

Microfluidic protein digestion system for mass spectrometric analysis based on microbead-immobilized trypsin

장대호, 김양선¹, 이은규*
한양대학교 화학공학과;
¹한양대학교 마이크로바이오택센터
(eklee@hanyang.ac.kr*)

단백질 질량분석은 proteomics 연구에서 가장 많이 활용되는 분석방법 중 하나이다. 이 분석방법은 단백질을 절단하는 전처리공정을 필요로 한다. 기존의 절단공정은 용액 상에서 분석대상 단백질을 trypsin 등 절단효소 처리함으로써 진행되었다. 이 액상반응방법은 절단효소의 자기절단 (autodigestion)에 의한 부산물(undesired peptides) 생성, 효소 재사용의 불가능, 그리고 12 시간 이상의 공정시간이 소요되는 단점이 있다.

본 연구에서는 이러한 단점을 보완하여 단백질 절단과정과 질량분석과정을 연속적으로 연계시키기 위해 trypsin을 음이온 교환용 microbead(Toyo Pearl, Tosoh Corp, 일본)에 streptavidin-biotin system을 이용하여 고정화한 후, 이 microbeads를 미세유로가 식각된 plastic chip에 담지시킴으로써 microfluidic chip을 제작하였다.

Toyo Pearl 표면의 기능기가 trypsin 고정화 수율 및 고정화 후 효소역가에 미치는 영향을 조사하였다. Streptavidin으로 표면 개질한 bead에 고정화 된 trypsin의 활성이 가장 높았다. 우리는 효소기질을 이용하여 액상 효소 반응과 고정화 효소 반응의 반응속도를 비교하였다. 또한 고분자 단백질의 절단공정을 용액 상과 microchip system에서 똑같은 조건으로 각각 수행한 후 MALDI-TOF를 이용하여 절단수율 및 성능을 비교했다.