(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년04월24일
(11) 등록번호 10-0894703
(24) 등록일자 2009년04월16일

(51) Int. Cl.
C07K 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0108720
(22) 출원일자 2007년10월29일
심사청구일자 2007년10월29일
(56) 선행기술조사문헌
J Mater. Sci.:Mater. Med. Vol.18, pp1309-1315 (2007.07.07. 공개)*
WO2004085606 A1*
US20020072074 A1
Molecular and Biochemical Parasitology(1999) Vol.100, pp195-205.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서강대학교산학협력단
서울 마포구 신수동 1-1 서강대학교
(72) 발명자
예철헌
서울시 영등포구 여의도동 대우트럼프월드 2차 B-2802
최정우
경기도 고양시 일산서구 주엽동 문촌마을 601-803
김현희
대전시 서구 관저동 1394 느리울마을 1305-1001
(74) 대리인
양부현

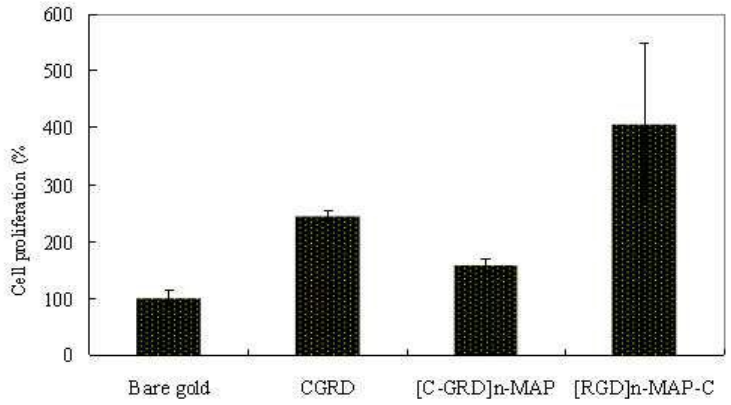
전체 청구항 수 : 총 5 항 심사관 : 정재철

(54) 세포의 고정화 방법

(57) 요 약

본 발명은 (a) Arg-Gly-Asp 서열을 포함하며 말단에 시스테인 잔기를 포함하는 펩타이드를 고상의 기질 상에 코팅하는 단계; 및 (b) 상기 고상의 기질 상에 코팅된 펩타이드에 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 고상의 기질 상에 세포를 고정화시키는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 세포 고정화에 이용될 수 있는 신규한 펩타이드 및 마이크로어레이 또는 바이오센서에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 세포, 특히 동물세포를 고상의 기질 상에 효율적으로 고정화 시킬 수 있으며, 특히 세포 독성 없이 세포를 특이적으로 고상 기질 상에 고정화 시킬 수 있으며, 미세 세포환경 세포칩에 활용될 수 있는 나노패턴에 세포를 고정화시킬 수 있다.

대 표 도 - 도4

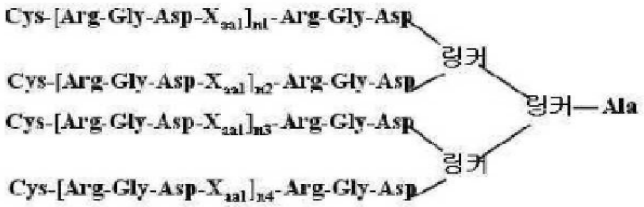


특허청구의 범위

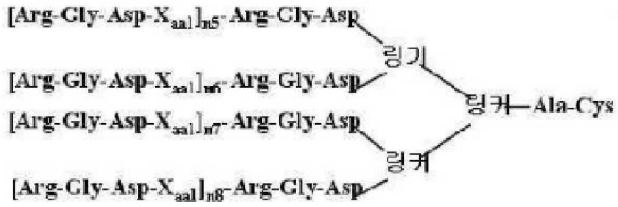
청구항 1

(a) 다음 일반식 3 또는 4로 표시되는 펩타이드를 고상의 기질 상에 코팅하는 단계; 및 (b) 상기 고상의 기질 상에 코팅된 펩타이드에 동물세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 고상의 기질 상에 세포를 고정화시키는 방법.

일반식 3



일반식 4



상기 일반식에서, X_{aa1}은 Gly 또는 Ala이고, n1-n8은 각각 독립적으로 1-100의 정수이며; 상기 링커는 1-50개의 아미노산 잔기로 구성되어 있다.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

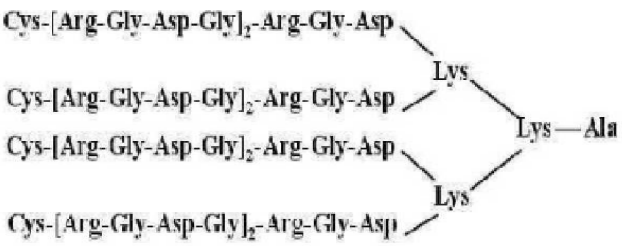
삭제

청구항 5

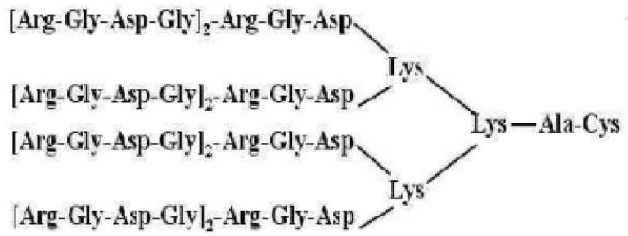
삭제

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 펩타이드는 다음의 서열로 표시되는 펩타이드인 것을 특징으로 하는 방법:



또는



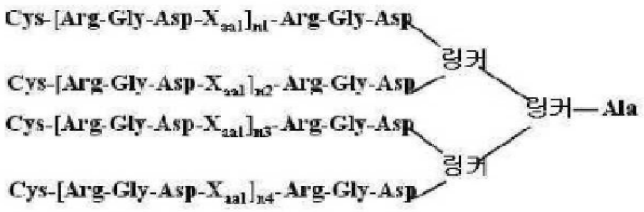
청구항 7

삭제

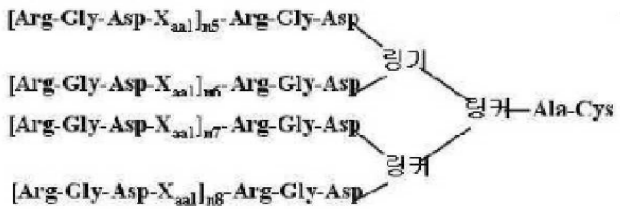
청구항 8

다음의 일반식 3 또는 4로 표시되는 펩타이드:

일반식 3



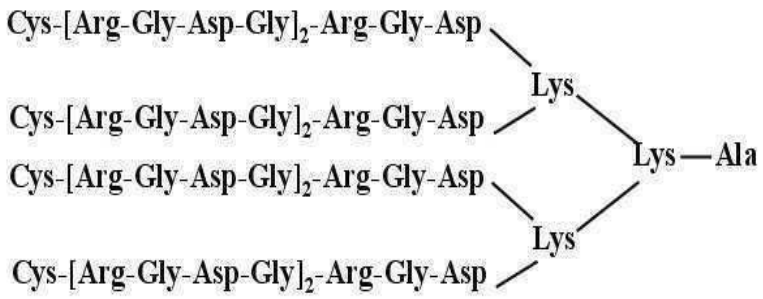
일반식 4



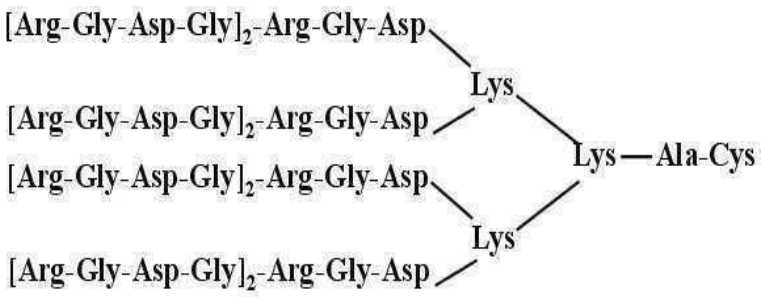
상기 일반식에서, X_{aa1}은 Gly 또는 Ala이고, n1-n8은 각각 독립적으로 1-100의 정수이며; 상기 링커는 1-50개의 아미노산 잔기로 구성되어 있다.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 펩타이드는 다음의 서열로 표시되는 펩타이드인 것을 특징으로 하는 펩타이드:



; 또는



청구항 10

상기 제 8 항 또는 제 9 항의 펩타이드가 표면에 코팅된 고상 기질을 포함하는 마이크로어레이 또는 바이오센서.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

<1> 본 발명은 고상의 기질 상에 세포를 고정화시키는 방법, 세포 고정화에 이용될 수 있는 신규한 펩타이드 및 마이크로어레이 또는 바이오센서에 관한 것이다.

배 경 기 술

<2> 고체 표면상에 동물 세포를 부착시키는 것은 세포 배양과 조직 공학의 영역에서 매우 기본적이고 중요한 요소이며 적합한 부착 물질을 이용하여 세포를 고정화 시킬 경우 일반적으로 세포의 증식 효과를 나타낸다[1, 2]. 콜라겐(젤라틴), 피브린, 엘라스틴, 피브로넥틴 및 라미닌 등의 세포외기질(ECM) 단백질들과 폴리-L-라이신(PLL)과 같은 물질들이 세포 배양 용기 표면 코팅에 이용되어 왔다[3]. 특히 현재 중요 연구 분야인 줄기세포 배양에는 콜라겐을 부분 가수분해해서 얻어진 젤라틴이 세포 부착 물질로 사용되고 있다. 부착 의존형 동물세포는 ECM에 부착하지 못할 경우 세포 사멸이 일어 날 수 있어 ECM 성분은 세포 배양과 조직 공학에 널리 이용되어 왔으나, ECM 성분을 이용하는 경우 고가의 비용이 드는 점과 다른 동물들로부터 추출되기 때문에 감염 위험성을 가지고 있다 [4]. PLL은 경제적이지만, 비특이적인 세포 부착과 세포 독성을 가지고 있고, 비정상적인 세포 확산을 유도하여 효과적인 세포 부착 물질이 아니다 [3].

<3> 최근 Spatz 등은 생활성(bioactive) 나노패턴을 이용한 세포 미세환경(cellular microenvironment) 형성을 보고 한바 있다 [5]. 이러한 나노 단위의 미세 세포환경은 세포 이동, 분화 및 증식과 같은 세포 활성을 조절할 수 있어 세포 칩 제작 등에 이용이 가능할 것이다. 세포 부착력을 증대시키기 위하여, 나노패턴과 세포 부착 물질을 함께 사용하고자 할 때 ECM 성분이나 PLL 분자들은 그 분자량이 커서 나노패턴과 같은 나노구조체에 적용할 수 없다. 그러므로, 나노 구조체를 이용한 세포칩 개발 등을 위해서는 세포에 대한 세포독성이 적고, 효과적인 세포 부착 능력을 가지고 있는 비고분자 물질의 요구되고 있다.

<4> 최근 연구에서는 세포를 직접 대상으로 하여 신약 발굴(세포 마이크로어레이 기술 이용)을 하거나 칩 상에서 세포 대사 관련 실험(lab-on-a chip) 등 세포칩 개발 연구가 진행되고 있다. 이중 전기화학적 측정을 요하는 세포칩에는 금 플레이트가 많이 활용되고 있는데, 티올과 유기 이황화물들의 흡착 단계는 다음과 같은 전극 반응에 의하여 일어나는 것으로 알려져 왔다[12-13]. 여기서 M은 표면에서 M-S 결합을 하는 금, 은 등의 금속을 나타낸다.

<5> $RSH + M \rightarrow RS\text{-}M + H^{+} + e^{-}(M)$ (M= Au, Ag)

<6> $RSSR + e^{-}(M) \rightarrow RS\text{-}M + RS^{-}$

<7> 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<8> 본 발명자들은 세포, 특히 동물세포를 고상의 기질(solid substrate) 상에 고정화 시킬 수 있는 방법을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, Arg-Gly-Asp(RGD) 모티프를 포함하는 서열을 이용하면, 세포 독성 없이 세포를 특이적으로 고상 기질 상에 고정화 시킬 수 있으며, 미세 세포환경 세포칩에 활용될 수 있는 나노패턴에 세포를 고정화시킬 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

<9> 따라서, 본 발명의 목적은 고상의 기질 상에 세포를 고정화시키는 방법을 제공하는 데 있다.

<10> 본 발명의 다른 목적은 세포 고정화에 이용될 수 있는 신규한 펩타이드를 제공하는 데 있다.

<11> 본 발명의 또 다른 목적은 펩타이드 링커가 코팅된 마이크로어레이 또는 바이오센서를 제공하는 데 있다.

<12> 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제 해결수단

<13> 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 세포를 고상의 기질 상에 고정화시키는 방법을 제공한다:

<14> (a) Arg-Gly-Asp 서열을 포함하며 말단에 시스테인 잔기를 포함하는 펩타이드를 고상의 기질 상에 코팅하는 단계; 및

<15> (b) 상기 고상의 기질 상에 코팅된 펩타이드에 세포를 접촉시키는 단계.

<16> 본 발명자들은 세포, 특히 동물세포를 고상의 기질(solid substrate) 상에 고정화 시킬 수 있는 방법을 개발하고자 노력하였다. 그 결과, Arg-Gly-Asp(RGD) 모티프를 포함하는 서열을 이용하면, 세포 독성 없이 세포를 특이적으로 고상 기질 상에 고정화 시킬 수 있으며, 미세 세포환경 세포칩에 활용될 수 있는 나노패턴에 세포를 고정화시킬 수 있음을 확인하였다.

<17> 본 발명은 고상의 기질 상에 세포를 고정화시키는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 세포가 고정화된 고상의 기질을 제조하는 방법으로 표현될 수 있다.

<18> 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 RGD 모티프를 포함하는 특징을 갖는다.

<19> 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 다음 일반식 1로 표시되며, N-말단 또는 C-말단에 시스테인 잔기가 추가적으로 결합되어 있는 것이다:

<20> **일반식 1**

<21> $(Arg\text{-}Gly\text{-}Asp)_n$

<22> 상기 일반식에서, n은 1-100의 정수이다.

<23> 일반식 1의 펩타이드의 구체적인 예는 Cys-Arg-Gly-Asp이다.

<24> 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 다음 일반식 2로 표시되며, N-말단 또는 C-말단에 시스테인 잔기가 추가적으로 결합되어 있는 것이다:

<25> **일반식 2**

<26> $(Arg\text{-}Gly\text{-}Asp\text{-}X_{aa1})_n$

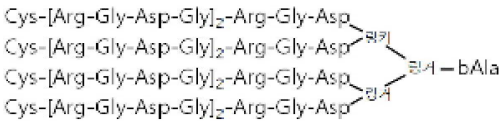
<27> 상기 일반식에서, X_{aa1}은 Gly 또는 Ala이고, n은 1-100의 정수이다.

<28> 일반식 2에서, X_{aa1}은 펩타이드 서열에서 유연성(flexibility)를 주기 위한 잔기로서, R-기의 크기가 작은 아미노산이 적합하다. 바람직하게는, X_{aa1}은 Gly이다.

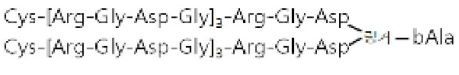
본 발명의 보다 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 일반식 1 또는 일반식 2로 표시되는 2-20개의 펩타이드가 아미노산 링커에 의해 결합되어 있는 것이다. 즉, 여러 개의 펩타이드가 결합되어 있

는 펩타이드 맵(MAP) 형태를 갖는다.

<29> 본 명세서에서 사용되는 용어 "펩타이드 맵(MAP)"은 여러 개의 펩타이드가 결합되어 있는 형태로, 병렬적으로 나열된 펩타이드 절편을 아미노산 링커를 통해 연결한 것을 의미한다. 특히, 본 명세서에서 사용하는 맵에는 마지막 링커 말단에 알라닌(bAla)이 연결되어 있다. 예컨대, C-[(RGD-G)$_2$-RGD]$_4$-MAP은



를 나타내며, [(RGD-G)$_3$-RGD]$_2$-MAP은



를 나타낸다. 상기 구조의 일반식은 각각 C-[(RGD-G)$_n$-RGD]$_n$-MAP 및 [(RGD-G)$_n$-RGD]$_n$-MAP으로 나타낼 수 있다.

<30> 펩타이드 맵을 제조하는 경우, 이용되는 링커는 당업계에 공지된 다양한 아미노산 링커를 이용할 수 있다. 링커에 적합한 아미노산 서열은 Maratea et al., *Gene* 40:39-46(1985); Murphy et al., *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 83:8258-8562(1986); 미국 특허 제4,935,233호, 제4,751,180호 및 제5,990,275호에 개시되어 있다. 링커 서열은 1-50 아미노산 잔기로 구성될 수 있다.

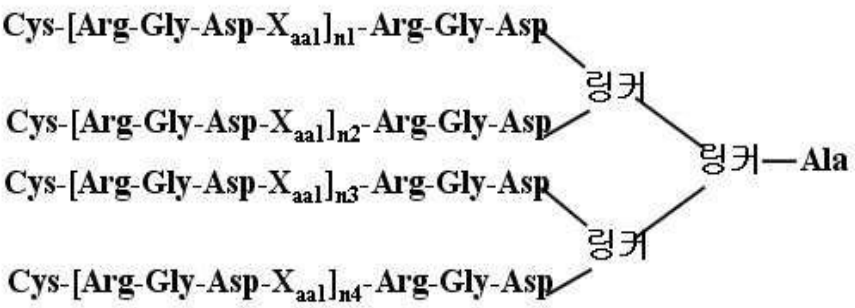
<31> 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에 이용되는 링커는 R-기에 아미노기 또는 카르복실기가 있는 아미노산으로서, Lys, Arg, Asp 또는 Glu이며, 가장 바람직하게는 Lys이다.

<32> 링커의 크기는 바람직하게는 1-5 아미노산 잔기, 보다 바람직하게는 1-3 아미노산 잔기, 가장 바람직하게는 1 아미노산 잔기이다.

<33> 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에 이용되는 펩타이드는 다음 일반식 3 또는 4로 표시되는 펩타이드이다:

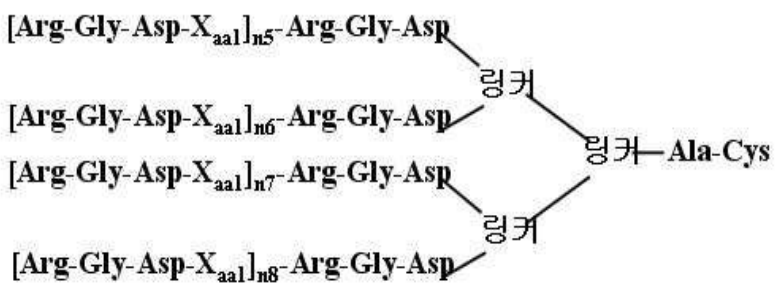
<34> 삭제

<35> **일반식 3**



<36>

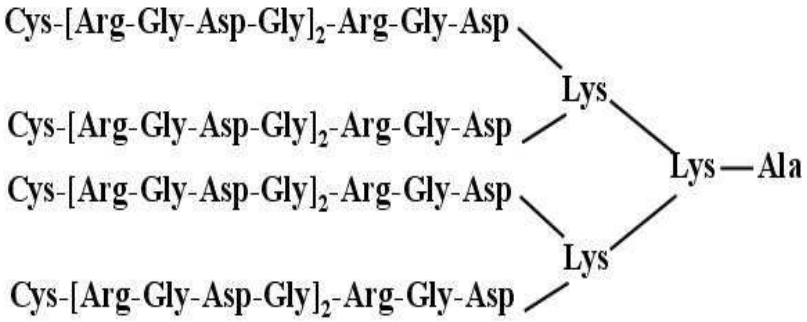
<37> **일반식 4**



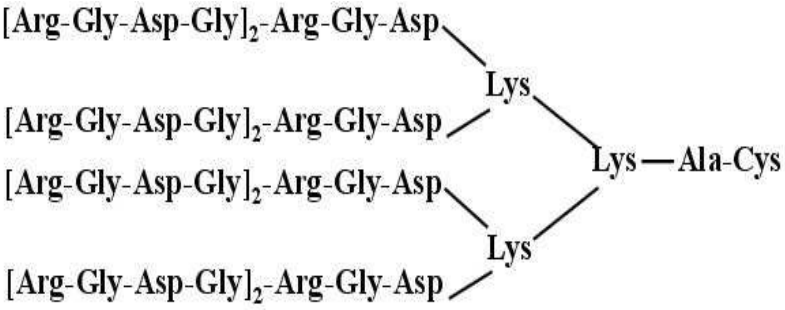
<38>

<39> 상기 일반식에서, X_{aa1}은 Gly 또는 Ala이고, n1-n8은 각각 독립적으로 1-100의 정수이다.

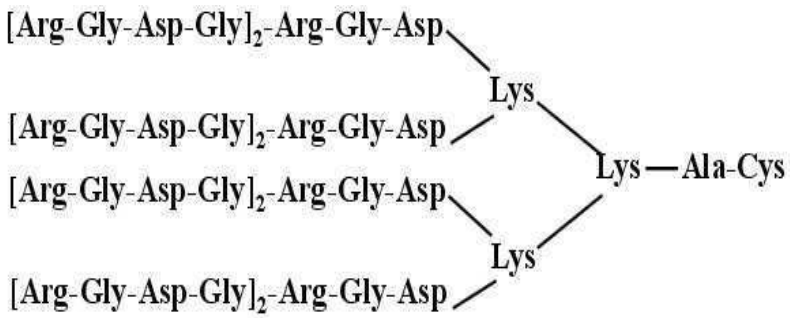
<40> 보다 바람직하게는, 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 다음의 서열로 표시되는 펩타이드이다:

<41> 

; 또는

<42> 

<43> 가장 바람직하게는, 본 발명에서 이용되는 펩타이드는

<44> 

이다.

<45> 본 발명에서 이용되는 펩타이드는 세포를 고상 기질에 고정화 하기 위한 링커로서의 역할을 하며, 상기 펩타이드 링커는 기질 표면 상에서 자기조립 단분자층(self-assembled monolayer: SAMs)을 형성하며, 이 SAMs는 간단한 과정을 통하여 세포를 고상 기질에 고정화 되도록 한다.

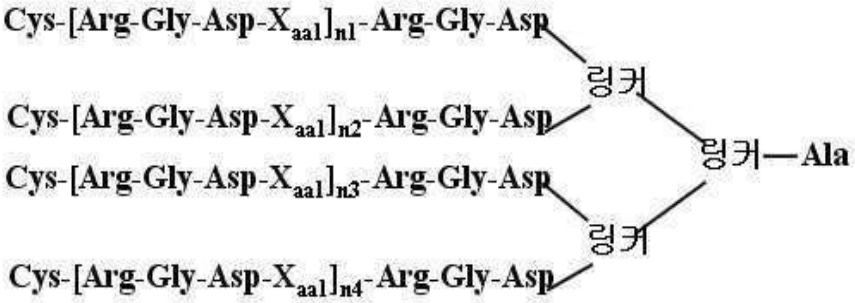
<46> 본 발명에서 이용되는 고상 기질은 당업계에 공지된 다양한 기질을 포함한다. 예를 들어, 고상 기질은, 금속(예컨대, 금, 금과 구리의 합금, 알루미늄), 금속 옥사이드, 유리, 세라믹, 석영, 실리콘, 반도체, Si/SiO_2 웨이퍼, 게르마늄, 갈륨 아르세나이드, 카본, 탄소나노튜브, 폴리머(예컨대, 폴리스틸렌, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리아크릴아미드), 세파로스, 아가로스 및 콜로이드를 포함하나 이에 한정되는 것은 아니다.

<47> 가장 바람직하게는, 본 발명에서 이용되는 고상의 기질은 금이 표면에 코팅된 기질이다.

<48> 본 발명에 적용될 수 있는 세포는, 바람직하게는 인테그린 단백질을 표면에 가지고 있는 동물세포이며, 가장 바람직하게는 인간세포이다. 또한, 본 발명에 적용될 수 있는 세포는, 초기 배양 세포(primary cultured cell), 구축 세포(established cell), 암세포 및 줄기세포 등을 포함한다.

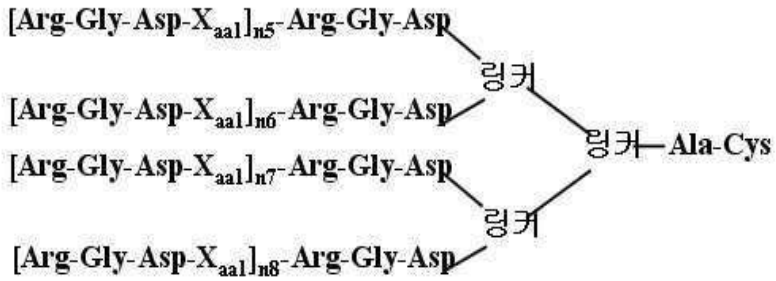
<49> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 일반식 3 또는 4로 표시되는 펩타이드를 제공한다:

<50> 일반식 3



<51>

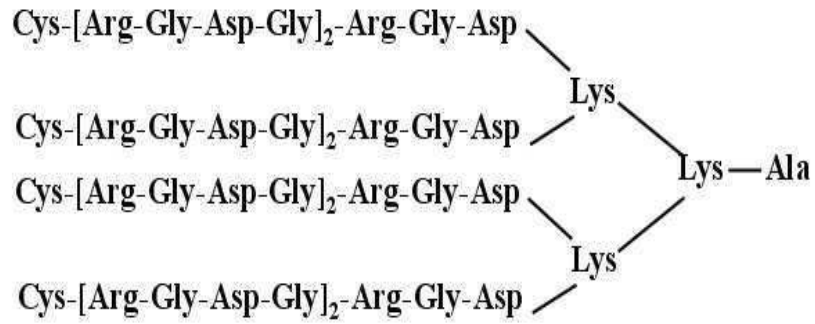
<52> 일반식 4



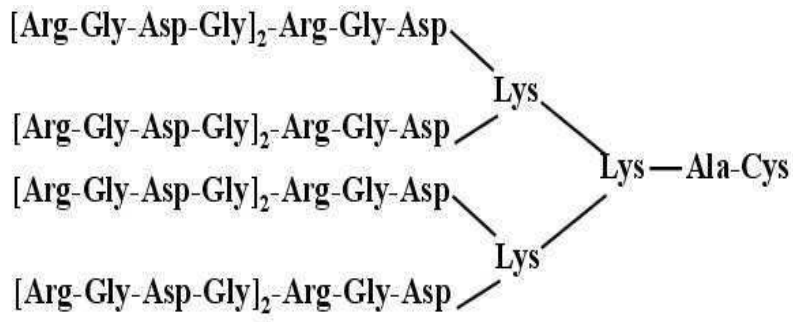
<53>

<54> 상기 일반식에서, X_{aa1}은 Gly 또는 Ala이고, n1-n8은 각각 독립적으로 1-100의 정수이다.

<55> 보다 바람직하게는, 본 발명의 펩타이드는 다음의 서열로 표시되는 펩타이드이다:



<56> ; 또는



<57>

<58> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상술한 본 발명의 펩타이드가 표면에 코팅된 고상 기질을 포함하는 마이크로어레이 또는 바이오센서를 제공한다.

<59> 본 발명의 마이크로어레이(즉, 세포칩)에 적용될 수 있는 일반적인 설명은, 미국 특허 제5,143,854, 5,242,974, 5,252,743, 5,324,633, 5,384,261, 5,405,783, 5,412,087, 5,424,186, 5,451,683, 5,482,867, 5,491,074, 5,527,681, 5,550,215, 5,571,639, 5,578,832, 5,593,839, 5,599,695, 5,624,711, 5,631,734, 5,795,716, 5,831,070, 5,837,832, 5,856,101, 5,858,659, 5,889,165, 5,936,324, 5,959,098, 5,968,740, 5,974,164, 5,981,185, 5,981,956, 6,025,601, 6,033,860, 6,040,193, 6,090,555, 6,136,269, 6,147,205, 6,262,216,

6,269,846, 6,310,189 및 6,428,752호에 상세하게 기재되어 있다.

<60> 본 발명의 바이오센서에 적용될 수 있는 일반적인 내용은, Myska, *J. Mol. Recognit*, 12:279-284(1999); J. Dubendorfer et al. *Journal of Biomedical Optics*, 2(4):391-400(1997

효 과

<61> 본 발명에 따르면, 세포, 특히 동물세포를 고상의 기질 상에 효율적으로 고정화 시킬 수 있으며, 특히 세포 독성 없이 세포를 특이적으로 고상 기질 상에 고정화 시킬 수 있으며, 미세 세포환경 세포칩에 활용될 수 있는 나노패턴에 세포를 고정화시킬 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<62> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

<63> **실시예**

실시예 1: 신규 RGD 펩타이드 맵의 디자인

도 1에서 보는 바와 같이, 본 발명에서는 3가지 RGD 펩타이드를 이용하였다. 도 1에서 C-RGD(펩타이드 1)는 한 개의 RGD서열을 가지고 있는 구조로, RGD 서열은 인테그린을 인식하여 ECM 단백질에 세포를 결합시켜 줄 수 있는 모티브이므로 세포 부착 물질에 이용하고자 하였고, C는 티올 작용기를 가진 시스테인으로 금 기판에 물질을 결합시키기 위하여 추가 도입되었다.

<64> 보다 효율적인 세포 고정용 RGD 펩타이드를 제작하고자 하나의 맵(MAP)으로 구성하여 한 분자에 여러 개의 RGD를 가진 구조, 즉, 여러 개의 펩타이드가 결합되어 있는 형태의 펩타이드를 디자인하였다. 금 기판 상에 펩타이드 맵을 결합시키기 위해서는 티올 작용기가 필요하기 때문에 시스테인 추가 도입 위치를 2 가지로 디자인할 수 있었다. 예컨대, 도 1에서 제시한 바와 같이, 펩타이드 2는 RGD-G를 2개 연결하고 마지막에 RGD를 연결하여 만든 맵 구조로, 이는 병렬적으로 연결된 각 펩타이드의 RGD 서열 끝에 시스테인을 가지고 있어 금 기판에 안정적으로 고정화 될 수 있으나 RGD 모티브가 내부로 가려질 가능성을 가지고 있다. 다른 예인 펩타이드 3은 여러 개의 RGD 모티브를 먼저 MAP으로 연결하고 그 맵의 끝 부분에 시스테인을 추가 도입하여 제작하도록 하였다.

<65> 삭제

<66> 삭제

<67> 본 발명에서 이용되는 펩타이드들은 도 1의 왼쪽 패널에 나타내었으며, 이는 (주)펩트론(대한민국)에 의뢰하여 합성하였다.

<68> **실시예 2: 펩타이드 고정화 및 펩타이드-변형 금 표면 분석**

<69> 금 기판은 DC 마그네트론 스퍼터링(magnetron sputtering) 방식 및 실리콘 기판을 이용하여 제조하였다. 금 증착하기 이전에 Cr을 매개체로 증착하였다. 금과 크롬의 두께는 각각 43 nm와 2 nm이다. 펩타이드 막을 만들기 전에 결합되어 있는 이물질을 제거하기 위하여, 금 표면을 피라나 용액(piranha solution, 70% vol H_2SO_4, 30% H_2O_2)을 이용하여 세척하였다. 금 표면 상의 펩타이드 박막은 기판을 펩타이드 용액(0.1 mg/ml)으로 12시간 처리한 후, PBS(Phosphate buffered saline)를 사용하여 세척하고, N_2 가스를 이용하여 건조시켜 제작하였다. 제작된 펩타이드 박막의 표면 분석을 위하여, 금 기판과 펩타이드 1, 펩타이드 2 또는 펩타이드 3으로 개질된 금 표면을 AFM(atomic force microscopy, NTEGRA spectra, NT-MDT, Russia)를 이용하여 조사하였다. AFM 이미지는 상온 하에서 반-접촉 모드로, 스캔 속도 1Hz로 얻었다.

<70> AFM 분석 결과, 아무 것도 처리되지 않은 베어 기판은 평균 높이 12 nm 였으나, 펩타이드 처리된 금 기판은 높이 증가를 나타내었다. 특히 단일 서열인 C-RGD보다 맵 구조를 가진 펩타이드 처리로 높이 증가가 더 많은 것

을 볼 수 있었다. 맵 구조 펩타이드 중에서는 펩타이드 2가 보다 안정적으로 고르게 결합된 것으로 판단된다.

<71> **실시예 3: 세포 배양 및 세포 성장도 조사**

<72> 새로이 디자인한 펩타이드들을 금 기판에 각각 처리한 다음, 동물세포[암세포(HeLa, ATCC로부터 구입)와 줄기세포(mouse embryonic cell, J1 ES cell, 서강대학교 김정호 교수로부터 제공받음, 참고 문헌 14)를 배양하였다. 줄기세포의 경우 피더세포를 이용하지 않고 배양하는 경우 부착력이 약하기 때문에, 보통 동물 세포 배양기에 다시 젤라틴 코팅하여 사용하게 되는데, 젤라틴은 ECM 단백질 콜라겐을 부분 가수분해하여 얻어진 것으로 이 역시 고분자 물질이므로 나노 단위 미세세포 환경의 조성에는 적합하지 않다.

<73> 줄기세포용 나노패턴 세포 칩의 제작 시, 세포 고정에 본 발명의 RGD 펩타이드 맵이 젤라틴 대체 물질로 사용 가능한가 여부를 세포 부착 및 배양 후 세포 증식 정도를 비교하였다.

<74> 도 3은 마우스 줄기세포를 금 기판 위에서 3 일간 배양한 후에 현미경으로 관찰한 결과이다. [RGD]n-MAP-C 펩타이드를 처리한 금 기판에서 배양된 줄기 세포는 일반적으로 사용하는 젤라틴 코팅 방법과 거의 같은 수준으로 세포의 증식을 보였으며 세포의 모양도 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 이후 연구될 세포칩용 금기판 나노 단위 패턴 상에 젤라틴을 대신하여 본 발명의 펩타이드를 사용할 수 있음을 증명하는 것이다.

<75> 한편, 도 4는 순수 베어 골드(bare gold)와 3 가지 RGD 계열 펩타이드들이 처리된 금 기판에서 암세포(HeLa)를 2 일간 배양한 후에 MTT 분석(Farokhzad, O. C.; Cheng, J.; Teply, B. A.; Sherifi, I.; Jon, S.; Kantoff, P. W.; Richie, J. P.; Langer, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 103 (16) 6315-6320)을 통하여 세포 증식 정도를 비교하여 나타낸 것이다.

<76> 단일 펩타이드 처리의 경우 베어 골드에 비하여 2.5 배 정도 세포 증식 효과를 나타내었으며, 펩타이드 3을 처리한 경우는 4 배 이상 증가 되었다. 한편, 표면 분석에서 고르고 안정된 결합 구조를 나타내었던 펩타이드 2의 경우, 단일 CRGD 처리보다 세포 증식 효과가 감소하였다. 이와 같은 결과는 C-[(RGD-G)n-RGD]n-MAP 구조에서 세포 부착능을 가진 RGD 펩타이드가 내부로 가려지기 때문이라고 판단된다.

<77> 본 발명의 RGD 계열 펩타이드, 특히 펩타이드 3은 시스테인의 티올기를 통하여 금 기판 상에서 자기조립이 가능하며, 줄기세포를 비롯한 동물세포 배양에서 금 기판 사용 시보다 세포 증식률의 증대 효과를 나타내었다. 고분자 ECM 성분을 대신할 수 있는 본 발명의 저분자량 RGD 모티프 펩타이드는 나노패턴과 같은 나노수준에서 표면 개질에 적용할 수 있다. 또한, 본 발명의 펩타이드로 개질된 금 전극은 전기화학적인 혹은 전기적인 검출 시스템에 적용할 수 있다.

<78> **참조 문헌**

<79> [1] M. Tirrell, E. Kokkoli, M. Biesalski, Surf. Sci. 500 (2002) 61.

<80> [2] A. Bershadsky, A. Chausovsky, E. Becker, A. Lyubimova, B. Geiger, Curr. Biol. 6 (1996) 1279.

<81> [3] U. Hersel, C. Dahmen, H. Kessler, Biomaterials 24 (2003) 4385.

<82> [4] C.S. Chen, J.L. Alonso, E. Ostuni, G.M. Whitesides, D.E. Ingber, Biochem. Bioph. Res. Co. 307 (2003) 355.

<83> [5] Spatz JP and Geiger B. Methods Cell Biol. 83 (2007)89

<84> [6] S.M. Cutler, A.J. Garcia, Biomaterials 24 (2003) 1759.

<85> [7] J.H. Jang, J.H. Hwang, C.P. Chung, Biotechnol. Lett. 26 (2004) 1831.

<86> [8] U. Staubli, D. Chun, G. Lynch, J. Neurosci. 18 (1998) 3460.

<87> [9] M.D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, Nature 309 (1984) 30.

<88> [10] R.A. Quirk, W.C. Chan, M.C. Davies, S.J.B. Tendler, K.M. Shakessheff, Biomaterials 22 (2001) 865

<89> [11] Y.M. Bae, B.-K. Oh, W. Lee, W.H. Lee, J.-W. Choi, Materials Science and Engineering C 24 (2004) 61

<90> [12] S. Eu and W. Paik, Chem Lett. 337 (1998) 405

<91> [13] W. Paik, SEu, K. Lee, S. Chon, and M. Kim, Langmuir 16 (2000) 10198

<92> [14] Lee, J., Kim, H.K., Rho, J-Y., Han, Y-M., and Kim, J. J.Biol.Chem.

<93> 281(2006) 33554

<94>

<95> 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

<96> 도 1은 본 발명에서 이용되는 세포 고정화를 위한 RGD 펩타이드 맵의 구조 및 이에 대한 일반식을 나타낸다.

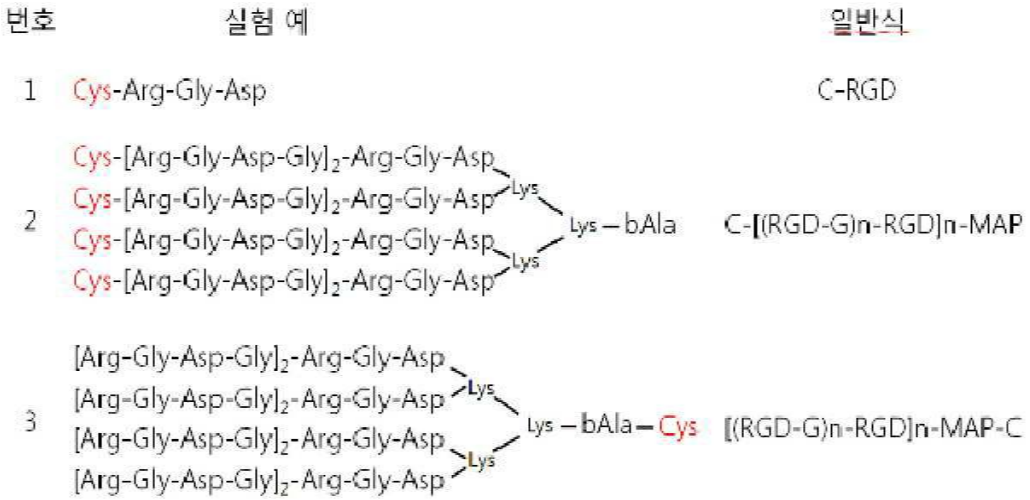
<97> 도 2는 본 발명의 펩타이드-처리된 금 기판의 표면을 분석한 결과를 보여준다. 표면 분석은 원자현미경, AFM을 이용하였으며, 분석 범위는 500 nm X 500 nm, 스캔 속도는 1 Hz의 조건으로 진행되었다. (a) 베어 골드, (b)-(d) 각각 C-RGD, [C-RGD]n-MAP 및 [RGD]n-MAP-C 처리된 금 기판.

<98> 도 3은 금 기판 위에서 줄기세포를 배양한 결과를 보여주는 형태(morphology) 분석 결과이다(x 40). 왼쪽 사진부터 베어 골드, [RGD]n-MAP-C 처리된 금 기판 및 젤라틴 처리된 금 기판.

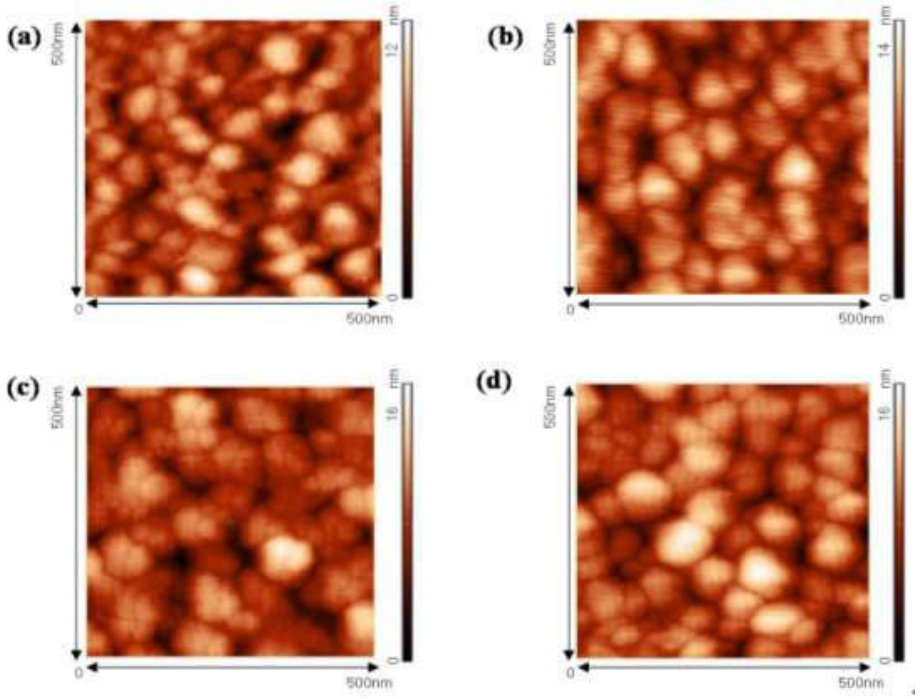
<99> 도 4는 세포 증식에 대한 본 발명의 펩타이드 효과를 보여주는 그래프이다.

도면

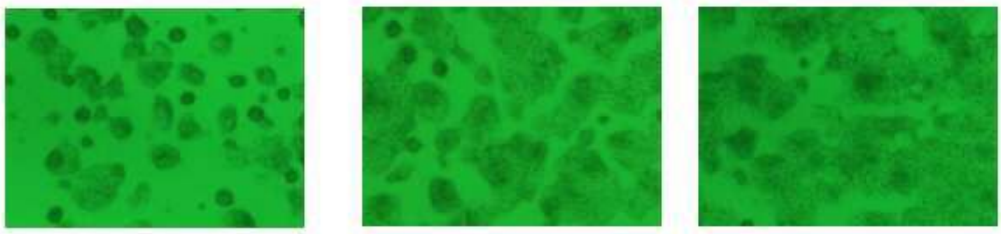
도면1



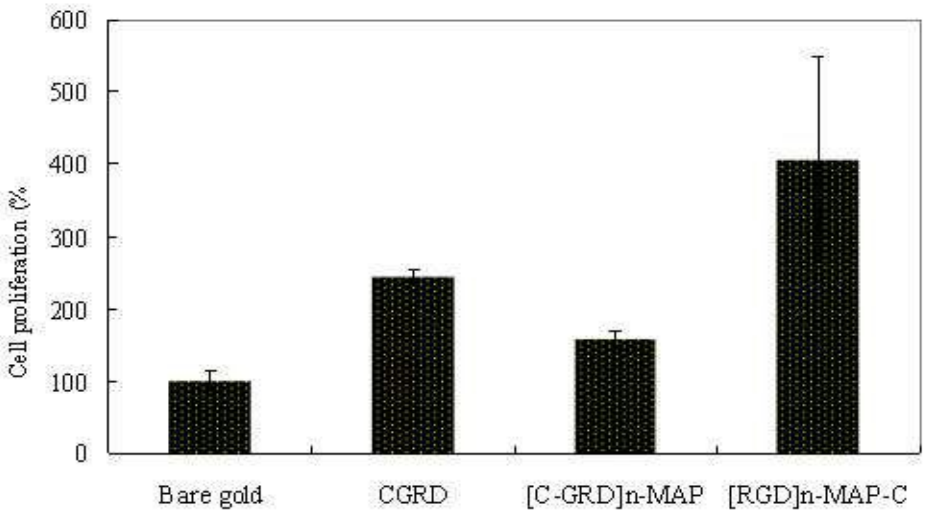
도면2



도면3



도면4


600
500
400
300
200
100
0
Cell proliferation (%
Bare gold
CGRD
[C-GRD]n-MAP
[RGD]n-MAP-C