

Fore-zone 모사이동상(SMB) 크로마토그래피를 이용한 리소자임 연속 재접힘

박봉재, 이종호, 구윤모*

인하대학교 생물공학과, 초정밀생물분리기술연구센터

(ymkoo@inha.ac.kr*)

단백질 재접힘 기술은 원핵세포 내에서 단백질 과발현시 발생하는 내포체 형태를 정확한 3차원 구조를 가진 활성형 유용단백질로 재생산하는 중요한 기술이다. 일반적인 단백질 재접힘 기술로는 고농도 내포체를 고수율로 재접힘하기가 어렵기 때문에 연속 단백질 재접힘이 가능한 크기배제 고정상에 기반을 둔 four-zone 모사이동상 크로마토그래피(SMB)를 이용한 단백질 재접힘 기술을 개발하였다. 이 기술은 회분식 크로마토그래피 재접힘 기술에 비해 재접힘 용매의 절감과 함께 고농도 단백질 재접힘이 가능하여 단위 공정상의 높은 재접힘 수율과 생산성을 얻을 수 있다. 본 공정의 동력학적계수와 열역학적계수는 회분식 크기배제 크로마토그래피 재접힘 실험 결과와 시뮬레이션 결과를 비교하여 최적 값으로 구하였다. 재접힘 공정에서 중요한 역할을 하는 urea의 등온흡착식은 frontal 크로마토그래피를 통하여 Langmuir로 얻을 수 있었다. 재접힘된 단백질(리소자임)의 경우, 두 경로로 재접힘되기 때문에 두 가지 물질처럼 움직임을 확인할 수 있었으며, 재접힘되는 단백질의 크기는 urea 농도변화에 따라 변화함을 확인하였다. 이를 urea 농도와 단백질 크기간의 상관식으로 설명하고 각각의 다른 침투인자(ke)를 이용하여 시뮬레이션에 적용하였다. 재접힘되는 단백질은 크기배제, DTT는 선형등온흡착식을 따른다는 가정하에 Triangle theory를 이용하여 SMB 공정의 조업 조건을 구하여 SMB 실험을 수행하였고, 그 결과 시뮬레이션과 일치함을 확인하였다.