

실크 피브로인 나노섬유의 제조 및 응용

정 임 · 박원호

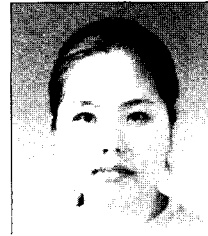
1. 서론

실크 피브로인은 대표적인 섬유상 단백질로 고급 의류용 섬유나 수술용 봉합사에 주로 사용되어 왔다. 실크 피브로인은 생분해성, 생체적합성, 산소 및 수분투과성, 저염증 반응성 등의 특성을 지니고 있으므로, 최근 많은 연구자들은 실크 피브로인을 생체 의학적 소재로 응용을 확대하고 있다. 또한 실크 피브로인은 겔, 분말, 섬유 및 다공성 막 등의 여러 가지 형태로 화장품이나 건강식품 및 식품첨가제로도 다양하게 응용이 이루어지고 있다.^{1,2}

한편, 전기방사 공정은 크기는 수 마이크로미터에서 작게는 수십 나노미터 크기의 지름을 가지는 초극세 섬유인 나노섬유의 제조 기술로서 기존의 섬유 방사방식과는 근본적으로 다른 새로운 방사기술이기 때문에 산업적인 응용 가능성이 무한한 미래지향적 기술로 최근 주목을 받고 있다. 고분자 용액을 고전압으로 가속시켜 물체의 표면에 고속 분사하게 되면 적층 필라멘트화된 섬유로 변환되어 연속적인 나노 크기의 섬유가 형성된다. 즉, 기존의 섬유 방사공정에 정전기력을 적용한 것으로 기존의 방사법으로 제조된 섬유와 전혀 다른 형태와 특성이 나타나며 학문적 및 경제적 측면에서 관심의 대상이 되고 있다.³⁻⁶

따라서, 우수한 특성을 가지는 실크 피브로인을 전기방사를 이용하여 나노섬유를 제조한다면 높은 비표면적과 기공도를 가짐으로써 다양한 분야에 응용이 가능할 것으로 기대된다. 나노섬유의 예상되는 응용분

야로는 분리공정에서의 필터 및 분리막, 2차전지의 전극소재, 각종 센서 분야가 있으며 고분자, 금속 그리드 이들의 혼성 나노튜브를 제조하기 위한 템플레이트 섬유로 매우 유용하게 사용될 수 있다. 실크 피브로인 나노섬유는 중량에 비하여 큰 비표면적을 가지기 때문에 상처부위와 생체적합성 소재와의 접촉 면



정 임

1999~ 2003 충남대학교 공과대학 섬유공학과 (학사)
2003~ 2005 충남대학교 공과대학 섬유공학과 (석사)
2005~ (주)나이백 연구원 현재



박원호

1981~ 1985 서울대학교 공과대학 섬유공학과 (학사)
1985~ 1987 서울대학교 공과대학 섬유공학과 (석사)
1987~ 1993 서울대학교 공과대학 섬유공학과 (박사)
1996~ 1997 미국 University of Massachusetts at Amherst 고분자공학과 (Post-Doc.)
1993~ 1999 금오공과대학교 고분자공학과 전임강사, 조교수, 부교수
1999~ 충남대학교 공과대학 섬유공학과 현재 부교수, 교수

Fabrication and Applications of Silk Fibroin Nanofibers

(주)나이백 (Lim Jeong, #211 College of Dentistry, Seoul National University, 28 Yeonkun-dong, Chongno-ku, Seoul 110-749, Korea)

충남대학교 공과대학 섬유공학과 (Won-Ho Park, Department of Textile Engineering, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea) e-mail: parkwh@cnu.ac.kr

적이 넓어져 통증 완화 및 상처치유 속도가 매우 빠르고, 나노섬유로 구성되는 부직포에 존재하는 많은 기공과 미세 공간 때문에 상처에서 배출되는 체액의 흡수 능력 등이 우수함은 물론이고 산소 투과성이 좋기 때문에 창상 피복재나 혈관이식 및 조직공학용 지지체 등에 응용 가능하다.⁷⁻¹³

본 총설에서는 전기방사를 통한 실크 피브로인 나노섬유의 제조방법 및 개발동향에 대해서 알아보고 이렇게 제조된 실크 피브로인 나노섬유의 의학적 응용에 대해서 개략적으로 살펴보기로 하겠다.

2. 실크 피브로인의 개요

실크란 누에를 포함한 곤충에 의해 만들어지는 전형적인 섬유상 단백질(fibrous protein)로 천연의 생체 고분자이다. 실을 토해 내는 누에의 실 싹으로부터 분비된 이 단백질의 주성분은 피브로인(fibroin)과 세리신(sericin)으로 구성된다. 한 개의 고치는 약 1,000~1,300 m의 가늘고 긴 섬유로 이루어져 있는데, 이 고치실(cocoon)은 한 쌍의 실 싹에서 발생된 것이므로 두 가닥의 피브로인을 세리신이 둘러싸고 있다. 피브로인과 세리신은 약 7:3의 비율로 이루어져 있으며, 피브로인과 세리신의 이중 구조는 다른 천연섬유에서 볼 수 없는 실크만의 특징으로 세리신은 가공되는 과정에서 대부분 용해·제거된다.

실크 피브로인에 대한 연구 동향을 살펴보면 실크 피브로인의 약리적 기능성과 피부친화성에 기초한 식품 및 화장품 소재에 대한 연구와 실크 피브로인의 생체친화성에 근거한 효소고정화 담체, 세포배양 지지체 등 생물공학용 소재 및 창상피복재, 인공혈관 등 의료용 소재로의 개발이 활발하게 진행되고 있다.¹

실크 피브로인은 콜레스테롤 수치 저하, 알코올 대사 촉진, 혈당치 저하, 파킨슨씨병 등 치매의 예방 및 치료 효과 등이 있는 것으로 알려져 있는데, 이러한 기능은 실크 단백질에 포함되어 있는 아미노산 즉, 글리신, 알라닌, 세린, 티로신 등의 약리효과와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁴ 이러한 약리적 기능성을 나타내는 아미노산이 실크 피브로인에는 다량으로 존재하므로 이들을 순수하게 분리, 정제하여 식품, 의약품 등의 소재로 활용이 가능할 것으로 생각된다. 또한 실크 피브로인의 피부친화성, 자외선 차단성, 뛰어난 보습성 및 피부 부착성 등의 기능성에 따라 화장품 재료로서 충분한 응용 가능성이 인정되었으며 국내외에

서 부분적으로 상품화가 이루어지고 있다.

바이오 센서는 여러가지 혼합물이 섞여 있는 계에서 신속하고 정확하게 생화학적 성분 등을 측정할 수 있는 기법으로 환경, 의료 등의 분야에서 매우 유용한 장비이다. 실크 피브로인을 효소고정화 재료로 응용한 대표적인 효소는 glucose oxidase(GOD)이다. 실크 피브로인은 소수성을 띠는 결정 부분과 극성기가 많이 존재하는 비결정 부분으로 구성되어 있어, 수용성의 GOD는 실크 피브로인의 비결정 부위와 수소 결합을 통해서 갇혀 있는 상태가 되는 것이다. 이러한 원리에 의하여 실크 피브로인 또는 실크 피브로인이 포함된 복합체 등을 이용하면 GOD, lipase, invertase, alkaline phosphatase 등의 효소를 고정화시킬 수 있다.¹⁵

의료용 소재로 개발이 가능한 고분자 재료가 가져야 할 특성은 우선 생체 및 혈액적합성이 우수해야 하며 생체 내에서의 화학적 안정성, 내열성 및 기계적·물리적 특성, 성형 가공성 등이 좋아야 한다. 생체재료는 무엇보다도 높은 생체적합성을 필요로 하는 물질로, 최근 이 분야에 천연 고분자를 이용하려는 연구들이 활발하게 이루어지고 있다. 실크 피브로인은 생체적합성 및 혈액적합성이 우수하고 산소 및 수분투과성, 생분해성 등의 특성을 가지고 있으므로 생체재료 분야에서 합성고분자 재료의 대체물질로의 활용이 가능하다.

세포배양은 생체에서 분리한 세포를 효율적이고 경제적으로 배양하는 기술로서 조직공학 등에서 매우 중요한 기술이다. 생체세포는 일반적으로 물질표면에 부착하여 증식하는 것이 많기 때문에 세포와 친화력을 가진 재료가 세포배양 지지체로 사용될 수 있는데, 콜라겐(collagen)이나 피브로넥틴(fibronectin) 등이 세포배양 지지체로 사용되고 있는 대표적인 천연 고분자 물질이다. 이들은 공통적으로 세포인식기능을 가지고 있다고 알려져 있는 Arg-Gly-Asp(RGD) tripeptide를 가지고 있으므로 세포의 부착과 증식을 촉진하는 역할을 하는 것이 밝혀졌다. 그런데 이 Arg-Gly-Asp(RGD) tripeptide가 *Antheraea pernyi* 실크를 비롯한 실크 피브로인 구조에 일부 존재하는 것으로 알려져 실크 피브로인이 조직공학용 지지체, 수술용 재료 등의 생체 재료분야에서의 활용이 기대된다.¹⁶

Minoura 등은 피브로인 막 위에 쥐에서 유래한 세포를 부착, 증식 실험을 행한 결과 세포부착 상태가 양호하고 증식이 잘 되는 것을 확인하였으며, 세포배양에 많이 사용되는 콜라겐과 같은 기존의 생체재료와 유사한 정도의 세포점착 및 증식능을 확인하였다.¹⁷⁻¹⁸

화상 등으로 인해 상처가 있는 피부에는 감염이 발

생을 막고 피부 재생을 돕기 위해 창상피복재가 사용된다. 피부 재생을 돕기 위한 인공피부는 상처부위에 대한 자극성이 적으면서 균이나 곰팡이 등에 대한 감염을 예방할 수 있어야 하며 이를 위해서는 피복 재료가 상처와 잘 밀착되어야 한다. 또한 인체의 움직임에 따른 상처부위의 신축에 대응하는 유연성이 있어야 한다. 이러한 면에서 볼 때, 실크 피브로인의 생체적합성, 혈액적합성, 저염증 반응성, 저자극성, 산소 및 수분투과성 등의 특징은 창상피복재 및 인공피부 재료로서 매우 유용하다. 또한 혈액응고 저해작용이 있는 것으로 알려진 헤파린은 황산기를 가지므로 실크의 주요 구성 성분인 피브로인을 진한 황산 등으로 처리하여 황산기를 가지게 하면 혈액의 응고를 저해하는 성질을 나타내는 것으로 알려져 있다.¹

3. 전기방사를 이용한 나노섬유의 제조

전기방사란 전기적인 힘을 이용하여 초극세 섬유를 제조하는 방법으로 제조방법은 1897년에 최초로 특허화되었고 1930년대에 섬유에 적용되었다.¹⁹ 이처럼 이미 오래 전에 전기방사를 통하여 나노섬유를 제조하였지만, 오랜 기간 동안 상업적으로 주목 받지 못한 이유는 아이러니컬하게도 섬유직경이 너무 가늘고 강도가 약해서 일반 의류용으로 사용하기가 곤란했기 때문이다. 이처럼 개발 당시에는 전기방사로 만든 나노섬유의 적당한 용도를 찾기가 어려워 기술의 개발이 미진하였다. 이후 약 반세기가 지난 1977년에서야 영국의 ICI에서 창상피복재용 매트(mat)의 제조방법으로 전기방사를 이용할 수 있다는 특허가 발표되었다. ICI에서는 여러 종류의 친수성 고분자와 소수성 고분자를 사용하여 전기방사를 수행하였으나, 전기방사에 영향을 미치는 여러 인자들에 대한 실험적 결과를 충분히 제시하지는 못하였고, 다만 전기방사의 상업적 용도를 처음으로 제시하였다는 것에 그 의의가 있다. 1990년대 중반에 와서는 미국의 에크론 대학교를 중심으로 활발한 연구가 이루어졌고, 모델링을 통한 전기방사의 메커니즘을 체계적으로 규명하려는 노력이 시도되었다. 현재에 와서는 미래의 과학을 이끌어갈 중요한 학문의 주류로 인정받고 국내에서도 여러 대학교 및 기업체에서 활발히 연구가 되고 있다.²⁰

전기방사를 통해 제조된 섬유는 매우 가는 직경을 가진 섬유로 단위 질량당 표면적이 매우 크고 유연하며 섬유 간 발생하는 미세공간이 많고 단위 면적당 존재

하는 섬유의 수가 많아서 타 소재와의 혼화가 가능하며 외부의 응력에 대한 분산이 큰 특징을 가지고 있다. 전기방사의 또 다른 장점은 하나의 공정으로 부직포 형태를 얻을 수 있는 공정의 간편성이다. 즉 방사와 동시에 부직포 형태로 생산이 가능하며 또한 방사에 걸리는 시간이 매우 짧다. 방사에 사용되는 장비도 일반적인 방사설비에 비해 매우 간단한 장점이 있다. 또한 적은 양의 고분자를 이용해서 방사가 가능하므로 신규 고분자의 성능 평가에 간편하게 이용될 수 있다. **그림 1**에 전기방사 장치의 개략도를 나타내었다. 전기방사는 고분자 용용체 또는 고분자 용액이 담겨져 있는 capillary tube와 collecting screen 사이에 고분자 표면에서의 표면장력보다 높은 전기장을 가하여 고분자 액적에 jet를 형성시키고 이렇게 분사된 jet은 집적판으로 방출되면서 나노섬유로 만드는 공정이다. 분사된 jet은 집적판에 모아지게 되고 그 과정에서 용매가 증발하거나 고화되어 섬유화하면서 부직포를 형성하게 된다. 전기방사를 이용하면 기공크기의 조절이 가능한 부피에 비해 상당히 큰 표면적을 갖는 섬유 집합체를 얻을 수 있다. 전기방사된 섬유는 직경이 일반적으로 수백 나노미터 수준이며 섬유들의 표면은 깨끗하고 매우 가볍고 촉감이 부드러운 특징이 있다. **그림 2**는 전기

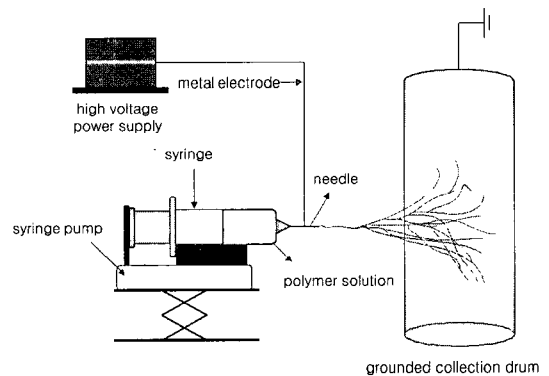


그림 1. Electrospinning equipment.



그림 2. SEM images of human hair and nanofiber.

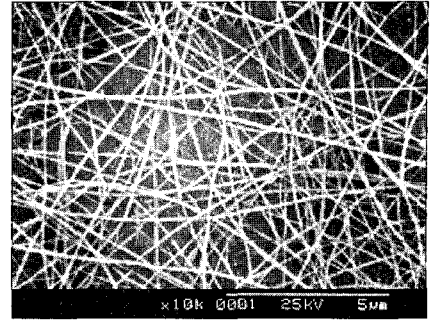
방사된 나노섬유와 인모를 비교한 것으로 인모는 약 50 μm 의 직경을 가지는 것에 비해 나노섬유는 수백분의 일 정도의 가는 섬유로 제조할 수 있다. 일반적으로 상업화되어 있는 섬유의 최소직경이 1 μm 정도인 것에 비해 전기방사를 활용하면 이보다 더욱 가는 섬유를 제조할 수 있다.²¹

전기방사 방법으로 제조된 나노섬유는 그 자체 특성으로도 많은 장점이 있어 생체 재료, 여과 분리 및 센서용 소재, 전도성 소재, 필터용 소재, 생화학 방어복 등의 다양한 분야에서 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 생체의학 분야에서는 조직공학용 스케폴드, 유착 방지용 막, 약물전달체, 창상피복재 등의 용도로 전기방사된 나노섬유를 활용하고자 하는 연구들이 많이 진행 중이다.²²

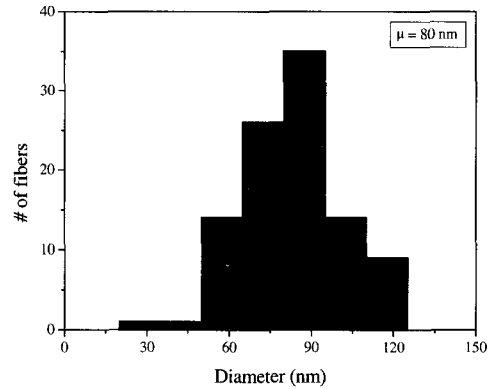
4. 실크 피브로인 나노섬유의 제조

실크 생사의 피브로인은 용매로는 염화칼슘, 브롬화리튬 등의 중성염을 과량으로 용해한 용액들이 알려져 있는데, 이들은 과량의 중성염을 투석을 통하여 제거해야 하는 단점이 있다. 반면 재생 실크 피브로인의 경우는 포름산, HFIP, HFA-hydrate 등의 용매에 쉽게 용해된다. 이들 유기용제에 용해된 재생 실크 피브로인 용액은 투명하며 안정하다. 실크 피브로인을 생명공학 분야로 응용하기 위해서는 필름, 분말, 겔, 재생섬유의 형태로 재생 실크 피브로인을 성형하게 되는데, 이 때 사용되는 실크 피브로인 수용액의 경우 용액 안정성이 낮아 응집현상이나 겔 등이 형성되는 단점이 있다. 그러나 유기용매에 용해하여 얻은 실크 피브로인 용액의 경우 고분자의 응집현상 없이 비교적 안정하다고 할 수 있다.²³ 따라서, 실크 피브로인을 특정 유기용매에 용해시켜 전기방사를 통해 실크 피브로인 나노섬유를 제조한다면, 앞서 언급한 실크 피브로인의 우수한 특성들에 높은 비표면적과 기공도를 가짐으로써 다양한 분야에 응용이 가능할 것으로 기대된다.

Kim 등은 *Bombyx mori* 재생 실크 피브로인을 포름산에 용해하여 전기방사하고, 실크 피브로인 나노섬유로 구성된 웹을 제조하였다. 포름산에 용해하여 전기방사된 섬유들의 직경을 측정된 결과, 직경분포는 30 nm에서 120 nm로 나타났으며 그 평균은 80 nm로 계산되었다(그림 3). 이것은 실크 생사의 피브로인 섬유의 직경(10~20 μm)에 비하여 약 200배 정도 가늘다. 실크 피브로인 분자 주쇄의 직경을 5 Å



(a)



(b)

그림 3. SEM image (a) and fiber diameter distribution (b) of electrospun SF nanofibers.

라고 한다면 20 nm의 직경을 갖는 섬유는 40개의 실크 피브로인 분자로 이루어진 것이라고 할 수 있다. 방사된 실크 피브로인 나노섬유 부직포의 기공 특성을 수은 기공도 분석을 통하여 측정된 결과, 방사 직후 실크 피브로인 나노섬유 시료의 기공도는 76.1%로 비교적 많은 기공이 분포되어 있는 것으로 나타났다.²³

Ayutsede 등은 Kim 등과 같은 방법으로 포름산을 사용하여 전기방사한 *Bombyx mori* 실크 피브로인 매트와 물성을 측정된 바 있는데, 그 결과가 그림 4에 나타나 있다. 실크 피브로인 섬유로 구성된 매트는 탄성률 515 MPa, 인장강도 7.25 MPa, 신도 3.5%로 비교적 우수한 물성을 가지고 있음을 입증하였다.²⁴

Ohgo 등은 *Bombyx mori* 재생 실크 피브로인을 HFA-hydrate (hexafluoroacetone · 3H₂O)에 용해하고 전기방사하여 100 nm에서 1000 nm의 다양한 직경 범위를 갖는 실크 피브로인 나노섬유를 제조하였다(그림 5, 6). 또한 이들은 용매로써 HFA(hexafluoroacetone)를 사용해도 일반적인 습식방사 공정으로는 섬유제조가 힘들었던 *Samia Cynthia ricini*

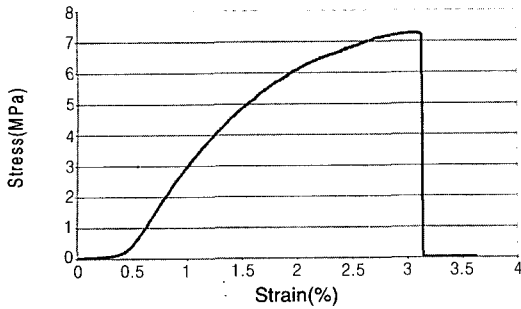


그림 4. Stress-strain curve of electrospun SF nanofibers mat.

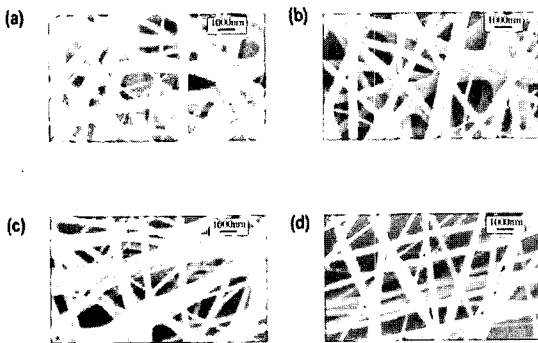


그림 5. SEM micrographs of non-woven silk nanofibers from (a) 7 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.3 kV/cm; (b) 5 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.6 kV/cm; (c) 5 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.0 kV/cm and (d) 3 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.0 kV/cm.

실크 피브로인을 전기방사를 통해 나노섬유를 제조하였다. *Samia Cynthia ricini* 실크 피브로인은 RGD peptide sequence가 비교적 많아 생체 재료로 유용한 *Antheraea pernyi* 실크와 그 구조가 유사하다고 알려져 있다. 그림 7에 전기방사된 *Samia Cynthia ricini* 실크 피브로인 섬유의 SEM 사진을 나타내었다.^{25,26}

Zarkoob 등은 재생 실크 피브로인이 아닌 천연의 실크를 용해하여 특별한 재생공정 없이 실크 나노섬유를 제조하였다. 먼저 *Nephila clavipes* dragline 실크를 HFIP(hexafluoro-2-propanol)에 용해하고 이 용액을 전기방사하여 나노섬유를 제조하였는데, 8~200 nm 직경범위를 갖는 것으로 나타났다. 또 많은 실크 연구자들이 사용하고 있는 *Bombyx mori* 실크를 생사 그대로 HFIP에 용해하여 전기방사 하였는데, 이 섬유는 전기방사된 섬유로 보고된 것 중, 가장 가는 6.5 nm의 직경을 가지고 있었으며, 대략적인 섬유 분포는 6.5~100 nm로 나타났다. 그러나 이 경우,

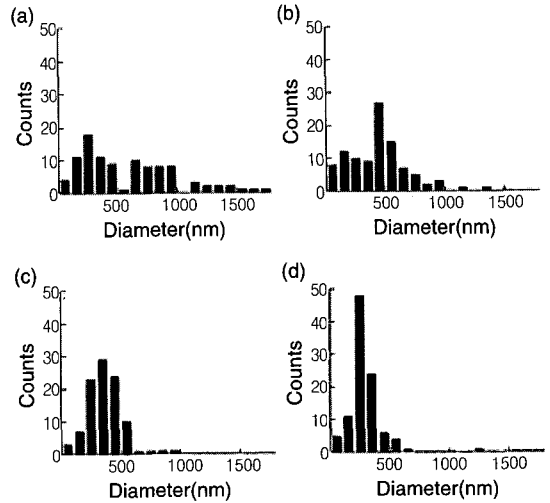


그림 6. Distributions of the diameters of non-woven silk nanofibers from (a) 7 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.3 kV/cm; (b) 5 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.6 kV/cm; (c) 5 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.0 kV/cm and (d) 3 wt% *B. mori*/HFA solution, 1.0 kV/cm.

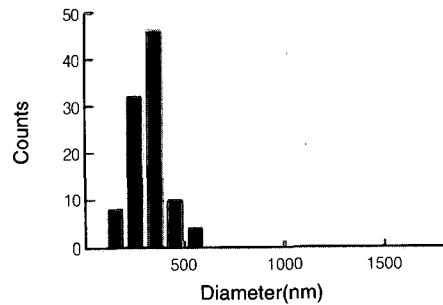
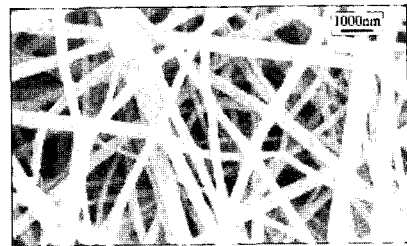


그림 7. SEM micrograph of non-woven silk nanofiber from 10 wt% *S. c. ricini*/HFA solution at 1 kV/cm and distribution of the diameter of the fiber.

Bombyx mori 실크 생사가 용매인 HFIP에 완전히 용해되는 데에만 약 5개월 정도가 소요되고 그 농도도 1% 이하로 매우 낮아 이 방법을 응용하기에는 한계가 있다. Zaekoob 등이 제조한 *Nephila clavipes* dragline과 *Bombyx mori* 실크 섬유의 SEM 사진 및 그 직경분포를 그림 8,9에 나타내었다.²⁷

Jin 등은 유기용매를 사용하지 않고 *Bombyx mori* 실크 피브로인 수용액을 PEO(poly(ethylene oxide))와 혼합하여 전기방사하였다. 정련과정을 거친 실크 피브로인을 LiBr에 용해하고 그 용액을 투석하면 실크 피브로인 수용액이 얻어진다. 여기서 실크 피브로인 수용액의 농도는 3.0~7.2% 정도로 농도에 비해 그 점도가 매우 낮아 실크 피브로인 수용액만을 방사하여 섬유를 형성하기 어렵다. 그러나 여기에 PEO 수

용액을 일정 비율로 첨가하면 실크 피브로인 수용액의 점도는 PEO 수용액의 첨가량에 따라 점점 증가하게 되고(그림 10), 이 실크 피브로인/PEO 용액을 전기방사하면 800±100 nm 정도의 평균 직경을 갖는 섬유들이 형성된다. 실크 피브로인/PEO의 혼합 비율(표 1)에 따른 전기방사된 실크 피브로인/PEO 블렌드 섬유의 SEM 사진을 그림 11에 나타내었다.²⁸

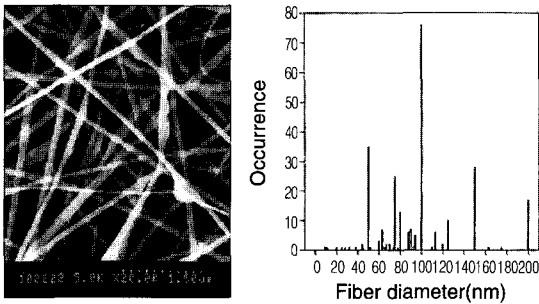


그림 8. LVHRSEM micrograph of fibers electrospun and size distribution of fibers electrospun from *N. clavipes* silk solution.

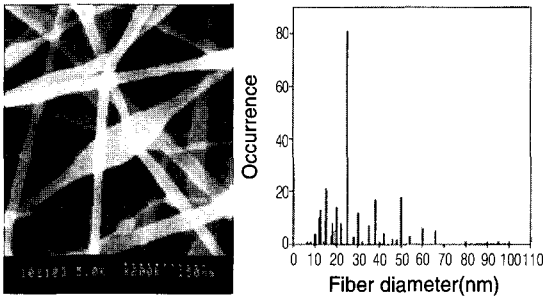


그림 9. LVHRSEM micrograph of fibers electrospun and size distribution of fibers electrospun from *B. mori* silk solution.

5. 실크 피브로인 나노섬유의 의학적 응용

실크 피브로인은 생체적합성 및 혈액적합성이 우수하고 산소 및 수분투과성, 생분해성 등의 특성을 가지고 있으므로 생체재료 분야에서 많이 연구되어 왔다. 그러나 이들은 주로 필름이나 스폰지, 젤과 같은 형태로 활용되어 성능이나 효능면에서 한계가 있었다. 최근 전기방사법을 이용하여 실크 피브로인 나노섬유의 제조가 가능하다는 것이 알려지면서, 생체재료 분야에서 실크 피브로인에 대한 관심이 다시 한번 높아지고 있다.

Min 등은 피부 각화세포와 섬유아세포를 배양하기 위해 전기방사를 이용하여 실크 피브로인 부직포를 제

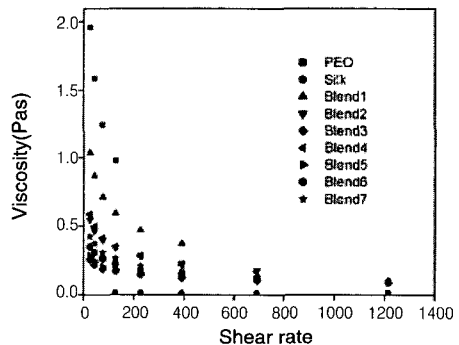


그림 10. Viscosities of silk/PEO blends in water.

표 1. Characteristics of Silk, PEO, Silk/PEO Blend Solutions, Spinning Conditions, and Fiber Features

	Initial conon of silk solutions (%)	PEO ratio to silk (PEO/silk)	Total conon (%)	Conductivity (μ S)	Applied field strength (kV/cm)	Av fiber diameter (nm) (\pm std dev)
Silk	7.2		7.2	240.0		
Blend 1	7.2	1/3	8.8 (1.6 ^a)	216.5	0.50	840 \pm 80
Blend 2	7.2	1/4	8.3 (1.1 ^a)	191.9	0.60	740 \pm 150
Blend 3	6.3	1/4	7.3 (1.0 ^a)	185.0	0.60	700 \pm 100
Blend 4	6.0	1/3	7.4 (1.4 ^a)	209.0	0.53	730 \pm 50
Blend 5	5.3	1/3	6.6 (1.3 ^a)	182.2	0.55	720 \pm 100
Blend 6	4.1	1/2	5.8 (1.7 ^a)	175.1	0.55	850 \pm 60
Blend 7	3.0	2/3	4.8 (1.8 ^a)	154.3	0.55	880 \pm 50
PEO			4.0	61.3	0.60	410 \pm 90

^a Weight percent of added PEO.

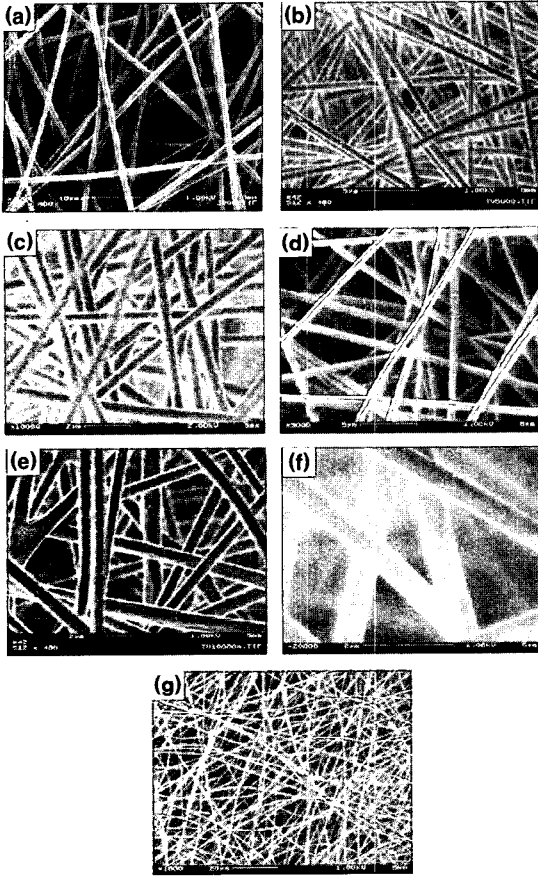


그림 11. SEM micrographs of electrospun fibers: (a) blend 1 (10 μm), (b) blend 2 (5 μm), (c) blend 3 (2 μm), (d) blend 4 (5 μm), (e) blend 5 (2 μm), (f) blend 6 (2 μm), and (g) blend 7 (20 μm). Numbers in parentheses are scale bars.

조하였다. 방사용매로는 포름산을 사용하였으며 방사된 *Bombyx mori* 재생 실크 피브로인 나노섬유를 50% 메탄올 수용액에 처리하여 세포배양 지지체로 사용하였다. 이들은 실크 피브로인 부직포에 세포외기질 단백질을 코팅하고 배양된 구강 각화세포(normal human oral keratinocytes, NHOK), 피부 각화세포(normal human epidermal keratinocyte, NHEK), 잇몸아세포(normal human gingival fibroblast, NHGF) 세포에 대한 초기 세포 점착 및 분화능을 연구하였는데, 초기 세포 점착과 분화는 실크 피브로인의 창상피복 재료와 조직공학용 세포배양 지지체로서의 가능성과 관계가 있다. **그림 12**에 보이듯이, PS 표면에는 NHOK, NHEK, NHGF 모두 상대적으로 낮은 세포 점착능을 보였으나, 세포외기질 단백질이 코팅되지 않은 실크 피브로인 단독으로도 Type I collagen을 제

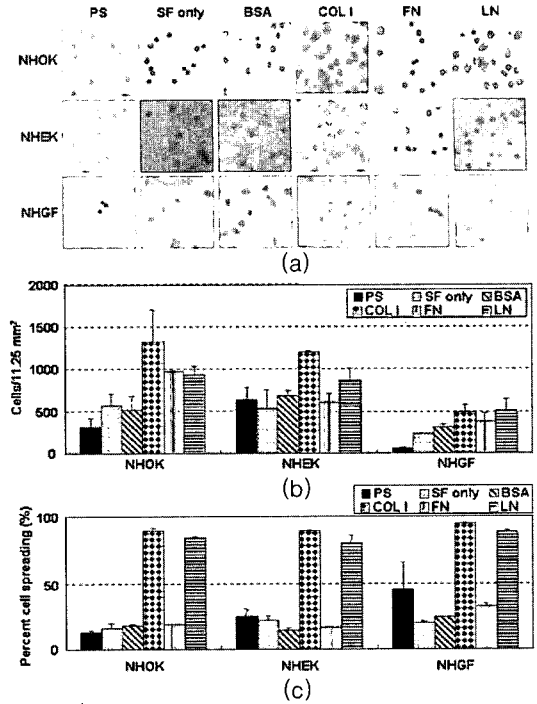


그림 12. Cell adhesion and spreading of normal human keratinocytes (NHOK and NHEK) and fibroblasts (NHGF) to methanol-treated SF nanofibers, alone or in conjunction with ECM proteins. (a) Examples of cell adhesion and spreading on type I collagen, fibronectin, or laminin in NHOK, NHEK, and NHGF. (b) Level of cell adhesion of cultured cells on ECM proteins. (c) Incidence of cultured cells spreading on ECM proteins. PS, polystyrene surface only; SF only, silk fibroin nanofibers only; BSA, bovine serum albumin-coated SF nanofibers; COL I, type I collagen-coated SF nanofibers; FN, fibronectin-coated SF nanofibers; LN, laminin-coated SF nanofibers.

외한 다른 세포의 기질 단백질과 초기 세포 점착능에서는 큰 차이가 없어서 실크 피브로인 나노섬유 단독으로도 세포점착에 좋은 성능을 발휘한다고 할 수 있다. 사용된 세포외기질 단백질은 그 종류에 따라 또는 세포의 종류에 따라 세포가 점착하는 정도가 모두 다른데, 이 경우 Type I collagen이 코팅된 것에서 각화세포들의 초기 점착이 높게 나타났으며, 분화능 또한 높았다. 이것은 integrin ligand 중의 하나인 Type I collagen이 전기방사된 실크 피브로인 나노섬유에 각화세포의 점착에 관하여 기능적인 활동을 한다는 것을 의미한다. **그림 13**은 60분간 메탄올 수용액 처리를 거친 실크 피브로인 나노섬유 부직포의 NHOK 세포 점착에 이은 세포 배양결과를 5,000배로 확대한 SEM 사진이다. 세포 점착 후 일주일까지 시간이 경과하였을 때 단독 견 피브로인 나노섬유에서 세포의 증식이 비교적 빠르고 잘 이루어진다고 할 수 있다. 이것은 세포

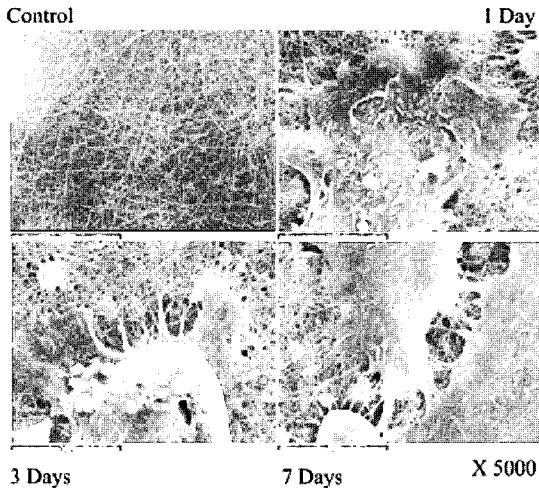


그림 13. SEM micrographs of the interaction between NHOK cells and a methanol-treated SF nanofibrous structure after 0 (control), 1, 3, or 7 days of culture. Bar, 1 mm.

표 2. Structural Characteristics of SF Matrices Used for Cell Test

Sample code	β -sheet content (%)	Matrix type	Average fiber diameter
SF-M	87.8	Woven (microfiber)	11 μ m
SF-F	76.5	Film	-
SF-N	74.2	Non-woven (nanofiber)	80 nm

의 점착과 증식분화를 효과적으로 유도해야 하는 생체 재료로서의 조건을 충족시키기에 충분하다고 보여진다.²⁹

또 Min 등은 세포배양체의 구조적 특성이 세포의 점착 및 분화에 미치는 영향을 알아보기 위해 형태가 다른 세 가지 실크 피브로인 지지체에 대한 세포배양 실험을 수행하였다. 세포실험에 사용된 실크 피브로인 매트릭스의 특성은 표 2와 같다. 그림 14와 15에서 알 수 있듯이, 실크 피브로인 마이크로 섬유로 구성된 매트릭스의 경우 실크 피브로인 필름과 실크 피브로인 나노섬유 매트릭스에 비해 훨씬 낮은 점착 및 성장 거동을 보였다. 앞에서 확인하였듯이 Type I collagen은 실크 피브로인 필름과 나노섬유에 NHOK 세포가 점착·증식 하는 것을 촉진하는 것으로 나타났다. 이것으로 볼 때, Type I collagen을 사용한 실크 피브로인의 세포점착에 대해서는 마이크로 섬유로 구성된 구조보다는 필름이나 나노섬유 구조가 더 좋은 구조를 가지고 있음을 알 수 있다. Type I collagen을 제외한다

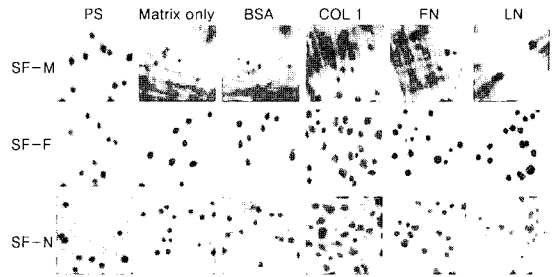


그림 14. Microphotographs of the cell adhesion and spreading of NHOK to SF matrices, alone or in conjunction with ECM proteins: PS, polystyrene surface only; matrix only, SF-M, SF-F, or SF-N matrix only; BSA, bovine serum albumin-coated SF matrices; Col I, type I collagen-coated SF matrices; FN, fibronectin-coated SF matrices; LN, laminin-coated SF matrices.

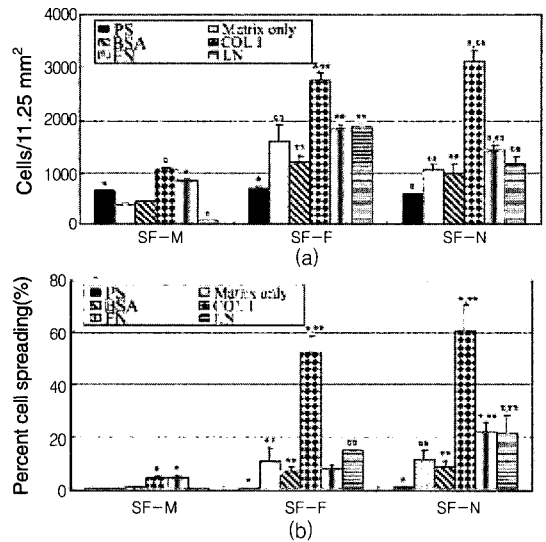


그림 15. The level of cell adhesion (a) and the incidence of cultured cells spreading (b) of NHOK to SF matrices, alone or in conjunction with ECM proteins: PS, polystyrene surface only; matrix only, SF-M, SF-F, or SF-N matrix only; BSA, bovine serum albumin-coated SF matrices; Col I, type I collagen-coated SF matrices; FN, fibronectin-coated SF matrices; LN, laminin-coated SF matrices. *Significantly different from the matrix only within the groups at $P < 0.01$. **Significantly different from the SF-M counterparts at $P < 0.01$.

른 세포외기질 단백질을 코팅한 매트릭스의 점착 거동을 살펴보면, 세포점착 면에서는 필름 구조가, 세포 성장 면에서는 나노섬유 구조가 좀 더 유리한 것으로 보이는데, 3차원적인 구조로 인한 높은 기공도와 비표면적을 고려한다면, 필름에 비해 훨씬 부드러운 나노섬유

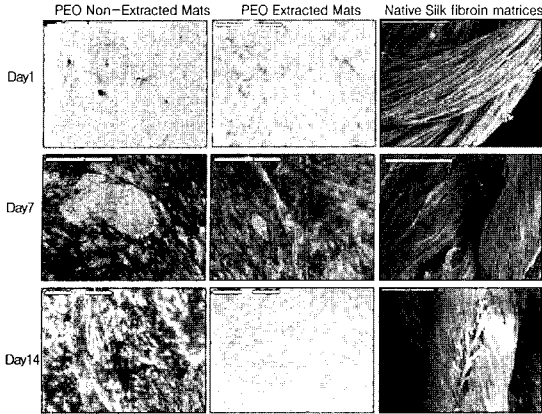


그림 16. SEM micrographs of BMSCs growing on electrospun mats and native silk fibroin matrices after 1, 7 and 14 days (scale bar: 500 mm).

가 조직공학용 스케폴드로서 더 적합하다고 보여진다.³⁰

Jin 등은 실크 피브로인/PEO 블렌드 나노섬유에 대한 골수 줄기세포의 세포점착 거동을 연구하였다. 이들은 실크 피브로인 수용액과 PEO 수용액을 4:1로 혼합하여 전기방사하고 700±50 nm의 섬유들로 구성된 지지체를 제조하였다. 이렇게 제조한 지지체에서 PEO 조성물을 제거한 것과 그렇지 않은 것에 각각 골수 줄기세포를 seeding하여 PEO의 조성이 세포거동에 미치는 영향을 알아보았다. **그림 16**에서 보이듯이, PEO 성분을 제거한 지지체는 seeding 후 1일째에 세포들이 성장하고 있는 모습을 보이지만, 대조적으로 PEO 성분을 제거하지 않은 지지체에서는 세포들이 거의 관찰되지 않았다. 하지만 이식한지 14일이 경과되면 양쪽 모두 세포들이 지지체 표면을 덮을 정도로 증식하였음을 볼 수 있다. 이렇게 PEO 성분의 제거 여부에 따라 차이가 관찰되는 것은, 세포 배양시의 조건인 37 °C의 배지에서 제거되지 않은 PEO 성분들이 용해되어 나와 초기 골수 줄기세포가 지지체에 점착되는 것을 방해하나, 시간이 경과하면서 용출되어 나오는 성분들이 줄어들어 이후에는 세포증식에 영향을 주지 않는 것으로 생각된다. **그림 17**은 배양된 골수 줄기세포의 세포 수와 MTT assay 결과이다.³¹

Kim 등은 전기방사된 실크 피브로인을 GBR 멤브레인(guided bone regeneration membrane)으로 활용하기 위해 다양한 생물학적 연구들을 수행하였다. 연구에 사용된 실크 피브로인 멤브레인은 *Bombyx mori* 재생 실크 피브로인을 포름산에 용해하고 전기방사하여 멤브레인을 구성하는 섬유의 직경이 150~300 nm가 되도록 제조하였다. 이들은 먼저 실크 피

브로인 멤브레인의 세포친화성을 알아보았는데, Pre-osteoblast인 쥐의 MC3T3-E1 세포에 대한 세포증식 시험 결과를 **그림 18**에 나타내었다. 그림에서 알 수 있듯이, 실크 피브로인 멤브레인에 MC3T3-E1 세포

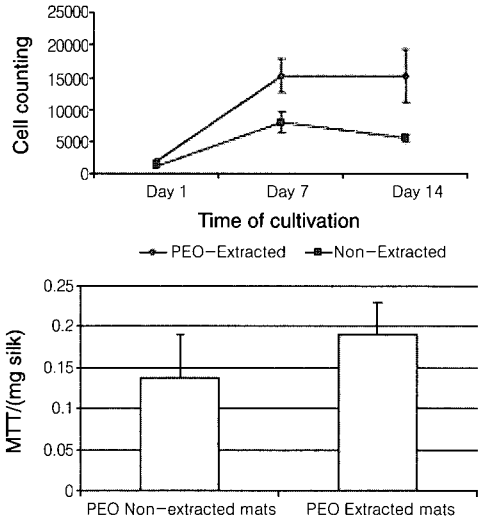


그림 17. Proliferation of BMSCs seeded on electrospun mats (seeding density: 2.5 E4 cells/cm², N=4) and MTT results with seeding conditions: 25000/cm², 20% serum after 14 days.

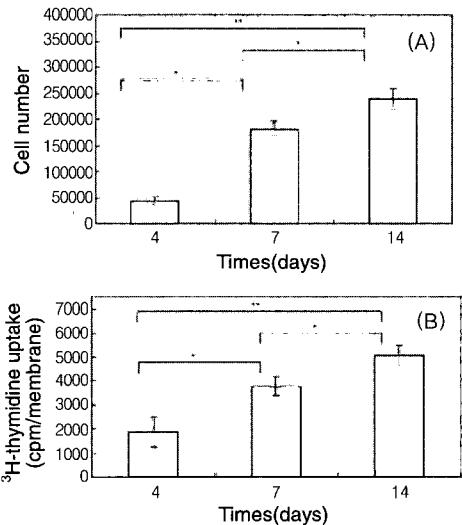


그림 18. The proliferation of cells grown on the SF nanofiber membranes after different culture periods (n=3; *P < 0.05 and **P < 0.01). The data are presented as the mean±S.D. (A) MTT absorbency at 540 nm of cells on SF nanofibrous membranes were measured and viable cell numbers determined from standard curve and (B) 3H-thymidine uptake per membrane.

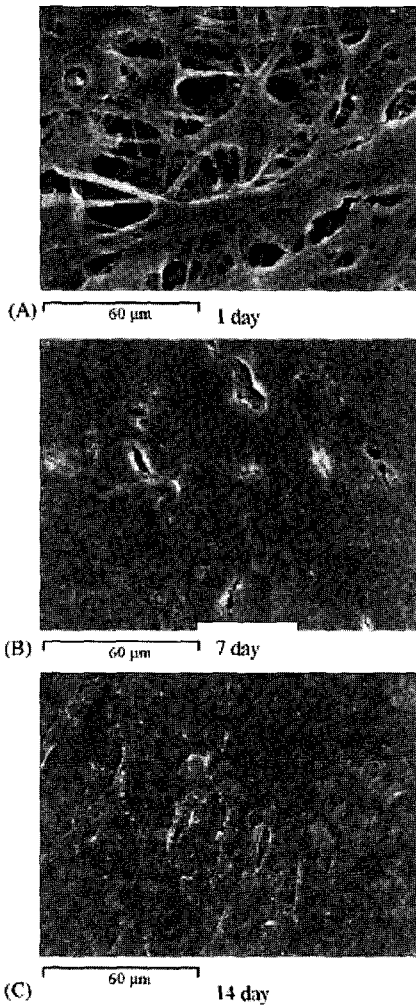


그림 19. SEM micrographs of cells grown on the SF nanofibrous membranes. Original magnification:1000×.

를 이식한 후 배양기간이 길어짐에 따라 멤브레인에 부착된 세포수가 증가하였고, 이러한 경향은 SEM 사진에서도 배양기간이 경과함에 따라 실크 피브로인 멤브레인 표면에 부착된 세포가 많음을 확인할 수 있다(그림 19). 또 실크 피브로인 멤브레인에서 성장한 MC3T3-E1 세포에 의해 만들어지는 Osteoclastin(골 형성 생화학적 표시인자) 양을 측정 한 결과, Osteoclastin 측정치가 배양 1일, 7일째에는 낮다가 배양 7일에서 14일 사이에 급격히 증가함을 알 수 있다(그림 20). 이러한 결과를 토대로 동물 실험에서는 실크 피브로인의 상처 치유 및 뼈 형성에 대한 좋은 결과를 얻었다. 웅성가토(bew zealand white rabbit)의 측두골에 2개의 원형 결손부를 형성하고 실험군에는 실크

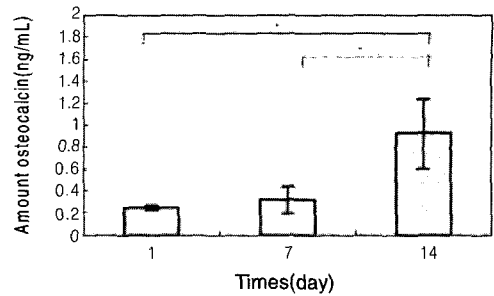


그림 20. The osteocalcin levels in the culture medium for MC3T3-E1 cells grown on SF nanofiber membranes for 1, 4, and 14 day culture periods. Values represent the mean \pm S.D. of three samples (*P < 0.05).

피브로인 멤브레인을 이식하고 대조군에는 멤브레인을 이식하지 않은 채 봉합하여 이식 후 4주, 8주, 12주에 가토를 희생시킨 후 조직학적 관찰을 하였다(그림 21). 관찰기간 동안 모든 조직에서 염증반응이 관찰되지 않았으며, 모든 수술부위는 감염 없이 잘 치유가 되어 우수한 상처 치유 효과를 나타냈다. 수술 4주 및 8주 후의 조직소견에서 차폐막이 이식되지 않은 대조군의 골 결손부는 섬유성 결합조직으로 치유되고 있었으며, 결손부의 말단으로부터 일부의 신생골이 자라나고 있었다(그림 21A, 21C). 12주 후의 소견에서는 8주에 비해 골 결손부에 형성된 신생골의 양이 증가된 것이 관찰되었으나, 완전하게 결손부를 채우지는 못하고 있었다(그림 21E). 그러나 멤브레인이 이식된 실험군에서는 4주에 차폐막 하부의 골 결손부의 대부분에서 신생골의 형성이 관찰되었으며(그림 21B), 8주에는 골 가교 형성이 차폐막 하부의 골결손부 중간 중간에서 관찰되고 있었다(그림 21D). 이식 후 12주의 조직소견에서는 차폐막 하부의 골결손부가 신생골로 채워지면서 치유가 거의 완전하게 이루어진 것을 볼 수 있었다(그림 21F). 이러한 동물실험을 통하여 실크 피브로인을 주원료로 하는 나노섬유 멤브레인이 나노기술을 이용한 차세대 생분해성 차폐막으로 우수한 골 형성 능력을 나타냄을 증명하였다.³²

6. 맺음말

전기방사를 통해 나노섬유를 제조하는 기술은 최근에 나노섬유에 대한 관심과 수요가 높아감에 따라 새롭게 부각되고 있다. 특히, 의료용으로 많은 연구가 이루어지고 있는데, 이는 섬유화하기 어려운 고분자들을

참고문헌

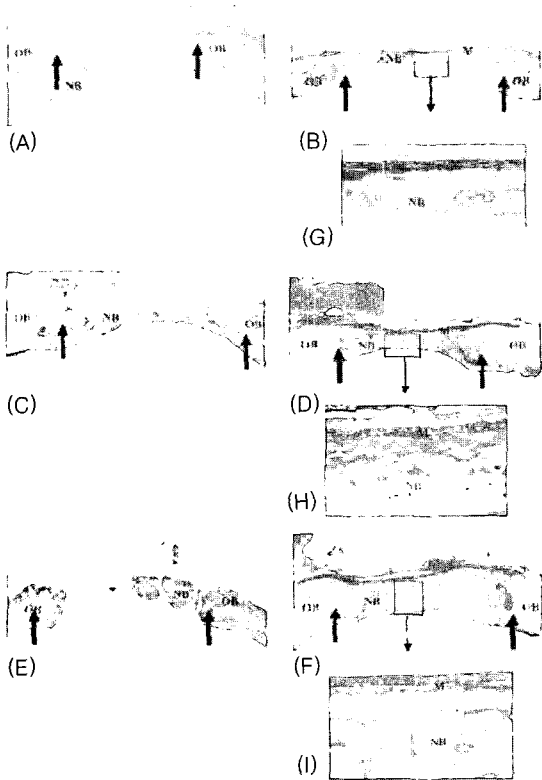


그림 21. Histologic observation of the SF nanofiber membrane in rabbit calvarial defects: (A) photograph of control group at 4 weeks (20x); (B) photograph of SF nanofiber membrane implanted group at 4 weeks (20x); (C) photograph of control group at 8 weeks (20x); (D) photograph of SF nanofiber membrane implanted group at 8 weeks (20x); (E) photograph of control group at 12 weeks (20x); (F) photograph of SF nanofiber membrane implanted group at 12 weeks (20x); (G) higher magnification of selected site of (B) (100x); (H) higher magnification of selected site of (D) (100x); and (I) higher magnification of selected site of (F) (100x). M: the SF nanofiber membrane; NB: new bone; OB: old bone; Arrow: wound edge. The samples were stained with multiple stain solution.

비교적 간단한 공정을 통해 섬유상으로 제조할 수 있다는 전기방사의 장점 때문이다. 그 외에도 나노섬유로 제조시의 넓은 표면적과 섬유사이에 존재하는 미세기공의 존재는 약물의 부착 및 세포배양에 적용될 경우 다양한 활용 가능성을 가지고 있다. 이러한 나노섬유 제조기술이 우수한 생체적합성을 가지고 있는 실크 피브로인과 접목되어 의료용 분야에 적용된다면 높은 부가가치화가 가능하므로 보다 많은 관심과 집중적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

1. W. H. Park, *Korean J. Seric. Sci.*, **40**, 203 (1998).
2. H. K. Choi and J. H. Hahm, *Korean J. Seric. Sci.*, **37**, 142 (1995).
3. S. M. Jo, W. S. Lee, and S. W. Chun, *Fiber Tech. Ind.*, **6**, 61 (2002).
4. S. B. Warner, A. Buer, M. Grimler, G. C. Rutledge, and M. Y. Shin, *National Textile Center Annual Report*, M98-D01 (1999).
5. J. Doshi and D. H. Reneker, *J. Electrostat.*, **35**, 151 (1995).
6. A. F. Spivak, Y. A. Dzenis, and D. H. Reneker, *Mech. Res. Commun.*, **27**, 37 (2000).
7. J. S. Kim, *Appl. Chem.*, **2**, (1998).
8. C. J. Buchko, L. C. Chen, Y. Shen, and D. C. Martin, *Polymer*, **40**, 7397 (1999).
9. L. Huang, R. A. McMillan, R. P. Apkarian, B. Pourdeyhimi, V. P. Conticello, and E. L. Chaikof, *Macromolecules*, **33**, 2989 (2000).
10. J. Y. Lu, K. A. Runnels, and C. Norman, *Inorg. Chem.*, **40**, 4516 (2001).
11. Z. Chen, M. D. Foster, W. Zhou, H. Fong, and D. H. Reneker, *Macromolecules*, **34**, 6156 (2001).
12. R. A. Caruso, J. H. Schattka, and A. Greiner, *Adv. Mater.*, **13**, 1577 (2001).
13. W. J. Li, C. T. Laurencin, E. J. Caterson, R. S. Tuan, and F. K. Ko, *J. Biomed. Mater. Res.*, **60**, 613 (2002).
14. K. Sugiyama, Y. Kushima, and K. Muramatsu, *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3455 (1984).
15. M. Demura and T. Asakura, *Biotech. Bioeng.*, **33**, 598 (1989).
16. M. Li, W. Tao, S. Lua, and S. Kuga, *Int. J. Biol. Macromol.*, **32**, 159 (2003).
17. N. Minoura, S. Aiba, Y. Gotoh, M. Tsukada, and Y. Imai, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **29**, 1215 (1995).
18. N. Minoura, S. Aiba, M. Higuchi, Y. Gotoh, M. Tsukada, and Y. Imai, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **208**, 511 (1995).
19. A. Formhals, US Patent 1,975,504 (1934).
20. G. E. Martin, I. D. Cockshott, and J. T. Fields, US Patent 4,044,404 (1977).
21. J. M. Deitzel, J. D. Kleinmeyer, J. K. Hirvonen, and N. C. Beck Tan, *Polymer*, **42**, 261 (2001).
22. Y. S. Nam, W. K. Son, and W. H. Park, *Polym. Sci. Tech.*, **14**, 274 (2003).

23. S. H. Kim, Y. S. Nam, T. S. Lee, and W. H. Park, *Polym. J.*, **35**, 185 (2003).
24. J. Ayutsede, M. Gandhi, S. Sukigara, M. Micklus, H. E. Chen, and F. Ko, *Polymer*, **46**, 1625 (2005)
25. K. Ohgo, C. Zhao, M. Kobayashi, and T. Asakura, *Polymer*, **44**, 841 (2003).
26. Y. Nakazawa and T. Asakura, *FEBS Lett.*, **529**, 188 (2002).
27. S. Zarkoob, R. K. Eby, D. H. Reneker, S. D. Hudson, D. Ertley, and W. W. Adams, *Polymer*, **45**, 3973 (2004).
28. H. J. Jin, S. V. Fridikh, G. C. Rutledge, and D. L. Kaplan, *Biomacromolecules*, **3**, 1233 (2002).
29. B. M. Min, G. Lee, S. H. Kim, Y. S. Nam, T. S. Lee, and W. H. Park, *Biomaterials*, **25**, 1289 (2004).
30. B. M. Min, L. Jeong, Y. S. Nam, J. M. Kim, J. Y. Kim, and W. H. Park, *Int. J. Biol. Macromol.*, **34**, 223 (2004).
31. H. J. Jin, J. Chen, V. Karageorgiou, G. H. Altman, and D. L. Kaplan, *Biomaterials*, **25**, 1089 (2004)
32. K. H. Kim, L. Jeong, H. N. Park, S. Y. Shin, W. H. Park, S. C. Lee, T. I. Kim, Y. J. Park, Y. J. Seol, Y. M. Lee, Y. Ku, I. C. Rhyu, S. B. Han, and C. P. Chung, *J. Biotech.*, in press (2005).