



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0122882
(43) 공개일자 2010년11월23일

(51) Int. Cl.

G01N 33/48 (2006.01) C08B 37/16 (2006.01)

G01N 27/42 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0045167

(22) 출원일자 2010년05월13일

심사청구일자 2010년05월13일

(30) 우선권주장

1020090041461 2009년05월13일 대한민국(KR)

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 공동 220번지 충남대학교

(72) 발명자

양성윤

대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 203동 804호

진혜승

충청남도 천안시 서북구 두정동 대우2차아파트 205동 1302호

(74) 대리인

특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 5 항

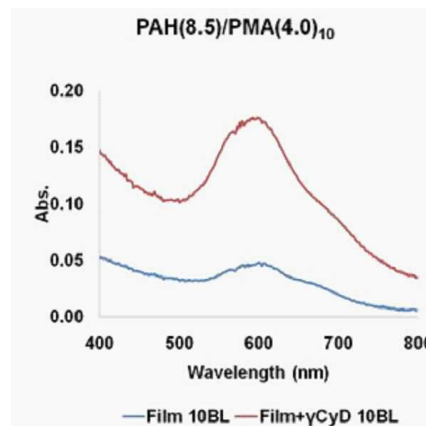
(54) 고분자 전해질 다층막 및 생체감응장치

(57) 요약

본 발명은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조에 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 고분자 전해질 다층막, 이의 제조방법 및 이를 이용한 생체감응장치 또는 화학감응장치에 관한 것이다.

본 발명의 다층막은 접촉각을 통하여 확인한 결과 젖음성이 뛰어나고, 세포의 흡착력이 우수할 뿐만 아니라, 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체가 다층막에 포함되는 경우, 상기 포함된 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체의 특성을 이용하여 특정 물질을 포집하거나 특정 물질의 광학활성을 유도함으로써, 특정 물질에 대한 존재여부 및 특정 물질의 함량을 측정할 수 있는 생체감응장치 또는 화학감응장치에 유용하게 응용될 수 있으므로, 산업적으로도 그 효과가 매우 크다는 것이다.

대표도 - 도7a



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R11-2007-050-03003-0

부처명 교과부, 한국과학재단

연구관리전문기관

연구사업명 선도연구센터(ACE) 육성산업(패턴집적형 능동형 폴리머 연구센터(ERC))

연구과제명 바이오활성 표면제어 패턴 소재

기여율

주관기관 충남대학교

연구기간 2009년 03월 01일 ~ 2010년 02월 28일

특허청구의 범위

청구항 1

음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조에 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 고분자 전해질 다층막.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 음이온성 고분자 전해질층은 폴리메타아크릴 산, 폴리아크릴 산 및 히알루론산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것이고, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 및 폴리아크릴아미드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것인 다층막.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 다층막의 최외각층의 1 이상이 음이온성 고분자 전해질층인 것을 특징으로 하는 다층막.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 다층막을 포함하는 생체감응장치.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 다층막을 포함하는 화학감응장치.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 고분자 전해질 다층막 및 생체감응장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 바이오엔지니어링(bioengineering) 분야가 대두되고 있다. 바이오엔지니어링이라 함은 세포의 기능을 연구하거나 유도함에 있어서, 세포 배양액에 포함되는 호르몬이나 성장 인자, 혈청을 조절하는 전통적인 방법과 달리 세포가 부착되어 자라는 지지체와 세포와의 상호 작용을 통하여 세포의 특성인 부착(attachment), 증식(proliferation), 분화(differentiation)와 세포외 기질(extracellular matrix) 분비 등을 조절하는 것을 의미한다. 이를 위해서는 생체적합성(biocompatibility)을 가지는 물질의 개발과 표면의 특성을 변화시키는 기술(chemical surface modification)의 개발이 필요하다.

[0003] 따라서, 생체적합성을 가질 뿐만 아니라 세포의 부착능을 향상시킬 수 있는 다층막 및 특정 물질에 대한 포집능과 세포 부착능을 함께 가지는 다층막을 포함한 다양한 다층막 및 이를 포함하는 생체감응장치(biosensor)에 대한 기술의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 상기와 같은 요구에 부응하기 위하여, 본 발명은 생체친화력이 뛰어나고, 물질에 대한 선택적인 포집능력을 갖는 고분자 전해질 다층막 및 상기 다층막을 포함하는 생체감응장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0005] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구

조에 사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막을 제공한다.

- [0006] 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 상기 다층막의 제조방법을 제공한다.
- [0007] 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 상기 다층막을 포함하는 생체감응장치를 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 상기 다층막을 포함하는 화학감응장치를 제공한다.
- [0009] 본 발명자들은 면역성 및 독성의 면에서도 안전하고, 항균성 및 항박테리아성을 확보할 수 있는 고분자 전해질을 이용하여 layer-by-layer(LBL) 증착기술로 다층막을 제조하고, 상기 다층막에 사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 포함 또는 흡착시키는 경우, 세포 생장에 적합하고 흡습성이 우수할 뿐만 아니라, 응용 조건에 따라 특정 물질을 포집하거나 특정 물질의 광학적 활성을 유도할 수 있다는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0010] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0011] 본 명세서에 있어서, 사이클로덱스트린(cyclodextrin)은 글루코피라노우즈(glucopyranose) 단위들이 α -(1,4) 결합을 하고 있는 고리형 올리고사카라이드(oligosaccharide)를 의미한다. 상기 사이클로덱스트린은 녹말이 사이클로덱스트린 글루카노트랜스퍼라제(cyclodextrin glucanotransferase, CGTase)라는 효소에 의해 분해된 후, 분자간 글리코실전이반응(intramolecular transglycosylation)이 진행됨으로써 수득된다.
- [0012] 또한, 본 명세서에 있어서, 감마-사이클로덱스트린(γ -cyclodextrin)은 상기 글루코피라노우즈 단위가 8개 결합되어 있는 고리형 올리고사카라이드를 의미한다.
- [0013] 상기 도 1에 나타낸 바와 같이, 사이클로덱스트린의 2번 탄소(C2) 및 3번 탄소(C3)에 결합해 있는 하이드록실기(hydroxyl group)는 링의 외곽으로 펼쳐져 있고, 6번 탄소(C6)에 결합해 있는 하이드록실기(hydroxyl group)도 반대편 방향으로 외곽으로 펼쳐져 있어, 링의 외곽이 친수성(hydrophilic)을 띄게 된다. 또한, 상대적으로 3번 탄소(C3) 및 5번 탄소(C5)에 결합해 있는 수소 및 에테르의 산소가 링의 안쪽 방향으로 위치하게 되어, 링의 내부(cavity)는 소수성(hydrophobic)을 띄게 된다. 상기 친수성 외곽에 의해 사이클로덱스트린은 물과 같은 극성 용매에 대한 용해도가 높은 친수성 특성을 갖고, 상기 링의 소수성 특성에 의해 분자내부에 분자 크기의 기공을 형성하게 되어, 한 분자 내에 서로 다른 특성을 갖고 있는 micro heterogeneous environment를 갖게 된다.
- [0014] 본 명세서에 있어서, 고분자 전해질(Polyelectrolyte)은 용매에 녹아 해리할 수 있는 고분자, 구체적으로 물에 용해되어 양전하 또는 음전하를 띌 수 있는 고분자를 의미하며, 상기 고분자 전해질에는 양이온성 고분자 전해질(polyanion)과 음이온성 고분자 전해질(polycation)이 포함될 수 있다.
- [0015] 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 고분자뿐만 아니라, 중성 수용성 고분자 중 일반적인 물의 pH 범위에서는 이온화가 잘 되지 않고, 주변의 산도가 매우 높아진 경우에 양전하를 띠는 폴리아크릴 아미드와 같은 중성 수용성 고분자도 포함된다.
- [0016] 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.
- [0017] 본 명세서에 있어서, 1 bilayer는 종류가 상이한 두 고분자 전해질층 각 1층이 적층된 다층막을 의미한다. 일 예로, 3 bilayer는 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액에 교대로 침지시키는 단계를 3회 반복하여, 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 각 1층씩 적층된 이중막이 3개 적층된 다층막을 의미한다.
- [0018] 본 발명의 한 측면에 있어서, 본 발명은 다층막에 관한 것이다.
- [0019] 상기 다층막은 고분자 전해질 다층막일 수 있고, 구체적으로 상기 다층막은 양이온성 고분자 전해질층과 음이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하는 다층막일 수 있으며, 바람직하게는 상기 양이온성 고분자 전해질층과 음이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하고, 상기 교대 적층구조에 사이클로덱스트린 또는 이의 유도체, 바람직하게는 감마-사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막일 수 있다.
- [0020] 상기 음이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 폴리메타아크릴 산(poly methacrylic acid, PMA), 폴리 아크릴 산(poly acrylic acid, PAA), 폴리스티렌 설포네이트(poly styrene sulfonate, PSS) 및 히알루론산(hyaluronic

acid, HA)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있고, 더욱 바람직하게는 폴리메타아크릴 산 또는 폴리 아크릴산으로 이루어진 것일 수 있으며, 상기 양이온성 고분자 전해질층은 바람직하게는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드(poly(allylamine hydrochloride), PAH), 폴리 아크릴아미드(poly acrylamide, PAAm) 및 폴리 4-비닐벤질트리메틸암모늄 클로라이드(poly(4-vinylbenzyltri-methyl ammonium chloride, PVTAC)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것일 수 있고, 더욱 바람직하게는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 또는 폴리 4-비닐벤질트리메틸암모늄 클로라이드로 이루어진 것일 수 있다.

- [0021] 상기 폴리메타아크릴 산, 폴리 아크릴산, 폴리스티렌 설퍼네이트 및 히알루론산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 음이온성 고분자 전해질과 폴리 알릴아민하이드로클로라이드, 폴리 아크릴아미드 및 폴리 4-비닐벤질 트리메틸암모늄 클로라이드로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 양이온성 고분자 전해질은 모두 pH에 따른 전하밀도가 민감하게 변화하는 고분자약전해질(weak polyelectrolyte)로, 상기 고분자 전해질의 pH 변화는 상기 고분자 전해질의 사슬구조에 직접적인 영향을 주게 된다. 상기 사슬구조의 변화는 고분자 전해질의 다층막의 구조 또는 형태(morphology)나 젖음성 등의 다양한 성질에 영향을 미치게 된다. 따라서, 상기 고분자약전해질에 해당하는 음이온성 고분자 전해질층 및 양이온성 고분자 전해질층은 pH를 조절함으로써, 전해질층의 구조를 용이하게 변형시킬 수 있어, 원하는 구조의 다층막을 형성하거나, 다층막에 원하는 물질의 흡착 등이 용이하다는 장점을 갖는다.
- [0022] 상기 폴리메타아크릴산은 폴리메타아크릴산 그 자체뿐만 아니라 그것의 염을 모두 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 폴리메타아크릴산 및 폴리메타아크릴산 염으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다. 상기 폴리메타아크릴산의 분자량은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 10,000 내지 200,000 또는 50,000 내지 150,000일 수 있다.
- [0023] 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.
- [0024] 상기 히알루론산은 D-글루쿠론산과 N-아세틸글로코사민이 β (1 $\rightarrow$ 3) 글리코시드 결합에 의해 연결된 이당 유닛으로 이루어지는 글루코사미드글리칸의 일종으로, 상기 히알루론산은 그 화학적, 물리적 구조에 종 차이가 없고, 인간도 대사계를 가지고 있으며, 면역성 및 독성의 면에서도 가장 안전한 생체 재료이다.
- [0025] 상기 히알루론산은 히알루론산 그 자체뿐만 아니라 그것의 염을 모두 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 히알루론산은 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.
- [0026] 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.
- [0027] 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.
- [0028] 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.
- [0029] 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.
- [0030] 본 발명에 있어서, Layer-by-Layer(LBL)이란 상대전하를 띠는 고분자 전해질이 기질표면에 흡착되도록 하는 방법으로 원하는 만큼 반복을 함으로써 고분자 전해질 다층막 또는 필름의 두께를 조절할 수 있는 방법을 의미한다.
- [0031] 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 전해

질층이 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.

- [0032] 본 발명의 다층막은 상기 고분자 전해질층의 교대 적층구조를 포함하는 다층막에 감마-사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 가지고 있거나 상기 교대 적층구조를 포함하는 것일 수 있다.
- [0033] 상기 감마-사이클로덱스트린은 8개의 글루코피라노우즈 단위들이 α -(1,4) 결합을 하고 있는 고리형 올리고사카라이드이다. 상기 감마-사이클로덱스트린이 포함된 다층막의 경우 상기 감마-사이클로덱스트린에 포집될 수 있는 일정 크기를 가진 화합물 특히, 광학적으로 비활성을 가진 분자(guest molecule)가 감마-사이클로덱스트린의 기공 부분에 포집되어, 구체적으로 감마-사이클로덱스트린과 배위결합(complexation)을 형성하게 되면, 상기 배위결합된 포집된 화합물과 감마-사이클로덱스트린은 상호작용을 통해 광학활성을 유도하게 된다. 상기 유도된 광학활성은 특정 물질의 분석 및 분리에 있어서 상기 다층막에 유리한 효과, 구체적으로 키랄 선택성을 부여하여, 상기 다층막은 광학적 성질에 따라 특정 물질의 분석 및 분리를 수행할 수 있는 현저한 효과를 갖는다.
- [0034] 또한, 상기 감마-사이클로덱스트린에 형성되어 있는 기공의 직경과 부피는 스테로이드나 macrocycle을 가진 화합물과 같이 거대한 분자와 host-guest 상호작용을 통해 포집 화합물(inclusion complex)을 형성할 수 있으므로, 상기 감마-사이클로덱스트린 및 이의 유도체가 포함된 본 발명의 다층막은 스테로이드와 같은 거대 분자 구조를 갖는 화합물의 분석 및 분리에 있어서 현저한 효과를 갖는다는 특징이 있다.
- [0035] 또한, 상기 감마-사이클로덱스트린 유도체는 상기 글루코피라노우즈 단위를 구성하는 각 탄소에 결합해 있는 하이드록실기(hydroxyl)가 다른 기능기로 치환된 것일 수 있고, 일 예로, 카르복실화된 감마-사이클로덱스트린(carboxylated γ -cyclodextrin)일 수 있다.
- [0036] 또한, 본 발명의 다층막은 바람직하게는 최외각층의 1 이상이 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다. 상기 다층막이 콜로이드 또는 기관 위에 적층되는 경우, 상기 콜로이드 또는 기관에 접촉되는 고분자 전해질층은 양이온성 고분자 전해질층이 바람직하므로, 이러한 경우에 외부로 노출되는 다른 최외각층은 바람직하게는 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다. 상기 다층막에 감마-사이클로덱스트린을 포함시키는 경우, 외부로 노출되는 최외각층이 양이온성 고분자 전해질층인 경우에는 오히려 접촉각이 상승하여 소수성 표면을 갖게 되나, 외부로 노출되는 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층인 경우에는 접촉각이 감소하여 친수성 표면을 갖게 되어, 세포의 접촉이 용이하게 되므로, 상기 외부로 노출되는 최외각층은 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다. 일 예로, 상기 다층막이 음전하를 갖는 기관 또는 음전하를 갖는 콜로이드에 적층되는 경우, 상기 다층막의 최외각층은 바람직하게는 어느 한 층이 양이온성 고분자 전해질층이고, 다른 한 층이 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다.
- [0037] 또한, 본 발명의 한 측면에 있어서, 본 발명은 상기 다층막의 제조방법에 관한 것이다.
- [0038] 본 발명의 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조에 감마-사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막의 제조방법은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하여 교대 적층 구조를 형성하는 단계; 및 상기 교대 적층 구조를 감마-사이클로덱스트린 또는 이의 유도체를 포함시키는 단계를 포함하는 방법일 수 있다.
- [0039] 상기 교대 적층 구조를 형성하는 단계는 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0040] 상기 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 방법은 일 예로 Layer-by-Layer(LBL) 증착기술로 수행할 수 있다. 상기 Layer-by-Layer(LBL) 증착기술은 도 2와 같은 방법으로 수행할 수 있다. 상기 Layer-by-Layer(LBL) 증착기술은 상대전하를 띠는 고분자 전해질을 교대로 흡착시키면서 원하는 만큼 흡착 단계를 반복하여, 고분자 전해질층의 두께 즉, 다층막 또는 필름의 두께를 조절할 수 있다는 점에서 바람직하다.
- [0041] 일 예로, 상기 교대 적층 구조를 형성하는 단계는 도 2에 기재된 방법과 같이 전하를 갖는 콜로이드(일 예로, 음전하를 갖는 콜로이드) 또는 기관(일 예로, 음전하를 갖는 기관)을 상대전하를 갖는 고분자 전해질 용액(양전하 고분자 전해질 용액)에 담가, 고분자 전해질을 기관에 흡착시켜 고분자 전해질층을 형성시키는 과정 및 상기 고분자 전해질층이 형성된 기관을 상기 고분자 전해질 용액의 고분자 전해질과 상대전하를 갖는 고분자 전해질 용액(음전하 고분자 전해질 용액)에 담가, 상기 고분자 전해질을 상기 고분자 전해질층이 형성된 콜로이드 또는 기관에 흡착시켜 상기 고분자 전해질층 위에 또 하나의 고분자 전해질층을 형성시키는 과정을 포함하는 방법으로 수행하거나, 상기 고분자 전해질층을 형성시키는 과정 및 또 하나의 고분자 전해질층을 형성시키는 과정을

반복하는 방법으로 수행할 수 있다.

- [0042] 상기 고분자 전해질층을 형성시키는 과정 및 또 하나의 고분자 전해질층을 형성시키는 과정은 각 과정을 수행한 후 전해질층이 형성된 기판을 세척하는 과정을 추가로 포함할 수 있다.
- [0043] 상기 교대 적층 구조를 형성하는 단계는 일 예로, 콜로이드 또는 기판 위에 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0044] 상기 콜로이드는 콜로이드 입자를 의미하며, 상기 콜로이드 입자는 표면에 카르복실산 작용기를 가진 입자, 일 예로 카르복실산 작용기를 가진 폴리스티렌 입자 또는 자성입자, 일 예로 Fe_3O_4 일 수 있다.
- [0045] 상기 콜로이드 입자에 상기 다층막을 형성시키는 과정은 상기 도 3과 같이, 전하를 띄는 콜로이드 입자에 반대 전하를 띄는 고분자 전해질층을 적층시키고, 이후 상기 고분자 전해질층이 상대 전하를 갖는 고분자 전해질층을 적층시키는 방법 또는 상기 1 bilayer의 다층막을 반복하여 적층하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0046] 상기 기판은 그 재질이 특별히 한정되지 않으나, 일 예로 유리로 제조된 기판(glass slide), 실리콘(silicon)이나 금(gold) 등으로 제조된 금속기판, 폴리 스티렌으로 제조된 기판일 수 있다. 구체적으로, 상기 기판은 mica와 같이 양전하 경향을 띄는 기판일 수 있고, 유리(glass), 실리콘(silicon), 금(gold), 철(steel) 등의 금속기판과 같이 음전하 경향을 띄는 기판일 수 있으며, 플라스틱류(폴리스티렌, 아크릴, 테프론 등)와 같은 전하를 띄지 않는 유기질 기판일 수 있다.
- [0047] 상기 전하를 띄는 기판의 경우, 반대전하의 고분자 전해질을 이용하여 고분자 전해질층을 형성시킬 수 있고, 상기 전하를 띄지 않는 유기질 기판의 경우, 고분자 물질 간의 소수성(hydrophobic) 흡착성을 이용하여 고분자 전해질층을 형성시킬 수 있다.
- [0048] 상기 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 단계는 음이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액과 양이온성 고분자 전해질을 포함하는 고분자 전해질 용액에 교대로 침지시키는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0049] 상기 전해질층을 형성하는 단계에 사용되는 음이온성 고분자 전해질 용액은 pH 1.0 내지 pH 11.0, 바람직하게는 pH 2.0 내지 pH 10.0, 더욱 바람직하게는 pH 3.0 내지 pH 5.0, 더더욱 바람직하게는 pH 3.5 내지 pH 4.5로 pH를 조절할 것일 수 있다. 또한, 상기 전해질층을 형성하는 단계에 사용되는 양이온성 고분자 전해질 용액은 바람직하게는 pH 1.0 내지 pH 11.0, 바람직하게는 pH 2.0 내지 pH 10.0, 더욱 바람직하게는 pH 7.5 내지 pH 9.5, 더더욱 바람직하게는 pH 8.0 내지 pH 9.0으로 pH를 조절할 것일 수 있다. 상기 pH의 음이온성 고분자 전해질 용액 및 상기 pH의 양이온성 고분자 전해질 용액을 이용하여 적층하는 경우, 상기 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 상기 다층막 내에 효과적으로 흡착 또는 포함시킬 수 있으므로, 상기 각 고분자 전해질 용액의 pH는 상기 pH범위가 바람직하다.
- [0050] 상기 양이온성 고분자 전해질이 폴리 아크릴아미드인 경우에는 상기 기판, 특히 표면접착력인 약한 실리콘 기판 등의 경우에는 양전하를 띤 고분자 전해질인 폴리 알릴아민하이드로클로라이드를 포함하는 고분자 전해질 용액에 담가 폴리 알릴아민하이드로클로라이드 층을 형성시킨 후에, 상기 음이온성 고분자 전해질 용액 및 폴리 아크릴아미드 용액을 이용하여 교대 적층 구조를 형성할 수 있다.
- [0051] 상기 교대 적층 구조를 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 EDAC를 통한 화학반응 또는 열처리를 통해 가교반응을 형성하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 열처리는 70℃ 내지 90℃ 또는 80℃에서 8 내지 12시간 또는 10시간 동안 가열하는 방법으로 수행할 수 있고, 상기 반응시간이나 온도는 진공오븐을 이용하는 경우 감축하는 경향으로 조절할 수 있다.
- [0052] 상기 교대 적층 구조를 형성하는 단계는 바람직하게는 기판 또는 콜로이드의 반대편에 위치하는 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층이 되도록 적층할 수 있으며, 상기 기판 또는 콜로이드가 음전하를 갖는 기판 또는 음전하를 갖는 콜로이드인 경우에는 상기 적층이 n bilayer의 다층막이 적층되도록 적층하는 방법으로 수행할 수 있다. 상기 n은 자연수를 의미한다.
- [0053] 상기 교대 적층 구조를 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함시키는 단계는 상기 교대 적층 구조 또는 상기 교대 적층 구조가 형성된 기판을 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 용액에 담그거나

함침시키는 방법으로 수행할 수 있다.

- [0054] 상기 교대 적층 구조 또는 상기 교대 적층 구조가 형성된 기판을 상기 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 용액에 담그거나 함침시키는 경우, 상기 교대 적층 구조 즉, 상기 전해질층이 적층된 다층막에 상기 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체가 흡착 또는 포함되어, 최종적으로 상기 사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막이 제조될 수 있다.
- [0055] 또한, 상기 다층막은 조직공학적 재료, 일 예로 세포를 키우기 위한 지지체의 재료로 사용될 수 있고, 생체감응 장치나 화학센서(chemical sensor)와 같은 화학감응장치를 포함하는 다양한 고분자 다층막이 요구되는 장치 또는 기구에 응용될 수 있다.
- [0056] 일 예로, 본 발명은 상기 다층막을 포함하는 생체감응장치를 제공한다.
- [0057] 또한, 상기 다층막의 경우는 세포의 선택적 흡착 등과 같은 목적 또는 생체감응장치의 응용을 위하여 상기 고분자 전해질을 패터닝할 수 있다. 상기 다층막은 바람직하게는 최외각층의 1 이상이 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다. 상기 생체감응장치에 포함되는 다층막이 음전하를 갖는 콜로이드 또는 음전하를 갖는 기판 위에 적층되는 경우, 상기 콜로이드 또는 기판에 접촉되는 고분자 전해질층은 양이온성 고분자 전해질층이어야 하며, 이러한 경우에 외부로 노출되는 다른 최외각층은 바람직하게는 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다.
- [0058] 이러한 측면에서, 본 발명의 생체감응장치는 음전하를 갖는 콜로이드 또는 음전하를 갖는 기판 및 상기 다층막을 포함하는 것일 수 있다.
- [0059] 상기 패터닝을 통하여 형성되는 상기 다층막 패턴층에는 생체물질 고정용 물질이 결합될 수 있다. 상기 생체물질은 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 Raw 264.7) 등을 포함한 면역세포 및 배아세포 등일 수 있다.
- [0060] 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) 등 일 수 있다.
- [0061] 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 고분자 전해질 또는 감마-사이클로텍스트린이나 이의 유도체의 중합체를 포함하는 고분자 전해질 패턴층에 부착된 것일 수 있고, 바람직하게는 상기 박막에 포함된 세포가 세포정용 생체물질이 결합된 고분자 전해질 또는 감마-사이클로텍스트린이나 이의 유도체를 포함하는 패턴층에 부착된 것일 수 있다.
- [0062] 상기 다층막이 DNA 칩(DNA chip), 단백질 칩(Protein chip) 또는 세포계 바이오센서(cell-based biosensor) 등에 사용되는 경우, 상기 패턴층을 포함하지 아니한 최외각층은 기판에 접합하는 기판 접촉층일 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 최외각층은 생체 조직에 접합하는 조직 접촉층일 수 있다.
- [0063] 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 생체반응장치에 관한 것이다.
- [0064] 상기 생체반응장치는 상기 다층막을 포함하는 생체감응장치일 수 있다.
- [0065] 구체적으로, 상기 생체반응장치는
- [0066] 기판 및 상기 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조에 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막을 포함하는 생체감응장치일 수 있다.
- [0067] 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.

- [0068] 상기 기판은 생체감응장치에 응용될 수 있는 기판으로, 그 재질이 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 유리로 제조된 것(glass slide) 또는 실리콘(silicon)이나 금(gold) 등의 금속기판으로 제조된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 기판은 mica와 같이 양전하 경향을 띄는 기판일 수 있고, 유리(glass), 실리콘(silicon), 금(gold), 철(steel) 등의 금속기판과 같이 음전하 경향을 띄는 기판일 수 있으며, 플라스틱류(폴리스티렌, 아크릴, 테프론 등)와 같은 전하를 띄지 않는 유기질 기판일 수 있다.
- [0069] 상기 전하를 띄는 기판의 경우, 반대전하의 고분자 전해질을 이용하여 다층막을 코팅할 수 있고, 상기 전하를 띄지 않는 유기질 기판의 경우, 고분자 물질간의 소수성(hydrophobic) 흡착성을 이용하여 다층막을 코팅할 수 있다.
- [0070] 상기 다층막은 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층이 layer-by-layer(LBL) 증착기술을 이용하여 제조된 것일 수 있고, 사이클로텍스트린 또는 이의 유도체가 포함된 것일 수 있다.
- [0071] 상기 다층막은 바람직하게는 상기 기판에 접촉되는 고분자 전해질층이 양이온성 고분자 전해질층이어야 하므로, 상기 기판의 반대방향의 최외각층은 바람직하게는 음이온성 고분자 전해질층일 수 있다.
- [0072] 또한, 상기 다층막은 화학감응장치를 포함하는 다양한 고분자 다층막이 요구되는 장치 또는 기구에 응용될 수 있다.
- [0073] 본 발명의 또 다른 측면에 있어서, 본 발명은 화학감응장치에 관한 것이다. 일 예로, 본 발명은 상기 다층막을 포함하는 화학감응장치일 수 있다.
- [0074] 구체적으로, 상기 화학감응장치는 기판 및 상기 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층의 교대 적층구조에 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체를 포함하는 다층막을 포함하는 화학감응장치일 수 있다.

발명의 효과

- [0075] 본 발명의 다층막 및 생체감응장치는 기존 양이온성 고분자층 및 음이온성 고분자층이 교대로 적층된 적층구조에 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체가 포함되거나 흡착되어, 상기 적층구조에 포함된 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체로 인하여 세포의 흡착성이 향상되고, 다층막 내부에 특정 물질을 흡착할 수 있으며, 특정 물질의 광학활성을 향상시킬 수 있으므로, 생체감응장치(Biosensor)를 포함한 다양한 용도로 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 생체조직과 결합하여 실험 또는 진단용, 의료용이나 질병 치료용으로도 사용될 수 있어, 그 산업적 효과가 매우 크다 할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0076] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른, x-ray 구조 분석에 의해 분석한 사이클로텍스트린의 구조를 나타낸 모식도이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른, Layer-by-Layer(LBL) 증착기술로 음이온성 고분자 전해질층과 양이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 방법을 나타낸 공정도이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른, 콜로이드 입자에 양이온성 고분자 전해질층과 음이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하는 방법을 나타낸 공정도이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른, 고분자 전해질층과 음이온성 고분자 전해질층을 교대로 적층하여 고분자 다층박막을 제조하는 과정 및 상기 고분자 다층박막에 감마-사이클로텍스트린을 흡착시키는 과정을 나타낸 공정도이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른, 감마-사이클로텍스트린을 포함하는 고분자 다층박막의 접촉각을 나타낸 그래프로, 세로축은 접촉각을 나타내며, 가로축의 숫자는 다층막의 적층 정도(BL 수치)를 나타내고, PAH는 폴리알릴아민하이드로클로라이드를 의미하고, PMA는 폴리메탈아크릴산을 의미하며, γ CyD는 감마-사이클로텍스트린이 적층되었음을 의미하며, 첫 번째 파란색 막대는 static contact angle을 의미하며, 두 번째 붉은색 막대는 advancing contact angle을 의미하고, 세 번째 초록색 막대는 receding contact angle을 의미한다. 도 5a는 기질의 반대편 최외각층(top surface)이 PMA 층인 경우의 접촉각 측정 결과이고, 도 5b는 기질의 반대편 최외각층이 PAH 층인 경우의 접촉각 측정 결과이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른, 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 고분자 다층박막에 대한 신장세포(HEK 293 kidney cell)의 흡착 정도를 확인한 사진으로, Bare는 기질에 다층막을 적층시키지 않은 경우를 의미하고, PMA Top surface는 기질의 반대편 최외각층이 PMA 층인 경우 경우를 의미하며, PAH Top surface는 기질의 반대편 최외각층이 PAH 층인 경우를 의미하고, PAH(8.5)/PMA(4.0)는 적층 구조만을 가진 다층막을 의미하며, γ -CyD Complexed PAH(8.5)/PMA(4.0)는 감마-사이클로덱스트린이 포함된 다층막을 의미한다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른, 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 고분자 다층박막의 특정 물질의 포집능을 확인하기 위하여, 메틸렌 블루로 염색한 다층막의 UV 흡광도를 측정한 그래프로, 세로축은 흡광도를 나타내고, PAH는 폴리 알릴아민하이드로클로라이드를 의미하며, PMA는 폴리메탈아크릴산을 의미하고, 고분자 옆에 기재된 아래첨자는 다층막의 적층 정도(BL 수치)를 나타내며, 파란 그래프는 다층막을 메틸렌 블루로 염색한 경우이고, 붉은 그래프는 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 고분자 다층막을 메틸렌 블루로 염색한 경우를 의미한다. 도 7a는 PAH 및 PMA를 10 BL 적층시킨 다층막으로 실험한 경우이고, 도 7b는 PAH 및 PMA를 10.5 BL 적층시킨 다층막으로 실험한 경우이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 다만, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 실시예일뿐이므로, 본 발명의 보호범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0078] 실시예 1: 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 다층막의 제조

[0079] 실시예 1-1. 재료 및 시약

[0080] Poly(methacrylic acid)(PMA, Mw=100,000)와 Poly(allylamine hydrochloride)(PAH, Mw =60,000)는 Polysciences, Inc.(영국)에서 구입하여 사용하였고, 감마-사이클로덱스트린(γ -cyclodextrin)은 SUPELCO, Inc.(USA)에서 구입한 carboxylated γ -cyclodextrin을 사용하였다. Methylene blue Hydrate(MeB)는 Fluka사(독일)의 제품을 이용하였다.

[0081] 상기 고분자 전해질(PMA, PAH 및 감마-사이클로덱스트린)과 MeB는 별도의 정제과정 없이 사용하였다. 실험에 사용한 수용액의 제조 및 세척과정에 사용된 탈이온수는 Millipore 사의 Milli-Q 정수기(Millipore Co., USA)를 이용하여 생산한 탈이온수(Deionized water; > 18 M Ω cm)를 이용하여 수행하였다.

[0082] 또한, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS), 0.25% Trypsin-EDTA 및 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)는 Gibco(USA) 제품을 사용하였고, DMEM의 제조에 사용된 fetal bovine serum(FBS)와 Antibiotic-Antimycotic도 Gibco(USA) 제품을 사용하였다.

[0083] 실시예 1-2. 고분자 다층박막의 제조

[0084] 고분자 다층박막은 상기 실시예 1-1의 고분자 전해질을 상기 탈이온수에 0.01M의 농도로 제조된 용액을 이용하여 LBL 방법으로 수행하였다. 보다 상세하게는, 상기 고분자 다층막의 제조과정은 하기와 같다.

[0085] 상기 PAH 수용액 및 PMA 수용액은 상기 탈이온수에 상기 PAH 및 PMA를 0.01M의 농도로 만들어 사용하였고, 상기 수용액의 pH는 0.1M HCl 수용액이나 0.1M NaOH 수용액을 이용하여 조절하였다.

[0086] 상기 LBL 방법에 사용된 기질은 유리 또는 실리콘 소재의 기판(Slide glass 또는 Silicon wafer)을 사용하였다. 상기 기판을 세척병에 희석한 세제와 함께 넣고 15분 동안 초음파처리(Ultrasonication)하여 세척한 후, 다시 상기 탈이온수로 3번의 헹굼 과정을 수행하였다. 상기 헹굼 과정을 수행한 기판은 질소 가스를 이용하여 건조시켰다.

[0087] 상기 건조된 기판을 pH가 조절된 양이온성 전해질(PAH) 수용액에 20분간 담근 후 꺼내고, 상기 탈이온수를 이용하여 2분간 헹굼 과정을 2회 수행하였다. 상기 헹굼 과정을 거친 후, 음이온성 전해질(PMA) 수용액에 15분간 담근 후 꺼내고, 상기와 같은 방법으로 상기 탈이온수를 이용하여 헹굼 과정을 수행하였다. 상기 과정에 의해 제조된 박막을 1 bilayer라 하였고, 원하는 두께만큼 bilayer수를 늘리기 위하여 상기 과정을 동일하게 반복하였다.

[0088] 상기 과정을 통하여, 원하는 두께의 다층박막을 제조한 후, 질소 가스를 이용하여 상기와 같은 방법으로 건조시

켰다.

[0089] 실시예 1-3. 사이클로덱스트린의 흡착

[0090] 상기 실시예 1-2의 고분자 다층박막의 제조과정 및 상기 고분자 다층박막에 감마-사이클로덱스트린을 흡착시키는 과정은 도 4에 기재된 방법으로 수행하였다.

[0091] 상기 고분자 다층박막에 감마-사이클로덱스트린을 흡착시키는 과정은 보다 구체적으로 상기 실시예 1-2에서 제조된 고분자 다층박막을 상기 감마-사이클로덱스트린(carboxylated γ -cyclodextrin)을 상기 탈이온수에 녹인 감마-사이클로덱스트린 수용액에 15분간 담근 후 꺼내고, 상기 실시예 1-2에 기재된 방법으로 상기 탈이온수를 이용하여 행균 과정을 수행하였다.

[0092] 실시예 2: 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 다층막의 특성 확인

[0093] 실시예 2-1: 접촉각의 측정을 통한 젖음성 확인

[0094] 상기 실시예 1-3에서 제조된 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 다층막의 젖음성(습윤성, wettability)은 Face사의 CA-A Contact angle analyzer를 이용하여 물의 접촉각을 측정하는 방식으로 수행하였다. 상기 다층박막은 PAH의 경우 pH 8.5의 PAH 수용액을 이용하여 적층하였고, 상기 다층박막은 PMA의 경우 pH 4.0의 PMA 수용액을 이용하여 적층하였다.

[0095] 상기 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 다층막의 젖음성을 확인하기 위해, 상기 실시예 1-2에서 제조된 다층박막, 상기 실시예 1-3에서 제조된 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 다층박막 및 상기 실시예 1-2에서 제조된 다층박막에 대해 실험을 수행하였다.

[0096] 상기 접촉각 측정에 의해 확인된 접촉각인 advancing contact angle과 receding contact angle은 필름의 수분에 대한 변화 경향을 측정하는데 도움이 되는 지수로, 일반적으로 젖음성이 좋은 필름은 static contact angle만 낮은 것이 아니라 상기 advancing contact angle과 receding contact angle 모두 낮은 것으로 보고되어있다.

[0097] 상기 접촉각 측정에 사용한 물은 상기 탈이온수를 이용하였으며, 주사기를 이용하여 15 μ l의 방울을 형성한 후 필름이 올려진 측정판을 서서히 올려 물방울에 접촉하도록 하여 접촉각 측정에 중력의 영향이 없도록 하였다. 보다 상세하게는, 먼저 static contact angle을 측정하고, advancing contact angle의 측정은 상기 static contact angle을 측정한 상태에서 15 μ l의 물을 더 첨가하여, 다시 접촉각을 측정하여 수행하였고, 상기 receding contact angle의 측정은 상기 advancing contact angle을 측정한 30 μ l의 물방울에서 15 μ l의 물을 빨아드려서 다시 접촉각을 측정하여 수행하였다. 상기 측정을 5회 반복한 후, 그 측정값의 평균값을 결과값으로 구하여, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0098] 상기 도 5a에 나타낸 바와 같이, 10 bilayer를 적층시킨 경우에는, 상기 다층박막은 static contact angle의 경우 약 20도 정도이고, advancing contact angle의 경우 20도가 조금 넘는 반면, 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 고분자 다층박막의 경우 static contact angle의 경우 20도 보다 낮게 측정되고, advancing contact angle의 경우 약 20도로 측정되어, 젖음성이 다소 개선된 것이 확인되었다.

[0099] 한편, 상기 도 5b에 나타낸 바와 같이, 10.5 bilayer를 적층시킨 경우 즉, 다층박막에서 contact angle을 측정할 기판(substrate)의 반대편 최외각층(top surface)이 PAH 층인 경우에는, 상기 다층박막은 static contact angle의 경우 약 40도 정도이고, advancing contact angle의 경우 45도가 조금 넘는 반면, 감마-사이클로덱스트린을 포함하는 고분자 다층박막의 경우 static contact angle의 경우 약 60도로 측정되고, advancing contact angle의 경우 약 70도로 측정되어, 오히려 표면이 소수성이 강화되어 젖음성이 낮아지는 것으로 확인되었다.

[0100] 상기 결과로부터, 다층박막의 최외각층(top surface)의 종류에 따라 감마-사이클로덱스트린의 흡착 여부를 달리 하여 최외각층의 표면 성질 즉, 친수성 또는 소수성을 강화시킬 수 있는 것으로 확인되었다.

[0101] 또한, 상기 다층박막을 생체감응장치 등에 이용하는 경우, 세포의 흡착의 용이성 및 효율 등을 고려하여, 상기 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층이 되도록 조절할 수 있을 것으로 예상되었다.

[0102] 실시예 2-2. 세포 흡착 정도 확인

[0103] 상기 실시예 1-3에서 제조된 감마-사이클로텍스트린을 포함하는 다층막에 대한 세포 흡착 정도를 세포 흡착 여부를 전자현미경을 이용하여 관찰하는 방법으로 수행하였다. 상기 다층막막은 PAH의 경우 pH 8.5의 PAH 수용액을 이용하여 적층(PAH(8.5))하였고, 상기 다층막막은 PMA의 경우 pH 4.0의 PMA 수용액을 이용하여 적층(PMA(4.0))하였다.

[0104] 상기 감마-사이클로텍스트린을 포함하는 다층막의 세포 흡착성을 확인하기 위해, 음이온성 고분자 전해질인 PMA를 최상위층으로 적층시킨 10 bilayer를 적층시킨 경우 및 양이온성 고분자 전해질인 PAH를 최상위층으로 적층시킨 10.5 bilayer를 적층시킨 경우에 세포의 흡착 정도를 기질 표면(Bare TCPS)와 비교하였다.

[0105] 상기 세포 흡착 정도를 확인한 방법은 보다 구체적으로 하기와 같은 방법으로 수행하였다.

[0106] 우선, 상기 다층막에 대한 세포의 흡착 정도를 알아보기 위하여, 증식이 빠르고 배양이 용이하여 의학분야와 생체재료분야에서 널리 이용되는 신장세포(HEK 293 kidney cell)를 이용하였고, 상기 세포 흡착 정도를 확인하기 위해 다층막을 적층시킨 기질은 지름 60 mm의 세포배양용 폴리스티렌 디쉬(TCPS - Tissue Culture Grade Polystyrene Dish)를 이용하였으며, 상기 세포의 흡착 정도는 전자현미경으로 이용하여 관찰하였다.

[0107] 보다 상세하게, 상기 지름 60mm의 TCPS의 2/3만큼을 상기 실시예 1-2의 방법을 이용하여 다층막막을 적층하였다. 상기 다층막막의 적층은 최외각층의 고분자 전해질 종류를 달리하기 위하여, 각각 10 bilayer 및 10.5 bilayer로 적층하였다. 배양배지는 항온조에서 37℃ 조절한 세포배양용 배지(media)를 사용하였고, 세포는 CO₂ 배양기(CO₂ incubator)에서 배양하였다.

[0108] 상기 세포가 배양되고 있는 TCPS에서 배양액(media)을 제거한 후, DPBS(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)을 이용하여, 상기 TCPS에 부착되어 있는 세포를 세척하는 과정을 2번 반복하였다. 상기 세척과정 후, Tris-HCl-EDTA 700 μl를 상기 TCPS에 넣고, 최외각쪽으로부터 수평으로 2-3회 정도 기울여 적신 후 Micro-pipet을 이용하여 Trypsin-EDTA를 제거하였다. 상기 Trypsin-EDTA를 제거한 후, 세포의 안정화를 위해 상기 CO₂ 배양기에서 5 분간 배양한 후, 상기 TCPS에 새 배양액 4ml를 주입하여, 세포를 분산시켰다. 상기 세포가 분산된 4 ml의 배양액 중 1/10을 70% 에탄올로 소독한 상기 다층막이 적층된 TCPS에 배양액 4 ml와 함께 넣고, 상기 CO₂ 배양기에서 5일간 배양한 후, 세포의 흡착 정도를 관찰하였으며, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0109] 상기 도 6에 나타낸 바와 같이, TCPS의 표면에서는 세포가 잘 흡착되지 아니한 반면, 다층막을 적층시킨 부위에서는 세포가 잘 적층되는 것으로 확인되었다. 또한, 다층막의 최외각층(Top surface)이 PAH인 경우에는 감마-사이클로텍스트린이 포함된 다층막을 적층시킨 경우(γ-CyD Complexed PAH(8.5)/PMA(4.0)에 비하여 다층막막에서 세포가 더욱 잘 부착되는 것으로 확인되었다. 한편, 다층막의 최외각층(Top surface)이 PMA인 경우에는 감마-사이클로텍스트린이 포함된 다층막을 적층시킨 경우(γ-CyD Complexed PAH(8.5)/PMA(4.0)에서 세포가 더욱 잘 부착되는 것으로 확인되었다.

[0110] 따라서, 세포 부착과 관련된 용도를 수행하기 위한 장치에 본 발명이 감마-사이클로텍스트린이 포함된 다층막이 사용되는 경우 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층인 것이 바람직한 것으로 평가되었다.

[0111] 실시예 2-3. Host-Guest Interaction 확인

[0112] 감마-사이클로텍스트린 또는 이의 유도체는 상기 감마-사이클로텍스트린의 기공에 외부 물질을 포집하는 Host-Guest 상호작용을 통해 inclusion complex를 형성할 수 있다.

[0113] 상기 감마-사이클로텍스트린의 외부 물질의 포집능을 확인하기 위하여, MeB와 함께 반응시킨 후, UV 흡수도를 측정하였다.

[0114] 보다 구체적으로, 상기 유리 소재의 기판(Slide glass)에 상기 실시예 1-2 및 실시예 1-3의 방법으로 각각의 다층막을 적층시킨 후, MeB가 0.001 M의 농도로 탈이온수에 용해되어 있는 수용액에 상기 다층막을 함침시켜 MeB로 염색하였다. 상기 MeB로 염색된 다층막은 탈이온수로 세척한 후, 상기 각 다층막의 UV를 측정하였다.

[0115] 상기 UV 측정은 UV 분광광도계인 UV-visible spectrophotometer(scincos S-3100)을 이용하여 수행하였다. 보다 상세하게는, 상기 유리 소재의 기판(Slide glass)을 세척병에 희석한 세제와 함께 넣고 15분 동안 초음파처리

(ultrasonication)하여 세척한 후, 상기 UV 분광광도계를 이용하여 Base line을 측정하였다. 상기 MeB로 염색한 다층막을 홀더에 장착한 뒤 상기 UV 분광광도계를 이용하여 UV를 측정하고, 상기 Base line을 기준으로 흡광 정도를 측정하였으며, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

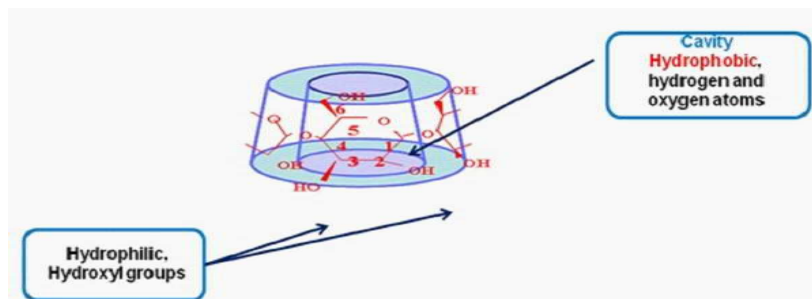
[0116] 상기 도 7에 나타낸 바와 같이 PAH 및 PMA를 적층시킨 경우에, PMA가 최외각층(top surface)인 경우(도 7a) 및 PAH가 최외각층(top surface)인 경우(도 7b) 모두에서 다층박막의 경우(푸른색 아랫 그래프)에 비하여 감마-사이클로텍스트린이 포함된 다층박막(붉은색 윗 그래프)의 경우 흡광 정도가 MeB와 거의 유사하게 나타나, 다층막에 포함된 알파-사이클로텍스트린과 MeB가 반응하여 UV 흡수도가 증가되는 것으로 평가되었다. 상기 UV 흡수도의 증가는 다층막에 포함된 즉, 적층 구조에 포함된 감마-사이클로텍스트린과 MeB가 Host-Guest interaction을 통해 inclusion complex를 형성하기 때문인 것으로 평가되었다.

[0117] 또한, 상기 MeB는 산성 물질에도 결합이 가능하므로, 상기 감마-사이클로텍스트린의 포함여부에 따른 흡광도의 차이는 절대적인 수치가 아닌, 다층막과 감마-사이클로텍스트린이 포함된 다층막 간의 흡광도의 차이 정도로 판단하여야 한다. 이러한 측면에서, 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층인 PMA층인 경우(도 7a)에 감마-사이클로텍스트린의 유무에 따라 흡광도의 차이가 현저하게 나타나므로, 최외각층이 음이온성 고분자 전해질층이 바람직한 것으로 평가되었다.

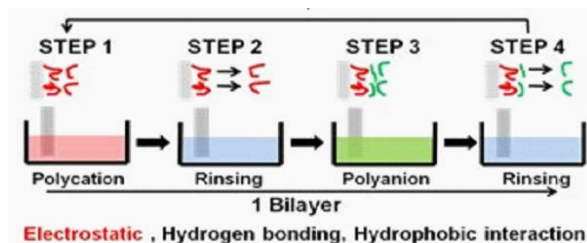
[0118] 상기 결과에 의하면, 접촉각을 통한 젖음성 및 세포 부착능을 고려할 때, 생체감응장치에 사용하기 위한 다층막으로써는 PAH(8.5)/PMA(4.0)의 조건으로 고분자 전해질층을 bilayer로 적층하여 다층막을 형성 즉, 최외각층이 음이온 고분자 전해질층인 경우가 바람직한 것으로 확인되었다. 또한, 감마-사이클로텍스트린의 유무에 따른 Guest 물질의 포집능 즉, Host-Guest 상호작용을 통해 inclusion complex를 형성 여부를 고려할 때에도, PAH(8.5)/PMA(4.0)의 조건으로 고분자 전해질층을 bilayer로 적층하여 다층막을 형성 즉, 최외각층이 음이온 고분자 전해질층인 경우가 바람직한 것으로 확인되었다.

도면

도면1



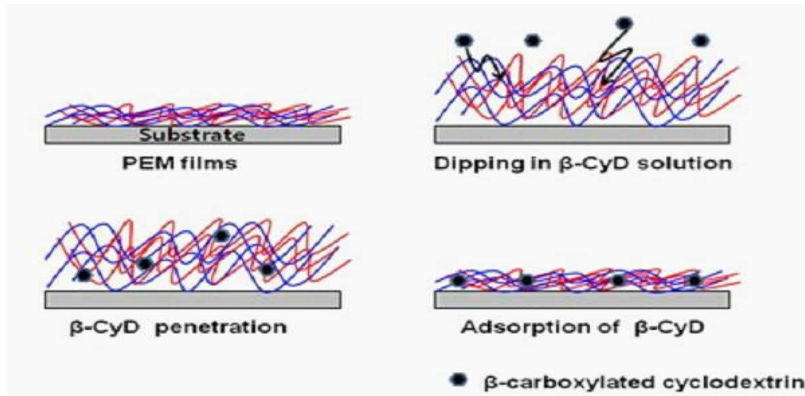
도면2



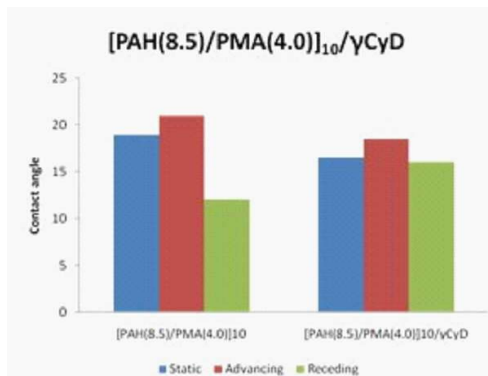
도면3



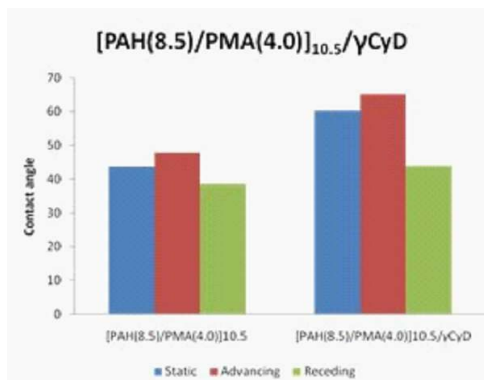
도면4



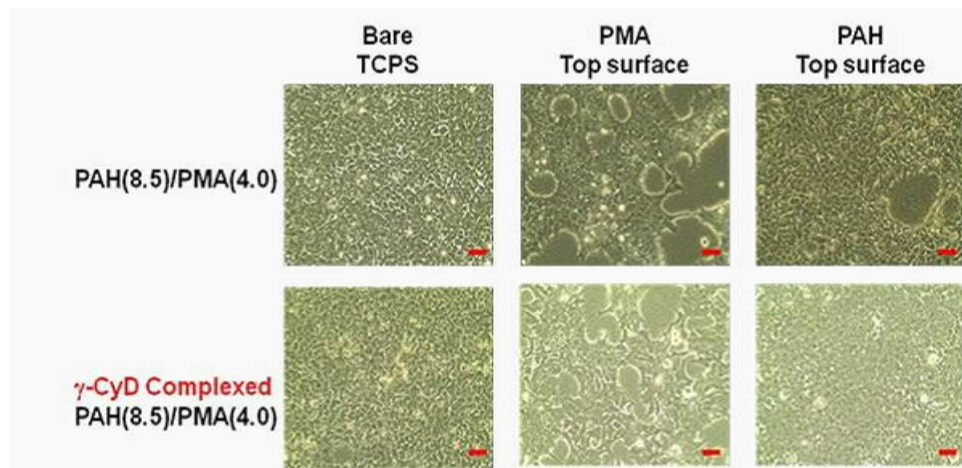
도면5a



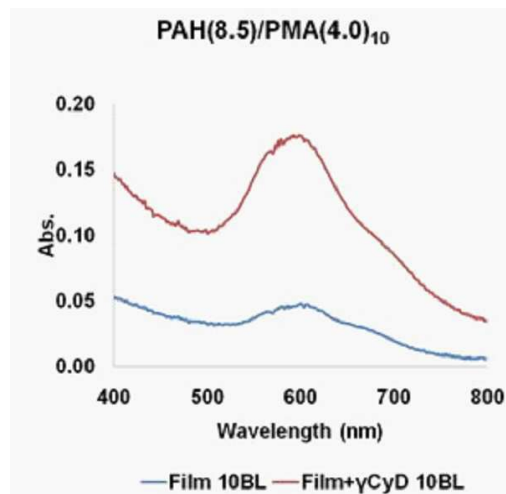
도면5b



도면6



도면7a



도면7b

