



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0060037
(43) 공개일자 2020년05월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61F 2/00 (2006.01) A61F 2/30 (2006.01)
A61L 27/14 (2006.01) A61L 27/34 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01) A61L 27/58 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61F 2/0077 (2013.01)
A61L 27/04 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0145507

(22) 출원일자 2018년11월22일

심사청구일자 2018년11월22일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

여중석

인천광역시 연수구 송도과학로 85, 자유관B 321호 (송도동)

윤영식

인천광역시 연수구 송도과학로 85, 자유관B 217호 (송도동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인우인

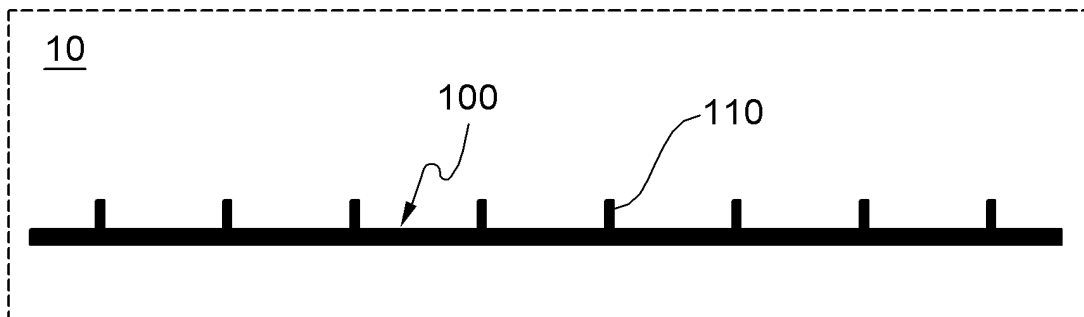
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 및 그 제조방법

(57) 요약

생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 및 그 제조방법이 개시된다. 본 발명은 생체인공삽입물 시술 시 생체 내의 삽입 부위의 세포의 접착성 및 퍼짐성을 증대시키고, 생체적합성을 증대시키도록 세포와 접착하는 고분자 필름의 제1 표면에 형성된 세포의 거동에 따라 세포와의 접착성을 조절하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 포함함으로써, 생체인공삽입물이 생체 내 삽입 부위의 세포와 안정한 상태를 유도하여 체내 이식 시술의 성공률을 높일 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61L 27/14 (2013.01)
A61L 27/34 (2013.01)
A61L 27/3895 (2013.01)
A61L 27/58 (2013.01)
A61F 2002/0081 (2013.01)
A61F 2002/0086 (2013.01)
A61F 2002/3084 (2013.01)
A61L 2400/12 (2013.01)
A61L 2400/18 (2013.01)

(72) 발명자

윤인식

서울특별시 강남구 언주로 211, 성형외과 (도곡동)

김용욱

서울특별시 서대문구 연세로 50-1, 연세대학교 의
 과대학 신관 534호 (신촌동)

강은혜

서울특별시 서대문구 연세로 50-1, 임상의학연구센
 터 219호 (신촌동)

이지혜

인천광역시 연수구 송도과학로 85, 자유관B 217호
 (송도동)

지승묵

인천광역시 연수구 송도과학로 85, 자유관B 217호
 (송도동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2016R1A2B2014612

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원사업

연구과제명 플라즈몬커플링 효과에 기반한 광·전기 신호의 상호 변조기술
 개발(3/4)(2016.6.1~2019.5.31)/한eu연구자교류협력사업(방문연구)

기 여 율 1/2

주관기관 연세대학교

연구기간 2018.04.01 ~ 2019.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1D1A1B07042537

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공학개인지초연구지원사업

연구과제명 액상형 혈소판농축섬유소와 탈세포조직을 이용한 골재생 연구

기 여 율 1/2

주관기관 연세대학교

연구기간 2018.06.01 ~ 2019.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

생체에 삽입되는 생체인공삽입물과 부착하는 고분자 필름에 있어서,

상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 세포와 접촉하도록 상기 세포의 거동에 따라 상기 세포와의 접촉성을 조절하는 상기 세포와 접촉하는 제1 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 포함하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간 간격은,

상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 상기 나노 구조체 간의 사이의 공간을 메우도록 상기 세포의 내외부를 연결하고 상기 세포의 외부로부터의 신호를 상기 세포의 내부로 전달하며 상기 세포의 접촉을 유지하는 국소접착(Focal Adhesion, FA)의 크기를 조절하여 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 퍼지는 정도인 세포 퍼짐성(Cell Spreading)을 직접적으로 제어하도록 조절된 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 세포의 형태에 따라 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체는 홈 어레이(groove array), 릿지 어레이(ridge array), 홀 어레이(hole array), 기둥 어레이(pillar array) 및 직교형의 메쉬(mesh) 형태 중에서 선택된 어느 하나의 형태인 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간 간격은,

상기 국소접착의 크기로부터 상기 세포 퍼짐성을 제어하도록 상기 세포의 평균 면적과 상기 국소접착(FA)의 평균 면적이 반비례하는 관계를 고려하여 조절된 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 생체인공삽입물의 표면 에너지와의 차이를 조절하여 상기 생체인공삽입물의 표면과 부착하도록 상기 나노 구조체가 형성된 제1 표면 외에 상기 생체인공삽입물과 부착하려는 제2 표면에 고분자 단량체가 성장된 고분자 사슬이 형성된 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 고분자 단량체는 락티드(lactide), 락틱산(lactic acid), 글리콜라이드(glycolide), 글리콜산(glycolic acid), 카프로락톤(caprolactone), 카프로락틱산(caprolactic acid), 트리메틸렌(trimethylene) 및 카보네이트(carbonate)로 구성된 군에서 선택될 수 있는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 고분자 사슬은 상기 생체인공삽입물을 삽입하려는 피시험자로부터 추출된 염기 서열에 따라 상보적으로 결합하는 생체 고분자인 DNA 또는 RNA인 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 나노 구조체가 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 상기 세포와 접촉한 이후 상기 생체 내에서 상기 고분자 필름이 생분해되도록 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol), 폴리-L-락트산(poly(L-lactic acid)), 폴리락트산-글리콜산 (polylactic-co-glycolic acid, PLGA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid, PGA), 폴리락타이드(polylactide, PLA), 폴리카프로락톤(polycaprolactone, PCL), 키토산(chitosan), 폴리트리메틸렌 카보네이트(Polytrimethylenecarbonate, PTMC) 또는 상기 고분자 군에서 선택된 둘 이상의 혼합물인 생체적합성을 가진 합성 고분자 군을 포함하는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 고분자 필름이 상기 생체 내에서 생분해되기 전 상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내에 이식된 이후 상기 생체 내의 삽입 부위에서 상기 세포가 재생하면서 상기 생체인공삽입물이 상기 삽입 부위에 고정되도록 상기 나노 구조체가 상기 재생하는 세포와 접촉한 이후 상기 고분자 필름이 상기 생체 내에서 생분해되는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 생체인공삽입물은 관절, 척추, 판막 등 정형외과용 임플란트, 치과용 임플란트, 혈관계 스텐트, 비혈관계 스텐트, 삽입형 주사장치, 페이스 메이커(pace maker) 및 인공 장기로 구성된 군에서 선택될 수 있는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 생체인공삽입물은 티타늄, 스테인레스 스틸, 코발트, 금, 은, 백금, 마그네슘 또는 이들의 합금으로 구성된 군에서 선택될 수 있는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름.

청구항 12

생체에 삽입되는 생체인공삽입물과 부착하는 고분자 필름의 제조방법에 있어서,

상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 세포와 접촉하도록 상기 세포의 거동에 따라 상기 세포와의 접촉성을 조절하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 몰드 재료(mold material) 표면에 형성하는 단계; 및

상기 몰드 재료에 형성된 나노 구조체를 상기 고분자 필름에 전사하여 상기 세포와 접촉하는 고분자 필름의 제1 표면에 상기 나노 구조체를 형성하는 단계;를 포함하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간 간격은,

상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 상기 나노 구조체 간의 사이의 공간을 매우도록 상기 세포의 내 외

부를 연결하고 상기 세포의 외부로부터의 신호를 상기 세포의 내부로 전달하며 상기 세포의 접착을 유지하는 국소접착(Focal Adhesion, FA)의 크기를 조절하여 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접착하면서 퍼지는 정도인 세포 퍼짐성(Cell Spreading)을 직접적으로 제어하도록 조절된 것을 특징으로 하는 생체인공삼입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간격은,

상기 국소접착의 크기로부터 상기 세포 퍼짐성을 제어하도록 상기 세포의 평균 면적과 상기 국소접착(FA)의 평균 면적이 반비례하는 관계를 고려하여 조절된 것을 특징으로 하는 생체인공삼입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 나노 구조체를 형성하는 단계는,

나노 임프린트 리소그래피 공정을 이용하여 상기 몰드 재료에 형성된 나노 구조체로부터 고분자 몰드에 나노핏(nanopit)을 형성하는 단계;

상기 나노핏이 형성된 고분자 몰드에 고분자 전구체(precursor)를 붓고 분리가능한 겔필름을 덮어 경화시키는 단계;

상기 경화된 고분자 전구체를 덮는 상기 겔필름을 제거하는 단계; 및

상기 겔필름이 제거된 고분자 전구체를 상기 고분자 몰드로부터 분리시키는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 생체인공삼입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 16

제12항에 있어서,

상기 제1 표면에 상기 나노 구조체가 형성된 고분자 필름을 상기 생체인공삼입물에 부착하는 단계를; 더 포함하고,

상기 고분자 필름을 상기 생체인공삼입물에 부착하는 단계는,

상기 고분자 필름의 표면 및 상기 생체인공삼입물의 표면을 각각 물리적 방법 또는 화학적 방법을 이용하여 활성화하는 단계;

상기 각각 활성화된 생체인공삼입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 고분자 단량체를 형성하는 단계;

상기 생체인공삼입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 형성된 고분자 단량체를 성장시켜 고분자 사슬을 성장시키는 단계; 및

상기 생체인공삼입물의 표면 및 상기 고분자 필름의 표면에 각각 성장된 고분자 사슬을 결합시키는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 생체인공삼입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 활성화하는 단계는,

수산화 리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화 칼슘과 같은 염기성 용액에 상기 생체인공삼입물 및 상기 고분자 필름을 각각 담그어 화학적인 방법을 이용하여 상기 생체인공삼입물의 표면과 상기 고분자 필름의 표면을 각각 활성화하는 것을 특징으로 하는 생체인공삼입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

청구항 18

제16항에 있어서,

상기 활성화하는 단계는,

아르곤, 산소, 질소, 수증기 및 암모니아 중에서 선택된 어느 하나 혹은 이들의 혼합으로 이루어진 기체를 이용하여 플라즈마 또는 이온빔으로 처리하는 물리적인 방법을 이용하여 상기 생체인공삽입물의 표면과 상기 고분자 필름의 표면을 각각 활성화하는 것을 특징으로 하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 및 그 제조방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 생체인공삽입물을 생체 내에 삽입시킨 후 삽입 부위에서 세포가 정상적인 세포 활동을 할 수 있도록 세포를 초기에 생체인공삽입물과 접촉시켜 성장시키는 고분자 필름 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 이 부분에 기술된 내용은 단순히 본 실시 예에 대한 배경 정보를 제공할 뿐 종래기술을 구성하는 것은 아니다.

[0003] 최근 인구의 고령화로 인하여 사고 및 노화로 인한 임플란트 시술뿐만 아니라 건강을 위한 치아 시술이 증가하고 있으며, 페이스메이커와 같은 생체 삽입형 기기의 착용을 위한 시술도 급속히 증가하고 있다.

[0004] 이러한 시술이 실패하는 경우 시술 부위가 아물지 않아 생체 내에 삽입된 생체 인공삽입물이 밖으로 노출될 수 있으며, 이에 따라 피시험자는 감염의 위험이 있으며, 다시 재수술을 하게 되는 경우 이미 시술에 실패하였으므로 재수술의 실패율은 더욱 높아지게 되는 문제점이 있다.

[0005] 종래의 코팅, 식각 등과 같은 생체인공삽입물의 표면을 처리하는 방법은 특정한 구조를 만들어서 적용하기에는 어려운 문제점이 있으며, 또한 생체인공삽입물의 표면에 기능성을 줄 수 있는 범위가 한정적인 문제점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 생체인공삽입물을 생체 내에 이식하는 경우 시술의 실패를 방지하고 생체인공삽입물 표면에 생체적합성 향상과 같은 기능성을 부여하는 고분자 필름에 세포의 국소접착(focal adhesion, FA)을 통한 세포의 부착 및 퍼짐성을 조절할 수 있는 나노 구조체를 형성하여 세포 내 골격의 배치 그리고 세포 내 신호 전달 체계에 영향을 미치는 세포의 부착 및 퍼짐을 조절함으로써, 시술 초기에 세포의 접착을 유도하고 안정적인 세포 재생을 위해 세포의 퍼짐성을 조절할 수 있는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 및 그 제조방법을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체에 삽입되는 생체인공삽입물과 부착하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름은 상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 세포와 접촉하도록 상기 세포의 거동에 따라 상기 세포와의 접착성을 조절하는 상기 세포와 접촉하는 제1 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 포함할 수 있다.

[0008] 바람직하게, 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간 간격은 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 상기 나노 구조체들 간의 사이의 공간을 메우도록 상기 세포의 내 외부를 연결하고 상기 세포의 외부로부터의 신호를 상기 세포의 내부로 전달하며 상기 세포의 접착을 유지하는 국소접착(Focal Adhesion, FA)의 크기를 조절하여 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 퍼지는 정도인 세포 퍼짐성(Cell Spreading)을 직접적으로 제어하도록 조절될 수 있다.

[0009] 바람직하게, 상기 세포의 형태에 따라 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체는 홈 어레이(groove array), 릿지 어레이(ridge array), 홀 어레이(hole array), 기둥 어레이(pillar array) 및 직교형의 메쉬(mesh) 형태 중에서 선택된 어느 하나의 형태일 수 있다.

- [0010] 바람직하게, 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체간 간격은 상기 국소접착의 크기로부터 상기 세포 퍼짐성을 제어하도록 상기 세포의 평균 면적과 상기 국소접착(FA)의 평균 면적이 반비례하는 관계를 고려하여 조절될 수 있다.
- [0011] 바람직하게, 상기 생체인공삽입물의 표면 에너지와의 차이를 조절하여 상기 생체인공삽입물의 표면과 부착하도록 상기 나노 구조체가 형성된 제1 표면 외에 상기 생체인공삽입물과 부착하려는 제2 표면에 고분자 단량체가 성장된 고분자 사슬이 형성될 수 있다.
- [0012] 바람직하게, 상기 고분자 단량체는 락티드(lactide), 락틱산(lactic acid), 글리코라이드(glycolide), 글리콜산(glycolic acid), 카프로락톤(caprolactone), 카프로락틱산(caprolactic acid), 트리메틸렌(trimethylene) 및 카보네이트(carbonate)로 구성된 군에서 선택될 수 있다.
- [0013] 바람직하게, 상기 고분자 사슬은 상기 생체인공삽입물을 삽입하려는 피시험자로부터 추출된 염기 서열에 따라 상보적으로 결합하는 생체 고분자인 DNA 또는 RNA일 수 있다.
- [0014] 바람직하게, 상기 나노 구조체가 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 상기 세포와 접촉한 이후 상기 생체 내에서 상기 고분자 필름이 생분해되도록 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol), 폴리-L-락트산(poly(L-lactic acid)), 폴리락트산-글리콜산 (polylactic-co-glycolic acid, PLGA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid, PGA), 폴리락타이드(poly lactide, PLA), 폴리카프로락톤(polycaprolactone, PCL), 키토산(chitosan), 폴리트리메틸렌 카보네이트(Polytrimethylenecarbonate, PTMC) 또는 상기 고분자 군에서 선택된 둘 이상의 혼합물인 생체적합성을 가진 합성 고분자 군을 포함할 수 있다.
- [0015] 바람직하게, 상기 고분자 필름이 상기 생체 내에서 생분해되기 전 상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내에 이식된 이후 상기 생체 내의 삽입 부위에서 상기 세포가 재생하면서 상기 생체인공삽입물이 상기 삽입 부위에 고정되도록 상기 나노 구조체가 상기 재생하는 세포와 접촉한 이후 상기 고분자 필름이 상기 생체 내에서 생분해될 수 있다.
- [0016] 바람직하게, 상기 생체인공삽입물은 관절, 척추, 판막 등 정형외과용 임플란트, 치과용 임플란트, 혈관계 스텐트, 비혈관계 스텐트, 삽입형 주사장치, 페이스 메이커(pace maker) 및 인공 장기로 구성된 군에서 선택될 수 있다.
- [0017] 바람직하게, 상기 생체인공삽입물은 티타늄, 스테인레스 스틸, 코발트, 금, 은, 백금, 마그네슘 또는 이들의 합금으로 구성된 군에서 선택될 수 있다.
- [0018] 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 생체에 삽입되는 생체인공삽입물과 부착하는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 제조방법은 상기 생체인공삽입물이 상기 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 세포와 접촉하도록 상기 세포의 거동에 따라 상기 세포와의 접촉성을 조절하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 몰드 재료(mold material) 표면에 형성하는 단계; 및 상기 몰드 재료에 형성된 나노 구조체를 상기 고분자 필름에 전사하여 상기 세포와 접촉하는 고분자 필름의 제1 표면에 상기 나노 구조체를 형성하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0019] 바람직하게, 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체 간 간격은 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 상기 나노 구조체들 간의 사이의 공간을 메우도록 상기 세포의 내 외부를 연결하고 상기 세포의 외부로부터의 신호를 상기 세포의 내부로 전달하며 상기 세포의 접촉을 유지하는 국소접착(Focal Adhesion, FA)의 크기를 조절하여 상기 세포가 상기 나노 구조체에 접촉하면서 퍼지는 정도인 세포 퍼짐성(Cell Spreading)을 직접적으로 제어하도록 조절될 수 있다.
- [0020] 바람직하게, 상기 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 크기 또는 상기 나노 패턴에 따른 상기 나노 구조체간 간격은 상기 국소접착의 크기로부터 상기 세포 퍼짐성을 제어하도록 상기 세포의 평균 면적과 상기 국소접착(FA)의 평균 면적이 반비례하는 관계를 고려하여 조절될 수 있다.
- [0021] 바람직하게, 상기 나노 구조체를 형성하는 단계는 나노 임프린트 리소그래피 공정을 이용하여 상기 몰드 재료에 형성된 나노 구조체로부터 고분자 몰드에 나노핏(nanopit)을 형성하는 단계; 상기 나노핏이 형성된 고분자 몰드에 고분자 전구체(precursor)를 붓고 분리가 가능한 겔필름을 덮어 경화시키는 단계; 상기 경화된 고분자 전구체를 덮는 상기 겔필름을 제거하는 단계; 및 상기 겔필름이 제거된 고분자 전구체를 상기 고분자 몰드로부터 분리시키는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0022] 바람직하게, 상기 제1 표면에 상기 나노 구조체가 형성된 고분자 필름을 상기 생체인공삽입물에 부착하는 단계

를; 더 포함하고, 상기 고분자 필름을 상기 생체인공삽입물에 부착하는 단계는 상기 고분자 필름의 표면 및 상기 생체인공삽입물의 표면을 각각 물리적 방법 또는 화학적 방법을 이용하여 활성화하는 단계; 상기 각각 활성화된 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 고분자 단량체를 형성하는 단계; 상기 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 형성된 고분자 단량체를 성장시켜 고분자 사슬을 성장시키는 단계; 및 상기 생체인공삽입물의 표면 및 상기 고분자 필름의 표면에 각각 성장된 고분자 사슬을 결합시키는 단계;를 포함할 수 있다.

[0023] 바람직하게, 상기 활성화하는 단계는 수산화 리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화 칼슘과 같은 염기성 용액에 상기 생체인공삽입물 및 상기 고분자 필름을 각각 담그어 화학적인 방법을 이용하여 상기 생체인공삽입물의 표면과 상기 고분자 필름의 표면을 각각 활성화할 수 있다.

[0024] 바람직하게, 상기 활성화하는 단계는 아르곤, 산소, 질소, 수증기 및 암모니아 중에서 선택된 어느 하나 혹은 이들의 혼합으로 이루어진 기체를 이용하여 플라즈마 또는 이온빔으로 처리하는 물리적인 방법을 이용하여 상기 생체인공삽입물의 표면과 상기 고분자 필름의 표면을 각각 활성화할 수 있다.

발명의 효과

[0025] 이상과 같은 본 발명의 실시 예에 따르면 고분자 필름에 형성된 나노 구조체를 이용하여 세포의 국소접착을 조절함으로써, 세포의 접착 및 퍼짐을 조절하여 생체인공삽입물이 생체 내의 삽입 부위에서 안정한 상태를 유도하므로, 기술의 성공률을 높일 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따르면 나노 구조 표면이 형성된 생분해성 고분자 필름은 몰드를 이용하여 제작하므로, 종래에 상용화되어 있는 생체 삽입형 제품들에 별도의 처리 없이 직접 적용가능하므로 비용을 줄일 수 있는 장점이 있다.

[0027] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따르면 생분해성 고분자 필름은 생체삽입물 표면에서 기능성을 제공한 후 조직 재생과 동시에 체내에서 서서히 분해되어 다른 기술 없이 생체 내에서 안정적으로 제거할 수 있다.

[0028] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 구조를 도시한 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물에 부착되는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름을 설명하기 위한 도면이다.

도 3은 본 발명의 일 실시 예에 따른 고분자 필름의 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴의 예시를 설명하기 위한 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 표면에 코팅된 기능을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 구조를 도시한 도면이다.

도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물의 표면을 활성화하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.

도 7은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름에 형성된 나노기둥 어레이와 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 상호작용하는 모습을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA)의 형성에 따른 세포와의 접착에서, 세포가 나노 구조체의 표면에 접착하는 유효접촉면적을 설명하기 위한 도면이다.

도 9는 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노 구조에 의해 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 형태학적 변화가 유도되는 것을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 10은 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA)의 평균 면적과 나노 구조체의 크기의 관계를 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 11은 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노기둥 어레이에 의해 조절된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 국소 접착(FA)의 크기와 세포의 퍼짐성과의 관계를 나타낸 도면이다.

도 12는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름을 제조하는 방법을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 13은 본 발명의 일 실시 예에 따른 고분자 필름의 표면에 나노 구조체를 형성하는 구체적인 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.

도 14는 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 제조 방법을 구체적으로 설명하는 도면을 나타낸 것이다.

도 15는 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노 구조체가 형성된 고분자 필름을 생체인공삽입물에 부착하는 구체적인 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명한다. 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시 예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시 예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시 예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성 요소를 지칭한다.
- [0031] 다른 정의가 없다면, 본 명세서에서 사용되는 모든 용어(기술 및 과학적 용어를 포함)는 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공통적으로 이해될 수 있는 의미로 사용될 수 있을 것이다. 또 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 용어들은 명백하게 특별히 정의되어 있지 않는 한 이상적으로 또는 과도하게 해석되지 않는다.
- [0032] 본 명세서에서 "제1", "제2" 등의 용어는 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하기 위한 것으로, 이들 용어들에 의해 권리범위가 한정되어서는 아니 된다. 예를 들어, 제1 구성요소는 제2 구성요소로 명명될 수 있고, 유사하게 제2 구성요소도 제1 구성요소로 명명될 수 있다.
- [0033] 본 명세서에서 각 단계들에 있어 식별부호(예를 들어, a, b, c 등)는 설명의 편의를 위하여 사용되는 것으로 식별부호는 각 단계들의 순서를 설명하는 것이 아니며, 각 단계들은 문맥상 명백하게 특정 순서를 기재하지 않는 이상 명기된 순서와 다르게 일어날 수 있다. 즉, 각 단계들은 명기된 순서와 동일하게 일어날 수도 있고 실질적으로 동시에 수행될 수도 있으며 반대의 순서대로 수행될 수도 있다.
- [0034] 본 명세서에서, “가진다”, “가질 수 있다”, “포함한다” 또는 “포함할 수 있다” 등의 표현은 해당 특징(예: 수치, 기능, 동작, 또는 부품 등의 구성요소)의 존재를 가리키며, 추가적인 특징의 존재를 배제하지 않는다.
- [0035] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 구조를 도시한 도면이다.
- [0036] 도 2는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물에 부착되는 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름을 설명하기 위한 도면이다.
- [0037] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일 실시 예에 따른 제1 표면(100)에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 포함하는 고분자 필름(10)은 생체에 삽입되는 생체인공삽입물이 삽입 부위에 위치시켜 생체인공삽입물의 생체 안정성을 향상시키도록 삽입 부위에 위치하는 세포와 생체인공삽입물의 결합을 용이하게 하기 위한 용도를 가질 수 있다.
- [0039] 따라서, 본 발명의 일 실시 예에 따른 삽입 부위에 위치하는 세포와 부착하도록 제1 표면(100)에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)를 포함하는 고분자 필름(10)과 부착된 생체인공삽입물은 삽입 시술 후 생체 내의 삽입 부위가 회복될 때까지 삽입 부위에 위치될 수 있다.
- [0040] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 세포의 거동에 따라 세포

와의 접착성을 조절하기 위한 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성된 나노 구조를 가지는 고분자 필름(10)일 수 있으며, 상술한 나노 구조의 고분자 필름(10)이 생체인공삽입물과 결합함으로써, 생체인공삽입물이 생체에 삽입되면서 생체인공삽입물과 결합한 상술한 나노 구조의 고분자 필름(10)은 삽입 위치에 존재하는 세포와 생체인공삽입물을 부착시키도록 사용될 수 있다.

- [0041] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 두께는 응용 환경에 따라 수십 내지 수백 마이크로미터(μm)일 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 도 2를 함께 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20)은 관절, 척추, 판막 등 정형외과용 임플란트, 치과용 임플란트, 혈관계 스텐트, 비혈관계 스텐트, 삽입형 주사장치, 페이스 메이커(pace maker) 및 인공 장기로 구성된 군에서 선택될 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20)은 티타늄, 스테인레스 스틸, 코발트, 금, 은, 백금, 마그네슘 또는 이들의 합금으로 구성된 군에서 선택될 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 따라서, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노/마이크로 패턴을 가지는 나노/마이크로 구조체가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 생체인공삽입물(20) 표면에 이식하는 방식이므로, 기존에 사용되던 생체인공삽입물(20)에 바로 사용할 수 있다. 따라서, 기존에 체내에 삽입하는 생체인공삽입물(20) 표면을 따로 처리할 필요가 없으므로 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노/마이크로 패턴을 가지는 나노/마이크로 구조체(110)가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 이용하는 경우 비용 절감이 가능한 장점이 있다.
- [0045] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에는 세포와 접촉하여 상호작용을 가능하도록 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있다.
- [0046] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면 중 생체인공삽입물(20)과 부착하려는 표면인 부착면 이외의 표면인 제1 표면(100)에 세포와 접촉하여 상호작용을 가능케하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)를 형성할 수 있다. 상술한 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 나노 구조 또는 마이크로 구조를 가짐으로써, 세포의 반응성을 조절할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 제1 표면(100)에는 세포의 국소접착(FA)을 조절하여 접착과 퍼짐성을 제어할 수 있도록 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있다.
- [0048] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 접착용 고분자 필름(10)의 제1 표면(100)에는 세포의 국소접착(FA)을 조절하여 세포의 초기 생착을 조절함으로써 삽입 부위에 위치하는 세포를 안정적으로 성장시킬 수 있으며, 상술한 생착은 세포의 접착 및 퍼짐성 등의 반응을 포함한다.
- [0049] 상술한 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)는 나노기둥 어레이(nanopillar array)의 형태일 수 있으며, 상술한 나노기둥의 크기 및 나노기둥 어레이의 간격의 조절을 통해 세포가 형성하는 국소접착(FA)의 크기를 조절하여 세포가 접촉하여 퍼지는 정도인 세포의 퍼짐성(Spreading)을 직접적으로 제어할 수 있다.
- [0050] 상술한 국소접착(FA)은 세포의 내 외부를 연결하고, 세포의 외부로부터의 신호를 세포의 내부로 전달하며 세포의 접착을 유지하는 것을 나타내고, 상술한 국소접착의 크기는 세포가 나노 구조체(110)에 접촉하면서 나노 구조체(110)들의 표면에서 간극을 뛰어넘어 접착이 이루어지도록 조절될 수 있다.
- [0051] 상술한 국소접착(FA)의 크기를 조절하는 것은 세포의 성장, 분열, 생존 또는 분화가 가능하도록 세포로의 신호 전달매개체 역할을 하는 인테그린-세포외기질복합체(integrin-ECM binding complex)의 크기를 기반으로 조절할 수 있다.
- [0052] 상술한 국소접착(FA)의 크기는 나노 구조체(110) 간 사이의 공간을 연결하는 다리를 형성하면서 증가하게 되며, 구체적으로 상술한 국소접착(FA)의 크기 조절은 나노 구조체(110)의 표면비에 의해 조절될 수 있다.
- [0053] 상술한 나노 구조체(110)의 표면비에 의해 조절되는 국소접착(FA)의 크기는 나노 구조체(110)의 표면 사이의 공

간을 채우지 않고 다리를 형성하며 증가할 수 있다.

- [0054] 상술한 국소접착(FA)의 크기가 증가하는 것은 일정이상의 세포의 접착면적을 확보하기 위한 것으로 후술하는 도 7(c), 도 8 및 도 10에서 확인할 수 있다.
- [0055] 세포가 나노 구조체에 접착하면서, 나노 구조체와 접착하는 접착 부위에 따른 기계 화학적 신호(mechanochemical signal)의 변화를 세포 내의 세포골격(cytoskeleton)에서 인지할 수 있다. 국소접착(FA)의 변화는 세포 내의 세포골격의 변화를 가져오고 이는 세포가 나노 구조체에 부착된 부착점으로부터의 신호 전달을 변화시킬 수 있다. 결과적으로, 국소접착(FA)의 변화는 세포 내의 신호 전달을 변경시킴으로써 단백질 발현(expression)에 영향을 주므로 세포의 활성화와 같은 세포 활동에 영향을 미칠 수 있다.
- [0056] 상술한 국소접착(FA)은 세포 내 골격구조를 형성하는 단백질에 해당하는 F-액틴(filamentous actin, F-actin)을 통해 세포핵과 연결될 수 있다. 상술한 과정을 통해 국소접착(FA)에서 느낄 수 있는 구조 및 물질의 경도, 방향성 등의 정보가 세포 시그널링 분자들에 의해 핵으로 전달되어 단백질 합성을 변화시키고, 궁극적으로 세포의 거동 및 기능이 변화하게 된다.
- [0057] 상술한 국소접착(FA)의 변화에 대한 구체적인 설명은 후술하도록 한다.
- [0058] 일반적으로, 세포의 종류에 따라 세포의 표면에 존재하는 단백질이 다르므로 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체 인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 제1 표면(100)에는 세포의 표면에 존재하는 단백질과 접착하기에 적합하도록 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있다.
- [0059] 즉, 상술한 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성된 고분자 필름(10)이 세포와 직접적으로 접착하고, 고분자 필름(10)과 부착된 생체인공삽입물(20)은 결국 고분자 필름(10)에 의해 세포와 간접적으로 접착한 상태가 되므로, 고분자 필름(10)은 생체인공삽입물(20)이 삽입 위치에 고정될 수 있도록 생체인공삽입물(20)과 세포의 중간에서 접착시키기 위한 매개체 역할을 할 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에는 심근의 형태에 맞도록 릿지 어레이(ridge array)를 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있다.
- [0061] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면은 신경 세포의 방향성을 조절하도록 미리 설정된 형태의 마이크로 패턴을 가지는 마이크로 구조체가 형성될 수 있다.
- [0062] 상술한 나노 구조체(110)의 미리 설정된 형태의 나노 패턴은 도 3를 함께 참조하여 설명하도록 한다.
- [0063] 도 3은 본 발명의 일 실시 예에 따른 고분자 필름의 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴의 예시를 설명하기 위한 도면이다.
- [0064] 도 3(a)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴은 이용하려는 조직과 세포의 형태에 따라서 홀 어레이(hole array) 형태의 환형과 같은 형태일 수 있다.
- [0065] 또한 도 3(b)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴은 이용하려는 조직과 세포의 형태에 따라서 기둥 어레이(pillar array) 형태와 같은 환형 형태일 수 있다.
- [0066] 또한 도 3(c)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴은 이용하려는 조직과 세포의 형태에 따라서 홈 어레이(groove array) 형태와 같은 선형 형태일 수 있다.
- [0067] 또한, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니며, 상술한 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴은 릿지 어레이(ridge array) 형태의 선형과 같은 형태일 수 있다.
- [0068] 또한 도 3(d)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴은 이용하려는 조직과 세포의 형태에 따라서 메쉬(mesh) 형태의 직교형과 같은 형태일 수 있다.
- [0069] 단, 상술한 미리 설정된 형태의 나노 패턴 또는 마이크로 패턴에 대한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니며 세포 조직과 세포의 형태에 따라서 다양한 형태일 수 있다.
- [0070] 다시 도 1 및 2를 함께 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 나노 구조 또는 마이크로 구조를 가짐으로써 세포의 거동을 조절할 수 있는 기능성, 나노 파티클의 함유에 따른 기능성 또는 기능기 부착에 따라 목적을 가진 약물의 전달(drug delivery)을 위한 기능성을 가질 수 있다.

- [0071] 상술한 약물 전달은 부작용을 최소화하고 효능 및 효과를 극대화하기 위하여 필요한 양의 약물을 치료 부위에 선택적으로 전달함으로써, 건강한 조직을 약물에 노출시키지 않음과 동시에 소량의 약물만으로도 우수한 치료효과를 낼 수 있도록 효율적으로 전달하는 것을 나타낸다.
- [0072] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)에 기능성을 부여하도록 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면 중 제1 표면(100)에 형성된 다양한 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체 일 부분에 생체 친화적인 기능기를 어레이(array) 형태로 부착할 수 있으며, 이에 따라 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에 형성된 다양한 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 이용하여 정밀하게 세포 접착(cell adhesion)을 조절할 수 있다.
- [0073] 상술한 기능기를 어레이 형태로 부착하는 경우 세포의 종류에 따라 기능기의 어레이를 조절할 수 있다. 구체적으로, 세포막의 인지질 분포와 단백질 조합 여부를 매핑하고, 매핑된 결과에 따라 생체 친화적 기능기의 간격 및 어레이 밀도를 조절할 수 있다.
- [0074] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생분해성 고분자가 생체 내에서 분해 중 항생물질 또는 분화인자와 같이 세포에 영향을 미칠 수 있는 물질들을 분비하기 위한 기능기가 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)에 임베딩될 수 있다.
- [0075] 상술한 고분자 필름의 표면에 코팅된 기능기에 대하여 도 4를 함께 참조하여 설명하도록 한다.
- [0076] 도 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 표면에 코팅된 기능기를 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.
- [0077] 도 4를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에는 세포 접착(cell adhesion)의 선택성을 주기 위한 생체친화적인 기능기(300)가 코팅될 수 있다.
- [0078] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 세포 외 기질 단백질의 아미노산 서열 RGD(Arg-Gly-Asp) 등을 이용하여 인테그린(Integrin) 단백질과 직접 접촉할 수 있다. 상술한 RGD는 인테그린을 통해 세포의 외부에 붙여지면서 다른 세포를 인식할 수 있는 기능을 가질 수 있다.
- [0079] 상술한 인테그린은 반교소체를 구성하는 막단백질로서, 기저세포와 기저막을 연결하는 매듭역할을 하여 표피와 진피 사이의 결합을 조절하는 기능이 있으며, 또한 ECM(extracellular matrix)으로부터 세포로의 신호전달매개체 역할을 하여 세포 성장, 분열, 생존, 분화 등에 관여하는 기능이 있다.
- [0080] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 생체인공삽입물과 접착하도록 상술한 고분자 필름의 표면에는 RNA 또는 DNA와 같은 상보적인 결합이 가능한 고분자 사슬을 코팅하여 형성할 수 있다. 상술한 고분자 사슬을 코팅하는 방법은 후술하도록 한다.
- [0081] 다시 도 1 및 도 2를 함께 참조하면, 세포의 형태 또는 줄기세포(stem cells)의 경우 분화하고자 하는 세포의 종류에 따라 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 나노 구조를 구성하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)의 크기 및 나노 구조체(110) 간 간격은 각각 수 나노미터(nm) 내지 수 마이크로미터(μm)까지 조절될 수 있다.
- [0082] 상술한 줄기세포는 미분화 상태를 유지하며 무한히 증식(proliferation)할 수 있지만, 일정한 환경과 조건이 주어질 경우 특정 기능과 형태를 갖도록 분화할 수 있는 세포를 나타낸다.
- [0083] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)의 크기는 이용하려는 조직과 세포의 배열상태를 조절하기 위해 세포의 상태 및 세포 소기관에 따라 수 내지 수백 나노미터(nm)로 조절될 수 있다.
- [0084] 또는, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)에 형성된 미리 설정된 형태의 마이크로 패턴을 가지는 마이크로 구조체의 크기는 이용하려는 조직과 세포의 크기에 따라서 수 내지 수십 마이크로미터(μm) 또는 수십 내지 수백 마이크로미터(μm)까지 조절될 수 있다.
- [0085] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110) 간 간격은 수 내지 수백 나노미터(nm)일 수 있고, 세포막의 국소접착(FA)을 조절하여 생체 내의 역학적전이(Mechanotransduction) 메커니즘을 기반으로 한 세포 분화 또는 세포 생장과 같은 세포활동을 조절할 수 있다. 상술한 생체 내의 역학적전이(Mechanotransduction)는 세포에게 기계적

자극을 가하면, 생체화학적 신호로 전환되는 에너지 변환의 일환을 나타낸다.

- [0086] 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노/마이크로 패턴을 가지는 나노/마이크로구조체가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)은 생분해성 또는 흡수성의 성질을 가질 수 있다.
- [0087] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20) 및 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10) 각각의 재료는 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol), 폴리-L-락트산(poly(L-lactic acid)), 폴리락트산-글리콜산(poly(lactic-co-glycolic acid, PLGA), 폴리글리콜산(polyglycolic acid, PGA), 폴리락타이드(polylactide, PLA), 폴리카프로락톤(polycaprolactone, PCL), 키토산(chitosan), 폴리트리메틸렌 카보네이트(Polytrimethylenecarbonate, PTMC) 또는 상술한 고분자 군에서 선택된 둘 이상의 혼합물인 생체적합성을 가진 합성 고분자 군을 포함할 수 있다.
- [0088] 단, 상술한 생체인공삽입물(20) 및 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 재료는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니며, 생체인공삽입물(20) 및 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 재료는 생분해성을 가지는 모든 고분자를 포함할 수 있다.
- [0089] 따라서, 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노/마이크로 패턴을 가지는 나노/마이크로구조체가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 생분해성 성질로 인하여, 생체인공삽입물(20)과 부착된 고분자 필름(10)이 생체 내에 삽입되어 삽입 위치에 있는 세포와 접촉할 수 있고, 세포와 접촉 이후 일정한 시간이 지난 후 생분해되면서 생체인공삽입물(20)과 부착된 고분자 필름(10)만 제거될 수 있으며, 이에 따라 고분자 필름(10)이 생분해되기 전인 생체 내의 삽입 위치에 세포가 안정적으로 재생할 때까지 세포가 고분자 필름(10)에 퍼진상태로 고분자 필름(10)과 접촉하고 있으므로 이에 따라 생체인공삽입물(20)이 삽입부위에 위치한 세포가 안정적으로 성장할때까지 삽입부위에 위치할 수 있다. 따라서, 고분자 필름(10)은 세포와 생체인공삽입물(20)을 접촉시키기 위한 접촉 용도로 사용되며, 자연스럽게 생체 내에서 생분해되어 제거될 수 있으므로, 생체인공삽입물(20)의 생체 삽입 성공률을 높일 수 있다.
- [0090] 구체적으로, 생체인공삽입물(20)이 생체 내에 이식된 삽입 부위에서 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 나노/마이크로패턴을 가지는 나노/마이크로구조체가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)이 생분해되기 전 생체인공삽입물(20)이 생체 내에 이식된 이후 생체 내의 삽입 부위에서는 세포가 재생하며, 세포가 재생하는 도중에 생체인공삽입물(20)의 위치가 고정되지 않아 이식 시술에 실패하는 문제점을 해결하도록 세포가 재생하면서 생체인공삽입물(20)이 삽입 부위에 고정되도록 상술한 나노/마이크로 구조체가 삽입 부위에서 재생하는 세포와 접촉할 수 있고, 고분자 필름(10)은 상술한 재생하는 세포와 접촉한 이후 서서히 생분해되어 세포 재생이 안정적으로 완료된 이후 생체인공삽입물(20)이 삽입 부위에 위치할 수 있다.
- [0091] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)이 생체인공삽입물(20)과 부착하는 경우, 생체인공삽입물(20)의 표면에 따라서 고분자 필름(10)을 부착하기 위해 표면 에너지 조절이 요구되며, 상술한 표면 에너지 조절을 위해 고분자 필름(10)의 표면을 코팅하거나 고분자 필름(10)의 표면에 미세 구조를 형성할 수 있다.
- [0092] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20)과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 부착하는 방법으로 생체인공삽입물(20)의 표면과 고분자 필름(10)의 표면이 맞닿는 면의 표면적을 넓히고 표면 에너지를 조절하기 위한 마이크로 전자 기계 시스템(MEMS)과 같은 패터닝 기술을 이용할 수 있다.
- [0093] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20)과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 부착하기 위한 방법으로 고분자 필름(10)의 표면 중 생체인공삽입물(20)의 표면에 부착하려는 부착면에 기능기를 코팅하여 표면 에너지를 조절함으로써 부착능을 높일 수 있다.
- [0094] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물(20)과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 부착하기 위한 방법으로 고분자 필름(10)의 표면에 거칠기를 형성하거나 미세구조를 형성하여 고분자 필름(10)의 표면 에너지를 조절함으로써 생체인공삽입물(20) 표면의 표면 에너지 차이를 조절하여 부착능을 높이는 방법을 이용하여 생체인공삽입물(20)의 표면에 상술한 고분자 필름(10)을 부착할 수 있다.
- [0095] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 상술한 표면 에너지 조절하는 방법으로 생체인공삽입물(20)의 표면과 고분자 필름(10)의 표면이 맞닿는 부착면에 사슬순서에 따라 상보적인 결합이 가능한 고분자의 단량체를 중합시킴으로써 표면에너지를 조절할 수 있다.
- [0096] 상술한 생체인공삽입물(20)과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 부착시키는 구체적인 방법은 도 5 및

도 6에서 후술하도록 한다.

- [0097] 도 5는 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 구조를 도시한 도면이다.
- [0098] 도 5(a) 및 도 5(b)를 참조하면, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)을 부착하기 위한 방법으로 생체인공삽입물의 표면과 고분자 필름(10)의 표면인 양 부착면에 각각 고분자를 형성하여 고분자의 커플링을 이용하는 방법을 이용할 수 있다.
- [0099] 구체적으로, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면 중 세포와 접착하려는 제1 표면(100)에는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)가 형성될 수 있고, 또한 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면 중 생체인공삽입물과 부착하려는 부착면(200)에 해당하는 제2 표면(200)에는 생체인공삽입물과 부착하기 위한 고분자 단량체가 성장된 고분자 사슬(210)이 형성될 수 있다.
- [0100] 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면에 국소접착(FA)을 조절하기 위해 나노 구조체(110)가 형성된 표면인 세포 접촉면인 제1 표면 이외의 생체인공삽입물과 부착하려는 부착면에 해당하는 제2 표면에 RNA 또는 DNA와 같이 상보적인 결합이 가능한 고분자 사슬(210)을 형성할 수 있으며, 형성된 고분자 사슬(210)에 의해 고분자 필름(10)은 생체인공삽입물과 부착될 수 있다.
- [0101] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물의 부착방법은 상술한 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물 각각의 표면을 물리적 또는 화학적 방법을 이용하여 활성화하고, 각각 활성화된 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 고분자 단량체를 형성하며, 각각의 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 형성된 고분자 단량체를 성장시킨 후 성장된 고분자 사슬(210)을 결합함으로써, 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물을 부착할 수 있다.
- [0102] 상술한 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물의 표면을 활성화는 구체적인 방법은 도 6을 함께 참조하여 설명하도록 한다.
- [0103] 도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)과 생체인공삽입물의 표면을 활성화하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.
- [0104] 도 6(a)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 표면을 아르곤, 산소, 질소, 수증기 및 암모니아 중에서 선택된 어느 하나 혹은 이들의 혼합으로 이루어진 기체(200a)를 이용하여 플라즈마 또는 이온빔으로 처리하는 물리적인 방법을 이용하여 활성화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 제2 표면은 물리적인 방법에 의해 활성화된 상태의 표면(201)이 될 수 있다.
- [0105] 상술한 플라즈마 또는 이온빔으로 처리하여 활성화하는 경우, 전압은 500[V] 내지 100[kV], 바람직하게는 1[kV] 내지 100[kV], 전력은 50[W] 내지 10[kW], 바람직하게는 50[W] 내지 200[W], 시간은 1초 내지 1시간, 바람직하게는 10초 내지 10분일 수 있다. 단, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0106] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물의 표면 또한 상술한 물리적 방법과 동일한 방법을 이용하여 활성화할 수 있다.
- [0107] 도 6(b)를 참조하면, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따르면 수산화 리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화 칼슘과 같은 염기성 용액(200b)에 고분자 필름을 담그는 화학적 방법을 이용하여 고분자 필름(10)의 표면을 활성화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름(10)의 제2 표면은 화학적인 방법에 의해 활성화된 상태의 표면(202)이 될 수 있다.
- [0108] 상술한 염기성 용액(200b)의 pH는 9 내지 12일 수 있으며, 이때 온도는 상온 내지 150 ℃, 바람직하게는 60 ℃ 내지 100 ℃일 수 있다. 단, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0109] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물의 표면 또한 상술한 화학적 방법과 동일한 방법을 이용하여 활성화할 수 있다.
- [0110] 다시 도 5를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 활성화된 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면 각각에 형성된 고분자 단량체는 락티드(lactide), 락틱산(lactic acid), 글리코라이드(glycolide), 글리콜산(glycolic acid), 카프로락톤(caprolactone), 카프로락틱산(caprolactic acid), 트리메틸렌(trimethylene) 및

카보네이트(carbonate) 중에서 선택된 어느 하나의 단량체일 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0111] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 형성된 고분자 사슬의 일부를 이황화 결합하기 위한 성질을 가지는 고분자 또는 원자로 치환하거나 특정한 사슬순서에 따라 상보적으로 결합이 가능한 고분자 또는 원자로 치환할 수 있다.
- [0112] 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 상술한 사슬순서에 따라 상보적인 결합이 가능한 고분자 단량체는 DNA 또는 RNA 서열과 같은 생체재료를 포함할 수 있다. 상술한 DNA 또는 RNA와 같은 생체재료는 생체 삽입을 시도하려는 피시험자로부터 추출된 DNA 또는 RNA 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0113] 따라서, 상술한 방법에 의해 생체인공삽입물의 표면에 형성된 고분자 사슬과 고분자 필름(10)의 제2 표면(200)에 형성된 고분자 사슬(210)에서 각각 치환된 고분자 또는 원자가 결합되면서 생체인공삽입물과 고분자 필름이 부착될 수 있다.
- [0114] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 부착 방법으로 반데르발스 인력을 이용하거나 고분자 사슬의 정전기적 인력을 유도하여 고분자 필름을 생체인공삽입물 표면에 부착할 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0115] 상술한 본 발명의 일 실시 예에 따른 고분자 필름(10)에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)에 따라 실제 세포의 부착성 및 퍼짐성의 조절이 가능한지 여부를 확인하기 위해 우선 지방 유래 중간엽 줄기 세포(adipose-derived mesenchymal stem cells, ASC)를 배양하고 시딩하는 과정을 설명하도록 한다.
- [0116] 본 실험에서 지방 유래 중간엽 줄기 세포(ASC)는 5 % CO₂와 37 °C의 로우 글루코스 DMEM 기저 배양액(low-glucose DMEM basal media)에서 배양되었다.
- [0117] 상술한 조건에서 배양된 인체 지방 유래 중간엽 줄기 세포(ASCs)는 모든 실험에 대해 계대수(passage) 6에서 사용되었고, 나노기둥 기관이 놓여진 12- 웰 플레이트(12 well-plate)에 접종(seeding)하였다. 2 × 10⁴ 세포의 세포 부유액(cell suspension)을 피펫팅하고 일정한 시간이 지난 후에 제거하여 기관 상에 세포만을 부착시킨 채로 유지시켰다. 배양한지 24 시간 이후, 세포를 인산염완충용액(PBS)으로 세척하고 세척된 세포를 면역 형광 염색(immunofluorescence staining) 및 MTT(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드) 세포 증식 분석법(proliferation assay)을 평가하기 위해 사용 하였다.
- [0118] 상술한 MTT 세포 증식 분석법은 일반적으로 세포의 생존력과 독성을 평가하는데 사용하지만, 본 실험에서는 MTT로 평가된 세포의 생존력을 사용하여 검량선을 통해 나노기둥이 형성된 기관상에서 생존력을 가지는 세포의 접착률을 측정하였다.
- [0119] 검량선을 플롯하기 위해, 1 x 10³ 내지 1 x 10⁶ (세포/mL)의 부유액을 준비하고, 세포를 37 °C에서 12 시간 동안 밤새 배양 하였다. MTT 시약 500μl가 분배된 후 세포는 추가적으로 3 시간 동안 배양되었다.
- [0120] 보라색 침전물이 광학 현미경을 사용하여 관찰될 때, 세제 시약(detergent reagent) 200(μl)를 조심스럽게 첨가하고 효소면역기법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 플레이트로 옮겼다. 570(nm) 파장 필터에서 마이크로 플레이트 판독기를 사용하여 각 웰에서의 흡광도를 측정하였다. 고분자 필름(10)에 형성된 나노기둥에 부착된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 흡광도는 동일한 프로토콜을 얻었고 집착 세포를 계산하는 검량 곡선과 비교하였다.
- [0121] 본 실험에서는 고분자 필름에 형성된 나노기둥 기관에 상기 세포를 24 시간 동안 배양한 후, 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 Karnovsky 고정액(2% 파라포름 알데하이드(Paraformaldehyde), 2% 글루타르알데하이드(Glutaraldehyde))으로 고정되고, 상술한 샘플들을 에탄올(ascending gradual series, 50~100%)을 이용하여 탈수하였다.
- [0122] 세포 배양 전후의 나노구조를 포함하는 샘플들을 클러스터 시스템에서 스퍼터를 사용하여 금층(gold layer)으로 스퍼터링 한 후 주사 전자 현미경(Scanning electron microscopy, SEM)으로 관찰하였다.
- [0123] 주사전자현미경(SEM)은 전자 현미경의 또 다른 형태로, 예시적으로 전자 빔은 한 점에 집속되고 표본(specimen)의 표면에 스캔된다. 검출기는 후방 산란된 반사된 2차 전자들 또는 표면으로부터의 전자들을 수집하여 수집된 전자들을 표본의 실제 3차원 이미지를 생성하는데 사용되는 신호로 변환한다. 상술한 스캐닝 프로세스 동안, 검출기는 표면의 함몰로부터 더 작은 전자를 받을 수 있고, 따라서 표면의 하위 영역은 생성된 이미지에서 더

어둡게 보인다. 주사전자현미경은 대략 200,000배까지 확대를 제공할 수 있으며, 더 높을 수도 있다.

- [0124] 샘플들의 횡단면을 관찰하기 위해, 집속 이온 빔(Focused Ion Beam, FIB)을 이용하여 샘플들을 후속 처리하였다.
- [0125] 집속 이온 빔(FIB)은 이온 빔이 샘플에 스캔되는 것 외에는 전자 빔을 사용하는 주사 전자 현미경과 유사하다. 상술한 이온 빔은 약 10 nm보다 작은 스폿 크기를 갖는 액체 금속 이온 소스(예, 갈륨)로부터 방출될 수 있다.
- [0126] 본 실험에서 인산염완충용액(Phosphate-Buffered Saline, PBS)으로 세척 한 후, 실온에서 20 분 동안 인산염완충용액(PBS) 중의 4 % 파라포름 알데하이드로 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)를 고정시켰다.
- [0127] 염색하기 전에, 고정된 세포를 투과성화 시약(permeabilization agent) (0.5% Triton X-100)으로 5 분 동안 투과성화 시키고 상온(RT) 60분 동안 인산염완충용액(PBS) 중 5 % BSA(Bovine serum albumin)에서 차단시켰다.
- [0128] 샘플들을 37 °C에서 1 시간 동안 BSA에서 5 %로 희석한 1 차 항체와 함께 배양시켰다. 샘플들을 인산염완충용액(PBS)로 3 번 세척하여 과잉을 제거한 후, 상온(RT)에서 30분 동안 BSA에서 5 % 희석된 형광으로 표지된 2 차 항체와 함께 배양시켰다.
- [0129] 마지막 단계에서, 세포 핵을 4' ,6' 디아미노-2-페닐인돌(4' ,6-diamidino-2-phenylindol, DAPI)를 포함하는 용액으로 염색시켰다. 형광 이미지는 공초점 현미경(confocal microscope) 을 사용하여 획득하였다.
- [0130] 본 실험에서는 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 형광 이미지를 분석하여, 국소접착(FA)의 형태학적 파라미터인 형태 및 크기를 연산하고, 퍼짐성의 정도로서 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 면적 또한 측정하였다. 형광 이미지의 데이터를 분석한 결과는 평균 \pm 표준 편차(SD)로 나타내었다.
- [0131] 이하 상술한 방법에 의해 배양된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs) 및 상술한 분석 방법을 이용하여 고분자 필름(10)에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체(110)에 따라 실제 세포의 부착성 및 퍼짐성을 조절이 가능한지 여부를 도 7 내지 도 11에서 후술하도록 한다.
- [0132] 도 7은 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름에 형성된 나노기둥 어레이와 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 접착한 모습을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.
- [0133] 도 7(a)는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 제1 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 형태가 나노기둥 어레이인 형태로, 상술한 나노기둥 어레이의 직경(diameters)(nm), 간격(spacing)(nm), 나노기둥의 상부 표면적(μm^2) 및 나노기둥 어레이 면적 분율(%)에 따라 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름을 제1 내지 제3 샘플로 분류한 것을 나타낸 것이다.
- [0134] 도 7(a)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA) 크기가 제1 샘플에서의 나노기둥의 상부 표면적보다 더 큰 것을 나타낸다. 상술한 결과는 국소접착(FA)은 나노 구조체들 간의 간격을 뛰어넘어 크기가 증가하며, 국소접착(FA)의 실제적인 접촉 면적은 제안된 관측치보다 더 작을 수 있음을 나타낸다. 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 유효 접촉 면적 분율은 하나의 나노 기둥의 상부 표면적을 따라 선형적으로 증가하는 경향을 확인할 수 있다.
- [0135] 도 7(b)는 제1 내지 제3 샘플에 부착된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)를 주사전자현미경(SEM)으로 획득한 이미지를 나타낸 것이다.
- [0136] 구체적으로, 도 7(b)는 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노기둥 어레이가 형성된 고분자 필름에 세포 접착을 위한 ECM 리간드를 제공하도록 고분자 필름에 형성된 나노기둥에 피브로넥틴의 ECM 단백질로 코팅하여 세포막에 위치한 인테그린과 결합시킨 결과를 나타낸 것이다.
- [0137] 도 7(b)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 24 시간 배양 후 고분자 필름에 형성된 나노기둥 어레이(110)의 상부 표면에 접촉됨으로써, 나노기둥 어레이(110)에 따른 세포의 접착성과 퍼짐성의 정도를 나타내는 세포의 생착여부를 확인할 수 있다.
- [0138] 상술한 24 시간 배양 후 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 밀도는 제1 샘플에서 $28 \pm 3(\text{cells}/\text{mm}^2)$, 제2 샘플에서 $26 \pm 1(\text{cells}/\text{mm}^2)$ 및 제3 샘플에서 $32 \pm 9(\text{cells}/\text{mm}^2)$ 로 측정되었다. 상술한 결과는 시딩 세포의 밀도가 약 50 (cells/mm^2)이기 때문에 나노기둥 어레이(110)와 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 접착율이 약 55 % -60 % 인 것으로 해석할 수 있다. 따라서, 이산적인 나노 구조의 다양한 크기의 영향이 줄기 세포의 접착률에서는 매우 작음을 확인할 수 있다.

- [0139] 구체적으로, 도 7(b)에서 하단에 1 마이크로미터(μm)로 확대된 도면은 집속 이온 빔(Focused Ion Beam, FIB)을 이용하여 부착된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 단면을 관찰한 것을 나타낸 것으로, 관찰 결과 제1 내지 제3 샘플 모두에서 나노기둥 어레이(110) 간 틈이 관찰되었고, 이에 따라 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 나노기둥 어레이(110)의 상부 표면에서만 세포가 접착하고 있으며, 즉 나노기둥 어레이(110)의 상부 표면만 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)와 상호작용 하는 것을 확인할 수 있다.
- [0140] 상술한 결과는 인테그린-ECM 클러스터링을 보여주는 접착 부위의 국소화에 대한 필수적인 전제 조건이었으며, 나노기둥 어레이(110)가 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)에 이산적으로 접착 부위를 제공한다는 것을 확인할 수 있다.
- [0141] 따라서, 상술한 결과는 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 나노기둥 어레이(110)의 표면에서만 접착하고 나노기둥 어레이(110) 간 간격의 빈 공간에 해당하는 틈새로 들어가지 않는 것을 확인할 수 있다.
- [0142] 도 7(c)는 도 7(b)에서 본 발명의 일 실시 예에 따른 제1 샘플 및 제3 샘플 각각에 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 접착된 모습을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것으로, 국소접착(FA)의 크기에 따라서 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 퍼짐성이 변하는 것을 나타내는 도면이다.
- [0143] 도 7(b)에서 제1 샘플에 해당하는 나노기둥 어레이(110)과 제3 샘플에 해당하는 나노기둥 어레이(110)에 각각 접착된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 퍼짐성이 다른 것을 확인할 수 있으며, 도 7(c)은 상술한 제1 샘플 및 제3 샘플 각각에 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 접착된 모습을 도시한 것으로 도 7(c)를 참조하면 상술한 제1 및 제3 샘플에 해당하는 각각의 나노기둥 어레이(110) 표면에서 국소접착(FA)의 크기가 크면 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 퍼짐이 덜하고, 이와 반대로 국소접착(FA)의 크기가 작으면 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 더 많이 퍼질 수 있다.
- [0144] 이때 나노기둥 어레이(110)가 국소접착(FA)의 크기를 조절할 수 있는 것은 인테그린-ECM 결합의 수를 나노기둥 어레이(110) 표면의 크기에 상관없이 비슷하게 형성하기 위해서다.
- [0145] 국소접착(FA)을 형성하는 단백질 복합체의 크기가 나노기둥 어레이(110) 구조의 간격을 뛰어넘으면서 나노기둥 어레이(110) 간 사이에 해당하는 빈 공간에 다리를 형성하면서 증가하기 때문이다.
- [0146] 이에 따라 상술한 국소접착(FA)과 나노기둥 어레이(110)가 인테그린-ECM 결합을 하면서 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)가 제1 및 제3 샘플 각각에서 접착될 수 있으며, 상술한 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)(30)의 F-액틴과 α -액틴으로부터 국소접착(FA)을 확인할 수 있다.
- [0147] 도 8은 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA)의 형성에 따른 세포와의 접착에서, 세포가 나노 구조체의 표면에 접착하는 유효접촉면적을 설명하기 위한 도면이다.
- [0148] 도 8(a)는 국소접착(FA)에 따른 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)와 나노기둥 어레이(110) 간의 유효 접촉 면적을 나타낸 것이다.
- [0149] 상술한 나노기둥 어레이(110)에 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 부착하는 경우, 유효 접촉 면적은 국소접착(FA)의 면적 중 국소접착(FA)에 의해 가려진 나노기둥 어레이(110) 간 빈 공간(120)을 제외한 실제 나노기둥 어레이(110)의 면적과 접촉하는 면적을 나타낸다.
- [0150] 도 8(a)를 참조하면, 상술한 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)와 나노 구조체 간의 유효 접촉 면적을 이용하여 표 1에서 제1 내지 제3 샘플들 각각의 나노기둥 어레이의 면적 비율(%)을 산출할 수 있으며, 상술한 유효접촉면적은 도 7(a) 및 후술하는 도 11(a)에서 확인할 수 있다.
- [0151] 도 8(b)는 국소접착(FA)의 유효 접촉 면적이 계산된 결과를 나타낸 것이다.
- [0152] 도 8(b)를 참조하면, 제1 내지 제3 샘플 간 국소접착(FA)의 평균 크기 차이는 상당히 감소했으며, 국소접착(FA)의 유효 접촉 면적은 제1 샘플에서 $0.77 \pm 0.52(\mu\text{m}^2)$, 제2 샘플에서 $0.63 \pm 0.39(\mu\text{m}^2)$ 및 제3 샘플에서 $0.82 \pm 0.47(\mu\text{m}^2)$ 인 것을 확인할 수 있다. 상술한 결과는 국소접착(FA)의 크기 정도가 나노기둥의 면적 분율과 관련이 있는 것을 나타낸다.
- [0153] 도 7(c)와 함께 참조하면 상술한 실험 결과는 나노기둥 어레이(110)의 표면에 형성되는 인테그린-ECM 복합체의 실제 면적 및 나노기둥 어레이(110) 표면의 유효접촉면적에 의해서 국소접착(FA)의 크기가 조절됨을 확인할 수 있으며, 이에 의해 견인력을 발생할 수 있는 액틴 필라멘트들(actin filaments)와 같은 세포 내 골격의 형성에

따라서 세포의 퍼짐성이 조절되는 것을 확인할 수 있다.

- [0154] 도 9는 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노 구조에 의해 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 형태학적 변화가 유도되는 것을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.
- [0155] 도 9(a)는 세포의 형태와 세포접착에 연관된 단백질인 F-액틴과 비쿨린의 발현 및 분포를 확인하기 위해, 형광 염색된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)를 나타낸 것이다.
- [0156] 상술한 F-액틴은 세포 내 골격구조를 형성하는 역할을 하며 국소접착(FA)과 연결되어 국소접착(FA)으로부터의 신호를 세포 내로 전달하고, 세포의 형태를 유지할 수 있다.
- [0157] 상술한 비쿨린은 국소접착(FA)이라 불리는 단백질복합체를 이루는 단백질의 종류 중 하나로, 국소접착(FA)은 세포의 내외부를 연결하고, 세포 외부로부터의 신호를 내부로 전달하고, 세포의 접착을 유지하는 역할을 할 수 있다.
- [0158] 본 실험에서는 세포의 면적을 세포 내 골격구조를 형성하는 F-액틴 단백질의 분포를 통하여 측정하였다.
- [0159] 도 9(b)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 형광 이미지로부터 측정된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 평균 면적은 제1 샘플에서 $1894 \pm 602(\mu m^2)$, 제2 샘플에서 $2457 \pm 1146(\mu m^2)$ 및 제3 샘플에서 $3001 \pm 1237(\mu m^2)$ 인 것을 확인할 수 있다. 세포의 퍼짐성은 제1 샘플에서 제3 샘플로 갈수록 증가하는 것을 확인할 수 있다.
- [0160] 도 9(c) 및 도 9(d)는 복수 개의 샘플들 간의 F-액틴 및 비쿨린 발현의 차이를 나타낸 도면이다. 상술한 단백질 발현은 세포 면적 당 평균 픽셀 강도에 기초하여 비교하였으며, 이때 한 픽셀의 최대 강도는 255에 해당하는 경우를 나타낸다.
- [0161] 도 9(c) 및 도 9(d)를 참조하면, F-액틴과 비쿨린 모두에 대한 단백질 발현은 제1 샘플의 표면에서 가장 높은 것을 확인할 수 있으며, 나노 구조가 커질수록 F-액틴과 비쿨린 모두에 대한 단백질 발현이 약간씩 감소되는 것을 확인할 수 있다.
- [0162] 상술한 제1 내지 제3 샘플들 간 형태학적 변화의 현저한 차이는 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 가장자리 쪽에 있는 국소접착(FA)의 크기였다.
- [0163] 국소접착(FA)인 단백질복합체의 요소에 해당하는 비쿨린이 인테그린 접착과 액틴 세포골격 간의 연관성을 만들었으므로, F-액틴과 비쿨린이 대개 국소접착(FA)를 확인하는데 사용되었다. 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA)의 크기는 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs) 가장자리에서 비쿨린의 면적에 의해 특정지을 수 있다.
- [0164] 도 10은 본 발명의 일 실시 예에 따른 국소접착(FA)의 평균 면적과 나노 구조체의 크기의 관계를 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.
- [0165] 도 10(a)를 참조하면, 상술한 세포 퍼짐성은 가장자리에 위치한 국소접착(FA) 복합체와 관련이 있으므로, 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 나노 구조체와 접착하면서 나타나는 세포의 가장자리에 위치하여 세포내 골격구조를 확인하는데 사용되는 F-액틴과 연결된 국소접착(FA)을 확인할 수 있다.
- [0166] 도 10(b)를 참조하면, 국소접착(FA)의 평균 면적은 나노 구조체의 크기가 증가함에 따라 감소하는 것을 확인할 수 있다. 구체적으로, 제1 샘플 내지 제3 샘플에서 나노 구조의 크기가 커짐에 따라 국소접착(FA)의 면적 분포가 좁아졌으며, 국소접착(FA)의 평균 면적은 제1 샘플에서 $3.00 \pm 2.03(\mu m^2)$, 제2 샘플에서 $2.30 \pm 1.42(\mu m^2)$ 및 제3 샘플에서 $1.73 \pm 0.79(\mu m^2)$ 인 것을 확인할 수 있다.
- [0167] 따라서, 표면적이 큰 나노 기둥에서 국소접착(FA)의 크기 변화가 작았으며, 고분자 필름에 형성된 크기가 작은 나노 기둥은 국소접착(FA)의 크기 정도를 유도했으므로, 상술한 국소접착(FA)의 면적 분포 및 평균 크기의 결과는 고분자 필름에 형성된 나노기둥이 크기가 큰 경우 보다 안정적으로 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)가 접착할 수 있는 접착 부위를 제공했음을 나타낸다.
- [0168] 도 11은 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노기둥 어레이에 의해 조절된 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 국소접착(FA)의 크기와 세포의 퍼짐성과의 관계를 나타낸 도면이다.
- [0169] 도 11(a)는 나노기둥의 유효 접촉 면적과 나노기둥의 상부 표면적과의 관계를 나타낸 도면으로, 도 11(a)를 참조하면 선형 회귀 분석에서 결정 계수 r^2 는 0.99를 나타내며, 나노기둥의 유효 접촉 면적이 증가할수록 나노기둥의 상부 표면적도 증가하는 비례관계로 제1 샘플의 경우 나노기둥의 유효 접촉 면적과 나노기둥의 상부 표면

적 모두 가장 작으므로 제3 샘플의 경우 나노기둥의 유효 접촉 면적과 나노기둥의 상부 표면적 모두 제1 샘플 및 제2 샘플보다 큰 것을 확인할 수 있다.

- [0170] 도 11(b)는 나노기둥의 상부 표면적과 국소접착(FA)의 평균 면적간의 관계를 나타낸 도면으로, 도 11(b)를 참조하면, 나노기둥의 상부 표면적이 증가할수록 국소접착(FA)의 평균 면적이 감소하는 반비례 관계인 것을 확인할 수 있으며, 이에 따라 나노기둥의 상부 표면적이 가장 작은 제1 샘플이 제2 및 제3 샘플보다 국소접착(FA)의 평균 면적이 크며, 나노기둥의 상부 표면적이 가장 큰 제3 샘플이 제1 및 제2 샘플보다 국소접착(FA)의 평균 면적이 작은 것을 확인할 수 있다.
- [0171] 도 11(c)를 참조하면, 선형 회귀 분석에서 결정 계수 r^2 는 0.97을 나타내며, 지방 유래 중간엽 줄기세포(ASCs)의 평균 면적이 국소접착(FA)의 평균 면적에 반비례하는 것을 확인할 수 있다. 상술한 상관 관계는 국소접착(FA) 크기 측정을 통해 세포 퍼짐성에 대한 예측이 가능하며 이를 통하여 나노 구조를 이용하여 세포의 거동을 조절할 수 있다.
- [0172] 따라서, 상술한 도 7 내지 도 11의 실험 결과에 따라 나노기둥 어레이가 국소접착(FA) 형성을 위한 초기 단계인 인테그린 결합을 위한 제한된 접촉 부위를 제공하는 것을 확인할 수 있으며, 세포 퍼짐성은 줄기 세포를 다양한 세포주로 분화시키는 것과 관련이 있으므로 상술한 나노기둥 어레이를 가지는 고분자 필름은 줄기 세포의 접촉, 생존력 및 분화를 조절할 수 있는 기능성을 가지므로, 상술한 나노기둥 어레이가 형성된 고분자 필름이 생체인공삽입물과 부착되어 상술한 기능성을 생체인공삽입물에 제공할 수 있다.
- [0173] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름의 나노 구조는 줄기세포에 적용하는 경우 나노 구조를 이용하여 줄기세포의 분화 과정을 조절할 수 있다. 예를 들어, 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름의 표면에 형성한 나노 스케일의 나노 접점의 간격에 따라 줄기 세포의 분화 능력이 달라질 수 있으며, RGD 단백질의 나노 간격에 따라 줄기 세포의 조골세포 및 지방 세포로의 분화능이 달라질 수 있다.
- [0174] 도 12는 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름을 제조하는 방법을 설명하기 위한 도면을 나타낸 것이다.
- [0175] 도 12를 참조하면, 생체인공삽입물이 생체 내의 삽입 부위에 위치하는 세포와 접촉하도록 세포의 거동에 따라 세포와의 접촉성을 조절하는 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 몰드 재료(mold material) 표면에 형성한다(S1210).
- [0176] 상술한 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 몰드 재료 표면에 형성하는 구체적인 방법은 도 14에서 후술하도록 한다.
- [0177] 몰드 재료에 형성된 나노 구조체를 고분자 필름에 전사하여 세포와 접촉하는 고분자 필름의 제1 표면에 나노 구조체를 형성한다(S1220).
- [0178] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 상술한 몰드 재료 표면에 형성된 나노 구조체를 고분자 필름으로 전사하는 방법으로, 소프트 리소그래피(Soft lithography), 모세관력 리소그래피(capillary force lithography, CFL) 또는 마이크로/나노 임프린팅(Micro/Nano imprinting)과 같은 마이크로 전자 기계 시스템(MEMS) 공정을 나노 공정으로 대체하는 제조 방법을 이용하여 상술한 몰드 재료 표면에 형성된 나노 구조체를 고분자 필름으로 전사할 수 있다.
- [0179] 상술한 소프트 리소그래피는 유연한 유기질 재료인 탄성 중합체 스탬프나 몰드(mold)로 미세패턴을 만들어 기판으로 전이하는 방법을 나타낸다.
- [0180] 상술한 방법에 의해 제1 표면에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체를 포함하는 고분자 필름은 생체에 삽입되는 생체인공삽입물이 삽입 부위에 위치되도록 삽입 부위에 위치하는 세포와 생체인공삽입물의 결합을 용이하게 하기 위한 용도를 가질 수 있다.
- [0181] 상술한 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체의 형태는 도 3에서 전술한바와 같이 다양한 형태일 수 있으며 자세한 설명은 생략하도록 한다.
- [0182] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름의 제조 방법은 세포 제어의 기능을 가진 나노 구조 특성을 가진 유연성 몰드를 제작하고, 제작된 유연성 몰드에 고분자 전구체(precursor)를 붓고 분리가능한 필름을 덮어 경화시킨 후 겔필름을 제거한 후, 커플링 가능한 고분자를 붙인 후 고분자 필름을 몰드에서 떼어내어 상술한 생체인공삽입물 접촉용 고분자 필름을 제조할 수 있다.

- [0183] 상술한 고분자 필름의 제1 표면에 나노 구조체를 형성하는 구체적인 방법은 도 13에서 후술하도록 한다.
- [0184] 제1 표면에 나노 구조체가 형성된 고분자 필름을 생체인공삽입물에 부착한다(S1230).
- [0185] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물은 관절, 척추, 판막 등 정형외과용 임플란트, 치과용 임플란트, 혈관계 스텐트, 비혈관계 스텐트, 삽입형 주사장치, 페이스 메이커(pace maker) 및 인공 장기로 구성된 군에서 선택될 수 있으며, 또한 생체인공삽입물은 티타늄, 스테인레스 스틸, 코발트, 금, 은, 백금, 마그네슘 또는 이들의 합금으로 구성된 군에서 선택될 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0186] 상술한 고분자 필름을 생체인공삽입물에 부착하는 구체적인 방법은 도 15에서 후술하도록 한다.
- [0187] 도 13은 본 발명의 일 실시 예에 따른 고분자 필름의 표면에 나노 구조체를 형성하는 구체적인 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.
- [0188] 도 13을 참조하면, 나노 임프린트 리소그래피 공정을 이용하여 몰드 재료에 형성된 나노 구조체로부터 고분자 몰드에 나노핏(nanopit)을 형성한다(S1221).
- [0189] 상술한 고분자 몰드에 나노핏을 형성하는 구체적인 방법은 도 14를 함께 참조하여 설명하도록 한다.
- [0190] 나노핏이 형성된 고분자 몰드에 고분자 전구체(precursor)를 붓고 분리가 가능한 겔필름을 덮어 경화시킨다(S1222).
- [0191] 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노핏 구조의 고분자 몰드 중앙에 폴리우레탄 아크릴레이트(polyurethane acrylate, PUA) 전구체를 몇 방울 떨어뜨릴 수 있다.
- [0192] 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노핏 구조의 고분자 몰드 중앙에 떨어진 용액은 더 나은 접착력을 위해 18mm 직경과 약간 예칭된 유리 커버슬립(glass coverslip)으로 덮은 후, 모세관 힘에 의해 나노핏 구조의 몰드와 커버슬립(coverslip) 간의 비어있는 공간이 없도록 만들 수 있다.
- [0193] 상술한 방법에 의해 생성된 본 발명의 일 실시 예에 따른 샘플은 자외선(UV)(300mJ/cm²) 하에서 경화될 수 있다.
- [0194] 단, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0195] 경화된 고분자 전구체를 덮는 겔필름을 제거한다(S1223).
- [0196] 본 발명의 일 실시 예에 따르면 날카로운 면도기를 사용하여 나노핏 구조의 고분자 몰드로부터 경화된 용액을 매우 조심스럽게 벗겨낸 후 샘플을 하룻밤 동안 종결을 위해 추가적으로 경화시킬 수 있다.
- [0197] 겔필름이 제거된 고분자 전구체를 고분자 몰드로부터 분리시킨다(S1224).
- [0198] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따르면 자외선(UV)으로 멸균 후 세포 접착을 위한 ECM 리간드를 제공하도록 피브로넥틴(fibronectin)을 코팅한 후 완전히 경화된 샘플을 에틸 알코올(ethyl alcohol) 및 탈이온수(deionized(DI) water)로 행굼으로써, 상술한 나노기둥 어레이가 형성된 고분자 필름을 제조할 수 있다.
- [0199] 도 14는 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 제조 방법을 구체적으로 설명하는 도면을 나타낸 것이다.
- [0200] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름에 형성된 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체가 나노기둥 어레이인 경우에, 고분자 필름을 제조하는 하는 방법을 예를 들어 설명하도록 하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0201] 도 14(a) 내지 도 14(c)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따르면 Si, quartz, glass 등의 몰드 재료(mold material)(50) 표면에 나노/마이크로 구조(51)를 형성할 수 있다.
- [0202] 상술한 몰드 재료(50) 표면에 나노/마이크로 구조(51)를 형성하는 방법으로 포토리소그래피(photolithography), 전자 빔 리소그래피(electron beam lithography), 건식 및 습식 식각 공정(dry and wet etching process)과 같은 마이크로 전자 기계 시스템(Micro Electro Mechanical Systems, MEMS) 공정 또는 나노 전자 기계 시스템(Nano Electro Mechanical System, NEMS) 공정을 이용할 수 있으나, 상술한 예시는 본 발명의 일 실시 예를 설명하기 위한 예시일 뿐 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0203] 본 발명의 일 실시 예에 따르면 폴리스티렌 비드(polystyrene bead)(40)를 이용하여 석영 글래스(quartz glass)(50)로부터 석영 나노기둥 어레이(51)를 생성할 수 있다. 상술한 석영 나노기둥 어레이(51)에서 나노기둥의 크기와 나노기둥 어레이(51)의 간격은 폴리스티렌 비드(40)의 크기에 의해 조절될 수 있다.
- [0204] 상술한 고분자 필름(10)에 나노기둥 어레이(110)를 형성하기 위해 모세관력 리소그래피를 두 번 반복할 수 있다.
- [0205] 도 14(d)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 상술한 방법에 의해 제조된 석영(quartz) 나노기둥 어레이(51)를 이용하여 나노핏 구조의 고분자 몰드(60)를 생성하는데 첫 번째 리소그래피 공정이 사용될 수 있다.
- [0206] 콜로이드 리소그래피(colloidal lithography)를 사용하여 상술한 나노핏 구조의 고분자 몰드(60)를 제조할 수 있다. 상술한 콜로이드 리소그래피를 사용하는 경우 다양한 크기의 나노파티클들(nanoparticles)을 사용하는 나노기둥 어레이에 대한 다양한 피치 제어가 가능한 장점이 있다.
- [0207] 도 14(e)를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 첫 번째 리소그래피 공정에 의해 생성된 나노핏 구조의 고분자 몰드(60)로부터 고분자 필름(10)에 나노기둥 어레이(110)를 형성하도록 두 번째 리소그래피 공정이 사용될 수 있다.
- [0208] 본 발명의 일 실시 예에 따른 몰드 재료(50) 표면에 형성된 나노/마이크로 구조(51)를 고분자 필름(10)으로 전사하는 방법에서 몰드는 Si 웨이퍼(wafer)에 형성된 구조와 상술한 방법에 의해 전사된 고분자 필름에 형성된 구조를 모두 이용할 수 있다.
- [0209] 도 15는 본 발명의 일 실시 예에 따른 나노 구조체가 형성된 고분자 필름을 생체인공삽입물에 부착하는 구체적인 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.
- [0210] 도 15를 참조하면, 고분자 필름의 표면 및 생체인공삽입물의 표면을 각각 물리적 방법 또는 화학적 방법을 이용하여 활성화한다(S1231).
- [0211] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 표면 및 생체인공삽입물의 표면을 각각 아르곤, 산소, 질소, 수증기 및 암모니아 중에서 선택된 어느 하나 혹은 이들의 혼합으로 이루어진 기체를 이용하여 플라즈마 또는 이온빔으로 처리하는 물리적인 방법을 이용하여 활성화시킬 수 있다.
- [0212] 또한, 본 발명의 또 다른 일 실시 예에 따르면 수산화 리튬, 수산화나트륨, 수산화칼륨 또는 수산화 칼슘과 같은 염기성 용액에 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름 및 생체인공삽입물을 각각 담그는 화학적 방법을 이용하여 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름의 표면 및 생체인공삽입물의 표면을 각각 활성화시킬 수 있다.
- [0213] 상술한 고분자 필름의 표면 및 생체인공삽입물의 표면을 각각 활성화시키는 구체적인 방법은 전술하였으므로 자세한 설명은 생략하도록 한다.
- [0214] 각각 활성화된 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 고분자 단량체를 형성한다(S1232). 상술한 고분자 단량체에 대해서는 전술하였으므로 자세한 설명은 생략하도록 한다.
- [0215] 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 형성된 고분자 단량체를 성장시켜 고분자 사슬을 성장시킨다(S1233). 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 성장된 고분자 사슬을 결합시킨다(S1234).
- [0216] 본 발명의 일 실시 예에 따른 생체인공삽입물의 표면 및 고분자 필름의 표면에 각각 형성된 고분자 사슬의 일부를 이황화 결합하기 위한 성질을 가지는 고분자 또는 원자로 치환하거나 특정한 사슬순서에 따라 상보적으로 결합이 가능한 고분자 또는 원자로 치환할 수 있다.
- [0217] 상술한 생체인공삽입물과 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름을 결합시키는 구체적인 방법은 전술하였으므로 자세한 설명은 생략하도록 한다.
- [0218] 본 발명의 일 실시 예에 따른 미리 설정된 형태의 나노 패턴을 가지는 나노 구조체가 형성된 생체인공삽입물 접착용 고분자 필름은 나노 임프린팅(nanoimprinting) 방법을 적용하여 제조할 수 있고, 이에 따라 롤투롤 공정(roll-to-roll process, R2R process)을 포함하는 대량 생산 방식에 적용할 수 있다.
- [0219] 상술한 롤투롤 공정(R2R process)은 연속 공정 중의 하나로서, 필름과 같은 얇은 소재를 회전 롤러에 감으면서 특정 물질을 도포하거나 소정 부분을 제거함으로써 새로운 기능을 갖게 하는 공정을 나타낸다. 상술한 롤투롤 공정은 대량 생산에 유리하기 때문에, 제조 비용을 낮출 수 있다.

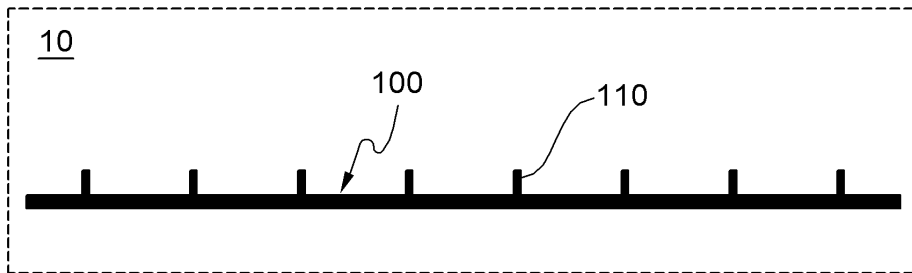
[0220] 이상의 설명은 본 발명의 기술 사상을 예시적으로 설명한 것에 불과한 것으로서, 본 발명이 속하는 기술 분야에
서 통상의 지식을 가진 자라면 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위 내에서 다양한 수정, 변경 및
치환이 가능할 것이다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시 예 및 첨부된 도면들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기
위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시 예 및 첨부된 도면에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가
한정되는 것은 아니다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구 범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범
위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

부호의 설명

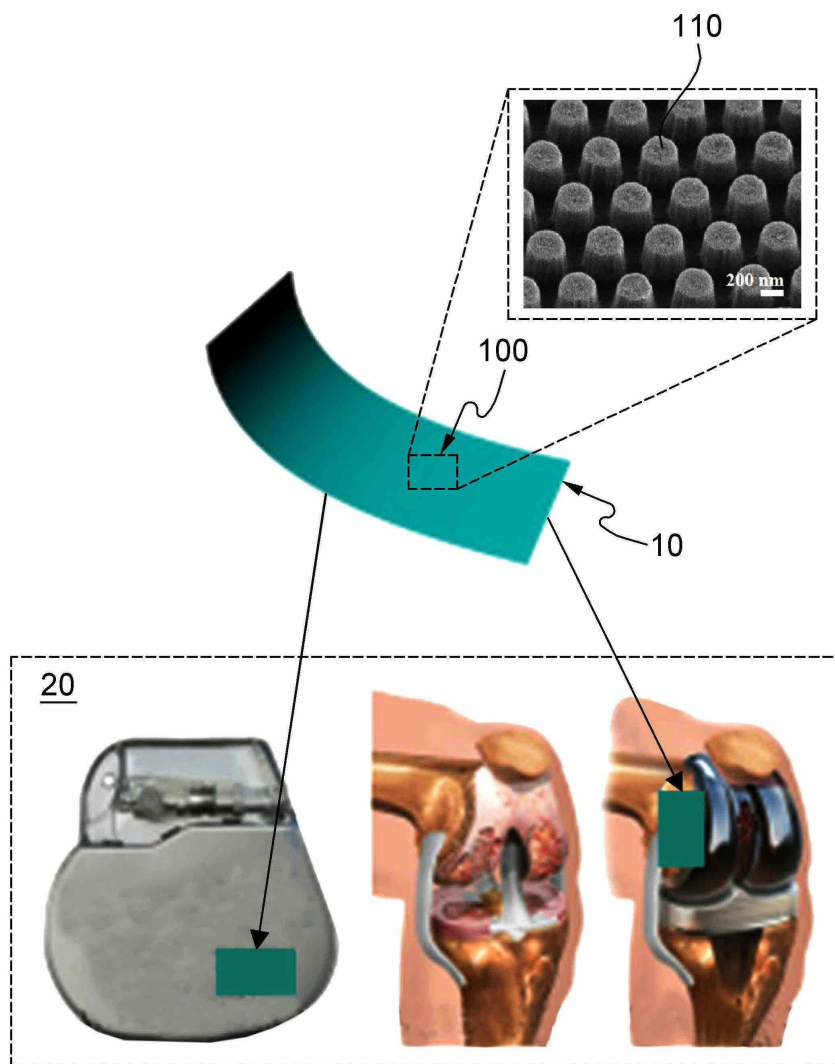
[0222]	10: 고분자 필름	40: 폴리스티렌 비드
	20: 생체인공삽입물	50: 몰드 재료
	30: 지방 유래 중간엽 줄기세포	60: 고분자 몰드

도면

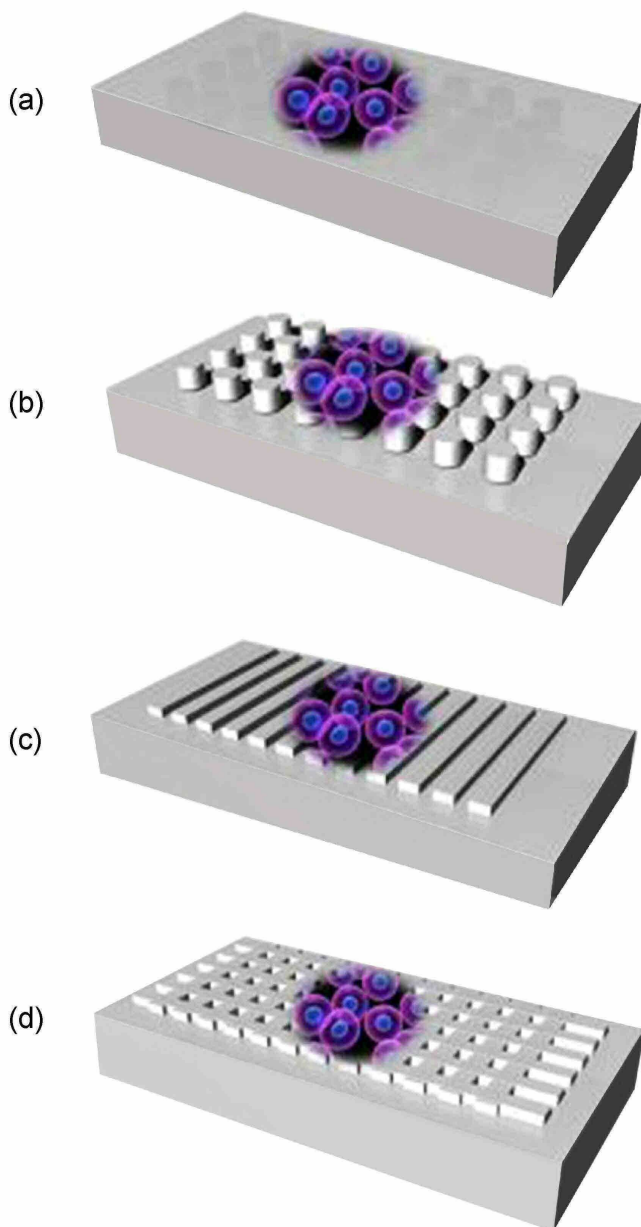
도면1



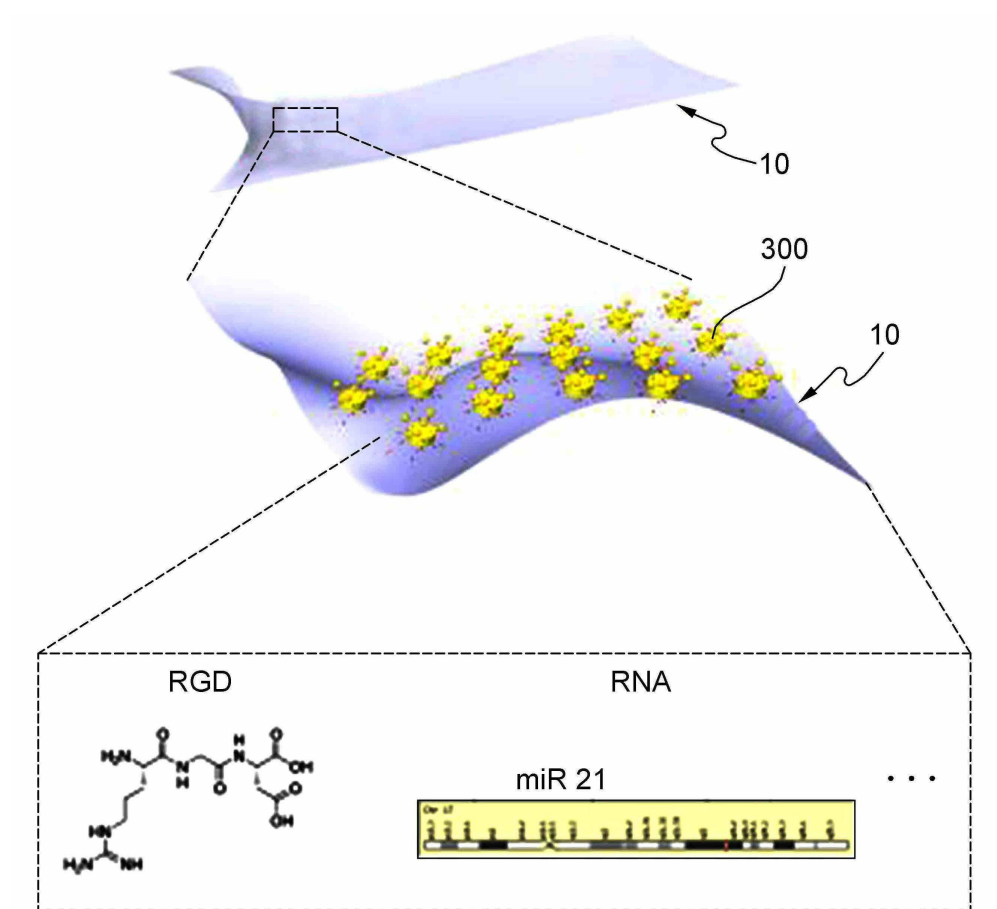
도면2



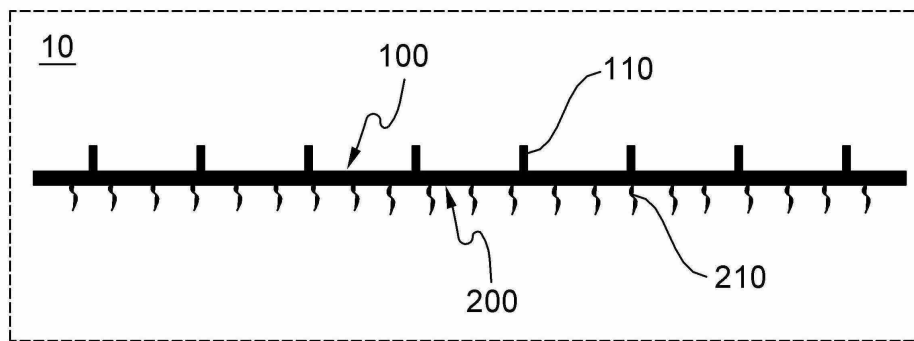
도면3



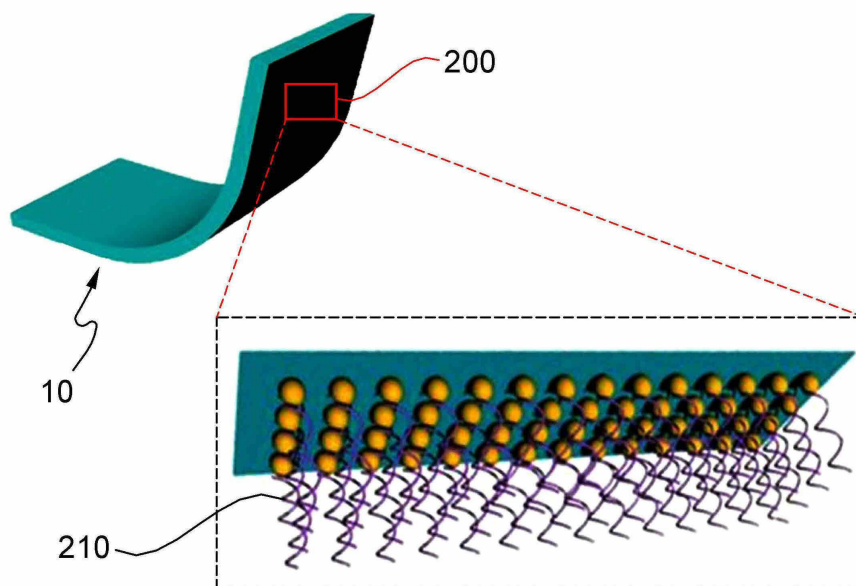
도면4



도면5

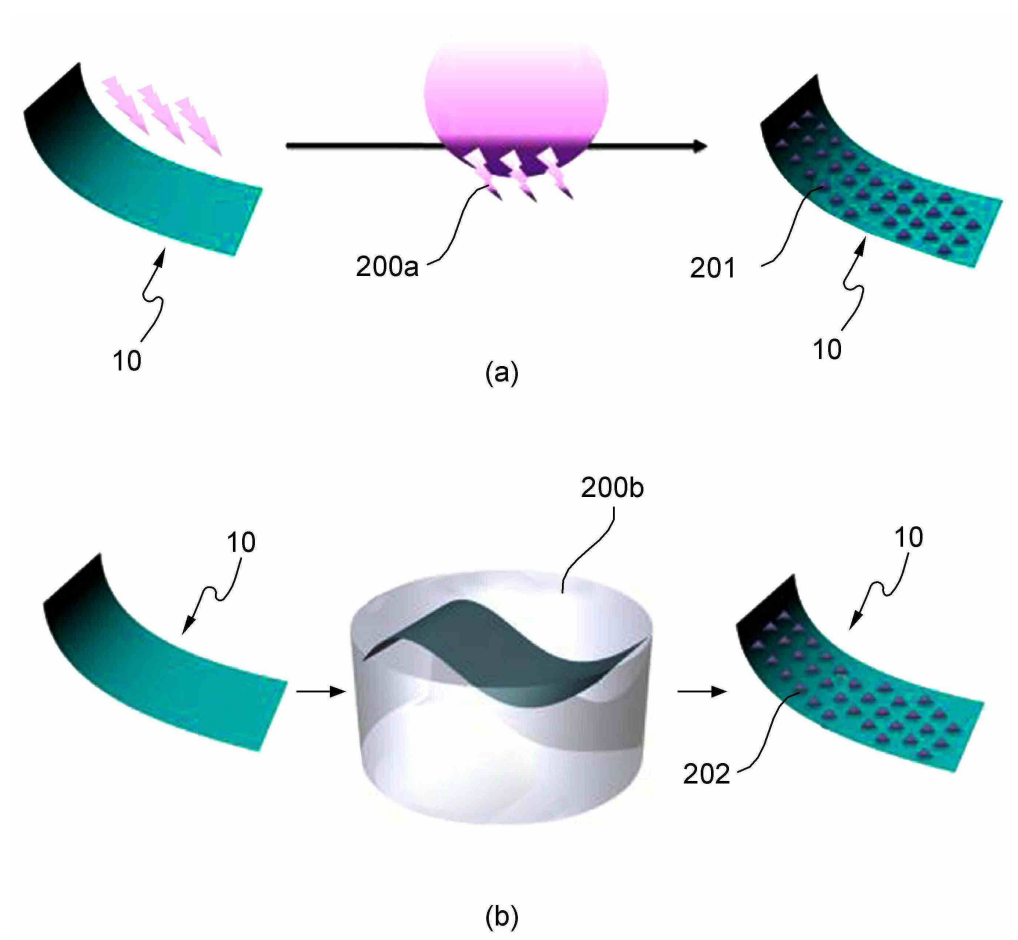


(a)



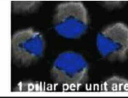
(b)

도면6

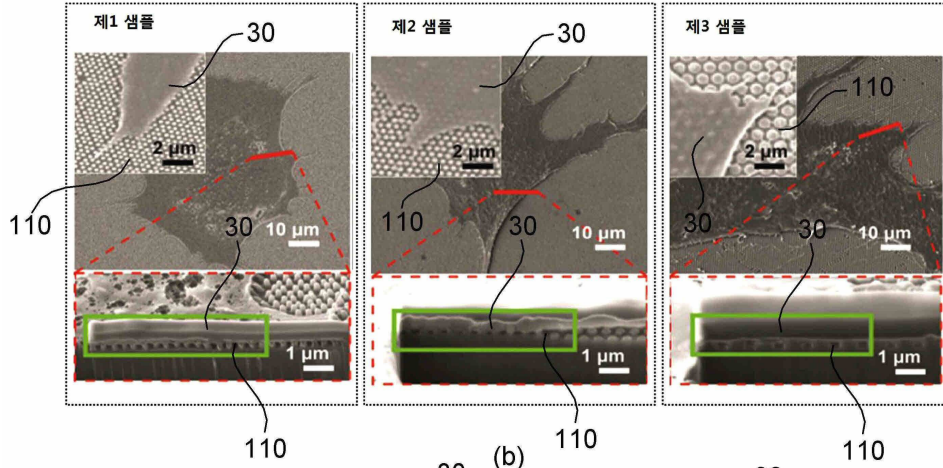


도면7

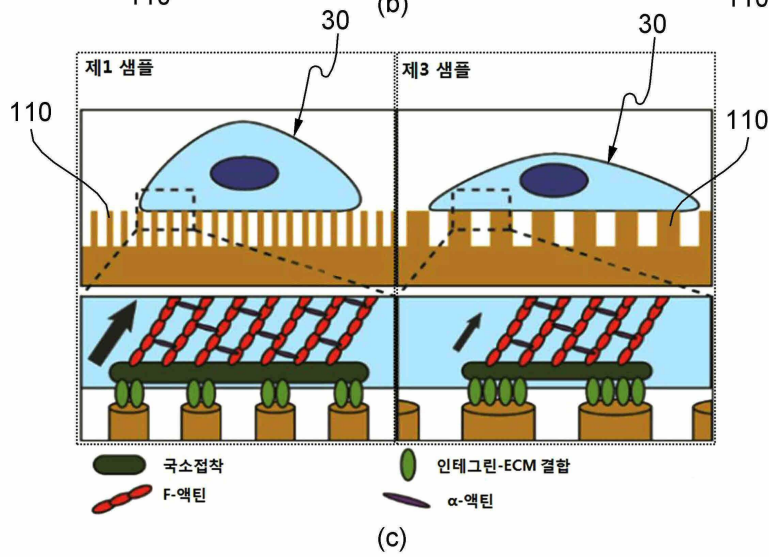
샘플	직경(diameters)(nm)	간격(spacing)(nm)	기둥의 상부 표면적(μm^2)	나노기둥 어레이 면적 분율(%)
제1 샘플	196.07 ± 7.62	173.43 ± 19.54	0.0302 ± 0.0023	25.54
제2 샘플	271.88 ± 13.43	222.61 ± 18.10	0.0582 ± 0.0059	27.42
제3 샘플	710.97 ± 20.72	293.59 ± 41.14	0.3973 ± 0.0232	47.22



(a)

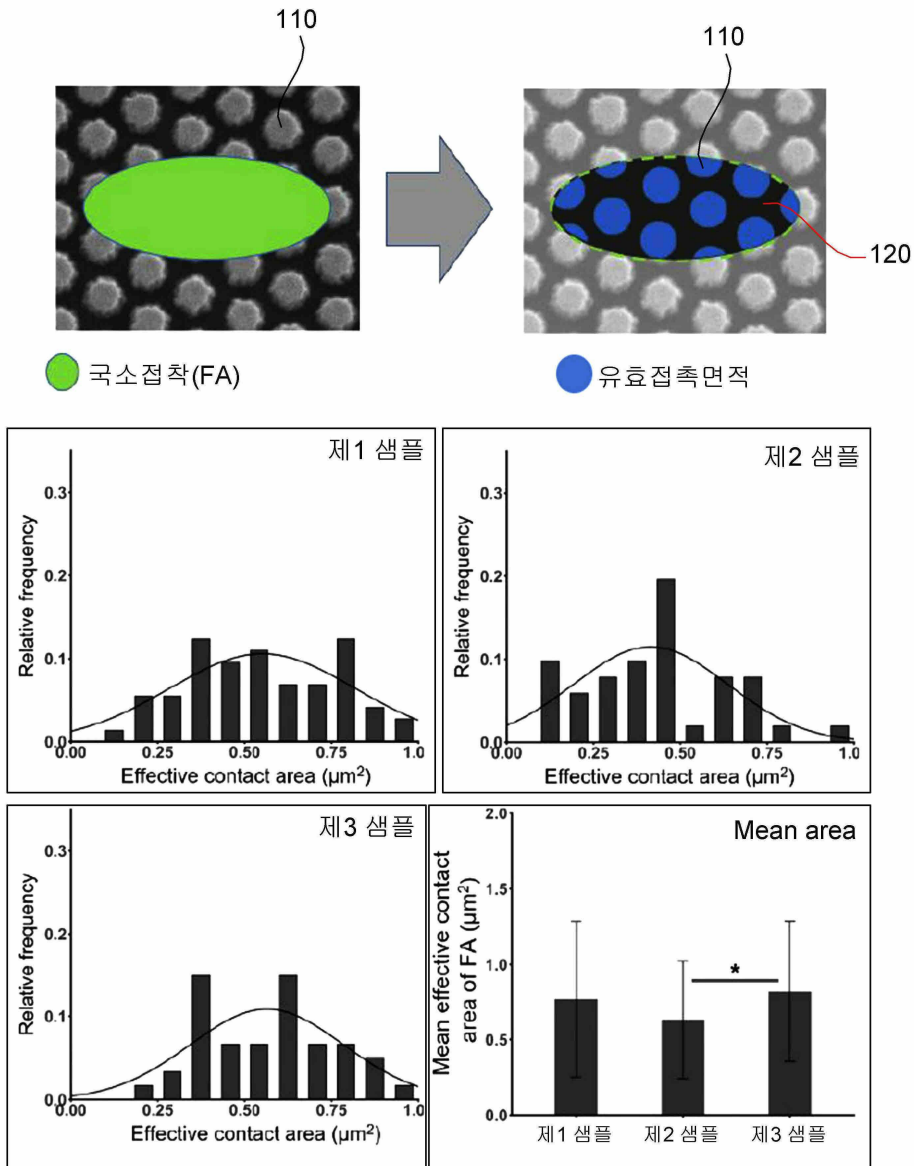


(b)

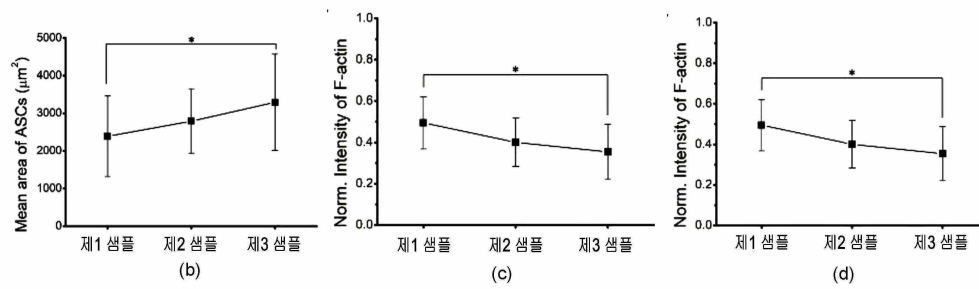
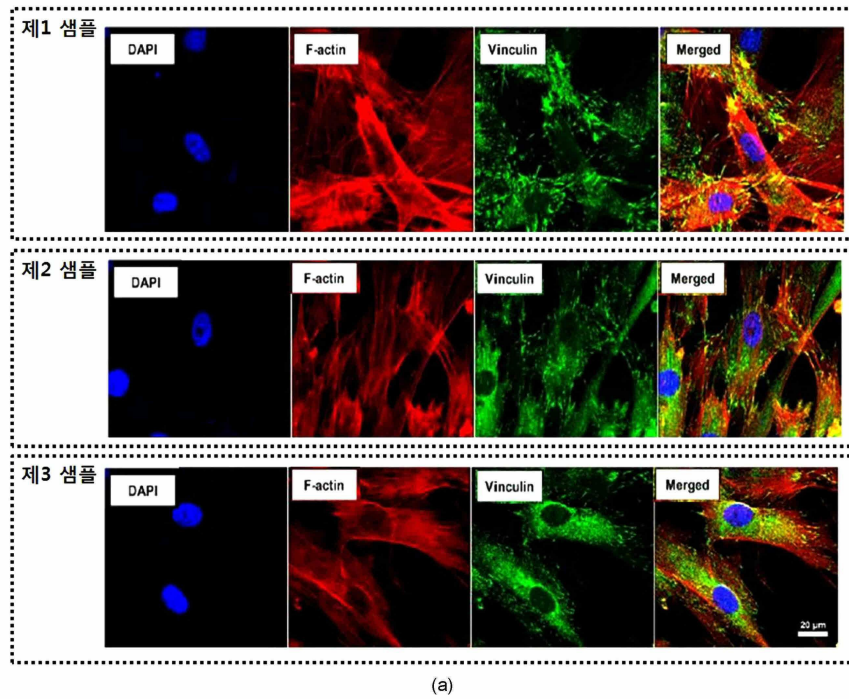


(c)

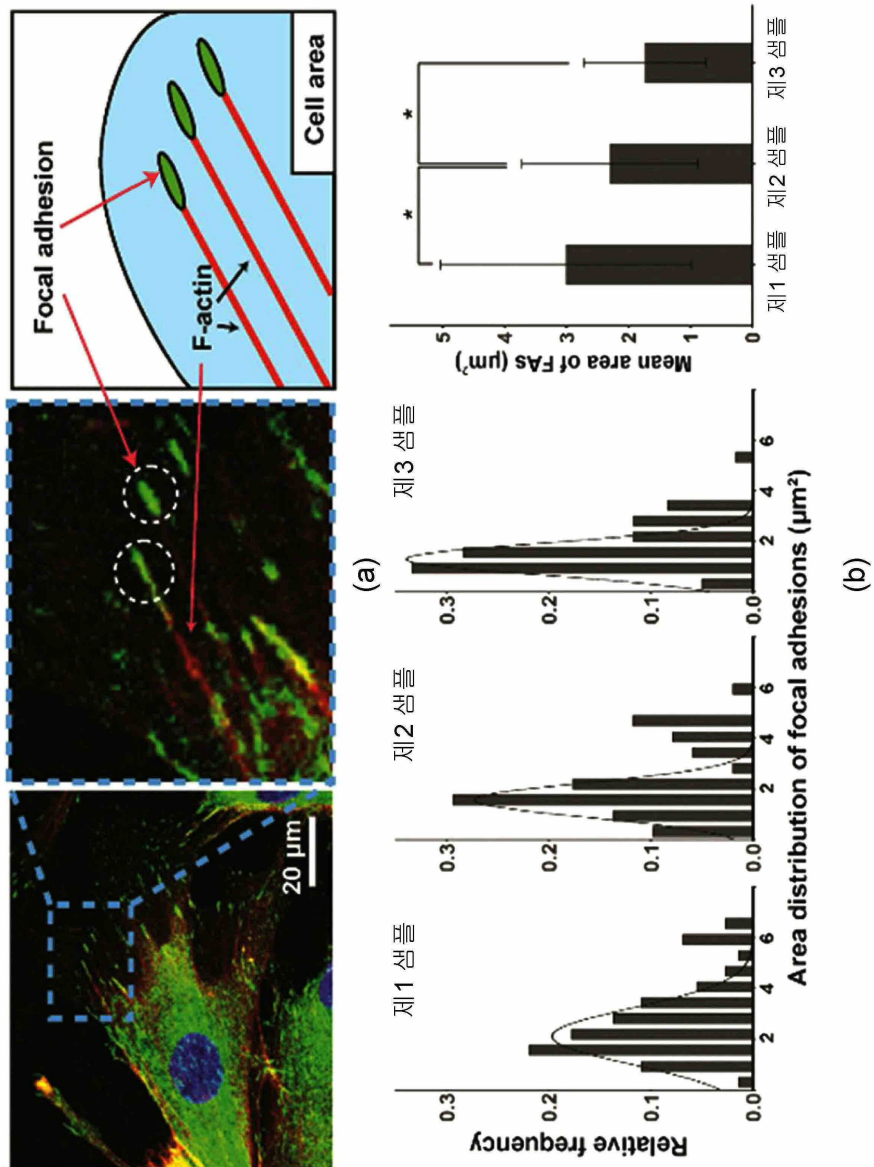
도면8



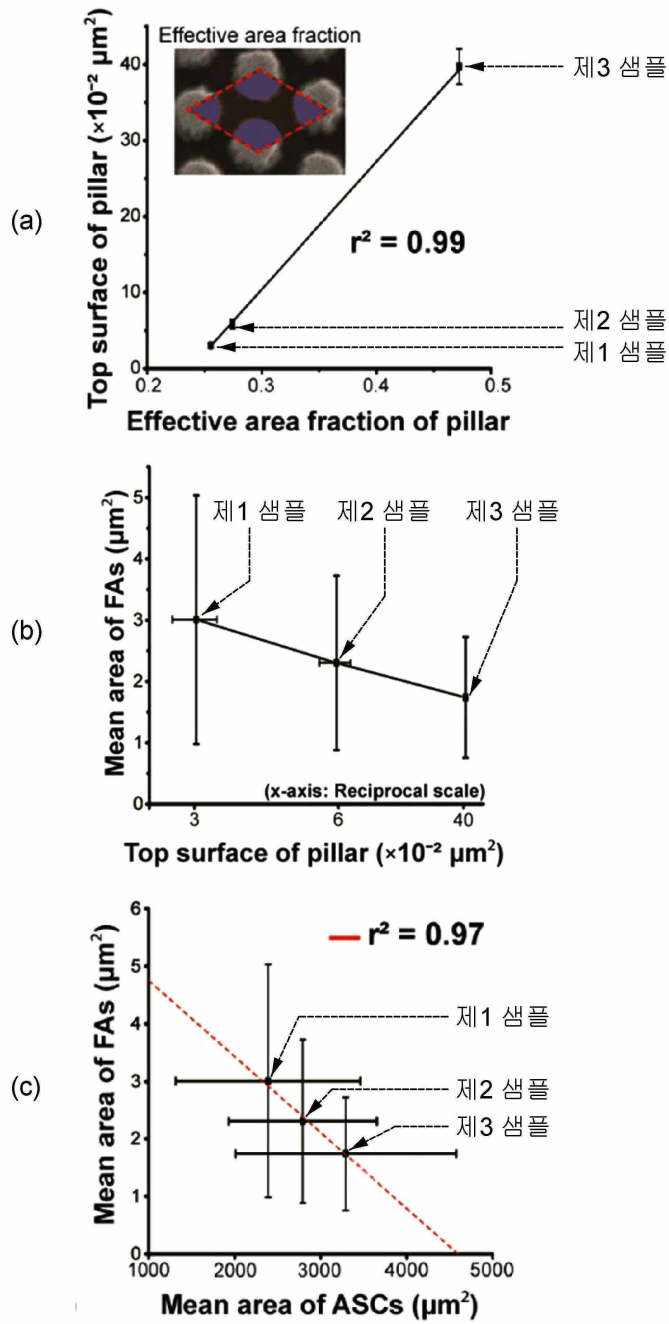
도면9



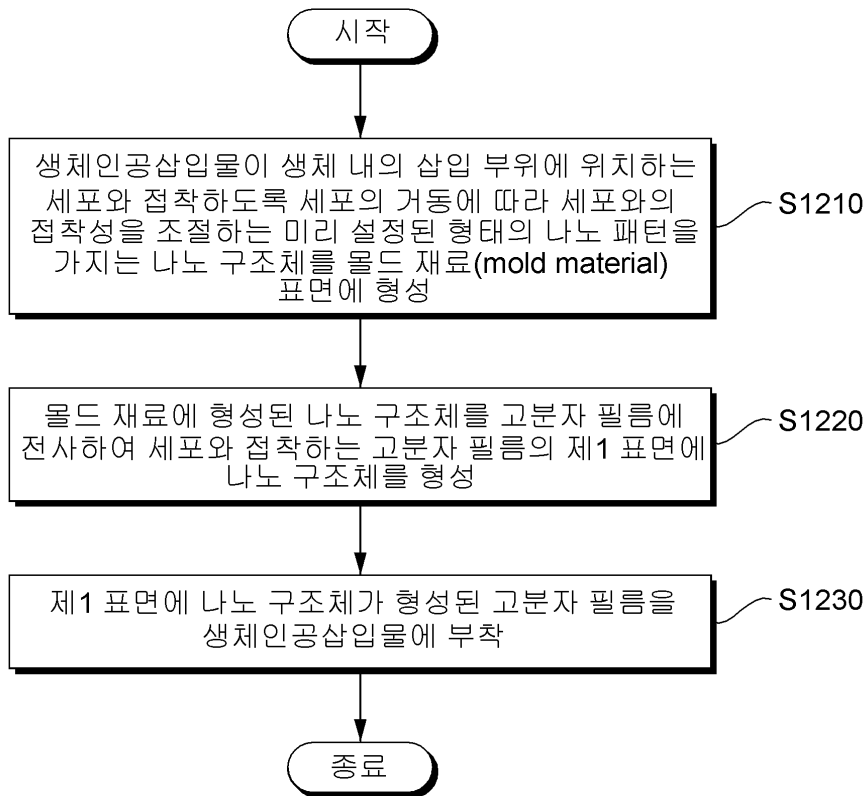
도면10



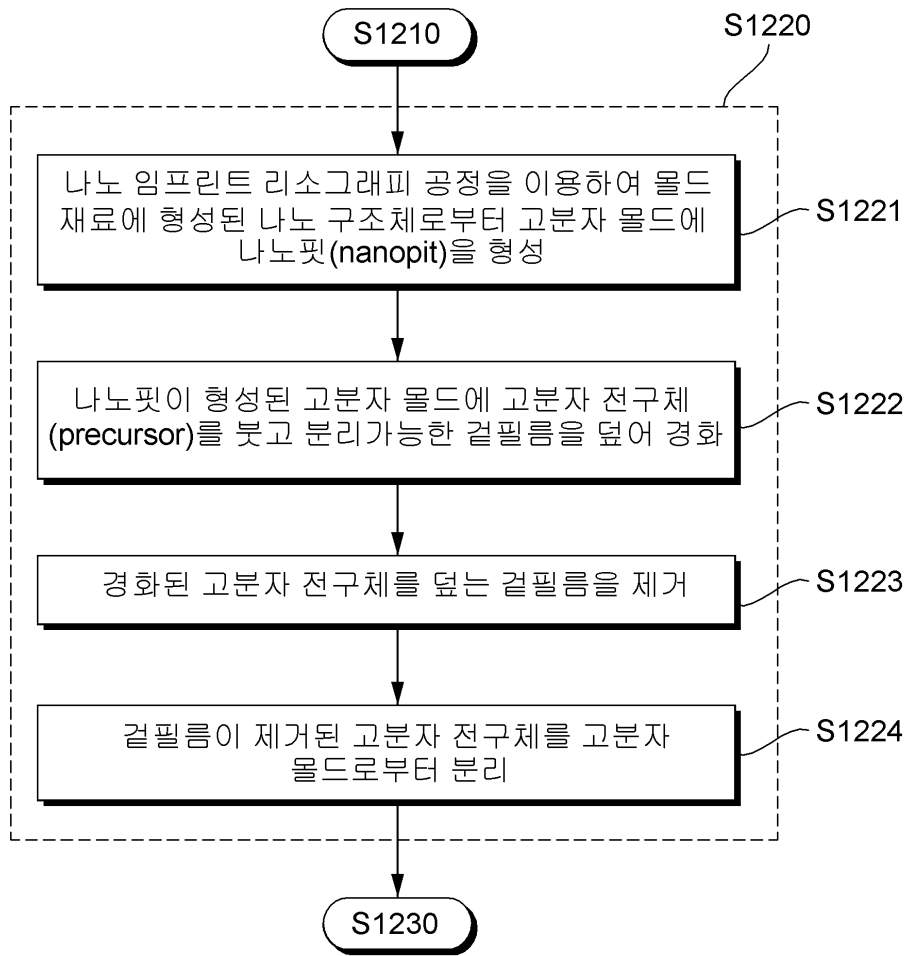
도면11



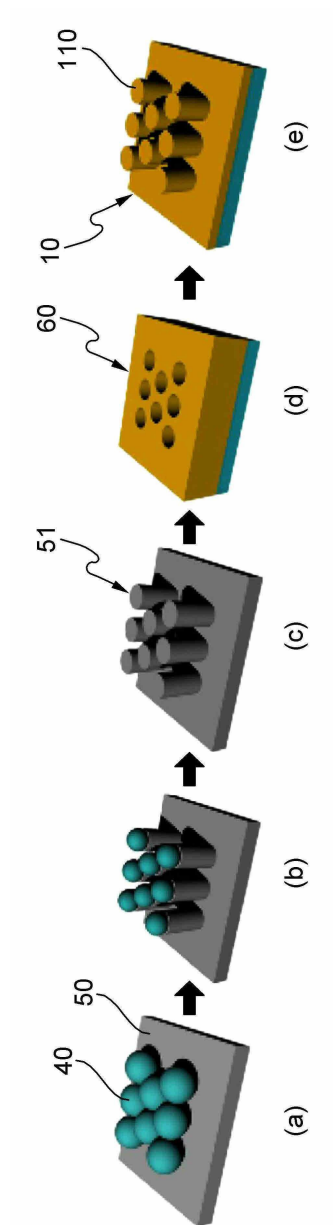
도면12



도면13



도면14



도면15

