(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017 년 4 월 27 일 (27.04.2017)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2017/069429 A1

(51) 국제특허분류:
C12M 3/00 (2006.01) *C23C 16/00* (2006.01)
C12N 5/0793 (2010.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2016/011051

(22) 국제출원일: 2016 년 10 월 4 일 (04.10.2016)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2015-0147588 2015 년 10 월 22 일 (22.10.2015) KR

(71) 출원인: **한국과학기술원 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY)** [KR/KR]; 34141 대전시 유성구 대학로 291, Daejeon (KR).

(72) 발명자: **임성갑 (IM, Sung Gap)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR). **전상용 (JON, Sangyong)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR). **백지웅 (BAEK, Jieung)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR). **유승윤 (YU, Seungyoon)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR). **최민석 (CHOI, Minsuk)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR). **이학래 (LEE, Hak Rae)**; 34141 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과, Daejeon (KR).

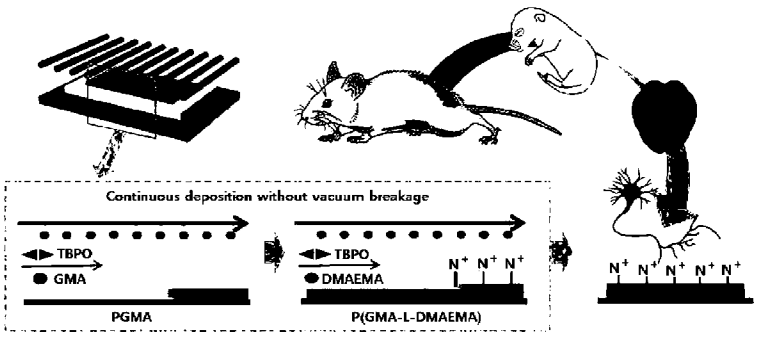
(74) 대리인: **이처영 (LEE, Cheo Young)** 등; 06133 서울시 강남구 테헤란로 123, 11 층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) **Title**: NERVE CELL CULTURING PLATFORM COATED WITH FUNCTIONAL POLYMER THIN FILM, AND USE THEREOF

(54) **발명의 명칭** : 기능성 고분자 박막이 코팅되어 있는 신경세포 배양용 플랫폼 및 그 용도



(57) **Abstract**: The present invention relates to: a nerve cell culturing platform coated with a functional polymer thin film; and a use thereof and, more specifically, to: a nerve cell culturing platform manufactured by coating a first thin film on a substrate by using initiated chemical vapor deposition (iCVD), and layering a positively charged biomimetic second thin film thereon; or a nerve cell culturing platform manufactured by coating a positively charged monolayered biomimetic thin film on a substrate by using iCVD; and a nerve cell culturing method using the same. The nerve cell culturing platform can be developed by effectively depositing a bio-mimetic thin film having a cell compatible function on various types of substrates through a method for manufacturing a nerve cell culturing platform according to the present invention. Particularly, if the nerve cell culturing platform of the present invention is used, growth promotion and stable long-term culturing of nerve cells, which are difficult to be cultured, are enabled, and thus the nerve cell culturing platform can contribute to research on nerve cell-related diseases and to basic research.

(57) **요약서**:

[다음 쪽 계속]

WO 2017/069429 A1

(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

규칙 4.17에 의한 선언서:

— 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 기능성 고분자 박막이 코팅되어 있는 신경세포 배양용 플랫폼 및 그 용도에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 개시제를 이용한 화학 기상 증착(initiated chemical vapor deposition, iCVD)을 활용하여, 기판 위에 제 1 박막을 코팅하고, 그 위에 양전하를 가지는 생체 모방형(biomimetic) 제 2 박막을 적층하여 제조된 신경세포 배양용 플랫폼, 또는 개시제를 이용한 화학 기상 증착을 활용하여, 기판 위에 양전하를 가지는 단층의 생체 모방형 박막을 코팅하여 제조된 신경세포 배양용 플랫폼 및 이를 이용한 신경세포 배양방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법으로 다양한 종류의 기판에 세포 적합성 기능을 가지는 생체 모방형 박막을 효과적으로 증착하여 신경세포 배양용 플랫폼을 개발할 수 있을 것이다. 특히 본 발명의 신경세포 배양용 플랫폼을 이용할 경우, 배양이 어려운 신경세포의 성장촉진 및 안정적 장기 배양이 가능하므로 신경세포 관련 질병 연구 및 기초 연구에 이바지할 수 있을 것이다.

명세서

발명의 명칭: 기능성 고분자 박막이 코팅되어 있는 신경세포 배양용 플랫폼 및 그 용도

기술분야

[1] 본 발명은 기능성 고분자 박막이 코팅되어 있는 신경세포 배양용 플랫폼 및 그 용도에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 개시제를 이용한 화학 기상 증착(initiated chemical vapor deposition, iCVD)을 활용하여, 기판 위에 제1박막을 코팅하고, 그 위에 양전하를 가지는 생체 모방형(biomimetic) 제2박막을 적층하여 제조된 신경세포 배양용 플랫폼, 또는 개시제를 이용한 화학 기상 증착을 활용하여, 기판 위에 양전하를 가지는 단층의 생체 모방형 박막을 코팅하여 제조된 신경세포 배양용 플랫폼 및 이를 이용한 신경세포 배양방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 생명체의 조직을 이용한 특정 세포의 배양은 해당 조직을 구성하는 세포를 관찰하고 응용하는 데에 가장 용이한 방법이다. 특히 신경계 조직으로부터 나온 신경세포를 배양하는 법을 개발함으로써, 연구자들은 신경세포에 대한 이해도를 높이고 이를 독성학, 약리학, 신경계 질환 치료제 등 전반적인 분야에 적용할 수 있게 되었다. 신경세포를 장기적으로 배양할 시에는 완전히 성장한 신경세포를 관찰할 수 있을 뿐만 아니라, 다양한 기능을 가진 세포 사이의, 혹은 분자간의 상호작용이 어떻게 이루어지는지 밝혀낼 수 있기에 이는 신경계 연구에 가장 핵심이 되는 기술이라 할 수 있다.

[4] 하지만 신경세포는 배양 접시의 표면에 붙어 자라지 못해, 보통 폴리-라이신(Poly-Lysine)을 표면에 코팅하여 그 점착력을 높여주는 역할을 하게 한다. 하지만 이 방법은 코팅된 중합체가 시간이 지나면서 녹아 나오게 되며 세포 배지의 삼투압을 늘리게 되어 신경세포의 성장에 악영향을 끼친다는 치명적인 단점이 있다. 이 현상을 막고 점착력을 더 높이기 위해 라미닌(laminin) 등의 단백질을 첨가하여 세포성장에 도움을 주지만, 그로 인해 생기는 오염의 가능성을 배제할 수 없다. 따라서 기존 신경세포의 배양에 있어서는 1개월 이상 세포를 건강하게 배양하는 것이 거의 불가능했다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 폴리-라이신을 사용하는 기존 방법을 뛰어넘는 다른 안정한 특수 고분자의 개발이 필요하다.

[5] 최근 들어, 개시제를 이용한 화학 기상 증착 공정(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD)을 통하여 다양한 고분자 중합체의 증착이 가능해졌다. 화학 기상 증착법은 기상(vapor phase)으로 주입된 단량체(monomer)와 필라멘트의 열에 의해 활성화된 개시제(initiator)가 라디칼 고분자 중합반응(free radical polymerization)을 일으켜 고분자 박막을 형성할 수 있도록 하는 박막 증착

공정이다. 기상에서 단량체를 주입하여 라디칼 중합반응(radical polymerization)을 통해 고분자를 합성하는 방법이기 때문에, 다양한 기판에, 다양한 작용기를 가진 단량체를 적용할 수 있다는 장점이 있다. 뿐만 아니라, 저진공 상태에서 두 개 이상의 단량체를 주입하여 다양한 공중합체를 합성할 수 있다.

[6] 신경세포는 접촉하는 표면에 따라 그 성장을 달리한다고 알려져 있으며, 세포 접촉면의 위상학적인 신호를 조절함으로써 신경세포의 반응(세포의 부착, 수상돌기의 성장, 축색돌기 유도 등)과 성장 단계 또한 조절할 수 있는 것으로 보고된 바 있다.

[7] 이러한 기술적 배경 하에서, 본 발명자들은 신경세포의 성장을 촉진하고, 신경세포의 기능(neuronal cell function)을 장시간 유도하는 기능성 고분자 박막이 포함된 플랫폼을 개발하고자 예의 노력한 결과, 기판 위에 제1박막을 증착하고, 그 위에 양전하를 가지는 생체 모방형 제2박막이 적층된 플랫폼을 제조하고, 상기 제조된 플랫폼에서 신경세포를 배양할 경우, 신경세포의 수상돌기 및 축색돌기의 유도 작용이 장시간 유지되고 성장하는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

[8]

[9] **발명의 요약**

[10] 본 발명의 목적은 개시제를 이용한 화학 기상 증착(initiated chemical vapor deposition, iCVD)을 활용하여 기판 표면에 생체 모방성을 가지면서도 안정성이 뛰어나고 균일하여, 신경세포의 장기간 배양이 가능한 특화된 고분자 표면을 가지는 박막이 코팅되어 있는 신경세포 배양용 플랫폼 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

[11]

[12] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (a) 제1단량체를 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 기판 위에 제1박막을 형성하는 단계; 및 (b) 상기 제1박막 위에 양전하를 가지는 제2단량체를 공급하여 생체 모방형(biomimetic) 제2박막을 적층하는 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법을 제공한다.

[13] 본 발명은 또한, 기판 위에 형성된 제1박막; 및 상기 제1박막 위에 적층된 양전하를 가지는 생체 모방형 제2박막;을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼을 제공한다.

[14] 본 발명은 또한, 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 동시에 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 공중합체로 기판 위에 생체 모방형 박막을 형성하는 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법을 제공한다.

[15] 본 발명은 또한, 기판 위에 형성되고, 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 함유하는 생체 모방형 박막을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼을

제공한다.

[16]

도면의 간단한 설명

[17] 도 1은 본 발명에 따른 박막 제조 메커니즘 및 신경세포 배양 과정을 도시한 것이다.

[18] 도 2는 플랫폼의 하나 또는 두개의 박막의 표면체를 FT-IR로 측정한 결과를 나타낸 것이다.

[19] 도 3은 플랫폼의 하나 또는 두개의 박막의 표면체를 XPS로 분석한 결과를 나타낸 것이다.

[20] 도 4는 기존의 폴리-라이신과 본 발명의 박막이 포함된 플랫폼에서 신경세포를 배양한 다음, 비교한 결과를 나타낸 것이다.

[21] 도 5는 폴리-라이신 박막 또는 본 발명의 박막이 포함된 플랫폼에서 신경세포를 30일간 배양하고, MAP2(초록색) 및 DAPI(파란색)으로 염색한 다음, 현광현미경 하에서 신경세포를 관찰한 것이다(scale bar: 200μm).

[22] 도 6은 폴리-라이신 박막 또는 본 발명의 박막이 포함된 플랫폼에서 신경세포를 일정기간 동안 배양한 다음, 형광현미경 하에서 신경세포의 배양상태를 관찰한 것으로, (a)는 본 발명의 박막에서, (b)는 폴리-라이신 박막에서 80일간 배양하고, (c)는 본 발명의 박막에서 90일간 배양한 다음, 신경세포를 MAP2(초록색) 및 DAPI(파란색)으로 염색한 것이다(scale bar: 200μm).

[23]

[24] **발명의 상세한 설명 및 바람직한** 구현예

[25] 본 발명은 신경세포의 성장을 촉진하는 기능성 고분자 박막이 포함된 플랫폼 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 상기 제조방법은 용매나 첨가제를 전혀 사용하지 않기 때문에 고순도의 박막을 얻을 수 있고, 이는 제조과정에서 발생할 수 있는 독성물질의 노출을 차단함으로써 외부 환경에 민감한 신경세포를 배양하는데 유용하다.

[26] 일반적으로, 양전하를 띄게 해주는 아민기(amine group)를 가진 고분자들은 액상에서 녹기 쉽다는 단점을 가지고 있으며, 그러한 물질들이 독성을 띄게 될 경우 세포 배양 표면으로써 치명적이라 할 수 있다.

[27] 본 발명에서는 진공 상태를 유지하는 가운데 다양한 단량체들을 동시에 기상으로 주입함으로써, 공중합체 혹은 연결된 적층 구조들을 효과적으로 형성할 수 있는 기상 화학 증착 공정으로 배양액 또는 수용액에 대한 내구성을 가지는 아민 계열의 박막을 제작할 수 있었다.

[28] 또한, 기판 표면의 온도가 45℃ 이하로 낮게 유지되는 저온, 저진공 공정이며, 기상으로 증착되기 때문에, 다양한 세포 배양 기판(예컨대, 플라스틱)에 별도의 전처리 과정 없이 세포 배양용 박막의 코팅이 가능하다. 이는 딥코팅, 스핀

코팅과 같은 기존의 액상공정에서 불가피하였던, 용매로 인한 기판 손상 문제, 기판의 특성에 따라 선택적으로 코팅되는 문제를 해결할 수 있다. 또한, 공정에 사용되는 단량체는 별도의 합성 없이 시중에서 손쉽게 구매가 가능하기 때문에, 세포 배양 기판 제조법으로 매우 효과적이다.

[29] 본 발명의 일 실시예에서는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법을 사용하여 일반적으로 다양한 기판과의 접착력이 우수하고, 기존의 아민 계열의 고분자들에 비해 상대적으로 수용액에 잘 용해되지 않고, 배양액에 더 큰 내구성을 가지는 GMA(glycidyl methacrylate)를 코팅한 뒤, 진공을 깨지 않고, 같은 메트아크릴레이트(methacrylate) 계열의 아민 단량체(amine monomer)인 DMAEMA(Dimethylaminoethyl Methacrylate)를 주입하여 P(GMA-L-DMAEMA) 박막을 형성하였다. 즉, 약 100nm 두께의 PGMA(Poly(glycidyl methacrylate) 박막 및 약 25nm 두께의 PDMAEMA(poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate) 박막으로 구성된 P(GMA-L-DMAEMA) 박막을 수득할 수 있었다.

[30] 본 발명의 다른 실시예에서는 신경세포 배양용 플랫폼이 포함된 박막의 기능기를 확인하고자 하였다. 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, FT-IR 스펙트럼 상에서 주입한 단량체들이 올바르게 증착되었다. 즉, 박막 표면의 양전하에 영향을 미치는 DMAEMA의 3차 아민기(tertiary amine group)(2822cm^{-1} 및 2771cm^{-1})가 보존되어 있는 것을 확인하였고, 단량체의 스펙트럼에 있었던 바이닐 그룹 픽(vinyl peak)(1630cm^{-1})이 공중합체 스펙트럼에는 상당량 감소한 것으로부터, 공정 중 라디칼 중합반응이 성공적으로 일어났음을 확인할 수 있다.

[31] 본 발명의 또 다른 실시예에서는 신경세포 배양용 플랫폼이 포함된 박막의 화학적 특성을 확인하고자 하였다. 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, XPS 스펙트럼 상에서 이중 단량체 층상 구조로부터 표면에 아민 그룹이 잘 보존되어 있었다. 즉, PDMAEMA 단층구조와 다르게 하층에 GMA가 먼저 증착된 이중 단량체 층상구조의 경우 403eV 부근에서 protonated amine(N+) peak가 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 이는 GMA의 에폭시(epoxy)기와 DMAEMA의 3차 아민기가 반응함으로써 나타나는 protonated amine(N+)으로 추정된다.

[32] 본 발명의 또 다른 실시예에서는 신경세포 배양용 플랫폼에서 배양된 신경세포의 성장 상태 및 신경 반응을 검증하고자 하였다. 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, P(GMA-L-DMAEMA) 박막(PGD1) 또는 폴리-라이신(PLL)이 증착된 플랫폼에서 배양된 신경세포의 수상돌기 및 축색돌기의 상태를 비교한 결과, 배양기간이 길어질 수록 PLL에 비해 PGD1이 증착된 플랫폼에서 성장한 신경세포의 수상돌기의 수와 길이가 더 증가하였고, 축색돌기의 길이 또한 더 증가한 것으로 나타나, PGD1이 PLL보다 신경 성장율이 더 높은 것으로 나타났다.

[33] 또한, 도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 본 발명에서 제조된 박막으로 증착된 플랫폼에서 장시간(30일 및 80일) 배양된 신경세포의 수상돌기 및 축색돌기의 상태는 폴리-라이신이 증착된 플랫폼과 견줄 수 있는, 혹은 더욱 안정하고

균일하게 분포되어 건강하게 유지되고 있는 신경세포를 관찰하였다.

[34] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, (a) 제1단량체를 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 기판 위에 제1박막을 형성하는 단계; 및 (b) 상기 제1박막 위에 양전하를 가지는 제2단량체를 공급하여 생체 모방형(biomimetic) 제2박막을 적층하는 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법에 관한 것이다.

[35] 본 발명에 있어서, 상기 (a) 단계는 기판에 제1단량체 및 개시제를 공급하는 단계; 일정한 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제1단량체를 활성화시킴으로써 상기 제1단량체를 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 제1박막으로 기판 위에 증착시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 (b) 단계는 제1단량체의 공급을 차단한 다음, 제2단량체 및 개시제를 공급하는 단계; 상기 (a) 단계의 압력보다 하향조정되거나 상향조정된 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제2단량체를 활성화시킴으로써 상기 제2단량체를 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 생체 모방형 제2박막으로 상기 기판 위에 증착된 제1박막 위에 적층하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[36] 본 발명에 있어서, 상기 기판은 유리, 금속, 금속 산화물, 섬유, 종이 및 플라스틱으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 플라스틱은 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 폴리아미드(polyamides, PA), 폴리에스터(polyester, PES), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리우레탄(polyurethanes, PU), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리염화비닐리덴(polyvinylidene chloride, PVDC), 폴리테트라플루오르에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리에트르에테르케톤(polyetheretherrketone, PEEK) 및 폴리에테르이미드(polyetherimide, PEI)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다. 여기서, 상기 방법으로 제조된 기판 위에 코팅된 제1박막; 및 상기 제1박막 위에 적층된 양전하를 가지는 생체 모방형 제2박막;을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼은 당업자에게 자명한 종래 제조방법으로 신경세포 배양에 적합한 형태로 추가 변형(성형)될 수 있다.

[37] 본 발명에서 '개시제(initiator)'란 본 발명의 공정에서 단량체들이 고분자를 형성할 수 있도록 첫 반응의 활성화를 유도하는 물질이다. 개시제는 단량체가 열분해되는 온도보다 낮은 온도에서 열분해되어 유리 라디칼(free radical)을 형성할 수 있는 물질이 바람직하다. 개시제의 열분해에 의해 유리 라디칼이 형성되면 유리 라디칼이 단량체를 활성화시켜 이후 주변 단량체들의 중합을 유도하게 되고, 이 반응이 계속되어 유기 고분자 박막을 형성하게 된다.

[38] 본 발명에 있어서, 상기 개시제는 TBPO(tert-butyl peroxide)인 것을 특징으로 할 수 있으나, TBPOB(t-butyl peroxybenzoate), 벤조페논(Benzophenone) 등일 수 있고, 이에 한정되는 것은 아니다. TBPO는 약 110℃의 끓는점을 갖는 휘발성 물질로서 150℃ 전후에서 열분해를 하는 물질이다. 한편 개시제 부가량은 통상의 중합반응에 필요한 양으로 당업계에 공지되어 있는 양을 첨가할 수 있으며, 예를 들어 0.5 내지 5mol%로 첨가될 수 있으나, 상기 범위에 한정되지 않고 상기 범위보다 많거나 적을 수 있다.

[39] 본 발명에서 '단량체(monomer)'란 유기 고분자 박막 형성을 위해 사용될 수 있는 단위체를 의미하고, 화학 기상 증착법에서 휘발성을 가지며, 개시제에 의해 활성화 될 수 있는 물질이다. 상기 단량체는 감압 및 승온 상태에서 기화될 수 있다.

[40] 본 발명에 있어서, 상기 제1단량체는 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 에폭시(epoxy) 작용기를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 제1단량체는 PMA(propargyl methacrylate), GMA(glycidyl methacrylate), PFM(pentafluorophenyl methacrylate), FMA(furfuryl methacrylate), HEMA(hydroxyethyl methacrylate), VP(vinyl pyrrolidone), DMAMS(dimethylaminomethyl styrene), CHMA(cyclohexyl methacrylate), PFA(perfluorodecyl acrylate), V3D3(trivinyltrimethyl cyclotrisiloxane), AS(4-aminostyrene), NIPAAm(N-isopropylacrylaminde), MA-alt-St(maleic anhydride-alt-styrene), MAA-co-EA(methacrylic acid-co-ethyl acrylate), EGDMA(ethyleneglycol dimethacrylate), DVB(divinylbenzene) 및 DEGDVE(di(ethyleneglycol)di(vinyl) ether)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 글리시딜 메타크릴레이트(glycidyl methacrylate, GMA)일 수 있다.

[41] 본 발명에 있어서, 상기 제1단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 제1단량체와 개시제는 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율, 바람직하게는 2:1의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 압력은 100mbar~400mbar인 것을 특징으로 할 수 있다.

[42]

[43] 본 발명에 있어서, 상기 제2단량체는 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 아민(amine) 작용기를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 제2단량체는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA)), 2-비닐피리딘(2-vinylpyridine), 4-비닐피리딘(4-vinylpyridine), N-비닐피롤리돈(N-vinylpyrrolidone), 1-비닐이미다졸(1-vinylimidazole), 아크릴아미드(acrylamide),

메타크릴아미드(methacrylamide), 비닐-N-메틸피리디늄 클로라이드(vinyl-N-methylpyridinium chloride), 9-비닐카바졸(9-vinylcabazole), 디에틸아미노에틸아크릴레이트(DEAEA), 디메틸아미노에틸아크릴레이트(DMAEA) 및 디에틸아미노에틸메타크릴레이트(DEAMA)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA))일 수 있다.

[44] 본 발명에 있어서, 상기 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 할 수 있다. 생체 모방형 물질과 관련된 기술은 종래 기술을 활용하여 본 발명에 적용할 수 있다(Alves NM et al., Small, 18;6(20):2208-20, 2010; Williams DF, Biomaterials, 30(30):5897-909, 2009; Brown RA et al., Int Rev Cytol, 262:75-150, 2007).

[45] 본 발명에 있어서, 상기 제2단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 제2단량체와 개시제는 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율, 바람직하게는 2.3:1의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 (a) 단계의 압력보다 하향조정되거나 상향조정된 압력은 100~400mbar인 것을 특징으로 할 수 있다.

[46] 본 발명에 있어서, 상기 열은 130℃ 내지 250℃이며, 상기 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하는 과정에서 기판의 온도는 25~40℃인 것을 특징으로 할 수 있다.

[47] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 상기 제1박막에 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 적층되어 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 가교 결합은 제1박막에 포함된 제1단량체의 작용기와 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체의 작용기의 결합, 바람직하게는 제1박막에 포함된 제1단량체의 에폭시 작용기(epoxy group)와 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체의 아민 작용기(amine group)의 결합인 것을 특징으로 할 수 있다.

[48]

[49] 본 발명은 다른 관점에서, 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 동시에 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 공중합체로 기판 위에 생체 모방형 박막을 형성하는 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법에 관한 것이다.

[50] 본 발명에 있어서, 상기 기판에 제1단량체, 제2단량체 및 개시제를 공급하는 단계; 일정한 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제1단량체 및 제2단량체를 활성화시킴으로써 상기 단량체들을 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 생체 모방형 박막으로 기판 위에

증착시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[51] 본 발명에 있어서, 상기 기판은 유리, 금속, 금속 산화물, 섬유, 종이 및 플라스틱으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 플라스틱은 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 폴리아미드(polyamides, PA), 폴리에스터(polyester, PES), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리우레탄(polyurethanes, PU), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리염화비닐리덴(polyvinylidene chloride, PVDC), 폴리테트라플루오르에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리에트르에테르케톤(polyetheretherrketone, PEEK) 및 폴리에테르이미드(polyetherimide, PEI)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다. 여기서, 상기 방법으로 제조된 기판 위에 코팅된 양전하를 가지는 생체 모방형 박막을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼은 당업자에게 자명한 종래 제조방법으로 신경세포 배양에 적합한 형태로 추가 변형(성형)될 수 있다.

[52] 본 발명에 있어서, 상기 제1단량체는 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 에폭시(epoxy) 작용기를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 제1단량체는 PMA(propargyl methacrylate), GMA(glycidyl methacrylate), PFM(pentafluorophenyl methacrylate), FMA(furfuryl methacrylate), HEMA(hydroxyethyl methacrylate), VP(vinyl pyrrolidone), DMAMS(dimethylaminomethyl styrene), CHMA(cyclohexyl methacrylate), PFA(perfluorodecyl acrylate), V3D3(trivinyltrimethyl cyclotrisiloxane), AS(4-aminostyrene), NIPAAm(N-isopropylacrylaminde), MA-alt-St(maleic anhydride-alt-styrene), MAA-co-EA(methacrylic acid-co-ethyl acrylate), EGDMA(ethyleneglycol dimethacrylate), DVB(divinylbenzene) 및 DEGDVE(di(ethyleneglycol)di(vinyl) ether)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 글리시딜 메타크릴레이트(glycidyl methacrylate, GMA)일 수 있다.

[53] 본 발명에 있어서, 상기 제1단량체 및 제2단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 제1단량체 및 제2단량체는 개시제와 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 압력은 100mbar~400mbar인 것을 특징으로 할 수 있다.

[54] 본 발명에 있어서, 상기 제2단량체는 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 아민(amine) 작용기를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 제2단량체는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA)), 2-비닐피리딘(2-vinylpyridine),

4-비닐피리딘(4-vinylpyridine), N-비닐피롤리돈(N-vinylpyrrolidone), 1-비닐이미다졸(1-vinylimidazole), 아크릴아미드(acrylamide), 메타크릴아미드(methacrylamide), 비닐-N-메틸피리디늄 클로라이드(vinyl-N-methylpyridinium chloride), 9-비닐카바졸(9-vinylcabazole), 디에틸아미노에틸아크릴레이트(DEAEA), 디메틸아미노에틸아크릴레이트(DMAEA) 및 디에틸아미노에틸메타크릴레이트(DEAMA)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA))일 수 있다.

[55] 본 발명에 있어서, 상기 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 할 수 있다. 생체 모방형 물질과 관련된 기술은 종래 기술을 활용하여 본 발명에 적용할 수 있다(Alves NM et al., Small, 18;6(20):2208-20, 2010; Williams DF, Biomaterials, 30(30):5897-909, 2009; Brown RA et al., Int Rev Cytol, 262:75-150, 2007).

[56] 본 발명에 있어서, 상기 열은 130℃ 내지 250℃이며, 상기 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하는 과정에서 기판의 온도는 25~40℃인 것을 특징으로 할 수 있다.

[57] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 상기 제1단량체 및 제2단량체 간의 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 가교 결합은 생체 모방형 박막에 포함된 제1단량체의 작용기와 제2단량체의 작용기의 결합, 바람직하게는 생체 모방형 박막에 포함된 제1단량체의 에폭시 작용기(epoxy group)와 제2단량체의 아민 작용기(amine group)의 결합인 것을 특징으로 할 수 있다.

[58] 본 발명의 고분자 박막을 제공하기 위한 열은 본 발명이 속하는 분야에 통상의 지식을 가진 자(이하 '당업자')가 기상 조건에서 제공할 수 있는 통상의 방법으로 제공되는 열이면 제한되지 않는다. 바람직하게 본 발명의 열제공은 필라멘트를 통해 이루어질 수 있다.

[59] 본 발명의 방법은 화학 기상 증착법(Chemical Vapor Deposition: CVD)을 변형 및 응용하여 본 발명자들이 다양한 박막간 또는 박막-기판간을 접착시키는 데 적용할 수 있도록 고안한 방법이다.

[60] 화학 기상 증착법은 목적하는 재료를 기판 상에 증착시키는 방법인 박막 증착(thin film deposition) 공정 중 하나로서, 박막 증착 공정은 크게 물리적 증착(physical vapor deposition, PVD)과 화학 기상 증착(chemical vapor deposition, CVD)로 구분된다.

[61] PVD 방법은 화학 반응을 수반하지 않는 증착 기술로서 주로 금속 박막 증착에 사용되며, 이에는 진공 증착 방법(vacuum evaporation)과 스퍼터링 방법(sputtering) 등이 있다. 반면 CVD 방법은 화학 반응을 수반하는 증착 기술로,

반응을 유도하기 위해 용매가 필요하며 극한(harsh) 조건하에서 수행되어야 하므로 무기물의 증착에 이용되어 왔다.

[62] CVD 공정들은 모두 반응기 내에서 매우 복잡한 과정을 통해 진행되고, 반응기 내 유체 흐름, 물질 전달 등이 복합적으로 작용하여 증착되는 박막의 특성을 결정한다. 따라서 공급되는 물질의 화학적 반응 특성 및 반응기의 구조도 박막 형성에 중요한 변수로 작용할 수 있다.

[63] 본 발명은 개시제를 이용한 CVD 공정(iCVD)을 사용하고, 적절한 단량체의 종류 및 조건을 결정함으로써, 접착시키고자 하는 기판 및/또는 박막의 각각의 표면에 결합물질과 결합되기에 적합한 특정 작용기를 지닌 고분자로 이루어진 유기 고분자 박막을 형성한다.

[64] 일반적인 CVD 공정은 목적하는 화학반응을 유도하기 위하여 낮게는 500℃ 높게는 1000℃를 상회하는 고온을 요구함에 반해, 본 발명의 방법을 이용하는 경우 유기물의 반응은 상온에서도 가능하므로 150℃ 내지 300℃ 정도의 저온 조건에서도 목적하는 고분자 박막을 용이하게 제조할 수 있는 방법이다.

[65] 또한 본 발명에서 채택한 iCVD는 기상 증착 공정인 바, 용매, 특히 유기 용매를 사용하지 않고 기상 조건에서 단량체와 개시제로 목적하는 고분자 박막을 증착시킬 수 있어, 하부에 기판을 포함하는 경우라도 용매로 인한 기판의 손상 우려를 배제할 수 있고, 잔류물이 남지 않아 고순도 박막을 수득할 수 있다.

[66] 공정을 통해 얻은 고분자 박막의 물성은 개시제를 포함하는 화학 기상 증착법(iCVD)의 공정 변수를 제어함으로써 쉽게 조절할 수 있다. 즉, 공정 압력, 시간, 온도, 개시제 및 단량체의 유량, 필라멘트 온도 등을 목적하는 바에 따라 당업자가 조절함으로써 고분자 박막의 분자량, 목적하는 박막의 두께, 조성, 증착 속도 등과 같은 물성 조절이 가능하다.

[67]

[68] 본 발명은 또 다른 관점에서, 기판 위에 형성된 제1박막; 및 상기 제1박막 위에 적층된 양전하를 가지는 생체 모방형 제2박막;을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼에 관한 것이다.

[69] 본 발명에 있어서, 상기 제1박막 및 생체 모방형 제2박막은 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정으로 형성되는 것을 특징으로 할 수 있다.

[70] 본 발명에 있어서, 상기 제1박막은 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 에폭시(epoxy) 작용기를 함유하는 제1단량체를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 제1박막은 PMA(propargyl methacrylate), GMA(glycidyl methacrylate), PFM(pentafluorophenyl methacrylate), FMA(furfuryl methacrylate), HEMA(hydroxyethyl methacrylate), VP(vinyl pyrrolidone), DMAMS(dimethylaminomethyl styrene), CHMA(cyclohexyl methacrylate),

PFA(perfluorodecyl acrylate), V3D3(trivinyltrimethyl cyclotrisiloxane), AS(4-aminostyrene), NIPAAm(N-isopropylacrylaminde), MA-alt-St(maleic anhydride-alt-styrene), MAA-co-EA(methacrylic acid-co-ethyl acrylate), EGDMA(ethyleneglycol dimethacrylate), DVB(divinylbenzene), 및 DEGDVE(di(ethyleneglycol)di(vinyl) ether)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 제1단량체, 바람직하게는 글리시딜 메타크릴레이트(glycidyl methacrylate, GMA)를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 제1박막은 50nm~300nm의 두께인 것을 특징으로 할 수 있다.

[71] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 아민(amine) 작용기를 함유하는 제2단량체를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 생체 모방형 제2박막은 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA)), 2-비닐피리딘(2-vinylpyridine), 4-비닐피리딘(4-vinylpyridine), N-비닐피롤리돈(N-vinylpyrrolidone), 1-비닐이미다졸(1-vinylimidazole), 아크릴아미드(acrylamide), 메타크릴아미드(methacrylamide), 비닐-N-메틸피리디늄 클로라이드(vinyl-N-methylpyridinium chloride), 9-비닐카바졸(9-vinylcabazole), 디에틸아미노에틸아크릴레이트(DEAEA), 디메틸아미노에틸아크릴레이트(DMAEA) 및 디에틸아미노에틸메타크릴레이트(DEAMA)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 제2단량체, 바람직하게는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA))를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[72] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체는 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 생체 모방형 제2박막은 1nm~50nm의 두께인 것을 특징으로 할 수 있다.

[73] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 상기 제1박막에 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 적층되어 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 가교 결합은 제1박막에 포함된 제1단량체의 작용기와 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체의 작용기의 결합, 바람직하게는 제1박막에 포함된 제1단량체의 에폭시 작용기(epoxy group)와 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체의 아민 작용기(amine group)의 결합인 것을 특징으로 할 수 있다.

[74]

[75] 본 발명은 또 다른 관점에서, 기판 위에 형성되고, 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 함유하는 생체 모방형 박막을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼에 관한 것이다.

[76] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정으로 형성되는 것을 특징으로 할 수 있다.

[77] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 에폭시(epoxy) 작용기를 함유하는 제1단량체를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 생체 모방형 박막은 PMA(propargyl methacrylate), GMA(glycidyl methacrylate), PFM(pentafluorophenyl methacrylate), FMA(furfuryl methacrylate), HEMA(hydroxyethyl methacrylate), VP(vinyl pyrrolidone), DMAMS(dimethylaminomethyl styrene), CHMA(cyclohexyl methacrylate), PFA(perfluorodecyl acrylate), V3D3(trivinyltrimethyl cyclotrisiloxane), AS(4-aminostyrene), NIPAAm(N-isopropylacrylaminde), MA-alt-St(maleic anhydride-alt-styrene), MAA-co-EA(methacrylic acid-co-ethyl acrylate), EGDMA(ethyleneglycol dimethacrylate), DVB(divinylbenzene), 및 DEGDVE(di(ethyleneglycol)di(vinyl) ether)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 제1단량체, 바람직하게는 글리시딜 메타크릴레이트(glycidyl methacrylate, GMA)를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[78] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기, 바람직하게는 아민(amine) 작용기를 함유하는 제2단량체를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 생체 모방형 박막은 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA)), 2-비닐피리딘(2-vinylpyridine), 4-비닐피리딘(4-vinylpyridine), N-비닐피롤리돈(N-vinylpyrrolidone), 1-비닐이미다졸(1-vinylimidazole), 아크릴아미드(acrylamide), 메타크릴아미드(methacrylamide), 비닐-N-메틸피리디늄 클로라이드(vinyl-N-methylpyridinium chloride), 9-비닐카바졸(9-vinylcabazole), 디에틸아미노에틸아크릴레이트(DEAEA), 디메틸아미노에틸아크릴레이트(DMAEA) 및 디에틸아미노에틸메타크릴레이트(DEAMA)로 구성된 군에서 적어도 하나 이상 선택되는 제2단량체, 바람직하게는 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate(DMAEMA))를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[79] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막에 함유된 제2단량체는 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 생체 모방형 박막은 1nm~50nm의 두께인 것을 특징으로 할 수 있다.

[80] 본 발명에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 상기 제1단량체 및 제2단량체 간의 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 할

수 있으며, 상기 가교 결합은 생체 모방형 박막에 포함된 제1단량체의 작용기와 제2단량체의 작용기의 결합, 바람직하게는 생체 모방형 박막에 포함된 제1단량체의 에폭시 작용기(epoxy group)와 제2단량체의 아민 작용기(amine group)의 결합인 것을 특징으로 할 수 있다.

[81]

[82] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[83]

[84] 실시예 1: 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법

[85] 신경전달물질(neurotransmitter)인 아세틸콜린(acetylcholine)은 N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate, DMAEMA)와 구조가 매우 유사한 것으로 보고된 바 있다.

[86] 본 실시예에서는 DMAEMA를 포함하는 제2박막을 제1박막이 부착된 기판에 안정적으로 코팅하여 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하고자 하였다.

[87] 신경세포 배양용 플랫폼의 제조과정은 iCVD(initiated chemical vapor deposition) 반응기(대기 하이테크사)에서 이루어졌고, 다음과 같은 단계로 플랫폼을 제조하였다.

[88] (1) 기판의 온도는 30℃로 유지한 상태에서, GMA 단량체의 온도를 40℃로 하여 개시제(TBPO(tert-butyl peroxide, 알드리치 사))와 60:30의 부피비율로 주입시켜 필라멘트 온도를 170℃로 하고, 내부 압력을 160mbar로 유지시키는 가운데 기판에 제1박막으로 증착하였다.

[89] (2) 진공을 깨지 않은 상태에서 압력을 120mbar로 낮춘 뒤, GMA 단량체 주입을 차단하고, 35℃로 가열된 DMAEMA 단량체를 개시제와 69:30의 부피비율로 주입하여 상기 제2박막을 상기 제1박막 위에 적층하였다.

[90] 그 결과, 상기 (1) 단계에서, 10분간의 증착으로 약 100nm 두께의 PGMA(Poly(glycidyl methacrylate) 박막을 수득할 수 있었고, 상기 (2) 단계에서 9분간의 적층으로 약 25nm 두께의 PDMAEMA(poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate) 박막을 수득할 수 있었다. 따라서 최종적으로 P(GMA-L-DMAEMA) 박막을 수득할 수 있었다. 상기와 같은 증착/적층 과정은 도 1에 간략하게 나타내었다.

[91]

[92] 본 실시예에서는 또한, GMA 단량체 및 DMAEMA 단량체을 동시에 공급하여 공중합체를 통해 안정적으로 기판에 단층 박막을 코팅하여 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하고자 하였다.

[93] 신경세포 배양용 플랫폼의 제조과정은 iCVD(initiated chemical vapor deposition) 반응기(대기 하이테크사)에서 이루어졌고, 다음과 같은 단계로 플랫폼을

제조하였다. 즉, 기판의 온도는 30℃로 유지한 상태에서, GMA 단량체 및 DMAEMA 단량체의 온도를 40℃로 하여 개시제(TBPO(tert-butyl peroxide, 알드리치 사))와 60:30 또는 69:30의 부피비율로 주입시켜 필라멘트 온도를 170℃로 하고, 내부 압력을 160mbar로 유지시키는 가운데 기판에 박막으로 증착하였다.

[94]

[95] 실시예 2: 신경세포 배양용 플랫폼에 포함된 박막의 기능기 확인

[96] 실시예 1에서 제조된 신경세포 배양용 플랫폼의 박막의 구조를 FT-IR 스펙트로미터(ALPHA FT-IR Spectrometer, BRUKER)를 사용하여 측정하였다.

[97] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, FT-IR 스펙트럼 상에서 실시예 1에서 주입한 단량체들이 올바르게 증착되었다. 즉, 박막 표면의 양전하에 영향을 미치는 DMAEMA의 3차 아민기(tertiary amine group)(2822cm^{-1} 및 2771cm^{-1})가 보존되어 있는 것을 확인하였고, 단량체의 스펙트럼에 있었던 바이닐 그룹 픽(vinyl peak)(1630cm^{-1})이 공중합체 스펙트럼에는 상당량 감소한 것으로부터, 공정 중 라디칼 중합반응이 성공적으로 일어났음을 확인할 수 있다.

[98]

[99] 실시예 3: 신경세포 배양용 플랫폼에 포함된 박막의 내구성 확인

[100] 실시예 1에서 제조된 신경세포 배양용 플랫폼의 박막의 구조를 XPS(X-ray Photoelectron Spectroscopy)(Multilab 2000, Thermo)를 사용하여 측정하였다.

[101] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, XPS 스펙트럼 상에서 이중 단량체 층상 구조로부터 표면에 아민 그룹이 잘 보존되어 있었다. 즉, PDMAEMA와 다르게 하층에 GMA가 먼저 증착된 경우 403eV 부근에서 protonated amine(N+) peak이 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 이는 GMA의 에폭시(epoxy)기와 DMAEMA의 3차 아민기가 반응함으로써 나타나는 protonated amine(N+)으로 추정된다. 이러한 결과는 하층의 GMA를 통해 DMAEMA의 일부(25.14%)가 grafting된 것을 의미하기도 한다. PGMA의 경우 일반적인 아민 고분자들에 비하여 상대적으로 다양한 기판에 접착력이 높고, 용매 안정성이 강하기 때문에, 이러한 형태의 GMA로의 grafting은 세포 배양에 있어서, 다양한 환경에 장기간 견딜 수 있는 저항력을 일정량 향상시켜줄 수 있다.

[102]

[103] 실시예 4: 신경세포 배양용 플랫폼에서 배양된 신경세포의 성장 상태 및 신경 반응의 검증

[104] 실시예 1에서 제조된 신경세포 배양용 플랫폼에서 신경세포를 배양하여 상기 플랫폼의 제2박막에 포함된 DMAEMA가 아세틸콜린과 유사하게 신경세포의 성장을 활성화하는지 확인하고자 하였다.

[105] 본 실시예에서 사용되는 신경세포는 종래 공지된 생체외(in vitro) 배양용 신경세포이거나 종래의 방법을 통해 인간을 제외한 동물로부터 채취가능한 세포를 생체외 조건에서 분화시켜 사용할 수 있다.

[106] 실시예 1에서 제조된 신경세포 배양용 플랫폼의 신경세포의 배양상태를 검증하고자 종래의 방법으로 신경세포를 배양한 다음, 상기 배양된 신경세포를 일정 시간 간격으로 수득하여 신경세포 특이적 항체로 면역염색법을 수행한 다음, 신경세포의 성장 상태를 형광현미경 하에서 관찰하였다. 여기서, 상기 신경세포 성장 상태를 검증하기 위해서, 신경세포에서 미세관(microtubule)의 안정화에 관여하는 MAP2 단백질(녹색) 및 Tau(적색) 단백질의 발현 상태를 각각의 단백질에 대한 항체로 표지 및 염색하여 신경세포의 성장 정도를 나타내는 수상돌기(dendrite) 및 축색돌기(axon)로 확인하였다.

[107] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, P(GMA-L-DMAEMA) 박막(PGD1) 또는 폴리-라이신(PLL)이 증착된 플랫폼에서 배양된 신경세포의 수상돌기 및 축색돌기의 상태를 비교한 결과, 배양기간이 길어질수록 PLL에 비해 PGD1이 증착된 플랫폼에서 성장한 신경세포의 수상돌기의 수와 길이가 더 증가하였고, 축색돌기의 길이 또한 더 증가한 것으로 나타나, PGD1이 PLL보다 신경 성장율이 더 높은 것으로 나타났다.

[108] 또한, 도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 실시예 1에서 제조된 박막으로 증착된 플랫폼에서 장시간(30일, 80일 및 90일) 배양된 신경세포의 수상돌기 및 축색돌기의 상태는 폴리-라이신이 증착된 플랫폼과 견줄 수 있는, 혹은 더욱 안정하고 균일하게 분포되어 건강하게 유지되고 있는 신경세포를 관찰하였다.

[109]

[110] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[111]

산업상 이용가능성

[112] 본 발명에 따른 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법으로 다양한 종류의 기판에 세포 적합성 기능을 가지는 생체 모방형 박막을 효과적으로 증착하여 신경세포 배양용 플랫폼을 개발할 수 있을 것이다. 특히 본 발명의 신경세포 배양용 플랫폼을 이용할 경우, 배양이 어려운 신경세포의 성장촉진 및 안정적 장기 배양이 가능하므로 신경세포 관련 질병 연구 및 기초 연구에 이바지할 수 있을 것이다.

청구범위

[청구항 1] 다음 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법:
(a) 제1단량체를 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 기판 위에 제1박막을 형성하는 단계; 및
(b) 상기 제1박막 위에 양전하를 가지는 제2단량체를 공급하여 생체 모방형(biomimetic) 제2박막을 적층하는 단계.

[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 (a) 단계는 (i) 기판에 제1단량체 및 개시제를 공급하는 단계; (ii) 일정한 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 (iii) 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제1단량체를 활성화시킴으로써 상기 제1단량체를 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 제1박막으로 기판 위에 증착시키는 단계를 포함하는 방법.

[청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 (b) 단계는 (i) 제1단량체의 공급을 차단한 다음, 제2단량체 및 개시제를 공급하는 단계; (ii) 상기 (a) 단계의 압력보다 하향조정되거나 상향조정된 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 (iii) 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제2단량체를 활성화시킴으로써 상기 제2단량체를 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 생체 모방형 제2박막으로 상기 기판 위에 증착된 제1박막 위에 적층하는 단계를 포함하는 방법.

[청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 기판은 플라스틱이고, 상기 플라스틱은 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 폴리아미드(polyamides, PA), 폴리에스터(polyester, PES), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리우레탄(polyurethanes, PU), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리염화비닐리덴(polyvinylidene chloride, PVDC), 폴리테트라플루오르에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리에트르에테르케톤(polyetheretherrketone, PEEK) 및 폴리에테르이미드(polyetherimide, PEI)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 제1단량체는 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 6] 제2항에 있어서, 상기 제1단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는

것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 7] 제2항에 있어서, 상기 제1단량체와 개시제는 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 8] 제2항에 있어서, 상기 압력은 100mbar~400mbar인 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 9] 제1항에 있어서, 상기 제2단량체는 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 10] 제1항에 있어서, 상기 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 상기 생체 모방형 물질은 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 11] 제3항에 있어서, 상기 제2단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 12] 제3항에 있어서, 상기 제2단량체와 개시제는 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 13] 제3항에 있어서, 상기 (a) 단계의 압력보다 하향조정되거나 상향조정된 압력은 100~400mbar인 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 14] 제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 열은 130℃ 내지 250℃이며, 상기 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하는 과정에서 기판의 온도는 25~40℃인 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 15] 제1항에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 상기 제1박막에 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 적층되어 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 16] 기판 위에 형성된 제1박막; 및 상기 제1박막 위에 적층된 양전하를 가지는 생체 모방형 제2박막;을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼.

[청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 제1박막 및 생체 모방형 제2박막은 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정으로 형성되는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 18] 제16항에 있어서, 상기 제1박막은 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 함유하는 제1단량체를 포함하는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 19] 제16항에 있어서, 상기 제1박막은 50nm~300nm의 두께인 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 20] 제16항에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 함유하는 제2단량체를 포함하는 것을 특징으로

하는 플랫폼.

[청구항 21] 제16항에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막에 포함된 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 상기 생체 모방형 물질은 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 22] 제16항에 있어서, 상기 제2박막은 1nm~50nm의 두께인 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 23] 제16항에 있어서, 상기 생체 모방형 제2박막은 상기 제1박막에 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 적층되어 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 24] 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 동시에 공급하고, 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정을 통해, 공중합체로 기판 위에 생체 모방형 박막을 형성하는 단계를 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼의 제조방법.

[청구항 25] 제24항에 있어서, 상기 기판에 제1단량체, 제2단량체 및 개시제를 공급하는 단계; 일정한 압력하에서, 열을 주입하여 상기 개시제를 열분해하여 유리 라디칼(free radical)을 형성하는 단계; 및 상기 유리 라디칼을 이용하여 상기 제1단량체 및 제2단량체를 활성화시킴으로써 상기 단량체들을 연쇄중합반응시켜 형성된 고분자를 생체 모방형 박막으로 기판 위에 증착시키는 단계를 포함하는 방법.

[청구항 26] 제24항에 있어서, 상기 기판은 플라스틱이고, 상기 플라스틱은 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 폴리아미드(polyamides, PA), 폴리에스터(polyester, PES), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리우레탄(polyurethanes, PU), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리염화비닐리덴(polyvinylidene chloride, PVDC), 폴리테트라플루오르에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리에트르에테르케톤(polyetheretherrketone, PEEK) 및 폴리에테르이미드(polyetherimide, PEI)로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 27] 제24항에 있어서, 상기 제1단량체는 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 28] 제25항에 있어서, 상기 제1단량체 및 제2단량체는 25~65℃로 가열된 상태에서 공급되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 29] 제25항에 있어서, 상기 제1단량체 및 제2단량체는 개시제와 0.5~2.5:0.5~2.5의 혼합 부피비율로 동시에 공급되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 30] 제25항에 있어서, 상기 압력은 100mbar~400mbar인 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 31] 제24항에 있어서, 상기 제2단량체는 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 32] 제24항에 있어서, 상기 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 상기 생체 모방형 물질은 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 33] 제25항에 있어서, 상기 열은 130℃ 내지 250℃이며, 상기 신경세포 배양용 플랫폼을 제조하는 과정에서 기판의 온도는 25~40℃인 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 34] 제24항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 상기 제1단량체 및 제2단량체 간의 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 하는 방법.

[청구항 35] 기판 위에 형성되고, 제1단량체 및 양전하를 가지는 제2단량체를 함유하는 생체 모방형 박막을 포함하는 신경세포 배양용 플랫폼.

[청구항 36] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 개시제를 이용한 화학적 기상 증착(initiated Chemical Vapor Deposition, iCVD) 공정으로 형성되는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 37] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 에폭시(epoxy), 카르복실, 옥사졸리닐, 아즈락톤, 아세틸, 아세토닐, 아세토아세틸, 에스테르, 아이소시아나토, 아지리디닐 및 아실 할라이드로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 함유하는 제1단량체를 포함하는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 38] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 아민(amine), 아미드, 아졸(azole), 피리딘, 및 피롤리돈으로 구성된 군에서 선택되는 적어도 하나 이상의 작용기를 함유하는 제2단량체를 포함하는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

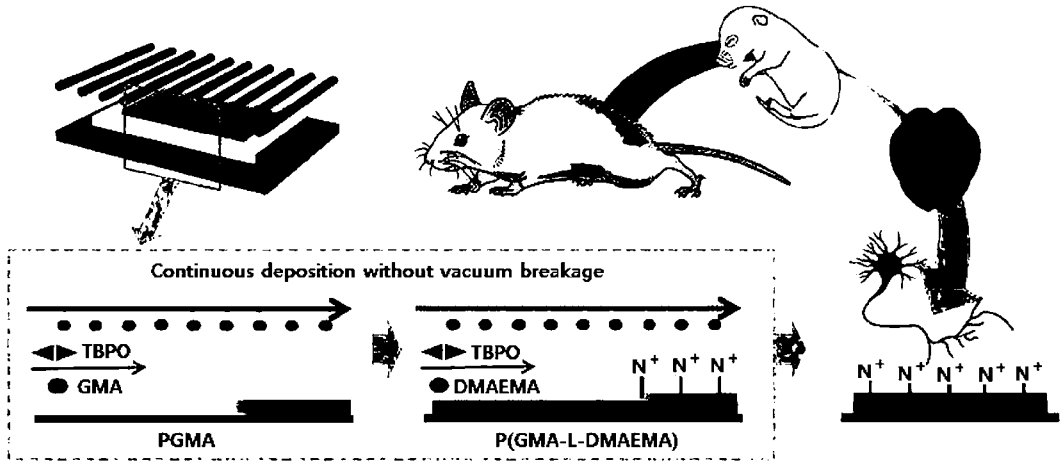
[청구항 39] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막에 함유된 제2단량체는 생체 모방형(biomimetic) 물질인 것을 특징으로 하고, 상기 생체 모방형 물질은 구조적 및/또는 기능적으로 천연물질과 유사한 것을 특징으로 하는 플랫폼.

[청구항 40] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 1nm~50nm의 두께인 것을 특징으로 하는 플랫폼.

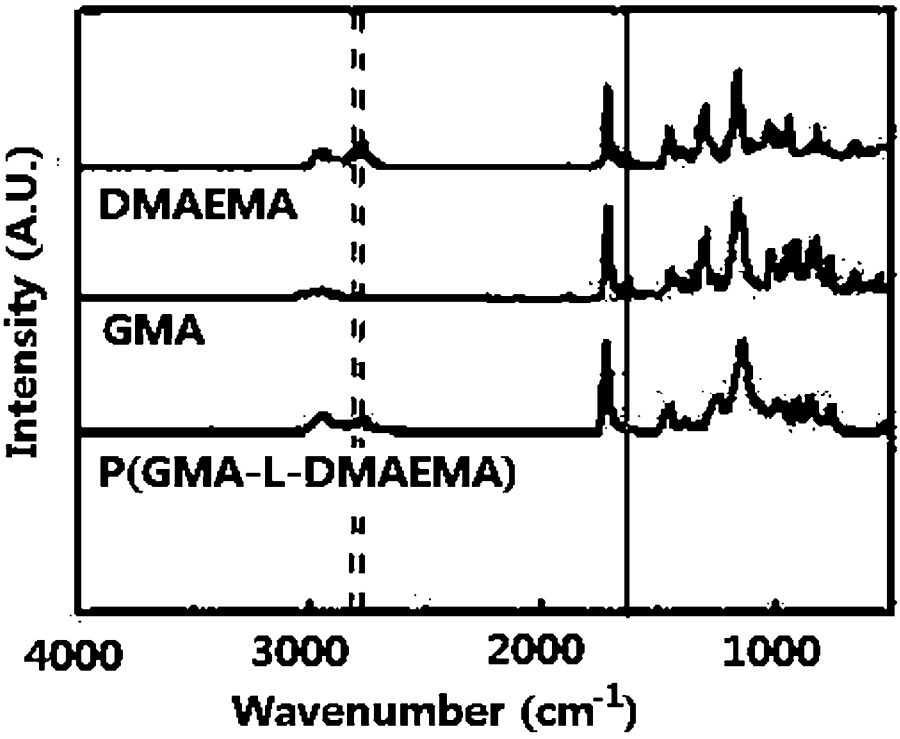
[청구항 41] 제35항에 있어서, 상기 생체 모방형 박막은 상기 제1단량체 및 제2단량체

간의 가교 결합(cross-linked)으로 안정하게 상기 기판 위에 고정되는 것을 특징으로 하는 플랫폼.

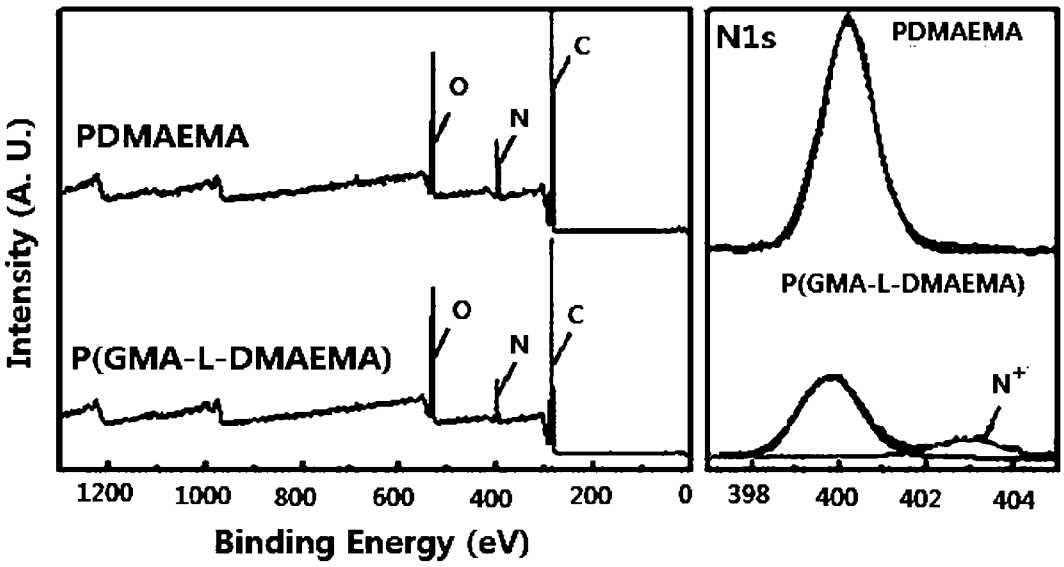
[도1]


Continuous deposition without vacuum breakage
TBPO
GMA
PGMA
TBPO
DMAEMA
P(GMA-L-DMAEMA)
N+ N+ N+
N+ N+ N+ N+ N+

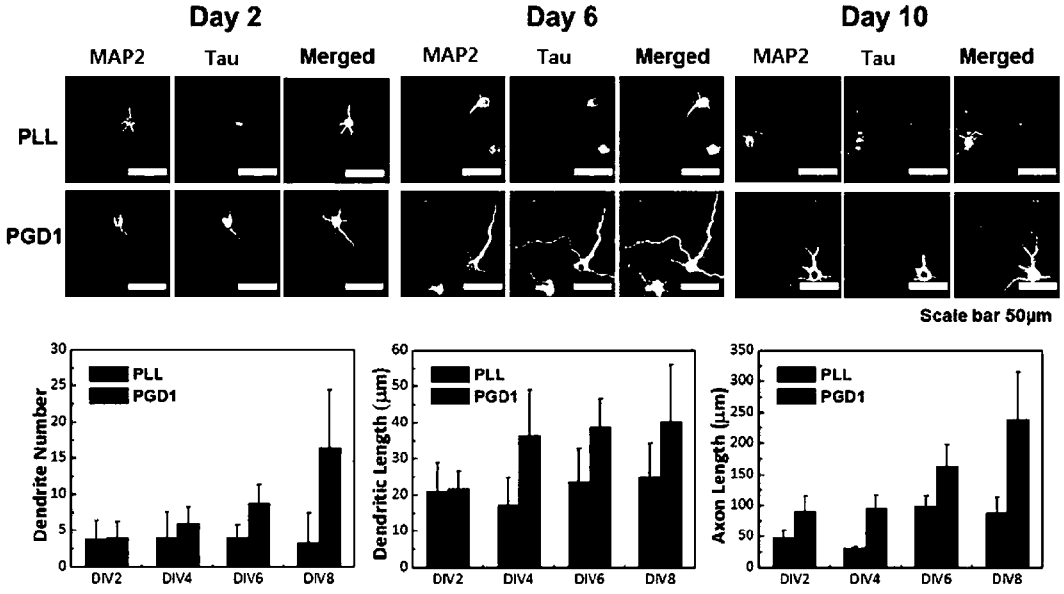
[도2]


DMAEMA
GMA
P(GMA-L-DMAEMA)
Intensity (A.U.)
4000
3000
2000
1000
Wavenumber (cm-1)

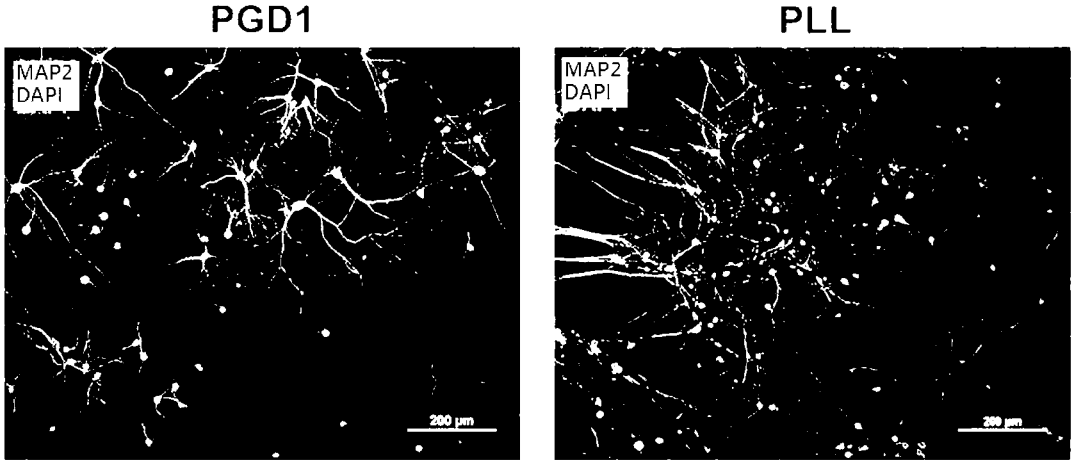
[도3]


PDMAEMA
P(GMA-L-DMAEMA)
O
N
C
Intensity (A. U.)
1200
1000
800
600
400
200
0
Binding Energy (eV)
N1s
PDMAEMA
P(GMA-L-DMAEMA)
N+
398
400
402
404

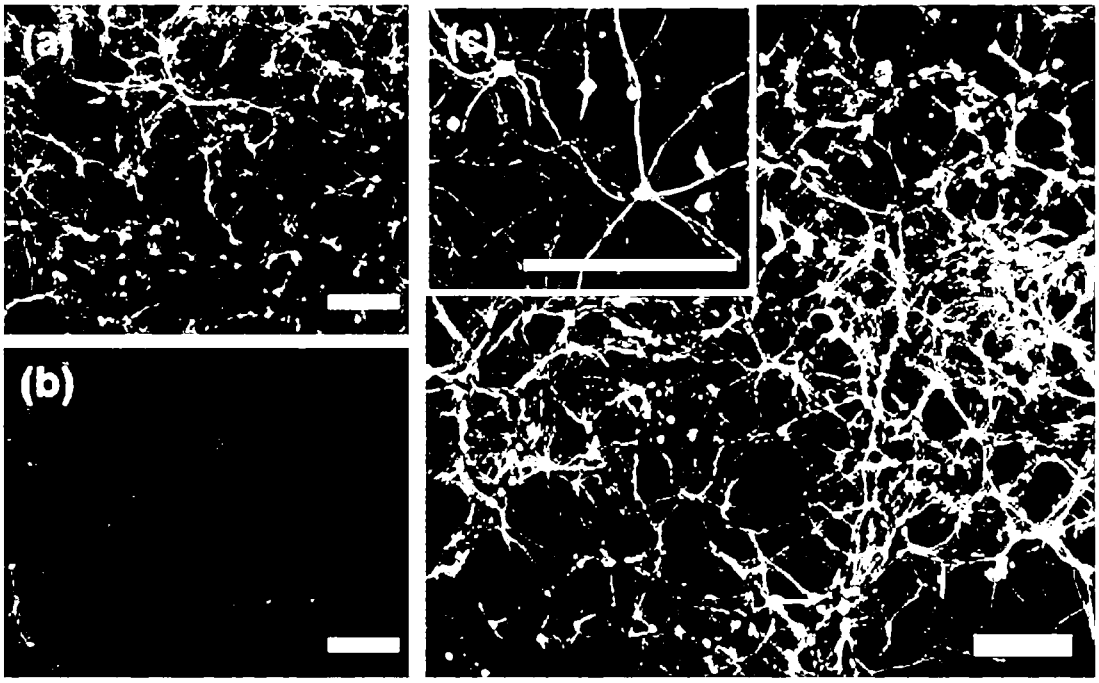
[도4]


Day 2
Day 6
Day 10
MAP2
Tau
Merged
PLL
PGD1
Scale bar 50μm
Dendrite Number
Dendritic Length (μm)
Axon Length (μm)
PLL
PGD1
DIV2
DIV4
DIV6
DIV8

[도5]


PGD1
PLL
MAP2
DAPI
200 μm

[도6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2016/011051

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 3/00(2006.01)i, C12N 5/0793(2010.01)i, C23C 16/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M 3/00; C02F 1/50; C12N 1/12; H01L 51/56; H05B 33/04; C12N 5/0793; C23C 16/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: neuron, cultivation, platform, chemical vapor deposition, monomer, positive electric charge, initiator, thin film

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2014-0001010 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 06 January 2014 See abstract; claims 1 and 7-9; paragraphs [0026]-[0028]; figure 1.	1-41
A	MAMMADOV, Busra et al., "Neural Differentiation on Synthetic Scaffold Materials", Biomaterials Science, 2013, vol. 1, pages 1119-1137 See the entire document.	1-41
A	TU, Qin et al., "The Effect of Acetylcholine-like Biomimetic Polymers on Neuronal Growth", Biomaterials, (Electronic publishing) 06 February 2011, vol. 32, no. 12, pages 3253-3264 See the entire document.	1-41
A	KR 10-2014-0097678 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 07 August 2014 See abstract; claims 1-8.	1-41
A	ZHOU, Zhaoli et al., "The Role of Hydrogels with Tethered Acetylcholine Functionality on the Adhesion and Viability of Hippocampal Neurons and Glial Cells", Biomaterials, (Electronic publishing) 22 December 2011, vol. 33, no. 8, pages 2473-2481 See the entire document.	1-41

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
06 JANUARY 2017 (06.01.2017)	**06 JANUARY 2017 (06.01.2017)**

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2016/011051

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PARK, Se Woong et al., "Generation of Functionalized Polymer Nanolayer on Implant Surface via Initiated Chemical Vapor Deposition (iCVD)", Journal of Colloid and Interface Science, (Electronic publishing) 19 October 2014, vol. 439, pages 34-41 See the entire document.	1-41
A	MARI-BUYE, Nuria et al., "Functionalized, Swellable Hydrogel Layers as a Platform for Cell Studies", Advanced Functional Materials, 2009, vol. 19, pages 1276-1286 See the entire document.	1-41
A	PARK, Hyun-Ji et al., "Paper-based Bioactive Scaffolds for Stem Cell-mediated Bone Tissue Engineering", Biomaterials, (Electronic publishing) 17 September 2014, vol. 35, no. 37, pages 9811-9823 See the entire document.	1-41
X	BAEK, Ji Eung et al., Oral Presentations of Graduate Students 109-15: "A Vapor-phase Deposited Polymer Coating for Long-term Culture of Primary Neuron Cells", In: 2015 The Autumn Meeting of the Polymer Society of Korea, 06-08 October 2015, Daegu Exhibition & Convention Center See abstract.	1-41
PX	BEAK, Jieung et al., Poster: "Vapor-phase Deposited Biomimetic Polymer Surface for Stable Primary Neuron Culture", In: 2015 Fall Conference of the Korean Society for Biomaterials, 22 October 2015 See abstract. ※ The above two documents are the documents declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-41

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2016/011051

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2014-0001010 A	06/01/2014	KR 10-1492904 B1	12/02/2015
		WO 2014-003275 A1	03/01/2014
KR 10-2014-0097678 A	07/08/2014	KR 10-1484732 B1	21/01/2015

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2016/011051

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12M 3/00(2006.01)i, C12N 5/0793(2010.01)i, C23C 16/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C12M 3/00; C02F 1/50; C12N 1/12; H01L 51/56; H05B 33/04; C12N 5/0793; C23C 16/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드:신경세포, 배양, 플랫폼, 화학적 기상 증착, 단량체, 양전하, 개시제, 박막

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2014-0001010 A (한국과학기술원) 2014.01.06 요약; 청구항 1 및 7-9; 단락 [0026]-[0028]; 도면 1 참조.	1-41
A	MAMMADOV, BUSRA 등, 'Neural differentiation on synthetic scaffold materials', Biomaterials Science, 2013, 제1권, 1119-1137 페이지 전체 문헌 참조.	1-41
A	TU, QIN 등, 'The effect of acetylcholine-like biomimetic polymers on neuronal growth', Biomaterials, (전자공개)2011.02.06, 제32권, 제12호, 3253-3264 페이지 전체 문헌 참조.	1-41
A	KR 10-2014-0097678 A (한국과학기술원) 2014.08.07 요약; 청구항 1-8 참조.	1-41
A	ZHOU, ZHAOLI 등, 'The role of hydrogels with tethered acetylcholine functionality on the adhesion and viability of hippocampal neurons and glial cells', Biomaterials, (전자공개)2011.12.22, 제33권, 제8호, 2473-2481 페이지 전체 문헌 참조.	1-41

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2017년 01월 06일 (06.01.2017)	2017년 01월 06일 (06.01.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
조기윤
전화번호 +82-42-481-5655

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2016/011051

C(계속). 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	PARK, SE WOONG 등, 'Generation of functionalized polymer nanolayer on implant surface via initiated chemical vapor deposition (iCVD)', Journal of Colloid and Interface Science, (전자공개)2014.10.19, 제439권, 34-41 페이지 전체 문헌 참조.	1-41
A	MARI-BUYE, NURIA 등, 'Functionalized, swellable hydrogel layers as a platform for cell studies', Advanced Functional Materials, 2009, 제19권, 1276-1286 페이지 전체 문헌 참조.	1-41
A	PARK, HYUN-JI 등, 'Paper-based bioactive scaffolds for stem cell-mediated bone tissue engineering', Biomaterials, (전자공개)2014.09.17, 제35권, 제37호, 9811-9823 페이지 전체 문헌 참조.	1-41
X	백지웅 등, 대학원생 구두발표 109-15: 'A vapor-phase deposited polymer coating for long-term culture of primary neuron cells', In: 2015 한국고분자학회 추계학술대회, 2015.10.06-08, 대구컨벤션센터 초록 참조.	1-41
PX	BEAK, JIEUNG 등, 포스터: 'Vapor-phase deposited biomimetic polymer surface for stable primary neuron culture', In: 2015년 한국생체재료학회 추계학술대회, 2015.10.22 초록 참조. ※ 위 두 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	1-41

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2016/011051

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2014-0001010 A	2014/01/06	KR 10-1492904 B1	2015/02/12
		WO 2014-003275 A1	2014/01/03
KR 10-2014-0097678 A	2014/08/07	KR 10-1484732 B1	2015/01/21