(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0010008
(43) 공개일자 2016년01월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/40 (2006.01) *C12M 1/42* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0090701
(22) 출원일자 2014년07월18일
심사청구일자 2014년07월18일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(72) 발명자
심봉섭
인천광역시 연수구 컨벤시아대로42번길 61 (송도동, 송도더샵 그린애비뉴) 805동 1202호
손유란
인천광역시 남구 인하로 292 쌍용아파트 2동 409호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 공간

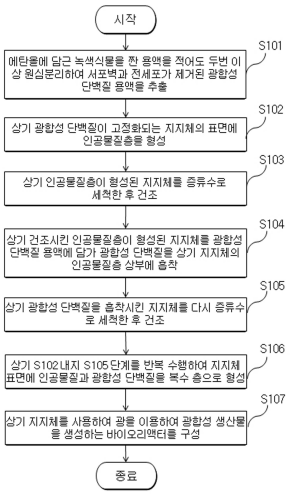
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터**

(57) 요 약

본 발명은 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터에 관한 것으로, 틸라코이드를 포함하는 광합성 단백질과 전도성 폴리머와 같은 인공물질을 층상분자조립 기술을 통해 바이오리액터 표면에 복층구조로 고정화시켜 광합성 생산물을 생산하는 셀프리 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터에 관한 것이다.

대 표 도 - 도6



(72) 발명자

황홍섭

경기도 광명시 소하로 38 소하휴먼시아2단지아파트 206동 404

김현

충청북도 청주시 흥덕구 사운로359번길 13 우림필유아파트 103동 102호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	NRF-2013R1A1A1076111
부처명	미래창조과학부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	신진연구(이공분야 기초연구 사업_일반연구자자원사업_신진연구지원사업)
연구과제명	생체이식형 3세대 유연전극 나노복합소재 개발
기 여 율	1/1
주관기관	한국연구재단
연구기간	2013.12.01 ~ 2016.11.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

(a)에탄올에 녹색식물을 담근 후에, 이를 짠 용액을 적어도 두 번 이상 원심분리하여 세포벽과 전세포를 제거하는 과정을 거쳐 광합성 단백질 용액을 추출하는 단계;

(b) 상기 광합성 단백질이 고정화되는 지지체의 표면에 천연 고분자, 합성 고분자, 전도성 고분자, 고분자 복합물질, 나노구조 물질, 마이크로구조 물질 또는 이들의 조합을 포함하는 인공물질층을 형성하는 단계;

(c) 상기 인공물질층이 형성된 지지체를 증류수로 세척한 후 건조 시키는 단계;

(d) 상기 건조 시킨 인공물질층이 형성된 지지체를 상기 추출한 광합성 단백질 용액에 담가 광합성 단백질을 상기 지지체의 인공물질층 상부에 흡착시키는 단계;

(e)상기 광합성 단백질이 흡착된 지지체 표면을 증류수로 세척한 후 건조 시키는 단계;

(f) 상기 (b) 내지 (e)단계를 반복 수행함으로써, 지지체 표면에 상기 인공물질과 광합성 단백질을 복수 층으로 형성하는 단계;

(g) 상기 (f)단계 후의 지지체를 사용하여 광을 이용하여 광합성 생산물을 생성하는 바이오리액터를 구성하는 단계;를 포함하는 바이오리액터의 제조 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 광합성 단백질은,

틸라코이드, 엽록체, 엽록소, 페오피틴, 피코빌리솜, 피코빌린, 클로로솜, 카로티노이드, 카로틴, 잔토필, 광계1, 광계2, 반응중심, 페레독신, 시토크롬, 카르복시솜, 플라스토시아닌로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오리액터의 제조 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 (f)단계 후에 다이클로로페놀 인도페놀을 첨가하여, 광합성 활성 유지시간을 증가시키는 단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오리액터의 제조 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 광합성 생산물은,

전자, 수소, 포도당, 산소, 탄수화물, 글루코오스, 셀룰로오스, 지질, 아미노산, 녹말, 설탕, 전분, ATP, RuBP, GP, PGA, G3P, 3탄당, 5탄당, 자당, 옥살로 아세트산, 말산염 또는 탄화수소 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오리액터의 제조 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 (b) 내지 (e)단계를 반복 수행함으로써, 지지체 표면에 상기 인공물질과 광합성 단백질을 적어도 20층 이상으로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오리액터의 제조 방법.

청구항 6

상기 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 빛을 이용하여 광합성 생성물을 생산하기 위한 바이오리액터.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

상기 바이오리액터에 포함되는 광합성단백질이 고정화된 지지체는,

튜브형 구조, 층상형 구조, 판형 구조 또는 이들이 조합된 구조인 것을 특징으로 하는 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터.

청구항 8

청구항 6에 있어서,

상기 광합성 생산물은,

전자, 수소, 포도당, 산소, 탄수화물, 글루코오스, 셀룰로오스, 지질, 아미노산, 녹말, 설탕, 전분, ATP, RuBP, GP, PGA, G3P, 3탄당, 5탄당, 자당, 옥살로 아세트산, 말산염 또는 탄화수소 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 광합성 기구, 엽록소, 엽록체, 틸라코이드 등의 광합성 단백질을 합성 고분자, 전도성 고분자, 혹은 천연 고분자 등과 함께 층상분자조립법을 이용하여 다양한 지지체에 고정화시켜, 오랜 시간동안 광합성 반응을 안정적으로 유지할 수 있도록 한, 무세포(cell-free) 바이오리액터 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 광합성(Photosynthesis)이란 녹색식물, 조류(algae) 및 시아노 박테리아(cyano-bacteria)에서 발생하는 것으로 생물학적 유기체가 직간접적으로 태양을 받아 화학적 또는 생물학적 에너지로 전환하는 자연공정으로서, 70년 이상 전부터 그 메커니즘에 대해 활발한 연구가 이루어졌고, 약 30년 정도 전부터는 광합성의 메커니즘을 파악하여 이를 다양한 산업분야에 활용하고자 하는 연구 및 개발이 활발히 진행되고 있다.

[0003] 또한, 약 10년 전부터는 1차원적 태양전지(solar cell)로 이용하고자 하는 연구가 본격적으로 시행되고 있다.

[0004] 한편, 본 발명의 광합성 기구와 인공 물질의 이종화(hybrid-dization)에서는, 광합성 기구인 광계 I, 광계 II, cytochrome c, 틸라코이드, 심지어 시아노 박테리아와 같은 전세포(whole cell)도 이용되며, 상기 기구들은 주로 박테리아에서 추출되었으며, 녹색식물로는 콩잎(bean leaves)과 시금치에서도 추출하여 연구된다.

[0005] 생물학적 광합성 시스템은 틸라코이드에 포함된 멀티 서브유닛 단백질 복합체들인 광계 II (photosystem II)에서 광전환 반응이 첫 번째로 발생하고, 그 후에 플라스토퀴논(plastoquinone), 시토크롬 b6f(cytochrome b6f), 플라스토시아닌(plastocyanin), 페레독신(ferredoxin), 광계 I 등의 전자 이동을 통해 광합성이 진행된다. 그러므로 광합성 기구 하나를 추출하여 사용하는 것보다 전자 이동 통로의 전체를 가진 전세포를 사용하는 것이 더 유리할 수 있다.

[0006] 그러나 전세포를 추출하여 사용하는 경우, 자연을 벗어나는 순간 세포가 죽고 분해가 진행될 뿐만 아니라, 외부 환경 즉, 물리적 충격, Ph, 온도, 용매, 유독성 이물질 등에 예민하기 때문에 이를 컨트롤 하는 것이 어렵다. 또한, 세포 호흡 및 생장에 필요한 영양소 등의 공급이 필요하기에, 공급된 에너지가 원하는 광합성 이외의 반응으로 손실되기도 한다.

[0007] 따라서 전자 이동 통로 전체를 포함한 틸라코이드를 추출하여 광합성 기구 각각의 안정성을 높이고 이를 고정화하여 각 기구를 세포 외부의 자극으로부터 보호하는 것이 중요하다.

[0008] 또한, 특정 생체물질을 단독으로 사용하여 인공 장치(artificial device)를 제작하고 연구하는 것은 쉽지 않으

며, 이를 위해서는 더욱 깊은 연구가 필요하다. 그러므로 현재 생체물질을 이용하여 인공 장치를 제작하는 연구 분야에서 고분자(polymer), 나노구조 물질(nano-structures), 마이크로구조 물질 (micro-structures) 등과 같은 인공 물질과 생체물질의 이종화가 제시되고 있다. 근본적으로 성질이 다른 두 물질을 하나의 상태로 융합하기 위해서는 생물학적 물질(biotic materials)과 비생물학적 물질(abiotic materials)의 동시 고정화가 필수적이다. 이때 고정화를 위해 사용하는 물질은 투명하고, 유독성 반응성이 없고, 물리적으로 강하고, 수용액 상태에서 안정해야 한다.

[0009] 이러한 고정화 방법들에는 층상분자조립 기술을 비롯하여, 졸-겔 인캡슐레이션(바이오인캡슐레이션), 랭뮤어-브로드젯막(LB) 및 자가조립단분자막(SAM)이 있고, 이 방법들은 광합성 기구를 인공 물질과 고정화하여 생체물질의 기능성을 잘 발현시킬 수 있도록 한다.

[0010] 상기 고정화 방법들은 이미 널리 공지된 기술이기 때문에 이에 대한 자세한 설명은 생략하기로 한다.

[0011] 상기와 같은 실정에 따라, 본 발명은 오랜 시간동안 안정적으로 광합성 반응을 유지할 수 있도록, 생체물질과 인공물질로 이루어진 새로운 바이오리액터를 제시하고자 한다.

[0012] 다음으로 본 발명의 기술이 속하는 분야에 존재하는 선행기술에 대하여 간략하게 설명하고, 이어서 본 발명이 상기 선행기술에 비하여 차별적으로 이루고자 하는 기술적 사항에 대해 설명하도록 한다.

[0013] 먼저, 한국등록특허 제1148194호(2012.05.15)는 투명 필름으로 이루어진 광합성 생물 반응기에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, 광합성 생물의 광합성이 일어나는 반응용기; 외부 상단에 형성되어 있는 다용도 입출구; 상기 반응용기의 외부에서 다용도 입출구와 연결되어 있는 외부관; 및 상기 반응용기의 내부에서 다용도 입출구와 연결되어 있는 내부관;을 포함하며, 상기 반응용기가 투명필름 재질로 이루어진 광합성 생물 반응기에 관한 기술을 제시하고 있다.

[0014] 또한, 한국등록특허 제1372328호(2014.03.04)는 비닐 시트형 광생물반응기 및 이의 제작방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, 내부에 광합성 미생물 및 배양액이 수용되는 배양공간이 형성되고, 전,후면이 열접착에 의해 접합되어 다수개의 투과부가 형성되는 비닐 재질의 반응시트와, 상기 반응시트의 내부에 이산화탄소를 공급하는 이산화탄소공급부와, 상기 반응시트의 내부로 공급되었던 이산화탄소에서 광합성 미생물의 광합성작용에 의해 생성된 산소를 배출시키는 입출부를 포함하는 광생물반응기에 관한 기술을 제시하고 있다.

[0015] 또한, 한국공개특허 제2014-0042410호(2014.04.07)는 반응시트의 이동제한 부재를 가지는 비닐 시트형 광생물 반응기 및 이의 제작방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, 반응시트를 복수개 배열하여 광생물의 대량 배양이 가능하고, 반응시트에 형성된 복수의 투과부가 윈도우 형태로 배열 형성됨에 따라 빛 투과율을 높이는 반응시트의 이동제한 부재를 가지는 비닐 시트형 광생물 반응기에 관한 기술을 제시하고 있다.

[0016] 상기 선행기술문헌은 광합성 반응성을 향상 시킨 바이오리액터에 관한 기술이라는 점에서 본 발명과 일부 유사점이 있지만, 본 발명과 같이 복수의 광합성 단백질 층과 전도성 폴리머 층을 지지체 표면에 고정화 시켜 광합성 반응을 수행하는 셀프리(cell-free) 타입의 바이오리액터에 대한 기술은 기재되어 있지 않다는 점에서 본 발명과는 차이점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명은 상기된 과제를 해결하기 위해 창작된 것으로, 오랜 시간동안 광합성 반응을 안정적으로 유지할 수 있도록 하기 위하여, 식물세포로부터 분리한 광합성 기구, 엽록소, 엽록체, 틸라코이드 등의 광합성 단백질 콤플렉스를 전도성 폴리머를 포함한 인공물질과 함께 층상분자조립법을 이용하여 다양한 지지체에 고정화시킨 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법은, (a)에탄올에 녹색식물을 담근 후에, 이를 짠 용액을 200RCF(g)으로 적어도 두 번 이상 원심분리하여 세포벽과 전세포를 제거하는 과정을 거쳐 광합성 단백질 용액을 추출하는 단계; (b) 상기 광합성 단백질이 고정화되는 지지체의 표면에 천연 고분자, 합성 고분자, 전도성 고분자, 고분자 복합물질, 나노구조 물질, 마이크로구조 물질

또는 이들의 조합을 포함하는 인공물질층을 형성하는 단계; (c) 상기 인공물질층이 형성된 지지체를 증류수로 세척한 후 건조 시키는 단계; (d) 상기 건조 시킨 인공물질층이 형성된 지지체를 상기 추출한 광합성 단백질 용액에 담가 광합성 단백질을 상기 지지체의 인공물질층 상부에 흡착시키는 단계; (e)상기 광합성 단백질이 흡착된 지지체 표면을 증류수로 세척한 후 건조 시키는 단계; (f) 상기 (b) 내지 (e)단계를 반복 수행함으로써, 지지체 표면에 상기 인공물질과 광합성 단백질을 복수 층으로 형성하는 단계; (g) 상기 (f)단계 후의 지지체를 사용하여 광을 이용하여 광합성 생산물을 생성하는 바이오리액터를 구성하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0019] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법에서, 상기 광합성 단백질은, 틸라코이드, 엽록체, 엽록소, 페오피틴, 피코빌리솜, 피코빌린, 클로로솜, 카로티노이드, 카로틴, 잔토필, 광계1, 광계2, 반응중심, 페레독신, 시토크롬, 카르복시솜, 플라스토시아닌로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0020] 상기에서 지지체의 구조는 튜브형 구조, 층상형 구조, 판형 구조 또는 이들이 조합된 구조인 것일 수 있다. 이때 상기 나열된 구조들은 예시일 뿐 본 발명이 이들과 같은 구조로만 한정되는 것은 아니다.

[0021] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법은, 상기 (f)단계 후의 지지체에 다이클로로페놀 인도페놀을 첨가하여, 광합성 활성 유지시간을 증가시키는 단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법에서, 상기 광합성 생산물은, 전자, 수소, 포도당, 산소, 탄수화물, 글루코오스, 셀룰로오스, 지질, 아미노산, 녹말, 설탕, 전분, ATP, RuBP, GP, PGA, G3P, 3탄당, 5탄당, 자당, 옥살로 아세트산, 말산염 또는 탄화수소 화합물 중 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0023] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법은, 상기 (b) 내지 (e)단계를 반복 수행함으로써, 지지체의 표면에 상기 인공물질과 광합성 단백질을 적어도 20층 이상으로 형성하는 것을 특징으로 한다.

[0024] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터는, 상기 제조방법들에 의하여 제조된 바이오리액터인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터에 관한 것으로, 광합성 기구, 엽록소, 엽록체, 틸라코이드 등의 광합성 단백질을 전도성 폴리머와 함께 층상분자조립법을 이용하여 다양한 지지체 표면에 고정화시킴으로써, 바이오리액터에서 오랜 시간동안 광합성 반응을 안정적으로 유지할 수 있고, 이를 통해 효과적으로 광합성 생산물을 생산할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 틸라코이드 추출 방법에 대해 설명하기 위한 예시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 틸라코이드의 고정화 방법에 대해 설명하기 위한 예시도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 QCM을 통해 관측한 지지체 표면에서의 틸라코이드 및 폴리아닐린의 성장그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 DCPIP를 이용한 틸라코이드의 활성 유지시간 측정 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 바이오리액터의 구조에 대해 설명하기 위한 예시도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하기 위한 바이오리액터 제조 방법에 대해 설명하기 위한 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 광합성 생산물을 생산하기 위한 바이오리액터의 제조 방법 및 이를 이용한 바이오리액터의 일 실시예에 대해 설명한다.

[0028] <틸라코이드 추출 방법>

[0029] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 틸라코이드 추출 방법에 대해 설명하기 위한 예시도이다.

[0030] 도 1에 도시되어 있는 바와 같이, 틸라코이드막(thylakoid membranes)은 시금치에서 추출하였다. 기존의 추출 방법들 중 가장 간단한 방법은 시금치 용액을 여러 번 원심 분리한 후, 퍼콜(percoll) 용액을 처리하여 다시 원심 분리하는 것이다. 이 방법은 다른 방법들에 비해 단순하지만, 그 과정은 최소 6시간 이상이 걸리고, 결과적으로 수득되는 양 또한 층상분자조립 기술에 사용하기에 부족하다. 그러므로 시간을 단축시키고, 수득률이 높도록 추출 방법을 수정하였다. 먼저, 100ml 에탄올에 시금치를 담그고, 그 용액과 시금치를 500ml 비커에 짠다. 다음으로, 3분 동안 200g에 두 번 원심분리를 거쳐 세포벽과 전세포(whole cell)를 제거한다. 이 방법은 기존의 방법에 비해 양은 20배 이상, 농도는 약 9배 이상 높은 0.1174mg/ml의 용액을 추출할 수 있다. 이때 만들어진 용액은 반드시 암실상태의 냉동실에 보관한다.

[0031] <틸라코이드 고정화 방법>

[0032] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 틸라코이드의 고정화 방법에 대해 설명하기 위한 예시도이다.

[0033] 도 2에 도시되어 있는 바와 같이, 본 발명은 층상분자조립 기술을 이용하여 유리 기판 상에 0.5wt% PEI(전해질 고분자 폴리에틸렌이민) 혹은 0.5wt% PANI(전도성 고분자 폴리아닐린)를 흡착시킨 [폴리에틸렌이민 or 폴리아닐린/틸라코이드] 나노구조 박막을 제조하였다. 상기 나노구조 박막은 상기 전해질 고분자 폴리에틸렌이민 및 전도성 고분자 폴리아닐린 이외의 합성 고분자, 또는 천연 고분자 또는 이들의 조합을 포함하는 고분자물질로 제조될 수도 있다.

[0034] 우선, 양전하를 띄는 전해질 고분자 폴리에틸렌이민 혹은 전도성 고분자 폴리아닐린을 유리 기판에 한층 쌓은 후, 증류수로 세척을 하고, 이어서 건조하는 과정을 수행한다.

[0035] 건조 후, 약한 음전하를 띄는 추출된 시금치 용액에 1분 동안 담군다. 다시 세척과 건조 과정을 통해 불필요하게 쌓인 분자들을 제거하고, 상기 처음 단계부터 다시 반복한다.

[0036] 상기와 같은 층상분자조립법은 음전하를 가진 시금치를 유리 기판에 고정하고, 반복적인 작업을 통해 박막 표면에 층을 지속적으로 쌓기 위해서 정전기적 메커니즘을 이용하며, 장치화 했을 때 이온 및 전자의 원활한 이동을 위해 틸라코이드와 반대 전하를 가진 전도성 고분자를 사용하는 것이다. 실험 전체 과정은 광합성 기구의 효율을 떨어뜨리지 않도록 최적화 된 4℃에서 진행하였다.

[0037] <QCM을 통한 성장 관찰>

[0038] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 QCM(수정미세저울)을 통해 관측한 지지체표면에서의 틸라코이드 및 폴리아닐린의 성장그래프이다.

[0039] 이에 도시되어 있는 바와 같이, 도 3의 그래프는 금으로 코팅된 전극에 층상분자조립법으로 제작한 [폴리아닐린/틸라코이드] 박막 표면의 프리퀀시(frequency) 변화를 보여준다.

[0040] 표면의 상태를 즉각적으로 모니터링 하기 위해서 QCM 전극을 직접 고분자 폴리아닐린 용액과 틸라코이드 용액에 담가 흡착하는 동안 실시간으로 측정하였다. 이 때, 층상분자조립법 중 진행한 세척과 건조 과정은 그래프에서 생략하였다.

[0041] 아래의 수학식 1은 QCM 프리퀀시를 나타낸 것이다.

수학식 1

[0042]
$$\Delta F = \frac{-1.832 \times 10^8 M}{A}$$

[0043] 상기 수학식 1에서 ΔF는 프리퀀시 시프트 (Hz), M은 흡착된 폴리아닐린과 틸라코이드의 질량(g), 그리고 A는 측정 시 사용한 전극의 표면적(cm2)이다.

[0044] 상기 도 3의 그래프에 도시되어 있는 바와 같이, 전극에 폴리아닐린과 틸라코이드가 흡착됨에 따라 -ΔF가 전

체적으로 상승하는 모습을 보인다. 이는 표면의 질량이 증가하고 있고, 폴리아닐린과 틸라코이드가 층상분자조립법을 통해 흡착되고 있음을 나타낸다. 그래프에서 화살표를 중심으로 아래는 폴리아닐린 용액에 2분 간 담근 전극 표면의 프리퀀시 변화를 보여주고, 그 위에는 틸라코이드 용액에 1분 간 담근 전극 표면의 프리퀀시 변화를 보여준다.

[0045] <다이클로로페놀 인도페놀을 이용할 경우의 틸라코이드 활성 유지시간 측정>

[0046] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 다이클로로페놀 인도페놀을 이용한 경우의 틸라코이드의 활성 유지시간 측정 그래프이다.

[0047] 도 4에 도시되어 있는 바와 같이, 20 klux의 빛에 노출시키며 측정한 다이클로로페놀 인도페놀(DCPIP : Dichlorophenol indophenol)의 흡광도는 600 nm 영역에서 시간이 증가할수록 감소한다. 그러나 6 시간이 지나면 정체상태에 도달하는 10 층 박막 시료와 다르게 20 층의 [폴리에틸렌이민/틸라코이드] 박막 시료는 20 배 이상의 시간인 130시간이 지나도 정체상태에 도달하지 않는다. 이것은 층상분자조립법을 통해 다층박막의 층수가 증가할수록 빛에 대한 광합성 활성의 유지도 확실히 증가함을 나타낸다.

[0048] 또한, 20 layer의 박막에서 다이클로로페놀 인도페놀이 없는 조건과 동일한 빛의 세기로 노출될 경우, 24시간이 지난 후 광합성의 활성이 거의 이루어지지 않는다. 반면, 다이클로로페놀 인도페놀이 존재하는 경우 24시간이 경과해도 다이클로로페놀 인도페놀의 색은 멈추지 않고, 지속적으로 변하고 있기 때문에 광합성 활성이 지속되고 있음을 알 수 있다. 이 결과는 다이클로로페놀 인도페놀이 양성자를 받아 전자를 수송하는 역할을 해줌으로써 부산물이 광합성 기구의 활성을 무너뜨려 유지시간을 감소시키는 현상을 방지하는 것으로 해석된다.

[0049] 상기와 같은 결과를 통해 다이클로로페놀 인도페놀을 틸라코이드 등이 고정된 지지체에 첨가하면, 광합성 활성 유지시간을 증가시킬 수 있음을 알 수 있다.

[0050] <바이오리액터 구조>

[0051] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 바이오리액터의 구조에 대해 설명하기 위한 예시도로서, 도 5의 (a)는 회분(Batch)형 바이오리액터이고, 도 5의 (b)는 플러그 흐름형 바이오리액터이다. 참고로, 도 5의 (a)와 (b)에는 광합성 반응을 나타내는 초록색 표시가 부분적으로 도시되어 있으나, 이는 본 발명의 바이오 리액터에 의 지지체 부분에 고정화되어 광합성을 수행하는 광합성 단백질을 예시적으로 표시하기 위한 것일 뿐이고, 실질적으로는 바이오리액터의 지지체 반응면에 고르게 광합성 단백질이 흡착되어 있을 수 있다.

[0052] 도 5에 도시되어 있는 바와 같이, 본 발명의 바이오리액터는 지지체 표면에 틸라코이드 혹은 엽록체를 인공물질과 함께 고정화시키고 반응에 필요한 각종 물질을 넣은 회분형 바이오리액터(10) 또는 상기 지지체 표면에 틸라코이드 혹은 엽록체를 인공물질과 함께 고정화시키고 반응에 필요한 물질을 흘려주는 형태의 플러그 흐름형 바이오리액터(20)로 제조될 수 있다. 바이오리액터에 포함되는 지지체의 구조는 튜브형 구조, 층상형 구조, 판형 구조 또는 이들이 조합된 구조를 포함할 수 있다.

[0053] 상기 지지체의 표면에는 박테리아 혹은 식물세포에서 추출한 틸라코이드를 포함하는 광합성 단백질과 양전하를 띄는 전해질 고분자 폴리에틸렌이민, 전도성 고분자 폴리아닐린 또는 이들의 조합을 포함하는 전도성 폴리머와 같은 인공물질이층상분자조립 기술을 통해 복층구조로 고정화되어 있다.

[0054] 상기 광합성 단백질은 틸라코이드, 엽록체, 엽록소, 페오피틴, 피코빌리솜, 피코빌린, 클로로솜, 카로티노이드, 카로틴, 잔토필, 광계1(PhotoSystem 1), 광계2(PhotoSystem 2), 반응중심(Reaction Center), 페레독신, 시토크롬, 카르복시솜, 플라스토시아닌 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0055] 또한, 상기 인공물질은 전도성 폴리머, 나노구조 물질, 마이크로구조 물질, 생체물질과 이종화된 물질 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0056] 상기와 같은 구조의 본 발명에 따른 바이오리액터는 전자, 수소, 포도당, 산소, 탄수화물, 글루코오스, 셀룰로오스, 지질, 아미노산, 녹말, 설탕, 전분, ATP, RuBP, GP, PGA, G3P, 3탄당, 5탄당, 자당, 옥살로 아세트산, 말산염 또는 탄화수소 화합물을 포함하는 광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하는 데 이용할 수 있다.

[0057] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 광합성 생산물 혹은 2차 가공물질을 생산하기 위한 바이오리액터 제조 방법에 대해 설명하기 위한 흐름도이다.

[0058] 도 6에 도시되어 있는 바와 같이, 본 발명의 바이오리액터 제조 방법은, 먼저 에탄올에 녹색식물을 담근 후에, 이를 짠 용액을 적어도 두 번 이상 원심분리하여 세포벽과 전세포를 제거하는 과정을 거쳐 광합성 단백질 용액

을 추출한다(S101).

[0059] 상기 광합성 단백질이 고정화되는 지지체의 표면에 천연 고분자, 합성 고분자, 전도성 고분자, 고분자 복합물질, 나노구조 물질, 마이크로구조 물질 또는 이들의 조합을 포함하는 인공물질층을 형성한다(S102).

[0060] 상기 인공물질층이 형성된 지지체를 증류수로 세척한 후 건조 시킨 후(S103), 상기 건조 시킨 인공물질층이 형성된 지지체를 상기 추출한 광합성 단백질 용액에 담가 광합성 단백질을 상기 지지체의 인공물질층 상부에 흡착시킨다(S104).

[0061] 그 후, 상기 합성 단백질이 흡착된 지지체 표면을 증류수로 세척한 후 건조 시킨다(S105).

[0062] 상기 S102 내지 S105 단계를 반복 수행함으로써, 지지체 표면에 상기 인공물질과 광합성 단백질을 복수 층으로 형성하고(S106), 이를 사용하여 광을 이용하여 광합성 생산물을 생성하는 바이오리액터를 구성한다(107).

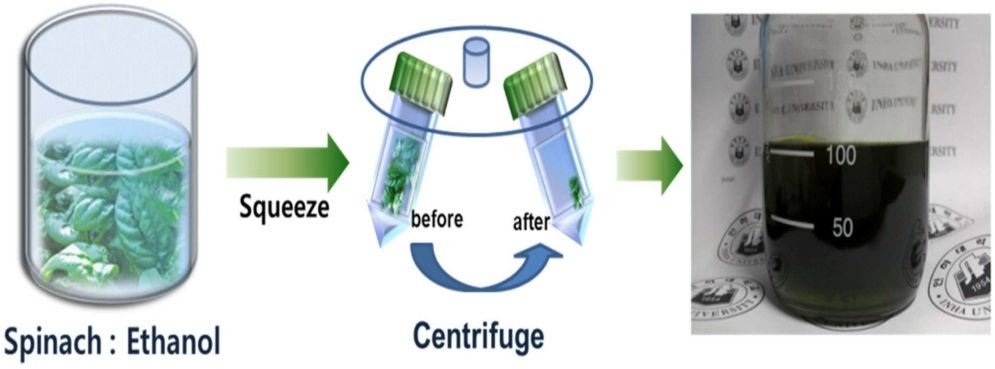
[0063] 이상으로 본 발명은 첨부된 도면에 도시된 실시예를 참조하여 설명되었으나, 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형과 균등한 타 실시예가 가능하다는 것을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 기술적 보호범위는 아래의 특허청구범위에 의해서 정하여져야 할 것이다.

부호의 설명

[0064] 10 : 회분형 바이오리액터 20 : 플러그 흐름형 바이오리액터

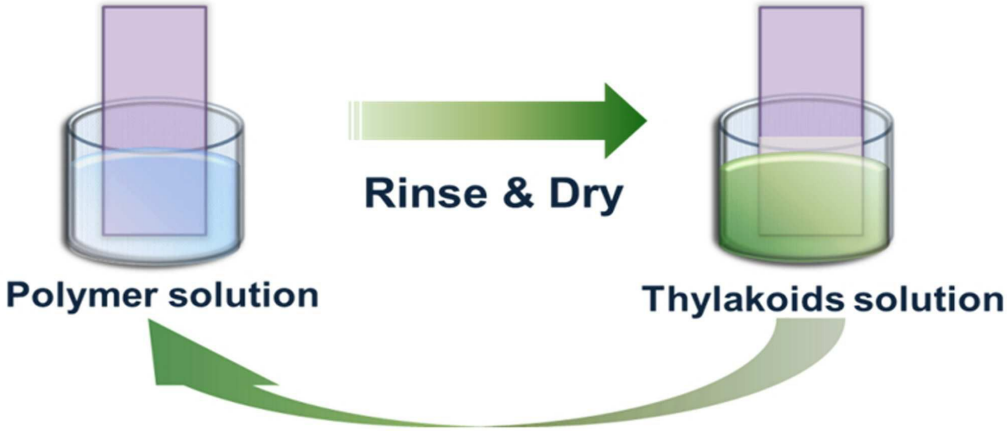
도면

도면1



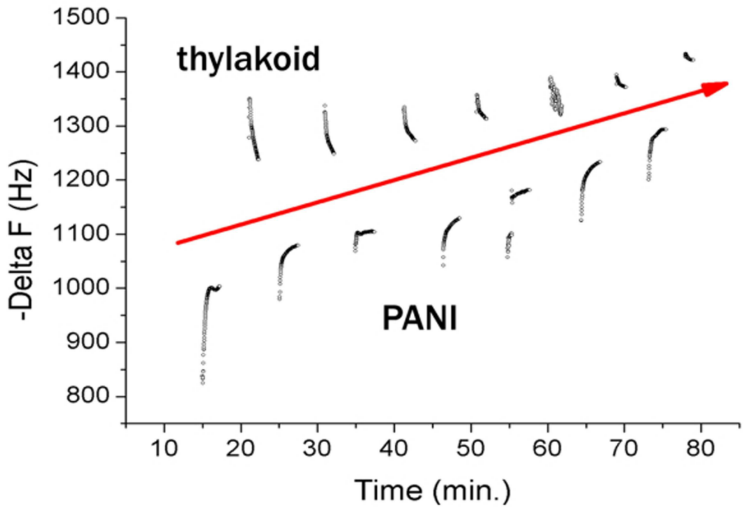
<광합성 단백질 추출 방법>

도면2

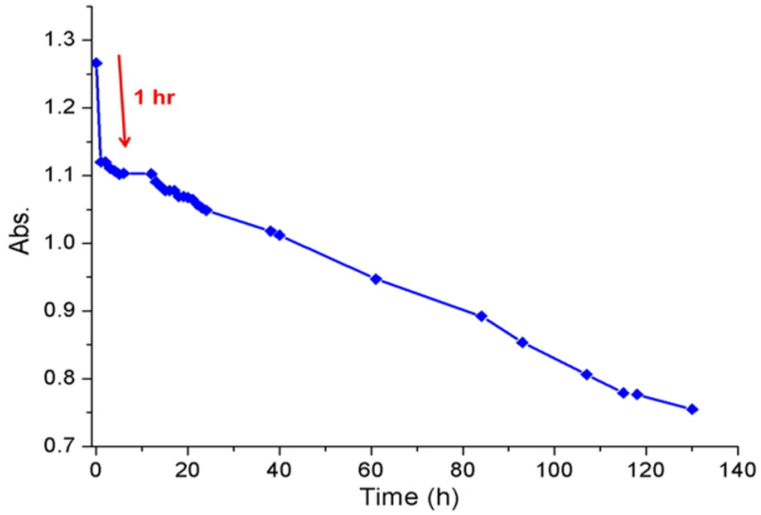


〈층산분자조립법을 이용한 thylakoid membranes 고정화 방법〉

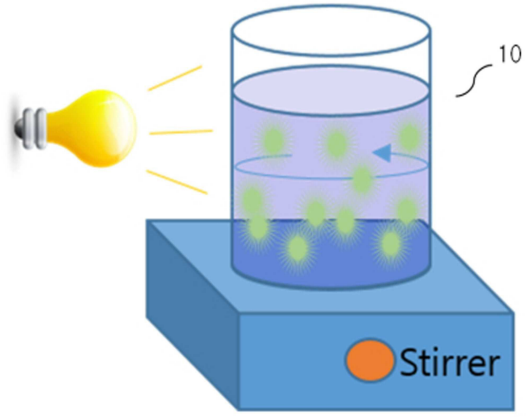
도면3



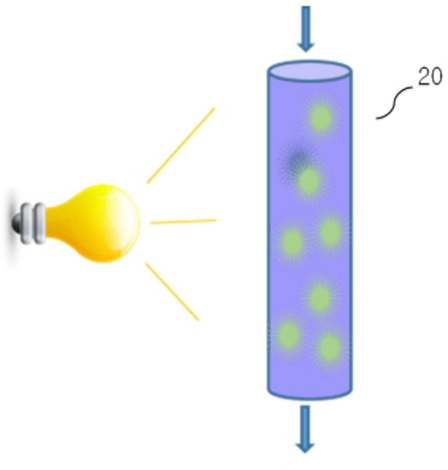
도면4


1 hr
Abs.
Time (h)
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0
20
40
60
80
100
120
140

도면5

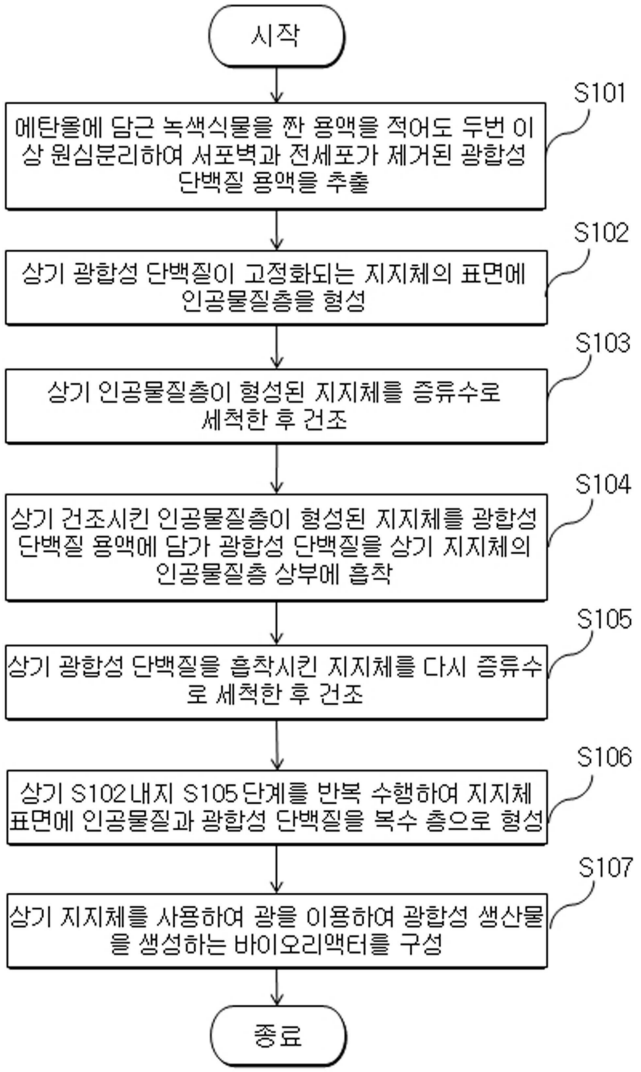

10
Stirrer

(a)


20

(b)

도면6


시작
S101
에탄올에 담근 녹색식물을 짠 용액을 적어도 두번 이상 원심분리하여 서포벽과 전세포가 제거된 광합성 단백질 용액을 추출
S102
상기 광합성 단백질이 고정화되는 지지체의 표면에 인공물질층을 형성
S103
상기 인공물질층이 형성된 지지체를 증류수로 세척한 후 건조
S104
상기 건조시킨 인공물질층이 형성된 지지체를 광합성 단백질 용액에 담가 광합성 단백질을 상기 지지체의 인공물질층 상부에 흡착
S105
상기 광합성 단백질을 흡착시킨 지지체를 다시 증류수로 세척한 후 건조
S106
상기 S102 내지 S105 단계를 반복 수행하여 지지체 표면에 인공물질과 광합성 단백질을 복수 층으로 형성
S107
상기 지지체를 사용하여 광을 이용하여 광합성 생산물을 생성하는 바이오리액터를 구성
종료