



(51) 국제특허분류:

A61L 27/56 (2006.01) A61L 27/44 (2006.01)
A61L 27/14 (2006.01) C12M 3/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2015/007556

(22) 국제출원일: 2015년 7월 21일 (21.07.2015)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2014-0091898 2014년 7월 21일 (21.07.2014) KR

(71) 출원인: 서울대학교 산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 151-015 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 서용석 (SEO, Yongsok); 138-740 서울시 송파구 오금로 35길 17, 44동 1302호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인 필앤온지 (PHIL & ONZI INT'L PATENT & LAW FIRM); 137-872 서울시 서초구 반포대로 63, 8층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

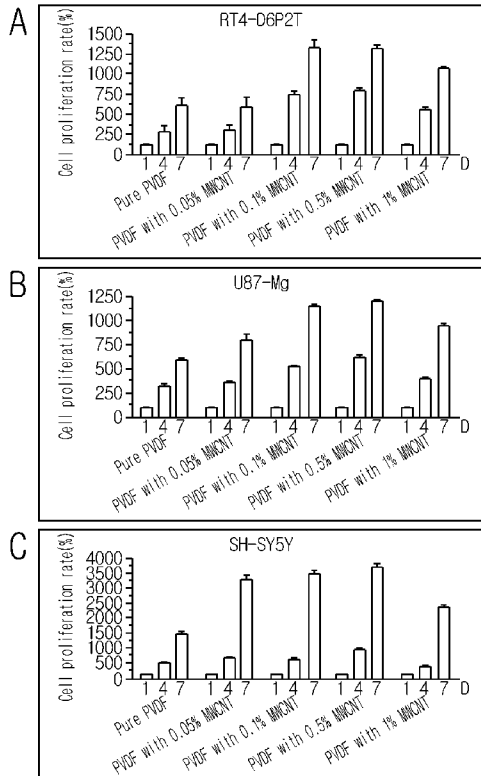
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: POLYVINYLLIDENE FLUORIDE NANOCOMPOSITE SCAFFOLD FOR CELL CULTURE, AND METHOD FOR PRODUCING SAME

(54) 발명의 명칭: 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드 및 그 제조방법



(57) Abstract: The present invention relates to a polyvinylidene fluoride nanocomposite scaffold for cell culture, and a method for producing same, the polyvinylidene fluoride nanocomposite scaffold for cell culture being produced by mixing carbon nanotubes with polyvinylidene fluoride which is a polymer substance showing piezoelectric properties. More specifically, the present invention relates to a method for producing a polyvinylidene fluoride nanocomposite scaffold for cell culture, the method comprising: a mixed solution preparing step for mixing a polyvinylidene fluoride solution and a carbon nanotube suspension; a composite film producing step for producing a composite film by using the mixed solution; a composite film stretching step for stretching the composite film; and a composite film polarizing step for applying an electric field to the composite film, and the present invention also relates to a polyvinylidene fluoride nanocomposite scaffold for cell culture produced by the method, the scaffold having a maximized content of beta-phase showing piezoelectric properties, thereby having not only excellent cell adhesion and proliferation capabilities but also excellent physical performance.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



본 발명은 압전특성을 보이는 고분자 물질인 폴리비닐리덴플루오라이드를 탄소나노튜브와 혼합하여 제조되는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드 및 그의 제조방법에 대한 것으로 보다 상세하게는 폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 탄소나노튜브 현탁액을 혼합하는 혼합용액 준비단계; 상기 혼합용액을 이용하여 복합막을 제조하는 복합막 제조단계; 상기 복합막을 연신하는 복합막 연신단계; 및 상기 복합막에 전기장을 가하는 복합막 분극화 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드의 제조방법 및 이러한 방법으로 제조되어 압전특성을 보이는 베타상의 함유율을 극대화 되어 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어날 뿐 아니라 물리적 성능이 우수한 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드에 관한 것이다.

명세서

발명의 명칭: 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드 및 그 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 압전특성을 보이는 고분자 물질인 폴리비닐리덴플루오라이드를 탄소나노튜브와 혼합하여 제조되는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드 및 그의 제조방법에 대한 것으로 보다 상세하게는 폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 탄소나노튜브 현탁액을 혼합하는 혼합용액 준비단계; 상기 혼합용액을 이용하여 복합막을 제조하는 복합막 제조단계; 상기 복합막을 연신하는 복합막 연신단계; 및 상기 복합막에 전기장을 가하는 복합막 분극화 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드의 제조방법 및 이러한 방법으로 제조되어 압전특성을 보이는 베타상의 함유율을 극대화 되어 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어날 뿐 아니라 물리적 성능이 우수한 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드에 관한 것이다.

- [2] 본 출원은 2014년 7월 21일에 출원된 한국특허출원 제10-2014-0091898호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다.

배경기술

- [3] 스캐폴드(Scaffold)는 조직 세포의 체외 배양과 체내 이식이 가능하도록 만들어진 물리적 지지체 및 점착 기질을 칭하는 것으로, 이러한 스캐폴드는 인체조직 재생을 위한 세포 이식에 사용되고 있으며, 세포와 기질 간의 접촉부분에서 세포의 점착 및 이에 수반되는 상피세포의 이동과 증식과 관련되어 있어 세포의 대량배양 및 증식에 있어서 그 중요성은 매우 높다. 즉, 생물학적으로 활성을 지니고 있는 대부분의 세포는 체내 혹은 체외의 물질과 접촉 시 생존하기 위하여 반드시 거쳐야 하는 기본단계가 있으며, 그 첫 단계는 세포의 점착이다. 특히, 섬유아세포 및 조직세포의 생존단계를 살펴보면, 세포는 우선적으로 기질에 점착을 하며 점착 후 세포질에서의 세포기관(organelle)의 대사가 활발해지고, 증식 및 양분의 공급을 원활히 하기 위하여 새로운 부위로 이동하게 된다. 따라서, 세포의 증착을 활성화시키는 표면은 세포의 증식을 배가하는데 가장 기본이 되는 수단이다. 이러한 세포의 기질에 대한 점착능은 기질의 성분에 의하여 인위적으로 조절될 수 있다. 스캐폴드는 세포의 재생과 이들이 성장할 때 지지체가 되어주는 담체, 즉 인공기질의 근간이 되는 물질로서, 최근 세포의 대량배양 및 증식용기 혹은 플라스크에 코팅되어 사용된다. 이러한 기질에 대해, 종래의 대한민국 특허출원 제1991-0005802호의 "세포배양용 반투막 겔과 그의 제조방법"은 세포 배양용 반투막 겔과 그의 제조

방법에 관한 것으로 매트릭스로 제조된 세포배양용 반투막젤을 개시하고 있으며, 대한민국 특허등록 제10-0783228호의 "세포배양용 폴리비닐알코올-콜라겐 하이드로젤 스캐폴드 및 그 제조방법은 폴리비닐알코올(Polyvinyl alcohol)과 콜라겐(Collagen)을 일정비율로 블렌드(blend)하여 하이드로젤화하고 방사선을 조사하여 고형화 시킨 것으로서 제조된 세포배양용 스캐폴드는 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어나면서도, 젤강도, 팽윤도 및 연신율과 같은 스캐폴드의 물리적 성능 또한 우수하여, 세포배양용기의 내벽에 용이하게 코팅될 수 있다고 보고하고 있으나, 방사선조사에 의하여 혼합가교체를 제조함으로써 세포배양시 방사선조사에 따른 세포변형문제는 고려하지 않고 있다.

- [4] 본 발명자 등은 상기한 종래의 문제점을 해결하여 세포가 용이하게 점착할 수 있고, 물리적 특성이 우수하여 세포의 대량배양에 적합하고, 정제 및 멸균 공정이 필요하지 않아 제조가 용이한 새로운 세포배양용 스캐폴드 및 그 제조방법을 발명하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 따라서, 본 발명의 목적은 세포의 대량배양 및 증식이 가능하도록 세포가 용이하게 점착할 수 있고, 지지면의 물리적 특성이 우수한 세포배양용 스캐폴드를 제공하기 위한 것이다. 본 발명의 다른 목적은 상기의 특성을 갖는 스캐폴드를 정제 및 멸균 공정을 요하지 않으면서 보다 용이하게 제조할 수 있는 방법을 제공하기 위한 것이다. 상기한 본 발명의 목적은 압전특성을 보이는 폴리비닐리덴플루오라이드에 탄소나노튜브를 분산시킨 후 나노복합체를 제조하고 이를 연신단계와 분극단계를 거쳐서 압전특성을 보이는 베타상의 함유율을 극대화 되어 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어날 뿐 아니라 물리적 성능이 우수한 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드를 제조하고자 하였다.

과제 해결 수단

- [6] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 스캐폴드는 주성분으로 폴리비닐리덴플루오라이드(Polyvinylidene fluoride)를 용매에 녹이고 그 용액을 표면에 관능기를 부착시킨 탄소나노튜브를 분산시킨 용액과 혼합하여 호모게나이저로 균일하게 분산시킨 후 전기방사 공정을 이용하여 나노화이버를 방사하여 연신공정을 일차적으로 거친 후 나노화이버로 이루어진 막을 얻고 이 막에 연신과 폴링을 적용하여 막의 압전특성을 극대화 시킴으로써 얻어지는 막을 스캐폴드로 사용하거나 용액을 직접 평면 위에 도포한 후 생성된 막을 연신하거나 분극화시켜 압전특성을 보이는 베타상 함유량을 극대화 시킨 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드를 제조하였다.

- [7] 본 발명 일 구현예에 따르면, 상기 폴리비닐리덴플루오라이드 내에 분산된 탄소나노튜브는 2중량% 미만으로 함유함을 특징으로 한다. 상기 탄소나노튜브함량이 2중량%를 넘을 경우 나노복합체의 압전특성은 오히려 감소하는 것으로 나타났으며 이렇게 되면 세포의 증식이 감소하게 되고 더욱이 연신 시에 나노복합체가 부분적으로 파단될 수가 있기 때문에 물리적 물성이 바람직하지 못하게 된다. 본 발명의 스캐폴드용 나노복합체 제조시 중요한 인자는 폴리비닐리덴플루오라이드의 압전특성을 나타내기 위한 분자 내의 분극들이 일정한 방향으로 배향되는 것인데 이는 탄소 나노튜브가 0.5~1 중량% 정도 함유되었을 때 가장 큰 분극을 이룰 수 있으며 가장 좋은 압전 특성을 보이고 또 이때 가장 많은 세포증식을 이루게 된다. 상기와 같이 구성되는 본 발명의 세포배양용 스캐폴드는 폴리비닐리덴플루오라이드로 일반적인 불소함유 고분자들과는 달리 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어나며, 또한 탄소나노튜브가 함유됨으로써 나노복합체의 강도와 압전특성을 증가시키게 되어 스캐폴드로서의 물리적 성능이 보완되었으며, 세포배양용기의 내벽에 용이하게 코팅될 수 있다.

발명의 효과

- [8] 본 발명에 따라 제조된 탄소나노튜브 함유 폴리비닐리덴플루오라이드는 압전특성을 보이는 베타상의 함유율이 극대화되어 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어날 뿐 아니라 물리적 성능이 우수하여 세포배양용 스캐폴드로 활용성이 매우 뛰어나다.
- [9] 또한, 탄소나노튜브가 함유됨으로써 나노복합체의 강도와 압전특성을 증가시키게 되어 스캐폴드로서의 물리적 성능이 보완되었으며, 세포배양용기의 내벽에 용이하게 코팅될 수 있다.
- [10] 본 발명에 따른 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체는 세포활성을 촉진시키고 셀의 접착을 좋게 하므로 셀 및 세포의 배양용 스캐폴드, 배양에세이, 배양관, 신경접합관 등의 바이오재료로써 활용이 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [11] 도 1은 본 발명에 사용한 전기방사장치의 모식도이다.
- [12] 도 2는 본 발명의 일 실시 예인 전기방사법에 의한 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 시료내 결정상 중 베타상 함유량의 변화를 탄소나노튜브 함유량에 대하여 각 공정단계별 변화를 나타낸 그래프이다.
- [13] 도 3은 본 발명의 일 실시 예인 용액캐스팅법에 의한 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 시료내 결정상 중에서 베타상 함유량의 변화를 탄소나노튜브 함유량에 대하여 나타낸 그래프이다.
- [14] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조한 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체를 셀 배양 스캐폴드로 적용하였을 때 결과를 나타낸 것이다.
- [15] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 셀 파종 후 7일 뒤의 면역형광현미경 결과를

나타낸 것으로, 세포질 핵의 F-actin 으로서 각각 (A)RT4-D6P2T, (B)U87-MG, (C)SH-SY5Y 셀 이고, (a)는 순수 폴리비닐리덴플루오라이드 스캐폴드이며 (b)는 0.05%의 탄소나노튜브가 함유된 스캐폴드 (c)는 0.5%의 탄소나노튜브가 함유된 막으로서 셀 파종 후 7일 뒤의 형태이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [16] 이하 본 발명의 일 구현 예에 따른 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드 및 그 제조방법에 대하여 설명한다.
- [17] 본 발명의 일 측면에 따른 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드의 제조방법은 (i) 폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 탄소나노튜브 현탁액을 혼합하는 혼합용액 준비단계; (ii) 상기 혼합용액을 이용하여 복합막을 제조하는 복합막 제조단계; (iii) 상기 복합막을 연신하는 복합막 연신단계; 및 (iv) 상기 복합막에 전기장을 가하는 복합막 분극화 단계를 포함한다.
- [18] 상기 복합막 내에 분산된 탄소나노튜브의 함량은 폴리비닐리덴플루오라이드 대비 0.5 내지 1 중량%인 것이 바람직하다.
- [19] 상기 복합막 제조단계는 혼합용액을 전기방사하여 복합막을 제조하거나 또는 혼합용액을 용액캐스팅하여 복합막을 제조할 수 있다.
- [20] 상기 탄소나노튜브는 현탁액을 제조하기 이전에 황산과 질산의 혼합산을 이용하여 기능화하는 단계를 거치는 것이 바람직하다.
- [21]
- [22] 본 발명의 일 측면에 따른 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드는 상기의 방법에 의하여 제조되어 복합막 내에 분산된 탄소나노튜브의 함량이 폴리비닐리덴플루오라이드 대비 0.5 내지 1 중량%인 것을 특징으로 한다.
- [23] 또한, 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스캐폴드는 폴리비닐리덴플루오라이드의 베타상 조성이 80% 이상으로 압전특성을 보이는 베타상의 함유율이 극대화되어 세포의 증착 및 증식능력이 뛰어날 뿐 아니라 물리적 성능이 우수하여 세포배양용 스캐폴드로 활용성이 매우 뛰어나다.
- [24] 또한, 탄소나노튜브가 함유됨으로써 나노복합체의 강도와 압전특성을 증가시키게 되어 스캐폴드로서의 물리적 성능이 보완되었으며, 세포배양용기의 내벽에 용이하게 코팅될 수 있다.
- [25] 본 발명에 따른 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체는 세포활성을 촉진시키고 셀의 접착을 좋게 하므로 셀 및 세포의 배양용 스캐폴드, 배양에세이, 배양관, 신경접합관 등의 바이오재료로써 활용이 가능하다.

발명의 실시를 위한 형태

- [26] 폴리비닐리덴플루오라이드는 반결정성 고분자로서 분자 구조는 비닐리덴플루오라이드의 단위체가 선형적으로 결합된 $-(CH_2CF_2)_n-$ 의 형태이다. 플루오르의 전기음성도(3.98)는 수소(2.20)에 비해 매우 높은 값을 가지며,

때문에 분자 내의 전자들은 플루오르가 위치한 방향에 편중되는 경향을 보이고 곧 사슬에 수직한 방향으로의 쌍극자모멘트를 생성한다.

폴리비닐리덴플루오라이드는 다섯가지 형태의 결정을 갖고 있으며 그 중 가장 일반적인 형태는 알파상으로서, TGTG (T = trans, G+ = gauche +, G- = gauche -)의 단사정계 단위셀을 갖는다. 분극 및 압전성의 특성을 보이는 것은 TTTT 형태의 베타상이고 이는 사방정계의 단위셀을 갖는다. 감마상 역시 사방정계 결정구조에 해당하지만 TTTGTTTG 배열 구조를 보이며, 다른 델타-와 입실론상의 경우에는 알파, 베타상의 유사 형태에 해당한다. 알파와 베타상이 가장 일반적 폴리비닐리덴플루오라이드 상에 해당한다. 알파상의 단위셀은 TGTG 배열을 갖는 두 사슬이 역 평행하게 배치되어 있기에 전체 쌍극자모멘트는 0의 값을 갖게 된다. 따라서 알파상은 비 압전성, 을 보이는 반면 베타상 (TTTT) 에 존재하는 모든 쌍극자는 사슬에 수직한 같은 방향의 모멘트를 압전성을 보이게 된다.

[27] 모든 트랜스-폴리비닐리덴플루오라이드에서는 이웃하는 플루오르 원자 간에 반발력이 존재하는데, 이는 플루오르 원자의 직경(0.270nm)이 트랜스 탄소 사슬에 의해 생기는 공간(0.256nm)에 비해 크기 때문에 발생한다. 이러한 반발력을 제거하기 위해 CF₂그룹은 대부분 알파상 혹은 감마상의 형태를 가지며상대적으로 베타상의 조성 비율이 줄어든다. 베타상의 조성을 높이는 가장 일반적인 방법은 연신, 그리고 분극화다. 베타상 함량을 증가시키기 위한 방법 중 하나로 무기 물질(세라믹, 금속, 자기입자, 나노클레이) 혹은 유기 물질을 첨가재로서 사용하는 방법이 있다.이러한 방식으로 복합재료를 형성하면 압전, 초전율이 크게 증가하는 경향을 보이며, 이는 폴리비닐리덴플루오라이드와 첨가물 사이의 어떠한 상호작용에 의해 발생하는 효과이다.

[28] 고분자 용액의 전기방사 공정은 직경이 수 마이크로미터에 이르는 초 미세 섬유를 제작하기 위한 효과적인 방법으로서 나노화이버 제조에 많이 사용되고 있다. 본 발명에서는 혼합용액을 직접 도포한 후 생성된 막을 연신하거나 분극화시켜서 압전특성을 보이는 베타상 함유량을 극대화 시키거나, 전기방사공정을 이용하여 탄소나노튜브를 함유하는 폴리비닐리덴플루오라이드 나노화이버로 이루어진 막을 제조하여 일차적으로 전기방사공정의 연신과정 및 탄소나노튜브의 표면기능기와 폴리비닐리덴플루오라이드의 불소 원자들과의 상호작용으로 인한 CF₂ 그룹의 배향화로 일차적으로 베타상이 함유된 막을 제조한 후 이 막을 연신과 분극화 (폴링) 공정을 거침으로써 결정상이 거의 베타상으로 존재하게되어 압전특성이 향상된 막을 제조하고, 이 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체를 세포배양 스캐폴드로 사용함으로써 세포배양활성을 뚜렷이 향상시킬 수 있다. 본 발명에서 제조된 스캐폴드는 다양한 형태로 변형 가능하며 여러 세포증식기에 사용될 수 있다.

[29]

[30] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 본 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[31]

[32] 실시예 1: 전기방사법

[33] 반결정성의 폴리비닐리덴플루오라이드(평균 분자량은 5.210^5)를 습기 및 불순물 제거를 위해 80°C 진공 하에서 24시간 동안 건조시키고, 디메틸아세트마이드와 아세톤은 50:50의 비율로 혼합한 후 건조시킨 폴리비닐리덴플루오라이드를 적정 비율로 배합된 용매에 첨가하고 균질의 용액이 형성될 때까지 60°C에서 교반시킨다. 이때 폴리비닐리덴플루오라이드의 농도는 15중량%로 고정하였는데, 미세하고 균일한 섬유를 얻기 위한 적정 점도에 해당하는 값이다. 다층탄소나노튜브가 폴리비닐리덴플루오라이드 용액에 성공적으로 분산되도록 하기 위해서 탄소나노튜브를 표면산처리하여 기능화를 시킨다. 황산/질산(3:1 부피비) 용액에 넣고 48시간 동안 저온 뒤 2시간 동안 강한 초음파를 가한다. 그 뒤 0.4 μ m 폴리비닐리덴플루오라이드 거름막에 다층 탄소나노튜브를 걸러내고 순수한 증류수를 사용하여 pH 값이 7에 도달할 때까지 세척한다. 세척이 완료된 다층 탄소나노튜브는 80°C 진공에서 반나절 건조시킨다. 작용기가 부착된 다층 탄소나노튜브는 초음파 수조를 이용, 디메틸아세트마이드 용매에 30분간 분산시킨다. 폴리비닐리덴플루오라이드는 정량하여 아세톤에 용해시키고 자기 교반기를 이용하여 30분간 젖는다. 이후 아세톤/폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 다층탄소나노튜브/디메틸아세트마이드 현탁액을 혼합하고 40°C에서 교반한다. 이후 이 용액을 10 CC 주사기에 장전한 후 전기방사공정을 이용하여 나노화이버로 이루어진 나노복합체를 얻게 된다. 전기방사공정을 적용함으로써 전기방사공정의 연신작용에 의하여 일차적으로 폴리비닐리덴플루오라이드의 알파상들을 베타상으로 변환시킨다. 이때 첨가된 탄소나노튜브는 그 표면극성기로 인하여 알파상이 베타상으로 전환되는 것을 유발하고 도와주게 된다. 푸리에 변환 적외선 스펙트럼을 877cm⁻¹에서 관찰되는 값(시편의 두께에 비례)을 기준으로 하여 비교 분석하였을 때, 840cm⁻¹ 및 1270cm⁻¹에서 다층 탄소나노튜브의 함량에 따라 증가하는 모습을 보인다. 광각 X선 분석에 의하면 다층 탄소나노튜브 함량이 증가할 수록 2 θ = 18.6, 20.2 도에 해당하는 알파상 조성이 감소하고, 20.9°의 베타상 조성이 크게 증가하는 것이 관측된다. 이것은 다층 탄소나노튜브의 기핵 작용에 의한 것으로서, 다층 탄소나노튜브의 표면에 카르복실 그룹이 붙어 폴리비닐리덴플루오라이드 용액에 분산되었을 때 카르복실 그룹과 CF₂간에 정전기적 상호작용이 발생한다. 이 상호작용은 더욱 높은 결정화도의 형성에 기여할 뿐 아니라, 베타상의 TTTT 배열이 알파상 조성의 TGTG 배열에 비해 더욱 안정적인 에너지 상태를 보이기 때문에 알파에서 베타상으로의 상 변환을 더욱 촉진시키는 기능을 한다. 실제 다층

탄소나노튜브를 0.05중량% 첨가하였을 때 결정 구조에 큰 변화가 생겨나는 것이 확인된다. 다층 탄소나노튜브가 증가할수록 폴리비닐리덴플루오라이드와의 접촉 면적이 증가하며, 이로부터 더욱 많은 양의 베타상을 얻을 수 있다. 이러한 현상은 다층 탄소나노튜브의 농도가 1중량%에 이를 때까지 지속된다. 다층 탄소나노튜브와 폴리비닐리덴플루오라이드 간의 상호작용이 강할수록 다층 탄소나노튜브가 균일하게 분산되어 용액의 점도는 증가한다. 따라서 다층 탄소나노튜브가 임계점 이상의 농도에 이르면 전기 방사 공정에 의한 정전기력 이상으로 점탄성력이 강해지고 베타상 조성의 변화 폭이 미미해진다. 다층탄소나노튜브가 0.5% 이상이 되면 오히려 미미하게나마 베타상이 감소되는 것이 발견되었으며 이는 계면에서의 전하축적으로 인하여 탈분극화 현상이 일어나기 때문이다. 방사공정 이후 나노화이버로 이루어진 막의 연신 혹은 분극화 공정의 조합이 베타상 조성에 크게 영향을 미치며, 해당 공정을 거쳤을 때 푸리에 변환 적외선 분광기 및 광각 X선 회절 분석기를 이용한 분석에서 알파상의 조성이 감소하는 동시에 베타상의 조성이 늘어나는 것이 관측된다. 연신 공정은 기계적인 외력을 가하여 결정 내에서의 고분자 사슬이 일렬로 배열되도록 유도하고, 결정상 중 가장 긴 형태를 갖는 베타상의 배좌가 형성되도록 한다. 그리고 분극화 공정은 폴리비닐리덴플루오라이드 섬유에 수직인 방향으로 전기장을 형성하여 그 방향으로의 쌍극자 모멘트를 이끌어내고 연신 공정과 마찬가지로 베타상 조성을 증가시킨다. 먼저, 다양한 다층 탄소나노튜브 함량에서 연신 및 분극화 공정을 가했을 때의 베타상 조성 변화가 도2에 나타나 있다. 다층 탄소나노튜브를 함유하는 시편은 91% 이상의 베타상 조성을 갖는 반면 그렇지 않은 시편은 약 80% 근처의 조성에 그치는데, 다층 탄소나노튜브와 폴리비닐리덴플루오라이드 간의 접합이 연신 공정을 더욱 효율적으로 만들기 때문이다. 분극화 공정은 연신 공정에 비해 상 변이 효과가 크지는 않지만 마찬가지로 다층 탄소나노튜브에 의한 영향이 존재한다. 폴리비닐리덴플루오라이드 시편의 양면에 전하가 축적되면 전류가 투과되지 못하고 분극화 되며 결과적으로 불균일한 쌍극자를 형성하게 된다. 그러나 높은 전기 용량을 갖는 다층탄소나노튜브가 분산되어 알파상 결정의 표면에 접합되어 있으면 더욱 효율적으로 쌍극자 모멘트의 방향 유도가 이루어지고 베타상으로의 상 변환이 촉진된다.

[34]

[35] 세포배양실험 1

[36] 바닥에 상기 전기방사법으로 제조된 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체를 깔고 두 종류의 세포들 (RT4-D6P2T (쥐의 Schwannoma cell line), U87-MG (사람의 glioblastoma cell line)을 부피비로 10% 페탈보빈세럼과 1%의 항생/항진균용액을 함유하는 Dulbecco® Modified Eagle® medium (DMEM)내에서 37°C의 온도와 5% CO₂ 분위기에서 배양시켰다. 셀들은 배양지에서 0.25% 트립신/에틸렌다이아민테트라액시드용액으로 분리시켰으며

나노복합체 위에 직접 배양시켰다 (40000 cells/cm²). 셀의 접착과 성장은 MTT (Methylthiazolyldiphenyl -tetrazolium bromide) 시금평가방법으로 측정하였다. 셀의 형태학은 면역형광검사법으로 관찰하였다.

- [37] 셀이 과종된 뒤 12시간 후에 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 위에 접합된 비율을 살펴보았다. 각 셀에 대하여 최적의 접합율을 보이는 탄소나노튜브 농도가 존재하는데 이는 전술한 압전효과와 일치하는 결과를 보인다. 전반적으로 압전현상이 높은 복합체일수록 셀 수는 증가하였으며 탄소나노튜브를 함유하는 나노복합체의 경우 순수 폴리비닐리덴플루오라이드보다 20% 이상 증가된 셀 접착율을 보이고 있다. 셀 접착율의 최대치를 보이는 농도는 조금씩 틀리지만 전반적으로 압전특성의 변화와 상관관계를 보이는 것을 알 수 있다(도 4). 셀들의 증가율은 시간이 지날수록 늘어나는 것을 볼 수 있으며 RT4-D6P2T 셀의 경우 배양 1주일 된 스캐폴드의 경우 0.5% 탄소나노튜브를 함유한 나노복합체는 순수 폴리비닐리덴플루오라이드 보다 배 이상으로 세포가 성장하는 것을 볼 수 있다(도 4). U87-MG 셀은 탄소나노튜브가 증가함에 따라 서서히 증가하였으며 1%의 탄소나노튜브가 함유된 경우 가장 높은 성장율을 나타내었다. 일주일 후의 셀의 성장형태를 면역형광현미경으로 직접 관찰한 결과가 도5에 도시되어 있다. 탄소나노튜브가 더 많이 함유될수록 (0.5%)에서 셀이 가장 많이 자랐음을 직접 볼 수 있다. 이상의 결과로 볼 때 압전특성이 좋은 나노복합체 일수록(탄소나노튜브함유) 표면에 극화된 CF₂ 그룹이 많고 셀들이 이들 극성에 자극을 받아서 더 성장한 것으로 보인다.

[38]

[39] 실시예 2: 용액캐스팅법

- [40] 반결정성의 폴리비닐리덴플루오라이드(평균 분자량은 5.210⁵)를 습기 및 불순물 제거를 위해 80°C 진공 하에서 24시간 동안 건조시키고, 디메틸아세트마이드와 아세톤은 50:50의 비율로 혼합한 후 건조시킨 폴리비닐리덴플루오라이드를 적정 비율로 배합된 용매에 첨가하고 균질의 용액이 형성될 때까지 60°C에서 교반시킨다. 이때 폴리비닐리덴플루오라이드의 농도는 15중량%로 고정하였는데, 미세하고 균일한 섬유를 얻기 위한 적정 점도에 해당하는 값이다. 다층탄소나노튜브가 폴리비닐리덴플루오라이드 용액에 성공적으로 분산되도록 하기 위해서 탄소나노튜브를 표면을 산처리하여 기능화를 시킨다. 황산/질산(3:1 부피비) 용액에 넣고 48시간 동안 저은 뒤 2시간 동안 강한 초음파를 가한다. 그 뒤 0.4μm 폴리비닐리덴플루오라이드 거름막에 다층 탄소나노튜브를 걸러내고 순수한 증류수를 사용하여 pH 값이 7에 도달할 때까지 세척한다. 세척이 완료된 다층 탄소나노튜브는 80°C 진공에서 반나절 건조시킨다. 작용기가 부착된 다층 탄소나노튜브는 초음파 수조를 이용, 디메틸아세트마이드 용매에 30분간 분산시킨다. 폴리비닐리덴플루오라이드는 정량하여 아세톤에 용해시키고 자기 교반기를 이용하여 30분간 젖는다. 이후

아세톤/폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 다층탄소나노튜브/디메틸아세트마이드 현탁액을 혼합하고 40°C에서 교반한다. 이후 혼합용액을 페트리디쉬위에 도포한 뒤 대기중에서 24시간 방치하여 용매가 완전증발할 때까지 기다린 후 건조된 막을 이축연신기로 연신하고 이를 다시 분극화공정을 거친다. 실시예 1과 같이 푸리에변환적외선 분광기와 광각X선 분광기를 이용하여 베타상의 함량을 측정하였다(도 3). 특이한 것은 전술한 전기방사로 제조된 막과 달리 탄소나노튜브가 0.5% 함유되었을 때 베타상이 최고치에 이르며 이후는 탈분극화현상이 일어나서 오히려 감소한다는 것이다.

[41]

[42] 세포배양실험 2

[43] 용기 바닥에 상기 용액캐스팅법으로 제조된 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체를 깔고 SH-SY5Y 셀(사람의 neuroblastoma cell line)을 부피비로 10% 페탈보빈세럼과 1%의 항생/항진균용액을 함유하는 Dulbecco® Modified Eagle® medium (DMEM)내에서 37°C의 온도와 5% CO₂ 분위기에서 배양시켰다. 셀은 배양지에서 0.25% 트립신/에틸렌다이아민테트라옥시드용액으로 분리시켰으며 복합막위에 직접 배양시켰다 (40000 cells/cm²). 셀의 접착과 성장은 MTT(Methylthiazolyldiphenyl -tetrazolium bromide)시금평가방법으로 측정하였다. 셀의 형태학은 면역형광검사법으로 관찰하였다.

[44] 셀이 과중된 뒤 12시간 후에 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 위에 접합된 비율을 살펴보았다. 각 셀에 대하여 최적의 접합율을 보이는 탄소나노튜브 농도가 존재하는데 이는 앞서의 압전효과와 일치하는 결과를 보인다. 실시예 1의 전기방사법에 의한 나노복합체의 경우와 같이 전반적으로 압전현상이 높을 수록 셀 수는 증가하였으며 탄소나노튜브를 함유하는 경우 순수 폴리비닐리덴플루오라이드 보다 20% 이상 증가된 셀 접착율을 보이고 있다. 셀 접착율의 최대치를 보이는 농도는 조금씩 틀리지만 전반적으로 압전특성의 변화와 상관관계를 보이는 것을 알 수 있다. 셀들의 증가율은 시간이 지날수록 늘어나는 것을 볼 수 있으며 배양 1주일 된 스캐폴드의 경우 0.5% 탄소나노튜브를 함유한 경우는 순수 폴리비닐리덴플루오라이드막보다 배 이상으로 세포가 성장하는 것을 볼 수 있다. 베타상이 가장 많은 탄소나노튜브 농도에서(0.5%) 셀이 가장 많이 자랐음을 직접 볼 수 있다. 이상의 결과로 볼 때 압전특성이 좋을수록(탄소나노튜브함유) 표면에 극화된 CF₂ 그룹이 많고 셀들이 이들 극성에 자극을 받아서 더 성장한 것으로 보인다.

산업상 이용가능성

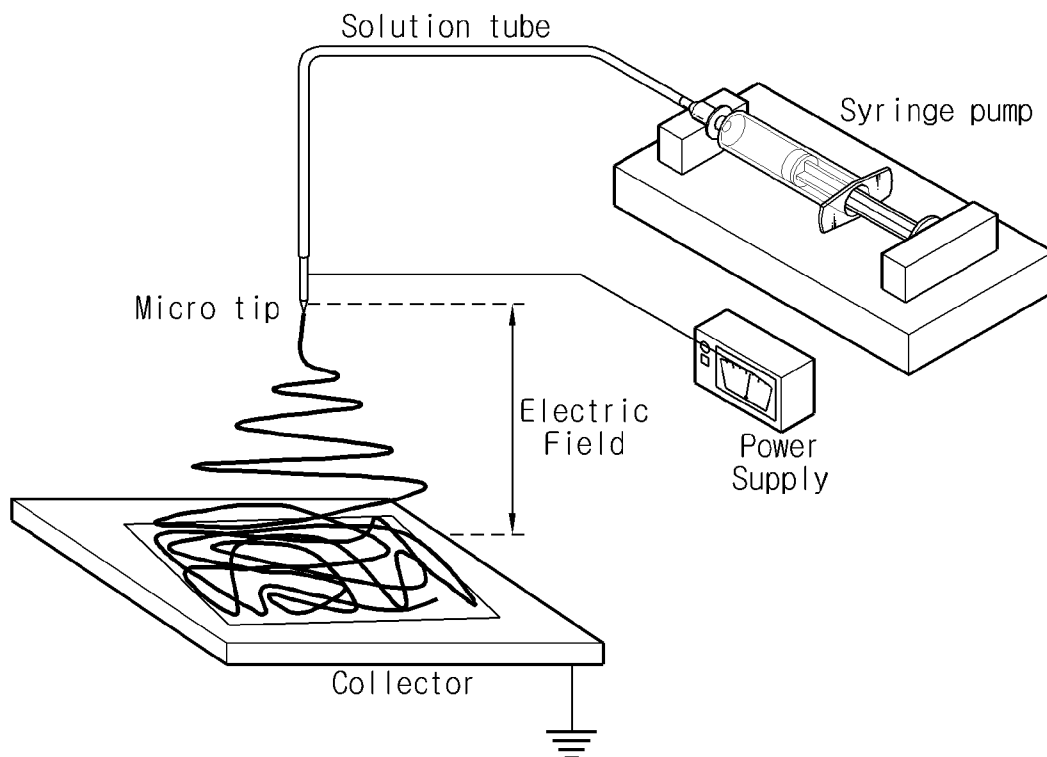
[45] 본 발명에 따른 높은 압전특성을 보이는 베타상이 대부분인 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체는 세포활성을 촉진시키고 셀의 접착을 좋게 하므로 셀 및 세포의 배양용 스캐폴드, 배양에세이, 배양관, 신경접합관

등의 바이오재료로써 활용이 가능하다.

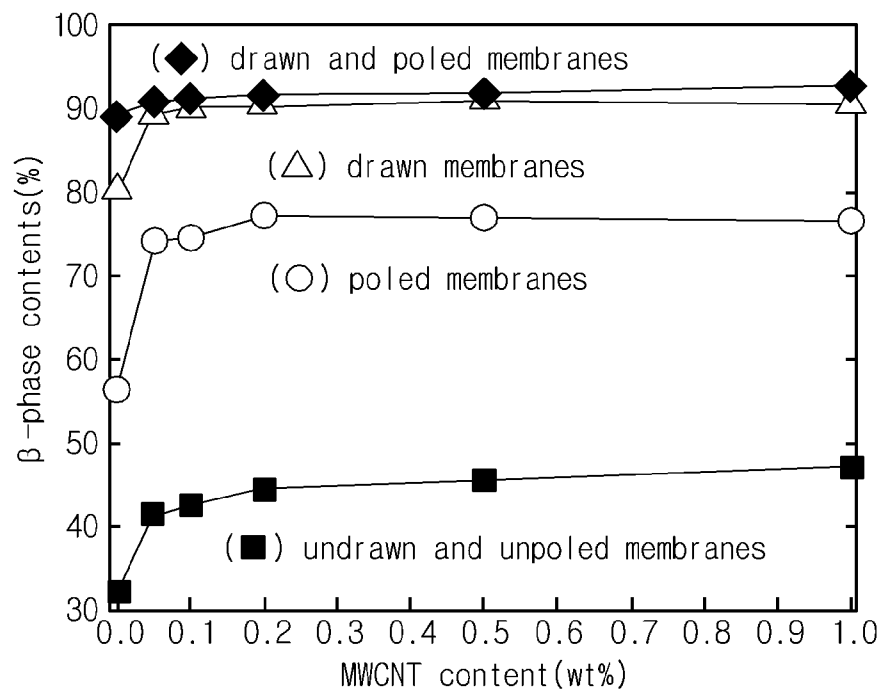
청구범위

- [청구항 1] (i) 폴리비닐리덴플루오라이드 용액과 탄소나노튜브 현탁액을 혼합하는 혼합용액 준비단계;
(ii) 상기 혼합용액을 이용하여 복합막을 제조하는 복합막 제조단계;
(iii) 상기 복합막을 연신하는 복합막 연신단계; 및
(iv) 상기 복합막에 전기장을 가하는 복합막 분극화 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드의 제조방법.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
상기 복합막 내에 분산된 탄소나노튜브의 함량은 폴리비닐리덴플루오라이드 대비 0.5 내지 1 중량%인 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드의 제조방법.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서,
상기 복합막 제조단계는 혼합용액을 전기방사하여 복합막을 제조하는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드의 제조방법.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서,
상기 복합막 제조단계는 혼합용액을 용액캐스팅하여 복합막을 제조하는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드의 제조방법.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서,
상기 탄소나노튜브는 현탁액을 제조하기 이전에 황산과 질산의 혼합산을 이용하여 기능화하는 단계를 거치는 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드의 제조방법.
- [청구항 6] 청구항 1 내지 청구항 5의 어느 한 항의 방법에 의하여 제조되고,
복합막 내에 분산된 탄소나노튜브의 함량이 폴리비닐리덴플루오라이드 대비 0.5 내지 1 중량%인 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드.
- [청구항 7] 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 방법에 의하여 제조되어,
폴리비닐리덴플루오라이드의 베타상 조성이 80% 이상인 것을 특징으로 하는 세포배양용 폴리비닐리덴플루오라이드 나노복합체 스키펴드.
- [청구항 8] 청구항 7의 나노복합체 스키펴드가 표면에 코팅된 것을 특징으로 하는 생체배양용기.

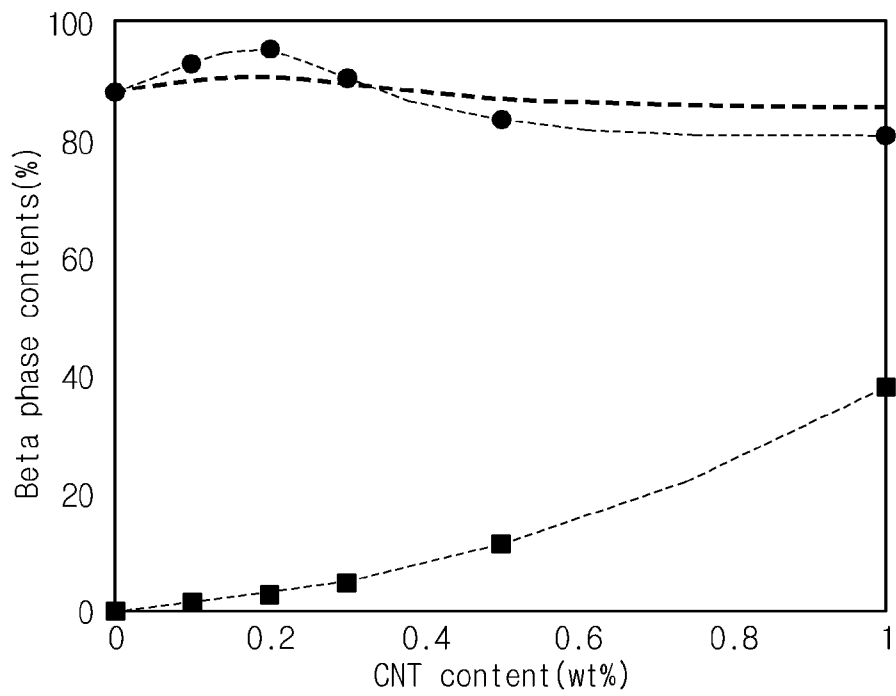
[도1]



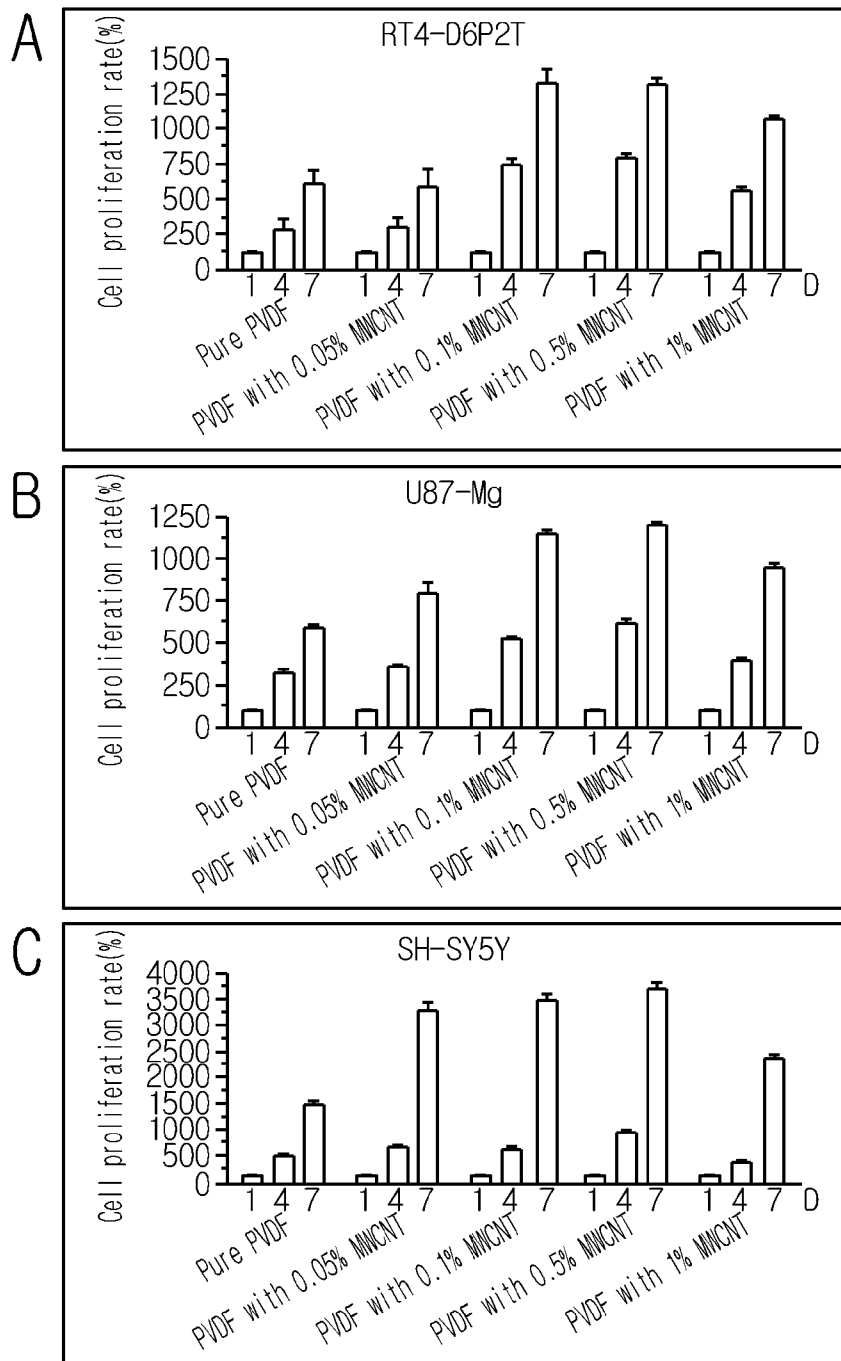
[도2]



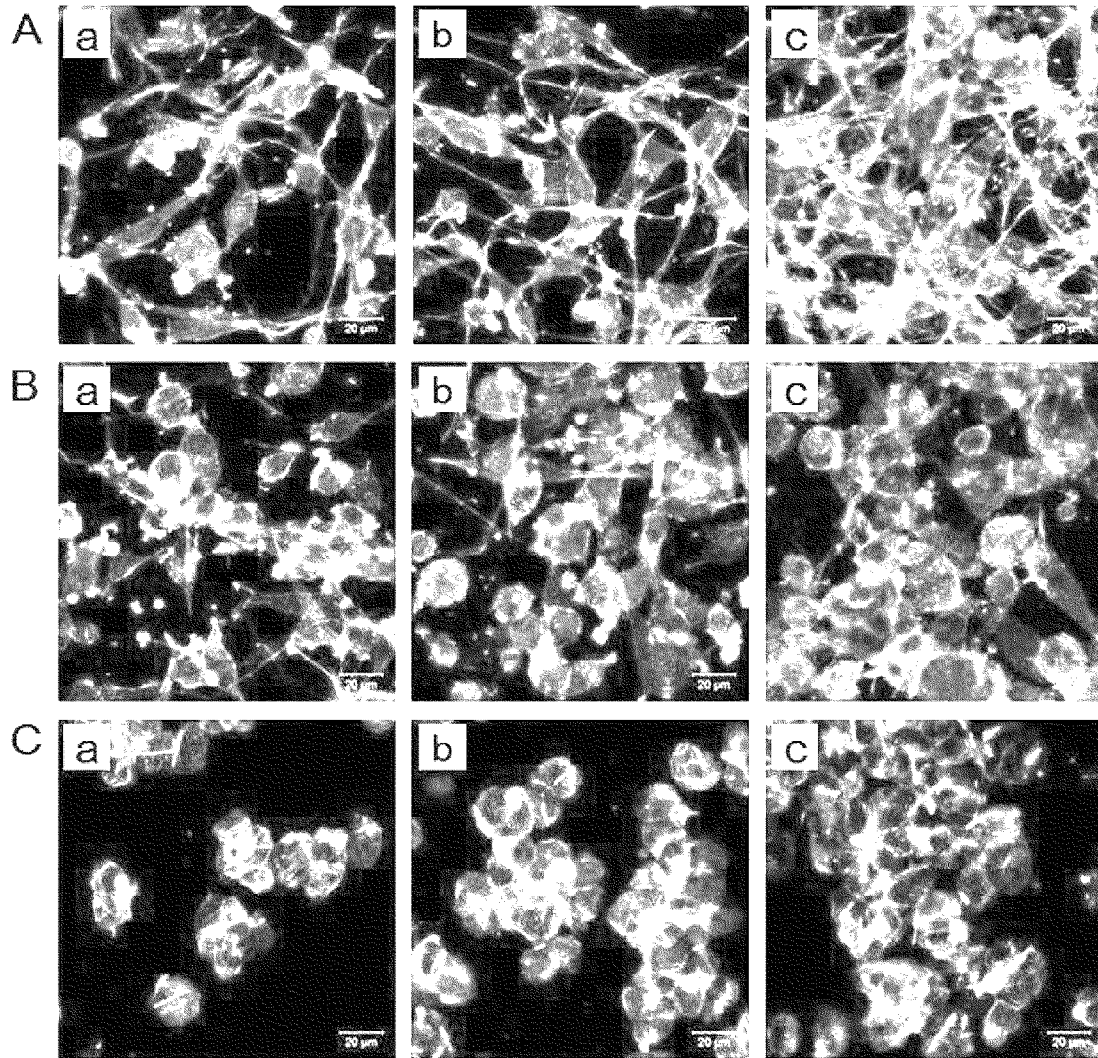
[도3]



[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/007556**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61L 27/56(2006.01)i, A61L 27/14(2006.01)i, A61L 27/44(2006.01)i, C12M 3/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L 27/56; A61L 27/12; A61L 27/14; A61L 27/08; C12N 5/0775; A61L 27/40; A61L 27/44; C12M 3/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: polyvinylidene fluoride, carbon nano tube, scaffold

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUO, H. F. et al. "Piezoelectric PU/PVDF Electrospun Scaffolds for Wound Healing Applications", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 29 March 2012, Vol. 96, pages 29-36, ISSN 0927-7765. See page 30, left column lines 17-36; page 30, right column lines 36-52	1-8
Y	AHN, Y. et al. "Enhanced Piezoelectric Properties of Electrospun Poly(vinylidene fluoride)/Multiwalled Carbon Nanotube Composites Due to High B-Phase Formation in Poly(vinylidene fluoride)", The Journal Of Physical Chemistry, 28 May 2013, Vol. 117, No. 22, pages 11791-11799, ISSN 1932-7447. See abstract; page 11792, left column lines 2-62; page 11792, right column lines 24-47; page 11793, left column lines 1-7; page 11795, right column lines 25-29; page 11796, left column lines 2-17; figure 10	1-8
A	KR 10-2013-0118315 A (TIGENIX, S.A.U. et al.) 29 October 2013 See the entire document.	1-8
A	KR 10-2012-0052116 A (PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) 23 May 2012 See the entire document.	1-8
A	KR 10-1309360 B1 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, DANKOOK UNIVERSITY) 17 September 2013 See the entire document.	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 OCTOBER 2015 (19.10.2015)

Date of mailing of the international search report

21 OCTOBER 2015 (21.10.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/007556

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0118315 A	29/10/2013	EP 2614078 A1 JP 2014-503176 A US 2013-0295672 A1 WO 2012-032112 A1	17/07/2013 13/02/2014 07/11/2013 15/03/2012
KR 10-2012-0052116 A	23/05/2012	NONE	
KR 10-1309360 B1	17/09/2013	KR 10-2013-0009478 A	23/01/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61L 27/56(2006.01)i, A61L 27/14(2006.01)i, A61L 27/44(2006.01)i, C12M 3/00(2006.01)i																				
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61L 27/56; A61L 27/12; A61L 27/14; A61L 27/08; C12N 5/0775; A61L 27/40; A61L 27/44; C12M 3/00 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 폴리비닐리덴플루오라이드, 탄소나노튜브, 스케폴드																				
C. 관련 문헌 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">카테고리*</th> <th style="width: 70%;">인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th style="width: 20%;">관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">Y</td> <td>GUO, H. F. et al. "Piezoelectric PU/PVDF Electrospun Scaffolds for Wound Healing Applications", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012.03.29., Vol. 96, 페이지 29-36, ISSN 0927-7765. 페이지 30, 왼쪽 컬럼 17-36줄; 페이지 30, 오른쪽 컬럼 36-52줄 참조</td> <td style="text-align: center;">1-8</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Y</td> <td>AHN, Y. et al. "Enhanced Piezoelectric Properties of Electrospun Poly(vinylidene fluoride)/Multiwalled Carbon Nanotube Composites Due to High B-Phase Formation in Poly(vinylidene fluoride)", The Journal Of Physical Chemistry, 2013.05.28., Vol. 117, No. 22, 페이지 11791-11799, ISSN 1932-7447. 요약; 페이지 11792, 왼쪽 컬럼 2-62줄; 페이지 11792, 오른쪽 컬럼 24-47줄; 페이지 11793, 왼쪽 컬럼 1-7줄; 페이지 11795, 오른쪽 컬럼 25-29줄; 페이지 11796, 왼쪽 컬럼 2-17줄; 도면 10 참조</td> <td style="text-align: center;">1-8</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>KR 10-2013-0118315 A (타이제닉스, 에스.에이.유. 등) 2013.10.29 전문 참조.</td> <td style="text-align: center;">1-8</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>KR 10-2012-0052116 A (부경대학교 산학협력단) 2012.05.23 전문 참조.</td> <td style="text-align: center;">1-8</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>KR 10-1309360 B1 (단국대학교 산학협력단) 2013.09.17 전문 참조.</td> <td style="text-align: center;">1-8</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	Y	GUO, H. F. et al. "Piezoelectric PU/PVDF Electrospun Scaffolds for Wound Healing Applications", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012.03.29., Vol. 96, 페이지 29-36, ISSN 0927-7765. 페이지 30, 왼쪽 컬럼 17-36줄; 페이지 30, 오른쪽 컬럼 36-52줄 참조	1-8	Y	AHN, Y. et al. "Enhanced Piezoelectric Properties of Electrospun Poly(vinylidene fluoride)/Multiwalled Carbon Nanotube Composites Due to High B-Phase Formation in Poly(vinylidene fluoride)", The Journal Of Physical Chemistry, 2013.05.28., Vol. 117, No. 22, 페이지 11791-11799, ISSN 1932-7447. 요약; 페이지 11792, 왼쪽 컬럼 2-62줄; 페이지 11792, 오른쪽 컬럼 24-47줄; 페이지 11793, 왼쪽 컬럼 1-7줄; 페이지 11795, 오른쪽 컬럼 25-29줄; 페이지 11796, 왼쪽 컬럼 2-17줄; 도면 10 참조	1-8	A	KR 10-2013-0118315 A (타이제닉스, 에스.에이.유. 등) 2013.10.29 전문 참조.	1-8	A	KR 10-2012-0052116 A (부경대학교 산학협력단) 2012.05.23 전문 참조.	1-8	A	KR 10-1309360 B1 (단국대학교 산학협력단) 2013.09.17 전문 참조.	1-8
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항																		
Y	GUO, H. F. et al. "Piezoelectric PU/PVDF Electrospun Scaffolds for Wound Healing Applications", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012.03.29., Vol. 96, 페이지 29-36, ISSN 0927-7765. 페이지 30, 왼쪽 컬럼 17-36줄; 페이지 30, 오른쪽 컬럼 36-52줄 참조	1-8																		
Y	AHN, Y. et al. "Enhanced Piezoelectric Properties of Electrospun Poly(vinylidene fluoride)/Multiwalled Carbon Nanotube Composites Due to High B-Phase Formation in Poly(vinylidene fluoride)", The Journal Of Physical Chemistry, 2013.05.28., Vol. 117, No. 22, 페이지 11791-11799, ISSN 1932-7447. 요약; 페이지 11792, 왼쪽 컬럼 2-62줄; 페이지 11792, 오른쪽 컬럼 24-47줄; 페이지 11793, 왼쪽 컬럼 1-7줄; 페이지 11795, 오른쪽 컬럼 25-29줄; 페이지 11796, 왼쪽 컬럼 2-17줄; 도면 10 참조	1-8																		
A	KR 10-2013-0118315 A (타이제닉스, 에스.에이.유. 등) 2013.10.29 전문 참조.	1-8																		
A	KR 10-2012-0052116 A (부경대학교 산학협력단) 2012.05.23 전문 참조.	1-8																		
A	KR 10-1309360 B1 (단국대학교 산학협력단) 2013.09.17 전문 참조.	1-8																		
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																				
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신구성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																				
국제조사의 실제 완료일 2015년 10월 19일 (19.10.2015)		국제조사보고서 발송일 2015년 10월 21일 (21.10.2015)																		
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140		심사관 한인호 전화번호 +82-42-481-3362 																		

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2015/007556

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0118315 A	2013/10/29	EP 2614078 A1 JP 2014-503176 A US 2013-0295672 A1 WO 2012-032112 A1	2013/07/17 2014/02/13 2013/11/07 2012/03/15
KR 10-2012-0052116 A	2012/05/23	없음	
KR 10-1309360 B1	2013/09/17	KR 10-2013-0009478 A	2013/01/23