



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년07월17일
(11) 등록번호 10-2555152
(24) 등록일자 2023년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G21F 1/10 (2006.01) C12N 1/16 (2006.01)
C12N 11/02 (2020.01) G21F 3/02 (2006.01)
G21F 5/00 (2006.01) C12R 1/645 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G21F 1/10 (2013.01)
C12N 1/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0132329
(22) 출원일자 2020년10월14일
심사청구일자 2020년10월14일
(65) 공개번호 10-2022-0049121
(43) 공개일자 2022년04월21일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020170123044 A*
KR1020200005048 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)코엔바이오
경기도 성남시 중원구 사기막골로 124, 에스케이
엔테크노파크 제메가센터동 613호 (상대원동)
(72) 발명자
염규진
경기도 안양시 동안구 흥안대로223번길 47, 119동
803호 (호계동, 샘마을아파트)
이정아
서울특별시 강남구 일원로14길 25, 111-701(일원
동, 푸른마을아파트)
(74) 대리인
사광영

전체 청구항 수 : 총 4 항

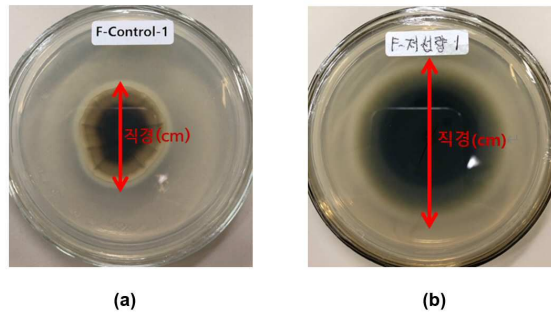
심사관 : 이용호

(54) 발명의 명칭 미생물을 이용한 방사선 차폐용 조성물 및 이를 포함하는 방사선 차폐제

(57) 요약

본 발명은 클라도스포리움 속(*Cladosporium* sp.) 미생물, 페네로키테 속(*Phanerochaete* sp.) 미생물 및 트라이코스포론 속(*Trichosporon* sp.) 미생물로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 포함하는, 방사선 차폐용 조성물을 제공한다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

C12N 11/02 (2013.01)

G21F 3/02 (2019.02)

G21F 5/00 (2013.01)

C12R 2001/645 (2021.05)

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 클라도스포리움 속(*Cladosporium* sp.) 미생물을 포함하고,
b) 페네로키테 속(*Phanerochaete* sp.) 미생물 및 트라이코스포론 속(*Trichosporon* sp.) 미생물 중에서 선택된 1종 이상의 미생물을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 방사선 차폐용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 클라도스포리움 속 미생물은 클라도스포리움 클라도스포리오이데스(*Cladosporium cladosporioides*)인, 방사선 차폐용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 페네로키테 속 미생물은 페네로키테 크라이소스포리움(*Phanerochaete chrysosporium*) 또는 페네로키테 소르디다(*Phanerochaete sordida*)인, 방사선 차폐용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 트라이코스포론 속 미생물은 트라이코스포론 루비에리(*Trichosporon loubieri*)인, 방사선 차폐용 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미생물을 이용한 방사선 차폐용 조성물 및 상기 조성물을 포함하는 방사선 차폐재에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 방사선(radioactive ray)은 일반적으로 방사성 물질(방사성 동위원소)이 안정한 물질로 붕괴될 때 발생하는 전자기파 혹은 입자선으로, 감마선(γ -ray), 엑스선(x-ray), 중성자선(neutron), 베타선(β -ray), 알파선(α -

ray) 등이 이에 해당한다.

- [0003] 방사선은 핵의학관련 병원, 원자력 발전소, 핵폐기물 처리 시설, 군용 핵물질 시설, 비파괴 산업과 같이 방사성 물질을 취급하는 곳에서 주로 발생한다. 이러한 방사선에 많은 양이 노출되거나 장시간 노출될 경우 DNA가 손상되어 인체에 치명적이므로 효율적 방사선 차폐는 작업자에게 매우 중요한 요소이다.
- [0004] 방사성 물질의 취급은 매년 증가하고 있으며, 현재 전 세계 방사선 차폐 관련 시장은 약 1,700조원 규모로 알려져 있다.
- [0005] 방사선 차폐재는 오래전부터 납 또는 납 화합물과 같은 중금속 분말을 사용하여 제조되어 왔으며, 현재까지도 대부분의 방사선 차폐재는 납 성분을 다량 포함하고 있다. 그러나 납 분진 성분은 인체에 유해할 뿐 아니라 중금속 폐기물로 인한 환경오염을 야기하고 있어, 미국, 유럽 등을 중심으로 납과 같은 중금속 제품의 사용을 규제하고 있다. 또한, 납으로 된 차폐재는 무거울 뿐 아니라 착용감이 나빠 작업자의 활동성이 제한되며, 제조비용도 매우 높다.
- [0006] 납을 포함하지 않는 방사선 차폐재와 관련하여, 대한민국 등록특허 제10-1145703호는 실리콘 폴리머, 토르말린, 황산바륨, 실리콘 경화촉진제를 혼합, 경화시켜 제조되는 방사선 차폐 시트를 개시하고 있다.
- [0007] 대한민국 등록특허 제10-2035512호는 텅스텐, 비스무스, 바륨, 유러븀, 디스프로슘, 스트론튬과 같은 방사선 차폐재를 예폭시, 우레탄과 같은 바인더 수지로 혼합한 방사선 차폐용 코팅제를 개시하고 있으나, 차폐제로 중금속을 이용하여 여전히 환경오염의 문제가 있으며, 이용 재료도 고가이다.
- [0008] 대한민국 등록특허 제10-1731785호는 방사선 차폐재에 연성과 신축성을 부여하기 위하여 알지네이트, 키토산, 히알루론산과 같은 제1고분자와 폴리아크릴아마이드, 폴리비닐알콜, 폴리에틸렌과 같은 제2고분자가 가교된 하이드로겔 매트릭스를 제시하고 있으나, 방사선을 차폐하기 위한 물질로는 보론, 리튬, 가돌리늄, 사마륨, 유로퓸, 카드뮴, 디스프로슘, 납, 철, 텅스텐과 같은 금속입자를 이용하고 있다.
- [0009] 상기 종래 기술들은 방사선 차폐재에 비록 고분자 재료를 포함하고 있으나, 방사선 차폐를 위한 성분은 실질적으로 중금속에 의존하고 있어, 여전히 인체 또는 환경에 유해할 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0010] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1145703호
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-2035512호
(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허 제10-1731785호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 방사선 차폐 능력이 매우 우수하고, 인체에 무해하며, 환경오염이 없으면서도 가벼워 착용감이 편안하고, 낮은 가격으로 제조가 가능한 방사선 차폐용 조성물 및 방사선 차폐재를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 *클라도스포리움* 속(*Cladosporium* sp.) 미생물, *페네로키테* 속(*Phanerochaete* sp.) 미생물 및 *트라이코스폰* 속(*Trichosporon* sp.) 미생물로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 미생물을 포함하는, 방사선 차폐용 조성물을 제공한다.
- [0013] 일 양태에서, 상기 *클라도스포리움* 속 미생물은 *클라도스포리움 클라도스포리오이데스*(*Cladosporium cladosporioides*)일 수 있고, 일 예에서 *클라도스포리움 클라도스포리오이데스*(*Cladosporium cladosporioides*) Ceb-RadF-001 균주(기탁번호: KCCM12440P)일 수 있다.
- [0014] 일 양태에서, 상기 *페네로키테* 속 미생물은 *페네로키테 크라이소스포리움*(*Phanerochaete chrysosporium*) 또는 *페네로키테 소르디다*(*Phanerochaete sordida*)일 수 있고, 일 예에서 *페네로키테 크라이소스포리움*

(*Phanerochaete chrysosporium*)Y-2 균주(기탁번호: KCCM10725P)가 이용될 수 있다.

- [0015] 일 양태에서, 상기 *트라이코스포론* 속 미생물은 *트라이코스포론 루비에리*(*Trichosporon loubieri*)일 수 있고, 일 예에서 *트라이코스포론 루비에리*(*Trichosporon loubieri*) Y1-A 균주(기탁번호: KCTC10876BP)가 이용될 수 있다.
- [0016] 한편, 본 발명은 상기 방사선 차폐용 조성물을 포함하는 방사선 차폐재를 제공한다.
- [0017] 일 양태에서, 상기 방사선 차폐재는 미생물 고정화 담체를 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 미생물 고정화 담체는 다공성 재질일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0019] 상기 미생물 고정화 담체는 고분자 수지, 활성탄, 제올라이트, 부직포 또는 직물에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0020] 상기 미생물 고정화 담체는 탄소나노튜브 또는 그래핀을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명에 따른 방사선 차폐용 조성물의 미생물은 방사선에 강한 내성을 가질 뿐 아니라 방사선을 흡수하여 생장 에너지로 이용하여 성장하므로 방사선 차폐 효과가 매우 우수하고, 납으로 된 차폐재와 비교할 때 차폐 효과가 대등하거나 더 우수하다.
- [0022] 또한 본 발명에 따른 방사선 차폐재는 납이나 다른 금속 분말을 소재로 사용하지 않아 인체에 무해하며 폐기 시에도 환경오염 문제가 없으며, 종래 차폐 재료에 비해 현저히 가볍고, 유연하여 작업자의 활동성이 편안하여 방사선 차폐용 의복, 에이프런, 장갑, 신발 등의 소재 또는 건축 소재로 활용가치가 높다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 본 발명에서 실시된 방사선(감마선) 조사실 내에서 미생물 시료의 조사 거리에 따른 배치를 나타낸다.
- 도 2는 본 발명의 실험예에서 방사선(감마선) 조사량 증가에 따른 미생물 균주별 변화를 나타낸다.
- 도 3에서 (a)는 방사선 조사하지 않은 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 생장 사진이고, (b)는 392 Gy의 흡수선량을 가지는 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 생장 사진이다.
- 도 4는 본 발명에서 미생물 부착에 이용한 다공성 폴리우레탄 필터를 나타낸다.
- 도 5는 본 발명에서 실시된 방사선(감마선) 조사실 내에서 차폐재 시료의 조사 거리에 따른 배치를 나타낸다.
- 도 6은 방사선 차폐율 측정 기구로서, (a)는 방사선 차폐율 측정 장비, (b)는 방사선 차폐율 측정 센서를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명에서 '방사선'은 전리 방사선(이온화 방사선)을 포함하고, 감마선, X-선, 중성자선, 알파선, 베타선을 포함한다.
- [0025] 본 발명에서 '미생물'은 별도의 언급이 없는 한 '균주'이거나 '균주'를 포함한다.
- [0026] 본 발명에서 '단독미생물'은 1종의 균주로만 이루어진 미생물을 의미한다.
- [0027] 본 발명에서 '복합미생물'은 2종 이상의 균주로 이루어진 미생물군을 의미한다. 복합미생물은 단독미생물의 배양액을 혼합하거나, 2종 이상의 균주를 동일배지에서 배양한 것을 포함한다.
- [0028] 본 발명에서 방사선과 관련한 '저선량'(low dose), '중선량'(medium dose), '고선량'(high dose)은 본 발명의 실시예들에서 방사선량(radiation dose)의 대소에 따른 방사선 차폐 효과를 서로 비교하기 위하여 사용된 용어일 뿐, 유해성에 대한 절대적인 범위를 의미하지는 않는다. 선량 단위 'Gy'(Gray)는 물질이 흡수한 방사선 에너지를 나타내는 단위로서, 물질 1kg 당 1줄(J)이 흡수되면 1Gy로 정의된다. 예컨대, 한번에 1Gy 이상의 방사선에 노출되면 거의 모든 사람에게서 급성방사선증(acute radiation sickness)이 나타나고, 만약 전신피폭 선량이 극도로 높으면(20Gy 이상) 심각한 급성 신경혈관 손상(acute neurovascular disease)이 발생할 수 있다. 참고로 체르노빌 사고에서 발전소 근무자의 가장 높은 방사선 피폭량은 16Gy였다. 본 발명의 실시예들에서 220.6 Gy,

392 Gy는 비록 저선량으로 표현되나, 이는 21,687 Gr, 38,600 Gy 에 비해 상대적으로 낮아 표현된 것일 뿐, 치사량의 수십~수백배에 해당하는 양이다.

- [0029] 본 발명자는 감마선, X-선과 같은 고위험 방사선을 효과적으로 차단할 수 있는 미생물을 선별하기 위하여 다양한 미생물들을 대상으로 연구한 결과, 3종류의 미생물에서 방사선 차폐 능력이 현저히 우수한 것을 확인하였다.
- [0030] 본 발명은 클라도스포리움 속(*Cladosporium* sp.) 미생물, 패네로키테 속(*Phanerochaete* sp.) 미생물 및 트라이코스포론 속(*Trichosporon* sp.) 미생물로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상을 포함하는, 방사선 차폐용 조성물을 제공한다.
- [0031] 본 발명의 방사선 차폐용 조성물은 상기 균주들을 단독으로 포함하거나(단독미생물), 상기 균주들의 혼합(복합미생물)로 포함할 수 있다.
- [0032] 상기 방사선 차폐용 조성물은 상기 균주 자체, 또는 이들의 배양액, 혼합액일 수 있고, 상기 균주, 배양액, 혼합액은 필요에 따라서 반건조 또는 건조된 형태일 수 있다.
- [0033] 상기 클라도스포리움 속(*Cladosporium* sp.) 미생물은 멜라닌 색소를 생성하는 검은색 곰팡이로 알려져 있으며, 클라도스포리움 클라도스포리오이데스(*Cladosporium cladosporioides*)이 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다. 일 예에서 클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주일 수 있다. 상기 클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주는 2019.02.26. 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms)에 기탁번호 KCCM12440P로 기탁되어 있다.
- [0034] 상기 패네로키테 속(*Phanerochaete* sp.) 미생물은 백색 곰팡이로 알려져 있으며, 패네로키테 크라이소스포리움(*Phanerochaete chrysosporium*) 또는 패네로키테 소르디다(*Phanerochaete sordida*)가 바람직하나 이에 제한되는 것은 아니다. 일 예에서 패네로키테 크라이소스포리움 Y-2 균주가 이용될 수 있다. 상기 패네로키테 크라이소스포리움 Y-2 균주는 2005.12.19. 한국미생물보존센터(KCCM, Korean Culture Center of Microorganisms)에 기탁번호 KCCM12440P로 기탁되어 있다.
- [0035] 상기 트라이코스포론 속(*Trichosporon* sp.) 미생물은 효모로서, 트라이코스포론 루비에리(*Trichosporon loubieri*)가 바람직하게 이용할 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 일 예에서 트라이코스포론 루비에리 Y1-A 균주가 이용될 수 있다. 상기 트라이코스포론 루비에리 Y1-A 균주는 2001.02.26. 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korean Collection for Type Cultures)에 기탁번호 KCTC10876BP로 기탁되어 있다.
- [0036] 본 발명에 따른 상기 미생물들은 배지에서 배양될 수 있다. 배양 배지로는 천연배지 또는 합성배지가 사용될 수 있다. 상기 배양 배지는 탄소원, 질소원, 무기염류를 포함할 수 있다.
- [0037] 상기 배양 배지의 탄소원은 제한되지는 않으나 예컨대, 포도당(glucose)과 설탕(sucrose), 과당(fructose), 엿당(maltose), 젖당(lactose), 덱스트린(dextrin), 덱스트로스(dextrose), 전분(starch) 등의 당류, 사과산(malic acid)과 구연산(citric acid) 등의 유기산류, 분자량이 적은 지방산(fatty acid) 등과 같이 미생물 배양분야에서 공지된 탄소원일 수 있다.
- [0038] 상기 배양 배지의 질소원은 제한되지는 않으나 예컨대, 펩톤(peptone), 육류 추출물, 효모 추출물(yeast extract), 건조된 효모, 카제인, 유청단백질, 대두, 암모늄염, 나이트레이트 및 기타 유기 또는 무기 질소, 황 함유 화합물 등과 같이 미생물 배양분야에서 공지된 질소원일 수 있다.
- [0039] 상기 배양 배지의 무기염류는 제한되지는 않으나 예컨대, 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 칼슘(Ca), 철(Fe), 칼륨(K), 나트륨(Na), 인(P), 황(S), 붕소(B), 몰리브덴(Mo), 구리(Cu), 코발트(Co), 아연(Zn) 등과 같이 미생물 배양분야에서 공지된 무기염류일 수 있다.
- [0040] 상기 배양 배지는 탄소원, 질소원 및 무기염류의 성분 이외에 필요에 따라서는 생육인자(growth factors)를 더 포함할 수 있다. 생육인자로는 아미노산, 비타민, 핵산 또는 이와 관련된 화합물일 수 있다.
- [0041] 본 발명에 따른 미생물들은 제한되지는 않으나, 20℃ 내지 40℃의 온도 범위, 바람직하게는 25℃ 내지 35℃의 배양온도 범위에서 배양될 수 있다.
- [0042] 본 발명에 따른 미생물은 제한되지는 않으나 12시간 내지 7일간, 바람직하게는 12시간 내지 5일간 배양될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 방사선 차폐용 조성물은 단독미생물 또는 복합미생물을 포함할 수 있다. 본 발명의 복합미생물은 각

균주를 개별 배양하여 얻은 배양액을 혼합하여 제조되거나, 2종 이상의 균주를 함께 배양하여 제조될 수 있다.

[0044] 본 발명의 방사선 차폐용 조성물에서 미생물의 농도는 제한되지는 않으나, 0.5×10^2 CFU/ml 이상, 바람직하게는 0.5×10^3 CFU/ml 이상, 더 바람직하게는 0.5×10^4 CFU/ml 이상, 더욱 바람직하게는 0.5×10^5 CFU/ml 이상일 수 있다.

[0045] 본 발명의 방사선 차폐용 조성물은 일 양태에서 미생물의 배양액, 배양액으로부터 농축 또는 정제된 미생물일 수 있고, 필요에 따라서는 건조, 반건조된 형태일 수 있다.

[0046] 본 발명의 방사성 차폐용 조성물은 필요에 따라서는 허용 가능한 담체가 추가될 수 있다. 허용되는 담체로는 선 발된 미생물들의 영양분으로 적합한 것으로서, 예컨대 식염수, 멸균수, 완충식염수, 텍스트로즈 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤 및 이들 성분 중 1성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 액상 제형이나 분말 등의 고형 제제로 제제화할 수 있다.

[0047] 한편, 본 발명은 상기 방사선 차폐용 조성물을 포함하는 방사선 차폐제를 제공한다. 본 발명의 방사선 차폐제는 미생물 고정화 담체(microorganism immobilized media)를 포함할 수 있다. 미생물 고정화 담체는 미생물이 잘 부착되도록 하는 한편, 차폐제의 형태를 유지하는 목적으로 사용될 수 있다. 일 양태에서 상기 미생물 고정화 담체는 기공(pores)을 가지는 매트릭스 형태의 고분자 수지, 활성탄, 제올라이트, 부직포, 직물 등과 같은 다공성 재료일 수 있다. 상기 고분자 수지는 제한되지는 않으나, 예컨대 폴리우레탄, 폴리아크릴아미드, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리비닐알콜 등과 같은 합성 고분자 또는 아가, 아가로스, k-카라기난, 알지네이트, 키토산 등과 같은 천연 고분자일 수 있다. 상기 미생물 고정화 담체의 형태는 제한되지는 않으나 폼, 스펀지, 필터, 시트, 필름일 수 있고, 필요에 따라서는 분말, 펠렛 형태일 수 있다. 일 양태에서 상기 방사선 차폐용 조성물은 미생물 고정화 담체에 담지되어 부착 안정화될 수 있고, 필요에 따라서는 추가적인 배양이 수행될 수 있다. 또한 필요에 따라서는 반건조 또는 건조될 수 있다.

[0048] 일 양태에서, 본 발명에 따른 방사선 차폐제는 상기 방사선 차폐용 조성물(미생물 배양액 또는 농축액)에 미생물 고정화 담체를 함침하여 제조될 수 있다. 함침 시간은 미생물이 담체에 충분히 부착되도록 하기 위한 것으로, 미생물과 담체의 종류에 따라 적절히 조절될 수 있다. 함침 시간은 12시간 이상일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 함침 시간은 바람직하게는 1일 내지 15일 동안일 수 있다. 필요에 따라서는 함침 후 반건조 또는 건조 과정이 추가될 수 있다. 건조는 자연 건조가 바람직하다.

[0049] 일 양태에서 상기 미생물 고정화 담체는 공지의 인트랩먼트법(Entrapment) 또는 인캡슐레이션법(Encapsulation)으로 제조될 수 있다.

[0050] 상기 미생물 고정화 담체는 방사선 차폐 효과가 있는 것으로 알려진 탄소나노튜브 또는 그래핀을 더 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명에 따른 방사선 차폐용 조성물 또는 방사선 차폐제는 방사선 차폐를 위한 의복(차폐복), 차폐 에이프런, 차폐 장갑, 차폐 모자, 차폐 신발, 차폐 시트, 차폐 패널 등의 재료로 다양하게 이용될 수 있다. 이때 상기 방사선 차폐용 조성물 또는 방사선 차폐제는 차폐 제품의 내부재로 이용될 수 있다.

[0052] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0054] 실시예 1: 단독미생물(*Phanerochaete chrysosporium* 균주) 함유 방사선 차폐용 조성물의 제조

[0055] 페네로키테 크라이소스포리움(*Phanerochaete chrysosporium*) Y-2 균주(기탁번호: KCCM10725P)는 정제수 1리터에 KH_2PO_4 0.175g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.025g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075g, NaNO_3 0.25g, K_2HPO_4 0.075g, NaCl 0.025g, Na_2EDTA 0.1g, KOH 0.062g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0498g, H_3BO_3 0.115g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.00181g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.000222g, $\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.00039g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.000079g, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.0000494g를 각각 첨가한 BBM (Bold's basal medium) 배지로 배양하였다.

[0057] 실시예 2: 단독미생물(*Trichosporon loubieri* 균주) 함유 방사선 차폐용 조성물의 제조

[0058] 트라이코스포론 루비에리(*Trichosporon loubieri*) Y1-A(기탁번호: KCTC10876BP)는 정제수 1리터에 potato

infusion 200g, dextrose 20g을 각각 첨가한 PDB (potato dextrose broth)배지에서 진탕배양기로 130 rpm, 30℃로 20시간 배양하였다. 미생물 생장곡선 중 대수기와 정상기의 중간 부분일 때 배양을 중지하여 이후 실험에 사용하였다.

[0060] 실시예 3: 단독미생물(클라도스포리움 클라도스포리오이데스 균주) 함유 방사선 차폐용 조성물의 제조

클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주(기탁번호: KCCM12440P)는 정제수 1리터에 beef extract 3g, peptone 5g, NaCl 8g을 첨가한 NB(nutrient broth) 배지에서 진탕배양기로 130 rpm, 30℃로 20시간 배양하였다. 미생물 생장곡선 중 대수기와 정상기의 중간 부분일 때 배양을 중지하여 이후 실험에 사용하였다.

[0063] 실시예 4: 2종 미생물을 함유한 방사선 차폐용 조성물의 제조

실시예 1에서 제조된 패네토키테 크라이소스포리움 Y-2 균주 배양액과 실시예 2에서 제조된 트라이코스포론 루비에리 Y1-A 균주 배양액을 1:1 혼합(v/v)하여 2종 복합미생물 배양액을 제조하였다.

[0066] 실시예 5: 2종 미생물을 함유한 방사선 차폐용 조성물의 제조

실시예 1에서 제조된 패네토키테 크라이소스포리움 Y-2 균주 배양액과 실시예 3에서 제조된 클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주 배양액을 1:1 혼합(v/v)하여 2종 복합미생물 배양액을 제조하였다.

[0069] 실시예 6: 2종 미생물을 함유한 방사선 차폐용 조성물의 제조

실시예 2에서 제조된 트라이코스포론 루비에리 Y1-A 균주 배양액과 실시예 3에서 제조된 클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주 배양액을 1:1 혼합(v/v)하여 2종 복합미생물 배양액을 제조하였다.

[0072] 실시예 7: 3종 미생물을 함유한 방사선 차폐용 조성물의 제조

실시예 1에서 제조된 패네토키테 크라이소스포리움 Y-2 균주 배양액, 실시예 2에서 제조된 트라이코스포론 루비에리 Y1-A 균주 배양액 및 실시예 3에서 제조된 클라도스포리움 클라도스포리오이데스 Ceb-RadF-001 균주 배양액을 1:1:1 혼합(v/v)하여 3종 복합미생물 배양액을 제조하였다.

[0075] 실험예 1: 방사선 조사에 따른 미생물 균주의 생존율 측정

[0076] (1) 시료의 준비

상기 실시예 1 내지 3에서 제조된 각각의 미생물 함유 조성물을 배플(baffle)이 있는 0.5 L 삼각 플라스크에 200 mL 넣고, 통기성이 있으며 수분 증발량이 적은 소수성의 실리콘으로 된 마개로 닫아 미생물 시료를 제작하였다. 상기 미생물 시료는 각 미생물 종류별로 3개(3반복)를 만들었다.

[0078] (2) 방사선 조사

도 1에 보이는 바와 같이, 코발트 ^{60}Co 방사선 조사실 내에서 상기 미생물 시료들을 선원(radiation source)으로부터 각각 25 cm 및 379 cm의 거리에 위치시키고, 셰이크(DAIHAN Scientific 모델 SH0-2D)에 올려 약 100 RPM의 속도로 계속하여 흔들면서 방사선을 조사하였다. 대조구(control)는 방사선을 조사하지 않았다.

실험기간 동안의 실험실 온도는 인위적 조절 없이 21℃ ~ 25℃ 범위를 유지하였다. 주로 업무 시간 동안은 실험실 내 형광등이 켜진 상태였으며 퇴근 시간 이후는 꺼진 상태로 유지되었다.

^{60}Co 의 선원과 조사 거리 등으로부터 시료의 흡수선량률(absorbed dose rate)을 계산하고, 약 5일간 93.08 hr 동안 방사선을 조사하였다.

^{60}Co 방사선 선량 조건은 하기 표 1와 같다.

표 1

흡수선량률 및 총 흡수선량

흡수선량률	조사 거리	조사 시간	흡수선량(D)
233 Gy/hr	25 cm	93.08 hr	$233 \text{ Gy/hr} \times 93.08 \text{ hr} = 21,687 \text{ Gy}$
2.37 Gy/hr	379 cm	93.08 hr	$2.37 \text{ Gy/hr} \times 93.08 \text{ hr} = 220.6 \text{ Gy}$

[0084] (3) 방사선 조사 후 미생물의 생존율 측정

[0085] *Trichosporon loubieri* 균주는 방사선 조사 전(0일)과 약 5일간 방사선을 조사 후 미생물의 생균수(균농도)를 각각 측정하고, *Cladosporium cladosporioides* 균주 및 *Phanerochaete chrysosporium* 균주는 방사선 조사 전(0일)과 약 5일간 방사선을 조사 후 미생물의 바이오매스(Biomass) 량을 측정하여 하기 표 2 내지 표 4에 나타내었다.

[0086] 미생물의 생존율은 방사선을 조사없이(0 Gy) 약 5일간 배양한 균주를 대조구(control)로 하여 대조구 대비 방사선 선량에 따른 균주의 생균수(균농도) 또는 바이오매스 량을 계산하여 백분율로 계산하였다.

표 2

[0087] ⁶⁰Co 방사선 선량에 따른 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 생존율

선량	Dry biomass (mg/100mL)		5일차 Control 대비 생존율(%)
	0일	5일	
0 Gy (Control)	205	495	100%
220.6 Gy	205	531	107.3%
21687 Gy	205	289	58.4%

표 3

[0088] ⁶⁰Co 방사선 선량에 따른 *Phanerochaete chrysosporium* 균주의 생존율

선량	Dry biomass (mg/100mL)		5일차 Control 대비 생존율(%)
	0일	5일	
0 Gy (Control)	288	623	100%
220.6 Gy	288	588	94.4%
21687 Gy	288	290	46.5%

표 4

[0089] ⁶⁰Co 방사선 선량에 따른 *Trichosporon loubieri* 균주의 생존율

선량	생균수 (CFU/mL)		5일차 Control 대비 생존율(%)
	0일	5일	
0 Gy (Control)	1.0×10^6	7.1×10^6	100%
220.6 Gy	1.0×10^6	6.9×10^6	97.2%
21687 Gy	1.0×10^6	5.6×10^4	0.8%

[0090] 표 2 내지 4에 보이는 바와 같이, *Phanerochaete chrysosporium* 균주와 *Trichosporon loubieri* 균주는 220.6 Gy에서 94% 이상의 높은 생존율을 보였으며, *Cladosporium cladosporioides* 균주는 대조구(control) 대비 오히려 7.3% 더 성장을 보였다. 이는 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 경우 방사선의 고에너지가 성장 에너지 원으로 사용하여 더 높은 성장량을 보인 것으로 판단된다. *Phanerochaete chrysosporium* 균주, *Cladosporium cladosporioides* 균주는 고선량(21,687 Gy)을 흡수하고도 각각 46.5%, 58.4%나 생존하였다. 참고로 미국 연구자들이 방사능에 매우 강하다고 보고한 *Deinococcus radiodurans* 균주는 9,000 Gy에서 1% 생존율을 보이는 것에 비해 본 발명의 미생물들이 방사선에 대한 현저히 높은 생존력을 가지는 것을 알 수 있다.

[0092] 실험예 2: 방사선 조사량에 따른 미생물들의 형태적 변화 실험

[0093] 실험예 1과 동일하게 실시하되, 7일간 각각 392 Gy, 3,810 Gy, 38,600 Gy로 선량을 높여 조사하였다. 조사선량에 따른 미생물 균주들의 형태적 변화를 확인하기 위하여 10mℓ씩 채취한 시료를 멸균 생리식염수로 10⁴배 희석하여 균주별 영양분이 포함된 고체배지(NA, TSA, PDA)에 치상 후 생존하여 자라는 미생물 균주를 관찰하여 도 2에 나타내었다.

[0094] 도 2에 보이는 바와 같이, 고선량으로 갈수록 균사체 및 포자의 두께 및 크기가 커지고 균사체와 포자에 소포체 및 핵(DNA)물질이 증가하는 것을 알 수 있다.

[0096] 실험예 3: 방사선 조사량에 따른 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 성장량 측정

[0097] 실험예 1에서 실시된 220.6 Gy에서도 성장량이 늘어난 *Cladosporium cladosporioides* 균주를 대상으로 7일간 각각 392 Gy, 3810 Gy, 38600 Gy로 감마선을 조사면서 균 성장량을 다시 측정하여 그 결과를 하기 표 5 및 도 3에 나타내었다. 대조구(Control)는 방사선을 조사하지 않은 균주이다.

표 5

[0098] 7일간 ⁶⁰Co 방사선 조사 후 균 성장량 측정 결과

방사선 조사일수	0일	7일
대조구	직경 3.60 cm	직경 3.90 cm
392 Gy 조사	직경 3.59 cm	직경 5.20 cm(대조구 대비 1.78배 성장량 증가)
3,810 Gy 조사	직경 3.61 cm	직경 3.10cm
38,600 Gy 조사	직경 3.62 cm	직경 3.05cm

[0099] 도 3 및 표 5에 보이는 바와 같이, *Cladosporium cladosporioides* 균주는 392 Gy 선량에서 성장 직경이 5.20 cm로 대조구 대비 성장량이 1.78배 증가하는 것을 알 수 있다. 또한, 38,600 Gy의 고선량에서도 사멸하지 않음을 알 수 있다.

[0101] 실시예 8: 방사선 차폐제의 제조

[0102] 상기 실시예 1 내지 7에서 제조된 미생물 함유 방사선 차폐용 조성물을 도 4에 보이는 바와 같이 25 ppi의 공극, 10 mm 두께를 가지는 다공성 폴리우레탄 필터에 각각 담지시킨 후 건조시켜 각 미생물들이 부착된 방사선 차폐제 시료를 제조하였다.

[0104] 실험예 4: 방사선 차폐 효과 실험

[0105] 본 발명에 따른 미생물 균주들의 방사선 차폐 효과를 측정하기 위하여, 실시예 8에서 제조된 방사선 차폐제 시료를 도 5에 보이는 바와 같이 ⁶⁰Co 방사선 조사실에서 배치하고 하기 표 6와 같은 차폐능 실험 조사 조건에서 방사선을 조사하였으며, 그 차폐율 측정 결과를 표 7에 나타내었다. 이때 방사선 차폐율 측정 센서는 Alanine Pellet Dosimeters (Bruker BioSpin사, USA)를 사용하여 폴리우레탄 차폐제 시료 뒷면에 부착하였고, 측정 장비는 e-scan (Bruker BioSpin사, USA)를 이용하였다(도 6).

표 6

[0106] 방사선 차폐능 실험 조사 조건

방사선 조사	⁶⁰ Co	온도: 22.7±1℃ (조사실)
흡수선량률 (Gy/hr)	2.3	광조도: 30-70 Lx
총 조사시간	48 hr	
총 흡수선량: 110.4 Gy		

표 7

[0107]

방사선 차폐율 측정 결과

	처리구(3반복)	Radiation Shielding Rate(차폐율) (%) [(D ₀ -D)/D ₀] $\times$ 100			
실시예	균주	22hr		48hr	차폐율 평균(%)
대조구	-	1반복	7.714206	10.222980	
		2반복	5.359606	7.970050	
		3반복	7.847337	9.021764	
		평균값	6.973717	9.071598	
실시예 1	<i>P. chrysosporium</i>	1반복	15.006447	14.156591	
		2반복	14.716102	14.255646	
		3반복	14.467462	14.714976	
		평균값	14.730004	14.375738	
실시예 2	<i>T. loubieri</i>	1반복	15.251054	15.172152	
		2반복	12.580364	10.388004	
		3반복	12.132538	13.717625	
		평균값	13.321318	13.092594	
실시예 3	<i>C. cladosporioides</i>	1반복	28.317547	25.219327	
		2반복	21.776832	22.316921	
		3반복	22.431189	19.726522	
		평균값	24.175189	22.420923	
실시예 4	<i>P. chrysosporium</i> + <i>T. loubieri</i>	1반복	17.034614	14.978545	
		2반복	15.698547	15.125686	
		3반복	15.495756	15.354685	
		평균값	16.076306	15.152972	
실시예 5	<i>P. chrysosporium</i> + <i>C. cladosporioides</i>	1반복	32.546856	25.969869	
		2반복	25.456256	24.987895	
		3반복	24.966856	23.546686	
		평균값	27.656656	24.834817	
실시예 6	<i>T. loubieri</i> + <i>C. cladosporioides</i>	1반복	30.569624	26.594856	
		2반복	27.695614	24.496256	
		3반복	25.266562	25.765922	
		평균값	27.843933	25.619011	
실시예 7	<i>P. chrysosporium</i> + <i>T. loubieri</i> + <i>C. cladosporioides</i>	1반복	30.469856	26.995586	
		2반복	27.456253	25.262575	
		3반복	27.685794	26.096846	
		평균값	28.537301	26.118336	
	두께 2mm 납		13.668271	11.646847	12.7
	두께 4mm 납		17.361586	19.719506	18.5
	두께 6mm 납		29.168030	26.541714	27.9

[0108]

상기 표 7에 보이는 바와 같이, 본 발명에 따른 단독미생물을 부착시킨 처리구(실시예 1 내지 3)는 대조구 및 2 mm 두께의 납보다도 높은 방사선 차폐율을 나타냈으며, 특히 *Cladosporium cladosporioides* 균주를 부착시킨 처리구에서 가장 높은 방사선 차폐율 23.3%를 나타냈으며 이는 4mm 두께의 납보다도 높은 차폐율을 나타냈다.

[0109]

또한, 본 발명에 따른 복합미생물을 부착시킨 처리구는 단독미생물에 비해 유의적으로 높은 방사선 차폐율을 나타냈으며, 실시예 5 내지 7의 조성물은 6mm 두께의 납과 대등한 방사선 차폐율을 나타냈다.

수탁번호

[0111]

기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM12440P

수탁일자 : 20190226

기탁기관명 : 한국미생물보존센터(국외)

수탁번호 : KCCM10725P

수탁일자 : 20051219

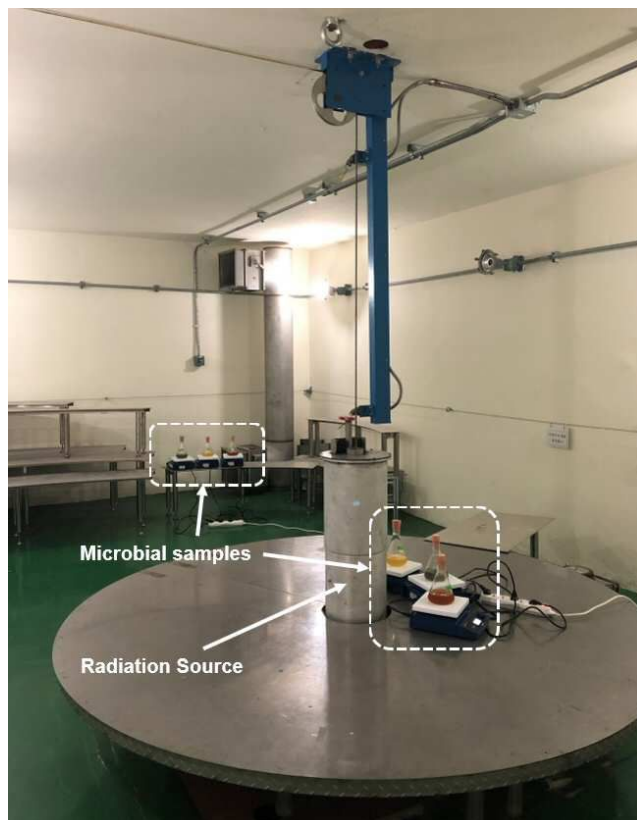
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC10876BP

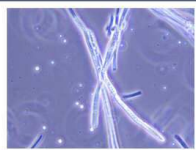
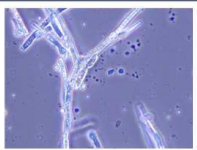
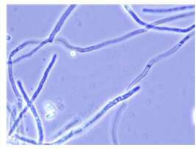
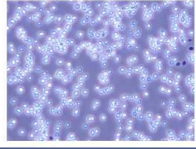
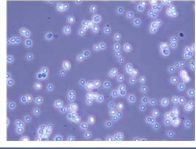
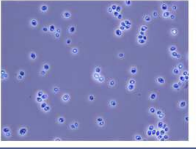
수탁일자 : 20010226

도면

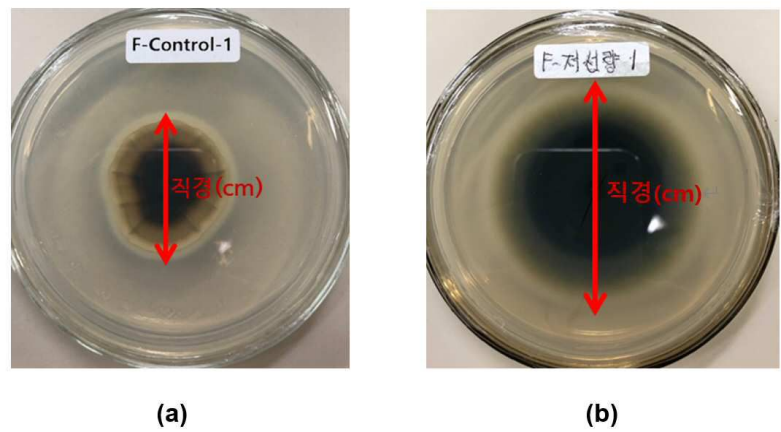
도면1



도면2

			
<i>Cladosporium cladosporioides</i> Control(0Gy)	저선량(392Gy)	중선량(3,810Gy)	고선량(38,600Gy)
			
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> Control(0Gy)	저선량(392Gy)	중선량(3,810Gy)	고선량(38,600Gy)
			
<i>Trichosporon loubieri</i> Control(0Gy)	저선량(392Gy)	중선량(3,810Gy)	고선량(38,600Gy)

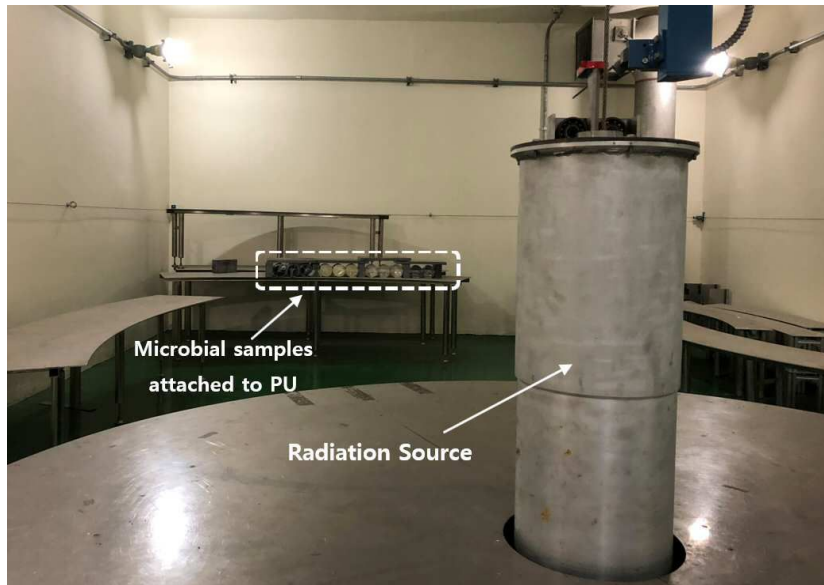
도면3



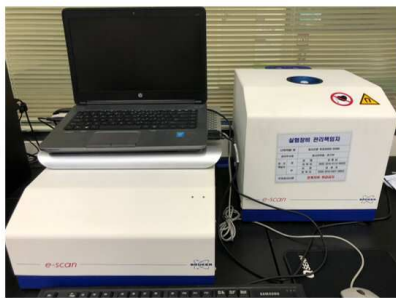
도면4



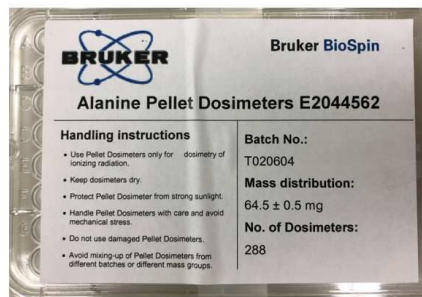
도면5



도면6



(a)



(b)