(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0085883
(43) 공개일자 2021년07월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/40 (2006.01) *C12N 11/00* (2006.01)
H01M 8/16 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12M 21/18 (2013.01)
C12N 11/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0179420
(22) 출원일자 2019년12월31일
심사청구일자 2019년12월31일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
나성수
서울특별시 영등포구 당산로42길 13, 106동 802호(당산동5가, 당산동1차 효성아파트)
윤태영
서울특별시 동대문구 안암로26길 11 201호
홍태우
서울특별시 노원구 동일로214길 21 (상계동, 상계주공4단지아파트) 414동 1204호
(74) 대리인
박상열, 최내윤

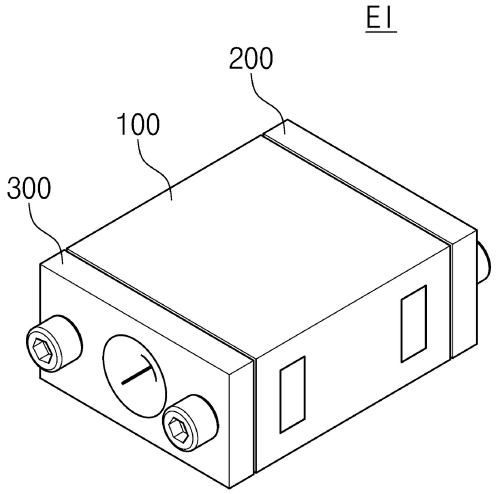
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **효소 고정 장치 및 그 동작 방법**

(57) 요 약

효소 고정 장치가 제공된다. 상기 효소 고정 장치는, 베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하되, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장(electric field)이 형성되는 것을 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Y 101/9901 (2013.01)
C12Y 103/03005 (2013.01)
C12Y 110/03002 (2013.01)
H01M 8/16 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2018H1A2A1062291
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 교육인력양성사업:글로벌박사펠로우십사업
연구과제명 전산 역학을 이용한 효소 기반 바이오 연료전지의 구조 해석 및 성능 향상 방법 연구
기 여 율 1/1
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2018.03.01 ~ 2023.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디; 및

상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하되,

상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장(electric field)이 형성되는 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 2

제1 항에 있어서,

상기 베이스 전극에 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스가 제공되고, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우,

상기 효소의 쌍극자 모멘트(dipole moment)가 상기 제1 방향과 같도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 3

제1 항에 있어서,

상기 베이스 전극에 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스가 제공되고, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우,

상기 효소의 활성화 자리(active site)가 상기 베이스 전극과 인접하도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 4

제1 항에 있어서,

상기 제1 전극 및 상기 제2 전극에 인가되는 전압은 1.5V 이하인 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 5

제1 항에 있어서,

상기 제1 전극 및 상기 제2 전극에 인가되는 전압은 1mV 이하인 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 6

제1 항에 있어서,

상기 베이스 전극으로부터 상기 제1 전극까지의 거리, 및 상기 베이스 전극으로부터 상기 제2 전극까지의 거리는 같은 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 7

제1 항에 있어서,

상기 베이스 바디는 내부에 수용 홈(groove)이 형성되고,

상기 수용 홈 내에 상기 인쇄 전극이 배치되는 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 8

제1 항에 있어서,

상기 제1 전극을 포함하는 제1 결합 바디, 및 상기 제2 전극을 포함하는 제2 결합 바디를 포함하되,

상기 제1 결합 바디 및 상기 제2 결합 바디는 각각 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 결합되는 것을 포함하는 효소 고정 장치.

청구항 9

베이스 플레이트; 및

상기 베이스 플레이트 상에 배치되는 복수의 제1 항에 따른 효소 고정 장치를 포함하되,

상기 복수의 효소 고정 장치들은 병렬적(parallel)으로 배치되는 것을 포함하는 효소 고정 플랫폼.

청구항 10

베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하는 효소 고정 장치를 준비하는 단계;

상기 베이스 전극에, 쌍극자 모멘트를 갖는 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스를 제공하는 단계;

상기 제1 전극 및 제2 전극 사이에 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장을 형성하여, 상기 베이스 전극에 상기 효소를 고정시키는 단계를 포함하되,

상기 효소의 쌍극자 모멘트(dipole moment)가 상기 제1 방향과 같도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함하는 효소 고정 장치의 동작 방법.

청구항 11

제10 항에 있어서,

상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되어 상기 전기장이 형성되고,

상기 전압 인가 시간이 경과됨에 따라, 상기 효소의 활성화 자리(active site)는 상기 베이스 전극과 가까워지도록, 상기 효소가 회전되는 것을 포함하는 효소 고정 장치의 동작 방법.

청구항 12

제10 항에 있어서,

상기 효소는 Laccase, Bilirubin oxidase, Glucose oxidase, 또는 Glucose dehydrogenase 중 어느 하나를 포함

하는 효소 고정 장치의 동작 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 효소 고정 장치 및 그 동작 방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 베이스 바디와 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 통해 전압이 인가되는, 효소 고정 장치 및 그 동작 방법에 관련된 것이다.

배 경 기 술

[0002] 바이오 연료전지는 물질의 화학적 에너지를 전기 에너지 형태로 바꾸는 에너지 변환 장치의 일종이다. 일반적으로 통칭되는 전지와 마찬가지로 양극과 음극을 가지고 있으며, 각 전극에 있어서 에너지 전환의 촉매로서 미생물 또는 효소를 이용하는 것을 그 특징으로 한다. 바이오 연료전지의 구동원리는 전해질 내 에 존재하는 기질과, 효소에 의해 촉진되는 화학반응 에서 생성되는 전자를 전극을 통하여 외부로 끌어냄으로써 전력을 생산하게 된다.

[0003] 전자의 생성/소모는 효소 내에 존재하는 보조인자의 산화/환원을 직접 이용하는 경우와, 효소 반응의 생성물이 전자와 반응하는 경우가 있다. 바이오 연료전지의 성능은 이러한 과정에서 생성되는 전자의 수와 생성된 전자의 전달효율에 의해 결정된다. 생성 되는 전자의 양은 전극에 존재하는 효소의 양에 관련 되며, 전자전달능력은 효소와 전극간의 위치관계나 결합형태 등에 기인한다.

[0004] 이에 따라, 바이오 연료전지의 성능을 향상시키기 위하여, 전극에 존재하는 효소의 양을 향상시키거나, 효소와 전극간의 위치관계나 결합형태 등을 개선하는 기술과 관련하여 지속적인 연구 및 개발이 이루어지고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명이 해결하고자 하는 일 기술적 과제는, 일정한 전기장을 생성할 수 있는 효소 고정 장치 및 그 동작 방법을 제공하는 데 있다.

[0006] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 기술적 과제는, 효소 고정 효율이 향상된 효소 고정 장치 및 그 동작 방법을 제공하는 데 있다.

[0007] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 기술적 과제는, 장비의 확장 및 대량 생산이 용이한 효소 고정 장치 및 그 동작 방법을 제공하는 데 있다.

[0008] 본 발명이 해결하고자 하는 기술적 과제는 상술된 것에 제한되지 않는다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 기술적 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 효소 고정 장치를 제공한다.

[0010] 일 실시 예에 따르면, 상기 효소 고정 장치는 베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하되, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장(electric field)이 형성되는 것을 포함할 수 있다.

[0011] 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 전극에 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스가 제공되고, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 효소의 쌍극자 모멘트(dipole moment)가 상기 제1 방향과 같도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함할 수 있다.

[0012] 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 전극에 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스가 제공되고, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 효소의 활성화 자리(active site)가 상기 베이스 전극과 인접하도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함할 수 있다.

[0013] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극 및 상기 제2 전극에 인가되는 전압은 1.5V 이하인 것을 포함할 수 있다.

[0014] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극 및 상기 제2 전극에 인가되는 전압은 1mV 이하인 것을 포함할 수 있다.

[0015] 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 전극으로부터 상기 제1 전극까지의 거리, 및 상기 베이스 전극으로부터 상기 제2 전극까지의 거리는 같은 것을 포함할 수 있다.

[0016] 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 바디는 내부에 수용 홈(groove)이 형성되고, 상기 수용 홈 내에 상기 인쇄 전극이 배치되는 것을 포함할 수 있다.

[0017] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극을 포함하는 제1 결합 바디, 및 상기 제2 전극을 포함하는 제2 결합 바디를 포함하되, 상기 제1 결합 바디 및 상기 제2 결합 바디는 각각 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 결합할 수 있다.

[0019] 상기 기술적 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 효소 고정 플랫폼을 제공한다.

[0020] 일 실시 예에 따르면, 상기 효소 고정 플랫폼은, 베이스 플레이트, 및 상기 베이스 플레이트 상에 배치되는 복수의 상기 실시 예에 따른 효소 고정 장치를 포함하되, 상기 복수의 효소 고정 장치들은 병렬적(parallel)으로 배치되는 것을 포함할 수 있다.

[0022] 상기 기술적 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 효소 고정 장치의 동작 방법을 제공한다.

[0023] 일 실시 예에 따르면, 상기 효소 고정 방법은 베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하는 효소 고정 장치를 준비하는 단계, 상기 베이스 전극에, 쌍극자 모멘트를 갖는 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스를 제공하는 단계, 상기 제1 전극 및 제2 전극 사이에 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장을 형성하여, 상기 베이스 전극에 상기 효소를 고정시키는 단계를 포함하되, 상기 효소의 쌍극자 모멘트(dipole moment)가 상기 제1 방향과 같도록, 상기 효소가 회전되며 상기 베이스 전극에 고정되는 것을 포함할 수 있다.

[0024] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극 및 제2 전극에 전압이 인가되어 상기 전기장이 형성되고, 상기 전압 인가 시간이 경과됨에 따라, 상기 효소의 활성화 자리(active site)는 상기 베이스 전극과 가까워지도록, 상기 효소가 회전되는 것을 포함할 수 있다.

[0025] 일 실시 예에 따르면, 상기 효소는 Laccase, Bilirubin oxidase, Glucose oxidase, 또는 Glucose dehydrogenase 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0026] 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치는, 베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하되, 상기 제1 전극 및 상기 제2 전극에 전압이 인가되는 경우, 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장(electric field)이 형성되는 것을 포함할 수 있다. 이에 따라, 균일한 전기장을 형성할 수 있으므로, 효소 고정 공정을 효과적으로 수행할 수 있다.

[0027] 또한, 상술된 바와 같이, 상기 베이스 바디, 상기 제1 전극 및 상기 제2 전극이 탈부착 형태로 만들어짐에 따라 장비의 확장이 용이하고, 멀티 플랫폼 형태로 구성될 수 있으므로, 효소 고정 공정을 대량으로 수행하기 용이하다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 사시도이다.

도 2는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 포함하는 베이스 바디의 사시도이다.

도 3은 도 2의 T-T' 단면도이다.

도 4는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 포함하는 베이스 전극을 나타내는 도면이다.

도 5는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 포함하는 제1 전극 및 제2 전극을 나타내는 도면이다.

도 6은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 분해 사시도이다.

도 7은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 단면도이다.

도 8은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치를 통해 전기장이 형성되는 것을 나타내는 도면이다.

도 9는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치를 통해 베이스 전극 상에 효소가 고정되는 것을 나타내는 도면이다.

도 10 및 도 11은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 전기장 시뮬레이션을 나타내는 도면들이다.

도 12는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 플랫폼을 나타내는 도면이다.

도 13은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 동작 방법을 설명하는 순서도이다.

도 14는 본 발명의 실시 예 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 쌍극자 모멘트와 전기장의 각도를 나타내는 그래프이다.

도 15는 본 발명의 실시 예 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 수소 결합 개수를 나타내는 그래프이다.

도 16은 본 발명의 실시 예에 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 평균 제곱근 편차(root mean square deviation, RMSD)를 나타내는 그래프이다.

도 17은 본 발명의 실시 예 1 내지 실시 예 4에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 평균 제곱근 편차(root mean square deviation, RMSD)를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시 예를 상세히 설명할 것이다. 그러나 본 발명의 기술적 사상은 여기서 설명되는 실시 예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화 될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 실시 예는 개시된 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이다.

[0030] 본 명세서에서, 어떤 구성요소가 다른 구성요소 상에 있다고 언급되는 경우에 그것은 다른 구성요소 상에 직접 형성될 수 있거나 또는 그들 사이에 제 3의 구성요소가 개재될 수도 있다는 것을 의미한다. 또한, 도면들에 있어서, 막 및 영역들의 두께는 기술적 내용의 효과적인 설명을 위해 과장된 것이다.

[0031] 또한, 본 명세서의 다양한 실시 예 들에서 제1, 제2, 제3 등의 용어가 다양한 구성요소들을 기술하기 위해서 사용되었지만, 이들 구성요소들이 이 같은 용어들에 의해서 한정되어서는 안 된다. 이들 용어들은 단지 어느 구성요소를 다른 구성요소와 구별시키기 위해서 사용되었을 뿐이다. 따라서, 어느 한 실시 예에 제 1 구성요소로 언급된 것이 다른 실시 예에서는 제 2 구성요소로 언급될 수도 있다. 여기에 설명되고 예시되는 각 실시 예는 그것의 상보적인 실시 예도 포함한다. 또한, 본 명세서에서 '및/또는'은 전후에 나열한 구성요소들 중 적어도 하나를 포함하는 의미로 사용되었다.

[0032] 명세서에서 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한 복수의 표현을 포함한다. 또한, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 구성요소 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징이나 숫자, 단계, 구성요소 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 배제하는 것으로 이해되어서는 안 된다. 또한, 본 명세서에서 "연결"은 복수의 구성 요소를 간접적으로 연결하는 것, 및 직접적으로 연결하는 것을 모두 포함하는 의미로 사용된다.

[0033] 또한, 하기에서 본 발명을 설명함에 있어 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략할 것이다.

[0035] 도 1은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 사시도이고, 도 2는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 포함하는 베이스 바디의 사시도이고, 도 3은 도 2의 T-T' 단면도이고, 도 4는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 포함하는 베이스 전극을 나타내는 도면이고, 도 5는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장

치가 포함하는 제1 전극 및 제2 전극을 나타내는 도면이고, 도 6은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 분해 사시도이고, 도 7은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 단면도이고, 도 8은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치를 통해 전기장이 형성되는 것을 나타내는 도면이고, 도 9는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치를 통해 베이스 전극 상에 효소가 고정되는 것을 나타내는 도면이다.

[0036] 도 1을 참조하면, 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치(EI)는 베이스 바디(100), 제1 결합 바디(200), 및 제2 결합 바디(300)를 포함할 수 있다. 이하, 각 구성에 대해 설명된다.

[0037] 도 2 내지 도 7을 참조하면, 상기 베이스 바디(100)는 제1 결합구(100a), 제2 결합구(100b), 제3 결합구(100c), 및 제4 결합구(100d)를 포함할 수 있다. 또한, 상기 베이스 바디(100)의 내부에는 제1 결합 영역(A_1), 제2 결합 영역(A_2), 제3 결합 영역(A_3), 제4 결합 영역(A_4), 및 수용 홈(groove, 100g)이 형성될 수 있다.

[0038] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 결합구(100a)는 상기 제1 결합 영역(A_1)과 연통될 수 있다. 상기 제2 결합구(100b)는 상기 제2 결합 영역(A_2)과 연통될 수 있다. 상기 제3 결합구(100c)는 상기 제3 결합 영역(A_3)과 연통될 수 있다. 상기 제4 결합구(100d)는 상기 제4 결합 영역(A_4)과 연통될 수 있다.

[0039] 상기 제1 결합 영역(A_1)의 일단에는 제1 결합 너트(120a)가 배치될 수 있다. 상기 제2 결합 영역(A_2)의 일단에는 제2 결합 너트(130a)가 배치될 수 있다. 상기 제3 결합 영역(A_3)의 일단에는 제3 결합 너트(120b)가 배치될 수 있다. 상기 제4 결합 영역(A_4)의 일 단에는 제4 결합 너트(130b)가 배치될 수 있다.

[0040] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 결합구(100a) 및 상기 제2 결합구(100b)를 통해, 후술되는 제1 결합 바디(200)와 상기 베이스 바디(100)가 결합될 수 있다. 보다 구체적으로, 후술되는 제1 결합 바디(200)가 포함하는 제1 결합 볼트(220)가 상기 제1 결합구(100a)를 통해 상기 제1 결합 영영(A_1)으로 삽입된 후, 상기 제1 결합 너트(120a)와 체결될 수 있다. 또한, 후술되는 제1 결합 바디(200)가 포함하는 제2 결합 볼트(230)가 상기 제2 결합구(100b)를 통해 상기 제2 결합 영역(A_2)으로 삽입된 후, 상기 제2 결합 너트(130a)와 체결될 수 있다.

[0041] 이와 달리, 상기 제3 결합구(100c) 및 제4 결합구(100d)를 통해, 후술되는 제2 결합 바디(300)와 상기 베이스 바디(100)가 결합될 수 있다. 보다 구체적으로, 후술되는 제2 결합 바디(300)가 포함하는 제3 결합 볼트(320)가 상기 제3 결합구(100c)를 통해 상기 제3 결합 영역(A_3)으로 삽입된 후, 상기 제3 결합 너트(120b)와 체결될 수 있다. 또한, 후술되는 제2 결합 바디(300)가 포함하는 제4 결합 볼트(330)가 상기 제4 결합구(100d)를 통해 상기 제4 결합 영역(A_4)으로 삽입된 후, 상기 제4 결합 너트(130b)와 체결될 수 있다.

[0042] 일 실시 예에 따르면, 상기 수용 홈(100g)은 상기 베이스 바디(100)의 길이 방향을 관통하도록 형성될 수 있다. 상기 베이스 바디(100)의 길이 방향은, 상기 제1 결합구(100a)로부터 상기 제3 결합구(100c)로 향하는 방향, 또는 상기 제2 결합구(100b)로부터 상기 제4 결합구(100d)로 향하는 방향일 수 있다.

[0043] 상기 수용 홈(100g)에는 인쇄 전극(printed electrode, 110)이 배치될 수 있다. 상기 인쇄 전극(110)의 경우, 재연성이 높으며 다양한 방법으로 용이하게 수정될 수 있으므로, 후술되는 효소 고정 작업에 적합하다. 상기 수용 홈(100g) 내에 배치된 상기 인쇄 전극(110)의 길이 방향은, 상기 베이스 바디(100)의 길이 방향과 동일할 수 있다. 이하, 상기 인쇄 전극(110)의 길이 방향 및 상기 베이스 바디(100)의 길이 방향은, 제1 방향으로 정의된다.

[0044] 일 실시 예에 따르면, 상기 인쇄 전극(110)은 베이스 전극(112), 상대 전극(counter electrode, 미표시), 및 기준 전극(reference electrode, 미표시)을 포함할 수 있다. 즉, 상기 베이스 전극(112)은 워킹 전극(working electrode)로 사용될 수 있다.

[0045] 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 전극(112)으로부터 후술되는 제1 전극(210)까지의 거리(f_1) 및 상기 베이스 전극(112)으로부터 후술되는 제2 전극(310)까지의 거리(f_2)는 같을 수 있다. 즉, 베이스 전극(112)은, 후술되는 제1 전극(210) 및 제2 전극(310)의 사이의 중심부에 배치될 수 있다.

[0046] 상기 베이스 전극(112)에는 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스가 제공될 수 있다. 상기 베이스 전극(112)에 상기 베이스 소스가 제공된 상태에서, 상기 베이스 전극(112) 상에 전기장(electric field)이 생성되는 경우, 상기 효소가 상기 베이스 전극(112)에 고정될 수 있다. 보다 구체적인 설명은 후술된다.

[0047] 상기 제1 결합 바디(200)는 제1 전극(210), 제1 결합 볼트(220), 및 제2 결합 볼트(230)를 포함할 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 결합 볼트(220) 및 상기 제2 결합 볼트(230)는, 상기 제1 전극(210)을 사이에 두고 이격되어 배치될 수 있다. 예를 들어, 상기 제1 전극(210)은 12.5 x 1.0 ㎜의 크기 및 0.25 ㎜ x 7 ㎜ 길이의 Ag/AgCl disc 전극을 포함할 수 있다. 상술된 바와 같이, 상기 제1 결합 볼트(220) 및 상기 제2 결합 볼트(230)를 통해 상기 제1 결합 바디(200)는 상기 베이스 바디(100)와 결합될 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 결합 바디(200)는 상기 베이스 바디(100)의 상단에 결합될 수 있다.

[0048] 상기 제2 결합 바디(300)는 제2 전극(310), 제3 결합 볼트(320), 및 제4 결합 볼트(330)를 포함할 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 제3 결합 볼트(320) 및 상기 제4 결합 볼트(330)는, 상기 제2 전극(310)을 사이에 두고 이격되어 배치될 수 있다. 예를 들어, 상기 제2 전극(310)은 12.5 x 1.0 ㎜의 크기 및 0.25 ㎜ x 7 ㎜ 길이의 Ag/AgCl disc 전극을 포함할 수 있다. 상술된 바와 같이, 상기 제3 결합 볼트(320) 및 상기 제4 결합 볼트(330)를 통해 상기 제2 결합 바디9300)는 상기 베이스 바디(100)와 결합될 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 제2 결합 바디(300)는 상기 베이스 바디(100)의 하단에 결합될 수 있다.

[0049] 상기 제1 전극(210) 및 상기 제2 전극(310)에 전압이 인가되는 경우, 상기 제1 전극(210) 및 상기 제2 전극(310) 사이에 전기장(electric field, EF)이 생성될 수 있다. 상기 전기장(EF)은 상기 인쇄 전극(110)의 길이 방향과 평행한 상기 제1 방향으로 형성될 수 있다. 예를 들어, 도 8에 도시된 바와 같이, 상기 제1 전극(210)에 상대적으로 높은(+) 전압이 인가되고, 상기 제2 전극(310)에 상대적으로 낮은(-) 전압이 인가되는 경우, 상기 제1 전극(210)에서 상기 제2 전극(310) 방향으로 상기 전기장(EF)이 생성될 수 있다.

[0050] 도 9를 참조하면, 상술된 바와 같이, 상기 베이스 전극(112)에 상기 베이스 소스가 제공된 상태에서 상기 전기장(EF)이 생성되는 경우, 상기 베이스 전극(112)에 상기 효소(EZ)가 고정될 수 있다.

[0051] 일 실시 예에 따르면, 상기 효소(EZ)는 쌍극자 모멘트(dipole moment)를 포함할 수 있다. 또한, 상기 효소(EZ)는 쌍극자 모멘트의 방향(P)과 활성화 자리(active site, AS)의 방향(T)이 직각을 이룰 수 있다. 이와 달리, 다른 실시 예에 따르면, 상기 효소(EZ)는 상기 쌍극자 모멘트의 방향(P)과 상기 활성화 자리의 방향(T)이 다양한 각도를 이룰 수 있다. 즉, 상기 효소(EZ)의 상기 쌍극자 모멘트의 방향(P)과 상기 활성화 자리의 방향(T)의 각도는 제한되지 않는다. 예를 들어, 상기 효소(EZ)는, Laccase, Bilirubin oxidase, Glucose oxidase, 또는 Glucose dehydrogenase 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0052] 쌍극자 모멘트를 갖는 상기 효소(EZ)에 상기 전기장(EF)이 인가되는 경우, 상기 효소(EZ)의 상기 쌍극자 모멘트의 방향(P)은 상기 전기장(EF)의 방향과 같도록 정렬될 수 있다. 이에 따라, 상기 전기장(EF)이 상기 제1 방향(예를 들어, 도 9의 X축 방향)으로 인가되는 경우, 상기 효소(EZ)의 상기 쌍극자 모멘트 방향(P)이 상기 제1 방향으로 정렬되므로, 상기 효소(EZ)가 회전될 수 있다. 또한, 상기 효소(EZ)가 회전됨에 따라, 상기 효소(EZ)의 활성화 자리(AS)가 회전되므로, 상기 효소(EZ)의 활성화 자리(AS)와 상기 베이스 전극(112) 사이의 거리가 상대적으로 가까워질 수 있다. 즉, 상기 전기장(EF)이 인가된 후 상기 효소(EZ)의 활성화 자리(AS)와 상기 베이스 전극(112) 사이의 거리(d_2)는, 상기 전기장(EF)이 인가되기 전 상기 효소(EZ)의 활성화 자리(AS)와 상기 베이스 전극(112) 사이의 거리(d_1)보다 가까울 수 있다.

[0053] 상기 효소(EZ)의 활성화 자리(AS)와 상기 베이스 전극(112) 사이의 거리가 가까워 지는 경우, 상기 효소(EZ)와 상기 베이스 전극(112) 사이의 전자 교환 효율이 향상될 수 있다. 이에 따라, 상기 효소(EZ)가 고정된 상기 베이스 전극(112)이 바이오 연료전지 및 효소 기반 센서 등으로 사용되는 경우, 각 어플리케이션의 성능이 향상될 수 있다.

[0054] 일 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극(210) 및 상기 제2 전극(310)에 인가되는 전압이 1.5V 이하로 제어될 수 있다. 이 경우, 상기 전기장(EF)이 인가되기 전 상기 효소(EZ)의 구조가 유지될 수 있다. 이와 달리, 1.5V 초과의 전압으로 생성된 상기 전기장(EF)을 통해 상기 효소(100)가 상기 베이스 전극(112) 상에 고정되는 경우, 상기 효소(EZ)의 구조가 붕괴되는 문제점이 발생될 수 있다.

[0055] 상술된 바와 달리, 다른 실시 예에 따르면, 상기 제1 전극(210) 및 상기 제2 전극(310)에 인가되는 전압이 1mV 이하로 제어될 수 있다. 이에 따라, 상기 효소(EZ)의 고정 효율이 향상될 수 있다. 이와 달리, 상기 전기장(EF)을 생성하는 전압이 1mV를 초과하는 경우, 상기 효소(EZ)가 상기 베이스 전극(112) 상에 고정되지 않는 문제점이 발생될 수 있다.

[0056] 다시 말해, 상기 전기장(EF)을 생성하는 전압을 제어함으로써, 상기 효소(EZ)의 구조를 유지한 상태로, 상기 베

이스 전극(112) 상에 용이하게 고정될 수 있다.

[0057] 도 10 및 도 11은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 전기장 시뮬레이션을 나타내는 도면들이다.

[0058] 도 10 및 도 11을 참조하면, 상기 제1 전극(210) 및 상기 제2 전극(310)에 10V의 전압을 인가한 후, 유한요소해석을 이용한 전기장 시뮬레이션을 수행하였다. 도 10 및 도 11에서 확인할 수 있듯이, 상기 제1 방향(베이스 바디 및 인쇄 전극의 길이 방향)으로 균일한 전기장이 형성되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 상기 베이스 전극(112)의 위치에서 입력 전위의 절반에 해당되는 전기장이 인가되는 것을 확인할 수 있었다.

[0059] 도 12는 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 플랫폼을 나타내는 도면이다.

[0060] 도 12를 참조하면, 상기 실시 예에 따른 효소 고정 플랫폼은, 베이스 플레이트(300), 및 상기 베이스 플레이트 상에 배치되는 복수의 효소 고정 장치(EI)를 포함할 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 효소 고정 장치(EI)는 도 1 내지 도 9를 참조하여 설명된 상기 실시 예에 따른 효소 고정 장치(EI)와 같을 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 복수의 효소 고정 장치(EI)들은 병렬적(parallel)으로 배치될 수 있다.

[0061] 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치는, 상기 베이스 전극(112)을 포함하는 상기 인쇄 전극(110)이 배치되는 상기 베이스 바디(100), 및 상기 인쇄 전극(110)을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디(100)의 상단 및 하단에 각각 결합되는 상기 제1 전극(200) 및 상기 제2 전극(300)을 포함하되, 상기 제1 전극(200) 및 상기 제2 전극(300)에 전압이 인가되는 경우, 상기 인쇄 전극(110)의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장(electric field)이 형성되는 것을 포함할 수 있다. 이에 따라, 균일한 전기장을 형성할 수 있으므로, 효소 고정 공정을 효과적으로 수행할 수 있다.

[0062] 또한, 상술된 바와 같이, 상기 베이스 바디(100), 상기 제1 전극(200) 및 상기 제2 전극(300)이 탈부착 형태로 만들어짐에 따라 장비의 확장이 용이하고, 멀티 플랫폼 형태로 구성될 수 있으므로, 효소 고정 공정을 대량으로 수행하기 용이하다.

[0064] 이상, 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치가 설명되었다. 이하, 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 동작 방법이 설명된다.

[0065] 도 13은 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 동작 방법을 설명하는 순서도이다.

[0066] 도 13을 참조하면, 상기 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 동작 방법은, 효소 고정 장치 준비 단계(S100), 베이스 전극에 베이스 소스를 제공하는 단계(S200), 및 효소 고정 단계(S300)를 포함할 수 있다. 이하, 각 단계에 대해 구체적으로 설명된다.

[0067] 상기 S100 단계에서는, 베이스 바디, 제1 전극, 및 제2 전극을 포함하는 효소 고정 장치가 준비될 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 효소 고정 장치는, 도 1 내지 도 9를 참조하여 설명된, 상기 실시 예에 따른 효소 고정 장치와 같을 수 있다. 이에 따라, 구체적인 설명은 생략된다.

[0068] 상기 S200 단계에서는, 상기 베이스 전극에 베이스 소스가 제공될 수 있다. 일 실시 예에 따르면, 상기 베이스 소스는 쌍극자 모멘트를 갖는 효소를 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 효소는 Laccase, Bilirubin oxidase, Glucose oxidase, 또는 Glucose dehydrogenase 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 상술된 바와 같이, 상기 베이스 전극은 인쇄 전극으로 이루어짐에 따라, 상기 베이스 소스는 drop 형식으로 제공될 수 있다.

[0069] 상기 S300 단계에서는, 상기 제1 전극 및 상기 제2 전극 사이에 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 상기 제1 방향으로 전기장을 형성하여, 상기 베이스 전극에 상기 효소를 고정시킬 수 있다. 이 경우, 상기 효소의 쌍극자 모멘트가 상기 제1 방향과 같도록 상기 효소가 회전됨에 따라, 상기 효소의 활성화 자리(active site) 또한 회전될 수 있다. 이로 인해, 상기 효소의 활성화 자리가 상기 베이스 전극과 인접하도록, 상기 효소가 상기 베이스 전극에 고정될 수 있다.

[0071] 이상, 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 동작 방법이 설명되었다. 이하, 본 발명의 실시 예에 따른 효소 고정 장치의 구체적인 실험 예 및 특성 평가 결과가 설명된다.

[0072] 실험 예 1에 따른 효소 구조체 제조

[0073] 효소가 제공된 그래핀 기판이 준비된다. 이후, 0.5V의 전압으로 생성된 전기장을 인가하여, 그래핀 기판 상에

효소를 고정시켰다. 이에 따라, 실험 예 1에 따른 효소 구조체가 제조되었다.

[0075] 실험 예 2에 따른 효소 구조체 제조

[0076] 효소가 제공된 그래핀 기판이 준비된다. 이후, 1.0V의 전압으로 생성된 전기장을 인가하여, 그래핀 기판 상에 효소를 고정시켰다. 이에 따라, 실험 예 2에 따른 효소 구조체가 제조되었다.

[0078] 실험 예 3에 따른 효소 구조체 제조

[0079] 효소가 제공된 그래핀 기판이 준비된다. 이후, 1.5V의 전압으로 생성된 전기장을 인가하여, 그래핀 기판 상에 효소를 고정시켰다. 이에 따라, 실험 예 3에 따른 효소 구조체가 제조되었다.

[0081] 실험 예 4에 따른 효소 구조체 제조

[0082] 효소가 제공된 그래핀 기판이 준비된다. 이후, 2.0V의 전압으로 생성된 전기장을 인가하여, 그래핀 기판 상에 효소를 고정시켰다. 이에 따라, 실험 예 4에 따른 효소 구조체가 제조되었다.

[0084] 실험 예 5에 따른 효소 구조체 제조

[0085] 효소가 제공된 그래핀 기판이 준비된다. 이후, 1.0mV의 전압으로 생성된 전기장을 인가하여, 그래핀 기판 상에 효소를 고정시켰다. 이에 따라, 실험 예 4에 따른 효소 구조체가 제조되었다.

[0087] 비교 예에 따른 효소 구조체 제조

[0088] 그래핀 기판 상에 효소를 제공한 후, 전기장의 인가 없이 효소를 고정시켰다.

[0090] 상술된 실시 예 1 내지 실시 예 4 및 비교 예에 따른 효소 구조체의 제조 과정에서 전기장 생성에 사용된 전압의 크기가 아래의 <표 1>을 통해 정리된다.

표 1

[0091]

구분	전압
실시 예 1	0.5 V
실시 예 2	1.0 V
실시 예 3	1.5 V
실시 예 4	2.0 V
실시 예 5	1 mV
비교 예	-

[0092] 도 14는 본 발명의 실시 예 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 쌍극자 모멘트와 전기장의 각도를 나타내는 그래프이다.

[0093] 도 14를 참조하면, 상기 실시 예 5(1mV) 및 비교 예(w/o EF)에 따른 효소 구조체 포함하는 효소를 준비한 후, 각각에 대해 쌍극자 모멘트와 전기장의 각도를 측정하여 나타내었다. 도 14에서 확인할 수 있듯이, 상기 실시 예 5에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 경우, 회전이 용이하게 이루어진 것을 확인할 수 있었다.

[0094] 도 15는 본 발명의 실시 예 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 수소 결합 개수를 나타내는 그래프이다.

[0095] 도 15를 참조하면, 상기 실시 예 5(1mV) 및 비교 예(w/o EF)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소를 준비한 후, 각각에 대해 효소 고정 시간에 따른 수소 결합 개수 변화를 측정하여 나타내었다. 도 15에서 확인할 수 있듯이,

상기 실시 예 5(1mV)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소는, 효소 고정 시간이 지남에도 불구하고, 수소 결합 개수가 실질적으로 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

[0096] 도 16은 본 발명의 실시 예에 5 및 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 평균 제곱근 편차(root mean square deviation, RMSD)를 나타내는 그래프이다.

[0097] 도 16을 참조하면, 상기 실시 예 5(1mV) 및 비교 예(w/o EF)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소를 준비한 후, 각각에 대해 효소 고정 시간에 따른 평균 제곱근 편차를 측정하여 나타내었다. 도 16에서 확인할 수 있듯이, 상기 실시 예 5에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소와 상기 비교 예에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 평균 제곱근 편차 변화가 비슷하게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

[0098] 도 14 내지 도 16에서 확인할 수 있듯이, 1 mV의 전압으로 생성된 전기장 인가를 통해 효소가 고정되는 경우, 효소의 구조가 유지되면서 그래핀 전극 상에 효과적으로 고정된 것을 확인할 수 있었다.

[0099] 도 17은 본 발명의 실시 예 1 내지 실시 예 4에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 평균 제곱근 편차(root mean square deviation, RMSD)를 나타내는 그래프이다.

[0100] 도 17을 참조하면, 상기 실시 예 1 내지 실시 예 4(0.5V, 1.0V, 1.5V, 2.0V)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소를 준비한 후, 각각에 대해 효소 고정 시간에 따른 평균 제곱근 편차를 측정하여 나타내었다.

[0101] 도 17에서 확인할 수 있듯이, 상기 실시 예 1 내지 실시 예 3(0.5V, 1.0V, 1.5V)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 경우, 효소 고정 시간이 지남에도 불구하고 평균 제곱근 편차가 실질적으로 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 반면, 실시 예 4(2.0V)에 따른 효소 구조체가 포함하는 효소의 경우, 시간이 지남에 따라, 평균 제곱근 편차가 현저하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[0102] 결과적으로, 효소의 구조를 유지한 상태로 그래핀 기판 상에 고정시키기 위해서는, 전기장을 생성하는 전압의 크기가 1.5V 이하로 제어되어야 하는 것을 알 수 있었다.

[0104] 이상, 본 발명을 바람직한 실시 예를 사용하여 상세히 설명하였으나, 본 발명의 범위는 특정 실시 예에 한정되는 것은 아니며, 첨부된 특허청구범위에 의하여 해석되어야 할 것이다. 또한, 이 기술분야에서 통상의 지식을 습득한 자라면, 본 발명의 범위에서 벗어나지 않으면서도 많은 수정과 변형이 가능함을 이해하여야 할 것이다.

부호의 설명

[0105] 100: 베이스 바디

110: 인쇄 전극

112: 베이스 전극

200: 제1 결합 바디

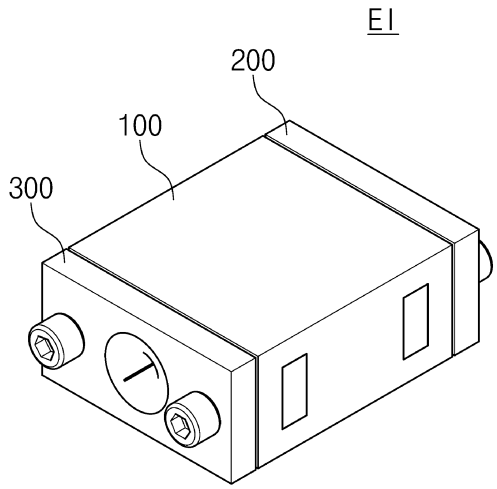
210: 제1 전극

300: 제2 결합 바디

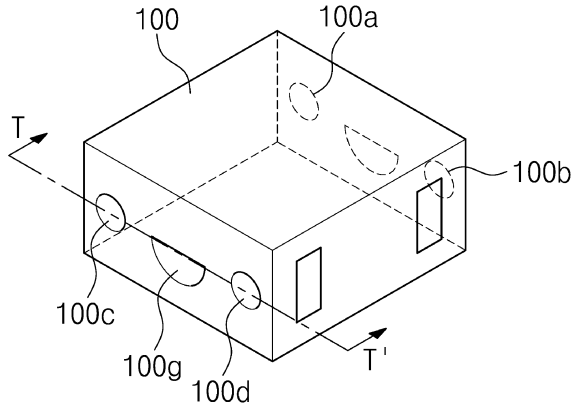
310: 제2 전극

도면

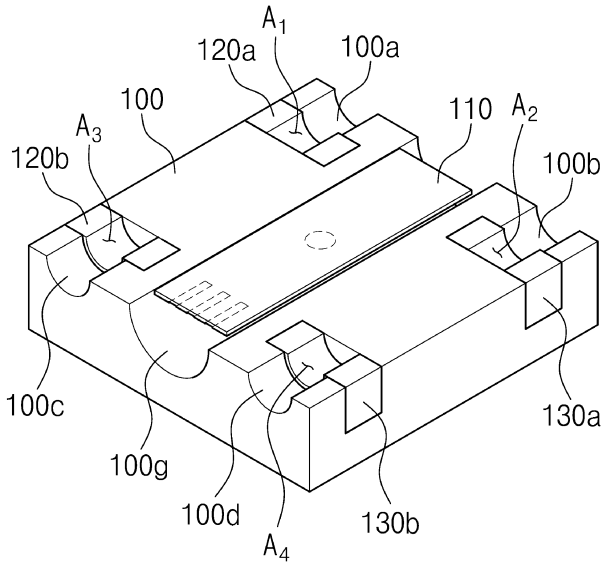
도면1



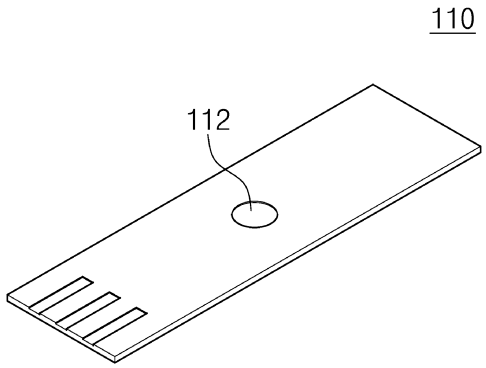
도면2



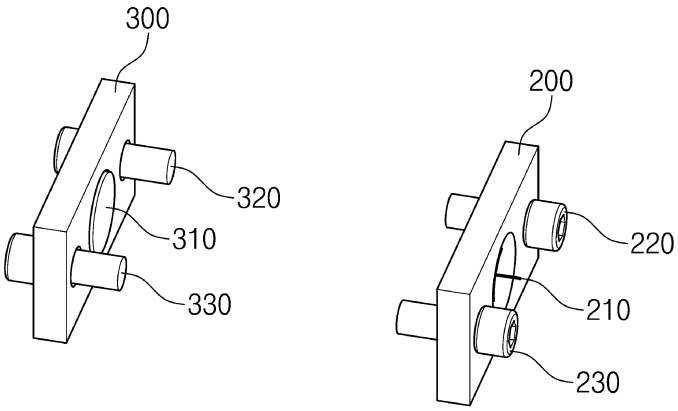
도면3


A1
120a
100a
100
110
A2
A3
120b
100b
100c
130a
100g
100d
130b
A4

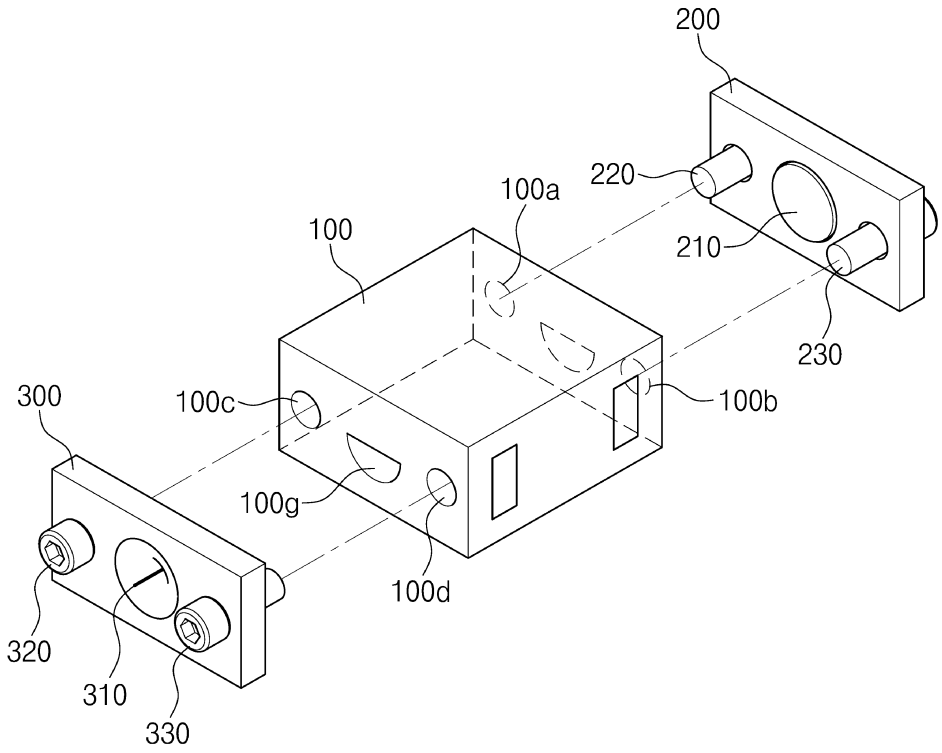
도면4


110
112

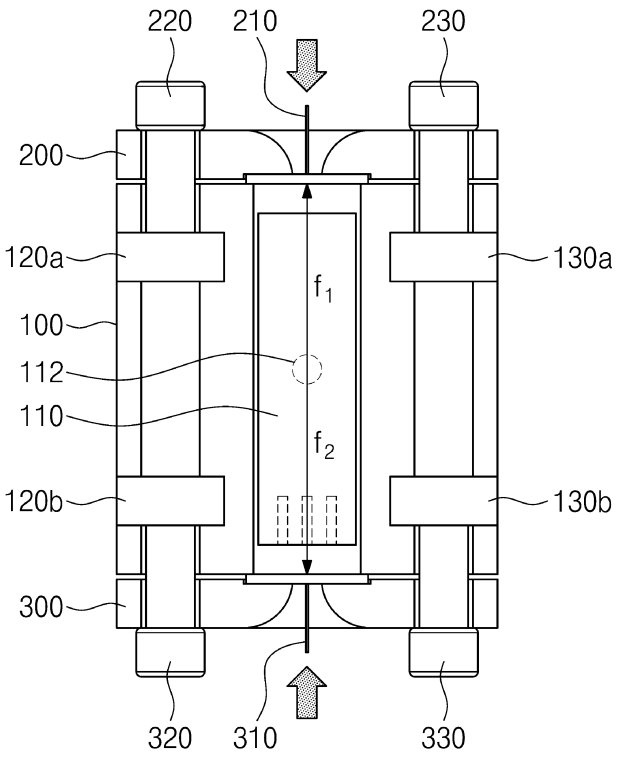
도면5


300
320
310
330
200
220
210
230

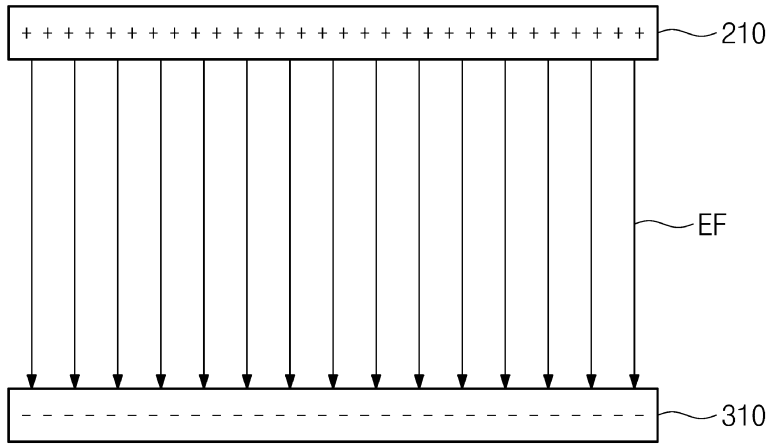
도면6


200
220
100a
100
210
230
300
100c
100b
100g
100d
320
310
330

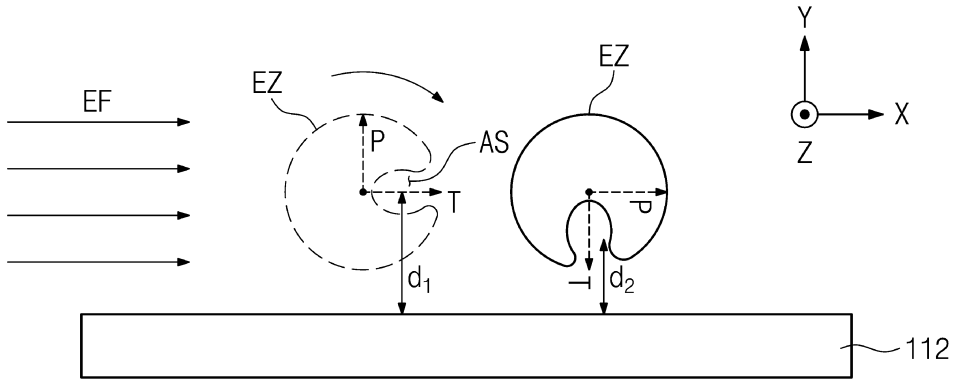
도면7


220
210
230
200
120a
130a
100
112
110
120b
130b
300
320
310
330
f1
f2

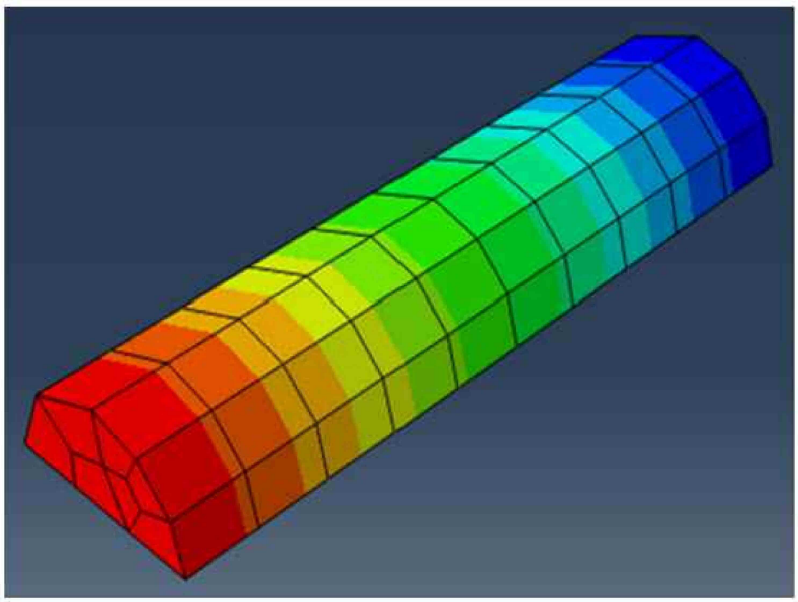
도면8



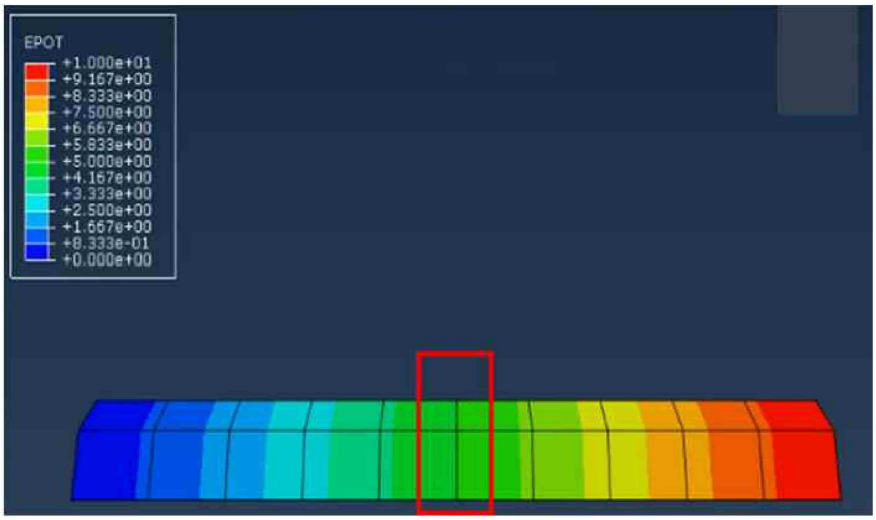
도면9



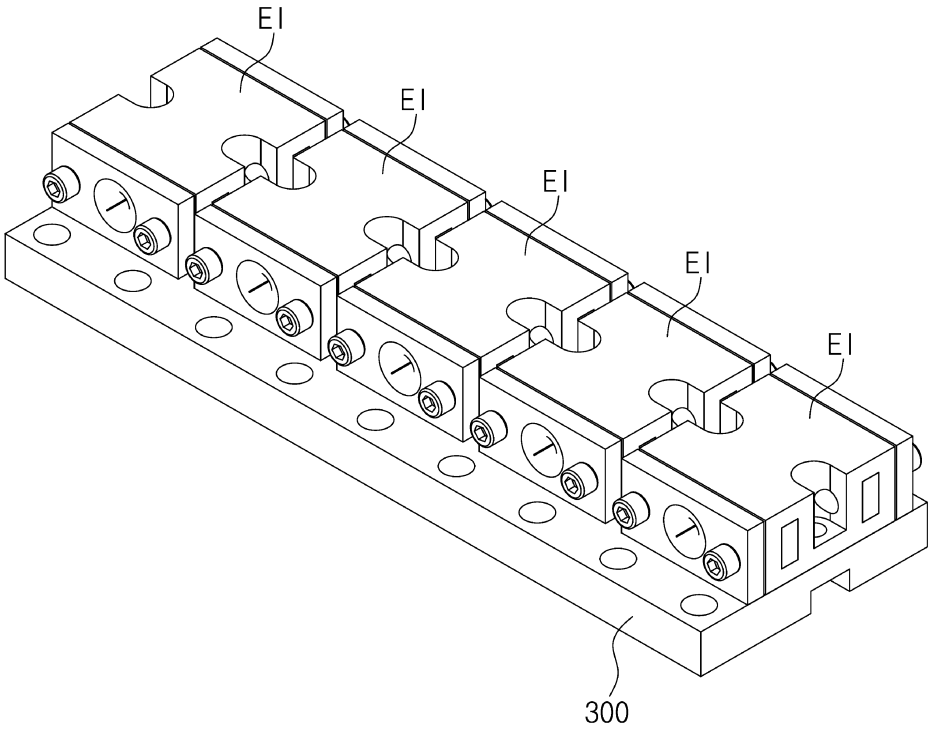
도면10



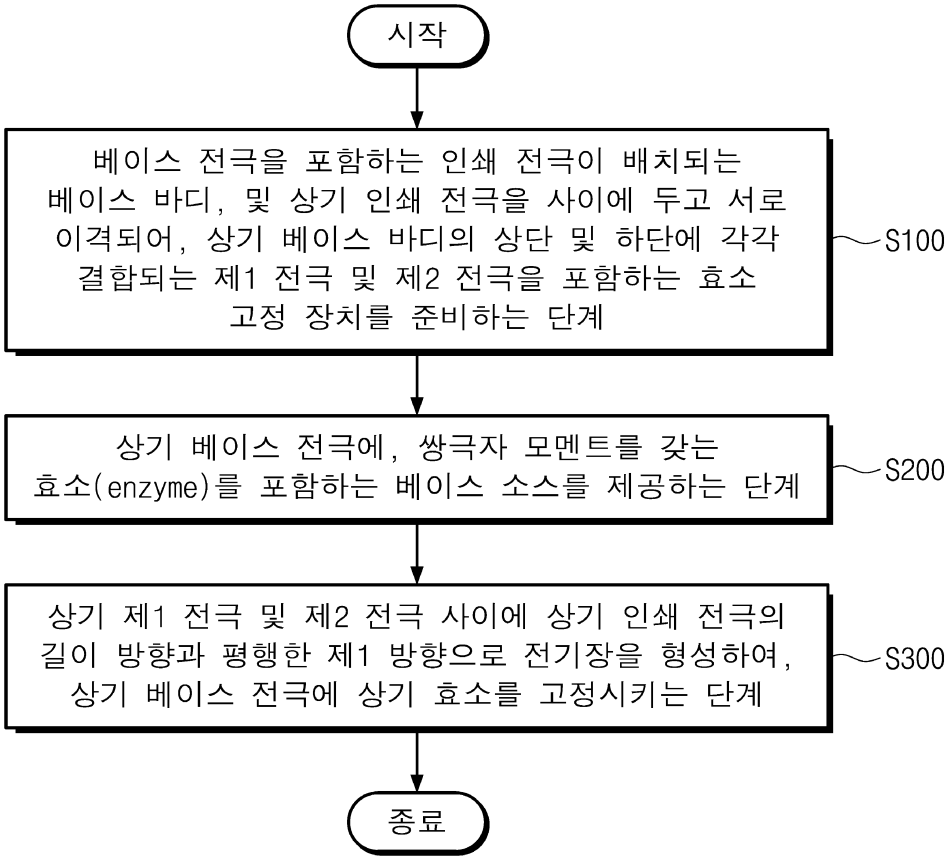
도면11


EPOT
+1.000e+01
+9.167e+00
+8.333e+00
+7.500e+00
+6.667e+00
+5.833e+00
+5.000e+00
+4.167e+00
+3.333e+00
+2.500e+00
+1.667e+00
+8.333e-01
+0.000e+00

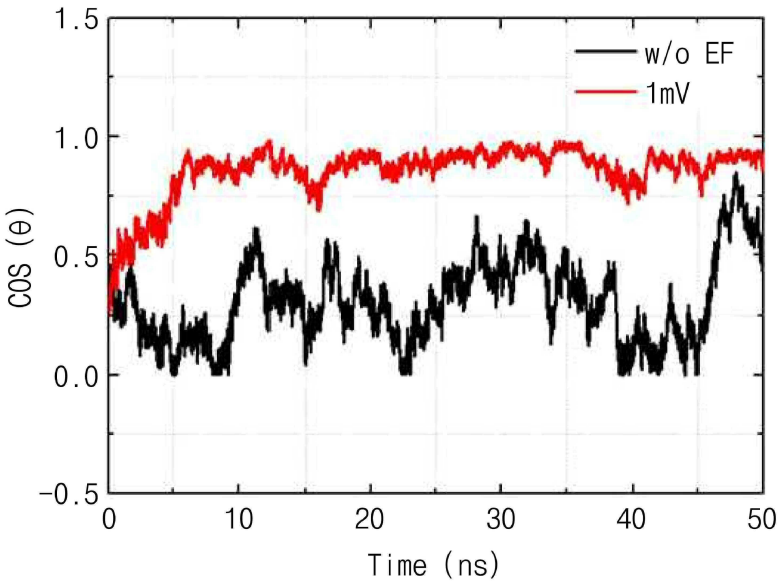
도면12


EI
EI
EI
EI
EI
300

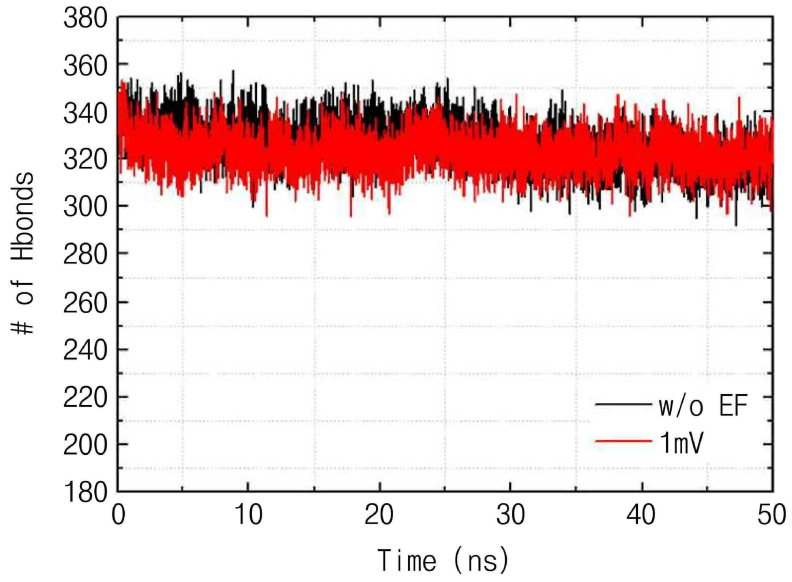
도면13


시작
베이스 전극을 포함하는 인쇄 전극이 배치되는 베이스 바디, 및 상기 인쇄 전극을 사이에 두고 서로 이격되어, 상기 베이스 바디의 상단 및 하단에 각각 결합되는 제1 전극 및 제2 전극을 포함하는 효소 고정 장치를 준비하는 단계
S100
상기 베이스 전극에, 쌍극자 모멘트를 갖는 효소(enzyme)를 포함하는 베이스 소스를 제공하는 단계
S200
상기 제1 전극 및 제2 전극 사이에 상기 인쇄 전극의 길이 방향과 평행한 제1 방향으로 전기장을 형성하여, 상기 베이스 전극에 상기 효소를 고정시키는 단계
S300
종료

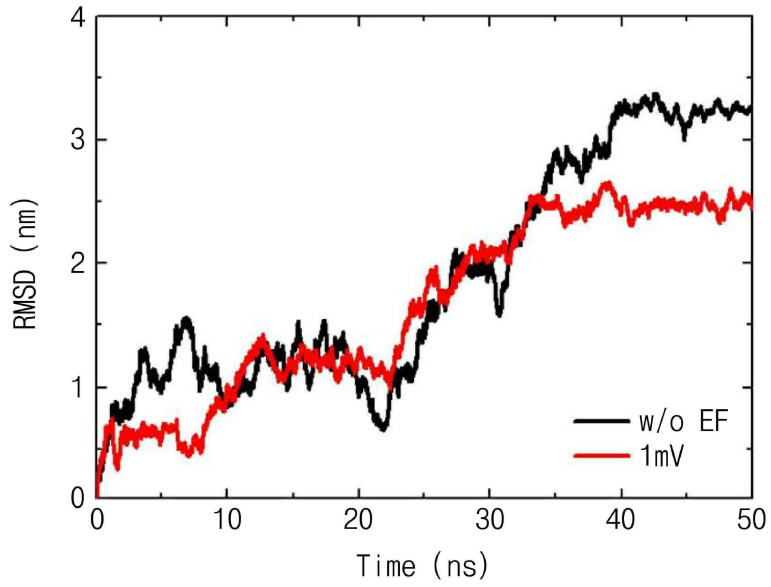
도면14


1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
cos (θ)
0
10
20
30
40
50
Time (ns)
w/o EF
1mV

도면15


380
360
340
320
300
280
260
240
220
200
180
# of Hbonds
0
10
20
30
40
50
Time (ns)
w/o EF
1mV

도면16


4
3
2
1
0
RMSD (nm)
0
10
20
30
40
50
Time (ns)
w/o EF
1mV

도면17

