

나노섬유 방사노즐 설계를 위한 거미 실크 방적장치의 생체모사 분석

문명진*, 김 훈, 박종구
단국대학교 생명과학과

Biomimetic Analysis on the Spider Silk Apparatus for Designing the Nanofiber-spinning Nozzle

Myung-Jin Moon*, Hoon Kim, Jong-Gu Park

Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea
(Received May 18, 2012; Revised June 23, 2012; Accepted June 25, 2012)

ABSTRACT

The biomimetic approach on the cuticular spinning nozzles of the major ampullate silk glands in the golden-web spider *Nephila calvata* has been attempted using various visualizing techniques of light and electron microscopes to improve the design of spinning nozzle for producing synthetic nanofibers spun from electrospinning apparatus. The major ampullate spigot which has the most effective nozzle system to produce nanofibers for dragline silk with high strength and elasticity is connected via the bullet type spigot on anterior spinneret with flexible terminal segment. The excretory duct which transports the liquid silk feedstock from ampulla to spigot is divided into 3 limbs by loops back on itself to form an S-shape morphology that is bundled in connective tissue. Final diameter of the nanofibers at nozzle was dramatically reduced by gradual narrowing of duct cuticle less than 10 times comparing to its original size of funnel region. Moreover, the funnel has a characteristic cuticular organization with porous microstructure which seems to be related to water removal from feedstock of silk precursors. High magnification electron micrographs also reveal the presence of the spiral grooves on the surface of the cuticular intima near the valve which presumed to reduce friction during rapid flow of liquid silk.

Keywords : Biomimetics, Dragline silk, Nanofiber, Nozzle, Spigot

서 론

나노 섬유(nanofiber)란 일반적으로 직경이 20 nm~1 μm 정도인 섬유로 정의되며, 통상적으로 낮은 점도 상태의 폴리머를 순간적으로 섬유형태로 방사하는 전기방사법(electrospinning)을 이용하여 제조된다(Reneker & Chun, 1996; Deitzel

et al., 2002; Li & Xia, 2004). 전기방사의 이론적 기반은 1882년 Raleigh가 액체의 낙하시 정전기력이 표면장력을 극복할 수 있다는 계산으로부터 발전되어 왔으며, 1934년 독일의 엔지니어인 Formhals에 의해 최초로 특허 출원되었다(Lee et al., 2008). 나노 섬유의 가장 큰 장점은 극세 크기의 직경을 갖기 때문에 기존 섬유에 비해 큰 표면적을 갖는다는 점이며, 이러한 특징으로 인해 필터용 소재로서 적합성을 인정

이 논문은 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-313-2008-2-C00671).

* Correspondence should be addressed to Myung-Jin Moon, Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea. Ph.: (041) 550-3445, Fax: (041) 550-3409, E-mail: moonmj@dankook.ac.kr

받고 있으며, 항균성 소재나 방호복 소재, 그리고 생체이식 물질 제조 등의 의학생물분야에서도 많은 수요를 창출하고 있다(Yashimoto et al., 2003; Yarin & Zussman, 2004; Yoon et al., 2009).

그러나 전기방사법을 통해 생산되는 나노 섬유는 제조 공법상 섬유의 형성이 불규칙적으로 이루어지기 때문에 정밀한 통제가 어렵다는 단점을 지니고 있다. 이러한 문제를 극복하기 위하여 회전 집속판의 끝을 날카롭게 만들어 전기장을 한쪽으로 모으는 방법과 간극 집속판을 사용하여 공정 중에 나노 섬유를 일정방향으로 배열하는 방법이 병행되고 있으며, 결과적으로는 일렬로 배열된 섬유의 생산이 가능하게 되었다(Lee et al., 2008). 하지만 전기방사를 통해 얻어지는 나노섬유는 근본적으로 고분자 자체의 분자 배향을 통해 섬유의 강도를 향상시키기가 어렵기 때문에 물리적인 특성이 낮다는 단점을 가지고 있다(Yoon et al., 2009).

한편, 자연계에서 생명체를 통해 생합성되는 거미의 실크는 단백질을 주성분으로 하는 고분자물질로서 장력(tensile strength)이 600,000 psi에 달하고, 탄성(elasticity)이 200%나 되는 나노 섬유소재로서 섬유의 단위강도(unit strength)가 강철이나 인간이 개발한 어떤 종류의 섬유보다도 우수한 것으로 알려지고 있다(Gosline et al., 1984; Stauffer et al., 1994; Kaplan, 1998). 뿐만 아니라 탄력성과 복원력, 그리고 산(acid)이나 알칼리에 대한 뛰어난 화학적 내성 등으로 인해 신소재의 개발과 관련된 생물공학에서 가장 주목받을 수 있는 요소를 모두 갖추고 있는 것으로 평가된다(Jin & Kaplan, 2003; Omenetto & Kaplan, 2010). 이는 본질적으로 거미의 실크가 알이나 먹이를 매달아 놓는 정적인 용도로 개발된 소재가 아니라, 공기 중을 엄청난 속도로 날아다니는 곤충이라는 미사일 탄두를 포획하기 위해 개발되고 진화된 나노섬유(Kaplan, 1998; Vollrath & Knight, 2001)라는 점을 인식하면 보다 이해가 빠를 것이다.

거미의 실크는 몇 가지 점에서 매우 특이한 성질을 가지고 있음이 확인된다. 가장 현저한 특징은 누에나방을 위시한 대부분의 곤충류가 단 한 가지 종류만의 실크를 만들어 내는 데 비해, 거미는 기능에 따라 섬유의 분자적 조성이 다른 여러 종류의 실크를 생성한다는 점이다(Foelix, 2011). 특히 대형의 둥근그물(orb-web)을 치는 왕거미과의 거미들은 7가지 이상의 서로 다른 종류의 실크를 생성하며, 각각의 용도도 구분되어 사용되고 있음이 잘 알려져 있다(Tillinghast & Townley, 1987; Moon, 1998). 특히 먹이를 잡기 위해 만드는 거미줄에서 기본 골격이 되는 dragline 실크는 병상선(ampullate gland)으로부터 생성되는데(Wilson, 1962a, b), 그 물리적인 강도는 Kevlar 섬유와 거의 동일하지만, 탄력성이 7배나 크고, 섬유를 파열시키는 데 필요한 에너지는 10배나 되는 것으로 보고되고 있다(Gosline et al., 1984; Stauffer et al., 1994; Kaplan, 1998).

또한, 거미 실크의 중요한 특성은 주된 구성성분이 단백질이고, 이들은 실온에서 수용성 액체를 매질로 하는 저온 중합반응(low temperature polymerization)으로 생성된다는 점이다(Vollrath & Knight, 2001; Jin & Kaplan, 2003). 현재 섬유산업에서 생산되는 인공 합성섬유들이 강력한 유기용매를 매질로 고압에서 노즐을 통해 분사되는 방식으로 풀리며 합성과정을 거친다는 점(Deitzel et al., 2002; Juang et al., 2003; Yarin & Zussman, 2004)을 감안하면, 거미의 실크 합성방식은 놀랍도록 환경친화적인 방식이라는 점이다. 최근, 자연으로부터 얻은 영감(nature inspiration)을 이용하여 자연을 모방(bio-mimicry) 하여 인간 생활에 유용한 발명품을 개발하려는 시도(Biomimetic research)가 긍정적인 결실을 얻고 있다(Vincent et al., 2006; Eadie & Ghosh, 2011). 따라서 본 연구는 고강성, 고탄성 나노 섬유 생산이 가능한 효율적인 방식노즐을 설계하고 전기방사장치의 노즐구조를 개선하기 위한 자연모사 연구의 일환으로, 거미의 실크 분비관과 토사관, 방적장치 등에 대한 초미세구조 분석을 시도하였다.

재료 및 방법

충청남도 천안시 안서동 소재 단국대학교 천안캠퍼스 주변에서 채집한 무당거미(*Nephila clavata* L. Koch) 성체를 실험실로 옮겨 양면이 유리로 된 40×40×10cm 크기의 목재 사육조에 옮기고 안정화시킨 다음, 매일 물과 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 유충을 먹이로 공급하며 실온에서 사육하였다. 조직관찰을 위한 시료제작을 위해 공시재료를 이산화탄소로 마취하여 희생시킨 후, 해부현미경 하에서 해부용 가위를 사용하여 복부마디를 분리하였다. 이때, 해부시 체액의 상태를 유지하기 위하여 거미 생리식염 용액(spider Ringer's solution: 160 mM NaCl, 7.5 mM KCl, 4 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 4 mM NaHCO₃, 20 mM glucose, pH 7.4)(Groome et al., 1991)을 사용하였다.

적출한 재료를 10% 중성 완충 포르말린 용액에 고정한 후, 흐르는 물로 수세하고, ethanol 농도 상승순으로 탈수하였으며 xylene으로 치환 후 Paraplast Plus medium (Polysciences Co., USA)에 포매하였다. 포매가 끝난 시료는 RM-2135 조직절편제작기(Leica, Germany)로 5 μm 두께의 절편을 만들어 슬라이드에 부착시킨 후, xylene 용액을 사용하여 조직에 침투한 파라핀을 제거하였다. 이어서 ethanol 농도하강순으로(100%, 95%, 90%, 80%, 70%) 친수화 처리시킨 후, hematoxylin-eosin (H-E) 용액으로 이중 염색하여, Nikon 80i 광학복합현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하고 디지털 파일의 형태로 화상을 저장하였다. 또한 관찰 시료에 대한 정밀한 계측과 구조 해석을 위하여 Motic Image Analysis Program (Motic Instruments Inc., Canada)을 이용한 다각적인 화상분

석도 병행 실시하였다.

투과전자현미경용 시료는 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (pH 7.2, 0.1 M phosphate buffer) 혼합용액에서 전고정 (pre-fixation)하고, 완충용액 (pH 7.2, 0.1 M phosphate buffer)으로 수세한 후, 1% OsO₄ (0.1 M phosphate buffer) 용액으로 약 2시간 후고정 (post-fixation)하였다. 이를 다시 동일 완충용액으로 3회 수세한 후, 농도 상승 순의 ethanol 용액으로 탈수하였으며, propylene oxide로 치환한 후 EM Poly/Bed 812-Araldite (Polysciences Co., USA) 혼합용액으로 포매하여 60°C의 진공 건조 오븐에서 중합하였다.

포매가 완료된 시료는 LKB ultramicrotome (LKB, Sweden)으로 0.5 µm 두께의 준초박절편 (semithin section)을 제작하여 1% borax에 녹인 1% toluidine blue 용액으로 hot plate (60°C) 상에서 염색하고 증류수로 수세하여 광학현미경으로 관찰 부위를 확인하였다. 이어서 초박절편 (ultrathin section)을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEM 100CX-II형 투과전자현미경 (JEOL Co., Japan)으로 80 kV의 가속전압에서 관찰하고 그 영상을 기록하였다.

주사전자현미경 관찰을 위한 시료는 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 완충시킨 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde 혼합용액을 제조하여 전고정 (prefixation) 처리한 후, 동일 완충용액으로 3회 수세하였다. 수세가 끝난 시료는 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 완충시킨 1% osmium tetroxide 용액으로 후고정 (postfixation)한 후, 동일 완충용액을 사용하여 충분히 세척하였다. 고정이 끝난 시료는 ethanol 농도 상승 순 (30%, 50%, 70%, 90%, 95%, 100%)으로 처리하여 탈수하였다.

탈수가 끝난 시료는 hexamethyldisilazane (HMDS) 용액으로 처리하고, 실온에서 건조 처리하였으며, 일부의 시료는 탈수 처리 후 isoamyl acetate에 처리한 후 임계점 건조기 (critical point dryer)를 사용하였으며, 날카로운 면도날을 사용하여 동결 파쇄 처리하였다. 준비된 시료는 stub에 부착하고 sputter coater E-1030 (Hitachi Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 약 15 nm 두께로 백금 도금한 후 Hitachi S-4300 (Hitachi Co., Tokyo, Japan) 주사형 전자현미경 (FESEM)으로 5~15 kV의 가속전압에서 관찰하였다. 관찰된 시료에 대한 화상 (image)은 디지털 파일의 형태로 컴퓨터에 저장한 후, 미세구조 분석 작업에 사용하였다.

결 과

1. 방적돌기 (spinneret)와 토사관 (spinning tube)의 체제

본 실험에 사용한 무당거미 견사선은 대병상선 (major ampullate gland), 소병상선 (minor ampullate gland), 광상선

(tubuliform gland), 수상선 (aggregate gland), 편상선 (flagelliform gland), 이상선 (pyriform gland), 포도상선 (aciniform gland) 등 7종류로 이루어져 있었다. 한 쌍의 대병상선은 각각 분비관 (duct)과 분비낭 (sac) 그리고 말단분비부 (tail)로 이루어져 있었고 분비낭의 내부에는 황금색의 실크 전구물질이 함유되어 있었다. 분비관은 두 부분에서 굴곡되어 세 겹으로 겹쳐진 상태에서 얇은 결합조직에 의해 둘러싸여 있었으며, 굴곡부를 기준으로 근위부로부터 말단의 원위부까지 세 부분 (limb)으로 구분되었다 (Fig. 1A).

견사선 내에 액체상태로 저장된 실크 전구물질은 복부 미측단에 돌출된 세 쌍의 방적돌기 (spinneret) 표면에 돌출된 토사관 (spinning tube)을 거치면서 고체상태의 실로 변형된다 (Fig. 1B). 방적돌기를 투명화시켜 광학현미경으로 관찰한 이미지 분석결과 대병상선의 분비관이 전방적돌기의 토사관과 연결된 구조 (Fig. 1C) 및 소병상선 및 포도상선의 분비관과 연결된 중방적돌기의 토사관들이 명확히 관찰되었다 (Fig. 1D).

분비낭과 분비관이 연결되는 부위에서는 깔때기 구조를 가진 특징적인 펀넬 (funnel) 부위가 나타나는데 (Fig. 1E), 투명화시킨 시료를 통해 관찰한 결과, 비후된 과립상의 큐티클층에 의해 표면이 피복된 구조가 확인되었다 (Fig. 1F). 분비관의 내부에서는 토사관을 향해 이동중인 실크 전구물질이 관찰되는데 구형 과립상의 물질과 기질물질과 혼합된 형태를 하고 있었으며 (Fig. 1G), 투명화된 시료에서는 다수의 액포도 함께 관찰되었다 (Fig. 1H).

2. 대병상선의 토사관 (spinning tube)과 노즐 (nozzle)의 미세구조

무당거미의 대병상선의 토사관은 전방적돌기 (anterior spinneret)를 통해 연결되어 있었다 (Fig. 2A). 두 마디로 이루어진 전방적돌기의 표면에는 많은 털이 나와 있었고 말단마디에 형성된 방적면에는 대병상선이 연결된 대형 토사관 (spigot)과 이상선이 연결된 소형 토사관 (spool)들이 분포되어 있었다 (Fig. 2B). 이상선의 토사관은 대병상선의 토사관을 중심으로 배열되어 있었으며, 방적돌기의 외측에 위치한 토사관들의 말단마디가 내측의 것에 비해 신장된 특징을 지니고 있었다 (Fig. 2C). 반면, 대병상선의 토사관은 기저마디가 굵고 말단마디에 많은 횡주름이 있었고, 두 마디의 연결부에서는 신축력 있는 막상구조가 형성되어 있었으며, 실이 뽑혀져 나오는 개구부는 말단마디의 첨단부에서 관찰되었다 (Fig. 2D).

대병상선의 실크분비부의 노즐 (nozzle) 구조를 확인하기 위하여 방적돌기의 표면부의 일부를 파쇄하여 제작한 시료에서 토사관과 연결된 분비관의 말단부는 매우 비후된 구조를 형성하고 있음이 관찰되었다 (Fig. 2E). 활단된 분비관의 단면에서는 수송된 실크 전구물질이 고체상의 실크로 변

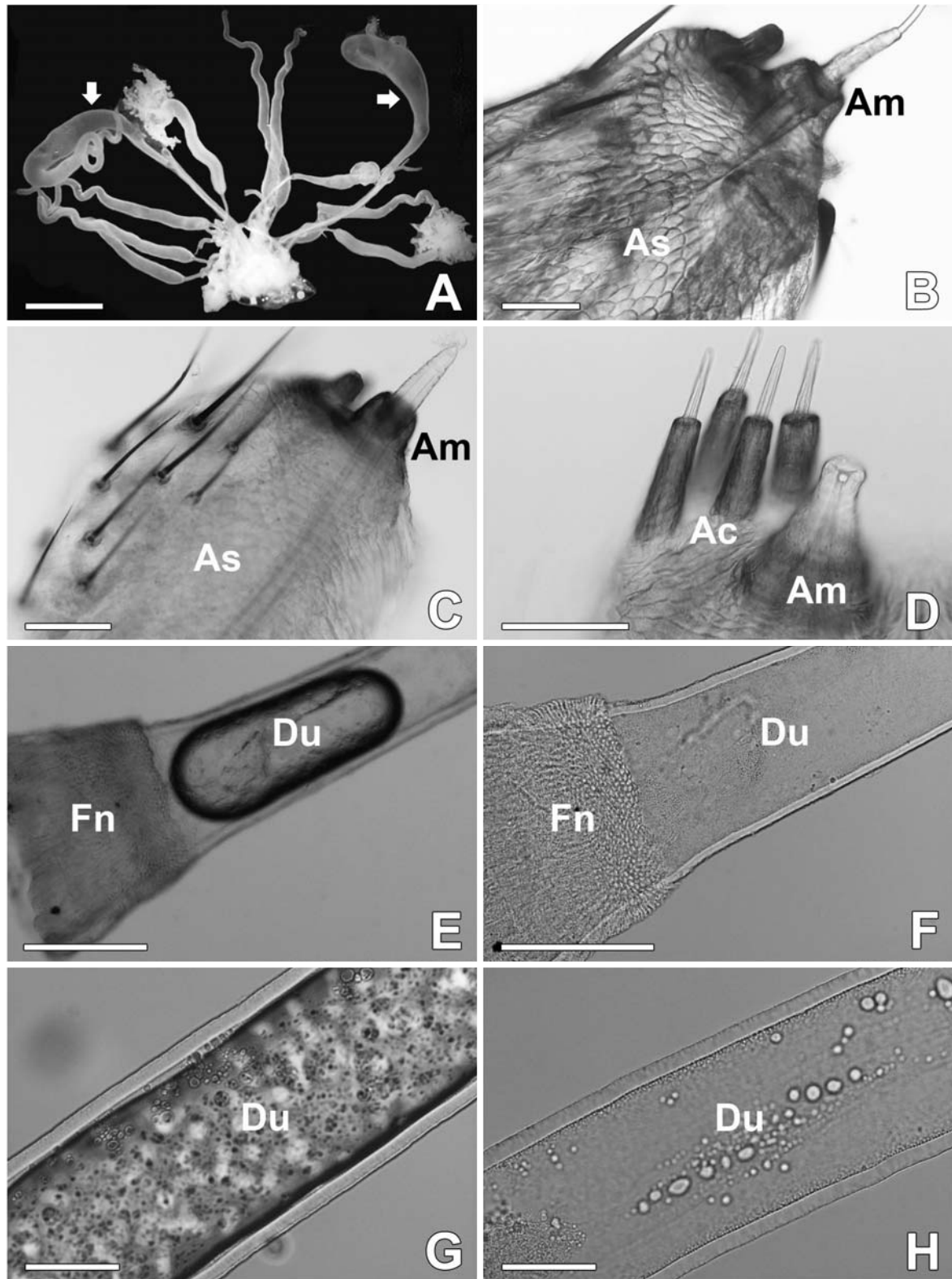


Fig. 1. Photo micrographs of the major ampullate gland in *N. clavata*. A: The major ampullate glands (arrows) are composed of duct, ampulla and tail. B, C: Anterior spinneret (As) has the spigots of the major ampullate gland (Am) and pyriform glands. D: Middle spinneret has the spigots of minor ampullate gland and aciniform glands (Ac). E, F: At the junctional region between ampulla and duct (Du), specialized cuticular structure, known as the funnel (Fn) can be seen. G, H: The duct of the major ampullate gland is made up of thick cuticular material, and liquid silk precursors are transferred from ampulla to spinning tube. Scale bars indicate 500 μm (A), 100 μm (B ~ F), and 50 μm (G, H), respectively.

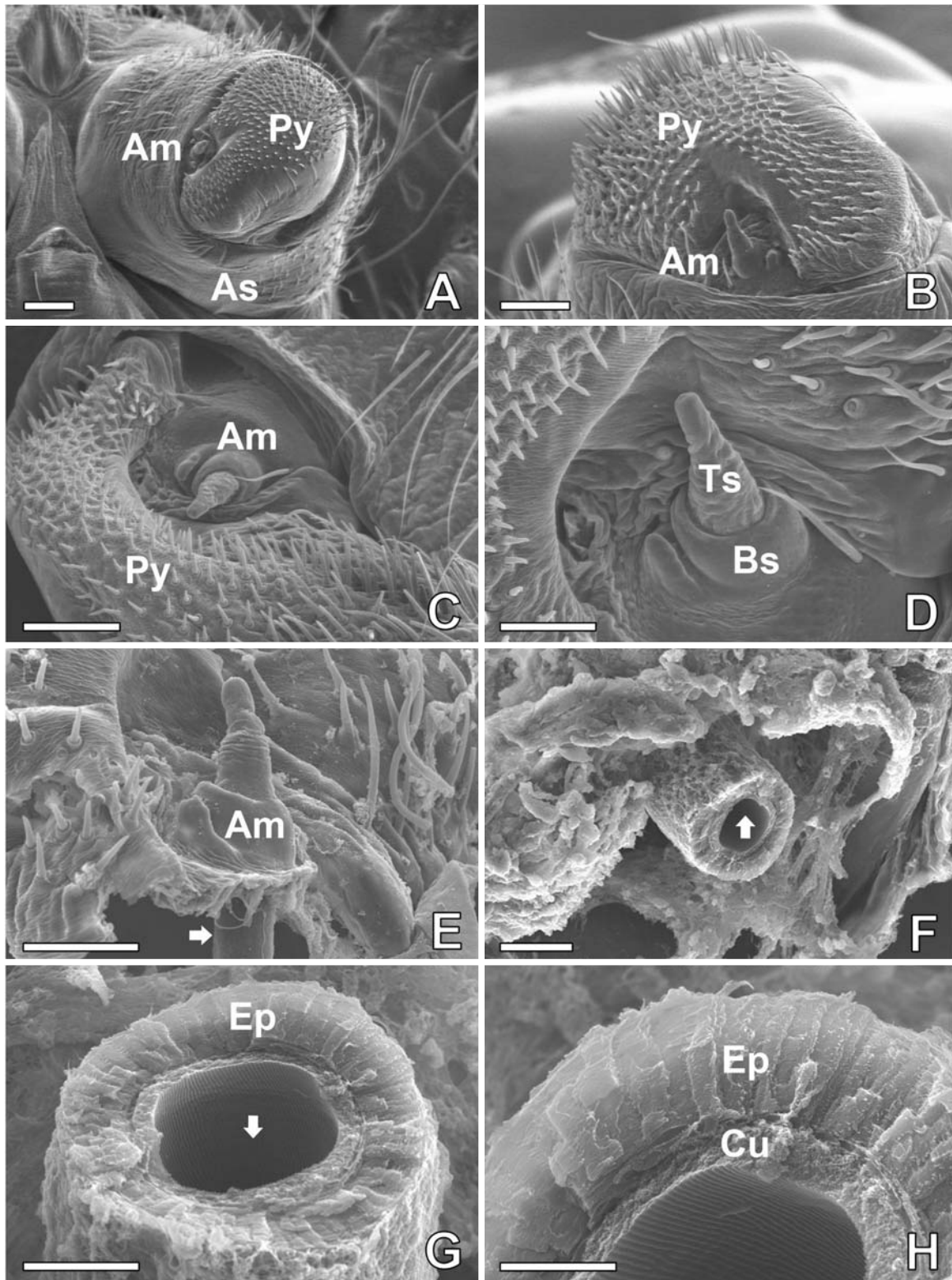


Fig. 2. Scanning electron micrographs of the anterior spinnerets in *N. clavata*. A, B: On the anterior spinnerets, one pair of major ampullate spigots (Am) and more than 200 pairs of pyriform spools (Py) are compactly distributed. C, D: The spinning tube of the ampullate gland is connected to those of bullet-type tube and composed of basal (Bs) and terminal segments (Ts). E, F: The spigot of major ampullate gland is the most prominent on the anterior spinneret and has a thick excretory duct (arrow). G, H: Fractured surface of the terminal excretory duct (arrow) has simple columnar epithelium (Ep) resting on the thick cuticular intima (Cu). Scale bars indicate 200 μm (A), 100 μm (B, C), 50 μm (D, E), 20 μm (F), 10 μm (G) and 5 μm (H), respectively.

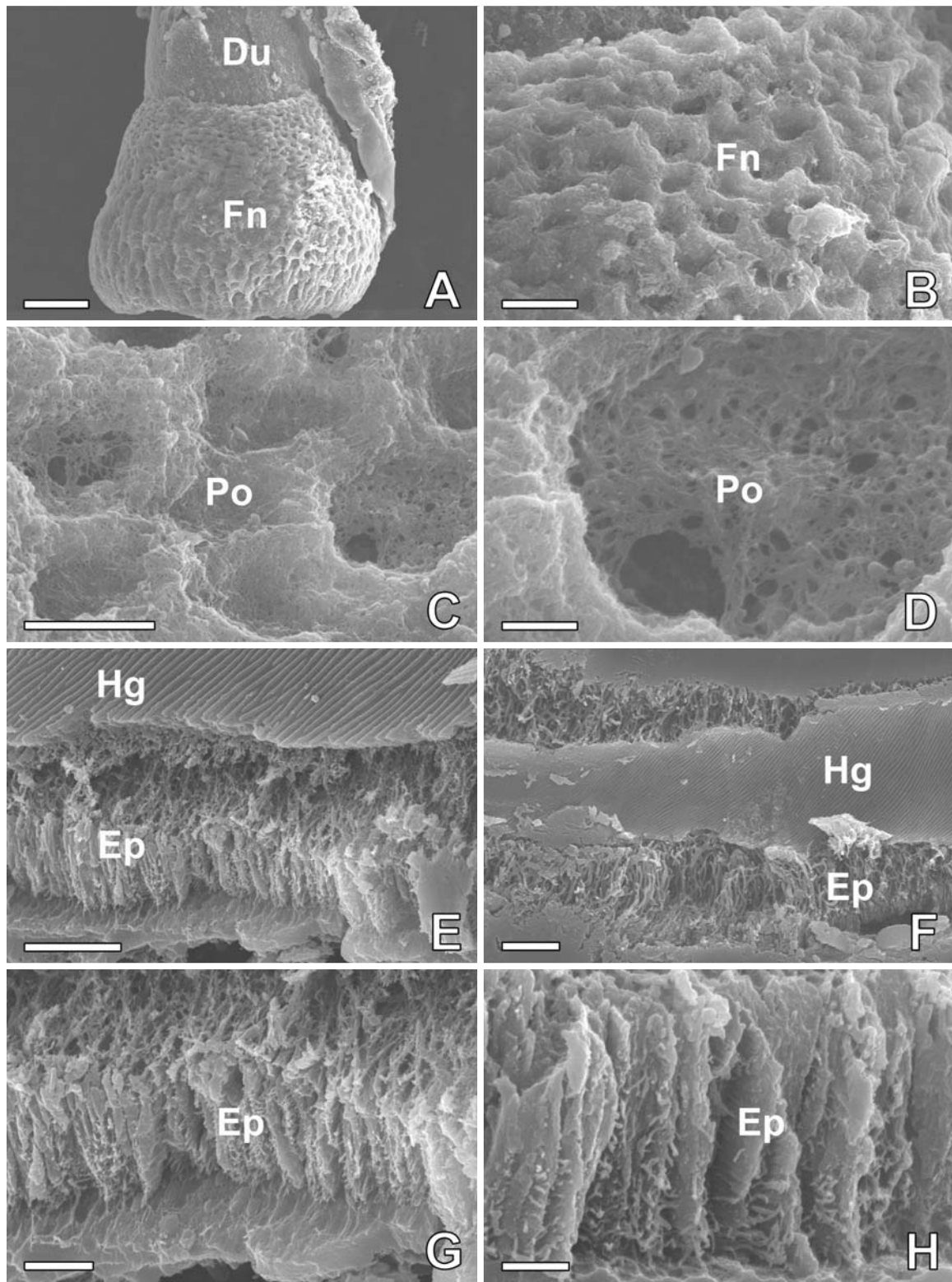


Fig. 3. Scanning electron micrographs of the funnel and helical grooves in *N. clavata*. A, B: The feedstock passes through the funnel (Fn) between ampulla and proximal duct (Du), and finally the high elasticity and strength dragline silk is produced from the nozzle of the spigot. C, D: The funnel has a characteristic cuticular microstructure with numerous porous structure (Po) similar to that of spongy bone. E, F: At the third limb of the major ampullate duct, helical grooves (Hg) are seen on the external surface of the cuticular intima. G, H: Beneath the cuticular intima, well developed simple columnar epithelium (Ep) with numerous apical microvilli can be seen. Scale bars indicate 50 μm (A), 10 μm (B), 5 μm (C, E, F), 2 μm (G), and 1 μm (D, H), respectively.

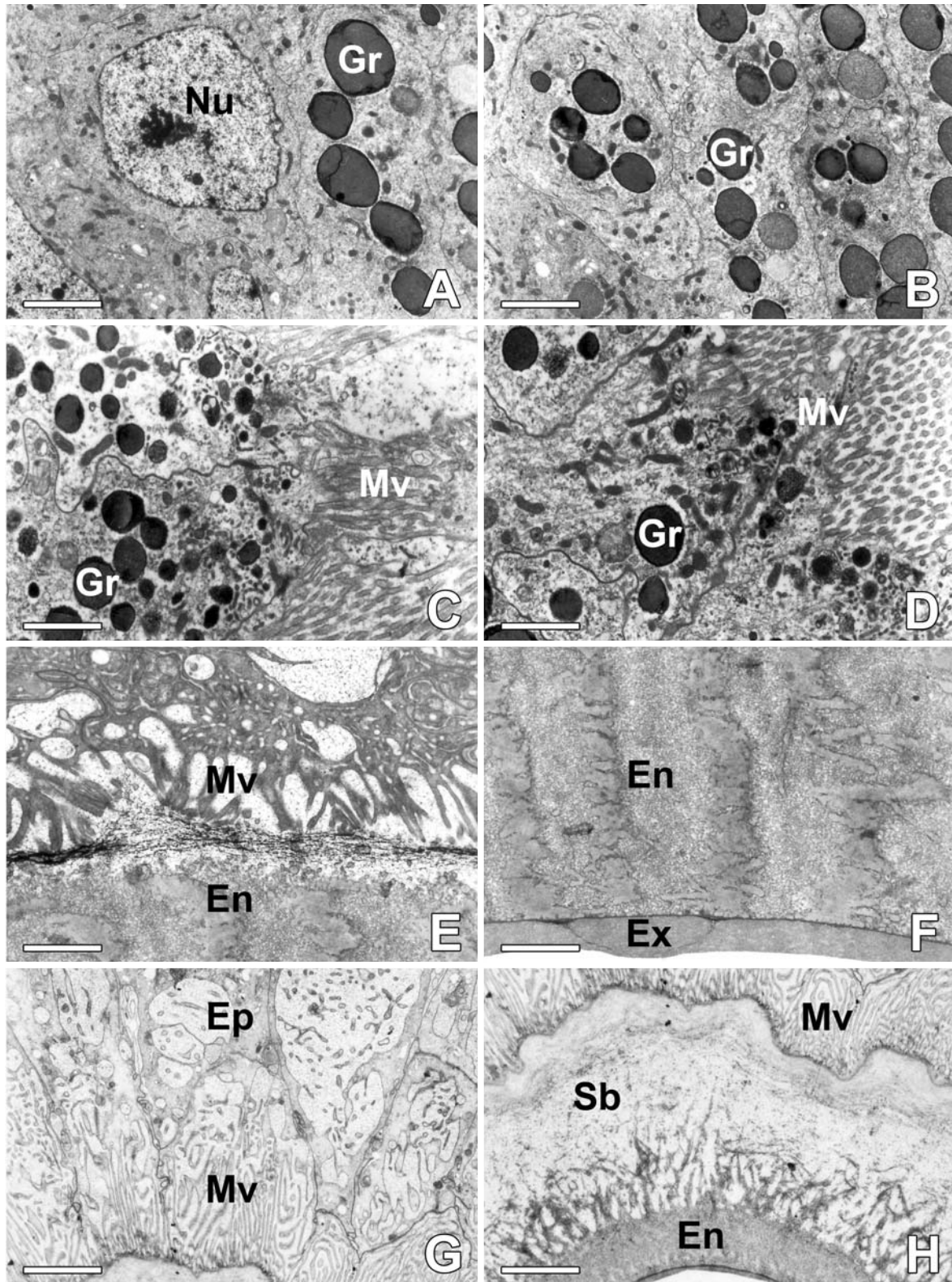


Fig. 4. Transmission electron micrographs of the excretory duct in *N. clavata*. A, B: Each epithelial cell of the major ampullate duct has numerous electron-dense secretory granules (Gr) within its cytoplasm. N: Nucleus. C, D: At the apical plasma membrane of the epithelial cells, long and complex microvilli (Mv) are well developed. E, F: Fine fibrous materials are seen at the junctional region between the epithelial microvilli and cuticular intima. G, H: At the apical plasma membrane of the epithelial cells, long and complex microvilli (MV) are formed. The cuticular intima of terminal duct has 3 kinds of cuticles including electron lucent subcuticle (Sb), endocuticle (En) and exocuticle (Ex). All scale bars indicate 50 μ m.

형되는 과정이 진행되는 관상 분비관의 내부 표면구조와 큐티클층의 미세구조, 그리고 상피층의 구조적 요소가 잘 관찰되었다(Fig. 2F). 노즐부위의 분비관은 내부 직경이 약 15 μm 에 달하였고 외부직경은 약 35 μm , 그리고 큐티클층과 상피층의 두께는 각각 2.5 μm 와 7.5 μm 인 것으로 측정되었다(Fig. 2G). 특히 상피는 단층으로 배열된 원주상의 세포로 이루어져 있음이 명확히 관찰되었으며, 내부 큐티클층과의 경계가 명확히 구분되었다(Fig. 2H).

3. 대병상선의 실크 분비낭(sac)과 분비관(duct)의 미세구조

분비낭에 저장된 실크 전구물질이 분비관 쪽으로 이동이 시작되는 갈매기 부위를 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 약 200 μm 에 달하는 비후된 큐티클층이 분비관의 원위부에 형성되어 있었다(Fig. 3A). 발포성 구조를 지닌 이 큐티클층은 직경 약 10 μm 의 구형 공간들을 지닌 해면(spongy) 구조를 가지고 있음이 확인되었다(Fig. 3B). 고배율의 전자현미경 관찰에서 발포성 해면구조의 큐티클 층에서는 보다 미세한 공간들을 지닌 이차 해면구조가 나타나는데(Fig. 3C), 이러한 미세구조는 실크로 변형되기 위해 분비낭 속의 실크 전구물질로부터 여분의 수분을 흡수하여 제거하기 위한 장치로 해석되었다(Fig. 3D).

대병상선의 분비관을 동결 파쇄하여 내부구조를 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 실크 전구물질이 통과하는 분비관의 내벽에는 약 1 μm 간격의 나선형 줄무늬가 형성되어 있었다(Fig. 3E). 큐티클층 표면에 형성된 줄무늬는 방적돌기와 연결된 원위 분비관(3rd limb)에서 특히 잘 발달되어 있었으며, 분비관의 말단부로 갈수록 현저하였다(Fig. 3F). 동결 파쇄하여 관찰한 분비관의 큐티클층에서는 줄무늬가 형성된 내강부의 exocuticle층과 명대와 암대가 교대로 배열된 endocuticle층, 그리고 상피와 접한 부드러운 subcuticle층이 확연히 구분되었다(Fig. 3G). 특히 endocuticle층은 분비관 내강을 중심으로 동심원상으로 배열된 격벽구조를 형성하고 있었으며, 격벽의 사이에는 많은 공간이 형성된 소성결합조직(loose connective tissue)의 특성을 지니고 있음이 관찰되었다(Fig. 3H).

4. 분비관 상피와 큐티클층의 미세구조

큐티클 전구물질의 생성에 관여하는 분비관 상피세포의 핵은 기저부에 위치하고 있었으며, 핵막의 함입이 심하고 인이 잘 발달되어 있었다. 세포질에는 조면소포체가 발달되어 있었고 대형의 분비과립을 형성하는 것으로 관찰되었다(Fig. 4A). 성숙된 분비과립의 내부에는 섬유상물질이 함유되어 있었으며, 분비과립의 주변부에는 골지복합체가 매우 발달되어 있었다(Fig. 4B). 대병상선 분비관 상피의 내강면에는

섬유상의 분비과립들이 집적되어 있었고, 길고 불규칙한 미세용모(microvilli)가 형성되어 있었다(Fig. 4C). 이들 미세용모가 큐티클층과 접하는 부분에서는 상피세포로부터 분비된 미세한 섬유상의 물질이 큐티클 층으로 유입되어 축적되는 현상이 관찰되었다(Fig. 4D).

근위 분비관(1st limb)은 선분비부와 직접 연결된 부위로서 입방형 또는 편평형의 상피세포로 이루어져 있었고, 큐티클층과 상피세포의 사이에는 미세용모가 형성되어 있었다(Fig. 4E). 이 부위의 분비관에서는 subcuticle 층이 소실되었고 명대와 암대가 교대로 배열된 endocuticle 층과 최외곽의 exocuticle층이 발달되어 있었다(Fig. 4F). 대병상선의 원위 분비관(3rd limb)은 토사관과 직접 연결된 부위로, 상피는 전형적인 원주상의 세포로 이루어져 있었고 내강부의 미세용모가 발달되어 있었다(Fig. 4G). 분비관의 큐티클은 기저부로부터 subcuticle, endocuticle, exocuticle의 차례로 층상 배열을 이루고 있었다. Subcuticle 층에서는 미세한 섬유상의 구조가 관찰되었고, subcuticle 층과 endocuticle 층 사이의 경계부에는 수지상의 돌기가 발달되어 있었다(Fig. 4H).

고 찰

거미의 드래그라인 실크(dragline silk)는 병상선에서 분비되며, 거미줄의 방사실이나 거미의 안전실 등에 사용되는 것으로 알려져 있다(Wilson, 1962a, b; Foelix, 2011). 병상선은 종에 따라 수와 형태가 매우 다양한 것으로 알려져 있는데, 왕거미과의 거미들은 견사선과 토사관의 형태적 특성을 기준으로 대병상선과 소병상선으로 구분되며 각각 전방적돌기와 중방적돌기를 통해 연결되어 있다(Moon & Tillinghast, 2004; Moon, 2012).

거미 실크의 물리적 특성을 비교한 결과에 의하면, 대병상선에서 생성되는 dragline 실크의 강도(strength)는 $4 \times 10^9 \text{ Nm}^{-2}$ 으로 합성 섬유중 가장 강도가 높은 케블라(Kevlar) 섬유와 유사하지만, 신축율이 7배 이상 높기 때문에 섬유를 파쇄하는 데 필요한 에너지(break energy)는 케블라 섬유보다 열배 이상 높은 것으로 측정되었다. 반면, 소병상선의 강도는 대병상선의 1/4 정도이지만 신축율이나 파쇄 에너지는 케블라 섬유와 거의 동일한 것으로 보고되고 있다(Gosline et al., 1984; Stauffer et al., 1994; Kaplan, 1998).

왕거미과의 거미에서 대병상선과 소병상선, 그리고 편상선 등, 세 종류의 견사선이 특히 긴 분비관을 가지고 있는 본질적인 이유에 대해서는 강하고 질긴 섬유를 생성하기 위한 구조라는 점에 의견의 일치를 보고 있는데(Bell & Peakall, 1969; Peakall, 1969; Tillinghast & Townley, 1986, 1987), 추락하는 자신의 체중을 지탱하거나, 포획되는 먹이의 가속도를 효과적으로 완충시킬 수 있는 강하고 탄력성 있는 실크

가 이들 전사선으로부터 생성된다는 생태적 관찰(Moon & Tillinghast, 2004)과 각 실크의 물리적 특성(Stauffer et al., 1994; Kaplan, 1998) 등으로 미루어 이론의 여지가 없을 것으로 생각된다.

무당거미와 같은 속의 *Nephila madagascariensis*에서 측정된 결과에 의하면, 분비낭의 내부에 액체상태로 함유된 단백질의 분자량은 약 30,000 dalton 정도이나, 분비관을 통과하여 고체상의 섬유로 변형된 단백질은 약 200,000~300,000 정도의 분자량을 가지게 되는데(Bell & Peakall, 1969), 이러한 분자량 증가현상은 단백질 중합효소(polimerase)에 의한 중합반응(polymerization)의 결과로서 일어나게 되며, 효소는 주로 분비관의 근위부에서 분비된다고 하였다(Knight & Vollrath, 1999, 2001). 본 연구에서도 분비관의 근위부 상피 세포에 함유된 일부의 분비과립들이 대병상선의 다른 부분에서는 관찰되지 않는 이질적인 과립의 미세구조를 지닌 점으로 미루어, 이 부분에서 실크 단백질의 중합과정을 촉매하는 효소의 방출이 이루어질 것으로 추정되었다.

대병상선의 분비관은 전체적으로 두 부분에서 굴곡되어 3개의 limb을 형성한 매우 긴 분비관을 가지고 있었는데, 이는 분비낭에서 토사관에 도달하기 위해 필요한 전체 분비관 길이에 비해 최소 3배 이상 신장된 구조인 것으로 측정되었다. 이처럼 긴 분비관을 방적돌기 속에 제한된 공간에 효율적으로 수납하기 위한 수단으로 여분의 길이에 해당되는 분비관을 루프 형태로 회전시킨 후, 압착시켜 한 겹의 결합조직 속에 위치시키는 방법이 사용된 것으로 해석되었다. 선행 연구에서도 병상선의 분비관이 단지 수송의 기능만을 수행하기 위한 장치로 해석하기에는 너무 긴 구조로 되어 있음에 주목하고(Bell & Peakall, 1969), 분비관 내에서는 액체상의 실크 단백질을 고체상의 섬유로 변형시키기 위한 분자구조의 재배열 기능과 액체상태의 실크 전구 물질을 일시 저장하는 기능이 동시에 수행될 수 있음을 시사한 바 있다(Work, 1984; Knight & Vollrath, 1999, 2001).

생화학적 분석에 의하면, 분비낭의 내부에 액체상태로 간직된 실크 단백질은 전형적인 α 나선(α helix) 구조로 이루어져 있으나, 분비관을 통과하여 고체상의 섬유로 변형된 상태에서는 β 병풍(beta plated sheet) 구조를 가지게 되며(Bell & Peakall, 1969; Andersen, 1970), 이러한 변형은 액체상태의 실크 단백질이 가늘고 긴 분비관을 통과하는 과정에서 수분이 소실됨으로써 이루어지는 것으로 추정되고 있다(Tillinghast et al., 1984; Vollrath & Knight, 2001). 변형이 일어나는 정확한 부위는 알려져 있지 않고, 분비관의 원위단이 연결되는 방적돌기의 기부와 토사관의 사이에서 일어날 것으로 추측되었는데(Wilson, 1962a, b; Tillinghast et al., 1984), 분비관의 원위부 큐티클층에 수분의 흡수와 관련된 구조인 subcuticle 구조가 매우 발달되어 있고, 또한 이 부위의 상피세포가 미세용모를 지닌 전형적인 흡수세포의 특징

을 가지고 있다는 점 등으로 미루어 주된 변형과정은 분비관의 원위부에서 일어날 것으로 추정된 바 있다(Moon & Tillinghast, 2004). 본 연구에서도 토사관과 연결되는 원위 분비관에서만 subcuticle층이 비후되어 관찰되고, 근위 분비관의 영역에서는 이 구조가 소실된 미세구조적 특징으로 미루어, 실크 물질의 최종적 변형과정이 분비관의 원위부에서 일어난다는 사실을 확인할 수 있었다.

한편, 이와는 별도로, 분비낭의 말단부로부터 분비관이 시작되는 부위에서도 수분의 흡수를 포함한 실크 전구물질의 일차적 변형을 유발하는 효과적이고도 특징적인 미세구조가 본 연구를 통해 확인되었다. 즉, 대병상선의 분비낭과 분비관이 연결되어 실크 전구물질의 이동이 시작되는 부위(funnel)에 깔때기 모양으로 형성된 해면상의 특수 큐티클 구조가 관찰되었다. 이러한 구조는 팽대된 분비낭속에 간직된 다량의 분비물이 좁은 분비관을 통해 일시에 방출되는 과정에서 발생하는 내부의 압력을 견디어내기 위한 보편적인 구조로 생각되지만(Work & Morosoff, 1982; Work, 1984), 발포성 공간을 지닌 이 해면성 큐티클층의 미세구조로 미루어, 분비낭 속의 실크 전구물질로부터 여분의 수분을 제거하기 위한(Tillinghast et al., 1984) 효율적인 생체구조로도 해석이 가능할 것으로 추정되었다.

현재 사용되고 있는 전기방사장치의 노즐부위는 용매와 희석된 원기물질이 분사되는 단순 도관의 형태로 제작되고 있는 경우가 일반적이므로(Huang et al., 2003; Yoon et al., 2009), 거미 토사관의 생체 방적시스템을 자연모사한 결과를 통해 도출된 결과를 도입하여, 전기방사 노즐의 사출관을 보다 길게 제작하고, 사출관 내부에 원활한 액체 유동을 증대시키기 위한 나선형의 강선구조를 추가하여 설치할 경우, 보다 개선된 성능의 전기방사장치를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 거미의 분비관에서 측정된 나선형 강선의 간격은 약 $1\mu\text{m}$ 로 측정되었으나, 전기방사 노즐의 경우에는 사용된 용매의 종류와 점도, 원기물질의 분자량 등을 고려하여 사용목적에 따라 약간의 조정이 필요할 것으로 추정된다(Reneker & Chun, 1996; Lee et al., 2008; Yoon et al., 2009). 또한 거미 분비관의 내강부에 형성된 큐티클층의 층상구조와 발포성 공극을 지닌 해면성 구조의 특성을 반영하여 사출관의 노즐 부위를 이중 벽면으로 구성하고, 층간에 일정 간격의 공기층을 두는 설계 방안도 거미의 생체 방사장치에서 자연모사를 통해 구현할 수 있는 방안의 하나로, 고강성 나노섬유 생성에 개선된 효과를 발휘할 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- Andersen SO: Amino acidic composition of spider silks. *Comp Biochem Physiol* 35 : 705-713, 1970.
 Bell AL, Peakall DB: Changes in fine structure during silk protein

- production in the ampullate gland of the spider *Araneus sericatus*. J Cell Biol 42 : 284-295, 1969.
- Deitzel JM, Kosik W, McKnight SH, Tan NCB, DeSimone JM, Crette S: Electrospinning of polymer nanofibers with specific surface chemistry. Polymer 43 : 1025-1029, 2002.
- Eadie L, Ghosh TK: Biomimicry in textiles: past, present and potential. An overview. J R Soc Interface 8 : 761-775, 2011.
- Foelix RF: Biology of Spiders (3rd ed). Oxford Univ. Press, New York, pp. 1-419, 2011.
- Gosline JM, Denny MW, DeMont ME: Spider silk as rubber. Nature 309 : 551-552, 1984.
- Groome JR, Townley MA, de Tschaschell M, Tillinghast EK: Detection and isolation of proctolin-like immunoreactivity in Arachnids: Possible cardioregulatory role for proctolin in the orb-weaving spiders *Argiope* and *Araneus*. J Insect Physiol 37 : 9-19, 1991.
- Huang Z, Zhang Y, Kotaki M, Ramakrishna S: A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. Composites Science and Technology 63 : 2223-2253, 2003.
- Jin HJ, Kaplan DL: Mechanism of silk processing in insects and spiders. Nature 424 : 1057-1061, 2003.
- Kaplan D: Fibrous proteins-silk as a model system. Polymer Degradation and Stability 59 : 25-32, 1998.
- Knight DP, Vollrath F: Liquid crystals and flow elongation in a spider's silk production line. Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci 266 : 519-523, 1999.
- Knight DP, Vollrath F: Changes in element composition along the spinning duct in a *Nephila* spider. Naturwissenschaften 88 : 179-182, 2001.
- Lee GY, Jung IT, Shim SH, Yoon KB: Fabrications and applications of core/sheath, hollow and nanoporous structured nanofibers by electrospinning. Polymer Sci & Technol 19 : 25-34, 2008.
- Li D, Xia Y: Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel? Advanced Materials 16 : 1151-1170, 2004.
- Moon MJ: Fine structure of the silk producing apparatus in the garden spider, *Argiope bruennichi*. Kor J Entomol 28 : 345-354, 1998.
- Moon MJ: Organization of the spinnerets and spigots in the orb web spider, *Argiope bruennichi* (Araneae: Araneidae). Entomol Res 42 : 85-93, 2012.
- Moon MJ, Tillinghast EK: Silk production after mechanical pulling stimulation in the ampullate silk glands of the barn spider, *Araneus cavaticus*. Entomol Res 34 : 123-130, 2004.
- Omenetto FG, Kaplan DL: New opportunities for an ancient material. Science 329 : 528-531, 2010.
- Peakall DB: Synthesis of silk, mechanism and location. Am Zool 9 : 71-79, 1969.
- Reneker DH, Chun IS: Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. Nanotechnology 7 : 216-223, 1996.
- Stauffer SL, Coguill SL, Lewis RV: Comparison of physical properties of three silks from *Nephila clavipes* and *Araneus gemmoides*. J Arachnol 22 : 5-11, 1994.
- Tillinghast EK, Chase SF, Townley MA: Water extraction by the major ampullate duct during silk formation in the spider, *Argiope aurantia* Lucas. J Insect Physiol 30 : 591-596, 1984.
- Tillinghast EK, Townley M: The independent regulation of protein synthesis in the major ampullate glands of *Araneus cavaticus* Keyserling. J Insect Physiol 32 : 117-123, 1986.
- Tillinghast EK, Townley M: Chemistry, physical properties, and synthesis of Araneidae orb webs. In: Nentwig W, ed, Ecophysiology of Spiders, Springer-Verlag, Berlin, pp. 203-210, 1987.
- Vincent JFV, Bogatyreva OA, Bogatyrev NR, Bowyer A, Pahl A: Biomimetics - its practice and theory. J R Soc Interface 3 : 471-482, 2006.
- Vollrath F, Knight DP: Liquid crystalline spinning of spider silk. Nature 410 : 541-548, 2001.
- Wilson RS: The structure of the dragline control valves in the garden spider. Q J Microsc Sci 103 : 549-555, 1962a.
- Wilson RS: The control of dragline spinning in the garden spider. Q J Microsc Sci 103 : 557-571, 1962b.
- Work RW: Duality in major ampullate silk and precursive material from orb-web building spiders (Araneae). Trans Am Microsc Soc 103 : 113-121, 1984.
- Work RW, Morosoff N: A physico-chemical study of the super-contraction of spider major ampullate silk fibers. Text Res J 52 : 349-356, 1982.
- Yarin AL, Zussman E: Upward needleless electrospinning of multiple nanofibers. Polymer 45 : 2977-2980, 2004.
- Yoon H, Park YK, Kim GH: Drug delivery system using electrospun nanofiber mats. Polymer (Kor) 33 : 219-223, 2009.
- Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, Vacanti JP: A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. Biomaterials 24 : 2077-2082, 2003.

< 국문초록 >

고강성 나노섬유 생산이 가능한 전기방사장치 방사노즐의 설계를 위해 자연을 모방하는 공학적 방법론을 도입하여, 무당거미(*Nephila clavata* L.Koch) 대병상선의 토사관과 그 생체방적 시스템이 지닌 미세구조적 특성을 고해상도의 전자현미경 관찰을 통해 분석하였다. 자연계에서 가장 강도가 높은 드래그라인을 생성, 분비하는 대병상선의 토사관은 bullet type spigot을 통해 전방적돌기 표면에 개구되어 있었으며, 신축성 구조를 지닌 토사관 말단마디의 노즐을 통해 고체상의 실크가 생성되었다. 분비관과 토사관 사이를 연결한 분비관은 루프를 형성한 후 방적돌기에 수납되었고, 분비관 내강의 직경은 점진적으로 축소되어 노즐을 통해 방사되는 실크의 직경은 편벨 부위의 1/10 이하인 것으로 관찰되었다. 한편, 실크 중합과정에서 수분을 제거하기 위한 큐티클의 특수구조가 관찰되었는데, 분비관의 편벨 부위에서는 해면상 큐티클 구조가 그리고 분비관의 말단부에서는 비후된 subcuticle 구조와 함께 잘 발달된 상피의 미세융모 층이 확인되었다. 또한 분비관의 내강부 큐티클 표면에서 확인된 나선형 강선구조는 실크 전구물질의 신속한 유동을 촉진하는 장치일 것으로 해석되었다.