



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월28일  
(11) 등록번호 10-2570403  
(24) 등록일자 2023년08월21일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C08K 9/04 (2006.01) C08J 5/18 (2006.01)  
C08K 3/34 (2006.01) C08L 75/04 (2006.01)  
B82Y 30/00 (2017.01)
- (52) CPC특허분류  
C08K 9/04 (2013.01)  
C08J 5/18 (2021.05)
- (21) 출원번호 10-2023-0023743
- (22) 출원일자 2023년02월22일  
심사청구일자 2023년02월22일
- (56) 선행기술조사문헌  
JP2003525964 A\*  
(뒷면에 계속)

- (73) 특허권자  
순천향대학교 산학협력단  
충청남도 아산시 신창면 순천향로 22, 순천향대학교내
- 한양대학교 에리카산학협력단  
경기도 안산시 상록구 한양대학로 55
- (72) 발명자  
황용성  
경기도 화성시 동탄대로4길 95, 3408동 701호
- 최철민  
경기도 의정부시 송양로 46, 705동 1002호  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
위병갑

전체 청구항 수 : 총 10 항

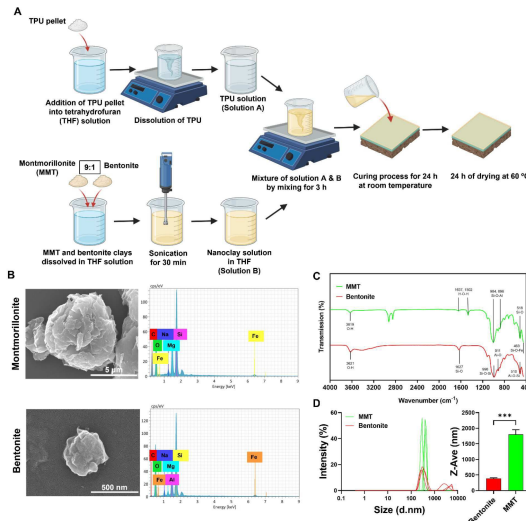
심사관 : 원용준

(54) 발명의 명칭 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU)을 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체 및 이의 용도에 관한 것으로, 나노클레이로서 몬모닐로나이트와 벤토나이트의 혼합물을 사용하여 입자의 균일성을 개선하고, 항균 활성이 증가되어, 다양한 생의학 용도로서 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



- (52) CPC특허분류
  - C08K 3/346* (2013.01)
  - C08L 75/04* (2013.01)
  - B82Y 30/00* (2013.01)
  - C08J 2375/04* (2013.01)
- (72) 발명자
  - 이주현**  
서울특별시 송파구 오금로35길 17, 43동 702호
  - 서원빈**  
경기도 수원시 팔달구 경수대로 534, 103동 1202호
  - 홍순국**  
경상남도 창원시 진해구 여명로 19, 111동 1202호
  - 오텔리아 레바나**  
Jl. Kemang Melati 3, L-35, Kemang Pratama 2, Bekasi, West Java, Indonesia
  - 정지훈**  
충청남도 천안시 서북구 성환읍 천안대로 1843, 103동 807호
  - 허성식**  
서울특별시 서초구 신반포로 270, 117동 2501호
- (56) 선행기술조사문헌
  - JP2010529276 A\*
  - JP2015533859 A
  - KR1020020017569 A
  - KR1020060108282 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711146753
과제번호	2019H1D3A2A02102074
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	해외우수과학자유치(Brain Pool)사업
연구과제명	3차원 traction force microscopy (TFM) 기반 줄기세포 및 암세포의 운명 조절 기전 연구
기여율	30/100
과제수행기관명	순천향대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711178031
과제번호	2021H1D3A2A01099734
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	해외우수과학자유치(Brain Pool)사업
연구과제명	3차원 traction force microscopy (TFM) 활용한 역학적 전이에 의한 암전이 조절 기전 연구
기여율	30/100
과제수행기관명	순천향대학교
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711164896
과제번호	2019R1A5A8083404
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	선도연구센터
연구과제명	대사질환 조직 항상성 연구센터
기여율	40/100
과제수행기관명	순천향대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

공지예외적용 : 있음

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

몬모릴로나이트 및 벤토나이트가 9:1의 중량비로 혼합된 나노클레이; 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU); 를 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 나노클레이는 2 내지 20 중량%로 포함되는 것인, 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체.

#### 청구항 4

TPU 용액 및 몬모릴로나이트 및 벤토나이트가 9:1의 중량비로 혼합된 나노클레이 용액을 혼합하는 단계; 상기 혼합물을 실온에서 1차 건조하는 단계; 및 50 내지 70℃에서 2차 건조하는 단계; 를 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체의 제조 방법.

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

제 1 항 또는 제 3 항의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 항균 필름.

#### 청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 항균 필름의 표면에서 박테리아의 부착을 저해하고 사멸시키는 것인, 항균 필름.

#### 청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 박테리아는 그람-양성 및 그람 음성 박테리아를 포함하는 것인, 항균 필름.

#### 청구항 9

제 1 항 또는 제 3 항의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 의료용 임플란트.

#### 청구항 10

제 1 항 또는 제 3 항의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 상처 드레싱.

#### 청구항 11

제 1 항 또는 제 3 항의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 표면을 갖는 의료기기.

**청구항 12**

제 1 항 또는 제 3 항의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 생체내 이식용 재료.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU)을 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체 및 이의 용도에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] TPU (Thermoplastic Poly Urethane)는 수소 결합 및 우레탄기 사이의 분자간 상호작용에 의해 미세상으로 분리되는, 경성 및 연성 세그먼트로 구성되며 고분자 물질로, 높은 연성, 우수한 마멸저항 및 우수한 생체저합성을 보이고 있어 투석 장비, 상처 드레싱, 유방삽입물의 코팅제, 조직공학 등과 같은 생의학 분야뿐만 아니라 항공 우주산업 및 스포츠산업에 이르는 다양한 분야에서 사용된다. 조직공학에 폴리우레탄-기반 물질을 적용하는 것은 Reyes 등의 문헌 (Rsc Adv, 7 (2017) 31502-31511)에서 보고되었으며, 마우스 소뇌로부터 분리한 정상세포 및 HEK293 세포의 배양 용도의 신규한 poly(3-hydroxybutyrate-g-vinyl-alcohol) polyurethane 스캐폴드 개발에 중점을 두고 있다. 합성 폴리우레탄-기반 물질의 생물학적 활성은 필수적인 대사 캐스케이드 중 하나인 Ca<sup>2+</sup>의 세포 대사에 의해 입증되었다. Ju 등의 문헌 (Tissue Engineering and Regenerative Medicine, (2022))에서 상처 드레싱에 적용되는 폴리사카라이드-함유 폴리우레탄을 성공적으로 개발하였으며, Tallapeni 등의 문헌 (Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 18 (2021) 713-734)에서는 당뇨병 상처 회복을 위한 생체재료 플랫폼으로서 폴리우레탄-기반 스캐폴드를 제조하였고, Torres 등의 문헌 (Mater Today Commun, 23 (2020))에서는 키토산으로 그래프트된 poly(3-hydroxybutyrate) polyurethane 나노복합체의 생체적합성을 입증하였다.

[0003] 폴리우레탄에 클레이 나노입자와 같은 나노성분을 도입하여 생분해 동안 기계적 특성이 감소되는 문제를 해결하고자 하는 연구가 진행되고 있다. Lee 등의 문헌 (Biomaterials, 24 (2003) 2773-2778)에서는 소량의 MMT 클레이를 생분해성 poly(l-lactic acid) (PLLA)에 도입하여 다공성 스캐폴드의 기계적 강직도를 조절하였다. MMT 클레이는 높은 항박테리아 활성, 낮은 항미생물 저항성 및 높은 팽창성 및 흡수성으로 인해 생의학 분야에서 널리 연구되고 있다 MMT 이외에도, 벤토나이트 또한 우수한 팽창성, 흡수성 및 콜로이드 특성으로 인해 표백제, 애완동물 배설물 처리제 및 건조제와 같은 다양한 산업 분야에서 널리 사용되고 있다.

[0004] 나노클레이인 MMT를 TPU에 도입하여 제조된 필름은 나노클레이의 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)에 의한 항균 효과에 의해 효과적인 항균 표면을 가질 수 있으나, MMT 나노클레이가 응집하는 경향이 있는 시트로 구성되어 있어 필름에 균질하게 분포되기 어려운 문제가 있다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2005-0117629호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0006] 이에, 본 발명의 발명자들은 클레이 물질로서 MMT와 벤토나이트를 9:1의 비율로 혼합하여 TPU 필름에 도입하여, 입자 균일성이 개선되고 표면 상의 박테리아 부착을 저해함을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0007] 이에 따라, 본 발명은 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU)을 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체 및 이의 용도를 제

공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0008] 본 발명은 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이; 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU);을 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 TPU 용액 및 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이 용액을 혼합하는 단계; 상기 혼합물을 실온에서 1차 건조하는 단계; 및 50 내지 70℃에서 2차 건조하는 단계;를 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체의 제조 방법 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 항균 필름을 제공한다.
- [0011] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 의료용 임플란트를 제공한다.
- [0012] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 상처 드레싱을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 표면을 갖는 의료기기를 제공한다.
- [0014] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 생체내 이식용 재료를 제공한다.

**발명의 효과**

- [0015] 본 발명의 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체는 몬모릴로나이트 및 벤토나이트를 최적의 비율로 포함하여, 입자의 균일성을 개선하여 나노클레이의 응집 문제를 해결하였으며, 표면 상의 박테리아의 부착을 저해하고 박테리아를 사멸시킬 수 있어 다양한 생의학 용도로서 활용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0016] 도 1은 나노클레이-함유 필름의 제조 공정 및 나노클레이 분말의 특성화 분석 결과를 나타낸 것이다: (a) TPU (thermoplastic polyurethane) 기재 상에 나노클레이-함유 표면 제작 모식도. (b) 몬모릴로나이트 (MMT) 및 벤토나이트 클레이 입자의 SEM 및 EDS 분석 결과. (c) MMT 및 벤토나이트 클레이 입자의 FTIR 분석 결과. (d) MMT 및 벤토나이트 클레이 입자의 DSC 분석 결과. \*\*\* $p < 0.001$ .
- 도 2는 TPU-기반 나노클레이 표면의 특성화 분석 결과를 나타낸 것이다: (A) TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 광학 이미지. (B) 플레인 TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 SEM 이미지(scale bar: 900  $\mu\text{m}$ ). (C) 플레인 TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 EDS 분석 결과. (D) 플레인 TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 FTIR 분석 결과. (E) 플레인 TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 XRD 분석 결과. (F) TPU 및 나노클레이-TPU 필름에 형성된 물방울. (G) TPU 및 나노클레이-TPU 필름의 물 접촉각. ns = statistically non-significant. (H) 플레인 TPU 및 나노클레이-TPU 필름 거칠기의 AFM 이미지 (n = 5).
- 도 3은 박테리아 저해 검정의 모식도이다.
- 도 4는 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대한 TPU-기반 나노클레이 필름의 저해 검정 평가 결과를 나타낸 것이다: (A) 필름 분리 전 및 후의 아가 플레이트 이미지 (scale bar: 20 mm). (B) 1분간 불특성한 후 LB 브로스에서 분리된 필름 및 아가의 이미지. (C) 600 nm에서의 흡광도 (OD<sub>600</sub>)에 기반한 분리된 필름의 정성적 분석 결과. ns = statistically non-significant, \*\*\* $p < 0.001$ . (D) 필름 상의 박테리아의 SEM 이미지 (scale bar = 10  $\mu\text{m}$ , inlet scale bar = 2  $\mu\text{m}$ ).
- 도 5는 박테리아 사멸 검정의 모식도이다.
- 도 6은 TPU-기반 나노클레이 필름의 사멸 특성을 나타낸 것이다. (A) 0 h 및 2 h에 TPU 및 나노클레이-기반 TPU 표면에서 QAS의 검출 결과 (scale bar: 10 mm). (B) 필름 분리 전 및 후의 아가 플레이트의 이미지 (scale bar: 20 mm). (C) 박테리아 사멸 검정의 모식도. (D-E) 1분간 불특성한 후 LB 브로스에서 분리된 필름 및 아가의 이미지. (F) TPU 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 사멸 효율. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . (G) 사멸된 박테리아의 SEM 이미지 (scale bar = 5  $\mu\text{m}$ , inlet scale bar = 3  $\mu\text{m}$ ).

도 7은 hDF 세포에 대한 TPU 및 나노클레이-기반 TPU의 세포독성 테스트 결과를 나타낸 것이다: (A-B) hDF 세포 배양 및 조정 배지 (CM) 제조의 모식도. (C) 24시간 성장 후 세포 생존도. ns = statistically non-significant. (D) 성장 배지 및 조정 배지에서 24시간 인큐베이션 후 hDF p20의 생/사 이미지 (scale bar = 200 μm).

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0017] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에 서 설명하는 실시예에 의해 본 발명이 한정되지 않으며 본 발명은 후술할 청구 범위에 의해 정의될 뿐이다.
- [0018] 덧붙여, 본 발명에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시 예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 본 발명의 명세서 전체에서 어떤 구성요소를 '포함'한다는 것은 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0020] 본 발명은 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이; 및 열가소성 폴리우레탄 (Thermoplastic polyurethane; TPU);을 포함하는 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.
- [0021] 상기 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체는 TPU 용액 및 4차 암모늄염 (quaternary ammonium salts; QAS)을 포함하는 나노클레이 용액을 혼합하는 단계; 상기 혼합물을 실온에서 1차 건조하는 단계; 및 50 내지 70℃에서 2차 건조하는 단계에 의해 제조될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 상기 나노클레이는 몬모틸로나이트 및 벤토나이트가 9:1의 중량비로 혼합된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0023] 상기 나노클레이는 나노복합체에 대하여 2 내지 20 중량%, 예를 들어 5 내지 15 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 항균 필름에 관한 것이다.
- [0026] 상기 항균 필름은 표면에서 박테리아의 부착을 저해할 수 있으며, 박테리아를 사멸시킬 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0027] 상기 박테리아는 그람-양성 및 그람 음성 박테리아일 수 있으며, 예를 들어 황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*), 대장균 (*E. coli*) 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 의료용 임플란트에 관한 것이다.
- [0029] 또한, 본 발명은 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 상처 드레싱에 관한 것이다.
- [0030] 또한, 본 발명은 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 표면을 갖는 의료기기에 관한 것이다.
- [0031] 상기 의료기기는 표면이 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체로 구성되거나 코팅된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0032] 또한, 본 발명은 본 발명은 본 발명에 따른 나노클레이-폴리우레탄 나노복합체를 포함하는 생체내 이식용 재료에 관한 것이다.
- [0034] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 등을 제시한다. 그러나 하기의 실시예 등은 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예 등에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0036] <실시예>
- [0037] 제조예 1
- [0038] 나노클레이-함유 TPU 필름의 제조
- [0039] 도 1A에 도시된 바와 같이 TPU 용액 및 클레이 용액을 혼합하여 나노복합체 표면을 제조하였다. 우선, THF (tetrahydrofuran) 용액에 TPU 펠렛을 첨가하여 TPU 용액을 제조하고 펠렛이 완전히 녹을 때까지 교반 바를 이

용하여 혼합하였다. 그런 다음 9:1 중량 비율의 MMT 및 벤토나이트 클레이를 THF 용액에 첨가하여 클레이 용액을 제조하고 30분간 초음파처리하였다. 그런 다음, 두 용액을 교반 바를 사용하여 3시간 동안 혼합하고 실온에서 24시간 동안 말렸다. 용제를 60 °C에서 24시간 동안 건조하여 나노클레이-함유 필름을 사용할 준비를 하였다.

[0041] 실시예 1

[0042] FTIR, XRD, SEM, AFM, 및 DLS에 의한 표면 특성화

[0043] 나노클레이 분말 (벤토나이트 및 몬모릴로나이트), 플레인 TPU, 5% (w/v) 클레이-TPU, 및 15% (w/v) 클레이-TPU 필름의 FTIR 스펙트럼을 1 cm<sup>-1</sup>의 분광 해상도에서 450 내지 4000 cm<sup>-1</sup>의 스펙트럼 폭을 갖는 FTIR spectrometer (Frontier; Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 사용하는 attenuated total reflectance (ATR) 기술로 분석하였다. 나노클레이 분말, TPU, 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 XRD 패턴을 3° 내지 80° 로의 1° (2θ)/min의 스캔 속도 및 40 kV 및 15 mA의 Cu 방사선에서 X-ray diffractometer (Rigaku, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. SEM (SIGMA 500; Carl Zeiss, Jena, Germany)을 사용하여 벤토나이트 및 몬모릴로나이트 클레이 및 나노클레이 함유 TPU 필름 표면의 입자를 확인하였다. 우선, 표본을 SEM 이미지촬영 전에 등급 순서의 에탄올 용액을 사용하여 40초 동안 계속해서 탈수시키고, 및 완전히 건조된 후 샘플을 sputter coater (E-1030; Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 백금-코팅하였다.

[0044] 그런 다음, atomic force microscopy (AFM) (SPM 9700, Shimadzu, Japan)을 사용하여 플레인 TPU 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 표면 거칠기를 확인하고, 루트-평균-스퀘어 거칠기 ( $R_{RMS}$ ) 및 평균 거칠기 ( $R_a$ )를 dynamic mode operation을 사용하여 임의로 선택된 5개 지점 (scan area of 5 X 5 μm)에서 평가하였다. 나노클레이 입자 또한 dynamic light scattering (DLS, Zetasizer Nano ZS90, Malvern Instruments Ltd., U.K.)을 사용하여 측정하였다. DLS 측정을 위해, 몬모릴로나이트 및 벤토나이트 분말을 증류수에 희석하고, 1 mL의 각 샘플을 일회용 큐벳에 첨가하고 실온에서 크기를 기록하였다.

[0046] 접촉각 측정

[0047] 20°C에서 contact-angle meter (Phoenix 300 Touch; SEIO Co., Ltd., Yongin, Korea)를 사용하여 표본의 WCA 수치를 확인하기 위해 정적법을 사용하였다. 샘플 표면을 8 μL의 작은 방울의 증류수로 덮었다. 모든 샘플을 나노클레이-함유 및 플레인 TPU 표면의 3군데의 별개 위치에서 평가하였다. 결과는 표준편차를 갖는 평균으로 나타났다.

[0049] 박테리아 균주 및 배양 조건

[0050] 플레인 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 항박테리아 특성을 그람-양성 (*S. aureus*, KCTC3881) 및 그람-음성 박테리아 (*E. coli*, ATCC25922-GFP)를 사용하여 평가하였다. *S. aureus* 및 *E. coli*는 각각 Korean Collection for Type Culture (KCTC, Daejeon, Korea) 및 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 입수하였다. 박테리아 배양을 유지하기 위해서 보존 및 계대배양이 필요하다. 보존을 위해 박테리아 균주를 -80 °C에서 20% v/v 글리세롤(Bioshop GLY001.1)을 1:1의 비율로 포함하는 Miller's LB broth (Difco Laboratories) 내에 유지시켰다. 한편, 계대배양은 루프를 사용하여 LB 아가 (LB broth Miller 및 Bacto 아가; Difco Laboratories)의 표면의 박테리아를 스트리킹한 후 37 °C에서 밤새 인큐베이션하여 단일 콜로니를 수득하여 실시하였다. 그런 다음, 루프로 스트리킹 플레이트로부터 단일 콜로니를 골라내고 5 mL의 신선한 LB 브로스를 포함하는 등근바닥 튜브로 접종하여 현탁 배양액을 제조하였다. 항박테리아 평가 전에 박테리아 현탁액을 37 °C에서 200 rpm으로 진탕하면서 밤새 배양하였다.

[0052] 박테리아 부착 및 박테리아 사멸 효율의 평가

[0053] 도 3 및 5에서 볼 수 있는 바와 같이, *E. coli* 및 *S. aureus* 에 대한 플레인 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 항박테리아 활성을 박테리아 부착 및 사멸 검정으로 평가하였다. LB 아가 플레이트에 박테리아를 배양하기 위해, 박테리아 배양액을 10<sup>8</sup> CFU/mL의 최종 농도 또는 0.1의 OD<sub>600</sub> 수치(0.5 McFarland standard)까지 계열 희석하고, 100 μL의 각 현탁액을 아가 표면 상에 직접 도말하였다. 박테리아 부착 검정을 위해, 1 X 1 cm 크기의 플레인 TPU, 5% (w/v) 클레이, 및 15% (w/v) 클레이-TPU 필름을 아가 표면의 상부에 위치시키고, 37 °C에서 12시간 동안 인큐베이션하여 아가 상에 박테리아가 완전히 성장하도록 하였다. 인큐베이션 후에 모든 필름을 아가 플레이트로부터 분리하고 1X PBS로 세척하여 비부착 세포를 제거하였다. 양성 대조로서, 아가를 멸균 메스를 사용하

여 같은 크기의 필름 (1 X 1 cm)으로 잘랐다. 아가 및 각 그룹으로부터의 필름을 3 mL의 신선한 LB 브로스를 포함하는 둥근 바닥 플라스크에 각각 옮기고 1분간 불텍싱하여 표면으로부터 박테리아를 분리하였다. 액체를 48-웰 플레이트 (500 μL 각 웰)로 옮기고, Epoch microplate spectrophotometer (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA)를 사용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다 (도 3). 하기 식을 사용하여 나노클레이-함유 TPU 표면에서 박테리아의 저해 퍼센트를 계산하였다:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Average OD600 of nanoclay - embedded TPU samples}}{\text{Average OD600 of plain TPU samples}}\right) \times 100\%$$

[0054]

[0055] 나노클레이-함유 TPU 표면의 살균 특성을 도 5에 도시된 바와 같이 추가 연구하였다. 박테리아 사멸 검정에서, 박테리아 현탁액의 계열 희석 및 도말은 저해 검정에서와 동일한 방식으로 실시하였다. 그러나, 박테리아의 급격한 성장을 위해 도말한 후 아가 플레이트를 37 °C에서 직접 인큐베이션하였다. 12시간 동안 인큐베이션 후, 플레인 TPU, 5% (w/v) 클레이, 및 15% (w/v) 클레이-TPU 필름 (1 X 1 cm)을 박테리아가 완전히 성장된 아가 표면 상부에 직접적으로 위치시켰다. 접촉 면적을 증가시키기 위해, 필름을 60초간 5 g의 중량으로 눌렀다. 그런 다음 모든 필름을 아가 플레이트에서 분리하고 1X PBS로 조심스럽게 세척하여 비-부착 세포를 제거하였다. 1 X 1 cm 크기로 자른 아가를 양성 대조로 사용하였다. 아가 및 각 그룹으로부터의 필름을 3 mL의 신선한 LB 브로스를 포함하는 둥근 바닥 플라스크에 각각 옮기고 1분간 불텍싱하여 표면으로부터 박테리아를 분리하였다. 상기 기재된 바와 같은 방식으로 48-웰 플레이트에서 흡광도를 측정하였다. 사멸 효율을 하기 식을 사용하여 계산하였다:

$$\text{Killing efficiency (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Average normalized OD600 of nanoclay - embedded TPU samples}}{\text{Average normalized OD600 of plain TPU samples}}\right) \times 100\%$$

[0056]

[0057] TPU 및 나노클레이-함유 TPU 필름 상에서의 박테리아 부착 및 사멸된 박테리아를 SEM (SIGMA 500; Carl Zeiss, Jena, Germany)을 사용하여 시각화하였다. 표본을 2.5% 글루타알데하이드로 고정하고 SEM 이미지화 전에 등급 순서의 에탄올 용액으로 10분간 계속해서 탈수시켰다; 완전히 건조된 후에, 샘플을 sputter coater (E-1030; Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 백금으로 코팅하였다.

[0059]

***In Vitro* 세포 배양**

[0060]

Human dermal fibroblasts (hDFs) (Daewoong Pharmaceutical Company, Seoul, Korea)을 도 7A에 도시된 바와 같이 배양하였다. 10% FBS (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, USA) 및 1% P/S (10,000 U/mL penicillin 및 10,000 g/mL)이 보충된 Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM; Corning, Oneonta, NY, USA)을 성장 배지로 사용하였다. 세포독성 및 생/사 검정을 위해, 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트에  $5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>의 밀도로 접종하고 100 mL 성장 배지 (각 웰)에서 100% 컨플루언시에 다다를 때까지 배양하였다.

[0062]

**hDFs에서 *In Vitro* 세포독성 테스트 및 생/사 검정**

[0063]

세포독성 테스트를 세포 생존도 (CellVia) 및 생/사 검정을 사용해 실시하여 세포 배양에 대한 나노복합체 물질의 독성 가능성을 확인하였다. CellVia kit (Enhanced Cell Viability Assay Kit, LF-EX1001, Abfrontier, Seoul, Korea)를 MTT에 대한 대체가능한 시약으로서 사용하여 테트라졸리움 염을 보라색 포르마잔으로 환원시키는 미토콘드리아 NADH-디하이드로게나아제의 활성화에 기반하여 살아있는 세포의 수를 측정하였다. 또한, 샘플의 추출 물질을 함유하는 배지인 조정배지가 CellVia 및 생/사 검정 둘 다에 필요하다. hDFs를 앞서 기재한 바와 같이 96-웰 플레이트에서 배양하고, 세포가 70-80% 컨플루언시에 이르렀을 때 조정 배지를 제조하였다. 조정 배지는 1 X 1 cm 크기로 자른 플레인 TPU, 5% (w/v) 클레이, 및 15% (w/v) 클레이-TPU 필름을 개별적인 1.5 mL 에펜도르프 튜브에 담그고 표면에서 물질이 추출되도록 24시간 동안 인큐베이션하여 제조하였다 (도 7A). 세포가 100% 컨플루언시에 도달하면, 96-웰 플레이트 내의 성장 배지를 흡입하여 제거하고 세포를 1X PBS로 세척한 후 100 mL 조정 배지 (각 웰)에서 24시간 동안 추가 배양하였다. 인큐베이션 후, 각 웰에서 100 μL의 성장 배지에 10 μL의 CellVia 용액을 첨가한 후 2시간 동안 인큐베이션하여 CellVia 검정을 실시하였다. 그런 다음 96-웰 플레이트 내의 액체를 조심스럽게 재현탁하고 microplate reader (Epoch Microplate Spectrophotometer; BioTek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하는데 사용하였다 (도 7B). 하기 식을 사용하여 세포 생존도를 계산하였다:



$$\text{Viability (\%)} = \left( \frac{\text{Average OD450 of plain TPU or nanoclay - embedded TPU samples}}{\text{Average OD450 of cell in growth media}} \right) \times 100\%$$

[0064]

[0065]

4 mM 칼세인 AM (성분 A) 및 2 mM EthD-1 스톡 용액 (성분 B)를 포함하는 LIVE/DEAD<sup>®</sup> 생존도/세포독성 키트를 사용하여 세포 생존도의 정량 평가를 실시하였다. 성분 B를 멸균 1X PBS 에 1:500 비율로 희석하여 염색 용액을 제조하였다. 그런 다음 이 용액을 1:200 비율로 성분 A에 첨가한 후 불태성하였다. 96-웰 플레이트를 흡입하고, 100  $\mu$ L의 염색 용액을 각 웰에 첨가하였다. 그런 다음 플레이트를 37  $^{\circ}$ C에서 30분간 인큐베이션한 후, 배지를 흡입하고, 세포를 1X PBS로 세척하였다. 세포를 Soonchunhyang Biomedical Research Core Facility of the Korea Basic Science Institute (KBSI)에서 형광 현미경 (Eclipse Ti-U; Nikon, Tokyo, Japan)을 사용하여 시각화하였다.

[0067]

**통계분석**

[0068]

모든 수치는 각 그룹에서 3회 반복 실험의 평균  $\pm$  표준 편차로 나타냈으며, 통계적 유의성은 GraphPad Prism software를 사용하여 변형된 ANOVA multiple comparison test와 one-way analysis로 평가하였다. 0.05보다 낮은 *p* 수치를 갖는 결과는 유의성이 있는 것으로 간주되었다 (\**p* <0.05; \*\**p* <0.01; \*\*\**p* <0.001 of three biological replicates).

[0070]

**실시예 2**

[0071]

**나노클레이-함유 TPU 필름의 제조**

[0072]

나노복합체-기반 항박테리아 표면은 도 1A에 도시된 바와 같이 TPU에 나노클레이를 첨가하여 제조하였다. 이전 연구와는 다르게, MMT 클레이가 응집되는 경향이 있는 다중 시트로 구성되어 있으므로 균질한 입자 분포를 이루도록 벤토나이트를 저농도로 나노클레이 용액에 추가로 첨가하였다. 박테리아 부착에 대한 본 발명의 제조된 표면의 효과를 확인하기 위해, 다른 농도의 나노클레이 (5 중량% 및 15 중량%)를 제조하여 TPU 표면에 추가하였다.

[0074]

**SEM, EDS, FTIR, AFM, 및 DLS에 의한 나노클레이 입자 및 나노클레이-함유 TPU 필름의 특성화**

[0075]

SEM 분석을 실시하여 몬모릴로나이트 (MMT) 및 벤토나이트 클레이 입자의 형태를 확인하였다. SEM 이미지 (도 1B)는 MMT가 다른 크기의 불규칙한 모양의 입자 및 응집 경향이 있는 다중 시트로 구성됨을 보였다. 반대로, 벤토나이트는 상대적으로 균질하고 매끈한 입자 형태를 보였다. 그런 다음, 본 발명의 제조된 표면의 화학 조성을 energy-dispersive spectroscopy (EDS) 분석으로 확인하였으며, Na, Si, 및 Mg 원자가 MMT 및 벤토나이트 둘 다에서 검출되었다. 그러나, Al 원자는 벤토나이트에서만 검출되었다 (도 1B). MMT 및 벤토나이트 분말 샘플의 기능기를 FTIR 분석으로 확인하고, 결과를 도 1C에 나타냈다. MMT의 FTIR 스펙트럼은 O-H 스트레칭에 대해 3619  $\text{cm}^{-1}$ , H-O-H 벤딩에 대해 1637 및 1502  $\text{cm}^{-1}$ , Si-O 스트레칭에 대해 984 및 896  $\text{cm}^{-1}$ , Si-O에 대해 518  $\text{cm}^{-1}$ , 및 Si-O-Fe에 대해 463  $\text{cm}^{-1}$ 에서 밴드를 보였다. 반면에, 벤토나이트의 FTIR 스펙트럼은 O-H, Si-O, Si-O-Si, Al-O, 및 Al-O-Si 스트레칭에 대해 각각 3621  $\text{cm}^{-1}$ , 1627  $\text{cm}^{-1}$ , 996  $\text{cm}^{-1}$ , 911  $\text{cm}^{-1}$ , 및 510  $\text{cm}^{-1}$ 에서 밴드를 보였다. 또한, DLS 결과는  $Z_{\text{Ave}} = 393.60 \pm 14.06$  nm에서 벤토나이트 분말 샘플의 삽입을 보인 반면, MMT 분말 샘플은  $Z_{\text{Ave}} = 1803.67 \pm 146.77$  nm을 보였으며, 이는 벤토나이트 입자 크기보다 상당히 더 크다 (도 1D).

[0076]

또한, 나노클레이가 포함된 TPU 필름에 포함된 나노클레이의 유효성을 SEM, FTIR, 및 AFM 분석으로 평가하였다. SEM 분석을 실시하고 5% 및 15% (w/v) 클레이-TPU의 표면 형태를 플레인 TPU와 비교하였다. 도 2B에서 볼 수 있는 바와 같이, top-view SEM 이미지는 플레인 TPU 필름이 상대적으로 균질하고 매끈한 형태임을 보인다. 그러나, 나노클레이로 개질되었을 때, 특히 15% (w/v) 클레이-TPU 샘플에서 표면 형태가 거칠어졌다. 이러한 결과는 side-view 이미지에서도 관찰되었는데, 이는 유기클레이의 집합체가 나노클레이-함유 샘플에서만, 특히 가장 높은 농도 [15% (w/v) 클레이-TPU 샘플]에서 관찰됨을 입증하는 것이다. 그런 다음, 제조된 표면의 화학 조성을 EDS 분석으로 확인하였다. 도 2C는 Al, Fe, 및 Si 원자가 유기클레이 물질로부터 기원한 5% 및 15% (w/v) 클레이-TPU 샘플 둘 다에서 검출됨을 보였다. 나노클레이-함유 샘플 둘 다 동일 피크 위치 및 결합 에너지를 보였다; 그러나, cps/eV 수치에서의 증가에 의해 보여지는 바와 같이, 피크 강도는 15% (w/v) 클레이-TPU가 5% (w/v) 클레이-TPU 필름보다 더 높았다.

[0077]

나노클레이-함유 샘플에 존재하는 기능기를 FTIR 분석으로 확인하고 그 결과를 도 2D에 나타냈다. 또한, TPU 필

름에서 나노클레이의 존재를 확인하기 위해 나노클레이 분말을 특성화하였다. 두 클레이-TPU 샘플에서와 같이  $450\text{ cm}^{-1}$ ,  $523\text{ cm}^{-1}$ ,  $623\text{ cm}^{-1}$ , 및  $916\text{ cm}^{-1}$ 에서의 흡착 밴드가 나노클레이 분말에 존재하였으며, 이는 Al-O-Si, Si-O, 및 Al-Al-OH 기에 의한 것이다. 그러나, 이러한 기들의 피크 강도는 농도-의존적 방식으로 나노클레이에서 증가하였다. 게다가, Al-O-Si, Si-O, 및 Al-Al-OH 피크는 플레인 TPU 필름에서 나타나지 않았으며, 이는 클레이-TPU 필름 내의 나노클레이의 존재를 나타내는 것이다. 나노클레이-함유 필름을 XRD 분석으로 특성화하고 그 결과를 도 2E에 나타냈다. 나노클레이 분말의 XRD 스펙트럼은 MMT가 다수 상으로서 존재함을 나타낸다 ( $2\theta$ :  $7.23^\circ$ ,  $19.69^\circ$ ,  $21.89^\circ$ ,  $26.57^\circ$ ,  $34.78^\circ$ ,  $36.08^\circ$ ,  $53.94^\circ$ ,  $61.71^\circ$ ). 또한, MMT의 피크는 나노클레이-함유 TPU 필름에 존재하였으나 ( $2\theta$ :  $7.23^\circ$ ,  $19.69^\circ$ ,  $21.89^\circ$ ,  $26.57^\circ$ ,  $34.78^\circ$ ,  $36.08^\circ$ ,  $53.94^\circ$ ,  $61.71^\circ$ ), TPU 필름에는 존재하지 않았다.

[0078] MMT 클레이의 높은 흡착 및 팽창 능력이 잘 알려져 있으므로, 본 발명의 제조된 표면의 물 흡윤성을 실온 ( $20^\circ\text{C}$ )에서 optical contact angle meter를 사용한 WCA 측정으로 확인하였다. 도 2F & G에서 볼 수 있는 바와 같이, 플레인 TPU 및 5% (w/v) 클레이-TPU 필름의 표면 흡윤성은 각각  $85.11^\circ \pm 4.36^\circ$  및  $85.52^\circ \pm 9.87^\circ$ 의 수치로 유사하였다. 이에 비해 15% (w/v) 클레이-TPU 필름 ( $91.56^\circ \pm 8.56^\circ$ )에서는 WCA가 증가하였다; 그러나, 모든 그룹의 표면 흡윤성은 서로 유의차를 보이지 않았으며, 또한 물방울의 확산에 의해 나타났다.

[0079] SEM 이미지가 모든 그룹 사이의 형태학적 차이를 보이므로, 제조된 표면의 거칠기를 AFM 분석으로 추가 확인하였다. TPU 기재로의 15% (w/v) 나노클레이의 삽입은  $53.53 \pm 8.78\text{ nm}$ 의 root-mean-square roughness ( $R_{\text{RMS}}$ ) 및 평균 거칠기 ( $R_a$ ) =  $38.88 \pm 5.19\text{ nm}$ 을 보였다. 이러한 수치는 5% (w/v) 클레이-TPU 필름보다 낮은 것이다 ( $R_{\text{RMS}} = 66.83 \pm 8.14\text{ nm}$  및  $R_a = 38.88 \pm 5.19\text{ nm}$ ). 한편, 플레인 TPU 필름은  $R_{\text{RMS}} = 28.65 \pm 7.28\text{ nm}$  및  $R_a = 22.36 \pm 6.23\text{ nm}$ 의 수치를 보였으며, 이는 나노클레이-함유 TPU 샘플 모두보다 상당히 더 낮은 것이다 (도 2H).

[0081] **박테리아 성장 저해에서 나노클레이-함유 TPU 표면의 유효성**

[0082] 도 3에 도시된 바와 같이, 표면으로의 그람-양성 및 그람-음성 박테리아의 부착 저해에서 나노클레이-함유 TPU 필름의 유효성을 *E. coli* 및 *S. aureus*를 사용하여 저해 검정을 실시해 확인하였다. 도 4A에서 볼 수 있는 바와 같이, *E. coli* 및 *S. aureus*의 성장이 필름에 의해 덮이지 않은 영역에서 관찰되었다. 게다가, 아가-성장 박테리아 현탁액 (양성 대조)은 다른 그룹에 비해 가장 높은 혼탁도를 보였는데 (도 4B), 이는 12시간 인큐베이션 후 LB 아가 표면에서 두 박테리아 모두 급격히 성장하였음을 나타내는 것이다. 반대로, 나노클레이-함유 TPU 필름을 포함한 박테리아 현탁액은 플레인 TPU 필름을 포함한 박테리아 현탁액보다 더 낮은 혼탁도를 보였다. 두 클레이-TPU 그룹 중에서는, 15% (w/v) 클레이-TPU 샘플이 더 낮은 혼탁도를 보였다 (도 4B). 이러한 정성적 관측은 흡광도 측정에 의해 뒷받침되었다 (도 4C). 아가-성장 박테리아 (양성 대조)는 *E. coli* 및 *S. aureus*에서 각각 0.84 A 및 0.85 A의 OD<sub>600</sub> 수치로, 모든 그룹 중에서 가장 높은 흡광도를 보였다. 플레인 TPU 샘플은 *E. coli* 및 *S. aureus*에서 각각 0.47 A 및 0.41 A의 OD<sub>600</sub> 수치로, 나노클레이-TPU 함유 샘플에 비해 더 높은 박테리아 부착을 보였다. 더 높은 나노클레이 농도 (15% (w/v) 클레이-TPU)가 더 낮은 나노클레이 농도보다 표면으로의 *E. coli* 및 *S. aureus* 부착을 저해하는데 더 효과적이었으며, 각각 0.05 A 및 0.07 A의 OD<sub>600</sub> 수치 및 89.36% 및 82.93%의 저해 퍼센트를 보였다. 5% (w/v) 클레이-TPU 필름이 15% 클레이-TPU 필름보다 박테리아 성장 저해에서는 덜 효과적이지만, 이들은 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대하여 각각 0.15 A 및 0.14 A의 OD<sub>600</sub> 수치를 나타내며, 이 수치를 이용하여 계산했을 때 68.09% 및 65.85%의 상대적으로 높은 저해율을 보이고 있다 (도 4C). 또한, 나노클레이-함유 TPU 필름 상에 *E. coli* 및 *S. aureus*의 낮은 박테리아 부착 또한 SEM 이미지로 관찰하였으며, 이는 TPU 필름에서 나노클레이의 존재가 표면 상의 박테리아 부착을 저해함을 나타내는 것이다 (도 4D).

[0084] **나노클레이-함유 TPU 표면의 QAS 검출 및 박테리아 사멸 특성**

[0085] QAS (quaternary ammonium salts)가 박테리아 군집을 신속히 사멸시킬 수 있는 활성 살균 특성임이 보고되어 있으므로, 방출된 QAS가 표면에서 박테리아를 죽이는데 기여한다는 가설을 세우고, 도 5에 도시된 바와 같이 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대하여 박테리아 사멸 검정을 실시하였다. Bromophenol blue (BPB) 염색을 사용하여 나노클레이-함유 TPU 필름에 함유된 QAS를 검출하였다. BPB 용액을 적가하여 첨가하면, 두 클레이-TPU 필름 모두 이를 흡수하고, 실온에서 2시간 인큐베이션한 후 BPB 색이 보라색으로 변했다. 예상한 바와 같이 QAS를 함유하지 않았기 때문에 플레인 TPU 필름에서는 색 변화가 없었다 (도 6A). 저해 검정과는 다르게, 필름 아래에서 박테리

아 성장 징후가 12시간의 인큐베이션 후에도 여전히 관찰되었다(도 6B). 박테리아 사멸 검정 동안 필름 분리의 모식도를 도 6C에 나타냈다. 필름을 분리하고 1분간 불텍싱한 후, 나노클레이-함유 필름을 함유한 LB 브로스의 현탁도는 플레인 TPU 필름 및 아가-성장 박테리아 (양성 대조)를 포함하는 액체보다 더 낮았다; 두 클레이-TPU 그룹 중에서, 15% (w/v) 클레이-TPU 샘플이 더 낮은 혼탁도를 보였다 (도 6D & E).

[0086] 게다가 5% 및 15% (w/v) 클레이-TPU 필름을 포함한 액체는 둘 다 저해 검정에서보다 더 혼탁했는데, 이는 박테리아 성장 저해율보다 박테리아 사멸 효능이 상대적으로 더 낮음을 시사하는 것이다 (도 4B 및 C, 6D-F). 이러한 결과는 또한 흡광 수치와 부합하며, 저해율에 비해 더 높은 흡광도 수치 및 더 낮은 사멸 효율 퍼센트를 보였다. *E. coli* 및 *S. aureus*에 대한 5% 클레이-TPU 필름의 사멸 효율은 각각 28.09% 및 24.80%이었다. 그러나, 15% 나노클레이-함유 TPU는 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대하여 각각 45.87% 및 41.94%의 더 우수한 박테리아 사멸 효율을 보였다. for *E. coli* 및 *S. aureus* (도 6F). 흡광도 기반 검출 결과 또한 SEM 이미지에 의해 뒷받침되며, 이는 나노클레이-함유 TPU 필름에서 막대형 및 원형의 *E. coli* 및 *S. aureus*의 파괴를 입증하였다. 이러한 정성적 관측은 나노클레이-함유 TPU 필름이 플레인 TPU 필름보다 더 높은 박테리아-사멸 효율을 가짐을 시사한다 (도 6G).

[0088] **In Vitro 세포 배양에서의 세포독성 테스트**

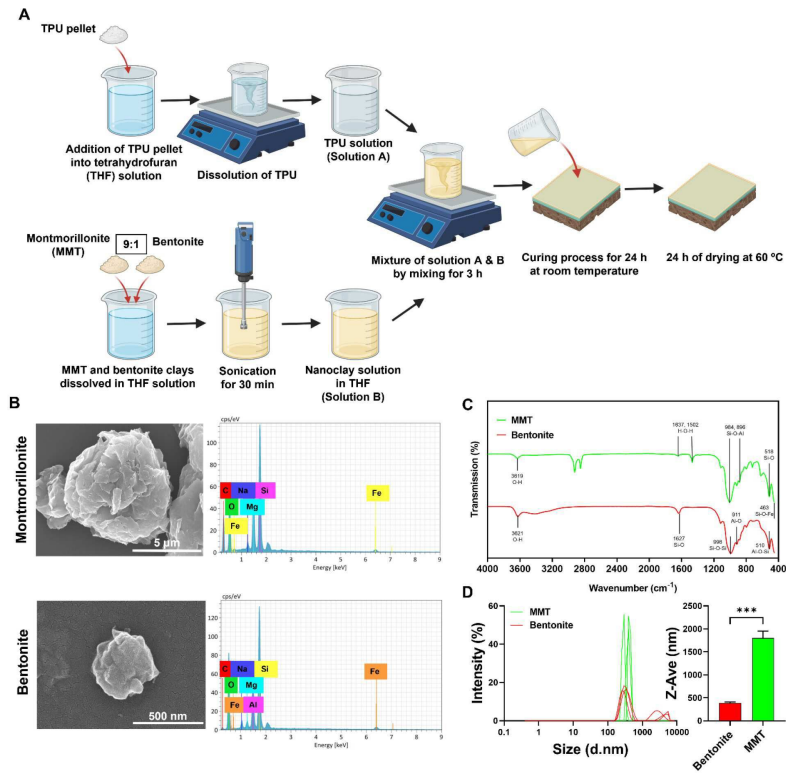
[0089] 그런 다음, 플레인 및 나노클레이-함유 TPU 필름으로 예비조정된 배지에서 24시간 동안 인큐베이션한 인간 피부 섬유아세포를 이용하여 CellVia 검정을 실시하고 세포 생존도를 분석하여, 제조된 표면이 *in vitro* 세포 배양에서 악영향을 갖는지를 평가하였다. hDF 세포 배양 및 조정 배지 제조는 도 7A-B에 나타냈다. 피부가 *S. aureus* 및 *Streptococcus pyogenes*와 같은 감염을 일으킬 수 있는 병원성 박테리아를 비롯한 다양한 미생물에 접촉하는 신체 및 숙주 장기의 가장 바깥쪽의 층이기 때문에 hDFs를 사용하였다. 플레인 TPU, 5%, 및 15% (w/v) 클레이-TPU 조정 배지에 24시간 동안 노출시킨 후, 세포는 각각 99.12%, 98.84%, 및 99.33%의 생존도를 보여, 세포 생존도에 유의한 변화는 없었다 (도 7C).

[0090] 정량적 세포 생존도 결과 이외에, 이러한 발견은 생/사 염색에 의해 뒷받침되었다. 도 7D에서 볼 수 있는 바와 같이, 녹색 형광이 살아있는 hDF 세포에서 관찰되었으며, 본 발명의 제조된 표면에서 세포사의 징후는 발견되지 않았다. 또한, hDF 세포는 조정 배지에 24시간 노출한 후 빠르게 성장하였으며, 이는 클레이-TPU 표면이 높은 생체적합성을 가짐을 시사하는 것이다.

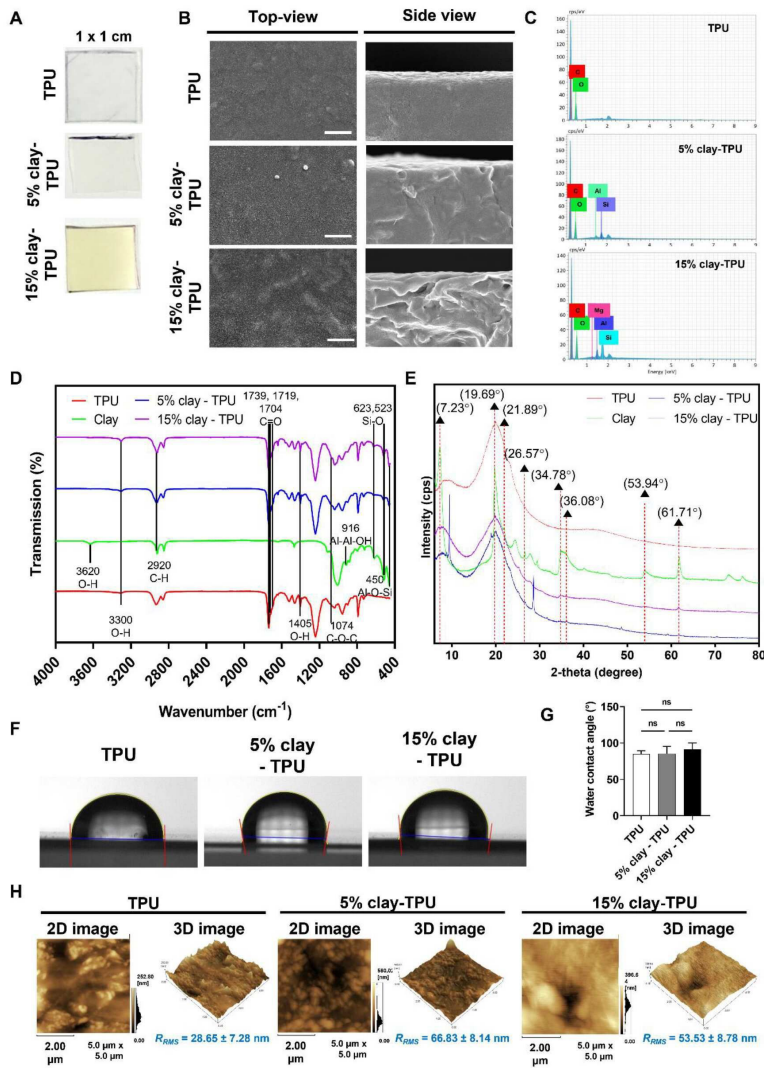
[0092] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

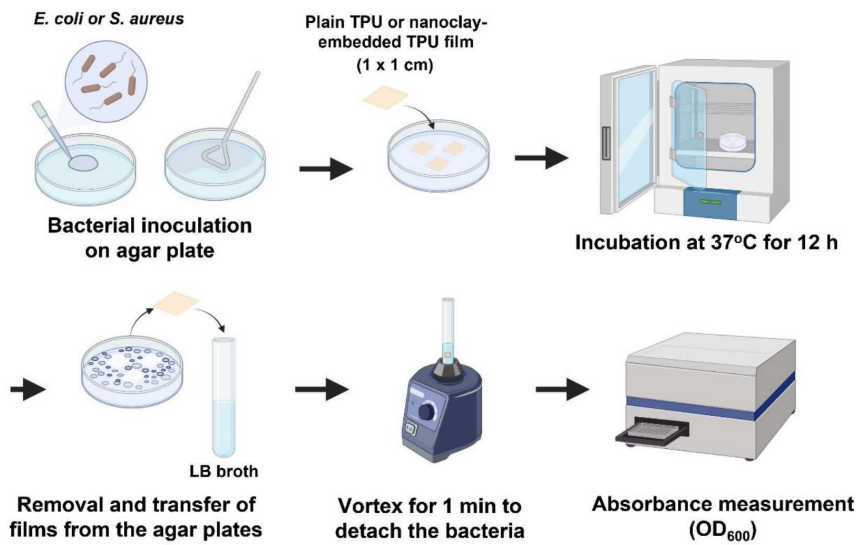
도면1



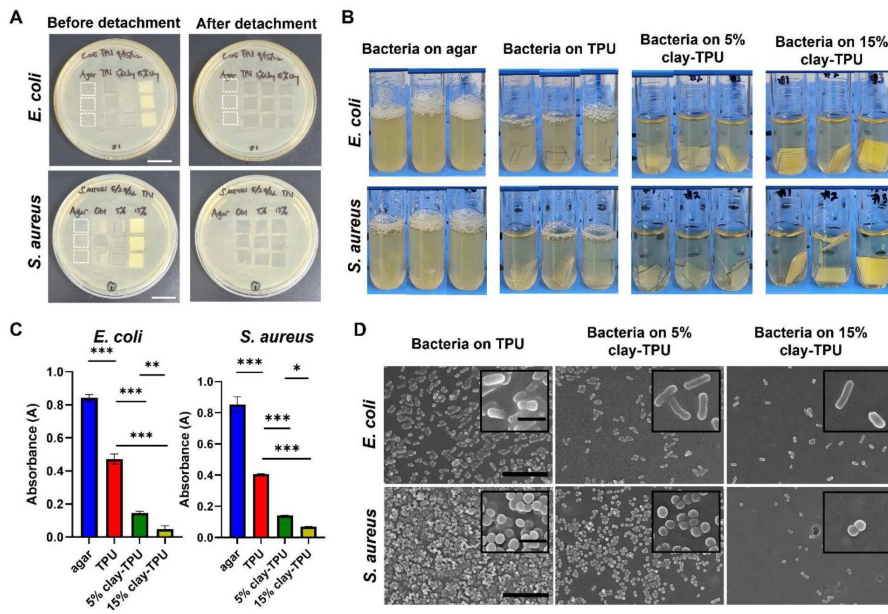
도면2



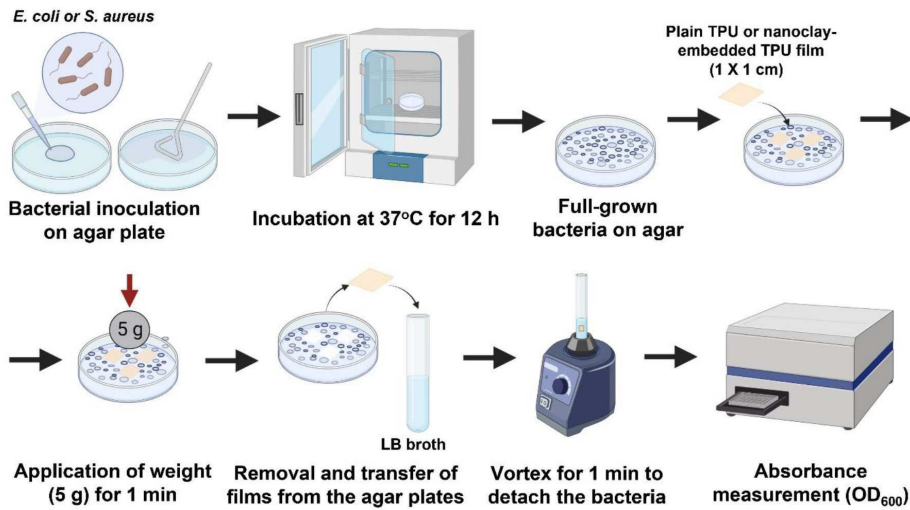
도면3



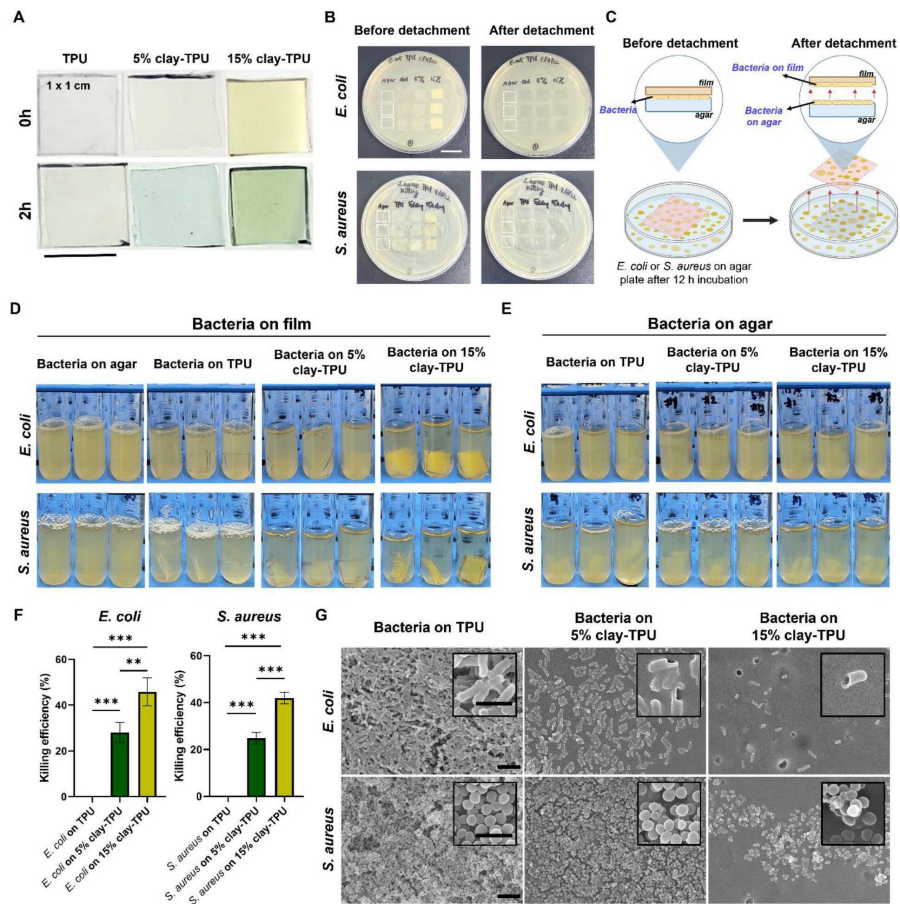
도면4



도면5



도면6



도면7

