

## 4.8 전기영동

전기영동(electrophoresis)은 생체 고분자들의 성질을 연구하고, 그것들을 분석, 분리, 정제하는 중요한 방법 중에 하나이다. 전기영동법으로 DNA, RNA나 단백질 등을 분리할 수 있는 것은 이들 분자가 고유의 전하를 띠고있어 전기장(electric field)에 놓이게 되면 서로 다른 속도로 이동할 수 있다는 것에 근거하고 있다.

### 전기영동의 원리

완충용액 속에서 거대분자(macromolecule)들은 전하를 띠게 된다. 예를 들어 DNA는 음전하를 띠며 단백질은 용액의 pH가 등전점(pI)보다 높으면(즉, 수소이온의 농도가 낮으면) 음전하를 띠고, pH가 pI보다 낮으면(즉, 수소이온 농도가 높으면) 양전하를 띤다. pI는 단백질의 순전하(net charge)가 0이 되는 pH이다. 용질 혼합물에 전기장을 걸면 양전하를 띤 물질은 음극으로 이동하며 음전하를 띤 물질은 양극으로 이동한다.

이 거대분자들을 전기장( $E$ )에 놓으면 분자의 전하( $q$ )에 따라 힘( $F=qE$ )을 받아 이동한다. 이 운동에 대한 항력(drag force)과 이 전기장의 힘이 균형을 이루면 분자는 일정한 속도( $v$ )로 이동하게 된다. 즉, 전기장에서 종단속도( $v$ )로 이동하는 하전된 입자에 대한 힘의 균형은 다음 식으로 표시된다.

$$qE = 6 \pi \eta r v \quad (47)$$

여기서,  $r$ 은 입자의 반지름,  $\eta$ 는 용액의 점도이다. 이 식을 변형하면

$$v = \frac{qE}{6 \pi \eta r} \quad (48)$$

즉, 거대분자가 움직이는 속도는 전하의 크기 및 전기장의 세기에 비례하고, 분자의 크기와 용액의 점도에 반비례한다.

현재 널리 쓰이는 전기영동법은 겔(gel) 전기영동법으로 아가로오스 겔,

폴리아크릴아미드 겔 및 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel eletrophoresis) 겔을 사용한다.

### 아가로오스 겔 전기영동

아가로오스 겔(agarose gel)은 해상도는 낮으나 아주 넓은 범위(200 bp ~ 50 kb)의 DNA나 RNA 시료를 간편하게 분리할 수 있기 때문에 가장 흔히 사용된다(그림 9.12). 아가로오스는 해초에서 추출되는 선형중합체 형태의 물질이다. 아가로오스를 적당한 완충용액에 녹여서 원하는 크기의 틀에 부어서 겔이 굳은 후에 사용한다.

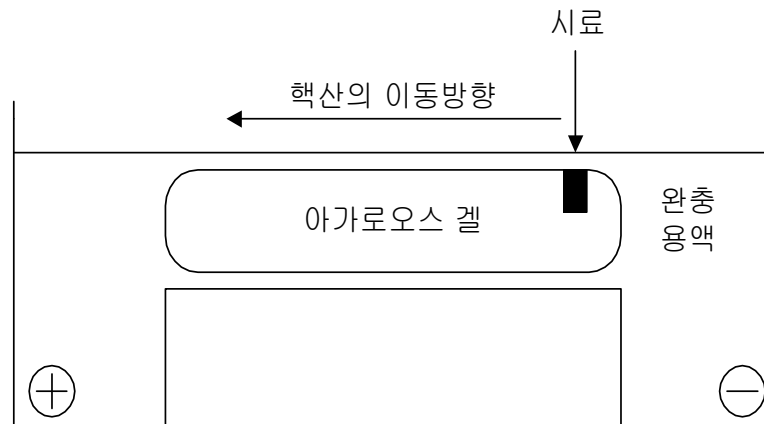


그림 12 아가로오스겔을 이용한 핵산의 전기영동

전기장하에서 음전하를 띠는 DNA가 양극으로 이동하는 데 일반적으로 DNA의 크기와 전기장에서의 이동성(mobility)은 로그함수로 반비례한다. 왜냐하면 큰 분자는 작은 분자보다 겔의 구멍을 지나가기 어렵기 때문이다.

같은 크기의 DNA 분자라도 아가로오스의 농도가 커지면 아가로오스 겔의 그물구조(network structure)가 촘촘해지기 때문에 이동속도가 작아진다. 따라서 아가로오스의 농도에 따라 DNA의 분리범위가 다르다. 아가로오스의 농도가 0.3%(w/v)로 낮을 때는 5~60 kb의 비교적 큰 DNA를 분리하며, 아가로오스 농도가 2.0%(w/v)로 높을 때는 0.1~2 kb의 작은 DNA를 분리한다.

같은 분자량의 DNA라도 형태에 따라 이동속도가 다르다. 0.1 ~ 0.5 mg / mL의 EtBr (ethidium bromide) 존재하의 아가로오스 겔에서 초나선 환상형(supercoiling circular) DNA는 열린 환상형(nicked circular) DNA 나 선형(linear) DNA보다 빨리 이동한다.

전기장에서 DNA의 이동성은 완충용액의 이온 강도와 조성에 영향을 받는다. 이온 강도가 너무 낮으면 DNA 이동이 너무 느리고, 이온 강도가 너무 높으면 열이 발생하여 심한 경우 겔이 녹거나 DNA의 구조가 변형된다. 실험실에서 많이 사용하는 완충용액으로는 Tris-acetate(TAE)와 Tris-borate(TBE)가 있다.

RNA는 단일가닥이면서 2차 구조를 갖는 경우가 많으므로 주로 포름알데히드로 변성시킨 겔을 이용하여 전기영동을 한다.

#### 폴리아크릴아미드 겔 전기영동

폴리아크릴아미드(polyacrylamide)는 크기가 작은 DNA(6 ~ 2000 bp)를 높은 해상도로 구분할 수 있다. 아크릴아미드 농도에 따라서 1개의 염기쌍 차이도 구분할 수 있다. 또한 많은 양의 시료를 다루어도 해상도에 영향이 적고, 겔로부터의 DNA 회수가 쉽고 깨끗한 DNA를 얻을 수 있다.

폴리아크릴아미드는 아크릴아미드(acrylamide)를 단량체(monomer)로 하고 이중기능 작용제(bifunctional agent)로 N', N'-메틸렌비스아크릴아미드(N', N'-methylenebisacrylamide)를 사용하여 중합하여 만든다. 염기서열용(gene sequencing) 겔에 쓰이는 아크릴아미드의 농도는 DNA 단편의 크기가 클수록 낮은 값을 사용한다. 프라이머(primer)로부터 50개 염기 정도의 핵산을 읽고 싶을 경우에는 15 ~ 20 % 농도를 사용하며 20 ~ 400개 염기 정도의 핵산에는 6 % 아크릴아미드를 포함하는 겔을 사용한다.

#### 기타 겔 전기영동

SDS-PAGE는 음이온성 세척제(anionic detergent)인 sodium dodecyl sulfate(SDS)를 사용하여 단백질이 각각의 단위체로 분리되게 함으로써 단

백질의 분자량이나 단백질의 단위체를 분석할 때 사용한다.

DNA의 크기가 50 kb 이상이 되는 경우에는 일반적인 전기장에서는 분리가 어려우며 간헐 전기장(pulsed-field) 전기영동법을 사용한다. 간헐 전기장 전기영동법은 거의 수직관계의 두 전기장을 걸어놓고 전기장력의 크기를 변화시키거나 전기장을 간헐적으로 공급해 준다. DNA 분자가 겔의 구멍으로 들어가 어느 한 방향으로 이동하다가 전기장의 방향이 바뀌면 이동방향을 바꿔야하는 데 DNA 분자가 길수록 새로운 방향을 찾는데 더 많은 시간이 소요되는 현상을 이용하여 분자 크기에 따라 분리하는 방법이다. 이 방법은 2 Mb 크기까지 분리할 수 있다.

#### Isotachopheresis와 Isoelectric focusing

존 전기영동법(zone electrophoresis) 이외에 사용되는 방법에는 isotachopheresis(ITP)와 isoelectric focusing (IEF)이 있다. ITP는 두 개의 다른 전해액(전도 전해액과 마감 전해액)을 사용한다. IEF는 단백질 분자를 pH기울기가 있는 곳에 놓았을 때 이 단백질은 pH가 그 단백질의 등전점(pI)와 같은 곳까지 이동하면 순전하가 0이되기 때문에 이동속도가 0이 되어 침착(precipitation)되는 것을 이용한다. 단백질을 분리, 정제하는 데 가장 효과적인 방법이다. 전기영동과 IEF의 차이점은 전기영동은 단백질의 크기와 일정한 pH에서 전체 전하에 의해 결정되는 이동속도에 따라 단백질을 분리하지만 IEF는 단백질의 등전점(isoelectric point)을 이용하여 단백질을 분리한다는 점이다. 등전점(pI)이란 단백질의 순전하(net charge)가 0이 되는 pH 값이다.