



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0001579
(43) 공개일자 2017년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 17/08 (2006.01) C08L 79/02 (2006.01)
C12N 11/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 17/08 (2013.01)
C08L 79/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0066338
(22) 출원일자 2016년05월30일
심사청구일자 2016년05월30일
(30) 우선권주장
1020150090713 2015년06월25일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
김중배
서울특별시 강남구 역삼로 309, 101동 1501호
홍성길
서울특별시 동대문구 안암로 84-14, 103호 (제기
동, 파인빌)
(74) 대리인
특허법인이름리온

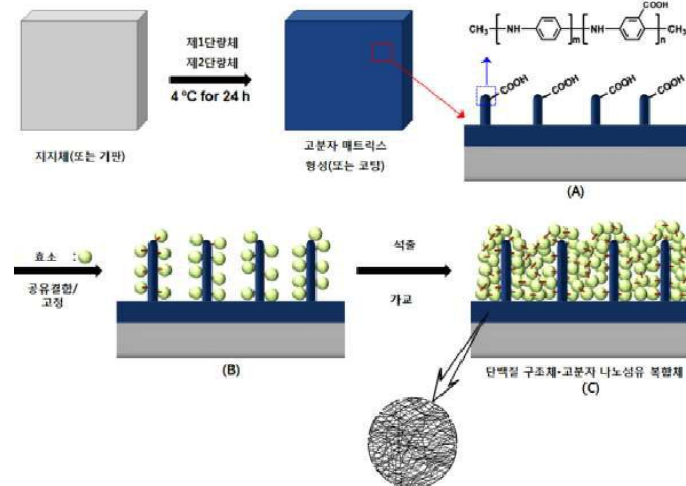
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체 및 이의 제조방법에 관한 것으로서, 좀 더 구체적으로 설명하면, 지지체, 섬유의 일단이 상기 지지체 표면과 결합된 작용기를 포함하는 고분자 나노섬유, 및 상기 작용기에 고정된 바이오 분자를 포함하는 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체 및 이를 상업적으로 제조할 수 있는 방법에 관한 것으로서, 본 발명의 복합체는 바이오 분자 양을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라, 바이오 분자의 열안정성 및 장기사용안정성을 향상시킨 발명에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12N 11/08 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014043032

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 글로벌연구실사업

연구과제명 미생물 오염 방지 및 제거를 위한 나노바이오촉매 소재 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.08.01 ~ 2016.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스; 및 상기 작용기에 고정된 바이오 분자;를 포함하며,

상기 고분자 매트릭스는 고분자 섬유 집합체 중 일부의 고분자 섬유가 고분자 매트릭스의 표면 외부로 돌출되어 형성된 다수 개의 섬유기둥을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 지지체를 더 포함하며,

상기 고분자 매트릭스가 지지체 표면에 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 공유결합되어 있는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서, 고분자 섬유의 상기 작용기와 상기 바이오 분자는 이중 바이오 분자들의 특이적 결합을 통해 결합되어, 고분자섬유에 상기 바이오 분자가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 이중 바이오 분자들의 특이적 결합으로는 항체-항원, 프로테인A-항체, 프로테인G-항체, 핵산-핵산 하이브리드, 앵타머-바이오분자, 아비딘-비오틴(Avidin-biotin), 스트렙타비딘-비오틴(Streptavidin-biotin), 렉틴-탄수화물(Lectins-carbohydrate), 렉틴-글리코실단백질(Lectin-glycoprotein)을 포함하는 이중 바이오분자들의 특이적 결합을 통해, 고분자섬유에 상기 바이오 분자가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 바이오 분자는

근접하고 있는 단수 또는 복수 개의 바이오 분자와 서로 가교되어 있는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자 섬유 복합체.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 바이오 분자는 효소, 알부민, 인슐린, 콜라겐, 항체, 항원, 프로테인A, 프로테인G, 아비딘, 스트렙타비딘, 바이오틴, 핵산, 펩타이드, 렉틴(Lectin), 탄수화물 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것

을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 복합체는 평균두께 10 nm ~ 500 μ m의 필름 타입의 복합체인 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 작용기는 카르복시기, 아민기, 이민기, 에폭시기, 하이드록시기, 알데하이드기, 카르보닐기, 에스터기, 메톡시기, 에톡시기, 페톡시기, 에테르기, 아세탈기, 설파이드기, 포스페이트기 및 아이오드기 중에서 선택된 1종 이상의 작용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는

폴리아닐린, 폴리피롤, 아크릴로나이트릴-뷰타디엔-스티렌, 폴리락틱산, 폴리비닐알콜, 폴리아크릴로니트릴, 폴리에스테르, 폴리에틸렌, 폴리에틸렌이민, 폴리프로필렌옥사이드, 폴리비닐리데인 플로라이드, 폴리우레탄, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 폴리카프로락탐, 폴리락틱-co-글리콜산, 폴리글리콜산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리다이메틸실록산, 테플론, 콜라겐, 폴리스티렌-co-무수말레산, 나일론, 셀룰로오스, 키토산 및 실리콘 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 고분자 섬유를 개질시켜 작용기를 형성된 고분자 섬유인 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는

아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 락틱산(lactic acid), 비닐알콜(vinyl alcohol), 아크릴로니트릴(acrylonitrile), 에틸렌(ethylene), 에틸렌이민(ethyleneimine), 프로필렌옥사이드(propylene oxide), 우레탄(urethane), 염화비닐(vinyl chloride), 스티렌(styrene), 카프로락탐(caprolactam), 카프로락톤(aprolactone), 에틸렌 테레프탈레이트(ethylene terephthalate), 메틸메타크릴레이트(methyl methacrylate), 다이메틸실록산(dimethylsiloxane), 테플론(teflon), 콜라겐(collagen), 나일론(nylon), 셀룰로오스(cellulose), 키토산(chitosan) 및 실리콘(silicon) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 제1단량체; 및

1-아미노벤조익산(1-aminobenzoic acid), 2-아미노벤조익산(2-aminobenzoic acid), 3-아미노벤조익산(3-aminobenzoic acid), 1-페닐렌다이아민(1-phenylenediamine), 2-페닐렌다이아민(2-phenylenediamine), 3-페닐렌다이아민(3-phenylenediamine), 피롤-1-카브알데하이드(pyrrole-1-carbaldehyde), 피롤-2-카브알데하이드(pyrrole-2-carbaldehyde) 및 피롤-3-카브알데하이드(pyrrole-3-carbaldehyde) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 제2단량체;가 공중합된 공중합체인 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 효소는 탄산무수화효소, 트립신, 키모트립신, 서브틸리신, 파파인, 서물리신, 리파아제, 페록시다아제, 티로시나아제, 라카아제, 셀룰라아제, 자일라나제, 락타아제, 유기포스포하이드롤레이즈, 콜린에스테라아제, 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 포름산 탈수소 효소, 알데하이드 탈수소 효소, 알코올 탈수소 효소, 포도당 탈수소 효소, 및 포도당 이성화 효소 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 13

제2항에 있어서, 상기 지지체는 ABS(Acrylonitrile-butadiene-styrene) 폴리머 기판, 아크릴로나이트릴-뷰타디엔-스티렌 기판, 폴리락틱산 기판, 폴리비닐알콜 기판, 폴리카프로락탐 기판, 폴리카프로락톤 기판, 폴리락틱-co-글리콜산 기판, 폴리아크릴로니트릴 기판, 폴리에스테르 기판, 폴리에틸렌 기판, 폴리에틸렌이민 기판, 폴리프로필렌옥사이드 기판, 폴리우레탄 기판, 폴리글리콜산 기판, 폴리에틸렌테레프탈레이트 기판, 폴리메틸메타크릴레이트 기판, 폴리스티렌 기판, 폴리디메틸실록산 기판, 테플론, 여과지, 유리, 금도금 기판 및 실리콘 웨이퍼 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체.

청구항 14

고분자 섬유 중합용액에 지지체를 담지하는 1단계;

상기 고분자 섬유 중합용액을 중합반응을 수행하여, 지지체의 표면에 작용기가 포함된 고분자 섬유를 성장시켜서 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스를 지지체 표면에 형성시키는 2단계; 및

고분자 매트릭스를 형성하는 고분자 섬유의 작용기에 바이오 분자를 고정화시키는 3단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체의 제조방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 고분자 섬유 중합용액은 제1단량체, 제2단량체 및 중합개시제를 포함하고,

상기 제1단량체는 아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 티오펜 (thiophene), 락틱산(lactic acid), 비닐알콜(vinyl alcohol), 아크릴로니트릴(acrylonitrile), 에틸렌(ethylene), 에틸렌이민(ethyleneimine), 프로필렌옥사이드(propylene oxide), 우레탄(urethane), 염화비닐(vinyl chloride), 스티렌(styrene), 카프로락탐(caprolactam), 카프로락톤(apolactone), 에틸렌 테레프탈레이트(ethylene terephthalate), 메틸메타크릴레이트(methyl methacrylate), 다이메틸실록산(dimethylsiloxane), 테플론(teflon), 콜라겐(collagen), 나일론(nylon), 셀룰로오스(cellulose), 키토산(chitosan) 및 실리콘(silicon) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하며,

상기 제2단량체는 1-아미노벤조익산(1-aminobenzoic acid), 2-아미노벤조익산(2-aminobenzoic acid), 3-아미노벤조익산(3-aminobenzoic acid), 1-페닐렌디아민(1-phenylenediamine), 2-페닐렌디아민(2-phenylenediamine), 3-페닐렌디아민(3-phenylenediamine), 피롤-1-카브알데하이드(pyrrole-1-carbaldehyde), 피롤-2-카브알데하이드(pyrrole-2-carbaldehyde), 피롤-3-카브알데하이드(pyrrole-3-carbaldehyde), 티오펜-2-카브알데하이드(thiophene-2-carbaldehyde) 및 3-티오펜카복사알데하이드(3-thiophenecarboxaldehyde) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체의 제조방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 2단계의 중합반응은 0 °C ~ 90 °C 하에서 5분 ~ 48시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체의 제조방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 바이오 분자가 효소인 경우, 상기 3단계는

지지체 표면에 형성된 고분자 매트릭스에 작용기화 반응을 수행하는 3-1단계;

작용기화 반응을 수행한 고분자 매트릭스를 구성하는 고분자 섬유의 작용기와 바이오 분자를 결합반응시키는 3-2단계;

바이오 분자를 석출시키는 3-3단계; 및

석출된 바이오 분자간 가교결합시키는 3-4단계;를 포함하는 공정을 수행하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체의 제조방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 세척 후, 미반응 작용기를 캡핑(capping)시키는 3-5단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 분자-고분자섬유 복합체의 제조방법.

청구항 19

제1항 내지 제13항 중에서 선택된 어느 한 항의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 포함하는 촉매 복합체.

청구항 20

제1항 내지 제13항 중에서 선택된 어느 한 항의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 포함하는 바이오 정화기기.

청구항 21

제1항 내지 제13항 중에서 선택된 어느 한 항의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 포함하는 바이오 센서.

청구항 22

제1항 내지 제13항 중에서 선택된 어느 한 항의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 포함하는 바이오 연료전지.

청구항 23

지지체; 및 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스;를 포함하는 바이오 분자 고정용 지지체.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바이오 분자-고분자섬유 복합체 및 이의 제조방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 지지체의 표면에 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 성장시킨 후 이에 바이오 분자를 고정화시킴으로써 바이오 분자의 고정화량 증대, 열안정성 및 장기사용안정성을 향상시킨 바이오 분자-고분자섬유 복합체 및 이의 제조방법을 제공하는 데 있다.

배경 기술

[0002] 나노바이오 기술은 나노미터 수준에서 바이오 물질을 다루는 기술로 그 중요성이 강조됨에 따라 다양한 나노구조물질과 생체분자의 융합연구가 활발히 진행되고, 이를 통해 그 시너지 효과를 극대화 하려는 연구도 활발히 진행되고 있다. 나노바이오 기술은 나노구조물질과 생체분자가 결합되어 재료공학, 생명공학, 의학 등의 다양한 분야에 활발히 응용되고 있다. 나노수준에서 나타나는 고유한 특성을 기반으로 단백질칩, DAN칩, 랩온어칩, 바이오센서 등의 진단장치가 활발히 개발되고 있다. 또한 에너지/환경 분야에서는 오염물질 감지 및 제거에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다.

[0003] 나노바이오 기술이 큰 주목을 받고 많은 연구가 진행되고 있지만, 성공적인 실용화를 위해서는 나노구조물질에

생체분자를 안정적으로 고정시키는 기술이 절대적으로 선행되어야 한다. 현재는 탄소나노튜브(carbon nanotube), 자성나노입자(magnetic nanoparticle), 나노섬유(nanofiber), 나노선(nanowire), 나노세공성물질(nanoporous material) 등 다양한 나노구조물질이 합성되고 있다. 여기에 DNA와 같은 저분자의 펩타이드로부터 효소, 항체 등과 같은 바이오 분자를 결합하려는 시도가 꾸준히 이루어지고 있다. 이를 위해서 물리적인 흡착(physical adsorption) 혹은 표면전하의 차이에 의한 이온 결합(ionic bond)법이 과장상 편리함 때문에 많이 사용되어 왔다. 하지만 이러한 결합은 결합력이 약해 생체분자를 안정적으로 결합시키지 못하고, 쉽게 나노구조물질로부터 분리되는 치명적인 단점이 존재한다. 결국, 산업적인 응용 시에 바이오 분자들이 안정적으로 고정되지 못하여 전체적인 반응공정의 수율이 하락하는 문제가 발생하게 된다. 나아가 나노구조물질은 파우더 형태로 반응과정에서 이를 조작하는 데 어려움이 있다. 나노구조물질 뿐만 아니라, 바이오 분자는 크기가 나노미터 수준으로 너무 작아 원하는 목적으로 사용한 이후에 회수를 하는 데에 문제가 있었다. 그리고, 이러한 문제는 전체 반응공정의 비용이 상승하게 되는 직접적인 요인으로 작용하게 된다.

[0004] 결국, 종래의 방법대로는 나노구조물질에 생체분자를 안정적으로 고정시키지 못하고, 손쉽게 핸들링을 할 수 없는 단점이 있으며, 이는 산업적인 응용을 제한하게 되는 문제가 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허번호 2011-0012463호(2011.02.09)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에 본 발명은 상술한 문제를 해결하고자, 특정 고분자 섬유가 매트릭스 표면 외부로 돌출되어 형성된 다수 개의 섬유 기둥을 포함하는 고분자 매트릭스를 도입하고, 상기 고분자 나노섬유의 작용기에 바이오 분자를 안정적으로 고정시킨 바이오 분자-고분자섬유 복합체 및 이를 제조하는 방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스; 및 상기 작용기에 고정된 바이오 분자;를 포함하며, 상기 고분자 섬유 집합체는 작용기를 포함하는 다수 개의 고분자 섬유로 형성된 것이다.

[0009] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 고분자 매트릭스는 고분자 섬유 집합체 중 일부의 고분자 섬유가 고분자 매트릭스의 표면 외부로 돌출되어 있을 수 있다.

[0010] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 지지체를 더 포함하며, 고분자 매트릭스가 지지체 표면에 고정되어 있을 수 있다. 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 직접적으로 결합되거나 또는 간접적으로 결합되어 있을 수 있다.

[0011] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 공유결합을 통해 직접적으로 결합되어 있을 수 있다.

[0012] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 고분자 섬유의 상기 작용기와 상기 바이오 분자는 이중의 바이오 분자들의 특이적 결합을 통해 결합되어, 작용기와 바이오 분자가 링커(linker)인 이중의 바이오 분자를 통해 간접적으로 결합되어 고분자섬유에 상기 바이오 분자가 고정되어 있을 수 있다.

[0013] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 특이적 결합은 항체-항원, 프로테인A-항체, 프로테인G-항체, 핵산-핵산 하이브리드, 앵타머-바이오분자, 아비딘-비오틴(Avidin-biotin), 스트렙타비딘-비오틴(Streptavidin-biotin), 렉틴-탄수화물(Lectins-carbohydrate), 렉틴-글리코실단백질(Lectin-glycoprotein) 등의 특이적 결합을 통해 상기 작용기와 바이오 분자 사이에 상기 이중의 바이오 분자가 링커(linker)역할을 하여 간접적으로 작용기와 바이오 분자가 간접적으로 결합되어 있을 수 있다.

- [0014] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 작용기에 고정된 바이오 분자는 근접하고 있는 단수 또는 복수 개의 바이오 분자와 서로 가교되어 있을 수 있다.
- [0015] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 고분자 섬유의 작용기는 카르복시기, 아민기, 이민기, 에폭시기, 하이드록시기, 알데하이드기, 카르보닐기, 에스터기, 메톡시기, 에톡시기, 페톡시기, 에테르기, 아세탈기, 설펜이드기, 포스페이트기 및 아이오드기 중에서 선택된 1종 이상의 작용기를 포함할 수 있다.
- [0016] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는 아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 티오펜(thiophene), 락틱산(lactic acid), 비닐알콜(vinyl alcohol), 아크릴로니트릴(acrylonitrile), 에틸렌(ethylene), 에틸렌이민(ethyleneimine), 프로필렌옥사이드(propylene oxide), 우레탄(urethane), 염화비닐(vinyl chloride), 스티렌(styrene), 카프로락탐(caprolactam), 카프로락톤(apolactone), 에틸렌 테레프탈레이트(ethylene terephthalate), 메틸메타크릴레이트(methyl methacrylate), 다이메틸실록산(dimethylsiloxane), 테플론(teflon), 콜라겐(collagen), 나일론(nylon), 셀룰로오스(cellulose), 키토산(chitosan) 및 실리콘(silicon) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 제1단량체; 및 1-아미노벤조익산(1-aminobenzoic acid), 2-아미노벤조익산(2-aminobenzoic acid), 3-아미노벤조익산(3-aminobenzoic acid), 1-페닐렌다이아민(1-phenylenediamine), 2-페닐렌다이아민(2-phenylenediamine), 3-페닐렌다이아민(3-phenylenediamine), 피롤-1-카르발데하이드(pyrrole-1-carbaldehyde), 피롤-2-카르발데하이드(pyrrole-2-carbaldehyde) 및 피롤-3-카르발데하이드(pyrrole-3-carbaldehyde), 티오펜-2-카르발데하이드(thiophene-2-carbaldehyde) 및 3-티오펜카복시알데하이드(3-thiophenecarboxaldehyde) 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 제2단량체;가 공중합된 공중합체를 포함할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는 폴리아닐린, 폴리피롤, 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌, 폴리락틱산, 폴리비닐알콜, 폴리아크릴로니트릴, 폴리에스테르, 폴리에틸렌, 폴리에틸렌이민, 폴리프로필렌옥사이드, 폴리비닐리데인 플로라이드, 폴리우레탄, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 폴리카프로락탐, 폴리락틱-co-글리콜산, 폴리글리콜산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리다이메틸실록산, 테플론, 콜라겐, 폴리스티렌-co-무수말레산, 나일론, 셀룰로오스, 키토산 및 실리콘 중에서 선택된 1종 이상을 포함하는 고분자 섬유를 개질시켜서 작용기를 형성시킨 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 고분자 섬유는 상기 제1단량체 및 상기 제2단량체가 1 : 0.05 ~ 0.95 몰비로 공중합된 공중합체를 포함할 수도 있다.
- [0019] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 고분자 섬유는 아닐린과 1-아미노벤조익산, 2-아미노벤조익산 또는 3-아미노벤조익산을 공중합시킨 공중합체; 아닐린과 1-페닐렌다이아민, 2-페닐렌다이아민 또는 3-페닐렌다이아민(3-phenylenediamine)을 공중합시킨 공중합체; 및 피롤과 피롤-1-카르발데하이드, 피롤-2-카르발데하이드 또는 피롤-3-카르발데하이드를 공중합시킨 공중합체; 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수도 있다.
- [0020] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자는 효소, 항체, 항원, 알부민, 인슐린, 콜라겐, 프로테인A, 프로테인G, 아비딘, 스트렙타비딘, 펩타이드, DNA, 비오틴, 렉틴(Lectin), 탄수화물, 아미노산 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수도 있다.
- [0021] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자 중 상기 효소는 탄산무수화효소, 트립신, 키모트립신, 서브틸리신, 파파인, 서몰리신, 리파아제, 펩록시다아제, 티로시나아제, 라카아제, 셀룰라아제, 자일라나제, 락타아제, 유기포스포하이드롤레이즈, 콜린에스테라아제, 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 포름산 탈수소 효소, 알데하이드 탈수소 효소, 알코올 탈수소 효소, 포도당 탈수소 효소, 및 포도당 이성화 효소 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수도 있다.
- [0022] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 지지체는 ABS(Acrylonitrile-butadiene-styrene) 폴리머 기판, 아크릴로니트릴-부타디엔-스티렌 기판, 폴리락틱산 기판, 폴리비닐알콜 기판, 폴리카프로락탐 기판, 폴리카프로락톤 기판, 폴리락틱-co-글리콜산 기판, 폴리아크릴로니트릴 기판, 폴리에스테르 기판, 폴리에틸렌 기판, 폴리에틸렌이민 기판, 폴리프로필렌옥사이드 기판, 폴리우레탄 기판, 폴리글리콜산 기판, 폴리에틸렌테레프탈레이트 기판, 폴리메틸메타크릴레이트 기판, 폴리스티렌 기판, 폴리다이메틸실록산 기판, 테플론, 여과지, 유리, 금도금 기판 및 실리콘 웨이퍼 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0023] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 평균두께 10 nm ~ 500 μ m의 필름 타입일 수 있다.

- [0025] 또한, 본 발명은 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스;를 바이오 분자 고정용 지지체로서 제공할 수도 있다.
- [0026] 또한, 본 발명은 지지체; 및 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스;를 포함하는 바이오 분자 고정용 지지체를 제공할 수도 있다.
- [0028] 본 발명의 다른 목적은 앞서 설명한 다양한 형태의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 제조하는 방법에 관한 것으로서, 고분자 섬유 중합용액에 지지체를 담지하는 1단계; 상기 고분자 섬유 중합용액을 중합반응을 수행하여, 지지체 표면에 작용기가 포함된 고분자 섬유를 성장시켜서 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스를 지지체 표면에 형성시키는 2단계; 및 고분자 매트릭스를 형성하는 고분자 섬유의 작용기에 바이오 분자를 고정화시키는 3단계;를 포함하는 공정을 수행하여 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 제조할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 1단계의 상기 고분자 섬유 중합용액은 1단량체와 중합개시제 또는 제2단량체와 중합개시제를 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 1단계의 상기 고분자 섬유 중합용액은 제1단량체, 제2단량체 및 중합개시제를 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 제1단량체는 아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 티오펜 (thiophene), 락틱산(lactic acid), 비닐알콜(vinyl alcohol), 아크릴로니트릴(acrylonitrile), 에틸렌(ethylene), 에틸렌이민(ethyleneimine), 프로필렌옥사이드(propylene oxide), 우레탄(urethane), 염화비닐(vinyl chloride), 스티렌(styrene), 카프로락탐(caprolactam), 카프로락톤(apolactone), 에틸렌 테레프탈레이트(ethylene terephthalate), 메틸메타크릴레이트(methyl methacrylate), 다이메틸실록산(dimethysiloxane), 테플론(teflon), 콜라겐(collagen), 나일론(nylon), 셀룰로오스(cellulose), 키토산(chitosan) 및 실리콘(silicon) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 제2단량체는 1-아미노벤조익산(1-aminobenzoic acid), 2-아미노벤조익산(2-aminobenzoic acid), 3-아미노벤조익산(3-aminobenzoic acid), 1-페닐렌다이아민(1-phenylenediamine), 2-페닐렌다이아민(2-phenylenediamine), 3-페닐렌다이아민(3-phenylenediamine), 피롤-1-카브알데하이드(pyrrole-1-carbaldehyde), 피롤-2-카브알데하이드(pyrrole-2-carbaldehyde) 및 피롤-3-카브알데하이드(pyrrole-3-carbaldehyde), 티오펜-2-카브알데하이드(thiophene-2-carbaldehyde) 및 3-티오펜카복사알데하이드(3-thiophenecarboxaldehyde) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 고분자 섬유 중합용액은 제1단량체, 제2단량체 및 중합개시제를 1 : 0.05 ~ 0.95 : 0.05 ~ 1 몰비로 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 2단계의 중합반응은 0℃ ~ 90℃ 하에서 5분 ~ 48 시간 동안 수행할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 바이오 분자가 효소인 경우, 상기 3단계는 지지체 표면에 형성된 고분자 매트릭스를 작용기화(functionalization)하는 3-1단계; 작용기화 반응을 수행한 고분자 매트릭스를 구성하는 고분자 섬유의 작용기와 바이오 분자를 결합반응시키는 3-2단계; 바이오 분자를 석출시키는 3-3단계; 및 석출된 바이오 분자간 가교결합시키는 3-4단계;를 포함하는 공정을 수행할 수도 있다.
- [0036] 본 발명의 바람직한 일실시예로서, 상기 3단계는 세척 후, 미반응 작용기를 캡핑(capping)시키는 3-5단계;를 더 포함하는 공정을 수행할 수도 있다.

발명의 효과

- [0038] 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 고분자 매트릭스의 표면으로부터 수직인 방향으로 돌출된 고분자 섬유(이하, "섬유기둥"으로 칭함)가 형성된 고분자 매트릭스를 제조한 후, 상기 섬유기둥에 바이오 분자를 반응시켜서 섬유기둥의 작용기와 바이오 분자를 고정시키는 바, 표면적 증가로 기존 복합체 보다 복합체 내 단백질

복합체 양을 크게 증대시킬 수 있으며, 열안정성 및 장기사용안정성을 확보할 수 있는 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 우수한 상업성으로 제공할 수 있다. 이러한, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 친환경 생촉매, 이산화탄소 저감, 바이오 센서, 바이오 정화기기, 바이오 연료전지, 중합효소연쇄반응용 촉매, 단백질 가수분해장치, 단백질 정량분석 장치(ELISA), 방오제, 효소컬럼, 결정성 이부프로펜 제조 등 다양한 분야에 응용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 바람직한 일구현예로서, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 제조하는 과정을 나타낸 개략도이다.

도 2의 (a) ~ (f) 각각은 실험예 1에서 수행한 실시예 1 ~ 실시예 6의 바이오 분자 고정용 지지체 각각의 고분자 매트릭스에 형성된 섬유기둥의 형상을 관찰한 SEM 이미지이다. (g) ~ (h)는 (c)에서 합성된 섬유기둥을 일부 제거하고 기울여서 단면을 찍은 SEM 이미지이다.

도 3은 실험예 2에서 수행한 실시예 1 ~ 실시예 6의 바이오 분자 고정용 지지체의 따른 카르복시 폴리아닐린 섬유의 FTIR 스펙트럼을 나타낸 그래프이다.

도 4의 (a)는 실시예 3의 바이오 분자 고정용 지지체의 SEM 측정 사진이고, 도 4의(b) ~ (c) 각각은 제조예 1 ~ 제조예 3에서 제조한 바이오 분자-고분자섬유 복합체 각각의 SEM 측정 사진이다.

도 5는 실험예 4에서 제조예 1 ~ 제조예 4 및 비교제조예 1 ~ 비교제조예 4의 복합체 각각에 대한 열안정성 측정 결과이다.

도 6은 실험예 5에서 실시한 제조예 1의 복합체를 이용한 미생물 사멸 응용 실험 결과이다.

도 7은 실험예 6에서 실시한 제조예 1의 복합체 및 제조예 4의 복합체를 이용한 아조 계열의 염료 분해 및 장기사용안정성 측정 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명에서 “고분자 섬유가 수직한 방향으로 고분자 매트릭스의 표면 외부로 돌출~”의 표현에서 사용하는 용어인 “수직한 방향”은 90°인 수직만을 의미하는 것이 아니라, 고분자 매트릭스의 표면을 평면으로 가정할 때, 이 평면과 수직을 이루는 기준선 방향으로 고분자 섬유가 돌출되어 있음을 의미하는 것으로서, 상기 평면과 45° ~ 135°의 각도로 고분자 섬유가 돌출되어 있는 것도 포함하는 의미이다.

본 발명에서 사용하는 용어인 "섬유기둥"은 고분자 매트릭스의 표면으로부터 수직 방향으로 돌출된 고분자 섬유의 한 가닥 및/또는 다수 가닥이 꼬이거나 뭉친 형태를 모두 포함하는 의미이다.

이하에서 본 발명을 더욱 구체적으로 설명한다.

본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 도 1에 개략도로 나타낸 바와 같이, 지지체(또는 기판) 표면에 작용기가 포함된 고분자 섬유를 성장시켜서 고분자 매트릭스를 형성시킨 후, 상기 작용기에 바이오 분자를 고정화시켜서 제조할 수 있다.

즉, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 지지체의 표면에 형성된 고분자 매트릭스를 구성하는 작용기를 포함하는 고분자 섬유가 지지체 표면으로부터 수직한 방향으로 곧게 또는 비스듬히 성장한 형태를 가짐으로써, 수직한 방향으로 성장한 고분자 섬유 양을 극대화시킬 수 있고, 고분자 매트릭스가 매우 높은 비표면적을 가지게 된다. 그리고, 상기 수직한 방향으로 성장된 고분자 섬유의 작용기에 바이오 분자가 매우 안정적으로 고정화시키고, 많은 양의 바이오 분자를 고정화시킬 수 있게 되어, 바이오 분자의 열안정성 및 장기사용 안정성을 향상시킬 수 있다.

이러한, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체를 제조하는 방법에 대하여 좀 더 구체적으로 설명하면, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 고분자 섬유 중합용액에 지지체를 담지하는 1단계; 상기 고분자 섬유 중합용액을 중합반응을 수행하여, 지지체 표면에 작용기가 포함된 고분자 섬유를 성장시켜서 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스를 지지체 표면에 형성시키는 2단계; 및 고분자 매

트릭스를 형성하는 고분자 섬유(섬유)의 작용기에 바이오 분자를 고정화시키는 3단계;를 포함하는 공정을 수행하여 제조할 수 있다.

[0048] 그리고, 고분자 매트릭스로부터 지지체를 제거하는 4단계;를 더 포함할 수도 있다.

[0049] 1단계의 상기 고분자 섬유 중합용액은 1단량체와 중합개시제 또는 제2단량체와 중합개시제를 포함할 수 있다. 이 경우, 공중합체(copolymer)가 아닌 중합체(polymer)를 중합이 가능하다.

[0050] 1단계의 상기 고분자 섬유 중합용액은 제1단량체, 제2단량체 및 중합개시제를 포함하며, 이 경우, 공중합체(copolymer) 형성을 위한 공중합이 가능하다.

[0051] 상기 제1단량체는 아닐린(aniline), 피롤(pyrrole), 티오펜(thiophene), 락틱산(lactic acid), 비닐알콜(vinyl alcohol), 아크릴로니트릴(acrylonitrile), 에틸렌(ethylene), 에틸렌이민(ethyleneimine), 프로필렌옥사이드(propylene oxide), 우레탄(urethane), 염화비닐(vinyl chloride), 스티렌(styrene), 카프로락탐(caprolactam), 카프로락톤(ε-caprolactone), 에틸렌 테레프탈레이트(ethylene terephthalate), 메틸메타크릴레이트(methyl methacrylate), 다이메틸실록산(dimethylsiloxane), 테플론(teflon), 콜라겐(collagen), 나일론(nylon), 셀룰로오스(cellulose), 키토산(chitosan) 및 실리콘(silicon) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 바람직하게는 아닐린(aniline) 및 파이론(pyron) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0052] 그리고, 상기 제2단량체는 카르복시기, 아민기, 이민기, 에폭시기, 하이드록시기, 알데하이드기, 카르보닐기, 에스테르기, 메톡시기, 에톡시기, 페톡시기, 에테르기, 아세탈기, 설파이드기, 포스페이트기 및 아이오딘기 중에서 선택된 1종 이상의 작용기를 포함하는 화합물이며, 바람직하게는 1-아미노벤조익산(1-aminobenzoic acid), 2-아미노벤조익산(2-aminobenzoic acid), 3-아미노벤조익산(3-aminobenzoic acid), 1-페닐렌디아민(1-phenylenediamine), 2-페닐렌디아민(2-phenylenediamine), 3-페닐렌디아민(3-phenylenediamine), 피롤-1-카르발데하이드(pyrrole-1-carbaldehyde), 피롤-2-카르발데하이드(pyrrole-2-carbaldehyde) 및 피롤-3-카르발데하이드(pyrrole-3-carbaldehyde), 티오펜-2-카르발데하이드(thiophene-2-carbaldehyde) 및 3-티오펜카복시알데하이드(3-thiophenecarboxaldehyde) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0053] 이때, 상기 제2단량체는 제1단량체 1 몰에 대하여, 0.05 ~ 0.95 몰비로, 바람직하게는 0.2 ~ 0.8 몰비로, 더욱 바람직하게는 0.25 ~ 0.75 몰비로 사용하는 것이 좋은데, 이때, 제2단량체 사용량이 1 몰비를 초과하면 고분자 매트릭스에 수직인 방향으로 형성되는 고분자 섬유(섬유)의 수가 줄어드는 문제가 있을 수 있으며, 0.05 몰비 미만으로 사용하면 제1단량체와 제2단량체의 공중합체인 고분자 섬유에 작용기가 너무 적거나 없어서 바이오 분자를 고정량이 너무 적거나 바이오 분자 고정이 불가능할 수 있으므로 상기 범위 내로 사용하는 것이 좋다.

[0054] 그리고, 상기 중합개시제는 아미노 퍼설파이트(amino persulfate), 포타슘 퍼설파이트(potassium persulfate), 소듐 퍼설파이트(sodium persulfate), 과산화수소(hydrogen peroxide), 과산화벤조일(benzoyl peroxide), 과산화아세틸(acetyl peroxide) 및 아조비스이소부티로니트릴(azobisisobutyronitrile) 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다. 이때, 중합개시제의 사용량은 제1단량체 1 몰에 대하여, 0.05 ~ 1 몰비로, 바람직하게는 0.3 ~ 0.85 몰비로, 더욱 바람직하게는 0.4 ~ 0.8 몰비로 사용하는 것이 좋은데, 이때, 중합개시제 사용량이 0.05 몰비 미만이면 중합 반응이 너무 더디고 중합 반응에 의해 형성된 고분자 섬유가 충분히 성장하지 못해서 3차원 네트워크 구조의 고분자 매트릭스 형성이 어려울 수 있으며, 중합개시제 사용량이 1 몰비를 초과하는 것은 비경제적이고, 과도한 중합반응으로 인해 고분자 매트릭스에 수직인 방향으로 형성되는 고분자 섬유(섬유)의 수가 줄어드는 문제가 있을 수 있다.

[0055] 또한, 1단계의 상기 지지체는 표면에 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 성장시킬 수 있는 것이라면 어느 것이든 사용 가능하며, 바람직하게는 ABS(Acrylonitrile-butadiene-styrene) 폴리머 기반, 폴리락틱산 기반, 폴리비닐알콜 기반, 폴리카프로락탐 기반, 폴리카프로락톤 기반, 폴리락틱-co-글리콜산 기반, 폴리아크릴로니트릴 기반, 폴리에스테르 기반, 폴리에틸렌 기반, 폴리에틸렌이민 기반, 폴리프로필렌옥사이드 기반, 폴리우레탄 기반, 폴리글리콜산 기반, 폴리에틸렌테레프탈레이트 기반, 폴리메틸메타크릴레이트 기반, 폴리스티렌 기반, 폴리디메틸실록산 기반, 테플론, 여과지, 유리, 금도금 기반, 실리콘 웨이퍼 등을 사용할 수 있으며, 본 발명이 이에 특별히 한정되는 것은 아니다.

[0057] 상기 2단계는 고분자 섬유 중합용액을 중합반응시켜서 중합체 또는 공중합체를 형성시킴과 동시에 이를 성장시켜서 고분자 섬유를 제조한다. 그리고, 고분자 섬유가 성장하면서 지지체 표면 상에 고분자 섬유 집합체가 형성

되고, 상기 고분자 섬유 집합체는 이를 구성하는 다수 개의 고분자 섬유가 서로 얹혀서 3차원 네트워크 구조의 고분자 매트릭스가 형성된다(도 1의 (A) 참조).

[0058] 그리고, 작용기를 포함하는 공중합체와 달리, 작용기를 포함하지 않는 중합체로 성장된 고분자 섬유인 경우, 별도의 개질반응을 수행하여 고분자 섬유에 작용기를 형성시킬 수도 있다.

[0059] 그리고, 도 1의 (A)와 같이, 상기 고분자 매트릭스는 고분자 섬유 집합체 중 일부의 고분자 섬유가 수직인 방향으로 고분자 매트릭스의 표면 외부로 돌출되어 섬유기둥을 형성하게 되며, 이때, 섬유기둥은 직선형, 유선형, S자형 등 다양한 형태를 모두 포함하는데, 바람직하게는 섬유기둥이 대다수가 고분자 매트릭스의 장방향과 수직인 방향으로 형성될 수 있다.

[0060] 상기 고분자 매트릭스가 형성되면서, 고분자 매트릭스가 지지체 표면 상부에 고정하게 된다.

[0061] 이때, 상기 중합반응은 0℃ ~ 80℃, 바람직하게는 0℃ ~ 30℃, 더욱 바람직하게는 2℃ ~ 10℃ 하에서 1분 ~ 48 시간 동안, 바람직하게는 30분 ~ 36 시간 동안 수행할 수 있다. 그리고, 중합반응시, 교반 속도는 100 ~ 300 rpm의 속도로 바람직하게는 150 ~ 250 rpm의 속도로, 더욱 바람직하게는 170 ~ 230 rpm의 속도로 교반시키면서 수행할 수 있다. 이때, 중합반응온도가 0℃ 이하이면 중합반응 진행이 안될 수 있고, 80℃를 초과하면 과도한 중합반응으로 인해 섬유기둥이 충분히 형성되지 않을 수 있다. 그리고, 교반속도가 100 rpm 미만이면 누운 형상으로 성장한 고분자 섬유가 증가할 수 있으며, 300 rpm을 초과하는 경우 지지체(또는 기판)에 대한 고정력이 감소할 수 있고, 제조된 복합체의 장기사용안정성이 떨어질 수 있다.

[0062] 앞서 설명한 바와 같이 중합되어 형성된 공중합체는 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 형성하게 된다. 일례를 들면, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는 카르복시기를 포함하는 고분자 섬유, 아민기를 포함하는 고분자 섬유 및 알데하이드기를 포함하는 고분자 섬유일 수 있다. 보다 바람직한 일례를 들면, 상기 카르복시기를 포함하는 고분자 섬유는 아nil린 및 1-아미노벤조익산, 2-아미노벤조익산, 또는 3-아미노벤조익산의 공중합체일 수 있고, 상기 아민기를 포함하는 고분자 섬유는 아nil린 및 1-페닐렌다이아민, 2-페닐렌다이아민 또는 3-페닐렌다이아민의 공중합체일 수 있고, 상기 알데하이드기를 포함하는 고분자 섬유는 피론 또는 피롤;과 피롤-1-카브알데하이드, 피롤-2-카브알데하이드 또는 피롤-3-카브알데하이드;의 공중합체 일 수 있다.

[0063] 또한, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유는 폴리아nil린, 폴리피롤, 아크릴로나이트릴-뷰타디엔-스티렌, 폴리락틱산, 폴리비닐알콜, 폴리아크릴로니트릴, 폴리에스테르, 폴리에틸렌, 폴리에틸렌이민, 폴리프로필렌옥사이드, 폴리비닐리데인 플로라이드, 폴리우레탄, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 폴리카프로락탐, 폴리락틱-co-글리콜산, 폴리글리콜산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리다이메틸실록산, 테플론, 콜라겐, 폴리스티렌-co-무수말레인산, 나일론, 셀룰로오스, 키토산, 실리콘 등의 고분자 섬유를 개질 등을 통해서 고분자 섬유에 작용기를 형성시킨 것을 사용할 수도 있다.

[0064] 3단계는 지지체의 표면에 고정된 고분자 매트릭스에 바이오 분자를 고정시키는 공정으로서, 구체적으로는 고분자 매트릭스를 형성하는 고분자 섬유의 작용기에 바이오 분자를 반응(또는 흡착)시켜서 도 1의 (B)와 같이 바이오 분자를 고분자 매트릭스와 고정(또는 결합)시키는 공정이다.

[0065] 이때, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 직접적으로 결합되거나 또는 간접적으로 결합되어 있을 수 있다.

[0066] 그리고, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 공유결합을 통해 직접적으로 결합되어 있을 수 있다.

[0067] 그리고, 고분자 섬유의 상기 작용기와 상기 바이오 분자는 이중의 바이오 분자들의 특이적 결합을 통해 결합되어, 작용기와 바이오 분자가 링커(linker)인 이중의 바이오 분자를 통해 간접적으로 결합되어 고분자섬유에 상기 바이오 분자가 고정되어 있을 수 있다.

[0068] 그리고, 상기 특이적 결합은 항체-항원, 단백질A-항체, 단백질G-항체, 핵산-핵산 하이브리드, 앵타머-바이오 분자, 아비딘-비오틴(Avidin-biotin), 스트렙타비딘-비오틴(Streptavidin-biotin), 렉틴-탄수화물(Lectins-carbohydrate), 렉틴-글리코실단백질(Lectin-glycoprotein) 등의 특이적 결합을 통해 상기 작용기와 바이오 분자 사이에 상기 이중의 바이오 분자가 링커(linker)역할을 하여 간접적으로 작용기와 바이오 분자가 간접적으로 결합되어 있을 수 있다.

[0069] 그리고, 상기 바이오 분자는 효소, 알부민, 인슐린, 콜라겐, 항체, 항원, 단백질A, 단백질G, 아비딘, 스트렙타비딘, 바이오틴, 핵산, 펩타이드, 렉틴(Lectin), 탄수화물 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

- [0070] 그리고, 상기 효소는 탄산무수화효소, 트립신, 키모트립신, 서브틸리신, 파파인, 서몰리신, 리파아제, 펠크시다아제, 티로시나아제, 라카아제, 셀룰라아제, 자일라나제, 락타아제, 유기포스포하이드롤레이즈, 콜린에스테라아제, 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 포름산 탈수소 효소, 알데하이드 탈수소 효소, 알코올 탈수소 효소, 포도당 탈수소 효소, 및 포도당 이성화 효소 등을 포함할 수 있고, 더욱 바람직하게는 트립신, 리파아제, 당산화 효소, 펠크시다아제 등을 포함할 수 있다.
- [0071] 그리고, 3단계는 바이오 분자로서 효소를 사용하는 경우, 석출코팅법(precipitate coating)으로 바이오 분자를 고분자 섬유의 작용기와 반응 및 고정화시킬 수 있는데, 이를 구체적으로 설명하면, 지지체 표면에 형성된 고분자 매트릭스를 작용기화(functionalization) 반응을 수행하는 3-1단계; 작용기화 반응을 수행한 고분자 매트릭스를 구성하는 고분자 섬유의 작용기와 바이오 분자를 결합반응시키는 3-2단계; 바이오 분자를 석출시키는 3-3단계; 및 석출된 바이오 분자간 가교결합시키는 3-4단계;를 포함하는 공정을 수행할 수도 있다.
- [0072] 또한, 3단계는 가교결합시킨 후, 세척 후, 미반응 작용기를 캡핑(capping)시키는 3-5단계;를 더 포함할 수 있다.
- [0073] 바람직한 일례로, 고분자 섬유 표면에 작용기로서 카르복실기를 포함할 경우 단백질의 아민기와 연결하기 위해서, 상기 3-1 단계의 작용기화 반응은 EDC-NHS 커플링 반응을 통해 수행될 수 있다. 2단계에서 제조한 지지체 표면에 고정된 상기 고분자 매트릭스를 5 ~ 20 mg/ml 농도의 EDC(1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide) 및 35 ~ 70 mg/ml 농도의 NHS(N-Hydroxysuccinimide)를 포함하는 EDC-NHS 커플링 용액에 10℃ ~ 35℃ 하에서, 30분 ~ 2시간 정도 담지하여 20~100 rpm 정도로 교반시킨 후, 이를 꺼내어 세척하여 수행할 수 있다.
- [0074] 바람직한 일례로, 고분자 섬유 표면에 작용기로서 아민기를 포함할 경우 단백질의 아민기와 연결하기 위해서, 상기 3-1 단계의 작용기화 반응은 글루타알데하이드(glutaraldehyde)와의 반응을 통해 수행될 수 있다. 2단계에서 제조한 지지체 표면에 고정된 상기 고분자 매트릭스를 0.01 ~ 1%의 글루타알데하이드 용액에 30분 ~ 2시간 정도 담지하면, 표면에 알데하이드 작용기가 생기고, 이를 꺼내어 세척하여 단백질을 고정화할 수 있다.
- [0075] 바람직한 일례로, 고분자 섬유 표면에 작용기로서 알데하이드기를 포함할 경우 단백질의 아민기와 연결하기 위해서, 특별한 처리과정은 필요하지 않고 그대로 단백질 용액에 담지하여 단백질을 고정화할 수 있다.
- [0077] 그리고, 3-2단계는 작용기화시킨 고분자 매트릭스를 바이오 분자를 포함하는 용액에 투입한 다음, 결합반응을 수행하여 고분자 섬유의 작용기와 바이오 분자를 결합시킬 수 있다.
- [0078] 다음으로, 3-3 단계의 석출은 3-2 단계를 수행한 바이오 분자가 결합한 고분자 매트릭스를 석출화제를 포함하는 용액에 투입한 후, 10℃ ~ 35℃ 하에서, 10분 ~ 1시간 동안 석출반응을 유도하면 바이오 분자들이 서로 뭉치게 되어 그 크기가 커지게 되어 결국 섬유의 표면 또는 섬유와 섬유간에 형성되는 공극(공간) 사이에서 석출하게 된다.
- [0079] 이때 상기 석출화제는 바이오 분자의 활성에 거의 영향을 미치지 않으면서 바이오 분자를 석출시킬 수 있는 것이면 종류의 제한없이 사용될 수 있지만 바람직하게는 메탄올, 에탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 부틸알콜, 아세톤, PEG, 암모늄 설페이트, 소듐 클로라이드, 소듐 설페이트, 소듐 포스페이트, 포타슘 클로라이드, 포타슘 설페이트, 포타슘 포스페이트 및 이들의 수용액을 단독 또는 혼합한 것일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0080] 다음으로, 3-4 단계의 석출반응을 수행한 용액(고분자 매트릭스를 포함)에 가교제를 첨가하여 10℃ ~ 35℃ 하에서, 10분 ~ 1시간 동안 가교결합을 유도한 후, 2℃ ~ 8℃ 하에서 10시간 ~ 24시간 동안 바이오 분자간 가교결합시켜서 도 1의 (C)에 개략도로 나타난 바와 같이, 작용기에 고정된 바이오 분자가 근접하고 있는 단수 또는 복수 개의 바이오 분자와 서로 가교시켜서 고분자 매트릭스에 고정되는 바이오 분자의 양을 증대시키고, 바이오 분자의 고정력을 증대시킬 수 있다.
- [0081] 상기 가교제는 바이오 분자의 활성을 저해하지 않고서 가교결합을 형성할 수 있는 것이면 종류의 제한없이 사용될 수 있으며, 바람직하게는 디이소시아네이트, 디안히드라이드, 디에폭사이드, 디알데하이드, 디이미드, 1-에틸-3-디메틸 아미노프로필카보디이미드, 글루타르알데하이드, 비스(이미도 에스테르), 비스(석신이미딜 에스테르) 및 디에시드 클로라이드 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 1-에틸-3-디메틸 아미노프로필카보디이미드, 글루타르알데하이드, 비스(이미도 에스테르), 비스(석신이미딜 에스테르) 및 디에시

드 클로라이드 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

- [0083] 상기 3-4 단계의 가교반응은 3-3 단계의 석출반응 보다 나중에 수행하는 것이 바람직한데, 이는 바이오 분자의 가교결합을 먼저 수행하는 경우 섬유기등과 섬유기등 사이에 형성된 공극, 또는 고분자 섬유와 고분자 섬유간에 형성된 공극의 내부를 바이오 분자가 상당부분 채우지 못하게 되거나 가사 이를 채웠다 하더라도 바이오 분자들의 농도는 주위 농도와 같아지게 된다. 주위와 같은 농도의 바이오 분자가 가교결합을 하여 섬유안의 공극에서 공극의 입구보다 더 큰 덩어리를 이루지 못하여 세척 과정에서 가교결합된 바이오 분자가 외부로 유출되는 경우가 발생할 확률이 높기 때문이다. 하지만 석출공정을 먼저 수행하면 바이오 분자들이 강제적으로 섬유기등 사이 및 고분자 섬유간에 형성된 공극을 더욱 조밀하게 메우게 되며 공극에 채워진 바이오 분자들이 서로 가교결합을 통해 큰 덩어리를 이루기 때문에 병목현상 또는 병 속의 배(ship in a bottle) 현상으로 수세과정에서 손실을 최소화시킬 수 있다.
- [0084] 상기 3-3단계 및 3-4 단계는 고정화하려는 단백질의 양을 늘리고, 안정성을 향상시키기 위한 단계이다. 고정화하려는 단백질의 종류 및 목적에 따라 상기 3-3단계 및 3-4 단계를 생략할 수도 있다.
- [0086] 이렇게 제조된 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 도 1의 (C)에 개략도와 같이, 지지체; 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스; 및 상기 작용기에 고정된 바이오 분자;를 포함할 수 있다. 이때, 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 지지체 표면에 형성 및 고정되어 있다. 또한, 상기 바이오 분자는 근접하고 있는 단수 또는 복수 개의 바이오 분자와 서로 가교되어 있을 수 있다.
- [0087] 그리고, 상기 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 직접적으로 결합되거나 또는 간접적으로 결합되어 있을 수 있는데, 구체적인 일례를 들면, 바이오 분자는 고분자 섬유의 작용기와 공유결합을 통해 직접적으로 결합되어 있을 수 있으며, 본 발명이 이에 반드시 한정되는 것은 아니다.
- [0088] 또한, 고분자 섬유의 상기 작용기와 상기 바이오분자는 이중의 바이오분자에 의해 특이적 결합되어, 작용기와 바이오 분자가 링커(linker) 역할을 하는 이중의 바이오 분자들을 통해 간접적으로 결합되어 고분자섬유에 상기 바이오분자가 고정되어 있을 수 있는데, 좀 더 구체적으로는 상기 특이적 결합은 항체-항원, 프로테인A-항체, 프로테인G-항체, 핵산-핵산 하이브리드, 앵타머-바이오분자, 아비딘-비오틴(Avidin-biotin), 스트렙타비딘-비오틴(Streptavidin-biotin), 렉틴-탄수화물(Lectins-carbohydrate), 렉틴-글리코실단백질(Lectin-glycoprotein) 등의 특이적 결합을 통해 상기 작용기와 바이오 분자 사이에 상기 이중의 바이오 분자가 링커(linker) 역할을 하여 고분자 섬유의 작용기와 바이오 분자가 간접적으로 결합되어 있을 수 있다.
- [0090] 또한, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 상기 복합체에서 지지체가 제거되어, 상기 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스; 및 상기 작용기에 고정된 바이오 분자;를 포함하는 평균두께 50 nm ~ 100 μ m의, 바람직하게는 평균두께 100 nm ~ 50 μ m의 필름 타입의 복합체일 수도 있다.
- [0092] 또한, 본 발명은 앞서 설명한 바이오 분자-고분자섬유 복합체 제조시, 3단계를 수행하지 않고, 2단계를 수행하여 바이오 분자가 고정화 되지 않은 바이오 분자 고정용 지지체 자체를 제공할 수 있다. 즉, 상기 바이오 분자 고정용 지지체는 지지체; 및 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스;를 포함할 수 있다.
- [0093] 또한, 상기 바이오 분자 고정용 지지체는 지지체를 제거하여 작용기를 포함하는 고분자 섬유를 다수 개 포함하는 고분자 섬유 집합체가 3차원 네트워크 구조를 형성하고 있는 고분자 매트릭스만으로 구성될 수도 있다.
- [0095] 상기 바이오 분자-고분자섬유 복합체 및 바이오 분자 고정용 지지체에서 지지체 종류, 상기 고분자 매트릭스의 형태, 이를 구성하는 고분자 섬유의 성분, 바이오 분자 종류 등은 앞서 설명한 바와 동일하다.

[0097] 앞서 설명한 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 기존 복합체 보다 복합체 내 바이오 분자 양을 크게 증대시킬 수 있으며, 열안정성 및 장기사용안정성이 우수하며, 이를 높은 상업성으로 제조할 수 있다.

[0098] 이러한, 본 발명의 바이오 분자-고분자섬유 복합체는 친환경 생촉매, 이산화탄소 저감, 바이오 센서, 바이오 정화기기, 바이오 연료전지, 중합효소연쇄반응용 촉매, 단백질 가수분해장치, 단백질 정량분석 장치(ELISA), 방오제, 효소컬럼, 결정성 이부프로펜 제조 등 다양한 분야에 사용할 수 있다.

[0100] 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예를 통해 보다 상세하게 설명한다. 하기 실시예 및 실험예들은 본 발명을 예시하기 위하여 제시된 것일 뿐 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0101] [실시예]

[0102] 실시예 1 ~ 실시예 6 : 바이오 분자 고정용 지지체의 제조

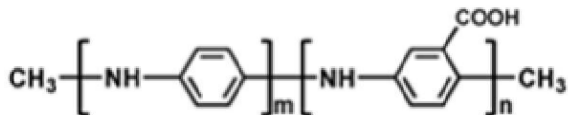
[0103] 카르복시기를 포함하는 하기 화학식 1로 표시되는 공중합체를 중합 및 성장된 섬유(carboxylated polyaniline nanofiber, cPANF)로 이루어진 3차원 네트워크 구조의 고분자 매트릭스를 형성시켜서, ABS(acrylonitrile-butadiene-styrene) 폴리머 기판 표면에 고정된 고분자 매트릭스를 제조하여, 바이오 분자 고정용 지지체를 제조하였다.

[0104] 구체적으로, 아닐린(aniline)의 농도는 10 mM로 고정시키고, 3-ABA(3-aminobenzoic acid)의 농도를 하기 표 1과 같이 달리하여 고분자 나노섬유 중합용액을 제조하였다. 이때, 고분자 나노섬유 중합용액 내 중합개시제인 암모늄 퍼설페이트(ammonium persulfate)의 농도는 6.7 mM이 되도록 하였다.

[0105] 다음으로, 고분자 나노섬유 중합용액에 지지체인 ABS 폴리머 기판을 투입한 후, 4℃에서 200 rpm으로 교반시켜 중합반응을 진행시켰다.

[0106] 다음으로, 24 시간을 반응시킨 후에는 증류수를 이용하여 5분 동안 200 rpm에서 세척을 하였고, 이러한 세척을 3회 반복하여 바이오 분자 고정용 지지체를 제조하여 실시예 1 ~ 실시예 6을 각각 실시하였다.

[0107] [화학식 1]



[0108]

[0109] 상기 화학식 1에서 m 및 n은 몰비로서, m : n = 1 : 0 ~ 20 몰비이다.

표 1

구분	아닐린 농도	3-ABA 농도	중합개시제 농도
실시예 1	10 mM	0 mM	6.7 mM
실시예 2	10 mM	1 mM	6.7 mM
실시예 3	10 mM	3 mM	6.7 mM
실시예 4	10 mM	5 mM	6.7 mM
실시예 5	10 mM	10 mM	6.7 mM
실시예 6	10 mM	20 mM	6.7 mM

[0112] 실험예 1 : 바이오 분자 고정용 지지체의 형태 관찰

[0113] 바이오 분자 고정용 지지체의 형태를 확인하기 위하여, 상기 실시예 1 ~ 6에서 제조된 바이오 분자 고정용 지지체를 주사전자현미경(SEM, Quanta 250 FEG)을 이용하여 관찰하였고, 그 결과를 하기 도 2의 (a) ~ (h)에 각각 나타내었다.

[0114] 도 2을 살펴보면, 실시예 1의 경우, 섬유기둥이 충분히 형성되지 않으며, 실시예 5 및 실시예 6의 경우, 나노섬

유가 수직한 방향으로 성장하지 않고 옆으로 누운 형태로 제조되는 것을 확인할 수 있었다.

- [0115] 그러나, 실시예 2 ~ 실시예 4의 경우, 3-ABA 농도가 증가할수록 섬유기둥이 증가하는 경향을 확인할 수 있었다.
- [0116] 도2의 (g)와 (h)를 살펴보면, 섬유기둥이 하단에 지지층이 생기면서 일부가 위쪽인 수직한 방향으로 성장한 모습을 확인할 수 있다.

[0118] **실험예 2 : 바이오 분자 고정용 지지체의 표면 작용기 확인**

- [0119] 바이오 분자 고정용 지지체의 표면 작용기의 존재를 확인하기 위하여, 실시예 1 ~ 6에서 제조한 바이오 분자 고정용 지지체를 라만분광기(LabRam ARAMIS IR2)를 이용하여 FT-IR 스펙트럼을 확인하였고, 그 결과를 하기 도 3에 나타내었다.
- [0120] 도 3을 살펴보면, $1690 \sim 1750 \text{ cm}^{-1}$ 의 파장 피크가 작용기인 카르복시기인데, 3-아미노벤조익산의 농도가 0 mM, 10 mM 및 20 mM인 경우 피크가 매우 약하거나, 나타나지 않는 것을 확인할 수 있다. 이는 중합(polymerization)과정에서 카르복시기를 포함하는 나노섬유의 성장이 제대로 수행되지 않은 것을 유추할 수 있다.
- [0121] 이에 반해 3mM(실시예 3) 및 5mM(실시예 4)의 경우, 매우 강한 피크를 보였으며, 1 mM(실시예 2)의 경우 실시예 3 ~ 4 보다 상대적으로 약한 피크를 보였다.
- [0122] 상기 실험예 1 및 실험예 2를 통하여, 고분자 매트릭스 형성시, 제1단량체와 제2단량체를 1 : 0.05 ~ 0.95 몰비로 합성하는 것이 적정함을 확인할 수 있었다.

[0124] **제조예 1 : 당산화효소를 이용한 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 제조**

- [0125] 상기 실시예 3의 바이오 분자 고정용 지지체에 효소석출코팅(enzyme precipitate coating, EPC) 방식을 통해 바이오 분자 고정화를 진행하였다. 이때, 바이오 분자는 당산화효소(glucose oxidase, GOx)를 사용하였다.
- [0126] 구체적으로, 실시예 3의 바이오 분자 고정용 지지체의 작용기인 카르복시(Carboxyl)기에 당산화 효소를 공유결합시키기 위해 EDC-NHS 커플링 반응을 1시간 동안 상온($24^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 진행하였다. 이때, EDC의 농도는 10 mg/ml, NHS는 50 mg/ml이었다. EDC 및 NHS 용액을 혼합한 용액에 cPANF가 성장한 기판을 넣어주고 1시간 동안 50 rpm으로 교반하여 주었다.
- [0127] EDC-NHS 커플링 반응 완료 후, 증류수를 이용하여 3회 세척하였으며, 세척은 5분 동안 200 rpm에서 교반하여 수행하였다.
- [0128] 다음으로 세척한 바이오 분자 고정용 지지체를 10 mg/ml의 바이오 분자 용액을 첨가하고 1시간 동안 틸트 셰이킹(tilt shaking)을 50 rpm에서 진행시켜, 당산화 효소를 작용기와 공유결합시켰다.
- [0129] 다음으로, 암모늄설페이트(ammonium sulfate)를 첨가하여 최종 농도가 55%가 되도록 한 다음, 이를 30분간 상온($24^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 틸트 셰이킹(tilt shaking)을 50 rpm으로 진행하여, 당산화 효소가 석출되도록 유도하였다.
- [0130] 다음으로, 가교제로서 글루타알데하이드(glutaraldehyde)를 첨가하여 최종 농도가 0.5%가 되도록 하고, 30분간 상온($24^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 틸트 셰이킹(tilt shaking)을 50 rpm으로 진행하여, 석출된 당산화 효소간에 가교결합을 유도하였고, 이후, 17 시간 동안 4°C 에서 틸트 셰이킹(tilt shaking)을 50 rpm을 진행하였다.
- [0131] 그리고, 가교결합을 완료한 후, 이를 완충용액을 이용하여 200 rpm으로 5분간 3회 세척하였다.
- [0132] 다음으로, 미반응된 알데하이드(aldehyde) 작용기를 캡핑(capping)해주기 위해, 100 mM Tris 완충용액(pH 7.0)을 넣고 상온($24^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 200 rpm으로 1시간 동안 교반하여, 캡핑반응을 수행한 다음, 완충용액을 이용하여 200 rpm으로 5분동안 3회 세척하여 바이오 분자-나노섬유 복합체를 제조하였다.

[0134] **제조예 2 : 키모트립신을 이용한 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 제조**

- [0135] 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 제조되되, 당산화 효소 대신 키모트립신(α -chymotrypsin, CT)을 사용하고, pH 7.8의 Tris 완충용액을 사용한 것을 제외하고는 동일한 방법으로 바이오 분자-나노섬유 복합체를

제조하였다.

[0137] **제조예 3 : 리파아제를 이용한 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 제조**

[0138] 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 제조하되, 당산화 효소 대신 리파아제(LP, lipase)를 사용한 것을 제외하고는 동일한 방법으로 바이오 분자-나노섬유 복합체를 제조하였다.

[0140] **제조예 4 : 양고추냉이 과산화효소를 이용한 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 제조**

[0141] 상기 제조예 1과 동일한 방법으로 제조하되, 당산화 효소 대신 양고추냉이 과산화효소(HRP, horseradish peroxidase)를 사용한 것을 제외하고는 동일한 방법으로 바이오 분자-나노섬유 복합체를 제조하였다.

[0143] **비교제조예 1 : 효소의 준비**

[0144] 당산화효소(glucose oxidase, GOx) 효소를 자체를 준비하였다.

[0146] **비교제조예 2 : 효소의 준비**

[0147] 키모트립신(α -chymotrypsin, CT) 효소를 준비하였다.

[0149] **비교제조예 3 : 효소의 준비**

[0150] 리파아제(LP, lipase) 효소를 준비하였다.

[0152] **비교예 4 : 효소의 준비**

[0153] 양고추냉이 과산화효소(HRP, horseradish peroxidase) 효소를 준비하였다.

[0155] **실험예 3 : 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 형태 관찰**

[0156] 바이오 분자-고분자나노섬유 복합체의 형태를 관찰하기 위하여, 제조예 1 ~ 4에서 제조된 복합체를 주사전자현 미경(SEM, Quanta 250 FEG)을 이용하여 관찰하였고, 그 결과를 하기 도 4에 나타내었다.

[0157] 도 4(a)는 실시예 3의 바이오 분자 고정용 지지체를 관찰한 이미지이고, (b)는 제조예 1의 복합체 표면을 관찰한 이미지이고, (c)는 제조예 2의 복합체 표면을 관찰한 이미지이고, (d)는 제조예 3의 복합체 표면을 관찰한 이미지이다.

[0158] 도 4(a)와 (b) ~ (d)를 비교해 보면, 효소가 고정되기 전의 바이오 분자 고정용 지지체(a)에 효소를 고정화시키는 경우 지지체의 표면에 효소가 결합 및 고정되어 두께가 두꺼워진 것을 확인할 수 있었다.

[0160] **실험예 4 : 바이오 분자-나노섬유 복합체의 열안정성 분석**

[0161] 바이오 분자-나노섬유 복합체의 열안정성을 확인하기 위하여 제조예 1 ~ 4에서 제조된 복합체 및 비교예 1 ~ 3의 효소 각각을 50℃ 하에서 12시간 보관한 후, 활성을 측정하였고, 비교예 4의 효소는 45℃ 하에서 12시간 동안 보관 및 활성을 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0162] 활성 측정은 각각의 효소에 적합한 기질을 사용하여 광학적으로 용액의 색변화를 측정하였다. GOx의 경우, 글루코오스(glucose)와 TMB(3,3', 5,5' -Tetramethylbenzidine)를 기질로 사용하였고, CT의 경우, TP(N-Succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe p-nitroanilide)를 기질로 사용하였고, LP의 경우, 4-나이트로페닐뷰티레이트(4-nitrophenyl butyrate)를 기질로 사용하였고, HRP의 경우, TMB(3,3', 5,5' -Tetramethylbenzidine)를 기질로 사용하였다.

[0163] 그리고, 효소와 기질을 섞어주고, GOx와 HRP의 경우는 410 nm 파장에서, CT와 LP는 410 nm 파장에서 색변화를 분광기로 검출하여 활성을 측정하였다.

[0164] 도 5를 살펴보면, 제조예 1 ~ 4의 복합체는 비교예 1 ~ 4와 각각 비교할 때, 상대적 활성이 80% 이상으로 유지되는 것을 확인할 수 있고, 복합체를 형성하지 않은 효소는 시간 경과에 따라 활성이 현저하게 저하되는 것을 확인할 수 있었다.

[0165] 이를 통하여, 본 발명의 바이오 분자-나노섬유 복합체가 열안정성이 우수함을 확인할 수 있었다.

[0167] 실험예 5 : 바이오 분자-나노섬유 복합체의 장기사용안정성 및 미생물 사멸 효과 확인 실험

[0168] (1) 과산화수소 생성 측정

[0169] 바이오 분자-나노섬유 복합체의 응용으로 ABS(acrylonitrile-butadiene- styrene) 폴리머를 이용하여 임펠러를 제작하였고, 임펠러의 블레이드(Blade) 표면에 실시예 1과 동일한 방법으로 고분자 매트릭스를 형성시킨 후, 동일한 방법으로 당산화 효소(GOx)를 고정시켰다.

[0170] 다음으로, 제조한 바이오 분자-나노섬유 복합체(GOx 임펠러)의 GOx에 의해 과산화수소(H_2O_2)가 생성되고, 이에 의해 미생물이 사멸하는데, 이를 이용하여 미생물 오염방지 효과 실험을 하기와 같이 진행하였다.

[0171] 10mM의 글루코스(glucose)를 GOx 임펠러가 있는 용액에 첨가한 다음, 200 rpm으로 교반을 수행하였고, 시간에 따른 과산화수소 농도 변화를 측정하였으며, 그 결과를 도 6(a) 나타내었다.

[0172] 도 6(a)를 살펴보면, GOx가 고정화된 임펠러는 지속적으로 과산화수소를 생성하는 것을 확인하였으며, 이에 반해, GOx가 고정화되지 않은 임펠러는 과산화수소가 생성되지 않았다.

[0174] (2) 장기사용안정성 측정

[0175] 다음으로, 고정화된 GOx가 생성된 과산화수소에 의해 활성이 저해되는 효과가 있는지 확인하기 위하여, GOx 임펠러를 이용하여 과산화수소를 반복적으로 생산하는 실험을 진행하였고, 그 결과를 도6(b)에 나타내었다. 도 6(b)를 살펴보면, GOx 임펠러를 1시간씩 10회 재사용하였음에도 초기 활성의 90% 이상을 유지하는 결과를 얻을 수 있었다.

[0176] 이를 통하여 장기사용안정성이 우수함을 확인할 수 있었다.

[0178] (3) 미생물 사멸 효과 측정

[0179] 상기 GOx 임펠러로 과산화수소 생성 측정시, 1시간 동안 생성된 과산화수소와 2시간 동안 생성된 과산화수소를 박테리아의 일종인 Staphylococcus aureus가 존재하는 용액에 첨가하였더니, 과산화수소를 넣지 않은 경우에 비하여, 생존한 박테리아 수가 시간에 따라 급격히 감소함을 확인할 수 있었다(도6 (c) 참조).

[0180] GOx 임펠러가 1시간 반응한 경우에 비하여 2시간 반응한 경우가 과산화수소의 생성량이 더 많으므로, 박테리아를 더 많이 사멸시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0182] 실험예 6 : 바이오 분자-나노섬유 복합체의 염료 분해

[0183] 산업용으로 사용되는 염료에는 아조(Azo)기가 포함되어 있는 경우가 많은데, 이는 환경을 심각하게 오염시킬 수 있는 물질이다. 아조 계열의 염료는 효소에 의해서 분해가 될 수 있다. 본 발명의 바이오 분자-나노섬유 복합체 기술을 통해 아조염료의 분해 실험을 진행하였다.

[0184] 바이오 분자-나노섬유 복합체의 응용으로 ABS(acrylonitrile-butadiene- styrene) 폴리머를 이용하여 임펠러를 제작하였고, 임펠러의 블레이드(Blade) 표면에 실시예 1과 동일한 방법으로 고분자 매트릭스를 형성시킨 후, 동일한 방법으로 당산화 효소(GOx) 및 양고추냉이 과산화효소(HRP, horseradish peroxidase)를 고정시켰다.

[0185] 글루코스(Glucose)가 GOx에 의해 과산화수소를 생성시키고, 양고추냉이 과산화효소(HRP)가 과산화수소를 이용하

여 아조계열의 염료를 분해하는 방식을 이용하였다.

[0186] 먼저 GOx가 고정화된 블레이드 및 HRP가 고정화된 블레이드의 개수를 변화 시켜가며, 아조 계열의 염료인 Chicago Sky Blue 6B 분해 실험을 진행하였다. 이때 Chicago Sky Blue 6B 및 글루코스의 농도는 각각 $2 \mu\text{M}$ 이었다.

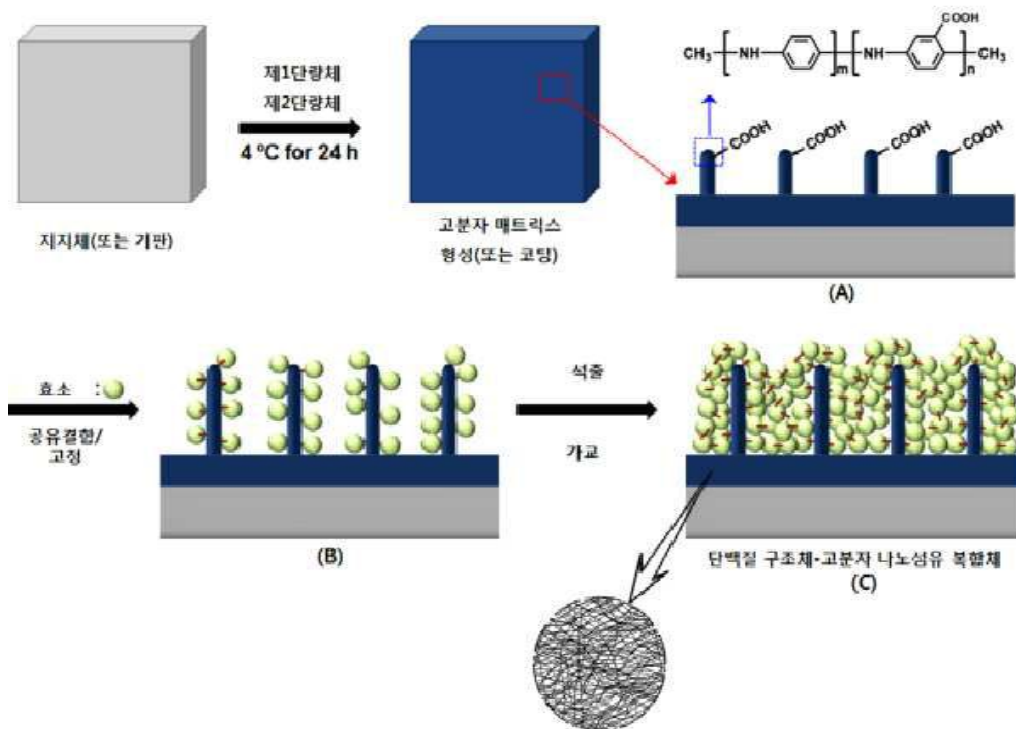
[0187] 실험 결과, GOx 메쉬가 2개, HRP 메쉬가 2개 장착되었을 경우가 다른 개수의 메쉬가 장착된 경우보다 최종 분해율이 가장 높았다(도7 (a)).

[0188] 그리고, 반복 사용에 대한 안정성을 테스트하기 위해 10회의 재사용 실험을 진행한 결과, 70% 이상의 초기 활성을 유지하는 안정화된 결과를 얻을 수 있었다(도7 (b)).

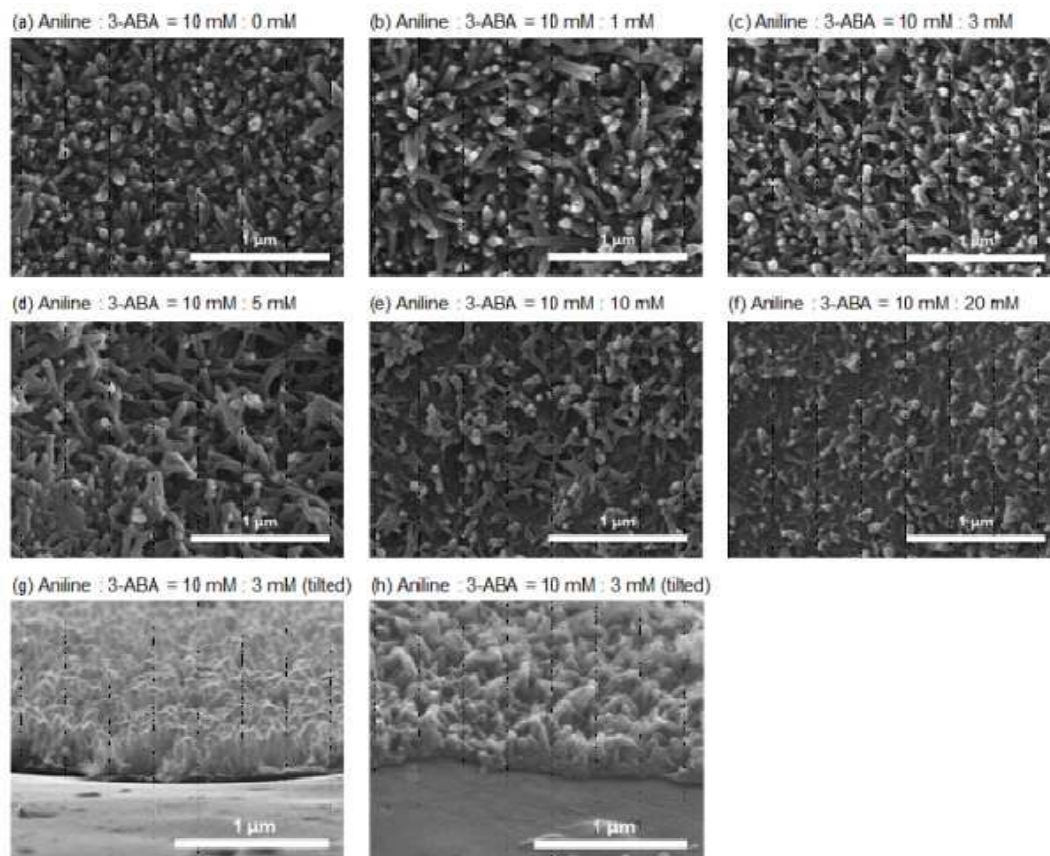
[0189] 이를 통하여, 바이오 분자-나노섬유 복합체를 응용하여 수처리가 가능하고, 장기사용안정성이 우수함을 확인할 수 있었다.

도면

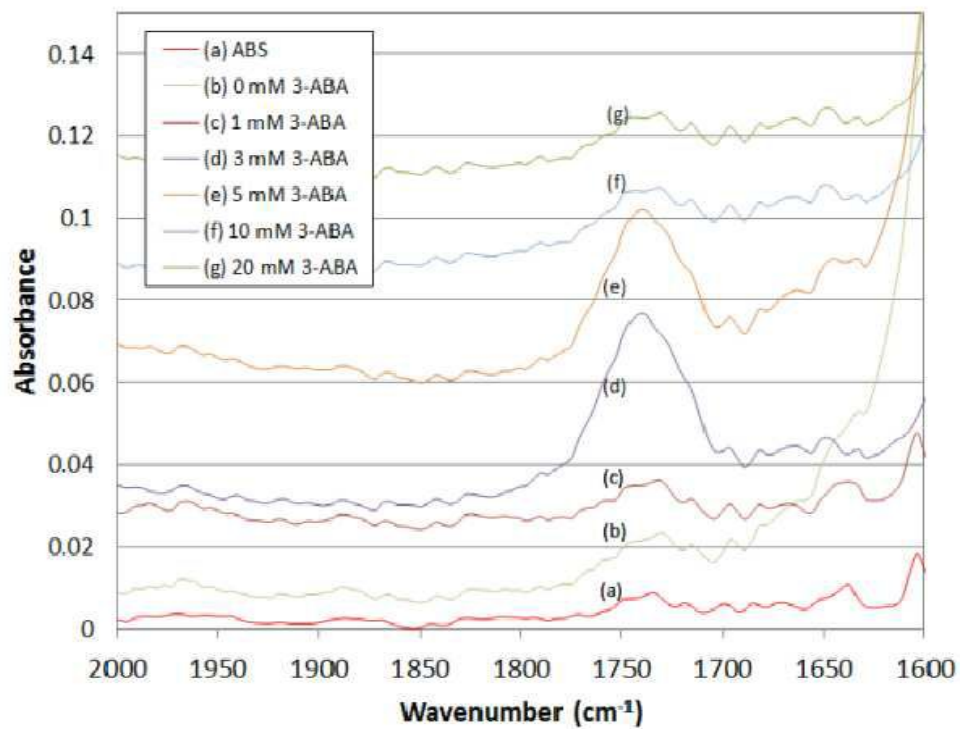
도면1



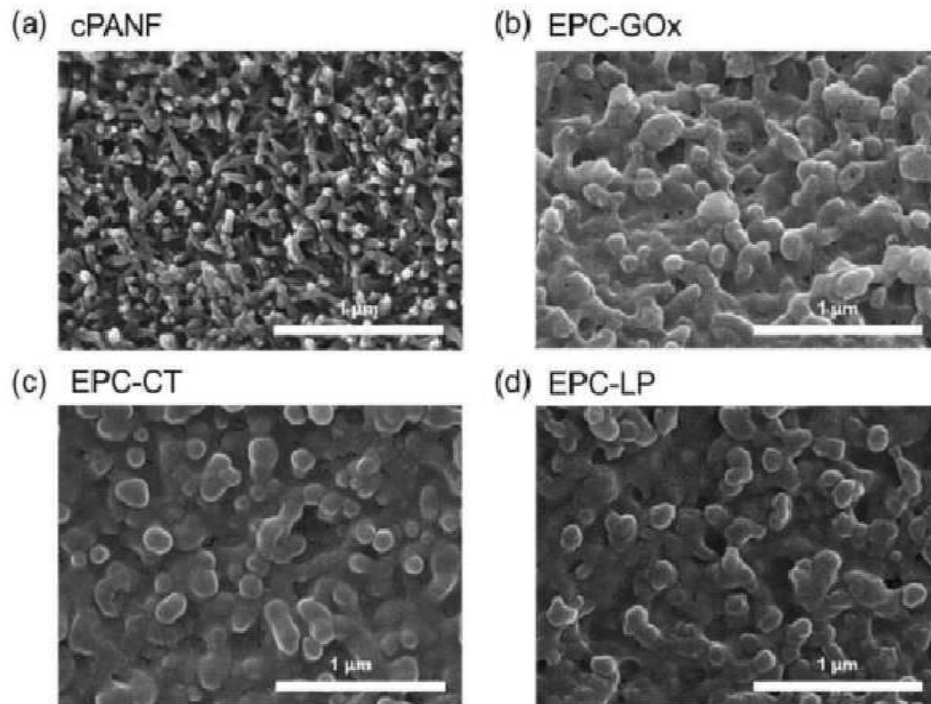
도면2



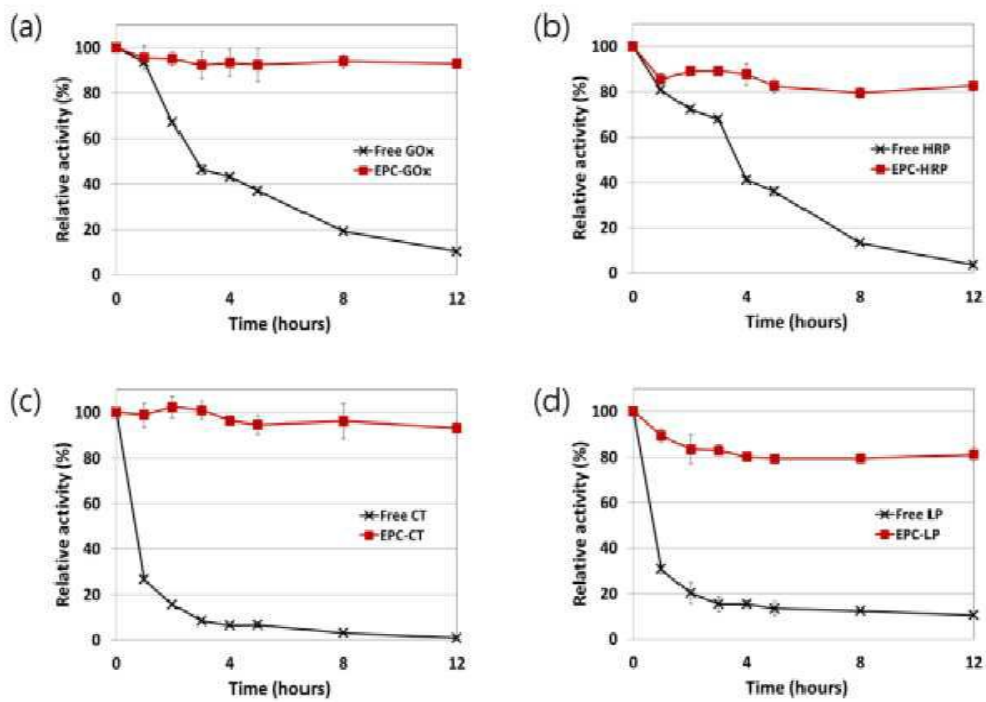
도면3



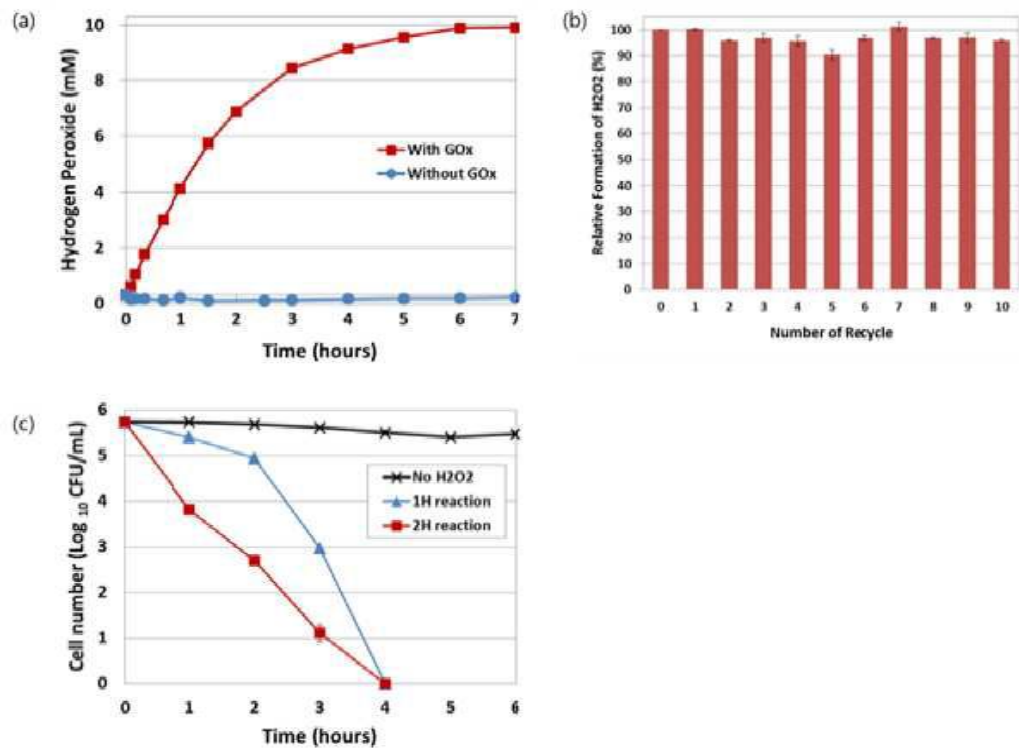
도면4



도면5



도면6



도면7

