



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0132994
(43) 공개일자 2017년12월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
D02G 3/26 (2006.01) A61L 27/38 (2006.01)
A61L 27/44 (2006.01) C12N 5/00 (2006.01)
D02G 1/02 (2006.01) D02G 3/44 (2006.01)
D03D 15/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
D02G 3/26 (2013.01)
A61L 27/3834 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0063854
(22) 출원일자 2016년05월25일
심사청구일자 2016년05월25일

(71) 출원인
주식회사 아모그린텍
경기도 김포시 통진읍 김포대로1950번길 91
(72) 발명자
장선호
서울 강서구 방화동로 16길 66
구송희
경기도 김포시 청송로 18 210동 1604호 (장기동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

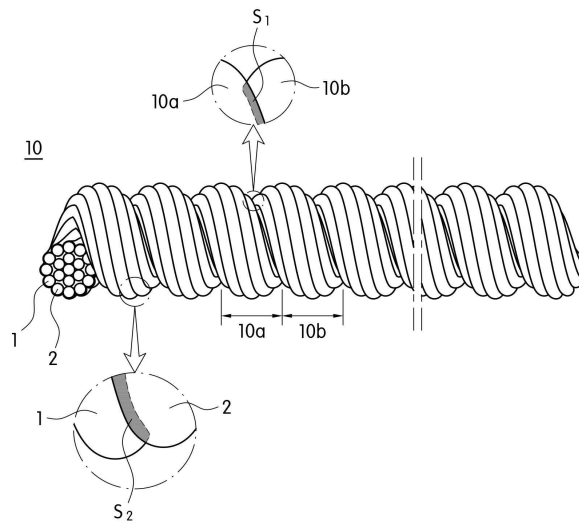
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 세포배양 지지체용 원사 및 이를 포함하는 원단

(57) 요약

세포배양 지지체용 원사가 제공된다. 본 발명의 일 실시예에 의한 원사는 한 가닥 또는 복수 가닥의 모노사가 연사(twisting)되어 형성된 복수개의 연; 및 연과 연 사이에 형성된 틈새공간으로서, 세포의 입체적 성장공간 및 이동경로를 제공하는 섬유골;을 구비한다. 이에 의하면, 배양되는 세포의 이동, 증식, 분화에 적합한 미세환경이 원사를 통하여 구현됨에 따라서 세포 증식을 및 생존율이 향상될 수 있다. 또한, 세포의 증식공간 및 이동경로가 지지체 마다 최대한 유사하게 구현됨으로써 보다 균일한 형상을 갖는 세포군집체로를 용이하게 구현시킬 수 있다. 나아가, 이를 통해 배양된 세포가 in vitro 실험모델이나 동물 체내에 이식용으로 적용시키기에 보다 적합한 형상, 구조로 배양될 수 있으며, 생물반응기, 세포배양용기, 체내이식용 키트 등 세포배양분야 또는 조직공학 분야에 사용되는 각종 제품으로 널리 응용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- A61L 27/3895 (2013.01)
- A61L 27/44 (2013.01)
- C12N 5/0062 (2013.01)
- C12N 5/0068 (2013.01)
- D02G 1/02 (2013.01)
- D02G 3/448 (2013.01)
- D03D 15/00 (2013.01)
- C12N 2513/00 (2013.01)
- C12N 2533/30 (2013.01)

(72) 발명자

서인용

서울 중랑구 면목로72길 66, 가동 402호 (면목동, 현대하이츠빌라)

김찬

광주광역시 남구 봉선로 134 206동 401호 (봉선동, 금호2차아파트)

이승훈

경기도 과천시 한빛로 70 521동 1704호 (야당동, 한빛마을5단지 캐슬&칸타빌)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	10051891
부처명	산업통상자원부
연구관리전문기관	한국산업기술평가관리원
연구사업명	산업기술혁신사업(우수기술연구센터사업)
연구과제명	복합 다기능 나노섬유 제조 기술 및 응용제품 개발
기 여 율	1/1
주관기관	(주)아모그린텍
연구기간	2015.06.01 ~ 2016.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

한 가닥 또는 복수 가닥의 모노사가 연사(twisting)되어 형성된 복수개의 연; 및
연과 연 사이에 형성된 틈새공간으로서, 세포의 입체적 성장공간 및 이동경로를 제공하는 섬유골;을 구비하는 세포배양 지지체용 원사.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 모노사는 방적사, 필라멘트사 또는 슬리팅사(slitting yarn)인 세포배양 지지체용 원사.

청구항 3

제1항에 있어서,
상기 원사는 섬유형성성분이 폴리스티렌(PS), 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET), 폴리이더술폰(PES), 폴리비닐리덴플루오라이드(PVDF), 폴리아크릴로나이트릴(PAN), 폴리디메틸실록산(PDMS), 폴리아미드, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌옥사이드(poly(alkylene oxide)), 폴리아미노산(poly(amino acids)), 폴리알릴아민(poly(allylamines), 폴리포스파젠(polyphosphazene) 및 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드 블록공중합체로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 비생분해성 성분, 또는

폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리다이옥사논(polydioxanone), 폴리글리콜릭산(polyglycolic acid), PLLA(poly(L-lactide)), PLGA(poly(DL-lactide-co-glycolide)), 폴리락틱산(Polylactic acid) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 생분해성 성분을 포함하는 세포배양 지지체용 원사.

청구항 4

제2항에 있어서,
상기 모노사는 섬도가 0.01 ~ 30 데니어인 세포배양 지지체용 원사.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 원사는 복수 가닥의 모노사들을 구비하며,
상기 원사의 외부면에 형성되는 상기 모노사들 사이의 틈새공간인 미세섬유골을 더 포함하는 세포배양 지지체용 원사.

청구항 6

제2항에 있어서,
상기 슬리팅사는 소정의 폭을 갖도록 절단된 3차원 네트워크 구조의 나노섬유 웹인 세포배양 지지체용 원사.

청구항 7

제8항에 있어서,
상기 나노섬유 웹은 평량이 0.1 ~ 100g/m², 폭이 0.1 ~ 30mm인 세포배양 지지체용 원사.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 모노사는 표면에 고정된 세포의 부착, 이동, 성장, 증식(proliferation) 및 분화(differentiation) 중 어느 하나 이상을 유도하는 생리활성성분을 더 구비하는 세포배양 지지체용 원사.

청구항 9

제10항에 있어서,

상기 생리활성성분은 모노아민, 아미노산, 펩타이드, 당류(saccharide), 지질(lipid), 단백질, 당단백질(glucoprotein), 당지질(glucolipid), 프로테오글리칸, 뮤코다당(mucopolysaccharide) 및 핵산(nucleic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 화합물 및 세포 중 어느 하나 이상을 포함하는 세포배양 지지체용 원사.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 원사를 여러 가닥 포함하여 연사되어 형성한 복수개의 거대연, 및 세포의 입체적 성장공간 및 이동경로를 제공하는 거대연들 사이의 틈새공간인 거대섬유골을 포함하는 세포배양 지지체용 합연사.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 따른 원사를 포함하는 세포배양 지지체용 원단.

청구항 12

제10항에 따른 세포배양 지지체용 합연사를 포함하는 원단.

청구항 13

제11항에 따른 원단; 및

상기 원단내 세포배양 지지체용 원사의 섬유골을 따라서 배양된 세포들;을 포함하는 조직공학용 이식체.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 세포는 전능줄기세포, 만능줄기세포, 다능줄기세포, 올리고포텐트(oligopotent) 줄기세포 및 단일줄기세포로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 줄기세포, 및

조혈모세포, 간세포, 섬유세포, 상피세포, 중피세포, 내피세포, 근육세포, 신경세포, 면역세포, 지방세포, 연골세포, 골세포, 혈액세포 및 피부세포로 이루어진 군에서 선택된 분화세포 중 1 종 이상을 포함하는 조직공학용 이식체.

청구항 15

제12항에 따른 원단; 및

상기 원단내 세포배양 지지체용 원사의 섬유골을 따라서 배양된 세포들;을 포함하는 조직공학용 이식체.

청구항 16

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포배양 지지체용 원사는 전능줄기세포, 만능줄기세포, 다능줄기세포, 올리고포텐트(oligopotent) 줄기세포 및 단일줄기세포로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 줄기세포, 및

조혈모세포, 간세포, 섬유세포, 상피세포, 중피세포, 내피세포, 근육세포, 신경세포, 면역세포, 지방세포, 연골세포, 골세포, 혈액세포 및 피부세포로 이루어진 군에서 선택된 분화세포 중 1종 이상의 세포를 배양하기 위한 지지체의 용도인 세포배양 지지체용 원사.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세포배양 지지체용 복합사 및 원단에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 배양되는 세포의 부착, 이동, 증식, 분화에 적합한 미세 환경이 구현되어 세포의 생존율이 향상되며, 세포가 입체적으로 증식할 수 있고, 세포군집체가 물리, 화학, 생물학적으로 체내 구조와 유사한 물성을 발현하도록 균일한 형상으로 세포군집체를 용이하게 증식시킬 수 있는 세포배양 지지체용 복합사 및 원단의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근, 질병 치료에 배양세포의 이용 및 응용이 확대됨에 따라 세포배양에 대한 관심과 연구가 활발하게 진행되고 있다. 세포배양은 세포를 생체로부터 채취하고, 생체 밖에서 배양시키는 기술로, 배양된 세포는 피부, 장기, 신경 등 신체의 다양한 조직으로 분화시키거나, 분화시키기 전 상태로 인체에 이식시켜 생착 및 분화가 동시에 이루어지게 하여 다양한 질병 치료에 활용될 수 있다.

[0003] 세포배양에서 해결해야할 개발과제 중의 하나로는 세포를 배양, 분화시키고, 세포와 함께 인체 조직에 이식될 수 있는 지지체의 구성소재, 구조, 모폴러지 등에 관한 것이다. 그러나 기존 개발된 세포배양용 지지체를 이용한 배양세포는 세포가 체내와 유사한 입체적 구조로 배양되지 않고 생존율도 낮아 in-vitro 실험모델이나 이식용 세포로서 부적합한 문제가 있었다.

[0004] 또한, 세포가 입체적으로 증식된 경우에도 세포를 증식시킨 지지체의 형상, 모폴러지, 구조 등에 의해 증식된 세포군집체의 형상이 각각 다르며, 이 경우 세포군집체에 가해지는 물리, 화학적 자극에 의한 세포군집체의 반응이 달라질 수 있다. 특히 배양된 세포군집체 마다 다른 반응을 나타낼 경우 일률적이며, 재현성 있는 결과를 도출할 수 없어서 증식된 세포군집체를 검사, 실험용으로 사용하기에 부적합한 문제가 있었다.

[0005] 대한민국 등록특허 10-1104305호 (특허문헌 1)에는 다공성 표면을 갖는 야누스 형태의 조직공학용 고분자 마이크로 섬유 제조방법이 개시되어 있다.

[0006] 상기 특허문헌 1에는 광중합성 폴리우레탄 모노머와 상기 모노머와 혼합되지 않는 수용액 연속상을 미세유로에 모노머 제트 스트림이 형성되도록 동시에 연속 주입, 자외선을 조사하여 광경화된 모노머가 연속상으로 배출되도록 하여 제조된 폴리우레탄 마이크로 섬유를 조직공학용 지지체로 응용한 예로, 제조된 섬유의 굵기가 ~수백 μm급으로 굵어 기공의 크기나 형태 구조, 배열이 균일하지 않으며, 기공이 커 초기 세포부착이 원활하게 이루어지지 어려워, 세포가 부착하더라도 이동, 증식, 성장 등의 배양에 문제가 발생할 우려가 있었다.

[0007] 또한, 대한민국 공개특허 10-2015-0116941호(특허문헌 2)는 PVP-b-PCL 블록 공중합체를 포함하는 친수성 나노섬유 세포지지체에 대해서 개시하고 있다. 상기 특허문헌 2는 생체적합성 고분자 물질을 나노섬유화하여 친수화 구조로 이루어진 세포지지체로 초기 세포 부착에는 유리하나, 전기방사 특성상 나노섬유가 무작위로 배열되어 있으며, 형성되는 기공의 크기를 1μm 이상 구현하기가 어려워 세포가 부착 후 성장 증식, 이동, 분화하는 데는 한계가 있으며, 특정형태를 가지는 세포의 지지체로 응용하는 데는 적절한 효과를 가지오지 못할 우려가 있다.

[0008] 따라서 체내와 유사한 구조로 세포가 입체적으로 배양, 증식 가능하고, 세포군집체의 형상이 균일하게 배양될 수 있도록 지지체의 환경을 체내 구조와 유사하게 제조할 필요가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1104305호
- (특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제10-2015-0116941호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 감안하여 안출한 것으로, 배양되는 세포의 부착, 이동, 증식, 분화에 적합한

미세환경을 구현시켜 세포 증식을 및 생존율이 향상된 세포배양 지지체용 원사 및 원단을 제공하는데 목적이 있다.

- [0011] 또한, 본 발명은 배양되는 세포의 증식 공간 및 이동경로가 지지체 마다 최대한 유사하게 구현됨으로써 보다 균일한 형상을 갖는 세포군집체로의 구현을 용이하게 하는 세포배양 지지체용 복합사 및 원단을 제공하는데 다른 목적이 있다.
- [0012] 또한, 본 발명은 배양된 세포를 in vitro 실험모델이나 동물 체내에 이식용으로 적용하기에 보다 적합하도록 배양되는 세포들의 형상, 구조를 실제 동물 체내와 유사하게 배양시킬 수 있는 세포배양용 복합사 및 원단을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.
- [0013] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 복합사 및 원단을 통하여 생물반응기, 세포배양용기, 체내이식용 키트 등 세포배양분야 또는 조직공학분야에 사용되는 각종 제품으로 광범위하게 응용될 수 있는 세포배양 지지체용 복합사 및 원단을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0014] 상술한 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 한 가닥 또는 복수 가닥의 모노사가 연사(twisting)되어 형성된 복수개의 연; 및 연과 연 사이에 형성된 틈새공간으로서, 세포의 입체적 성장 공간 및 이동경로를 제공하는 섬유골;을 구비하는 세포배양 지지체용 복합사를 제공한다.
- [0015] 본 발명의 실시예에 의하면 상기 모노사는 방적사, 필라멘트사 또는 슬리팅사(slitting yarn)일 수 있다.
- [0016] 또한, 상기 원사는 섬유형성성분이 폴리스티렌(PS), 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET), 폴리이더술폰(PES), 폴리비닐리덴플루오라이드(PVDF), 폴리아크릴로니트릴(PAN), 폴리디메틸실록산(PDMS), 폴리아미드, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌옥사이드(poly(alkylene oxide)), 폴리아미노산(poly(amino acids)), 폴리알릴아민(poly(allylamines), 폴리포스파젠(polyphosphazene) 및 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드 블록공중합체로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 비생분해성 성분, 또는 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리다이옥사논(polydioxanone), 폴리글리콜릭산(polyglycolic acid), PLLA(poly(L-lactide)), PLGA(poly(DL-lactide-co-glycolide)), 폴리락틱산(Polylactic acid) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 생분해성 성분을 포함할 수 있다.
- [0017] 또한, 상기 원사는 연수가 100 ~ 5000 T/m, 연각이 20 ~ 60° 일 수 있다.
- [0018] 또한, 상기 원사는 섬도가 0.1 ~ 300 데니어일 수 있다.
- [0019] 또한, 원사를 구성하는 모노사는 섬도가 0.01 ~ 30 데니어일 수 있다.
- [0020] 또한, 상기 원사는 복수 가닥의 모노사들을 구비하며, 상기 원사의 외부면에는 상기 모노사들 사이의 틈새공간인 미세섬유골을 더 포함할 수 있다.
- [0021] 또한, 상기 슬리팅사는 소정의 폭을 갖도록 절단된 3차원 네트워크 구조의 나노섬유 웹일 수 있다. 이때, 상기 나노섬유 웹은 평량이 0.1 ~ 100g/m², 폭이 0.1 ~ 30mm일 수 있다.
- [0022] 상기 모노사는 표면에 고정된 세포의 부착, 이동, 성장, 증식(proliferation) 및 분화(differentiation) 중 어느 하나 이상을 유도하는 생리활성성분을 더 구비할 수 있다.
- [0023] 상기 생리활성성분은 모노아민, 아미노산, 펩타이드, 당류(saccharide), 지질(lipid), 단백질, 당단백질(glucopein), 당지질(glucolipid), 프로테오글리칸, 뮤코다당(mucopolysaccharide) 및 핵산(nucleic acid)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 화합물 및 세포 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 원사를 복수개로 포함하는 세포배양 지지체용 합사를 제공한다.
- [0025] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 합사가 연사되어 형성한 복수개의 거대연, 및 세포의 입체적 성장공간 및 이동경로를 제공하는 거대연들 사이의 틈새공간인 거대섬유골을 포함하는 세포배양 지지체용 합연사를 제공한다.
- [0026] 또한, 상기 합연사는 섬도가 0.5 ~ 1000 데니어이며, 연수가 100 ~ 5000 T/m, 연각이 20 ~ 60° 일 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 원사를 포함하는 세포배양 지지체용 원단을 제공한다.
- [0028] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 합사를 포함하는 세포배양 지지체용 원단을 제공한다.

- [0029] 또한, 본 발명에 따른 합연사를 포함하는 세포배양 지지체용 원단을 제공한다.
- [0030] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 원단; 및 상기 원단내 세포배양 지지체용 원사의 섬유골을 따라 배양된 세포들;을 포함하는 조직공학용 이식체를 제공한다.
- [0031] 또한, 본 발명에 따른 세포배양 지지체용 원사, 세포배양 지지체용 합사, 세포배양 지지체용 합연사, 또는 이들 중 어느 하나 이상을 포함하여 구현된 세포배양 지지체용 원단 및 조직공학용 이식체는 전능줄기세포, 만능줄기세포, 다능줄기세포, 올리고포텐트(oligopotent) 줄기세포 및 단일줄기세포로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 줄기세포, 및 조혈모세포, 간세포, 섬유세포, 상피세포, 중피세포, 내피세포, 근육세포, 신경세포, 면역세포, 지방세포, 연골세포, 골세포, 혈액세포 및 피부세포로 이루어진 군에서 선택된 분화세포 중 1 종 이상을 포함하는 세포를 배양 및/또는 이식하기에 적합할 수 있다.
- [0032] 이하, 본 발명에서 사용한 용어에 대하여 설명한다.
- [0033] 본 발명의 "세포의 기질(extracellular matrix, ECM)"은 세포의 외부를 둘러싸고 있는 기질로서, 세포와 세포 사이를 차지하고 있으며, 주로 단백질과 다당류로 이루어진 망상 구조를 가지는 것을 의미하는 것이다.
- [0034] 본 발명의 "모티프"는 세포의 부착, 이동, 분화 등에 중요한 역할을 하는 세포의 기질내 단백질, 당단백질 등에 포함되어 세포막의 표면 또는 막을 관통하도록 구비되는 수용체와 구조적/기능적으로 상호작용을 할 수 있는 아미노산 서열을 포함하는 펩티드로써, 세포내에서 분리하거나 유전자 클로닝(Gene cloning) 기법을 이용하여 인공적으로 생산된 것을 모두 포함한다.
- [0035] 본 발명의 "3차원 세포군집체"(3 dimension cell cluster)는 3차원으로 세포가 입체적으로 모여 있는 형상을 의미한다.
- [0036] 본 발명의 "합연사"는 2가닥 이상의 원사를 합쳐서 연사시켜 구현된 원사집합체를 의미하며, 합연의 주체가 되는 각각의 원사가 방적사 유래인지 또는 필라멘트사 유래인지 구분하지 않는다. 또한, 이종의 원사를 합연한 교합사도 상기 합연사에 포함된다.

발명의 효과

- [0037] 본 발명에 의하면, 배양되는 세포의 부착, 이동, 증식, 분화에 적합한 미세환경이 원사를 통해 구현됨에 따라서 세포 증식을 및 생존율이 향상될 수 있다. 또한, 세포의 증식공간 및 이동경로가 지지체 마다 최대한 유사하게 구현됨으로써 보다 균일한 형상을 갖는 세포군집체로써 용이하게 구현시킬 수 있다. 나아가, 이를 통해 배양된 세포가 in vitro 실험모델이나 동물 체내에 이식용으로 적용시키기에 보다 적합한 형상, 구조로 배양될 수 있으며, 생물반응기, 세포배양용기, 체내이식용 키트 등 세포배양분야 또는 조직공학분야에 사용되는 각종 제품으로 널리 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0038] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 원사의 사시도 및 부분 확대도,
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 원사의 사시도,
- 도 3a 및 도 3b는 본 발명의 일 실시예에 포함되는 슬리팅사의 일례로써, 도3a는 슬리팅사로 제조되기 전 나노 섬유 웹 상태의 확대사진, 도 3b는 슬리팅사로 제조된 후의 확대사진,
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 원사의 분해사시도로써, 슬리팅사를 모노사로 구비시켜 연사되는 원사에 대한 도면,
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 합연사의 분해사시도,
- 도 6은 본 발명의 일 실시예에 포함되는 슬리팅사를 제조하기 위한 1.7M 광폭 나노섬유웹의 사진(a) 및 상기 나노섬유웹의 주사전자 현미경 사진(b),
- 도 7은 본 발명의 일 실시예에 포함되는 슬리팅사를 제조하기 위한 중간단계를 나타내는 사진으로써, (a)는 폭 50mm로 1차 슬리팅시킨 슬리팅사 사진이며, (b)는 상기 1차 슬리팅시킨 사를 폭 1.5mm로 정밀슬리팅되는 과정을 나타내는 사진이고, (c)는 (b) 단계를 통해 제조된 폭 1.5mm인 슬리팅사가 권취되는 과정을 나타내는 사진,
- 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 슬리팅사를 합사 후 연사시켜 콘에 권취한 사진(a)과 연사된 슬리팅사의 전

자현미경 사진(b),

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 슬리딩사를 이중의 섬유와 복합가연시킨 원사에 대한 다양한 실시예에 대한 사진으로써, (a)는 나일론과 나노섬유가 복합가연된 실시예3의 전자현미경 사진, (b)는 폴리에스터섬유와 나노 섬유가 복합가연된 실시예4의 전자현미경 사진, (c)는 면과 나노섬유가 복합가연된 실시예5의 전자현미경 사진, 그리고

도 10a 내지 도 10d는 실시예4에 따른 원사를 통해 세포를 배양하는 사진 및 배양된 결과를 나타내는 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0039] 이하, 첨부한 도면을 참고로 하여 본 발명의 실시예에 대하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 동일 또는 유사한 구성요소에 대해서는 동일한 참조부호를 부가한다.
- [0041] 도 1에 도시된 것과 같이 본 발명의 일 실시예에 의한 세포배양 지지체용 원사(10)는 복수 가닥의 모노사(1,2)가 연사(twisting)되어 형성된 복수개의 연(10a, 10b)을 포함하고, 상기 연(10a)과 연(10b) 사이의 원사(10)외부면에 형성된 틈새공간으로서, 세포의 입체적 성장 공간 및 이동경로를 제공하는 섬유골(S₁)을 구비한다. 또한, 상기 원사는 도 1과 다르게 한 가닥의 모노사가 연사되어 형성될 수도 있다.
- [0042] 상기 섬유골(S₁)에 대해 구체적으로 설명하면, 도 1에서 확인할 수 있듯이 복수 가닥의 모노사 다발(1, 2) 일단을 고정시키고 한 방향으로 모노사 다발을 계속 가연시키면 모노사 다발이 꼬아져서 고정된 일단에서부터 타단 방향으로 복수개의 연이 연속하여 형성되는데, 모노사 다발 자체의 곡률로 인하여 연과 연 사이에는 대략 V자 또는 U자로 틈새공간인 섬유골(S₁)이 형성된다. 상기 섬유골(S₁)은 모노사 다발을 끈 방향에 따라 원사의 외부면에 나선형으로 형성된다. 만일, 원사의 고정점을 일정하게 하고 균일하게 연사 시킬 경우 원사의 외부면에 형성되는 섬유골(S₁)의 높이, 나선형의 연속된 섬유골에서 피치간격 등의 패턴을 일정하게 형성시킬 수 있다.
- [0043] 한편, 세포를 실 상태의 지지체에서 배양시킬 경우 세포는 여러 실에 걸쳐서 배양되거나 실의 섬도가 큰 경우 실의 외부면에 부착된 상태로 배양될 수 있는데, 여러 실에 걸쳐서 배양되는 세포는 실의 유동에 따라서 안정적으로 부착되기 어렵고, 이 경우 지지체에서 배양되는 세포가 쉽게 탈리되어 세포를 입체적인 군집체로 배양시키기 매우 어려운 문제가 있다. 또한, 세포를 섬도가 큰 실의 외부면에 부착시켜 배양시키는 경우에도 세포는 실의 외부면에만 이차원적으로 부착될 수 있어서 쉽게 탈리되는 문제가 있다. 또한, 여러 실에 걸쳐 세포가 배양되거나 단일 실의 외부면에 세포가 배양되는 경우에 배양된 세포들의 군집형상은 일률적이 못한 문제가 있다.
- [0044] 그러나 배양세포의 크기를 고려하여 상술한 것과 같이 원사에 일정한 피치간격, 높이 등으로 섬유골을 형성시킬 경우 배양세포는 대략 V자 또는 U자인 섬유골 부분에 안착되어 원사 외부면에 3차원적 결합도 가능함에 따라서 세포를 안정적으로 배양시킬 수 있으며, 배양세포의 탈리를 방지할 수 있고, 세포를 입체적으로 배양시키기 적합하다. 또한, 연사된 원사는 사의 강도가 증가하고, 형상을 유지하기 용이함에 따라서 액상의 세포배양액 또는 유동하는 세포배양액에서 세포를 보다 더 안정적으로 지지할 수 있는 이점이 있다. 나아가, 연사된 원사에 형성된 섬유골은 원사의 길이방향으로 연속되게 형성됨에 따라서 배양되는 세포가 보다 안정적으로 지지체를 따라 이동 및 증식, 분화 등이 될 수 있는 이점이 있다. 특히, 섬유골로 인하여 제공된 이동경로는 세포의 이동시 저항을 줄여 보다 이동을 쉽게 할 수 있다. 더불어 이동하여 증식된 세포군집체의 형상이 섬유골의 형상에 의존적일 수밖에 없는데, 상술한 것과 같이 섬유골의 형상, 꼬임 등의 패턴이 일정함에 따라서 세포에 일정한 방향성의 자극을 줌에 따라서 증식되는 세포군집체의 형상 또한 매우 균일하도록 구현할 수 있는 이점이 있다. 또한, 섬유골의 패턴에 따라서 정렬성을 갖도록 집단배양 되는 세포군집체는 세포의 신호전달 메커니즘 등의 일련의 활동을 관찰하기에 용이하고 반응성 여부의 확인 측면에서도 유리할 수 있다.
- [0045] 상기 원사를 가연시키는 정도는 배양시키려는 세포의 종류, 크기, 세포집합체의 형상 및 크기를 고려하여 결정될 수 있다. 일례로, 상기 원사는 연수가 100 ~ 5000 T/m, 연각이 20 ~ 60 ° 일 수 있다. 만일 연수가 100 T/M 미만인 경우 유동하는 세포배양액 등의 외력으로 인한 원사의 흔들림이 크고, 복수 가닥의 모노사를 구비할 경우 상기 모노사 간의 이격간격에 따른 부가적 흔들림으로 인하여 세포가 안정적으로 배양되기 어려울 수 있는 문제가 있다. 또한, 만일 연수가 5000 T/M을 초과할 경우 모노사, 또는 모노사간 마찰로 인하여 원사의 강도가

오히려 저하될 수 있으며, 이로 인하여 절사의 빈도가 현저히 증가할 수 있다. 또한, 과도한 꼬임으로 인하여 연과 연의 밀착정도가 심해 섬유골의 부피가 감소하는 문제가 있을 수 있다.

- [0046] 또한, 상기 원사는 연각이 20 ~ 60° 일 수 있다. 상기 연각은 도 2에 도시된 것과 같이 원사축(p)과 원사의 표면에 있는 연선(q)간의 사이각 중 예각(°)을 의미한다. 연각(°)이 20° 미만일 경우 원사의 꼬임이 적어 섬유골의 형성이 어렵고, 원사가 여러 가닥의 모노사로 이루어진 경우 세포가 여러 가닥의 실에 걸쳐 배양될 수 있어서 안정성에 있어서 문제가 될 수 있다. 또한, 적은 꼬임수에서 섬유골을 형성시키기 위해서는 원사에 높은 장력을 가한 상태로 연사시켜야 하는데, 이 경우 원사가 절사될 수 있어서 제조가 용이하지 않고, 생산성이 현저히 저하되는 문제가 있을 수 있다.
- [0047] 상기 원사의 섬도는 배양 대상이 되는 세포의 종류, 크기를 고려하여 결정될 수 있는데, 바람직하게는 0.1 ~ 300 데니어일 수 있다. 만일 섬도가 0.1 데니어 미만일 경우 세포가 부착될 비표면적의 감소로 인하여 목적하는 수준으로 세포군집체의 제조가 어려울 수 있고 기계적 강도가 약해 안정적으로 세포를 배양하기 어려울 수 있다. 또한, 섬도가 300 데니어를 초과할 경우 지지체의 직경이 과도해져 연에 의해 형성되는 U자, V자 골의 부피 또는 깊이가 커질 수 있는데, 이 경우 로딩된 세포가 이동하는 경향성 보다 섬유골에서 군집을 형성해서 띄엄띄엄 성장될 수 있고, 균일한 크기, 형상을 갖는 세포군집체를 수득하기는 어려울 수 있다.
- [0048] 또한, 원사에는 한 가닥 또는 복수 가닥의 모노사가 구비될 수 있는데, 원사에 구비되는 모노사의 개수는 배양시키려는 세포의 종류, 크기, 세포집합체의 형상 및 크기에 적합하도록 결정되는 원사의 섬도 및 섬유골(S₁)의 부피 등을 고려하여 적절히 변경될 수 있음에 따라서 본 발명은 이에 대해 특별히 한정하지 않는다.
- [0049] 다만, 한 가닥의 모노사를 연사시킬 경우 섬유골은 생성된 연과 연 사이에서만 존재할 수 있지만, 여러 가닥의 모노사를 연사시킬 경우 모노사간의 사이 공간에서도 미세섬유골을 더 구비할 수 있고, 이와 같은 미세섬유골을 통해 세포배양공간 및/또는 세포의 이동경로를 추가적으로 더 제공할 수 있는 이점이 있다. 구체적으로 도 1에서 제1모노사(1)와 제2모노사(2) 간에 외부면의 곡률로 인하여 미세섬유골(S₂)을 더 구비하며, 상기 미세섬유골(S₂)은 세포의 추가적 배양공간이 되거나 이동경로로 기능할 수 있다. 즉, 세포를 배양시킬 때 일일이 섬유골(S₁)의 대략 V자, U자의 공간에 세포를 안착시킬 수 있는 것은 아니며, 일부 세포는 그 이외의 원사 외부면에 안착할 수 있으며, 미세섬유골(S₂)로 인하여 세포의 안정적 부착 및 이동이 원활할 수 있는 이점이 있다.
- [0050] 상기 원사에 구비되는 한 개 또는 복수개의 모노사는 방적사, 필라멘트사 또는 슬리팅사(slitting yarn)일 수 있다.
- [0051] 상기 모노사가 방적사나 필라멘트사일 경우 섬도가 0.01 ~ 30 데니어일 수 있다. 다만, 이에 제한되는 것은 아니며, 배양시키려는 세포의 종류, 크기, 세포집합체의 형상 및 크기에 적합하도록 변경될 수 있다.
- [0052] 또한, 상기 방적사는 공지된 방법에 의한 원면을 통하여 제조된 것일 수 있다. 또한, 상기 필라멘트사는 공지된 방법에 의하여 방사되어 제조된 것일 수 있고, 상기 방사는 화학방사 또는 전기방사 등의 공지된 방사방법일 수 있다.
- [0053] 또한, 상기 슬리팅사는 시트상의 섬유집합체, 원단 등을 소정의 폭을 갖도록 절단시켜 제조된 것일 수 있다. 바람직하게는 상기 슬리팅사는 3차원 네트워크 구조를 갖는 시트상의 나노섬유 웹을 소정의 폭을 갖도록 절단시켜 제조된 모노사일 수 있다. 이때, 상기 나노섬유 웹은 일정한 압력으로 압착시켜 슬리팅 공정의 용이성을 향상시키고, 슬리팅사의 강도를 증가시킬 수 있다. 일례로, 도 3a는 3차원 네트워크 구조를 갖는 시트상의 나노섬유 웹을 압착시켜 소정의 폭으로 절단할 경우 도 3b와 같은 슬리팅사를 제조할 수 있다.
- [0054] 상기 슬리팅사는 평량이 0.1 ~ 100g/m²인 나노섬유 웹을 폭이 0.1 ~ 30mm 되도록 절단한 모노사일 수 있다. 만일 폭을 0.1mm 미만으로 슬리팅할 경우 절단이 용이하지 않고, 가연시 가해지는 장력과 회전력에 의해 쉽게 사절될 수 있는 문제가 있다. 또한, 폭을 30mm 초과하여 슬리팅할 경우 연사시 불균일한 꼬임이 발생할 수 있는 문제가 있다.
- [0055] 또한, 도 4에 도시된 것과 같이 제1슬리팅사(21), 제2슬리팅사(22) 및 제3슬리팅사(23)가 합사되어 연사됨으로써 복수개의 연과 섬유골을 구비하는 원사(20)가 제조될 수 있다. 이때, 상기 슬리팅사(21,22,23)는 복수개의 섬유(21a), 바람직하게는 나노섬유를 통해 구현된 3차원 네트워크구조의 나노섬유 웹일 수 있으며, 이를 통하여 나노섬유 웹을 구성하는 나노섬유와 같은 미세섬유로 인하여 원사는 세포에 더욱 견고히 부착될 수 있다. 또한, 배양세포의 크기가 작을 경우 섬유웹 내부의 미세공간은 세포가 배양될 또 다른 배양공간을 제공할 수도 있다.

더불어 나노섬유 웹을 통한 세포배양용액의 통과가 가능함에 따라서 이들로 연사된 원사 자체도 세포배양용액에 대한 통과성을 구비하여 세포를 보다 안정적이고 높은 효율로 배양시킬 수 있는 이점이 있다.

[0056] 상술한 모노사들은 섬유상으로 제조될 수 있는 공지된 섬유형성 성분으로 구현될 것일 수 있으며, 모노사 종류에 따라서 적합한 재질을 선택하여 구현될 수 있고, 분해성이 요구되는 등 특별한 목적에 따라서 재질을 달리 선택할 수 있음에 따라서 본 발명은 이에 대해 특별히 한정하지 않는다. 상기 섬유형성성분은 면, 마, 등의 셀룰로오스 성분, 양모, 견 등의 단백질 성분, 또는 광물성 성분 등의 천연섬유 성분을 포함할 수 있다. 또는 상기 섬유형성 성분은 공지된 인조섬유의 성분일 수 있다.

[0057] 한편, 상기 섬유형성성분은 목적에 따라서 폴리스티렌(PS), 폴리에틸렌테레프탈레이트(PET), 폴리이더술폰(PES), 폴리비닐리덴플루오라이드(PVDF), 폴리아크릴로나이트릴(PAN), 폴리디메틸실록산(PDMS), 폴리아미드, 폴리알킬렌, 폴리알킬렌옥사이드(poly(alkylene oxide)), 폴리아미노산(poly(amino acids)), 폴리알릴아민(poly(allylamines)), 폴리포스파젠(polyphosphazene) 및 폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드 블록공중합체로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 비생분해성 성분, 또는 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리다이옥사논(polydioxanone), 폴리글리콜릭산(polyglycolic acid), PLLA(poly(L-lactide)), PLGA(poly(DL-lactide-co-glycolide)), 폴리락틱산(Polylactic acid) 및 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 생분해성 성분을 포함할 수 있다.

[0058] 또한, 상술한 모노사들은 섬유형성성분 이외에 기능성 물질을 더 구비할 수 있다. 상기 기능성 물질의 일례로, 상기 모노사는 표면에 고정된 세포의 부착, 이동, 성장, 증식(proliferation) 및 분화(differentiation) 중 어느 하나 이상을 유도하는 생리활성성분을 더 구비할 수 있다. 상기 생리활성물질은 모노아민, 아미노산, 펩타이드, 당류(saccharide), 지질(lipid), 단백질, 당단백질(glucoprotein), 당지질(glucolipid), 프로테오글리칸, 뮤코다당(mucopolysaccharide) 및 핵산(nucleic acid) 으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 화합물 및 세포 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 상기 물질들은 구체적으로 세포의 기질에 존재하는 상기 재질의 물질일 수 있다.

[0059] 한편, 상기 생리활성성분은 모티프를 포함할 수 있다. 상기 모티프는 성장인자(growth factor) 또는 세포외기질(extracellular matrix)에 포함되는 단백질, 당단백질 및 프로테오글리칸 중에서 선택된 어느 하나 이상에 구비된 소정의 아미노산 서열을 포함하는 천연 펩타이드 또는 재조합 펩타이드일 수 있다. 구체적으로 상기 모티프는 아드레노메둘린(Adrenomedullin), 양기오포이에틴(Angiopoietin), 뼈형성단백질(BMP), 뇌유래신경영양인자(BDNF), 표피성장인자(EGF), 에리스로포이에틴(Erythropoietin), 섬유아세포 증식인자(Fibroblast growth factor), 신경교의세포주유래신경영양인자(GDNF), 과립구집락자극인자(Granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), 과립대식세포집락자극인자(Granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), 성장분화인자-9(Growth differentiation factor-9, GDF9), 간세포성장인자(HGF), 간세포선종 유래 성장인자(Hepatoma-derived growth factor, HDGF), 인슐린유사성장인자(Insulin-like growth factor, IGF), 각질세포 증식인자(Keratinocyte growth factor, KGF), 이동자극인자(Migration-stimulating factor, MSF), 마이오스타틴(Myostatin, GDF-8), 신경성장인자(Nerve growth factor, NGF), 혈소판유래성장인자(Platelet-derived growth factor, PDGF), 트롬보포이에틴(Thrombopoietin, TPO), T-세포성장인자(T-cell growth factor, TCGF), 뉴로필린, 형질전환성장인자-알파(TGF- α), 형질전환성장인자-베타(TGF- β), 종양괴사인자-알파(TNF- α), 혈관내피성장인자(VEGF), IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-7로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 성장인자(GF)에 포함된 소정의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 또는, 히알루론산, 헤파린황산염, 콘드로이틴황산염, 테르마틴황산염, 케라탄황산염, 알진염, 피브린, 피브리노겐, 콜라겐, 엘라스틴, 피브로넥틴, 비트로넥틴, 카드헤린 및 라미닌으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 세포외기질(extracellular matrix)에 포함되는 소정의 아미노산의 서열을 포함할 수 있다. 또한, 상기 모티프는 성장인자에 포함되는 소정의 아미노산 서열 및 상기 세포외기질에 포함되는 소정의 아미노산 서열을 모두 포함할 수도 있다. 보다 바람직하게는 상기 모티프는 서열목록 번호 8 내지 서열목록 번호 28의 아미노산 서열을 포함하여 이루어진 단백질 및 이들 단백질 중 적어도 2개가 융합된 단백질로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 한편, 상기 모티프는 상술한 접착성분에 공유결합시켜 일체로 구현될 수도 있다. 일례로, 상기 접착성분이 단백질인 경우 폴리펩티드의 N-말단 및/또는 C-말단에 상기 모티프를 직접 공유결합시키거나 이중의 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 개재시켜 공유결합시킬 수 있으며, 이 경우 지지섬유에 더욱 견고히 생리활성성분을 부착시킬 수 있고, 생리활성성분의 세포배양 중 탈리를 최소화시킬 수 있다.

- [0061] 또한, 상기 생리활성성분은 세포의 부착성을 증진시키기 위하여 공지된 홍합단백질 또는 홍합단백질 중 특정한 도메인이나 모티프로 포함할 수 있다. 상기 도메인이나 모티프는 배양세포를 초기에 세포지지체 상에 고정시켜 배양용액상에 로딩된 세포가 부유하는 것을 방지하는 기능 및/또는 생리활성성분을 지지섬유상에 고정시켜 생리활성성분이 지지섬유 상에 세포배양 되는 과정에서 지지섬유에서 탈리를 방지하는 기능을 수행할 수 있다. 상기 접착성분은 통상의 생체적합성이 있어서 세포독성을 발생시키지 않는 공지된 접착성분의 경우 제한없이 사용될 수 있으나, 바람직하게는 서열번호 1 내지 서열번호 7의 아미노산 서열이 1회 내지 20회 반복하여 이루어진 단백질 및 이들 단백질 중 적어도 2개가 융합된 단백질로 이루어진 군에서 선택된 1 종 이상을 포함할 수 있고, 이를 통해 세포독성이 현저히 저하되고, 생리활성성분의 접착력이 우수한 동시에 세포배양 중 접착성분이 배양용액에 용해됨에 따라서 발생하는 생리활성성분의 탈리나 세포의 단리가 방지될 수 있는 이점이 있다.
- [0062] 상기 생리활성물질은 모노사 표면에 고정되어 구비될 수 있으며, 일례로, 상기 성분이 코팅공정을 통해 모노사 표면에 구비될 수 있다. 또는, 상기 생리활성물질은 섬유형성성분과 함께 모노사를 제조하기 위한 방사조역상에 혼합되어 섬유제조단계에서부터 구비될 수 있다. 이 경우 생리활성물질을 제조된 모노사 외부면에 별도의 코팅 공정이나, 접착성분 없이도 용이하게 구비시킬 수 있는 이점이 있다.
- [0063] 또한, 상술한 본 발명의 일실시예에 따른 세포배양 지지체용 원사를 복수개로 구비시켜 세포배양 지지체용 합사를 구현할 수 있다.
- [0064] 또는, 도 5와 같이 본 발명의 일실시예에 따른 세포배양 지지체용 원사(10, 10')를 복수개로 구비시키고, 이들을 다시 연사시켜 형성한 복수개의 거대연, 및 세포의 입체적 성장공간 및 이동경로를 제공하는 거대연들 사이의 틈새공간인 거대섬유골을 포함하는 세포배양 지지체용 합연사(100)를 구현할 수 있다. 상기 합연사의 경우 복수개 원사의 외부면 곡률로 인하여 생긴 틈인 거대섬유골 및 원사 각각에 구비된 섬유골을 구비함으로써 세포의 입체적 성장이 더욱 유리하고, 세포의 이동경로를 제공함으로써 세포가 일률적인 형상으로 증식하고, 균일하게 분화될 수 있는 이점이 있다. 한편, 상기 원사가 복수 가닥의 모노사를 구비한 경우 모노사 간에 형성된 미세섬유골은 세포의 성장공간, 이동경로를 추가적으로 더 제공함에 따라서 목적하는 세포군집체를 더욱 용이하게 배양시킬 수 있는 이점이 있다.
- [0065] 상기 합연사는 섬도가 0.5 ~ 1000 데니어이며, 연수가 100 ~ 5000 T/m, 연각이 20 ~ 60 ° 일 수 있으며, 이를 통해 보다 일률적인 형상으로 세포가 증식하고, 세포의 입체적 성장에 더욱 유리하는 등 본 발명의 목적을 달성하기에 보다 적합할 수 있다.
- [0066] 한편, 본 발명은 상술한 본 발명에 따른 원사, 이들의 합사 또는 이들을 연사시킨 합연사를 통해 세포배양용 원단을 구현할 수 있다.
- [0067] 상기 원단은 직물, 편성물, 부직포 중 어느 하나 일수 있으며, 목적에 따라 그 형태를 달리하여 제조할 수 있다. 상기 직물, 편성물 및 부직포는 공지된 각각의 구현방법을 통하여 제조될 수 있다. 일례로, 상기 직물은 상술한 원사, 합사 및/또는 합연사를 경사, 위사 중 어느 하나 이상으로 사용하여 능직으로 직조되어 제조된 능직물일 수 있다. 또한, 일례로 상기 편성물은 상술한 원사, 합사 및/또는 합연사를 횡편기에 투입시켜 위편성된 평편일 수 있다. 또한, 일례로 상기 부직포는 원사, 합사 및/또는 합연사를 일정한 섬유장으로 커팅시킨 단사(short-cut yarn)를 접착성분을 부가해 열/압력을 이용해 제조한 것일 수 있다.
- [0068] 또한, 본 발명에 따른 상술한 원단에 배양세포를 이식시켜 배양된 세포들을 포함하는 조직공학용 이식체를 구현할 수 있다. 이때, 상기 배양세포는 원사의 섬유골을 따라서 배양될 수 있다. 또한, 합연사의 거대섬유골과 원사의 섬유골을 따라서 동시에 배양될 수도 있다.
- [0069] 상기 원단의 재질을 인체에 무해한 섬유형성성분으로 구현할 경우 배양된 세포가 부착된 지지체를 직접 인체내 이식이 가능하며, 이를 통해 배양된 세포를 조직내 더욱 용이하고, 안정적으로 생착시킬 수 있는 이점이 있다.
- [0070] 또한, 상기 세포는 전능줄기세포, 만능줄기세포, 다능줄기세포, 올리고포텐트(oligopotent) 줄기세포 및 단일줄기세포로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 줄기세포, 및 조혈모세포, 간세포, 섬유세포, 상피세포, 중피세포, 내피세포, 근육세포, 신경세포, 면역세포, 지방세포, 연골세포, 골세포, 혈액세포 및 피부세포로 이루어진 군에서 선택된 분화세포 중 1 종 이상을 포함할 수 있다. 일례로, 상기 세포는 형상이 구형보다는 일방향으로 길쭉한 형상을 갖는 세포이거나 이동성이 강한 세포일 수 있다.

[0072] <실시예 1>

[0073] 섬유형성성분인 PVDF를 혼합용매 DMAc/Acetone에 15 중량% 되도록 용해하여 방사용액을 제조하였다. 상기 제조된 방사용액을 전기방사 장치를 사용하여 인가전압 25KV, 집전체와 방사구까지의 거리 25cm, 토출량 0.05ml/hole의 조건으로 RH 65% 30의 환경에서 전기방사를 실시하여, 폭 1.5M, 중량 5gsm, 길이 500M로 구성된 나노섬유웹의 롤(Roll)을 얻었다. 도 6(a)는 제조된 나노섬유웹이 권취된 사진이며, 도 6(b)는 나노섬유웹의 주사전자 현미경 사진을 나타냈다. 도 6(b)과 같이 나노섬유웹을 형성하는 나노섬유의 평균 직경이 약 230nm이었다.

[0074] <실시에 2> - 슬리팅사 제조 및 연사

[0075] 실시예 1에서 제조된 나노섬유웹의 롤을 도 7(a)와 같이, 폭 5mm가 되도록 1차 슬리팅한 후, 도 7(b)와 같이, 각각의 폭이 1.5mm가 되도록 2차 정밀 슬리팅을 하여 슬리팅사를 얻었고, 2차 정밀슬리팅 과정에서 제조된 슬리팅사의 권취 사진을 도 7(c)에 나타냈다. 제조된 슬리팅사는 도 3(a)에 도시된 바와 같이 폭이 1.5mm이었다. 제조된 슬리팅사를 2 for 1 연사기를 사용하여 분당 꼬임수(T/M, twist/munite) 700 T/M이 되도록 2연하여 연사된 세포지지체용 원사를 제조하였다. 도 8(a)는 연사된 원사가 권취된 사진을 나타내고, 도 8(b)는 연사된 원사 표면의 주사전자 현미경 사진으로 2가닥의 슬리팅사가 연사되어 다수의 연을 형성하고 있음을 확인할 수 있다.

[0076] <실시에 3 ~5> - 합연사 제조

[0077] 실시예 2에 의해 제조된 슬리팅사를 나일론 20d 모노 필라멘트사, Polyester DTY 30d 및 면 60번수인 이중의 원사와 각각 합사하여 1000T/M의 조건으로 복합가연기를 사용하여 복합가연을 실시하였다. 도 9에는 상기 제조된 복합가연사의 사진과 주사전자 현미경 사진을 각각 나타냈다. 도 9와 같이 슬리팅사와 이중의 원사와의 합연사를 제조한 경우에도 사질 없이 원활하게 합연사가 제조된 것을 확인할 수 있고, 합연사를 통해 다수의 연이 형성된 것을 확인할 수 있었다.

[0079] <실험예>

[0080] 실시예4에서 제조된 합연사를 세포배양용 well plate에 도 10a와 같이 다수개를 나란히 배열하여 고정시켰다. 합연사가 구비된 well plate에 섬유아세포(HS27)를 로딩시킨 후 10% 완전배지에서 37에서 2일동안 증식시켰다. 이때, 10 % 완전배지는 듀베코스의 변형된 이글즈 배지(DMEM)에 함의(Ham's) F12 배지를 1 : 1.5의 부피비로 혼합한 후, 소태아혈청(fetal bovine serum) 7 vol%, 페니실린 65 U/mL 및 스트렙토마이신 65 µg/mL을 첨가하여 제조하였다. 이후 증식된 섬유아세포에 대하여 DAPI 염색을 실시한 후 Confocal microscope를 통해 사진을 촬영하여 도 10b 내지 도 10d에 나타내었다.

[0081] 도 10b는 세포의 핵이 염색된 것을 나타내며, 도 10c는 세포의 단백질부분이 염색된 것을 나타낸다. 또한, 도 10d를 통해 세포가 섬유와 섬유사이의 미세섬유골에서 안착되어 섬유골을 따라 길쭉한 형태로 증식됨을 확인할 수 있다.

표 1

[0082]

서열번호	아미노산 서열
1	Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ser Ser Glu Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His Tyr His Ser Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr Lys Gly Lys Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys Asn Ser Gly Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg Lys Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Ser Ser Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys

2	Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ser Ser Glu Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His Tyr His Ser Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr Lys Gly Lys Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys Asn Ser Gly Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg Lys Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Ser Ser Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Gly Arg Gly Asp Ser Pro
3	Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Pro Trp Ala Asp Tyr Tyr Gly Pro Lys Tyr Gly Pro Pro Arg Arg Tyr Gly Gly Gly Asn Tyr Asn Arg Tyr Gly Arg Arg Tyr Gly Gly Tyr Lys Gly Trp Asn Asn Gly Trp Lys Arg Gly Arg Trp Gly Arg Lys Tyr Tyr Gly Ser Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Leu
4	Ala Asp Tyr Tyr Gly Pro Lys Tyr Gly Pro Pro Arg Arg Tyr Gly Gly Gly Asn Tyr Asn Arg Tyr Gly Arg Arg Tyr Gly Gly Tyr Lys Gly Trp Asn Asn Gly Trp Lys Arg Gly Arg Trp Gly Arg Lys Tyr Tyr
5	Ser Ser Glu Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His Tyr His Ser Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr Lys Gly Lys Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys Asn Ser Gly Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg Lys Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Gly Ser Ser
6	Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys
7	Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys
8	Arg Gly Asp
9	Arg Gly Asp Ser
10	Arg Gly Asp Cys
11	Arg Gly Asp Val
12	Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
13	Gly Arg Gly Asp Ser
14	Gly Arg Gly Asp Thr Pro
15	Gly Arg Gly Asp Ser Pro
16	Gly Arg Gly Asp Ser Pro Cys
17	Tyr Arg Gly Asp Ser
18	Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr
19	Trp Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile
20	Asn Arg Trp His Ser Ile Tyr Ile Thr Arg Phe Gly
21	Arg Lys Arg Leu Gln Val Gln Leu Ser Ile Arg Thr
22	Lys Ala Phe Asp Ile Thr Tyr Val Arg Leu Lys Phe
23	Ile Lys Val Ala Asn
24	Lys Lys Gln Arg Phe Arg His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser Gln
25	Val Ala Glu Ile Asp Gly Ile Gly Leu
26	Pro His Ser Arg Asn Arg Gly Asp Ser Pro

27	Asn Arg Trp His Ser Ile Tyr Ile Thr Arg Phe Gly
28	Thr Trp Tyr Lys Ile Ala Phe Gln Arg Asn Arg Lys

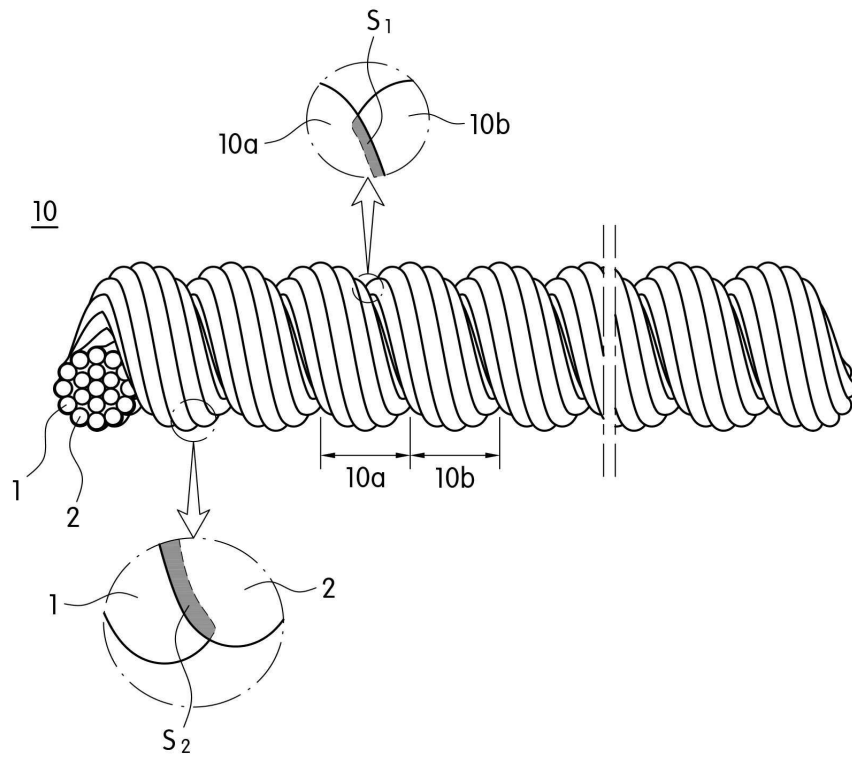
[0083] 이상에서 본 발명의 일 실시예에 대하여 설명하였으나, 본 발명의 사상은 본 명세서에 제시되는 실시 예에 제한되지 아니하며, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서, 구성요소의 부가, 변경, 삭제, 추가 등에 의해서 다른 실시 예를 용이하게 제안할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명의 사상범위 내에 든다고 할 것이다.

부호의 설명

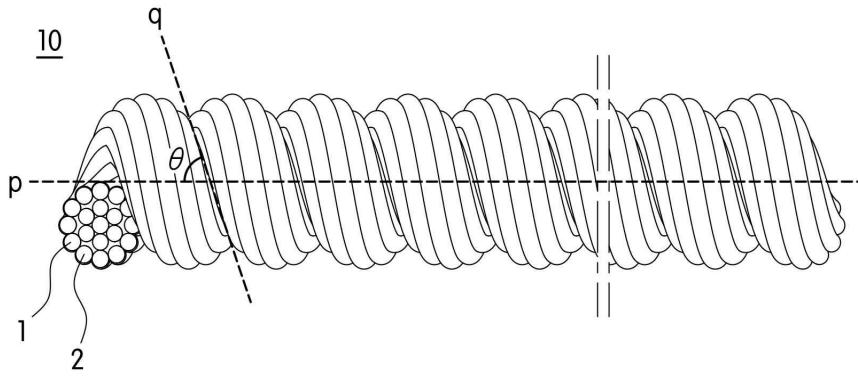
[0084] 1,2,21,22,23: 모노사 10,10' 20: 원사
 10a,10b: 연 S1: 섬유골
 S2: 미세섬유골 100: 합연사

도면

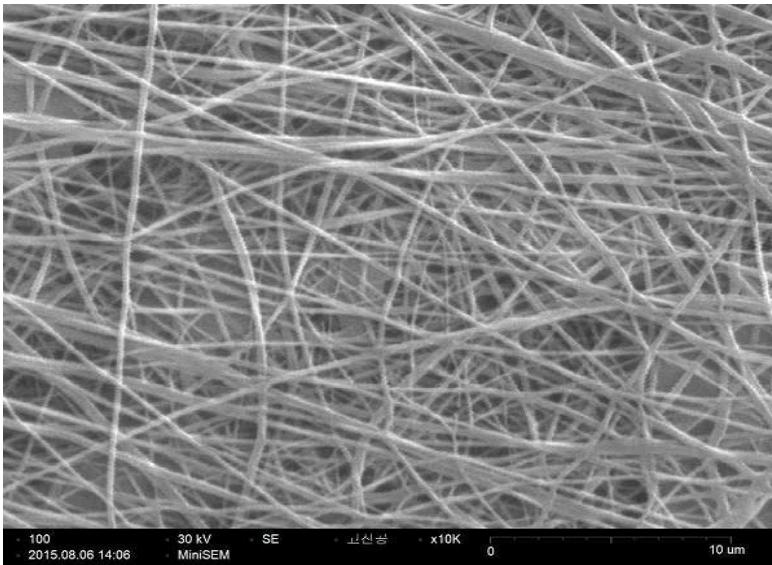
도면1



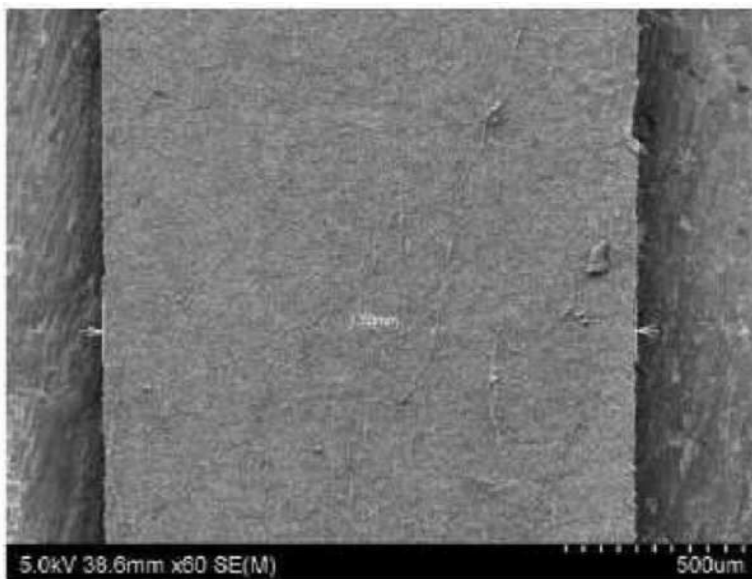
도면2



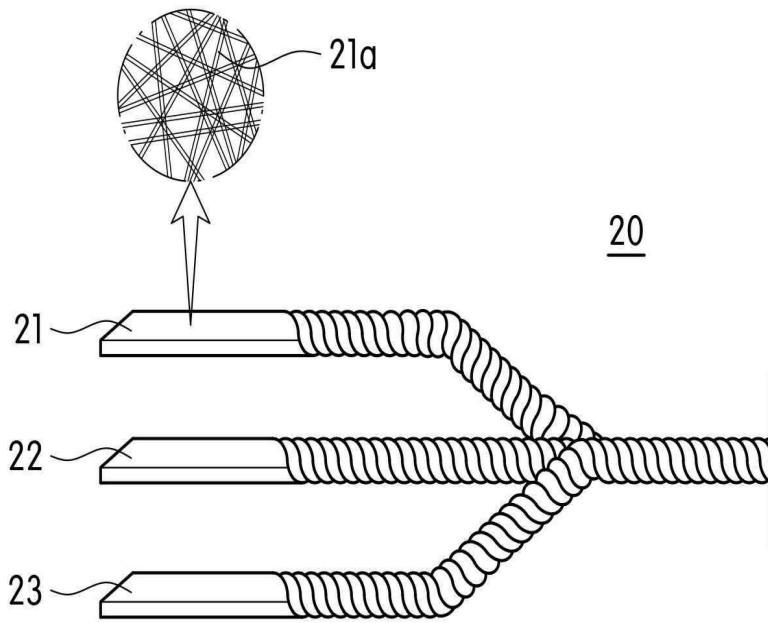
도면3a



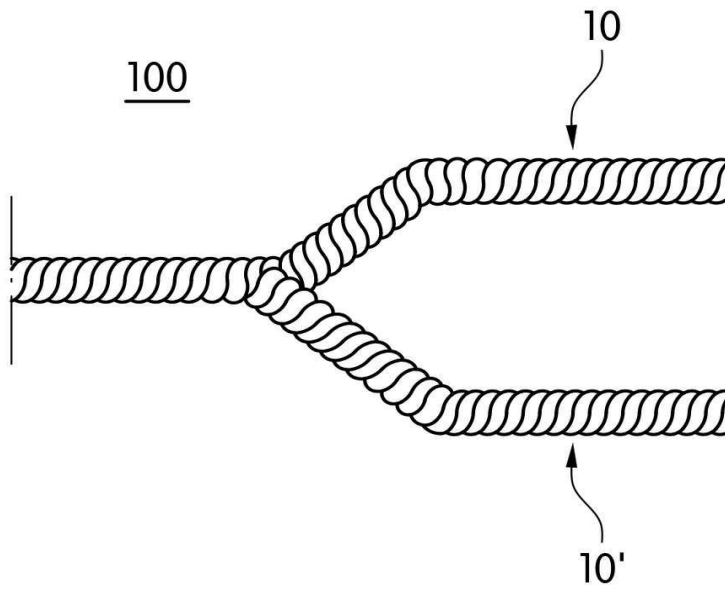
도면3b



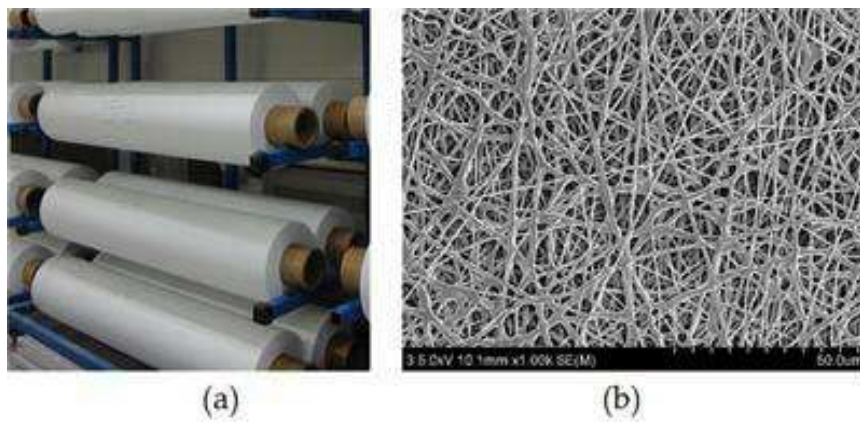
도면4



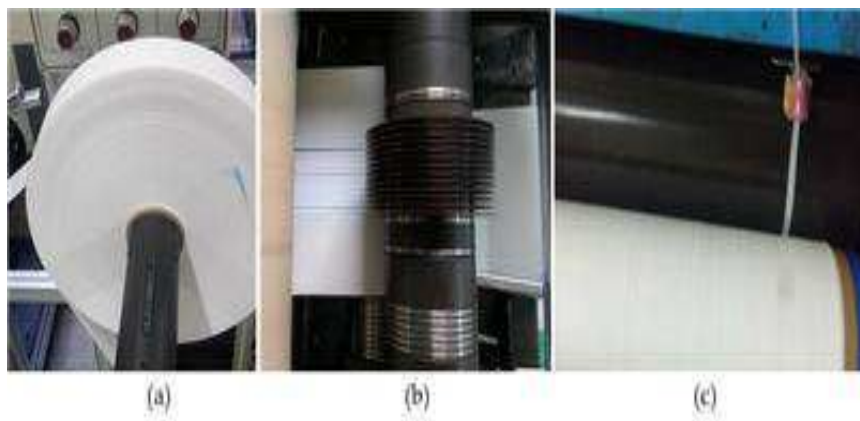
도면5



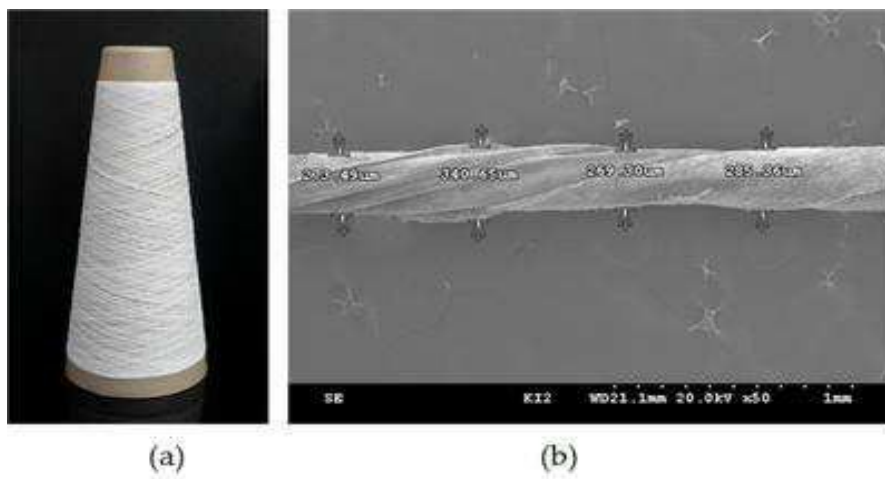
도면6



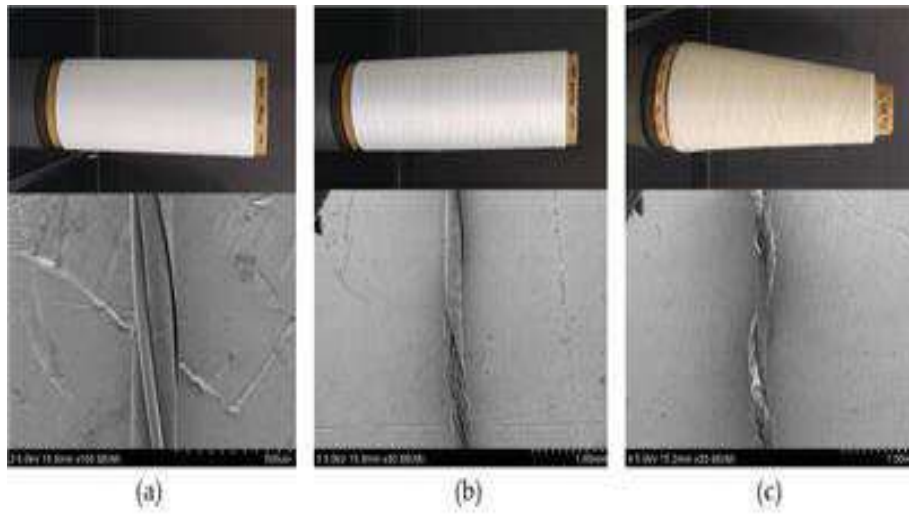
도면7



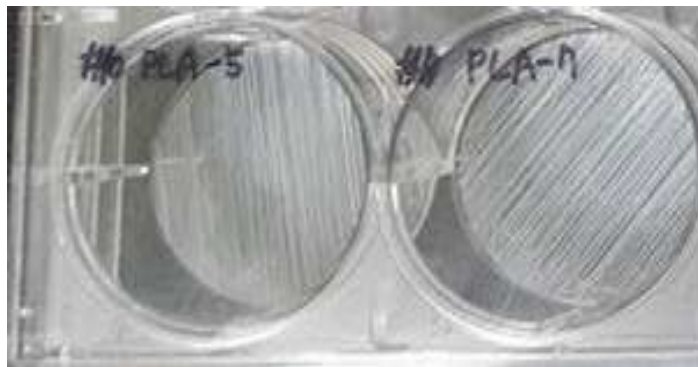
도면8



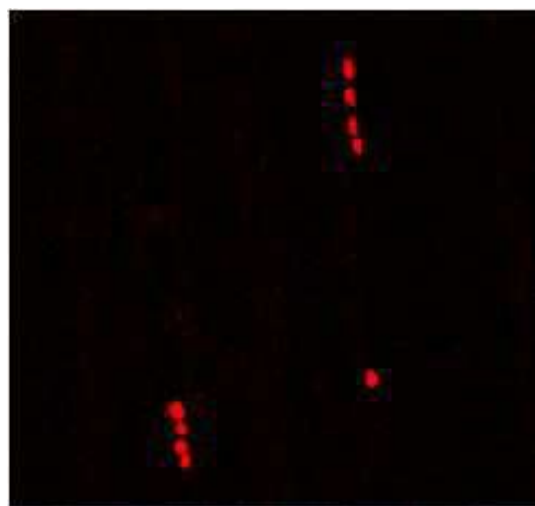
도면9



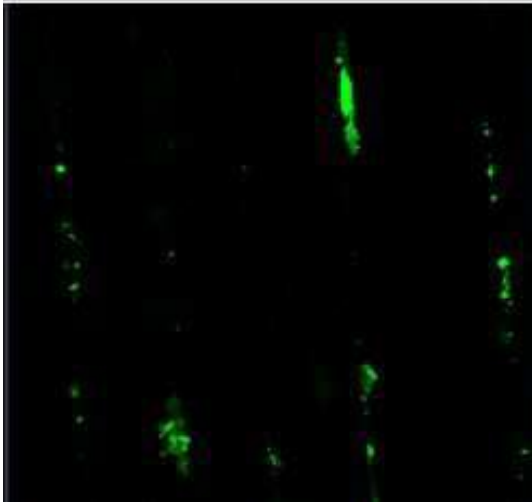
도면10a



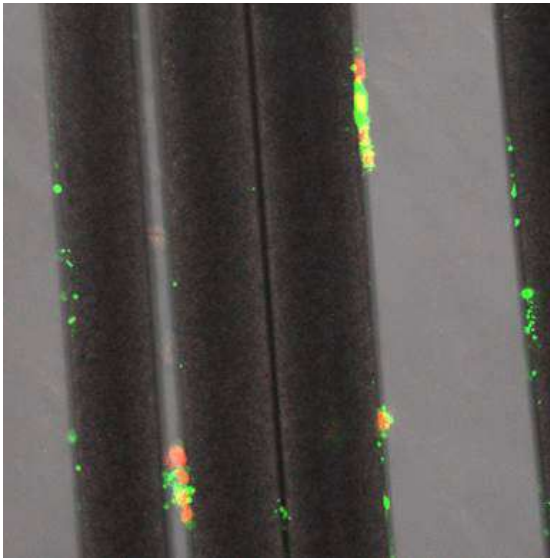
도면10b



도면10c



도면10d



서열 목록

- <110> amogreentech
- <120> Yarn for cell culture scaffold, and fabric comprising the same
- <130> 1060461
- <160> 28
- <170> KopatentIn 2.0
- <210> 1
- <211> 196
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Motif for cell culture scaffold
- <400> 1

Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr
 1 5 10 15
 Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala
 20 25 30
 Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro
 35 40 45
 Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ser Ser Glu
 50 55 60
 Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His Tyr His Ser
 65 70 75 80
 Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr Lys Gly Lys
 85 90 95
 Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys Asn Ser Gly
 100 105 110
 Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg Lys Gly Tyr
 115 120 125
 Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Ser Ser Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser
 145 150 155 160
 Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys
 165 170 175
 Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro
 180 185 190
 Pro Thr Tyr Lys
 195
 <210> 2
 <211> 202
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold
 <400> 2

Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr
 1 5 10 15
 Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala
 20 25 30

 Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro
 35 40 45
 Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ser Ser Glu
 50 55 60
 Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His Tyr His Ser
 65 70 75 80
 Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr Lys Gly Lys
 85 90 95
 Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys Asn Ser Gly

 100 105 110
 Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg Lys Gly Tyr
 115 120 125
 Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Ser Ser Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser
 145 150 155 160
 Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys
 165 170 175

 Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro
 180 185 190
 Pro Thr Tyr Lys Gly Arg Gly Asp Ser Pro
 195 200
 <210> 3
 <211> 172
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold
 <400> 3

Met Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr
 1 5 10 15
 Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala
 20 25 30
 Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro
 35 40 45
 Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Pro Trp Ala
 50 55 60
 Asp Tyr Tyr Gly Pro Lys Tyr Gly Pro Pro Arg Arg Tyr Gly Gly Gly
 65 70 75 80
 Asn Tyr Asn Arg Tyr Gly Arg Arg Tyr Gly Gly Tyr Lys Gly Trp Asn
 85 90 95
 Asn Gly Trp Lys Arg Gly Arg Trp Gly Arg Lys Tyr Tyr Gly Ser Ala
 100 105 110
 Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro
 115 120 125
 Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro
 130 135 140
 Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr
 145 150 155 160
 Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Leu

165 170

<210> 4
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold
 <400> 4

Ala Asp Tyr Tyr Gly Pro Lys Tyr Gly Pro Pro Arg Arg Tyr Gly Gly
 1 5 10 15
 Gly Asn Tyr Asn Arg Tyr Gly Arg Arg Tyr Gly Gly Tyr Lys Gly Trp
 20 25 30

Asn Asn Gly Trp Lys Arg Gly Arg Trp Gly Arg Lys Tyr Tyr
 35 40 45

<210> 5

<211> 76

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 5

Ser Ser Glu Glu Tyr Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Gly Asn Thr Tyr His
 1 5 10 15

Tyr His Ser Gly Gly Ser Tyr His Gly Ser Gly Tyr His Gly Gly Tyr
 20 25 30

Lys Gly Lys Tyr Tyr Gly Lys Ala Lys Lys Tyr Tyr Tyr Lys Tyr Lys
 35 40 45

Asn Ser Gly Lys Tyr Lys Tyr Leu Lys Lys Ala Arg Lys Tyr His Arg

50 55 60

Lys Gly Tyr Lys Lys Tyr Tyr Gly Gly Gly Ser Ser
 65 70 75

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 6

Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys
 1 5 10

<210> 7

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 7

Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro

1 5 10 15

Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys

20 25 30

Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr

35 40 45

Tyr Lys Ala Lys Pro Ser Tyr Pro Pro Thr Tyr Lys

50 55 60

<210> 8

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 8

Arg Gly Asp

1

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 9

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 10

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 10

Arg Gly Asp Cys

1

<210> 11

<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 11

Arg Gly Asp Val

1
<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 12

Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro

1 5 10
<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 13

Gly Arg Gly Asp Ser

1 5
<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Motif for cell culture scaffold
<400> 14

Gly Arg Gly Asp Thr Pro

1 5
<210> 15
<211> 6

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 15
Gly Arg Gly Asp Ser Pro
1 5
<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 16
Gly Arg Gly Asp Ser Pro Cys
1 5
<210> 17
<211> 5

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 17
Tyr Arg Gly Asp Ser
1 5
<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Motif for cell culture scaffold
<400> 18
Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr
1 5
<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 19

Trp Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile

1 5

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 20

Asn Arg Trp His Ser Ile Tyr Ile Thr Arg Phe Gly

1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 21

Arg Lys Arg Leu Gln Val Gln Leu Ser Ile Arg Thr

1 5 10

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 22

Lys Ala Phe Asp Ile Thr Tyr Val Arg Leu Lys Phe

1 5 10

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 23
 Ile Lys Val Ala Asn
 1 5
 <210> 24
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 24
 Lys Lys Gln Arg Phe Arg His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser Gln
 1 5 10 15
 <210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 25
 Val Ala Glu Ile Asp Gly Ile Gly Leu
 1 5
 <210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 26
 Pro His Ser Arg Asn Arg Gly Asp Ser Pro
 1 5 10
 <210> 27
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 27

Asn Arg Trp His Ser Ile Tyr Ile Thr Arg Phe Gly

1 5 10

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif for cell culture scaffold

<400> 28

Thr Trp Tyr Lys Ile Ala Phe Gln Arg Asn Arg Lys

1 5 10