

## 고분자전해질 결정화법에 있어서 새로운 라이소자임 농도 분석에 관한 연구

김운수(학), 김우식(정), 김용욱(정)  
경희대학교 공과대학 화학공학과

### A new assay method of lysozyme concentration in polyelectrolyte precipitation

Woon-Soo Kim, Woo-Sik Kim, Yong-Wook Kim  
Dept. of Chem. Eng., Kyung Hee University

#### 서론

Egg white내의 약 3.5%을 차지하는 단백질의 일종인 Lysozyme은 세포의 세균막( Cell wall)을 용해(Lysis)할 수 있는 특별한 기능을 가진 효소로 의학용이나 식품첨가제로써 많이 사용되고 있다[1]. 최근 Egg white내의 Lysozyme을 대량분리하기 위한 방법의 일종으로 Egg white 단백질 수용액상에 전해성 고분자를 첨가하여 고분자의 기능성 분자에 단백질을 붙여 결정화시켜 분리하는 고분자전해질 결정화법(Polyelectrolyte precipitation)에 의한 Lysozyme의 분리에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[2].

지금까지 Lysozyme의 농도는 Lysozyme과 *Micrococcus lysodeikitus* cell(ML cell)과의 Lysis reaction에서 Initial reaction rate(Transmittance의 변화)를 측정하여 결정하였다[3]. 그러나 이러한 방법은 첫째, 초기 투과율의 변화가 매우 민감하여 정확한 기울기를 측정하기 힘들고 둘째, 농도측정 및 분석에 걸리는 시간이 길어 실제 공정에 응용하기가 불가능하다는 단점이 있어 새로운 농도분석방법이 요구되고 있다.

이에 본연구에는 고분자 전해질결정화법에 의한 Lysozyme의 분리에 있어서 Lysozyme의 분리효율을 쉽게 알 수 있도록 정확하고 신속한 새로운 Lysozyme 농도측정법을 제시하고자 하였다.

#### 이론

Lysozyme과 *Micrococcus lysodeikitus* cell(ML cell)과의 용해반응(Lysis reaction)은 대표적인 효소으로 그 반응식을 Michaelis-Menton equation으로 나타내면 식 (1)과 같다.

$$-\frac{dC_s}{dt} = r = \frac{r_{max}C_s}{K_M + C_s} \quad (1)$$

여기서,  $r_{max}$ 는 Maximun reaction rate,  $C_s$ 는 ML cell의 농도,  $K_M$ 은 Michaelis-Menton constant,  $t$ 는 시간을 각각 나타낸다.

Michaelis-Menton equation을 적분하여 정리하면 식 (2)와 같다.

$$\frac{K_M}{r_{max}} \ln \frac{C_{s0}}{C_s} + \frac{1}{r_{max}} (C_{s0} - C_s) = t \quad (2)$$

여기서  $C_{s0}$ 는 초기 ML cell의 농도를 의미한다.

만약 ML cell의 농도변화를 Transmittance의 변화의 관계로 나타낼 수 있다면, 식(2)는 쉽게 풀릴 수 있다.

본 연구에서는 여러가지 실험을 통하여 ML cell의 Transmittance(T)와 Concentration( $C_s$ )의 관계를 식(3)과 같이 표시할 수 있었다.

$$T = a \exp(bC_s) \quad (3)$$

## 실험

본연구에서는 Lysozyme과 Micrococcus lysodeikitus cell(ML cell)과의 용해반응(Lysis reaction)에서 Lysozyme과 ML cell의 농도를 달리하여 540 $\mu$ m에서 용해반응의 product가 Transmittance에 미치는 영향을 알아보았다.

## 결과 및 토론

### 1. 용해반응의 Product가 Transmittance에 미치는 영향

용해반응의 Product가 Transmittance에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Parry등이 제안한 Lysozyme의 Workable concentration range내인 1, 5, 10 $\mu$ g의 Lysozyme과 25mg% ML cell의 Reaction의 최종 Transmittance를 Fig. 1에 나타내었다.

Fig 1.에서 보는 바와 같이 Lysis reaction product는 98%이상으로 Transmittance에 미치는 영향은 무시할 수 있음을 알 수 있었다.

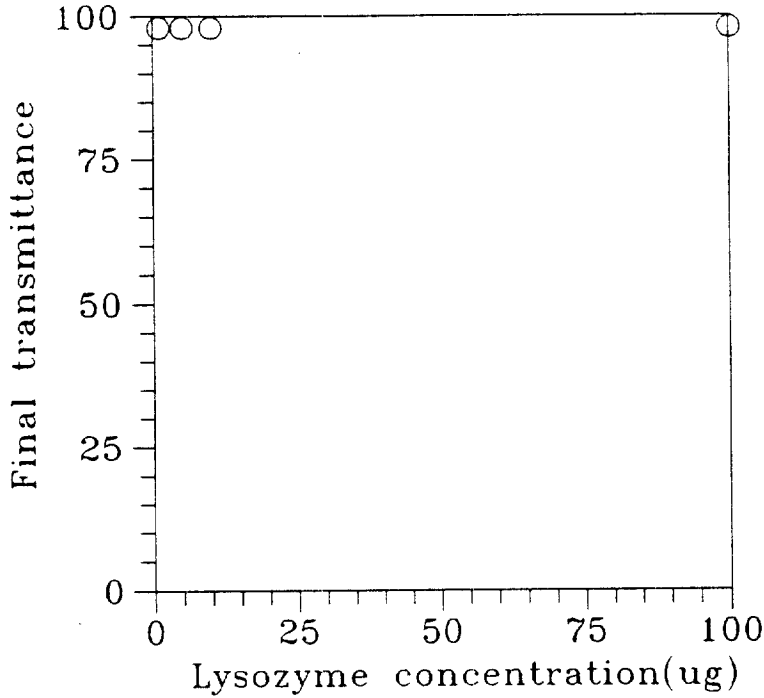


Fig. 1. Effect of lysis product on final transmittance at various concentration of lysozyme.

## 2. Transmittance(T)와 Concentration( $C_s$ )과의 관계식

Fig. 1에서 용해반응의 Product가 Transmittance에 미치는 영향은 무시할 수 있기 때문에 ML cell의 농도변화는 Transmittance(T)의 변화로 부터 직접 구할 수 있다. 순수 MLCell의 농도변화에 따른 Transmittance를 Fig. 2에 나타내었다.

이러한 Transmittance의 변화로 부터 Lysozyme과 ML cell의 용해반응은 다음과 같은 T와  $C_s$ 와의 관계식은 나타낼 수 있다.

$$T = 97.8 \exp(-0.0417C_s) \quad (4)$$

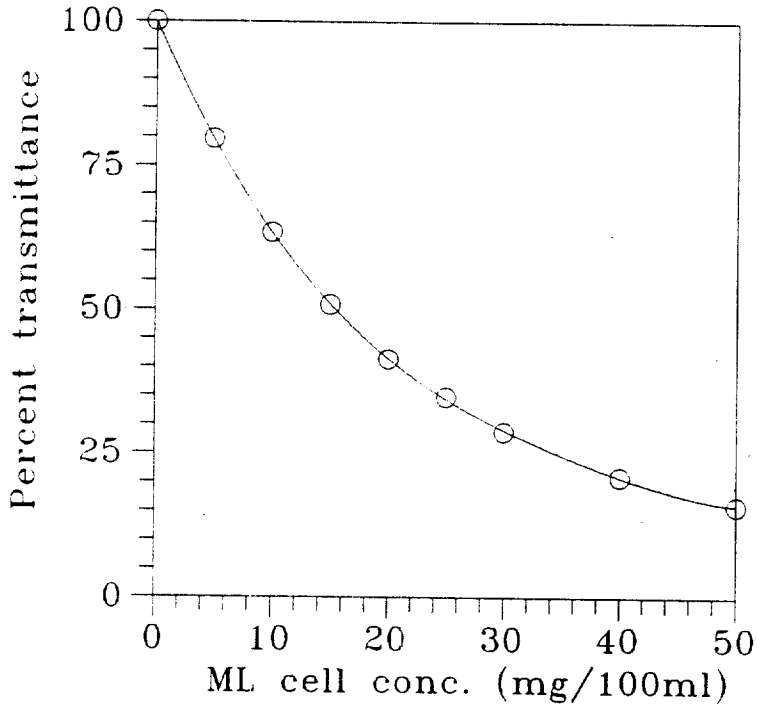


Fig. 2. Percent transmittance at various concentration of pure ML cell.

#### 참고문헌

1. Valerie A. Proctor and F. E. Cunningham, *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(4), 359(1988)
2. Rod R. Fisher and Charles E. Glatz, *Biotechnology and Bioengineering*, 32, 777(1988)
3. Richard M. Parry, Jr., Ramesh C. Chandan and Khem M. Shahani, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119, 384(1965)