 예로는 고정화된 포도당 이성화효소(glucose isomerase)가 있다. 과당은 포도당보다 2

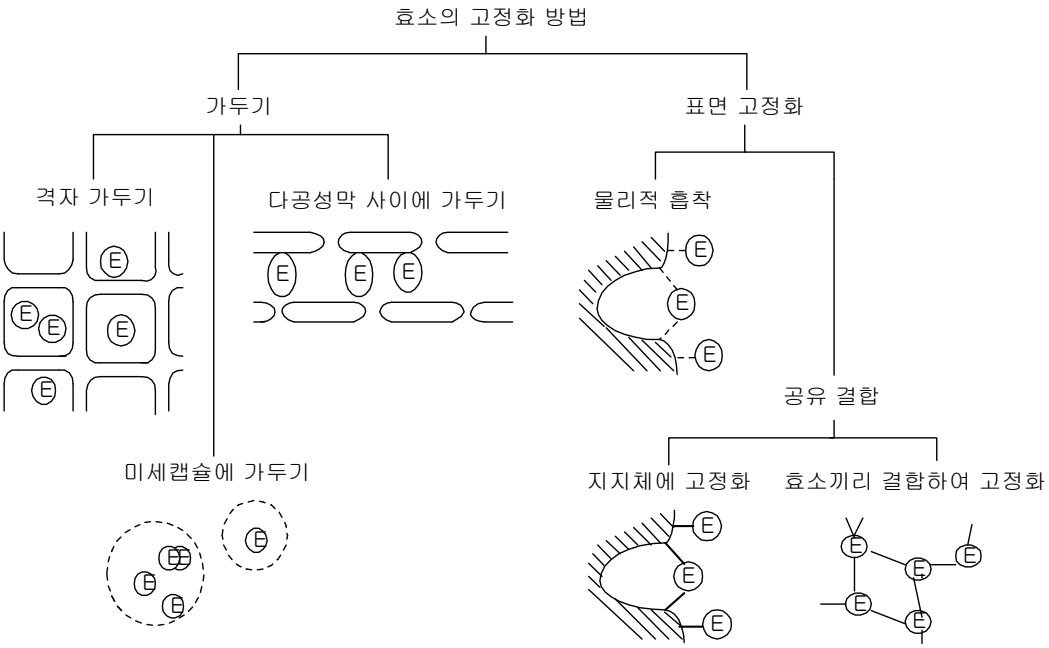

그림 3.3 효소의 고정화 방법

배정도 달기 때문에 청량음료의 감미료로 사용된다. 이 과당을 생산하기 위하여 고정화된 포도당 이성화효소를 이용하여 전분을 가수분해하여 얻은 포도당을 과당(fructose)으로 전환시키는 공정이 산업화되어 있다. 포도당 이성화효소를 고정화하는 방법으로는 글루타르알데히드로 처리한 젤라틴을 사용하거나 실리카나 알루미나 같은 무기질 담체를 사용한다.

고정화 효소를 의료분야에 응용한 예는 선천적 대사질병 치료나 인공신장이 있다. 사람의 선천성 대사질병의 대부분은 체내의 한 가지 특정 효소에 결함이 있기 때문에 생긴다. 이러한 선천적 대사질병의 치료가 미래에는 유전자 치료법에 의해 그 특정효소의 결함을 제거하는 것이 가능해 지겠지만 아직은 효소투여의 방법이 쓰인다. 그런데 이때 사용되는 효소는 인체의 외부에

서 배양에 의해 생성된 것이기 때문에 인체의 면역계에 나쁜 영향을 줄 수 있으므로 직접 인체에 투여하지 않고 그 효소를 마이크로캡슐, 실관 또는 겔안쪽에 격리시켜 투여하면 막 안에 들어 있는 효소는 항체의 공격을 받지 않고 그 기능을 수행할 수 있다. 또 다른 예로 인공신장(artificial kidney)에 사용되는 효소인 우레아제(urease)는 흡착제인 수지(resin) 또는 탄(charcoal)이 함께 캡슐화된다. 우레아의 분해로 생성되는 암모니아를 마이크로갭슐 안에 흡착시킨다. 요즈음 시판되는 임신진단키트 또한 고정화 효소(또는 항체)가 사용된다.

고정화 효소를 분석에 응용한 예는 여러 종류의 효소 센서에서 찾을 수 있다. 이 중에서 포도당 센서는 혈당 측정, 식품 중의 당도 측정, 생의학 연구에서 당의 측정 등에 활용된다. 더 나아가 포도당 센서는 검지된 당 농도 정보에 따라 마이크로 칩에 의해 작동되는 인슐린 펌프가 필요량만큼의 인슐린을 방출하게 하는 장치에도 사용된다.