



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0106788
(43) 공개일자 2009년10월12일

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0032141

(22) 출원일자 2008년04월07일

심사청구일자 2008년04월07일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 공동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

양성윤

대전 유성구 전민동 엑스포아파트 203동 804호

김영건

충남 홍성군 서부면 거차리 392번지

서주용

대전 중구 문창동 117-51번지 13통 2번

(74) 대리인

유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 35 항

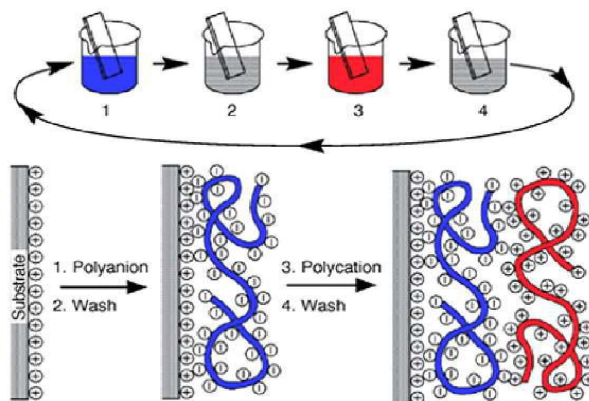
(54) 고분자 전해질 다층막, 생체감응장치 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하는 고분자 전해질 다층막, 기관; 상기 다층막; 상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층 및 상기 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 세포고정용 생체물질들을 포함하는 세포고정층을 포함하는 생체감응장치, 상기 생체감응장치의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 다층막은 젖음성이 뛰어나고, 세포의 비선택적인 흡착을 통제할 수 있으며, 본 발명의 패턴층을 형성하는 패턴링 방법은 원하는 조건에 따라 조절된 거리 및 형태로 다층막 또는 생체감응장치에 결합된 세포들 간의 상호작용을 간단한 방법을 통해 유도할 수 있으므로, 생체감응장치(Biosensor) 뿐만 아니라, 신경세포나 배아세포 발달 등의 연구와 실험 또는 진단용 키트 및 생체조직과 결합된 형태로 사용할 수 있는 의료용이나 질병 치료용 장치 등 다양한 분야에 응용될 수 있으므로, 산업적으로도 그 효과가 매우 크다할 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고,

상기 음이온성 고분자 전해질층은 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이며,

상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막.

청구항 2

제1항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 각각 2층 이상인 다층막.

청구항 3

제2항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어지고, 양이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어지는 다층막.

청구항 4

제1항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층인 최외각층 중 어느 한 층 위에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층을 더욱 포함하는 다층막.

청구항 5

제4항에 있어서,

패턴층은 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝한 것인 다층막.

청구항 6

제4항에 있어서,

아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드인 다층막.

청구항 7

제4항에 있어서,

패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 세포고정용 생체물질들을 더욱 포함하는 다층막.

청구항 8

제7항에 있어서,

패턴층 위에 박막이 추가로 형성된 다층막.

청구항 9

제8항에 있어서,

박막은 세포를 포함하는 것인 다층막.

청구항 10

제9항에 있어서,

세포고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드이고, 세포는 세포고정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 부착된 것인 다층막.

청구항 11

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 교대로 적층된 다층막으로,

상기 음이온성 고분자 전해질층은 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이며,

상기 다층막의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 포함하는 생체감응장치.

청구항 12

기관;

최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 상기 기관 위에 형성된 제1항의 다층막;

상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층; 및

상기 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 생체물질 고정용 물질을 포함하는 세포고정층

을 포함하는 생체감응장치.

청구항 13

제12항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 각각 2층 이상인 생체감응장치.

청구항 14

제13항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어지고, 양이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어지는 생체감응장치.

청구항 15

제12항에 있어서,

아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드인 생체감응장치.

청구항 16

제12항에 있어서,

패턴층은 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴링한 것인 생체감응장치.

청구항 17

제12항에 있어서,

세포고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드인 생체감응장치.

청구항 18

제12항에 있어서,

세포고정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 추가로 세포가 부착된 것인 생체감

응장치.

청구항 19

기관;

최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 상기 기관 위에 형성된 제1항의 다층막;

상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층; 및

상기 패턴층에 결합된 생체물질질을 포함하는 생체물질 결합층

을 포함하는 생체감응장치.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 생체물질은 폴리펩타이드, 항체 및 단백질로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나인 생체감응장치.

청구항 21

음이온성 고분자 전해질층이 최상층이 되도록, 기관 위에 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하여 제1항의 다층막을 형성하는 단계;

상기 다층막의 최상층에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴닝하여 패턴층을 형성하는 단계; 및

상기 패턴층의 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질과 세포고정용 생체물질질을 결합시켜 세포고정층을 형성하는 단계

를 포함하는 생체감응장치 제조방법.

청구항 22

제21항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 각각 2층 이상인 생체감응장치.

청구항 23

제22항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어진 고분자 전해질층이고, 양이온성 고분자 전해질층은 같거나 다른 고분자로 이루어진 고분자 전해질층인 생체감응장치 제조방법.

청구항 24

제23항에 있어서,

아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드인 생체감응장치 제조방법.

청구항 25

제23항에 있어서,

다층막을 형성하는 단계는 기관에 고분자 전해질층을 교대로 흡착시키는 layer-by-layer(LBL) 증착기술로 수행하는 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 26

제25항에 있어서,

layer-by-layer(LBL) 증착기술은 기관을 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액에 교대로 침지시키는 방법으로 수행하는 것인 생체감응장치 제조방

법.

청구항 27

제26항에 있어서,

음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액 및 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상은 용액의 pH가 pH 2.0 내지 pH 5.0으로 조절된 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 28

제21항에 있어서,

패턴층을 형성하는 단계는 피에조 인젝터(piezo injector) 방식의 노즐을 포함하는 프린터를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴닝하는 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 29

제21항에 있어서,

아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크는 점도가 1cP 내지 20cP인 생체감응장치 제조방법.

청구항 30

제21항에 있어서,

아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크는 에틸렌 글리콜 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함하는 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 31

제21항에 있어서,

세포고정층을 형성하는 단계는 패턴닝된 기판을 sulfosuccinimidyl 6-[3'-(2-pyridyldithio)propionamido]hexanoate(Sulfo-LC-SPDP) 수용액과 RGD인 올리고펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드 용액에 순차적으로 침지시켜 수행하는 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 32

제21항에 있어서,

세포고정층의 세포고정용 생체물질에 세포를 반응시켜 상기 세포고정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 세포를 부착시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 생체감응장치 제조방법.

청구항 33

히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 음이온성 고분자 전해질층과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 형성하는 단계; 및

상기 다층막의 음이온성 고분자 전해질층인 최외각층 중 어느 한 층 위에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴닝하는 단계

를 포함하는 패턴닝 방법.

청구항 34

제33항에 있어서,

상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드인 패턴닝 방법.

청구항 35

제33항에 있어서,

상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크는 점도가 1cP 내지 20cP인 패터닝 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술분야

<1> 본 발명은 고분자 전해질 다층막, 생체감응장치 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- <2> 휴대용 바이오센서(portable biosensor)에 관한 연구는 생물학적 미세소자의 한 분야로, 이는 환자가 통상 거처야 하는 의료기관에서의 복잡하고 장시간이 소요되는 측정과정을 단축된 시간에 간편한 방법으로 자가 진단할 수 있게 하여, 의학적 진단의 조기화와 정확성을 높이도록 하는 것을 목표로 제안되는 연구이다.
- <3> 바이오센서는 응용분야에 따라, 다양한 종류가 있으나, 최근까지 주로 보고된 것은 글루코우즈(당)을 측정하는 당도계처럼 효소작용 등 일종의 촉매반응에 의한 부산물을 감지하기 위한 장치 또는 생체적 활성물질을 붙잡아 내어(capture-based) 감지하는 장치로 나눌 수 있으며, 최근에는 세포(cell)나 세포조직(tissue)을 감지물질(sensory material)로 사용하는 세포계 바이오센서(cell-based biosensor)가 새롭게 제안되고 있다.
- <4> 세포계 바이오센서는 세포를 이용한 바이오센서로, 기존에 개발된 바이오한 센서들에 비하여 월등한 감도(sensitivity)를 가진다는 장점이 있고, 세포내에 가지고 있는 수용체(receptor)나 이온 채널(ion-channel), 효소 등 감지에 사용될 물질들이 생체학적인 상태로 유지가 되며, 독성테스트 등과 관련하여 동물실험 대용으로 사용될 수 있다는 장점이 있다. 상기한 바이오센서와 관련하여, 한 개의 자극유발분자를 감지할 수 있는 단일 신경세포(neuron), 단일 항원 펩타이드에 의해 작용할 수 있는 면역세포(T cell), 다양한 종류의 환경 독성시료에 민감하게 작용할 수 있는 간세포를 이용한 바이오센서 등이 제안되어 왔다. 그러나, 현재는 상기 세포계 바이오센서에 대한 연구는 아직 제한적인 면이 있다.
- <5> 상기 세포계 바이오센서는 일반적으로 두 가지 변환기(transducer)로 구성된다. 보다 구체적으로, 생체활성물질의 존재를 감지하여 세포적 신호로 전환하는 일차적(primary) 변환기인 세포와 상기 세포적 신호를 감지하고 처리하여 분석이 가능한 전기적 또는 광학적 신호로 내보내는 이차적(secondary) 변환기로 구성된다. 상기 일차적 변환기는 박테리아나 이스트 같은 미생물세포가 주로 사용되어 왔으며, 최근에는 의약 스크리닝이나 독성물질감지 또는 진단용으로써 의학적으로 인간에게 보다 의미있는 정보를 줄 수 있는 포유동물세포가 관심을 받고 있다. 또한, 상기 이차적 변환기는 다른 종류의 바이오센서들처럼 마이크로전극, 압전기적 감지(piezoelectric detection)장치 및 형광(fluorescence)이나 발광(luminescence)물질을 이용할 수 있다.
- <6> 상기 세포계 바이오센서의 경우, 다양한 이차적 변환기를 감지기(detector)로 사용할 수 있으나, 일차적 신호를 공급하는 일차적 변환기는 어떤 경우든 세포여야 하므로, 세포계 바이오센서 구축을 위해서는 세포자체를 적절하게 배열(cell array)하는 기술이 필수적으로 요구된다.
- <7> 세포 배열(cell array) 기술은 크게 flat array 방법과 suspension array 방법으로 구분된다. 상기 flat array 방법은 DNA chip 등과 같이 반도체 소자기술에서 도입된 것으로, 세포자체를 입자처럼 표면에 배열하는 세포 칩(cell chip) 등에 사용되는 기술이다. 또한, 상기 suspension array 방법은 마이크로 입자에 부착하여 액상채널 안에서 부유한 상태로 신호를 감지할 수 있도록 일정 부피안의 세포의 수, 즉 밀도를 측정하는 flow cytometry 등에 사용되는 기술이다. 세포계 바이오센서의 제작에는 현재로서는 전기적 신호를 변환기의 기반으로 하는 기술이 보다 집약적으로 연구되고 있으므로, flat array 방법이 주로 사용되고 있는 실정이다.
- <8> 어떠한 방법에 의한 세포 배열 기술이든 세포가 표면과 가지는 상호작용을 고도로 조절하는 기술이 관건이다. 이는 세포의 생물학적 반응의 대부분이 절대적으로 표면의 영향을 받기 때문이다. 구체적으로, 세포의 흡착(attachment), 증식(proliferation), 이동(migration), 분화(differentiation), 그리고 사멸(apoptosis, programed death)까지도 표면 성질의 영향을 받는 것으로 보고되어 있으므로, 세포가 접하는 표면의 성질을 조절하는 기술은 세포의 기능을 조절하는 기술로 연계될 수 있기 때문이다.

- <9> 이와 관련하여, 기존의 연구가 극복해야 하는 제한점들이 몇 가지 있다.
- <10> 첫째로, 세포는 살아있는 유기체이므로, 생명유지를 위해 호흡을 해야 하고 영양 섭취를 필요로 하며 오염, 감염으로부터 보호받아야하므로, 세포가 자랄 수 있는 생체적 환경을 공급하는 표면을 구축하여야 한다. 이와 관련하여, 기존의 연구는 세포의 흡착성만을 고려함으로써 오히려 세포의 과도한 흡착을 유도하여 정상적인 세포 증식이 아닌 거대세포를 형성하도록 하거나 과민면역반응(overwhelm immune response)이 발생하는 한계가 있다. 이러한 거대세포의 형성 또는 과민면역반응은 장치의 기능마비뿐만 아니라 생체 임플란트의 경우 환자의 생명까지 위협하게 될 만큼 치명적일 수 있다는 문제점이 있다.
- <11> 둘째로, 휴대용 바이오센서와 관련하여, 휴대성을 확보하기 위한 이차전 변환기의 소자 소형화와 관련된 최근의 연구경향은 미세유체시스템(microfluidic system)의 구축과 밀접한 관련이 있다. 최근에는 미세채널(micro channel) 방식을 이용한 미세유체소자를 기본으로 하거나, 구체적으로 PDMS(polydimethylsiloxane)로 세포들을 담고 있는 chamber 부분을 만든 후 전자 기판에 부착을 시키는 방법을 사용하여 배양 chamber의 크기를 줄일 수 있는 휴대 가능한 세포계 바이오센서에 관한 연구가 보고되었다. 그러나 미세채널(micro channel)의 구조를 설계하고 제작하는 가공기술만으로는 생물학적 활성에 관여하는 바이오센서의 기능을 제대로 구현할 수는 없다는 문제점이 있다. 습윤성이나 표면전하, 화학적 친화력, 온도나 압력에 대한 반응 등과 같이 미세채널(micro channel)의 내면이나 내부 구성 요소들이 가지는 화학적, 구조적 특성 등이 유체의 흐름과 분석인자의 분리, 분석 기능 등을 좌우하기 때문이다.
- <12> 이러한 문제점을 해결하기 위해서는, 세포나 세포의 흡착을 돕는 단백질의 흡착이 무조건적으로 잘되는 것이 아니라 오히려 이러한 흡착이 통제되는 기본물질의 개발이 필요하고, 이를 바탕으로 하여 그 위에 선택적 흡착 반응을 일으킬 수 있는 재료의 재배치가 가능하도록 하는 기술의 개발이 요구된다. 또한, 단량체(monomer)의 화학적 구조를 조절하거나 서로 다른 단량체 간의 공중합 등에 의하여 화학적, 기계적, 기하학적 특성 등을 자유롭게 구현하기에 적합한 재료의 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- <13> 상기와 같은 요구에 부응하기 위하여, 본 발명은 생체친화력이 뛰어나고, 선택적 흡착반응이 가능한 고분자 전해질 다층막, 상기 다층막을 포함하는 생체감응장치 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

- <14> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 제공한다. 상기 음이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 폴리 알릴아민 하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있다.
- <15> 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 기판; 최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 상기 기판 위에 형성된 상기 다층막; 상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층; 및 상기 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 세포고정용 생체물질을 포함하는 세포고정층을 포함하는 생체감응장치를 제공한다.
- <16> 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 음이온성 고분자 전해질층이 최상층이 되도록, 기판 위에 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하여 상기 다층막을 형성하는 단계; 상기 다층막의 최상층에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝하여 패턴층을 형성하는 단계; 및 상기 패턴층의 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질과 세포고정용 생체물질을 결합시켜 세포고정층을 형성하는 단계를 포함하는 생체감응장치 제조방법을 제공한다.
- <17> 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 음이온성 고분자 전해질층과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 형성하는 단계; 및 상기 다층막의 음이온성 고분자 전해질층인 최외각층 중 어느 한 층 위에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을

포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝하는 단계를 포함하는 패터닝 방법을 제공한다.

- <18> 본 발명자들은 면역성 및 독성의 면에서도 가장 안전하고, 항균성 및 항박테리아성을 확보할 수 있는 히알루론산이나 폴리아크릴 산과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 또는 폴리 아크릴아미드를 이용하여 layer-by-layer(LBL) 증착기술로 다층막을 제조하고, 상기 다층막으로 코팅된 기관 위에, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크로 잉크젯 프린팅법을 이용하여 패터닝을 수행한 경우, 세포 성장에 적합하고 흡습성이 우수하며, 세포의 비선택적인 흡착을 통제할 수 있고, 응용 조건에 따라 조절된 거리 및 형태로 표면에 나노단위의 세포 배열이 용이하게 조절할 수 있다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- <19> 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- <20> 본 발명에 있어서, 고분자 전해질은 용매에 녹아 해리할 수 있는 고분자를 의미하며, 상기 고분자 전해질에는 양이온성 고분자 전해질과 음이온성 고분자 전해질이 포함될 수 있다.
- <21> 상기 양이온성 고분자 전해질은 수용액상태에서 고분자사슬의 화학적 작용기가 음이온을 잃거나 수소이온을 얻어서 양전하를 띌 수 있는 고분자 전해질을 의미할 수 있고, 주위환경의 산도 또는 염기도의 영향을 받아 이온화의 정도가 다양하게 나타나는 약전해질 양이온성 고분자 뿐만 아니라, 중성 수용성 고분자 중 일반적인 물의 pH 범위에서는 이온화가 잘 되지 않고, 주변의 산도가 매우 높아진 경우에 양전하를 띠는 폴리아크릴 아미드와 같은 중성 수용성고분자도 포함된다.
- <22> 상기 음이온성 고분자 전해질은 고분자사슬의 화학적 작용기가 양이온을 잃거나 수소이온을 잃어서 음전하를 띌 수 있는 고분자 전해질을 의미할 수 있고, 주위환경의 산도 또는 염기도의 영향을 받아 이온화의 정도가 다양하게 나타나는 약전해질 음이온성 고분자가 포함된다.
- <23> 본 발명에 있어서, 1bilayer는 종류가 상이한 두 고분자 전해질층 각 1층이 적층된 다층막을 의미한다.
- <24> 본 발명의 한 측면에 있어서, 본 발명은 다층막에 관한 것이다.
- <25> 상기 다층막은 고분자 전해질 다층막일 수 있고, 보다 상세하게는 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막인 것일 수 있다.
- <26> 상기 음이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 히알루론산(hyaluronic acid, HA) 및 폴리아크릴 산(polyacrylic acid, PAA)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드(poly(allylamine hydrochloride), PAH) 및 폴리 아크릴아미드(poly acrylamide, PAAm)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있다.
- <27> 상기 다층막은 양이온성 고분자 전해질층과 음이온성 고분자 전해질층이 각 1층 이상인 다층막일 수 있다. 일 예로, 상기 다층막은 1bilayer이거나 그 이상일 수 있으며, 각각 2층 이상일 수 있다.
- <28> 또한, 상기 양이온성 고분자 전해질층 또는 음이온성 고분자 전해질층이 2이상인 경우에는, 상기 전해질층은 각각 동일한 고분자 전해질층 또는 상이한 고분자 전해질층이 적층될 수 있다. 구체적으로 음이온성 고분자 전해질층이 2층 이상인 경우, 특정 음이온성 고분자 전해질 층이 양이온성 고분자 전해질 층과 교대로 적층되거나, 종류가 상이한 음이온성 고분자 전해질 층이 양이온성 고분자 전해질 층과 교대로 적층될 수 있다. 양이온성 고분자 전해질층의 경우에도 상기와 같을 수 있다.
- <29> 상기 최외각층이란 다층막의 최외각 즉, 제일 바깥에 위치한 층 즉, 최외각에 위치한 고분자 전해질층을 의미한다.
- <30> 상기 히알루론산은 D-글루쿠론산과 N-아세틸글로코사민이 $\beta(1\rightarrow3)$ 글리코시드 결합에 의해 연결된 이당 유닛으로 이루어지는 글루코사미드글리칸의 일종으로, 상기 히알루론산은 그 화학적, 물리적 구조에 종 차이가 없고, 인간도 대사체를 가지고 있으며, 면역성 및 독성의 면에서도 가장 안전한 생체 재료이다.
- <31> 상기 히알루론산은 히알루론산 그 자체뿐만 아니라 그것의 염을 모두 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 히알루론산은 히알루론산 및 히알루론산 염으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 히알루론산 염은 히알루론산 나트륨, 히알루론산 마그네슘, 히알루론산 아연, 히알루론산 코발트 등과 같은 무기염과 히알루론산 테트라부틸암모늄 등과 같은 유기염을 모두 포함한다. 상기 히알루론산의 분자량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 100,000 내지 10,000,000일 수 있다.

- <32> 상기 폴리 아크릴산은 폴리 아크릴산 그 자체뿐만 아니라 그것의 염을 모두 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 폴리 아크릴산 및 폴리 아크릴산 염으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 폴리 아크릴산의 분자량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 10,000 내지 100,000 또는 30,000 내지 90,000일 수 있다.
- <33> 상기 폴리 알릴아민하이드로클로라이드는 히알루론산이나 폴리아크릴 산과 화학적으로 결합할 수 있으며, 상기 폴리 알릴아민하이드로클로라이드의 분자량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 10,000 내지 100,000 또는 30,000 내지 80,000일 수 있다.
- <34> 상기 폴리 아크릴아미드는 히알루론산이나 폴리아크릴 산과 화학적으로 결합할 수 있으며, 상기 폴리 아크릴아미드의 분자량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 100,000 내지 10,000,000일 수 있다.
- <35> 상기 다층막은 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는, 생체적 환경에 대한 안정성을 부여하기 위하여, 고분자 전해질 간에 가교반응을 수행하여 가교결합(cross-linking)이 형성된 것일 수 있다. 상기 가교반응은 일 예로 EDAC을 통한 화학반응 또는 열처리에 의해 수행될 수 있다.
- <36> 상기 다층막은 상기 최외각층 중에 음이온성 고분자 전해질층인 층에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층을 더욱 포함하는 것일 수 있다. 상기 최외각층이 양 쪽 모두 음이온성 고분자 전해질층인 경우, 바람직하게는 상기 최외각층 중 어느 한 층 위에만 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층을 더욱 포함할 수 있다.
- <37> 상기 패턴층은 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴닝한 것일 수 있다. 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드일 수 있다.
- <38> 상기 다층막은 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 생체물질 고정용 물질을 더욱 포함할 수 있다. 상기 생체물질은 일예로 세포, 단당류, 이당류, 올리고사카라이드, 지방산, 폴리펩타이드 또는 단백질 및 폴리뉴클레오타이드로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 세포일 수 있다. 상기 세포는 원핵세포 및 진핵세포를 포함한 모든 세포일 수 있고, 일 예로 섬유세포, 간세포(hepatocyte), 신경세포(neurons), 암세포(cancer cell, 예를 들면 HeLa cell), B cell, 백혈구세포(white blood cell, 예를 들면 Raw264.7) 등을 포함한 면역세포 및 배아세포 등일 수 있다.
- <39> 상기 생체물질 고정용 물질은 바람직하게는 생체물질 고정용 생체물질일 수 있다. 상기 생체물질 고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함한 모든 올리고펩타이드 및 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질과 기타 수용체 펩타이드를 가진 단백질일 수 있으며, 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질은 피브로넥틴(fibronectin) 또는 피브린(fibrin) 등일 수 있고, 상기 수용체 펩타이드를 가진 단백질은 라미닌(lamin) 또는 콜라겐(collagen) 등일 수 있다.
- <40> 또한, 상기 다층막은 상기 패턴층 위에 박막을 추가로 포함하는 것일 수 있고, 상기 박막은 상기 생체물질, 바람직하게는 세포를 포함하는 것일 수 있고, 상기 생체물질은 상기 생체물질 고정용 생체물질, 바람직하게는 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함한 폴리펩타이드일 수 있다. 상기 박막은 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 부착된 것일 수 있고, 바람직하게는 상기 박막에 포함된 세포가 세포정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 부착된 것일 수 있다.
- <41> 상기 다층막이 DNA 칩(DNA chip), 단백질 칩(Protein chip) 또는 세포계 바이오센서(cell-based biosensor) 등에 사용되는 경우, 상기 패턴층을 포함하지 아니한 최외곽층은 기관에 접합하는 기관 접착층일 수 있고, 상기 다층막이 유도 조직 재생술에 사용되거나, 피부 또는 점막 조직의 드레싱 소재 등으로 사용되는 등 조직 재생 유도 기능을 위해 손상 조직과 마주하는 면으로 사용되는 경우, 상기 패턴층을 포함하지 아니한 최외곽층은 생체 조직에 접합하는 조직 접착층일 수 있다.
- <42> 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 생체반응장치에 관한 것이다.
- <43> 상기 생체반응장치는 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 교대로 적층된 다층막으로, 상기 음이온성 고분자 전해질층은 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이며, 상기 다층막의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 포함하는 생체감응장치일 수 있다.

- <44> 구체적으로, 상기 생체반응장치는
- <45> 기관; 최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 상기 기관 위에 형성된 상기 다층막; 상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층; 및 상기 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 생체물질 고정용 물질을 포함하는 고정층을 포함하는 생체감응장치일 수 있다.
- <46> 상기 생체감응장치는 세포고정용 생체물질이 아미드기를 포함하는 양전하성 고분자 전해질과 결합되어 있어서, 화학적 안정성이 우수하고, 세포 배양에 적합한 조건을 제공할 수 있으므로, 세포계 생체감응장치에 응용될 수 있다. 상기 생체감응장치는 일 예로 biosensor일 수 있다.
- <47> 상기 기관은 생체감응장치에 응용될 수 있는 기관으로, 그 재질이 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 유리로 제조된 것(glass slide) 또는 실리콘(silicon)이나 금(gold) 등의 금속기관으로 제조된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 기관은 mica와 같이 양전하 경향을 띄는 기관일 수 있고, 유리(glass), 실리콘(silicon), 금(gold), 철(steel) 등의 금속기관과 같이 음전하 경향을 띄는 기관일 수 있으며, 플라스틱류(폴리스티렌, 아크릴, 테프론 등)와 같은 전하를 띄지 않는 유기질 기관일 수 있다.
- <48> 상기 전하를 띄는 기관의 경우, 반대전하의 고분자 전해질을 이용하여 다층막을 코팅할 수 있고, 상기 전하를 띄지 않는 유기질 기관의 경우, 고분자 물질간의 소수성(hydrophobic) 흡착성을 이용하여 다층막을 코팅할 수 있다.
- <49> 상기 다층막은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하는 것으로, 상기 다층막의 최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 기관에 형성될 수 있다.
- <50> 상기 다층막은 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는, 생체적 환경에 대한 안정성을 부여하기 위하여, 고분자 전해질 간에 가교반응을 수행하여 가교결합(cross-linking)이 형성된 것일 수 있다. 상기 가교반응은 일 예로 EDAC를 통한 화학반응 또는 열처리에 의해 수행될 수 있다.
- <51> 상기 다층막은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 layer-by-layer(LBL) 증착기술을 이용하여 제조된 것일 수 있다.
- <52> 상기 패턴층은 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 것일 수 있다. 상기 다층막의 최상층은 음이온성 고분자 전해질층이므로, 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층은 상기 다층막의 최상층과 안정하게 결합될 수 있다.
- <53> 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드일 수 있다. 상기 패턴층은 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝한 것일 수 있다.
- <54> 상기 생체물질은 유기물과 생명체 또는 생물에 존재하는 물질을 의미하며, 일예로 세포, 단당류, 이당류, 올리고사카라이드, 지방산, 폴리펩타이드 또는 단백질 및 폴리뉴클레오티드로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게는 세포일 수 있다. 상기 세포는 원핵세포 및 진핵세포를 포함한 모든 세포일 수 있고, 일 예로 섬유세포, 간세포(hepatocyte), 신경세포(neurons), 암세포(cancer cell, 예를 들면 HeLa cell), B cell, 백혈구세포(white blood cell, 예를 들면 Raw264.7) 등을 포함한 면역세포 및 배아세포 등일 수 있다.
- <55> 상기 생체물질 고정용 물질은 상기 아민기를 포함하는 양이온성 고분자 전해질의 아민기와 반응하여 결합할 수 있으며, 생체물질을 고정시킬 수 있는 반응기를 가진 물질이면, 그 종류가 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 상기 생체물질 고정용 물질은 생체물질 고정용 생체물질일 수 있다. 상기 생체물질 고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함한 모든 올리고펩타이드 및 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질과 기타 수용체 펩타이드를 가진 단백질일 수 있으며, 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질은 피브로넥틴(fibronectin) 또는 피브린(fibrin) 등일 수 있고, 상기 수용체 펩타이드를 가진 단백질은 라미닌(lamin) 또는 콜라겐(collagen) 등일 수 있다. 상기 생체물질 고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함한 올리고펩타이드는 상기 올리고펩타이드의 아미노산 서열에 RGD가 1회 이상 반복되는 것일 수 있다.
- <56> 상기 생체물질이 세포이고 생체물질 고정용 물질이 생체물질 고정용 생체물질인 경우, 바람직하게는 상기 생체물질 고정용 물질은 세포고정용 생체물질일 수 있다.
- <57> 바람직하게는 패턴층의 양이온성 고분자 전해질에 결합된 세포고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고

펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함하는 폴리펩타이드 일 수 있고, 더욱 바람직하게는 아미노산 서열이 GRGDSPC인 폴리펩타이드일 수 있다.

- <58> 상기 생체감응장치는 세포고정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층에 추가로 세포가 부착된 것일 수 있다. 상기 부착된 세포는 박막 형태로 부착된 것일 수 있다.
- <59> 또한, 본 발명의 또 다른 생체반응장치는
- <60> 기관; 최외각층의 음이온성 고분자 전해질층이 최상층으로 되게 상기 기관 위에 형성된 상기 다층막; 상기 다층막의 최상층 위에 배치되고, 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패턴층; 및 상기 패턴층에 결합된 생체물질을 포함하는 생체물질 결합층을 포함하는 생체감응장치일 수 있다.
- <61> 상기 생체물질의 일 태양이 단백질칩(protein chip)인 경우에는 상기 생체물질은 폴리펩타이드, 항체(antibody) 또는 단백질로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나일 수 있고, 상기 생체물질의 일 태양이 DNA 칩(DNA chip)인 경우에는 상기 생체물질은 폴리뉴클레오티드 및 항체로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나일 수 있다.
- <62> 상기 생체물질 결합층은 상기 패턴층에 결합된 생체물질 또는 상기 패턴층과 생체물질의 결합을 유도하거나 결합을 안정화하기 위해 사용되는 생체물질 고정용 물질 및 상기 생체물질을 포함하는 것일 수 있다.
- <63> 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드를 잉크(ink)로 사용하는 잉크젯 프린팅법을 이용하여 패턴닝하는 단계를 포함하는 생체감응장치 제조방법에 관한 것이다.
- <64> 구체적으로 상기 생체감응장치 제조방법은
- <65> 음이온성 고분자 전해질층이 최상층이 되도록, 기관 위에 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하여 상기 다층막을 형성하는 단계; 상기 다층막의 최상층에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패턴닝하여 패턴층을 형성하는 단계; 및 상기 패턴층의 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질과 세포고정용 생체물질을 결합시켜 세포고정층을 형성하는 단계를 포함하는 생체감응장치 제조방법일 수 있다.
- <66> 상기 기관에 다층막을 형성하는 단계는 기관 위에 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 layer-by-layer(LBL) 증착기술로 수행할 수 있다.
- <67> 보다 구체적으로 기관, 일 예로 유리로 제조된 기관(glass slide), 실리콘(silicon)으로 제조된 기관, 폴리 스티렌으로 제조된 기관을 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액에 교대로 침지시키는 방법으로 수행하는 것일 수 있으며, 상기 각 용액을 교대로 침지시키는 방법으로 제조된 경우 상기 다층막을 1 bilayer라고 정의할 수 있다. 일 예로, 상기 다층막이 3 bilayer인 경우에는, 상기 기관(silicon)을 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액에 교대로 침지시키는 단계를 3회 반복할 수 있다.
- <68> 상기 다층막을 형성하는 단계에 사용되는 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액은 바람직하게는 pH 2.0 내지 pH 5.0, 더욱 바람직하게는 pH 2.5 내지 pH 4.5로 pH를 조절한 것일 수 있다. 또한, 상기 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는 pH는 pH 2.75 내지 pH 3.5일 수 있다.
- <69> 또한, 상기 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는 상기 기관, 특히 표면접착력인 약한 실리콘 기관 등의 경우에는 양전하를 띤 고분자 전해질인 폴리 알릴아민하이드로클로라이드를 포함하는 고분자 전해질 용액으로 한번 코팅한 후에, 음이온성 고분자 전해질과 폴리 아크릴아미드를 각각 포함하는 고분자 전해질 용액을 이용하여 다층막을 형성할 수 있고, 수소결합을 이용한 다층막의 deprotonation을 막기 위해, 고분자 전해질 용액과 행금 용액의 pH를 모두 낮게 유지하는 것이 중요하며, 바람직하게는 pH를 pH 2.75 내지 pH 3.5로 조정할 수 있다.
- <70> 상기 다층막을 형성하는 단계는 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는, 생체적 환경에 대한 안정성을 부여하기 위하여, 고분자 전해질 간에 가교반응을 수행하여 가교결합(cross-linking)을 형성시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 가교결합을 형성시키는 단계는 EDAC을 통한 화학반응 또는 열처리를 통한 가교반응으로 수행할 수 있다. 상기 열처리는 80℃에서 8 내지 12시간 동안 가열하는 방법으로 수행할 수 있고, 상기 반응시간이나 온도는 진공오븐을 이용하는 경우 감축하는 방법으로 조절할 수 있다.
- <71> 상기 패턴층을 형성하는 단계는 상기 다층막이 형성된 기관에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하

는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드일 수 있다.

- <72> 상기 잉크젯 프린팅에 사용된 잉크젯 프린터(inkjet printer)는 크리스탈에 전기를 가하면 변형되거나 진동하는 특성을 이용한 피에조 인젝터(piezo injector) 방식의 노즐을 포함하는 프린터일 수 있으며, 상기 프린터의 노즐의 크기는 20내지 50, 바람직하게는 25내지 40일 수 있다.
- <73> 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크는 에틸렌 글리콜 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함하는 것일 수 있다. 상기 잉크는 상기 에틸렌 글리콜 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 첨가하여 점도를 조절할 수 있다. 또한, 상기 잉크젯 프린팅법에 사용되는 잉크의 점도는 1cP 내지 20cP, 바람직하게는 5cP 내지 15cP, 더욱 바람직하게는 7cP 내지 12cP일 수 있다.
- <74> 상기 패터닝된 고분자 전해질 잉크는 음이온성 고분자 전해질층인 최외각층과 강한 상호작용을 통해 표면 즉, 고분자 전해질 다층막에 고정되므로, 상기 잉크젯 프린팅법을 수행한 후 상기 필름이 코팅된 기판에 정전기적 인력을 통해 흡착된 잉크를 제외한 잉여의 잉크는 PBS를 이용해 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- <75> 상기 패터닝된 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질과 세포고정용 생체물질을 결합시켜 세포고정층을 형성하는 단계는 패터닝 잉크로 사용된 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질의 아민기와 세포고정용 물질을 결합시켜 수행할 수 있다.
- <76> 또한, 상기 세포고정층을 형성하는 단계는 상기 세포고정용 물질과 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질의 결합에 사용되는 결합물질을 포함하는 수용액과 상기 세포고정용 생체물질을 포함하는 용액에 순차적으로 침지시켜 수행할 수 있다.
- <77> 상기 생체물질 고정용 물질은 상기 아민기를 포함하는 양이온성 고분자 전해질의 아민기와 반응하여 결합할 수 있으며, 생체물질을 고정시킬 수 있는 반응기를 가진 물질이면, 그 종류가 특별히 한정되지 않으며, 바람직하게는 상기 생체물질 고정용 물질은 생체물질 고정용 생체물질일 수 있다. 상기 생체물질 고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함한 모든 올리고펩타이드 및 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질과 기타 수용체 펩타이드를 가진 단백질일 수 있으며, 상기 올리고펩타이드를 포함하는 단백질은 피브로넥틴(fibronectin) 또는 피브리린(fibrin) 등일 수 있고, 상기 수용체 펩타이드를 가진 단백질은 라미닌(lamin) 또는 콜라겐(collagen) 등일 수 있다.
- <78> 상기 생체물질이 세포이고 생체물질 고정용 물질이 생체물질 고정용 생체물질인 경우, 바람직하게는 상기 생체물질 고정용 물질은 세포고정용 생체물질일 수 있다.
- <79> 바람직하게는 패터닝된 양이온성 고분자 전해질에 결합된 세포고정용 생체물질은 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드를 포함하는 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열이 RGD인 올리고펩타이드 서열을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있고, 더욱 바람직하게는 아미노산 서열이 GRGDSPC인 폴리펩타이드일 수 있다.
- <80> 상기 세포고정용 물질과 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질의 결합에 사용되는 결합물질은 DCC(dicyclohexylcarbodiimide), EDC(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide Hydrochloride), N-hydroxysuccinimide ester를 포함한 화합물 및 이들의 유사 화합물일 수 있고, 상기 N-hydroxysuccinimide ester를 포함한 화합물은 sulfosuccinimidyl 6-[3'-(2-pyridyldithio) propionamido]hexanoate(Sulfo-LC-SPDP)일 수 있다.
- <81> 상기 세포고정용 생체물질을 포함하는 용액의 농도는 0.1 내지 10, 바람직하게는 0.25 내지 0.75의 농도일 수 있다.
- <82> 일 예로, 상기 패터닝 잉크로 사용된 폴리 알릴아민하이드로클로라이드의 아민기와 세포고정용 생체물질의 결합은 패터닝된 기판을 sulfosuccinimidyl 6-[3'-(2-pyridyldithio) propionamido]hexanoate(Sulfo-LC-SPDP)에 침지시킨 후, 상기 올리고펩타이드 용액에 침지시키는 방법으로 수행할 수 있다.
- <83> 또한, 본 발명의 생체감응장치 제조방법은 세포고정층의 세포고정용 생체물질에 세포를 반응시켜 상기 세포고정용 생체물질이 결합된 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 패터닝된 세포를 부착시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- <84> 상기 세포고정층의 세포고정용 생체물질에 세포를 반응시키는 단계는 대상 세포의 세포배양액에 상기 세포고정층이 부착된 기판을 침지시켜 수행할 수 있으며, 상기 대상 세포는 확인하고 싶은 분석대상을 감지하여 신호를

송부할 수 있는 변환기인 세포일 수 있다.

- <85> 상기 세포는 원핵세포 및 진핵세포를 포함한 모든 세포일 수 있고, 일 예로 섬유세포, 간세포(hepatocyte), 신경세포(neurons), 암세포(cancer cell, 예를 들면 HeLa cell), B cell, 백혈구세포(white blood cell, 예를 들면 Raw264.7) 등을 포함한 면역세포 및 배아세포 등일 수 있다.
- <86> 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 히알루론산 및 폴리아크릴 산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 음이온성 고분자 전해질층과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리 아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조의 최외각층의 어느 한 층 또는 양 층은 음이온성 고분자 전해질층인 다층막을 형성하는 단계; 및 상기 다층막의 음이온성 고분자 전해질층인 최외각층 중 어느 한 층 위에 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅법으로 패터닝하는 단계를 포함하는 패터닝 방법일 수 있다.
- <87> 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드일 수 있고, 상기 아민기를 가진 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 잉크는 점도가 1cP 내지 20cP일 수 있다.
- <88> 상기 패터닝 방법은 생체감응장치 또는 실험, 진단 또는 질병 치료용으로 사용하기 위하여 생체조직과 결합할 수 있는 생체 조직, 바람직하게는 인체 조직 접착물에 응용될 수 있다.

효 과

- <89> 본 발명의 생체감응장치 및 이의 제조방법은 고분자를 이용하므로 세포의 비선택적인 흡착을 통제할 수 있고, 항균성, 항박테리아성 표면처리가 가능하며, 생물학적 비활성 코팅처리가 가능하며, 패턴간의 거리를 용이하게 조절할 수 있어 응용 조건에 따라 조절된 거리 및 형태로 표면에 결합된 세포들 간의 상호작용(cell-cell talk)도 유도할 수 있으므로, 생체감응장치(Biosensor) 뿐만 아니라, 신경세포나 배아세포 발달 등의 연구에 기여할 수 있으며, 생체조직과 결합하여 실험 또는 진단용 뿐만 아니라, 의료용이나 질병 치료용으로도 사용될 수 있어, 그 산업적 효과가 매우 크다 할 것이다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- <90> 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 다만, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 실시예일 뿐이므로, 본 발명의 보호범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- <91> **실시예 1: 고분자 다층막의 준비**
- <92> 실시예 1-1: 시약
- <93> Poly(acrylic acid)(PAA, Mw=90,000), Poly(allylamine hydrochloride)(PAH, Mw =60,000)와 Polyacrylamide(PAAm) 및 Hyaluronic acid(HA)는 Polysciences사의 시약을 사용하였고, 치환기의 Potassium salt를 제거하기 위하여 삼투압 투과법(dialysis method)을 사용하였다.
- <94> 구체적으로 상기 투석법을 이용한 히알루론산의 염 제거과정은 하기와 같다.
- <95> Polysciences사에서 구입한 히알루론산은 치환기에 Potassium salt가 존재하기 때문에 수소결합에 방해가 될 수 있으므로, 삼투압 투과법을 통하여 염(salt)을 제거하였다. 투과막으로는 Spectrum사에서 제조한 Cellulose ester(CE)로 이루어졌으며, 분자량 cut off(MWCO)가 1,000인 막을 사용하였다. 실험에 사용한 용액을 제조하는데 사용된 물은 Millipore 사의 탈이온수와 3차 정제수를 동시에 생성하는 장치(Milli-Q, Model: Biocel 18 M Ω)를 이용하였다. 0.01M 농도의 히알루론산 용액 10ml에 1N HCl을 과량(약 1:1.1) 첨가한 후, 투과막에 넣어 1L의 정제수가 담겨있는 비이커에 넣고 자석교반기 위에서 약하게 교반하여 주었다. 투과성을 높이기 위하여 물을 4시간마다 새로운 정제수로 교체하면서 48시간 동안 투과를 지속하였다. 투과반응 후 수거한 용액을 동결 건조시켜 순수한 히알루론산을 얻었다.
- <96> 또한, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS), 0.25% Trypsin-EDTA 및 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)는 Gibco 제품을 사용하였고, DMEM을 만들기 위해서 Gibco 제품의 fetal bovine serum(FBS)와 Antibiotic-Antimycotic을 사용하였다. 또한, RGD peptide는 Pepton inc.의 제품을 사용하였다.
- <97> 실시예 1-2: 고분자 다층막의 제조
- <98> 고분자 전해질 수용액을 만드는 과정과 세척과정은 Millipore 사의 Milli-Q 정수기를 이용하여 생산한 탈이온수

(Deionized water; > 18 MΩ)를 이용하여 수행하였다.

- <99> 상기 고분자 전해질 중, PAA, PAH 와 PAAm수용액은 0.01M의 농도로, HA수용액은 0.002M(based on the repeat unit molecular weight)의 농도로 만들어 0.45μm의 기공을 가진 필터로 여과해서 먼지나 미생물을 제거하여 사용하였고 0.1M의 HCl이나 NaOH 수용액으로 pH를 3.0 이하로 조정하였다. 본 발명에서는 고분자 전해질 다층막은 고분자 전해질의 양전하와 음전하를 이용한 이온결합을 이용하여 고분자 전해질 다층막을 형성하였고, PAAm의 경우 HA와 PAAm의 수소결합을 이용하여 수소결합 고분자 전해질 다층막을 형성하였다. 본 실험에서 다층막의 물성측정을 위하여 사용한 기판은 유리(glass) 또는 실리콘 기판(silicon slide)을 사용하였고, 상기 실리콘 기판의 표면은 표면접착력이 약하므로, 플라즈마 처리 후 양전하를 띤 고분자 전해질인 PAH를 한번 코팅한 후에 HA와 PAAm을 교대로 적층하는 방법으로 수행하였다. 수소결합을 이용한 다층막의 제조에서 deprotonation을 막기 위해, 고분자 전해질 용액과 행균 용액의 pH를 모두 낮게 유지하는 것이 중요하므로, 본 실험에서는 고분자 전해질 용액과 세척용액의 pH는 pH 3.0으로 고정하였다. 한편, 이온결합을 이용한 다층막의 제조에서는 pH 조건을 pH 3.0 외에도 pH 4.5 , pH 7.5 또는 pH 10.0으로 조절하여 수행하였다.
- <100> 상기 실험에 사용한 기판은 모두 묽은 세제액으로 씻고 여러 차례 탈이온수로 세척하여 질소 가스로 건조를 시킨 후에 사용하였다.
- <101> 고분자 다층막의 제조는 양전하 고분자인 PAH와 음전하 고분자인 PAA, HA의 상반된 전하를 이용해 다양한 pH 조건에서 교대로 흡착시키거나 상기 PAH를 코팅한 기판에 는 양전하 고분자, 구체적으로 중성 수용성 고분자로 분리되는 PAAm과 음전하 고분자인 PAA 및 HA와의 수소결합을 이용해 교대로 흡착시키는 layer-by-layer(LBL) 증착 기술로 수행하였다.
- <102> 구체적으로, 이온결합에 의해 LBL 증착기술을 수행한 경우에는, 상기 기판을 세척병에 희석한 세제와 함께 넣고 15분가 초음파처리(ultrasonication)를 한 다음, 다시 탈이온수로 세척하여 질소 가스로 건조를 시켰다. 상기 건조를 수행한 기판을 PAH 수용액에 15분간 담그고 탈이온수로 2분간 2회 이상의 세척과정을 거치고, 다시 HA 용액 또는 PAA 용액에 15분 동안 담그고 동일한 세척과정을 거쳐 제조된 것을 1 bilayer라 하였다. 상기 과정을 반복하여, 원하는 만큼의 bilayer 수를 증가시켰으며, 본 실험에서는 3 bilayer를 수행하였다.
- <103> 또한, 수소결합에 의해 LBL 증착기술을 수행한 경우에는, 상기 기판을 PAH 수용액에 15분간 담그고 탈이온수로 2분간 2회 이상 세척하여 초기 코팅막을 형성하고, 이 후 HA 용액에 15분 동안 담그고 동일한 세척과정을 거친 후에, 다시 PAAm 용액에 15분 동안 담그고 동일한 세척과정을 거쳐 두 고분자 전해질이 결합된 코팅막을 형성하였다. 상기 과정에 의해 형성된 코팅막을 1bilayer이라 하고, 원하는 두께를 형성할 때까지 이 과정을 반복하였다.
- <104> 상기 과정을 수행하여 제조된 고분자 다층막은 질소 기체를 이용하여 말린 후에, 다음 단계까지 보관하였다.
- <105> 실시예 1-3: 수소결합 고분자 다층막의 가교반응
- <106> 상기 수소결합을 이용하여 형성시킨 수소결합 고분자 전해질 다층막은 수소결합으로 형성되어 생체적 환경에서 존재하는 pH 7.2 내지 7.4의 생리식염수에 들어가면 용출될 수 있으므로, 생체적 환경에 대한 안정성을 부여하기 위하여 가교반응을 추가로 수행하였다.
- <107> 구체적으로, 상기 고분자 다층막을 생물학 또는 생화학적으로 응용하기 위하여, 고분자 전해질 간에 가교반응을 수행하여 약하게 가교결합(cross-linking)을 시켜주었다.
- <108> 상기 가교반응은 열처리로 수행하였고, 보다 상세하게는 고분자 다층막을 80℃에서 10시간 정도로 가열하여 수행하였다.
- <109> **실시예 2: 고분자 다층막의 특성 확인**
- <110> 실시예 2-1: 접촉각의 측정을 통한 젖음성의 측정
- <111> 상기 실시예 1-2 및 1-3에서 제조된 다층막의 젖음성(습윤성, wettability)을 측정하기 위하여, Face사의 CA-A Contact angle analyzer를 이용하여 물의 접촉각을 측정하였다. 상기 접촉각 측정에 의해 확인된 접촉각인 advancing contact angle과 receding contact angle은 필름의 수분에 대한 변화 경향을 측정하는데 도움이 되는 지수이다. 일반적으로, 젖음성이 좋은 필름은 static contact angle만 낮은 것이 아니라 상기 advancing contact angle과 receding contact angle도 낮은 것으로 보고되어있다.
- <112> 상기 접촉각 측정에 사용한 물은 정제수를 필터를 한 후에 사용하였으며, 주사기를 이용하여 10 ul의 방울을 형

성한 후 필름이 올려진 측정판을 서서히 올려 물방울에 접촉하도록 하여 접촉각 측정에 중력의 영향이 없도록 하였다. 보다 상세하게는, 상기 도 2에 기재된 바와 같이, static contact angle를 측정하고, advancing contact angle의 측정은 상기 static contact angle를 측정한 상태에서 10 ul의 물을 더 첨가하여, 다시 접촉각을 측정하여 수행하였고, 상기 receding contact angle의 측정은 상기 advancing contact angle을 측정한 20 ul의 물방울에서 10 ul의 물을 빨아드려서 다시 접촉각을 측정하여 수행하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

<113> 상기 도 3에 나타난 바와 같이, 본 발명에서 제조된 고분자 전해질 다층막들은 모두 젖음성이 우수한 것으로 확인되었다. 구체적으로, 수소결합에 의해 제조된 PAA/PAAm과 HA/PAAm 다층막의 경우, 모든 접촉각의 평균값이 20도 미만 또는 30도 미만이었으며, 이온결합에 의해 제조된 PAH/HA와 PAH/PAA 다층막의 경우도 대부분의 접촉각이 30도 미만으로 젖음성이 우수한 것으로 확인되었다. 또한, receding contact angle 수치가 낮은 것으로 확인되어, 수분에 대한 친화도가 매우 우수한 것으로 예측되었다. 상기 PAA/PAAm 다층막의 경우 모든 접촉각이 평균 20도 미만인 것으로 확인되어 젖음성이 우수할 것으로 확인되었다.

<114> 상기 측정값들은 이후 패터닝 과정에서 PAH 잉크와의 반응성을 높이기 위하여, 다층막을 건조시켜 약한 무수물(anhydride group)이 형성된 경우에서 측정한 것이므로, 단순히 적층과정만을 수행한 다층막의 경우는 젖음성이 매우 우수할 것으로 예측되었다.

<115> 실시예 2-2: 원자 힘 현미경(AFM)을 이용한 표면형태학적 특성의 측정

<116> 상기 실시예 1-2 및 1-3에서 제조된 다층막의 특성을 알아보기 위하여 표면형태학적 성질을 AFM을 이용하여 확인하였다. 일반적으로 상기 표면형태학적 성질에 의하여 확인한 결과, 세포의 비선택적 흡착을 방지하는 효과를 보인 표면들은 전체적으로 측정된 표면에 미세한 입자가 분포되어 있는 것 같은 형상을 나타내는 것으로 보고되어있다.

<117> 구체적으로, 본 실험에서 이용한 현미경은 Digital Instrument사의 Dimension 3100 AFM을 이용하였고, 상기 표면형태학적 성질의 확인은 상기 AFM을 이용하여 tapping mode에서 AFM의 높이(height) 이미지를 촬영하여 각각의 고분자 전해질 다층막 표면의 위상차를 확인하는 방법으로 수행하였으며, 그 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다.

<118> 상기 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명의 고분자 전해질 다층막은 모두 미세한 입자가 분포되어 있는 것으로 확인되어, 세포의 비선택적 흡착을 방지하는 효과를 보일 수 있는 것으로 확인되었다.

<119> 구체적으로, 도 4에 나타난 바와 같이 본 발명의 이온결합을 이용하여 제조된 고분자 전해질 다층막 및 수소결합을 이용하여 제조된 고분자 전해질 다층막은 미세한 입자가 분포되어 있는 것으로 확인되었다.

<120> 또한, 도 5에 나타난 바와 같이 이온결합을 이용하여 제조된 고분자 전해질 다층막의 경우, 산성 조건에서 제조하는 것 즉, 낮은 pH의 조건에서 제조하는 것이 미세한 입자가 분포되는 것으로 확인되어, 더 우수한 세포의 비선택적 흡착 방지효과가 있는 것으로 확인되었다

<121> 실시예2-3: 고분자 전해질 다층막 필름의 세포 흡착성 실험

<122> 상기 실시예 1-2 및 1-3에서 제조된 HA/PAAm 다층막을 이용하여 고분자 전해질 다층막 필름의 세포 흡착성 실험을 수행하였다.

<123> 상기 다층막과 세포와의 상호작용을 알아보기 위하여 신장세포(HEK 293 kidney cell)를 이용하여 실험하였으며, 현미경으로 관찰하여 그 결과를 도 6에 나타내었다.

<124> 상기 도 6에 나타난 바와 같이, 다층막을 유리(glass) 기판에 코팅한 경우는 다층막을 코팅하지 아니한 유리 기판에 비하여 현저히 줄어든 세포 흡착을 보여주어, 비선택적 흡착성을 저지할 수 있는 것으로 확인되었다. 또한, HA가 최외각층인 도 6b가 PAAm이 최외각층인 도 6a에 비하여 세포 흡착 정도가 현저하게 줄어든 것으로 확인되어, HA가 최외각층인 다층막이 세포의 비선택적 흡착성을 저지할 수 있는 것 즉, 세포의 선택적 흡착성을 확보할 수 있는 것으로 확인되었다.

<125> 실시예 3: 잉크젯 프린팅을 이용한 패터닝

<126> 상기 실시예 1-2 및 1-3에서 제조된 다층막의 성질 특히, 세포의 비선택적 흡착을 방지하는 저지능을 기초로 하여, 생체활성물질을 미세패턴의 형태로 표면에 고정하기 위해 잉크젯 프리팅을 수행하였다.

- <127> 상기 잉크젯 프린팅에 사용된 잉크젯 프린터(inkjet printer)는 크리스탈에 전기를 가하면 변형되거나 진동하는 특성을 이용한 피에조 인젝터(piezo injector) 방식의 노즐을 포함한 유니젯사의 UJ-2100이며, 노즐은 30크기를 사용했다. 또한, 잉크젯 프린팅에 사용된 잉크의 점도는 10cP로 조절하여 사용하였다.
- <128> 상기 실시예 1-2에서 제조된 PAH/PAA(pH4.5/pH3.0) 3 bilayer으로 제조된 고분자 전해질 다층막 3bilayer 필름이 코팅된 기관의 고분자 전해질 다층막의 최외각 층을 형성하는 PAA와 이온결합으로 반응할 수 있는 고분자 전해질인 PAH를 잉크로 사용하여 잉크젯 프린팅을 수행하였다. 상기 잉크젯 프린팅을 수행하여, bitmap 그림파일을 이용하여 PAH분자 전해질 패턴을 완성하였다. 상기 잉크는 pH 7.5로 조절된 0.05M PAH 용액으로 제조하였다.
- <129> 상기 패턴화된 고분자 전해질 잉크는 강한 상호작용을 통해 표면 즉, 고분자 다층막에 고정되므로, 상기 필름이 코팅된 기관에 정전기적 인력을 통해 흡착된 잉크를 제외한 나머지 잉크는 PBS를 이용해 제거하였다.
- <130> 상기 PAH 수용액을 잉크로 사용하여 잉크젯 프린팅을 하고 형성된 고분자 패턴의 완성도를 알아보기 위하여 형광물질을 표지(label)하여 살펴보았다.
- <131> 구체적으로, 상기 잉크젯 프린팅을 통하여 패턴된 기관에 잉크로 사용된 고분자 전해질인 PAH와 결합되는 coupling agent인 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride(EDAC) 및 형광물질인 6-carboxyfluorescein-N-hydroxysuccinimide ester를 결합시킨 후에, 이를 형광 현미경을 통해 확인 하였으며, 그 결과를 도 7에 나타내었다.
- <132> 상기 도 7는 pH 3.0 및 pH 4.5의 조건에서 제조된 3 bilayer 고분자 전해질 다층막으로 코팅된 기관에 PAH를 잉크로 사용하여 잉크젯 프린팅을 수행함으로써 패턴된 기관을 형광물질을 도입하여 촬영한 현미경 사진이다. 상기 도 7에 나타난 바와 같이, 고분자 전해질을 잉크로 한 본 발명의 패턴 기술의 경우, μm 범위 내에서 원하는 모양으로 패턴할 수 있음이 확인되었다.
- <133> **실시예 4: 패턴된 기관에 세포 배열을 수행한 생체감응장치의 제조**
- <134> 상기 실시예 3에서 제조된 고분자 전해질 잉크가 패턴된 기관에 세포 배열을 수행하여 생체감응장치를 제조하였다.
- <135> 구체적으로, 패턴의 잉크로 사용된 PAH의 아민기(amine functional group)를 이용하여 세포가 표면에 흡착할 때 수용체(receptor)로 인식한다고 알려진 RGD 아미노산 서열을 포함한 올리고펩타이드를 결합반응(coupling reaction)을 통하여 결합시켰다. 본 발명에 사용된 상기 올리고펩타이드의 서열은 GRGDSPC이었다.
- <136> 상기 패턴된 기관에 상기 올리고펩타이드가 0.5의 농도로 포함된 수용액을 제조하고, coupling agent로 sulfosuccinimidyl 6-[3'-(2-pyridyldithio) propionamido]hexanoate(Sulfo-LC-SPDP)를 사용하여 결합반응을 수행하였다. 즉, 상기 실시예 3의 패턴된 기관을 Sulfo-LC-SPDP 용액에 30분간 담가 반응시킨 후, PBS(phosphate buffered saline solution) 용액에 5분씩 2번 세척해주고, 상기 RGD 아미노산 서열을 포함한 올리고펩타이드 용액에 8시간 동안 담가 반응을 수행하였다. 상기 반응을 수행한 후에, PBS를 이용하여 세척한 후, 건조하였다.
- <137> 상기 펩타이드의 패턴이 잘 형성되어, 결과적으로 균일하게 세포 배열을 수행할 수 있는지 여부를 확인하기 위하여, 세포 흡착실험을 수행하였다. 상기 올리고펩타이드와 결합반응을 수행한 기관을 세포배양용기(Cell culture petri-dish)에 넣고 DMEM을 포함한 세포배양액을 넣어주고, 세포배양에 적당한 온도인 37℃의 조건으로 CO₂ Incubator 안에서 배양하면서 관찰하였다. 상기 올리고펩타이드와 결합반응을 수행한 기관은 세포실험 전에 70% 알코올로 세척한 후 건조하여 멸균하여 사용하였고, 상기 세포는 RGD 아미노산 서열을 포함하는 올리고펩타이드에 잘 결합하는 것으로 알려진 인간 신장 세포(Human Embryonic Kidney cell)인 293세포를 사용하였다.
- <138> 상기 세포배양의 관찰은 세포의 기본적인 흡착이 거의 완료 되어가는 6시간부터 2시간 마다 세포가 패턴된 고분자 전해질 코팅막 위에 어떻게 흡착하는지, 그리고 패턴에 따라 어떻게 이동하는지(cell migration과 movement 등)를 관찰 하였으며, 그 결과를 도 8 및 도 9에 나타내었다.
- <139> 상기 도 8에 나타난 바와 같이, 293 세포는 마이크론 단위의 잉크 패턴에 따라 패턴된 고분자 전해질 코팅막 위에 일정한 각격으로 배열되는 것으로 확인되었다. 즉, 본 발명의 패턴 방법을 사용할 경우 기관 위에 균일하게 세포 배열이 가능하여, 본 발명은 항균성이 있는 고분자를 이용하여 흡착을 통제할 수 있는 방법으로 선택적으로 세포가 흡착된 생체반응장치를 제조할 수 있는 것으로 확인되었다.

<140> 또한, 상기 도 9에 나타난 바와 같이, 293 세포는 마이크론 단위의 잉크 패턴에 따라 약 50 μm 직경의 원모양에 따라 흡착된 것이 확인되었고, 24시간 동안 배양한 결과, 상기 패턴을 유지하면서 세포가 잘 성장하는 것으로 확인되었다.

<141> 상기 결과로부터, 본 발명의 고분자 전해질 다층막은 세포의 비선택적인 흡착을 통제할 수 있고, 본 발명의 패터닝 방법은 패턴간의 거리를 용이하게 조절할 수 있으며, 상기 패터닝 방법에 의해 형성된 패턴에 따라 세포 또는 펩타이드가 결합될 수 있으므로, 본 발명의 고분자 전해질 다층막과 패터닝 기술은 응용 조건에 따라 조절된 거리 및 형태로 표면에 결합된 세포들 간의 상호작용(cell-cell talk)도 유도할 수 있어, 생체감응장치(Biosensor) 뿐만 아니라, 신경세포나 배아세포 발달 등의 연구에 기여할 수 있으며, 생체조직과 결합하여 실험 또는 진단용 뿐만 아니라, 의료용이나 질병 치료용으로도 사용될 수 있는 것으로 확인되었다.

도면의 간단한 설명

<142> 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 layer-by-layer(LBL) 증착기술을 이용하여 고분자 전해질 다층 필름을 제조하는 방법을 나타낸 개략도이다.

<143> 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 고분자 전해질 다층막을 이용하여 코팅된 기관의 젖음성을 측정하기 위하여 접촉각을 측정하는 사진으로, 도 3a는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드와 히알루론산을 이용하여 제조한 다층막 코팅 기관의 사진이고, 도 3b는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드와 폴리 아크릴산을 이용하여 제조한 다층막 코팅 기관의 사진이다.

<144> 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 고분자 전해질 다층막의 젖음성을 나타내는 접촉각 실험결과를 나타낸 그래프이다.

<145> 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 히알루론산이나 폴리아크릴 산과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드이나 폴리 아크릴아미드를 사용하여 이온결합과 수소결합을 이용하여 제조한 다층막의 AFM 이미지를 나타낸 사진으로, 도 4a는 pH 3.0/3.0의 조건에서 제조된 폴리아크릴 산과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 다층막의 것이고, 도 4b는 pH 4.5/3.0의 조건에서 제작된 히알루론산과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드의 경우, 도 4c와 도 4d는 수소결합을 이용한 예로 각각 pH 3.0/3.0의 조건에서 제작된 폴리아크릴 산과 폴리 아크릴아미드 및 히알루론산과 폴리 아크릴아미드의 경우이다. 상기 도 4에 촬영된 사진의 크기는 10 μm ×10 μm 이다.

<146> 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 여러 가지 pH 조건에서 형성된 폴리 알릴아민하이드로클로라이드와 히알루론산을 이용하여 제조한 다층막의 AFM 이미지를 나타낸 사진으로, 도 5a는 pH 3.0의 조건에서 제조된 것이고, 도 5b는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드의 경우, pH 7.5의 조건 및 히알루론산의 경우, pH 3.0의 조건에서 제조된 것이며, 도 5c는 pH 10.0에서 제조된 것이다.

<147> 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 다층막의 비선택성 세포 흡착성 여부를 확인하기 위해, 히알루론산과 폴리아크릴아미드를 이용하여 제조한 다층막과 HEK 293 세포의 상호작용을 나타낸 현미경사진으로, 도 6a는 최외각층이 폴리 아크릴아미드인 히알루론산과 폴리 아크릴아미드로 코팅한 유리 기관을 이용하여 측정한 사진이고, 도 6b는 최외각층이 히알루론산인 히알루론산과 폴리 아크릴아미드로 코팅한 유리 기관을 이용하여 측정한 사진이며, 도 6c는 다층막으로 코팅하지 않은 유리 기관을 이용하여 측정한 사진이다. 상기 도면에 표시된 scale bar의 크기는 200 μm 이다.

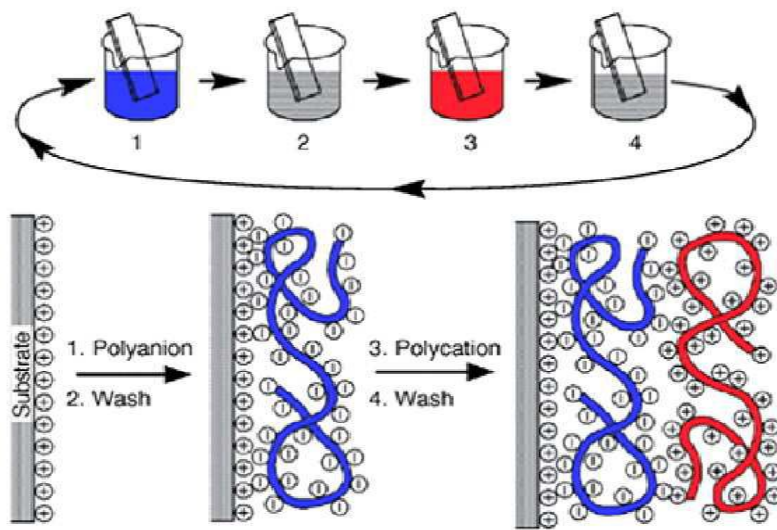
<148> 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 폴리 알릴아민하이드로클로라이드와 히알루론산을 이용하여 제조한 다층막으로 코팅된 기관에 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 잉크를 이용하여 잉크젯 프린팅 법으로 패터닝시킨 기관의 현미경 사진이다.

<149> 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 잉크를 이용한 잉크젯 프린팅 법을 수행하여 마이크론 단위로 패터닝시킨 기관에 세포를 배양시킨 생체감응장치를 촬영한 사진이다. 상기 도면에 표시된 scale bar의 크기는 100 μm 이다.

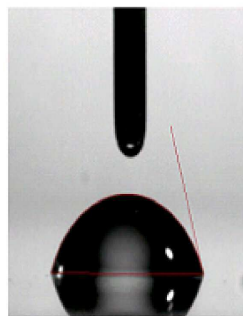
<150> 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 다층막의 비선택성 세포 흡착성 여부를 확인하기 위해, 폴리 알릴아민하이드로클로라이드를 잉크로 사용하여 패터닝시킨 기관에 HEK 293 세포를 배양시킨 현미경사진으로, 도 9a는 HEK 293 세포를 14시간 배양시킨 사진이고, 도 9b는 HEK 293 세포를 24시간 배양시킨 사진이다. 상기 도면에 표시된 scale bar의 크기는 50 μm 이다.

도면

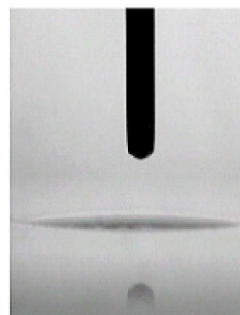
도면1



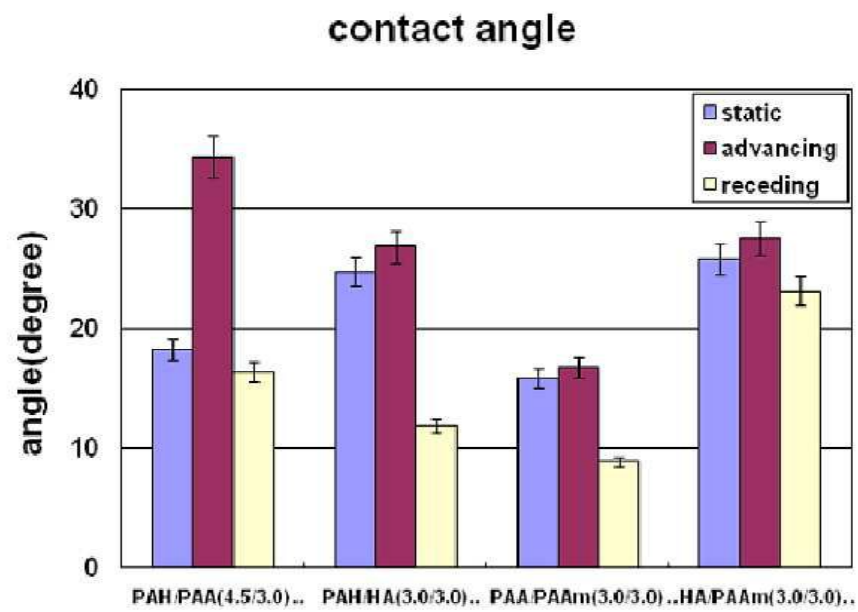
도면2a



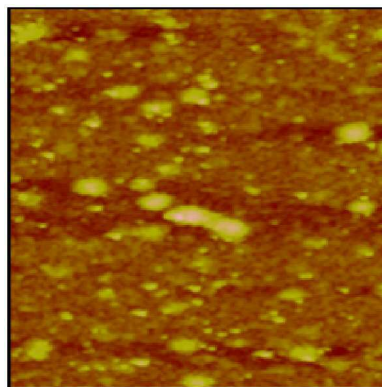
도면2b



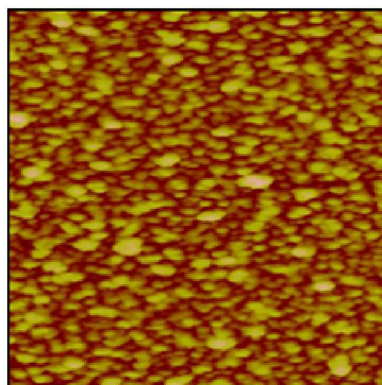
도면3



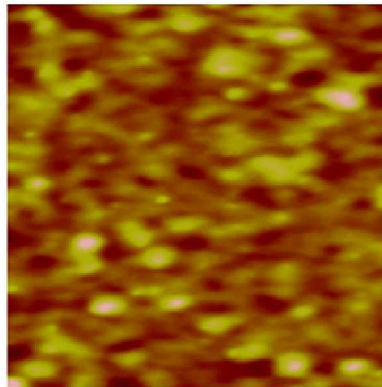
도면4a



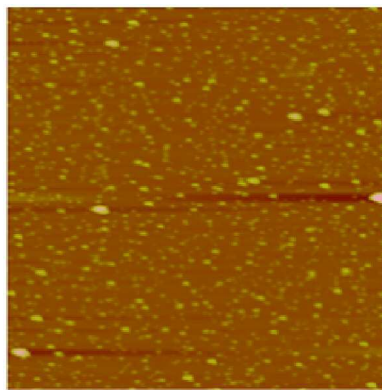
도면4b



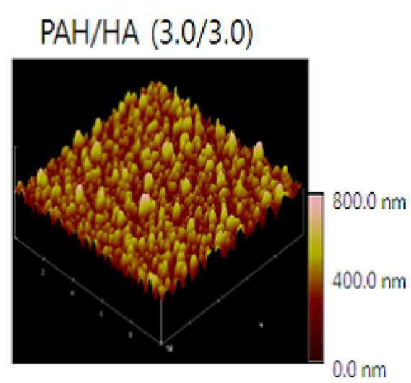
도면4c



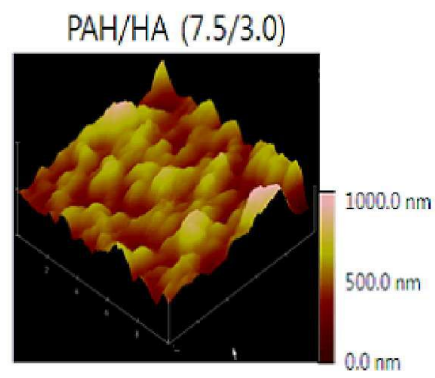
도면4d



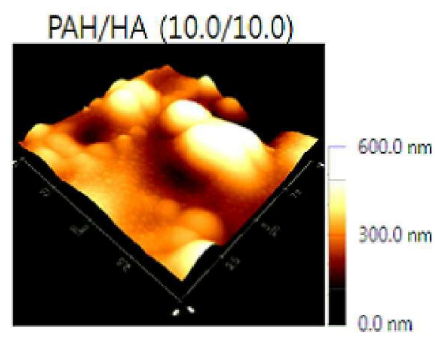
도면5a



도면5b



도면5c



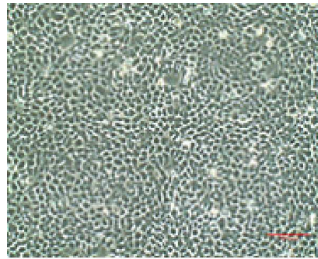
도면6a



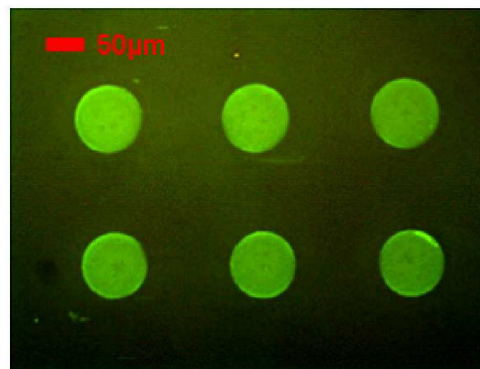
도면6b



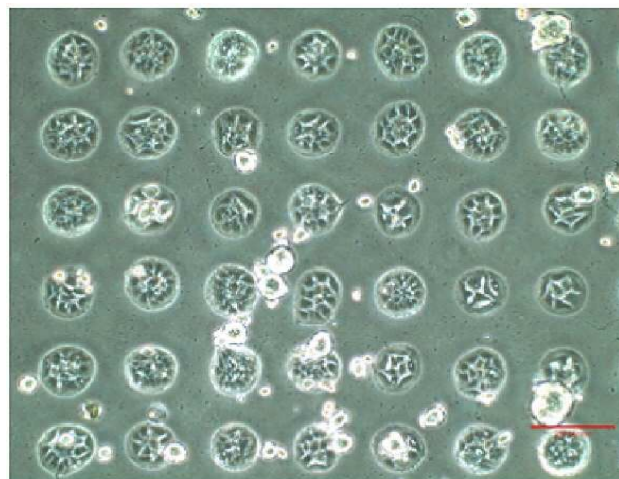
도면6c



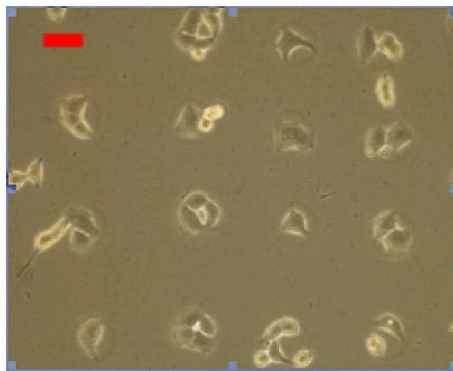
도면7



도면8



도면9a



도면9b

