

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0093738

(43) 공개일자 2025년06월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G21F 9/18 (2006.01) C12N 15/115 (2010.01)

(52) CPC특허분류

G21F 9/18 (2013.01)

C12N 15/115 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0183816

(22) 출원일자 2023년12월15일

심사청구일자 2023년12월15일

(71) 출원인

세종대학교산학협력단

서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)

(72) 발명자

윤미용

서울특별시 성북구 화랑로 214, 109동 203호 (석관동, 래미안석관)

이선영

강원특별자치도 횡성군 횡성읍 앞들서로 21-3

차균호

서울특별시 동대문구 장안벚꽃로 107, 102동 901호 (장안동, 장안현대홈타운)

(74) 대리인

특허법인리채

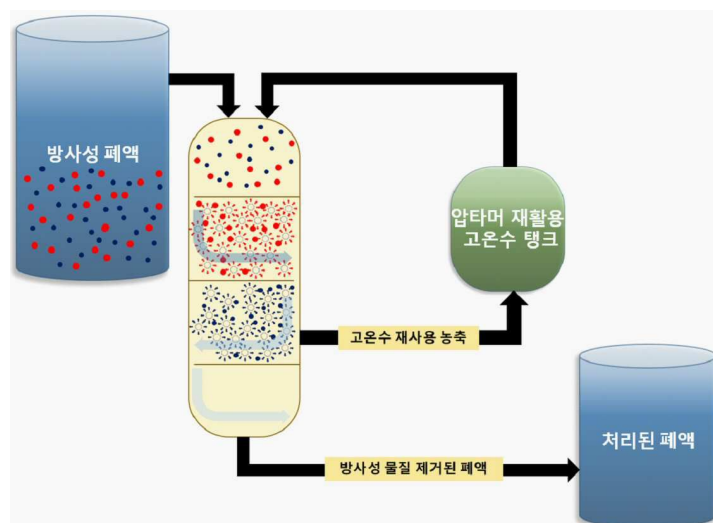
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리방법

(57) 요약

본 발명은 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 압타머가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 금속 이온을 포함하는 방사성 폐액을 통과시켜 압타머에 금속 이온을 결합시키는 단계; 압타머를 변형시켜 컬럼으로부터 금속 이온을 분리시키는 단계; 및 컬럼을 재사용하여 방사성 폐액을 처리하는 단계를 포함함으로써 방사성 폐액 내 특정 금속 원소를 효율적으로 분리할 수 있고 컬럼에 결합된 방사성 금속 이온을 쉽게 분리시킬 수 있어 컬럼의 재사용이 가능한 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도10



(52) CPC특허분류
C12N 2310/16 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415180608
과제번호	20203210100390
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국에너지기술평가원
연구사업명	원전해체방폐물안전관리기술개발
연구과제명	원전 해체발생 방사성폐액 처리 성능 향상을 위한 친환경 바이오 소재 공정 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	(주)래드코어
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

압타머가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 방사선 금속 이온을 포함하는 폐액을 통과시켜 상기 압타머에 상기 금속 이온을 결합시키는 단계;

상기 압타머를 변성시켜 상기 컬럼으로부터 상기 방사선 금속 이온을 분리시키는 단계; 및

상기 컬럼을 재사용하여 상기 방사성 폐액을 처리하는 단계를 포함하는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 변성은 상기 컬럼에 50℃ 내지 100℃의 고온수를 통과시켜 이루어지는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 고온수를 재사용하여 상기 압타머를 변성시키는 단계를 더 포함하는 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 컬럼에 버퍼를 넣고 상기 변성된 압타머를 상온에서 원상화(renaturation)시키는 단계를 더 포함하는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 압타머는 30 내지 150 nt의 길이를 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 압타머는 서열번호 1 내지 18 중 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 비드는 0.5 μm 내지 1 cm의 직경을 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 압타머는 상기 비드의 단위 부피 1ml 당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합되는, 압타머를

이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 압타머는 바이오틴과 스트렙타비딘, 아민기, 카르복실기, 하이드록시기, 설펜기, 다이메틸아민기 및 에폭시기로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 결합에 의해 상기 비드에 결합되는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

청구항 10

30 내지 150 nt 길이의 압타머가 결합된 0.5 μ m 내지 1 cm의 비드로 채워진 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 압타머는 바이오틴과 스트렙타비딘, 아민기, 카르복실기, 하이드록시기, 설펜기, 다이메틸아민기 및 에폭시기로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 결합에 의해 상기 비드에 결합되는, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

청구항 12

청구항 10에 있어서, 상기 압타머는 상기 비드의 단위 부피 1ml 당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합되는, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

청구항 13

청구항 10에 있어서, 상기 압타머는 서열번호 1 내지 18 중 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 갖는 것인, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 원전 1차 원자로 냉각재 계통 및 사용 후 핵연료 저장조의 냉각수에는 운영 중 발생하는 방사화 이온성 물질이 존재하게 되며, 이를 제거하기 위해 이온교환수지 방식을 사용하고 있다. 이로 인해 기존 원자력발전소 운영 폐기물에는 원자력을 얻기 위해 발생하는 폐기물 자체뿐 아니라 방사성 이온 물질들을 제거하기 위해 사용된 많은 양의 이온교환수지 또한 방사성 폐기물로 분류되어 2차 폐기물을 양산하고 있다.

[0004] 방사성 폐기물 관리기준 및 발생량은 국가별로 상이하므로 해외 기술의 직접 도입보다는 국내 여건에 부합하는 방사성 폐기물 처리 기술의 개발 필요성이 대두되고 있다. 특히 우리나라는 국토 면적 대비 인구가 많아 방사성 폐기물 처리장의 증설이 어려울 뿐만 아니라 높은 수준의 방사성 폐기물 안전관리에 대한 요구로 인해 방사성 폐기물 처리의 경제적 및 사회적 비용이 매우 비싸다.

[0005] 특히, 원자로 1차 계통수 및 원자로 세탁물 폐수에 운영 중 발생 되는 방사화 물질 중 세슘, 스트론튬, 안티모니 등은 기존의 이온교환수지 방식으로는 잘 제거가 되지 않아서 따로 제거하는 흡착제 및 고가의 설비를 사용해 왔다. 이로 인해 기존 이온교환수지뿐만 아니라 추가로 방사성 폐기물이 양산되고 제거에 큰 비용이 지출되

고 있다.

[0006] 본 특허에서는 기존의 방사성 이온 처리공정을 대체할 수 있는 새로운 공정 시스템 구축을 목표로 한다. 설비 단가 및 비용이 저렴한 압타머 방식의 방사성 이온 제거 기술 개발로 추가 폐기물 감량뿐만 아니라 제거 비용도 절감하고자 한다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 한국특허등록 10-1904934호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 방사성 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 본 발명은 압타머-비드 컬럼을 포함하는 방사성 폐액의 처리 시스템 및 처리 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 1. 압타머가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 방사성 금속 이온을 포함하는 폐액을 통과시켜 압타머에 금속 이온을 결합시키는 단계; 압타머를 변성시켜 컬럼으로부터 방사성 금속 이온을 분리시키는 단계; 및 컬럼을 재사용하여 방사성 폐액을 처리하는 단계를 포함하는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0013] 2. 위 1에 있어서, 변성은 컬럼에 50℃ 내지 100℃의 고온수를 통과시켜 이루어지는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0014] 3. 위 2에 있어서, 고온수를 재사용하여 압타머를 변성시키는 단계를 더 포함하는 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0015] 4. 위 1에 있어서, 컬럼에 버퍼를 넣고 변성된 압타머를 상온에서 원상화(renaturation)시키는 단계를 더 포함하는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0016] 5. 위 1에 있어서, 압타머는 30 내지 150 nt의 길이를 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0017] 6. 위 1에 있어서, 압타머는 서열번호 1 내지 18 중 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0018] 7. 위 1에 있어서, 비드는 0.5 μm 내지 1 cm의 직경을 갖는 것인, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0019] 8. 위 1에 있어서, 압타머는 비드의 단위 부피 1ml 당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합되는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0020] 9. 위 1에 있어서, 압타머는 바이오틴과 스트렙타비딘, 아민기, 카르복실기, 하이드록시기, 설펜기, 다이메틸아민기 및 에폭시기로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 결합에 의해 비드에 결합되는, 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법.

[0021] 10. 30 내지 150 nt 길이의 압타머가 결합된 0.5 μm 내지 1 cm의 비드로 채워진 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

[0022] 11. 위 10에 있어서, 압타머는 바이오틴과 스트렙타비딘, 아민기, 카르복실기, 하이드록시기, 설펜기, 다이메틸아민기 및 에폭시기로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 결합에 의해 상기 비드에 결합되는, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

- [0023] 12. 위 10에 있어서, 압타머는 비드의 단위 부피 1ml 당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합되는, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.
- [0024] 13. 위 10에 있어서, 압타머는 서열번호 1 내지 18 중 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 갖는 것인, 방사성 폐액 처리용 압타머-비드 컬럼.

발명의 효과

- [0026] 본 발명의 방사선 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼은 특정 이온성 원소에 높은 선택성이 있다.
- [0027] 본 발명의 방사선 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼은 방사성 폐액 내 특정 금속 원소의 농도가 높을 경우 효과적으로 활용될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 방사선 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼은 쉽게 방사성 금속 이온을 분리할 수 있어 재사용이 가능하다.
- [0029] 본 발명의 방사선 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼은 방사성 폐액의 감용 및 방사성 폐기물 처리 비용 절감 효과가 있다.
- [0030] 본 발명의 압타머-비드 컬럼을 포함하는 방사선 폐액의 처리 방법은 특정 이온성 원소에 높은 선택성이 있어 방사성 폐액 내 특정 금속 원소의 농도가 높을 경우 효과적으로 활용될 수 있고, 컬럼에 결합한 방사성 금속 이온을 쉽게 분리할 수 있어 재사용이 가능하여 방사성 폐액의 감용 및 방사성 폐기물 처리 비용 절감 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 본 발명의 압타머를 이용한 방사선 폐액의 처리 공정 개요도이다.
- 도 2는 압타머와 비드의 최적 결합 비율 결정 방법을 설명한다.
- 도 3은 유세포 분석기와 형광 현미경을 이용하여 압타머와 비드의 최적 결합 비율을 확인한 실험 데이터이다.
- 도 4는 비드 사용량 대비 압타머량을 최적 비율 기준으로 최소 1/512배에서 최대 4배를 사용했을 시 각각의 압타머 사용량에 따른 이온 제거율이다. 최적 비율을 사용할 때 제거율이 가장 높은 것을 확인하였다. 위 실험에 사용된 실제 비드와 압타머 개수는 표 3에 설명되어 있다.
- 도 5는 압타머-비드 컬럼의 성능 및 재사용 가능성 평가 결과를 나타낸다. (A)는 압타머의 표적 이온 제거율이고 (B)는 표적 이온 수거율이다.
- 도 6은 컬럼의 (A) 재사용 프로토콜 및 (B) 재사용 횟수에 따른 제거율을 나타낸다.
- 도 7은 압타머에 결합된 이온이 농축되는 것을 확인한 것으로 고온수의 재사용 가능성을 보여주는 결과이다.
- 도 8은 다표적 압타머-비드 컬럼의 표적 이온 선택성을 보여주는 평가 결과이다.
- 도 9는 한국원자력연구원의 방사성 물질 포함 시료와 실제 원자력발전소의 1차 계통수를 대상으로 현장 시험 수행 결과이다.
- 도 10은 본 발명의 압타머 재활용 방법의 개요로 고온수를 활용한 재사용 방식을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] 본 발명은 방사선 폐액의 처리를 위한 압타머-비드 컬럼 및 이 컬럼을 이용한 방사선 폐액의 처리 방법을 제공한다.
- [0034] 본 발명은 압타머가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 방사선 금속 이온을 포함하는 폐액을 통과시켜 압타머에 금속 이온을 결합시키는 단계; 압타머를 변성시켜 컬럼으로부터 금속 이온을 분리시키는 단계; 및 컬럼을 재사용하여 방사성 폐액을 처리하는 단계를 포함함으로써 방사성 폐액 내 특정 금속 원소를 효율적으로 분리할 수 있고 컬럼에 결합된 방사성 금속 이온을 쉽게 분리시킬 수 있어 컬럼의 재사용이 가능한 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법을 제공한다.

- [0035] 일 실시예에서 본 발명의 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법은 도 1과 같다.
- [0036] 본 발명의 압타머-비드 컬럼은 방사성 금속 이온에 특이적으로 결합하는 압타머를 포함한다. 압타머는 표적 이온에 친화적/특이적으로 결합할 수 있는 핵산(ssDNA, RNA)으로 구성될 수 있다. 압타머는 안정된 3차원 구조를 유지하면서 특정 금속 이온에 특이적으로 강하게 결합할 수 있다.
- [0037] 압타머는 특정 금속 이온에 특이적으로 결합할 수 있으면 특정 서열 및 길이를 갖는 것으로 한정되지 않는다.
- [0038] 압타머는 30 내지 150개의 뉴클레오티드(nt)로 이루어진 것일 수 있다. 압타머는 예컨대 30 내지 140 nt, 30 내지 130 nt, 30 내지 120 nt, 30 내지 110 nt, 30 내지 100 nt, 30 내지 90 nt, 30 내지 80 nt, 30 내지 70 nt, 30 내지 60 nt, 30 내지 50 nt, 30 내지 40 nt, 40 내지 150 nt, 40 내지 140, nt, 40 내지 130 nt, 40 내지 120 nt, 40 내지 110 nt, 40 내지 100 nt, 40 내지 90 nt, 40 내지 80 nt, 40 내지 70 nt, 40 내지 60 nt, 40 내지 50 nt, 50 내지 150 nt, 50 내지 100 nt, 60 내지 90 nt 또는 60 내지 80 nt일 수 있다.
- [0039] 압타머는 방사성 폐액에 존재하는 코발트, 니켈, 망간, 세슘 등에 특이적인 뉴클레오티드 서열을 갖는 것으로 DNA, RNA 및 변형된 핵산 형태인 PNA등을 포함할 수 있다. 그 예시로 각각 코발트, 니켈, 망간에 특이적 서열을 갖는 표 1의 압타머 중 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 포함하는 것일 수 있다. 압타머는 2종 이상 혼합 사용될 수 있다. 압타머는 구조 및 기능에 영향을 주지 않는 범위 내에서 최적화하여 사용될 수 있고 양 말단에 추가 서열을 포함할 수 있다.
- [0040] 압타머는 다음 표 1에 기재된 어느 하나의 뉴클레오티드서열을 포함하는 것일 수 있다. 압타머는 2종 이상 혼합 사용될 수 있다. 압타머는 구조 및 기능에 영향을 주지 않는 범위 내에서 최적화하여 사용될 수 있고 양 말단에 추가 서열을 포함할 수 있다.

표 1

[0041]

서열 번호	Target	Aptamer ID	KD value (nM)	Aptamer sequence
1	Cobalt	FA-C1	4.86 ± 6.46	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTTGCTTGACGA GCCTGTACGTGGTTCCCTCCAGATGGTCGAGATTGCACTTACTATCT
2		FA-C2	7.73 ± 8.7	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTCACGTTAATCG TATAACTCACCTCCTCTGCTCTTTCTCGAGATTGCACTTACTATCT
3		FA-C3	8.59 ± 6.13	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTTGCTCTACG TTGTCTACATGGTTCATCTCTTTTTTCTAGATTGCACTTACTATCT
4		FA-C4	11.1 ± 14.4	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTGAGTGTAAAT GTCTTCGTTTGCCAGTTGTTTGAGATTGCACTTACTATCT
5		FA-C5	13.0 ± 9.86	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTCTAACCTAGA GTACGTGGTTTGCTATGTGTATTCTGGGAGATTGCACTTACTATCT
6		FA-C6	20.3 ± 28.8	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTCGCTGCGGTGG TGGCGGAGCTATTCCATGTGTACTTCCGAGATTGCACTTACTATCT
7	Nickel	FA-N1	6.9 ± 9.5	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTAGAACGCCCA GTGCATTTCCCTCCGCTCGACCCCGCATGAGATTGCACTTACTATCT
8		FA-N2	12.3 ± 8.5	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTCCGCTGCGGT CCGACGATACGCTCGGCTCTGTRGTATCGAGATTGCACTTACTATCT
9		FA-N3	13.3 ± 11.9	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTCCGCTCACGG AGGTAGACTACTGTGCTGGCGGTGGTCGAGATTGCACTTACTATCT
10		FA-N4	18.4 ±11.5	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTGAGCGCAAGAT CTTCGTAATTATGCATAGTGCTCTTTTGGAGATTGCACTTACTATCT
11		FA-N5	19.3 ±18.5	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTGCGCGTGC GG AGGCAGGGATCGCGGTGCTGATGCCATGGAGATTGCACTTACTATCT
12		FA-N6	20.3 ±21.7	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTCTCGGTTTGT GACCCAAATGCGCCGAGGTACGTTGTGAGATTGCACTTACTATCT

13	Manganese	FA-M1	45.64 ± 29.7	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTGGTGGGTGGGTGGGTGGAAGATGAAAAGGGGATCCGGGTGAGATTGCACCTTACTATCT
14		FA-M2	48.67 ± 31.4	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTCCATCGGTGGGTGGGCGGTGGAGAGGGCTTTGTTAAACAGATTGCACCTTACTATCT
15		FA-M3	48.85 ± 25.0	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTAGAGGTCAGGGTAGGGAGGGGGGAATAAGGTGTCACACGGAGATTGCACCTTACTATCT
16		FA-M4	51.17 ± 25.1	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTCGGTGGGTGGGTGGGTGGAAGAGTAAGTGGCGATAAGGAGATTGCACCTTACTATCT
17		FA-M5	53.97 ± 26.8	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTTTGATGCACAGTACGGATGAGTAGGCAGGGTAGGAGTGGAAGATTGCACCTTACTATCT
18		FA-M6	58.15 ± 29.0	GGTAATACGACTCACTATAGGGAGATACCAGCTTATTCAATTCGGTGGGAGGGCGGGTGGAGAATTATAATACGATTGGAAGATTGCACCTTACTATCT

- [0043] 비드는 방사성 폐액이 압타머와 반응할 수 있는 충분한 시간 동안 컬럼을 통과할 수 있도록 하는 역할을 한다. 비드는 이러한 역할을 할 수 있는 것이면 특정의 소재, 모양 또는 크기를 갖는 것으로 한정되지 않는다.
- [0044] 일 실시예에서 비드는 구형일 수 있다.
- [0045] 일 실시예에서 비드는 폴리스티렌, 라텍스, 아가로스, 실리카 등으로 된 것일 수 있다.
- [0046] 비드는 0.5 μm 내지 1 cm의 직경을 갖는 것일 수 있다. 비드는 위 범위 내에서 예컨대 0.5 μm 이상, 1 μm 이상, 5 μm 이상, 10 μm 이상, 50 μm 이상, 100 μm 이상, 1 mm 이상 또는 5 mm 이상일 수 있고, 위 범위 내에서 예컨대 5 mm 이하, 1 mm 이하, 100 μm 이하, 50 μm 이하, 10 μm 이하, 5 μm 이하, 또는 1 μm 이하일 수 있다.
- [0047] 비드는 동일한 크기의 비드만을 사용할 수도 있고 서로 크기가 상이한 2종 이상의 비드를 혼합하여 사용할 수도 있다.
- [0048] 압타머는 컬럼의 고정상인 비드에 결합되어 있다. 압타머는 방사성 폐액에 의해 분리되지 않는 결합으로 비드의 표면에 결합된다. 압타머는 화학 결합, 항원 항체 결합, 효소 결합 등에 의해 결합될 수 있다. 압타머는 예컨대 바이오틴과 스트렙타비딘, 아민기, 카르복실기, 하이드록시기, 설펜기, 다이메틸아민기 및 에폭시기로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 결합에 의해 비드에 결합될 수 있다.
- [0049] 압타머는 비드의 단위 부피 1ml 당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합될 수 있다. 압타머와 비드의 비율이 위와 같은 경우 최적의 결합 효율로 낭비되는 압타머 없이 높은 제거율이 나타남을 확인, 경제적인 장점이 있다.
- [0050] 본 발명의 압타머를 이용한 방사성 폐액의 처리 방법은 위 압타머가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 금속 이온을 포함하는 방사성 폐액을 통과시켜 압타머에 금속 이온을 결합시키는 단계를 포함한다.
- [0051] 비드 표면의 압타머는 각각 타겟이 되는 방사성 금속 이온을 포집한다. 방사성 폐액이 반복적으로 통과되면 압타머가 더 이상 금속 이온을 포집할 수 없게 되는데 이 때 압타머를 변성(denaturation)시켜 컬럼으로부터 금속 이온을 분리시킨다. 기존 이온교환수지 컬럼의 경우에는 금속 이온만을 분리시키는 것이 어렵지만 본 발명의 컬럼은 압타머 변성을 통해 금속 이온의 분리가 가능하다. 금속 이온이 분리된 컬럼은 압타머로 다시 금속 이온을 포집할 수 있고 재사용이 가능하다. 압타머만을 재사용하는 것도 가능하다.
- [0052] 압타머 변성은 압타머가 3차원 구조를 잃게 만드는 것이다. 압타머가 포함된 컬럼에 50℃ 내지 100℃의 고온수를 통과시키면 압타머는 3차원 구조를 잃고 금속 이온에 특이적으로 결합하는 특성을 잃는다.
- [0053] 압타머 변성에 사용된 고온수는 컬럼에서 분리된 금속 이온을 포함할 수 있다. 고온수는 압타머 변성에 반복 사용될 수 있다. 금속 이온의 함량이 기준량을 넘으면 고온수의 금속 이온을 분리 회수할 수 있다. 금속 이온이 제거된 고온수는 압타머 변성에 재사용될 수 있다(도 10 참조).
- [0054] 압타머 변성에 의해 컬럼에서 금속 이온이 분리되면 컬럼에 버퍼를 넣고 변성된 압타머를 상온에서 원상화(renaturation)시킬 수 있다.
- [0055] 이하 본 발명을 실시예로 보다 상세하게 설명한다.

[0057] 실시예

1. 압타머와 비드의 최적 결합 비율 도출

5' -NH₂ & 3' -FAM 표지 압타머(서열번호 1의 압타머 FA-C1) 및 5' -바이오틴 & 3' -FAM 표지 압타머(서열번호 1의 압타머 FA-C1)와 다음 표 2의 비드를 사용하여 도 2의 방식으로 압타머와 비드의 최적 결합 비율을 확인하였다.

결합 특이성이 있는 압타머에 5' -아미노 변형, 3' -FAM 표지를 한 2종의 압타머를 제작하였다. 제작된 압타머를 카복실기가 코팅된 비드에 EDC/NHS를 활용해 접합시켰다. 접합시 동일 비드 사이즈를 고려하여 비드 접합 농도를 다양하게 적용하였다. 접합된 압타머-비드 복합체를 유세포 분석기(FACS)를 통해 측정하여 실험에 적합한 압타머-비드 농도를 결정하였다.

표 2

	Bead 1	Bead 2	Bead 3
직경	0.5μm	0.9μm	1.4μm
표면 코팅	carboxyl	carboxyl	streptavidin
결합 압타머	NH ₂ -aptamer	NH ₂ -aptamer	Biotin-aptamer
비드 재질	Latex	Polystyrene	Polystyrene

실험에 사용된 압타머와 비드(Bead 2)의 결합 비율은 다음 표 3과 같다.

표 3

Bead	Diameter	Group	Bead number	Aptamer number
Sigma CLB9	0.9μm	4	1.25x10 ¹⁰	4 x (1.8x10 ¹⁵)
		2	1.25x10 ¹⁰	2 x (1.8x10 ¹⁵)
		standard	1.25x10 ¹⁰	1.8x10 ¹⁵
		1/2	1.25x10 ¹⁰	1/2 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/4	1.25x10 ¹⁰	1/4 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/8	1.25x10 ¹⁰	1/8 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/16	1.25x10 ¹⁰	1/16 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/32	1.25x10 ¹⁰	1/32 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/64	1.25x10 ¹⁰	1/64 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/128	1.25x10 ¹⁰	1/128 x (1.8x10 ¹⁵)
		1/256	1.25x10 ¹⁰	1/256 x (1.8x10 ¹⁵)

그 결과 압타머는 비드의 단위 부피 1ml당 0.1 nmol 내지 10 mmol로 결합되었을 때 금속 이온 회수능이 가장 좋을 수 있었다(도 3).

또한 유세포 분석기(FACS) 실험 결합 비율에 따라 실제 Co²⁺ 압타머(서열번호 1의 압타머 FA-C1)에 적용하여 압타머 활성을 측정된 결과, 유세포 분석 실험 결과로 얻은 압타머의 최적 농도를 기준으로 최소 1/512배에서 최대 4배의 압타머를 같은 양의 비드에 사용하여 코발트 이온의 제거율을 확인하였다. 최적 비율 이상의 압타머를 사용한 경우 결과를 보면, 압타머의 농도가 너무 높아질 경우 오히려 압타머 간섭 등의 영향으로 금속 이온의 회수능이 감소하는 것을 확인하였다(도 4).

2. 압타머-비드 컬럼의 성능 및 재사용 가능성 평가

코발트, 니켈 및 망간 이온이 각각 10 μM 농도로 포함된 샘플을 압타머(서열번호 1, 2, 7, 8, 13, 14의 압타머 FA-C1&C2, FA-N1&N2, FA-M1&M2)가 비드에 결합된 컬럼에 통과시킨 후, 얻어진 용액의 금속 이온 농도는 ICP-OES(Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer)로 측정하여 본 발명의 압타머-비드 컬럼의

성능을 평가하였다. 그 결과, 도 5(A)와 같이 모든 압타머에서 99% 이상의 표적 이온 제거율을 나타냄을 확인하였다.

[0070] 또한 금속 이온들이 결합된 위 6종의 압타머-비드 컬럼에 95℃의 고온수를 가해 압타머를 변성시켰더니 결합되었던 금속 이온들이 컬럼에서 분리되어 99.9% 회수됨을 확인하였다(도 5B). 이에 따라 압타머 및 압타머-비드 컬럼을 방사성 금속 이온 포집 용도로 재사용이 가능함을 알 수 있다.

[0072] 3. 압타머-비드 컬럼의 재사용 횟수 평가

[0073] 위의 과정을 반복하여 도 6(A)에 따라 압타머 및 압타머-비드 컬럼을 방사성 금속 이온 포집 용도로 몇 번이나 재사용할 수 있는지 확인하였다. 그 결과 도 6(B)와 같이 12회 재사용할 때까지는 첫 번째와 동일하게 99% 이상의 제거율을 보였으며 20회 재사용할 때에 95% 이하로 제거율이 낮아짐을 확인하였다.

[0075] 4. 고온수의 재사용 가능성 평가

[0076] 압타머 변성에 사용되는 고온수를 재사용할 수 있는지 확인하였다. 고온수는 방사성 금속 이온을 포함하고 있어 재사용을 못하면 방사성 폐액으로 폐기해야 한다. 이에 따라 고온수를 재사용하는 고온수 농축 실험을 진행하였다. 표 1의 코발트 압타머 FA-C1과 10 μM의 코발트 이온 샘플을 대상으로 5회 농축 실험을 진행하였고, 5회 반복 재사용 고온수에서도 압타머에 결합된 금속 이온이 분리되어 고온수에 농축되는 것을 확인하였다(도 7).

[0078] 5. 다표적 압타머-비드 컬럼의 표적 선택성 평가

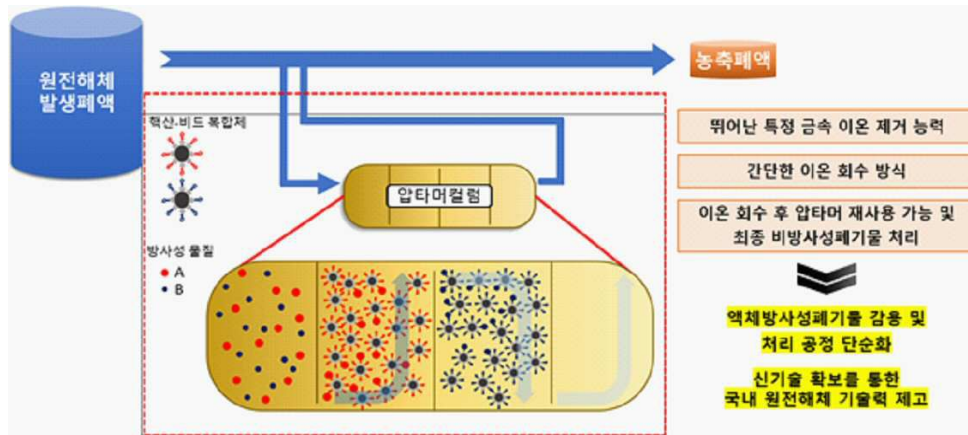
[0079] 본 발명의 컬럼이 다양한 금속 이온들이 포함된 방사성 폐액 중 특정 금속 이온을 선택적으로 한 번에 분리할 수 있는지를 확인하기 위해, 코발트, 니켈, 망간 압타머(서열번호 1, 7, 13의 압타머 FA-C1, FA-N1, FA-M1)가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 9가지 혼합 이온 10 μM을 포함하는 샘플을 통과시킨 후 각 이온의 농도를 측정하여 제거율을 평가하였다. 그 결과 코발트, 망간 및 니켈 이온의 높은 제거율이 확인되어 본 발명의 컬럼의 높은 표적 이온 선택성을 확인하였다(도 8).

[0081] 6. 현장 시험

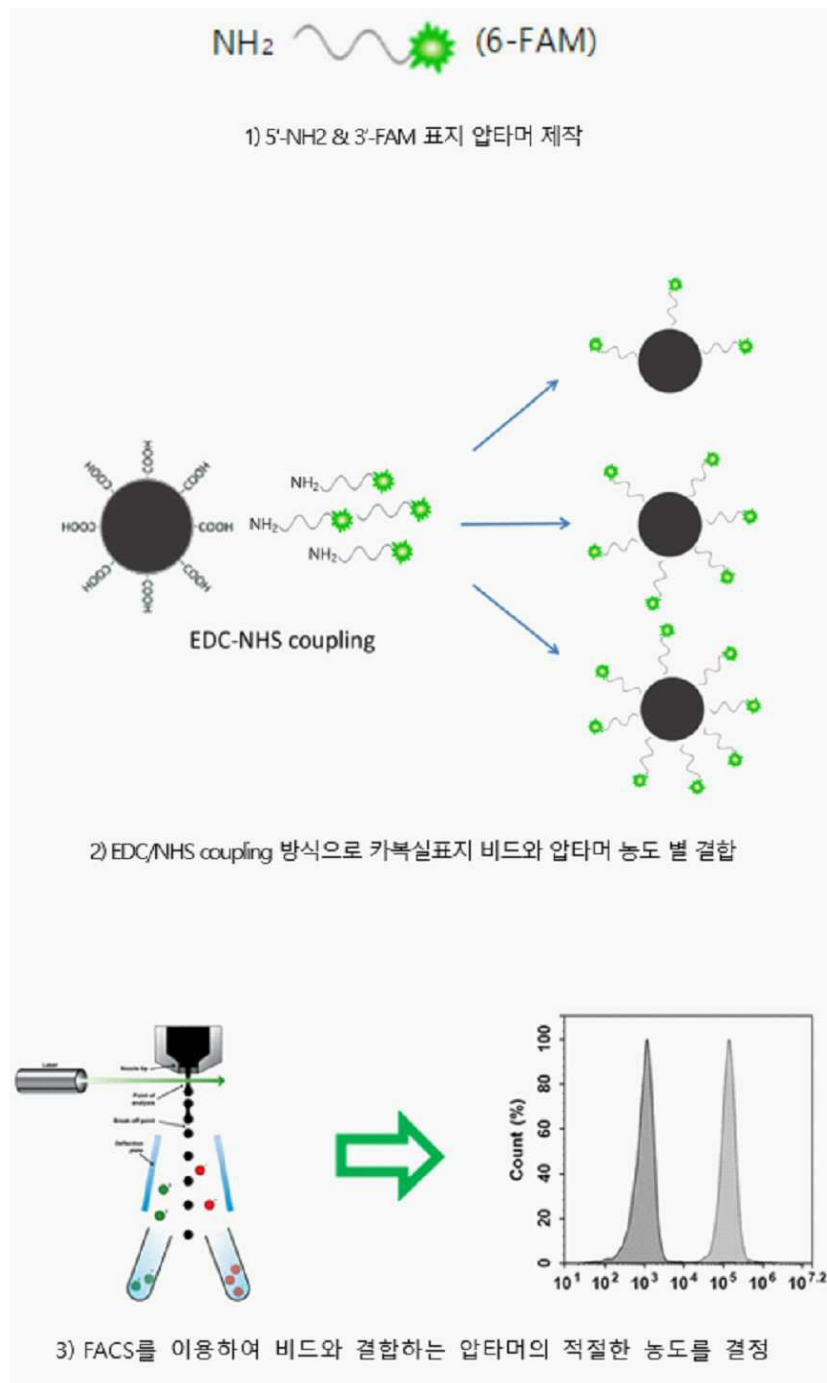
[0082] 실제 방사성 폐액 샘플(니켈 불포함)로 현장 시험을 수행하였다. 한국원자력연구원의 방사성 물질 포함 시료와 원자력발전소의 1차 계통수를 대상으로 현장 시험 수행하였다. 각각의 타겟 이온 압타머(원자력 연구원 서열번호 1, 7의 압타머 FA-C1, FA-N1, 원자력 발전소 서열번호 1, 7, 13의 압타머 FA-C1, FA-N1, FA-M1)가 결합된 비드로 채워진 컬럼에 위 두 시료를 통과시켰더니 방사성 금속 이온이 90% 이상 제거되는 것을 확인하였다(도 9).

도면

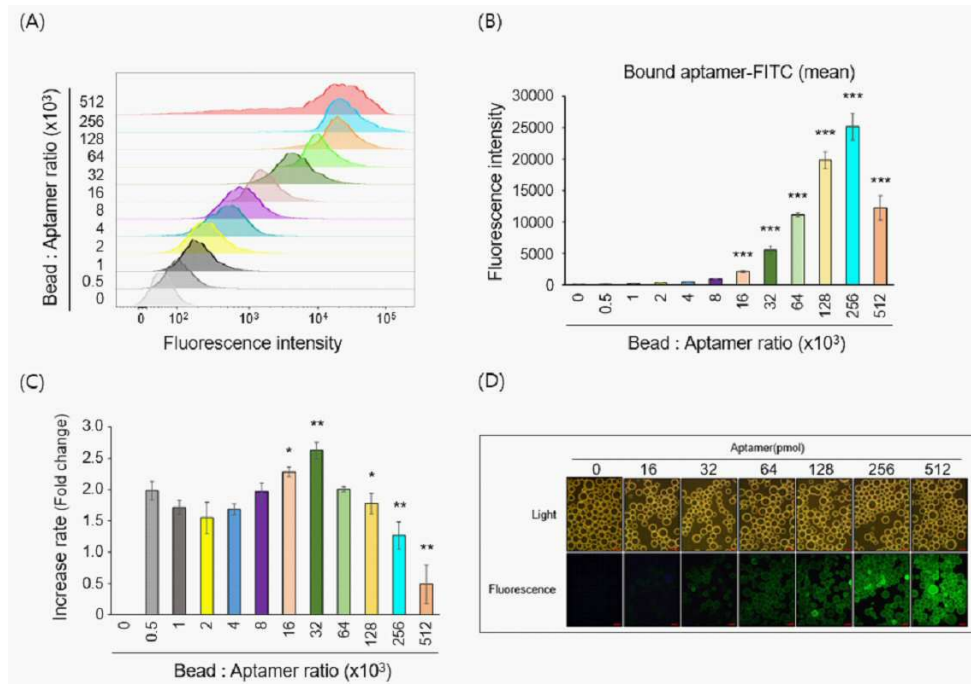
도면1



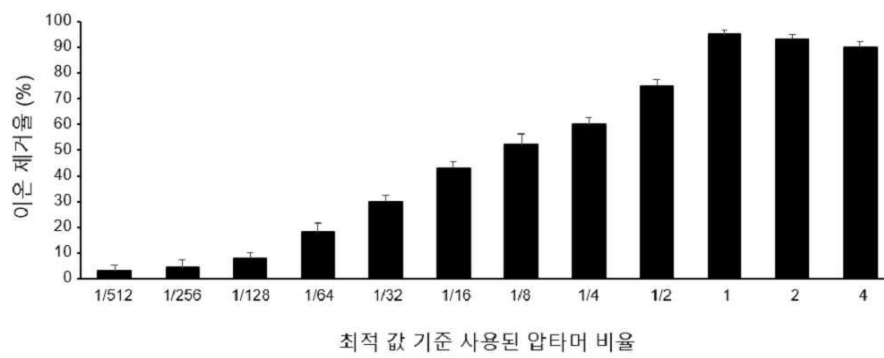
도면2



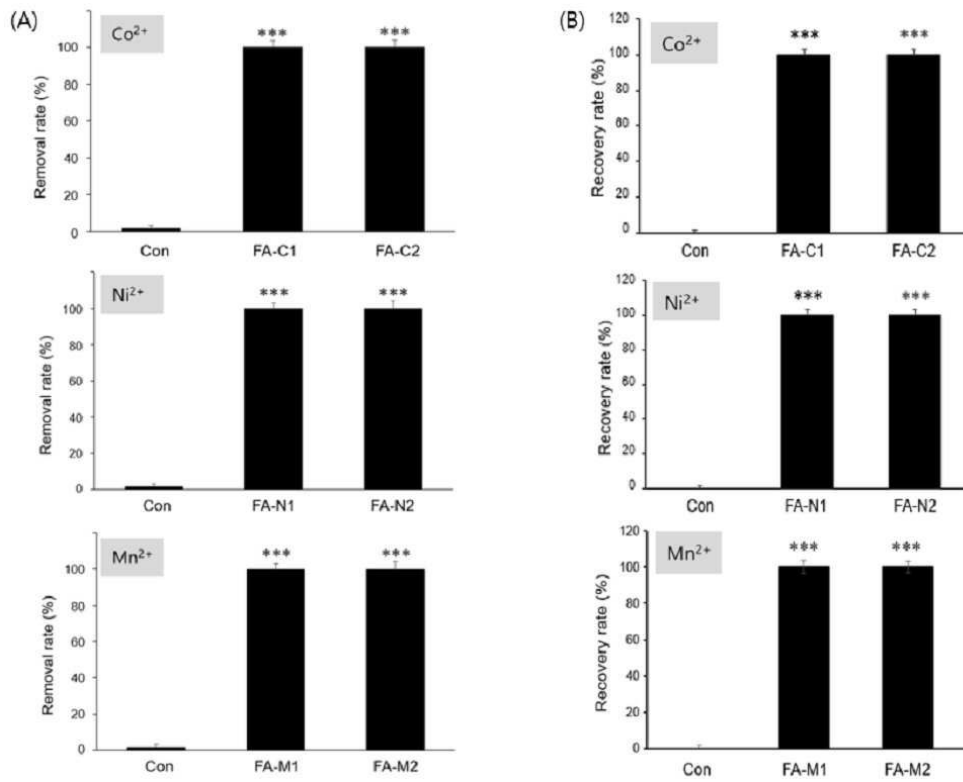
도면3



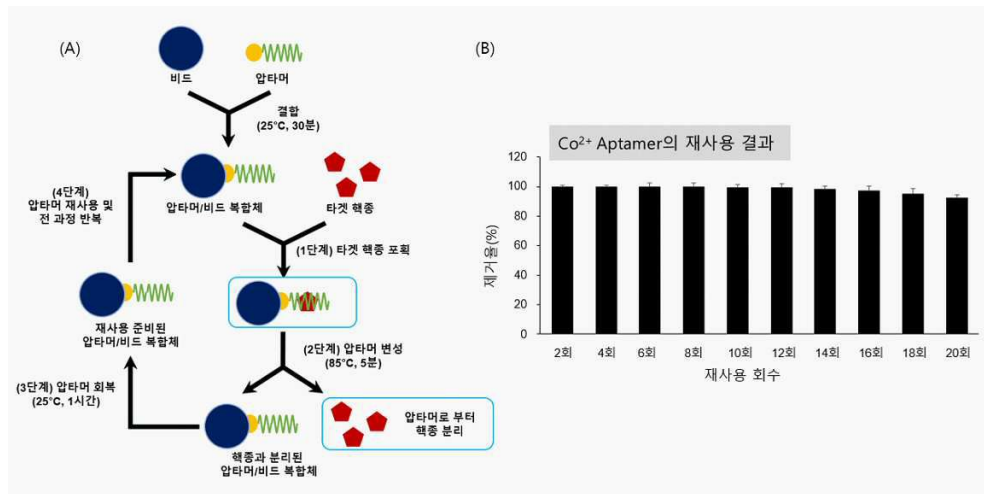
도면4



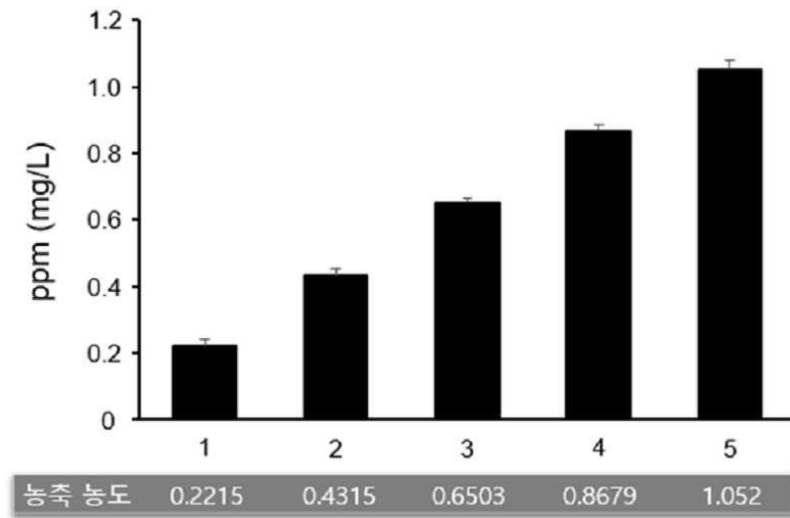
도면5



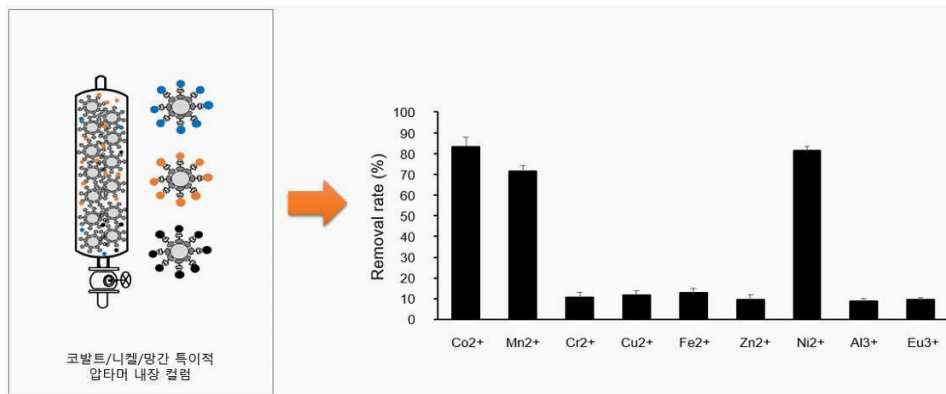
도면6



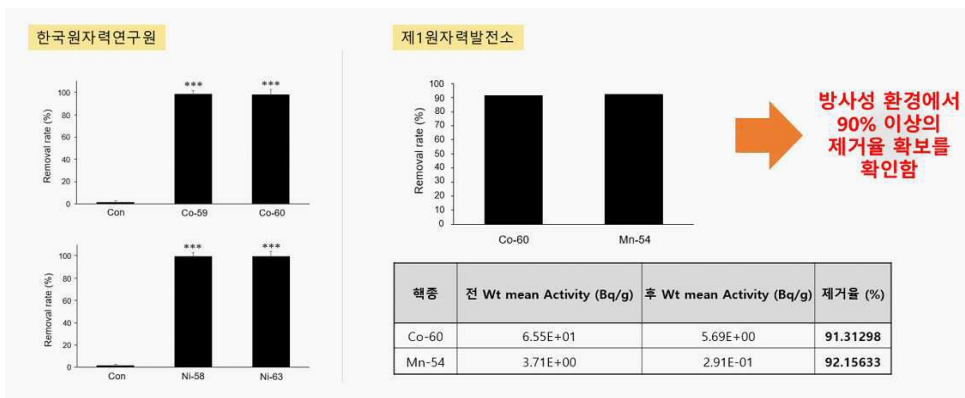
도면7



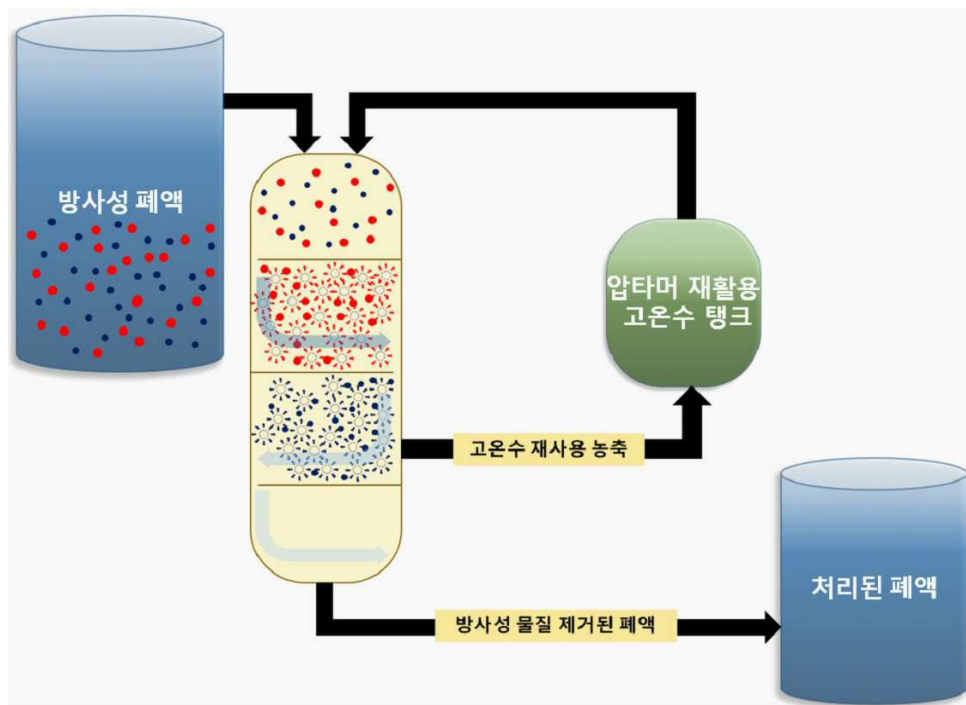
도면8



도면9



도면10



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.