특 집

바이오미네랄리제이션 기술을 이용한 기능성 하이브리드 소재 제조기술

이상천 · 김경자 · 김찬우 · 이홍재 · 최형우

1. 서론

현재 및 차세대 나노 및 바이오공학에 있어서 가장 중요한 부분을 차지하는 기술은 특정 응용분야에 적합한 기능을 갖는 신소재의 개발이다. 근래에 들어, BT-NT 융합기술의 출발점은 저분자량 유기화합물, 고분자 등의 유기재료와, 세라믹, 금속 등의 무기재료 단일 소재가 발휘할 수 있는 특성에 비해 신기술의 기반이 되는 새로운 물리/화학적 성질을 갖는 하이브리드 융합소재의 개발에 있다.[1-3] 특히, 고분자/세라믹 하이브리드 소재는 이질적인 소재의 조합이나, 단일 소재로는 기대하기 어려운 새로운 기능으로 인해 바이오 및 전기/전자 분야에 없어서는 안될 필수 소재로서 사용되고 있다.[4-9] 고분자/세라믹 하이브리드 소재 기술로, 금속 alkoxide의 솔-젤(sol-gel) 반응은 복합체 제조를 위한 기술로 널리 사용되고 있지만, 얻어진 금속 산화물은 불규칙한 구조를 가지고 있고 하이브리드의 형태는 반응 조건에 따라 달라진다.[10,11] 최근 들어, 유기화합물 및 고분자 템플레이트(template)를 이용하여 무기결정을 형성/제어하는 기술 및 이 기술로부터 얻어지는 유무기 하이브리드가 나노/바이오 융합분야의 응용 가능성으로 인해 관심을 끌고 있다.[12,13] 특히, 자연계의 하이브리드 복합 구조물을 생성하는 바이오미네랄리제이션(biomineralization) 기술을 인공적으로 실현하여 하이브리드 구조체를 제조하는 기술이 정밀한 재료기술 및 높은 응용 가능성으로 인해 각광받고 있다.[14-19]

이상천

1995 인하대학교 고분자공학과(학사)
1997 인하대학교 고분자공학과(석사)
2001 인하대학교 고분자공학과(박사)
2001~2003 Purdue Univ., School of Pharmacy (Post-Doc.)
2004 Japan Advanced Institute of Sci. & Tech., School of Materials Science (Post-Doc.)
2004~현재 요업(세라믹)기술원 나노소재응용본부 선임연구원

김경자

1983 성균관대학교 화학과(학사)
1989 단국대학교 화학과(석사)
2001 성균관대학교 화학과(박사)
2000~2006 요업(세라믹)기술원 나노소재응용본부 본부장
2006~현재 University of Illinois(방문교수)

김찬우

2004 부경대학교 재료공학과(학사)
2006~현재 한양대학교 신소재공학과(석사과정)

이홍재

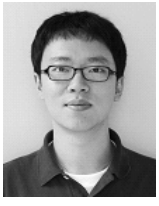
2002 수원대학교 화학공학과(학사)
2004 연세대학교 화학공학과(석사)
2004~2005 (주)에코웰 연구원
2005~현재 요업(세라믹)기술원 나노소재응용본부 연구원

최형우

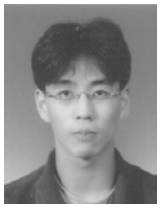
2005 서울산업대학교 신소재공학과(학사)
2005~현재 연세대학교 세라믹공학과(석사과정)

이상천

김경자


김찬우

이홍재


최형우

Biomineralization for Functional Hybrid Materials

요업(세라믹)기술원 나노소재응용본부(Sang Cheon Lee, Kyung Ja Kim, Chan Woo Kim, Hong Jae Lee, and Hyung Woo Choi, Nanomaterials Application Division, Korea Institute of Ceramic Engineering and Technology, 233-5 Gasan-dong, Guemcheon-gu, Seoul 153-801, Korea) e-mail: sclee@kicet.re.kr

본 총설에서는 기능성 유무기 하이브리드 소재 개발에 적용되는 기술인 유기 고분자 템플레이트를 이용한 바이오미네랄리제이션에 대해 고찰해 보고자 한다. 먼저 자연계에 존재하는 바이오미네랄리제이션으로 형성된 하이브리드 복합체에 대해 소개한 후, 합성 유기물 및 고분자로부터의 바이오미네랄리제이션 기술에 대해 기술하고자 한다. 특히, 고분자 나노섬유 및 나노파티클 등의 자기조립체와 고분자 수화젤 및 기능성 고분자 표면을 바이오미네랄리제이션 템플레이트로 사용하여 유무기 하이브리드를 개발하는 기술을 중심으로 살펴보고자 한다.

2. 바이오미네랄리제이션(Biomineralization)

2.1 천연 바이오미네랄리제이션 시스템

자연계에서는 미네랄리제이션에 의한 유/무기 구조체의 형성이 자발적이면서도 매우 정교하게 이루어지고 있다. 자연에서 형성되는 생물학적 유기체들은 뼈(bone), 치아(teeth), 규조(diatom), 조개껍질(shell)과 같은 고분자-무기 하이브리드 복합체를 형성한다. 자연 하이브리드 복합체들은 합성 복합체에 비해 기계적 성질이 우수하다. 일례로, 유기 성분을 가진 calcium carbonate($CaCO_3$, 탄산칼슘염)의 복합체(**그림 1**)인 전복 껍질은 순수 미네랄(mineral)의 단결정보다 파괴저항력이 3000배 이상인 것으로 알려져 있다.[20] 유기 템플레이트(template)의 중심은 "silk-like" glycine-rich 단백질과 alanine-rich 단백질 사이의 키틴층으로 구성되어 있고, 템플레이트의 외부표면은 친수성을 가진 산성 거대분자로 코팅되어 있다. 천연 유무기 복합체는 자기 조립된 유기물의 단백질 구조로부터 미네랄리제이션을 통해 결정크기, 형상, 및 방향이 제어된 무기물이 성장하는 과정을 통해 형성된다.[21] 생체고분자와 저분자량의 유기분자는 나노구조물을 형성하고, calcium carbonate, calcium phosphate(인산칼슘염), iron oxide(산화철), silica(실리카)와 같은 특정 배향 모양을 가진 무기결정들은 뼈대로서 사용된다. 이러한 공정들은 100 ℃ 이하에서 수용액을 사용하여 이루어지며 독성을 지닌 부산물 및 중간체가 생성되지 않는다. 그러므로 , 결정성장을 제어하는 공정과 재료들은 천연과 유사한 복합체를 개발하고자 하는 재료과학자들에게 큰 흥미를 불러 일으키고 있다.

자연뼈는 콜라젠(collagen) triple helices의 자기조립체인 콜라젠 fibril 표면에서 바이오미네랄리제이션에 의해 특정배향성을 갖는 아파타이트 결정화로부터 형성된다.[22,23] 치구(dental plaque)는 타액의 *Streptococcus mutans*에 의해 치아표면에 쌓인 다당류의 침착층에서 발생하는 미네랄리제이션(하이드록시아파타이트 형성)을 통해 형성된다.[24] 이와 유사한 매커니즘은 청녹조류가 점액층의 모래로부터 stromaltolite를 형성하게 하고 특정 부위에 탄산염이 집중됨에 따라 칼슘 탄산염과 함께 고형화 되는 경우이다. 산호의 미네랄리제이션은 준안정 상태에 있고 calcium carbonate의 결정상인 calcite(방해석)과 aragonite(선석)으로의 자발적인 침전이 일어나지 않는 상태에서의 바닷물의 과포화(supersaturation) 정도에 따라 결정된다.[25] 이 현상은 바다 표면과 대기 사이에서의 이산화탄소 평형상태에 의해 좌우된다. 식물의 석화 작용도 잘 알려진 현상이다. 석화된 나무는 셀룰로오스 벽 내부에 실리카의 침전에 의해 형성된다. 신장, 방광, 쓸개 그리고 타액관 등에서 발생하는 담석 등과 같은 다양한 미네랄리제이션에 의한 질병들이 있다. 통풍은 관절 연골 속에서의 과포화된 요산염이 결정을 이뤄 발생하고 연속적으로 요산염이 관절 부위에 만들어져 염증을 야기한다.[26]

2.2 유기물 및 합성고분자 템플레이트를 이용한 바이오미네랄리제이션

바이오미네랄리제이션을 통해 자연에서 형성되는 하이브리드 구조체에 대한 지식으로부터, 템플레이트 고분자로부터 정밀하게 조직화된 무기재료들이 바이오미네랄리제이션 공정에 의해 형성되는 방법과 생체모방형 시스템으로 재현성 있는 합성 방법을 이해하는 것이 중요한 이슈로 부각되고 있다. 제어된 미네랄리제이션 특성을 가진 유무기 복합체의 형성은 산업기술적인 적용을 시도하는 것뿐만 아니라 , 천연 바이오미네랄리제이션의 공정 메커니즘을 이해하는 것이 유무기를 연구하는 화학자들의 관심사이다 .천연 바이오미네랄리제이션 시스템들의 복잡성 때문에, 초기 미네랄리제이션은 2차원 model 유기 계면에 대해 연구되었다.[27,28] 이 연구는 무기 결정화가 수용액에서 제어될 수 있는 방법의 근본적인 문제에 집중했다. 비록 많은 연구자들이 무기재료들의 제어된 바이오미네랄리제이션에 있어 유기 템플레이트 디자인의 중요성을 인식하였지만, 많은 바이오미네랄리제이션 연구는 무기재료화학의 관점으로부터 접근하게 되었다. 바이오미네랄리제이션에 대해 pH, 온도, 외래 무기 이온들과 수용액의 과포화도 영향은 광범위하게 연구되어 왔고,[29,30] 우수한 리뷰 논문들은 바이오미네랄리제이션, 특히 생체모방공정에 의한 무기재료에 주로 집중되었다.[31-35] 최근, 유기고분자 과학자들은 바이오미네랄리제이션 연구분야에 높은 관심을 갖고 다양한 구조의 유기 매트릭스 개발 및 미네랄리제이션을 통한 고분자/세라믹 하이브리드 시스템을 개발해 왔다. 무기재료들의 결정화를 위한 구조 템

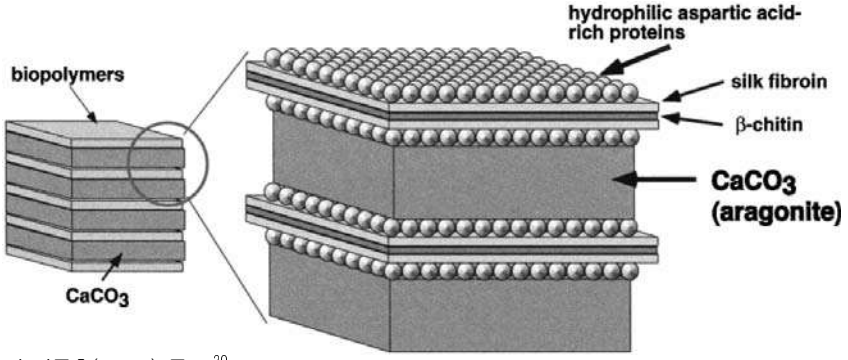


그림 1. 전복(abalone) shell의 진주층(nacre) 구조.[20]

플레이트로서 다양한 종류의 유기 매트릭스는 쉽게 디자인 및 합성되어야 한다. 현재 이른바 "supramolecular chemistry"(초분자화학)의 발달로 바이오미네랄리제이션을 위해 매우 정돈된 템플레이트가 제공되고 있다.[14] 또한, 고분자 나노입자, 나노섬유 등 자기조립으로 이루어진 나노구조체를 미네랄리제이션 템플레이트로 이용해 하이브리드 시스템을 개발하고자 하는 시도가 잇따르고 있다.[14,36] 이로부터 형성된 하이브리드는 약물 및 유전자 전달뿐만 아니라, 조직재생용 스캐폴드 등으로의 응용가능성이 높다. 이와 더불어, 고분자 수화젤 삼차원 구조 및 기능화된 2차원 표면에서의 바이오미네랄리제이션 기술은 인공골 및 분리/정제 분야에 응용가능성을 제시하고 있다.[5,27,28] 유기물 및 합성고분자 템플레이트를 이용한 바이오미네랄리제이션은 본 특집에서 소개할 주요 내용으로 각 장에서 구체적인 내용을 소개하도록 하겠다.

3. 자기조립(Self-Assembly) 및 바이오미네랄리제이션 기술을 이용한 하이브리드 나노섬유(Nanofibr) 제조

3.1 Biomineralization on Natural Polymer Nanofibers

자기조립화된 유기 나노섬유로부터의 바이오미네랄리제이션은 천연 하이브리드 구조체인 자연골의 형성 기전을 모방하는 기술로 특징지어 진다. 자연골은 콜라젠 triple helices의 자기조립 구조인 콜라젠 fibril 표면에서의 미네랄 침착으로 형성되므로 이에 관한 연구가 집중되어 왔다. Cui및 Mertig 등은 콜라젠 Type I을 사용하여 콜라젠 fibril 자기조립 나노섬유를 제조한 후 나노섬유 표면위에 아파타이트를 미네랄리제이션 기술로 침적시켜 하이브리드 나노섬유를 *in vitro* 상에서 제조하였다.[37,38] **그림 2**의 transmission electron microscopy(TEM) 및 diffraction 패턴으로부터, 형성된 calcium phosphate결정의 c-axis가 콜라젠의 longitudinal 축을 따라 형성된다는 현상이 관찰되었다. 또한, 균일하게 정렬된 미네랄 형성에 음이온성 polyaspartate의 역할이 비중있게 차지함을 보고한 바 있다. 이는 polyaspartate의 COOH그룹으로부터 칼슘 이온의 바인딩을 시작으로 미네랄 형성이 시작되기 때문인 것으로 이해될 수 있다.

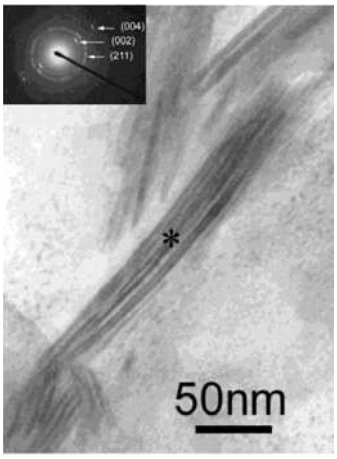


그림 2. 미네랄화된 콜라젠 나노섬유 및 selected area electron diffraction(SAED) 패턴.[37]

자연골의 콜라젠 표면으로부터 침착된 아파타이트 미네랄 결정 역시 콜라젠 fibril의 c-axis 배향을 하고 있는데, 이와 같은 결정특성은 X-ray diffraction(XRD) 패턴에서 (002) 및 (004) peak에 반영된다. **그림 3(b)**와 같이 콜라젠 나노섬유 템플레이트로부터 형성된 미네랄 결정은 자연골의 결정특성과 유사하나, 상업적으로 합성된 randomly oriented된 결정구조를 갖는 아파타이트 미네랄은 (002) 및 (004) peak의 강도가 두드러지게 나타나지 않는다.

3.2 Biomineraliztion on Synthetic Self-Assembled Nanofibers

최근 supramolecular chemistry의 발달로 인해 정밀한 구조의 기능성 나노섬유의 제조가 가능해짐과 동시에 합성 나노섬유로부터의 바이오미네랄리제이션을 통한 하이브리드화에 대한 연구가

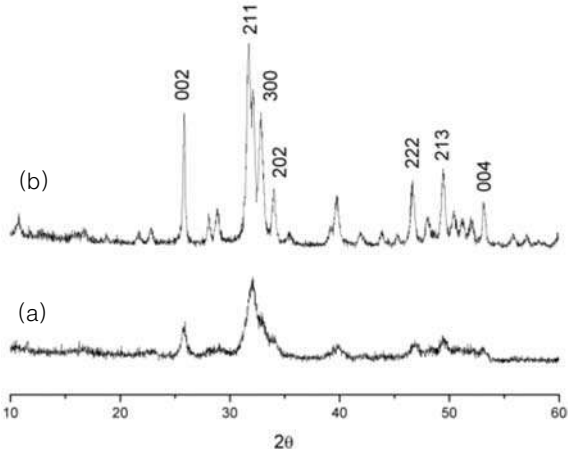


그림 3. (a) 상품화된 하이드록시아파타이트, (b) 미네랄화된 콜라젠 나노섬유의 X-ray diffraction (XRD) 패턴.[37]

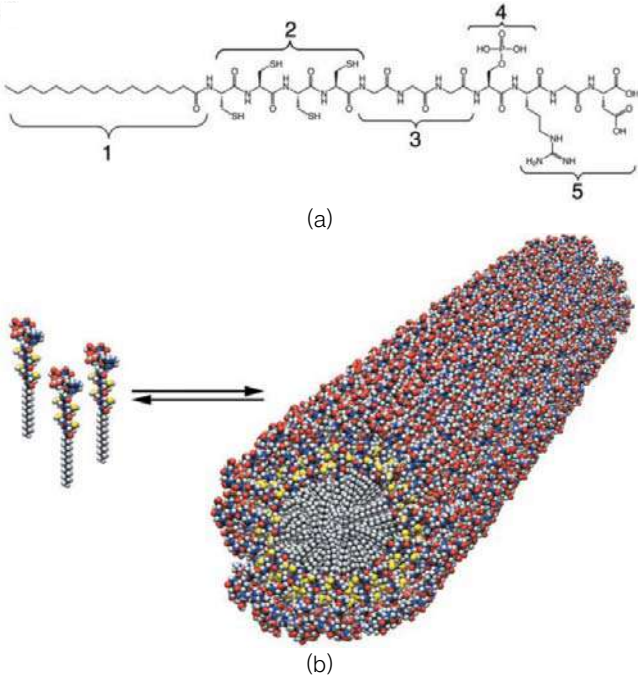


그림 4. (a) 펩타이드 amphiphile 구조, (b) 자기조립으로 형성된 실린더 형 나노섬유.[14]

관심을 끌고 있다. Stupp 등은 **그림 4**에서 처럼 소수성 부분 및 미네랄 형성을 유도하는 음이온성 펩타이드 서열로 구성된 양친성 화합물을 합성한 후, 자기조립을 통해 표면에 음이온 특성을 갖는 나노섬유를 제조한 바 있다.[14]

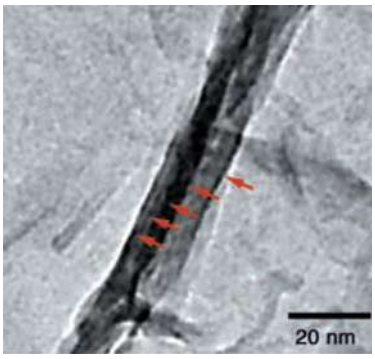


그림 5. $CaCl_2$ 및 Na_2HPO_4 수용액 내에서 바이오미네랄리제이션(30 min)으로 형성된 하이브리드 나노섬유의 TEM 이미지.[14]

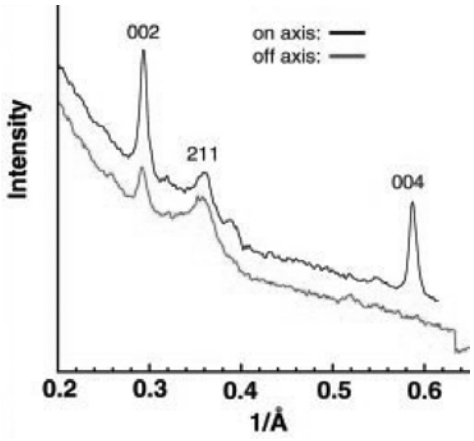


그림 6. 미네랄화된 하이브리드 나노섬유의 XRD 패턴 : Strong (002) and (004) peaks indicate c-axis orientation of crystal growth on self-assembled nanofibers.[14]

이 나노섬유 표면으로부터 바이오미네랄리제이션을 통해 **그림 5**의 TEM 이미지에 나타난 바와 같은 하이브리드 나노섬유가 제조되었다.

특징적인 면은, 콜라젠 나노섬유로부터 형성된 미네랄과 같이 (002) 및 (004) peak이 두드러진 결정구조가 XRD 패턴으로부터 얻어졌다는 점이다(**그림 6**). 이는 천연고분자 시스템에서 일어나는 미네랄리제이션 현상이 합성유기물에서도 같은 맥락으로 이해될 수 있다는 점에서 큰 의미를 부여한다.

4. 고분자 수화젤/인산칼슘 하이브리드 소재

고분자 수화젤을 바이오미네랄리제이션 템플레이트로 사용하고자 하는 시도는 자연골의 형성 메커니즘을 모방함으로써 자연골의 구조 및 특성을 갖는 인공골 개발과 밀접한 관련이 있다. 자연골은 구조적으로 유기 콜라젠 fibril 나노섬유와 무기 calcium phosphate 아파타이트로 구성되어 있다. 고분자 구조체와 세라믹 아파타이트의 단순 조합을 통해 인공골을 개발하고자 하는 연구가 광범위하게 진행되고 있으나, 최근 고분자 스캐폴드 및 수화젤을 이용한 바이오미네랄리제이션 기술이 자연골의 특성에 가장 근접한 구조체를 제조하는데 더욱 유용한 방법으로 인식되고 있다. 본 장에서는 기능성 수화젤로부터 바이오미네랄리제이션을 통해 인공골을 제조하는 기술 및 다양한 응용 가능성을 갖는 수화젤 마이크로파티클, 수화젤을 이용한 새로운 바이오미네랄리제이션 기술에 대하여 소개하고자 한다.

4.1 하이브리드 인공골 스캐폴드

자연골은 콜라젠 수화젤 fibril과 연결되어 있는 extracellular matrix(ECM)의 비콜라젠성 음이온 단백질로부터 hydroxyapatite 나노결정이 침착됨으로써 형성된다. 따라서, 음이온 기능기를 갖는 수화젤 구조체로부터의 바이오미네랄리제이션은 자연골의 형성 메커니즘을 모방하는 기술로 각광받고 있다. Bertozzi 등은 **그림 7**과

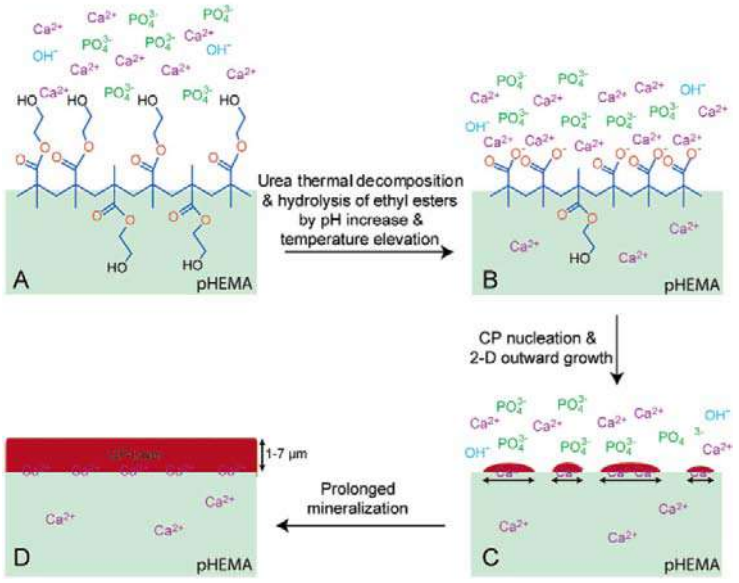


그림 7. pHEMA 수화젤 표면에서의 바이오미네랄리제이션 모식도.[39]

같이 부분적으로 가수분해 되어 COOH 기능기를 갖는 poly(2-hydroxyethyl methracrylate)(PHEMA) 수화젤 표면에 미네랄리제이션을 통해 하이브리드 구조체를 합성하였다.[39] 본 연구의 중심 기술로 바이오미네랄리제이션을 위해 몇 주 또는 몇 달의 장시간이 소요되는 기존의 simulated body fluid(SBF)를 사용하는 방법 대신,[40] 몇시간 내에 미네랄리제이션이 가능한 urea-mediated precipitation 기술이 도입되었다. 최근에 소개된 전기영동(electrophoresis)을 이용하여 고분자 수화젤 내부에서의 바이오미네랄리제이션을 가속화시키는 방법 또한 하이브리드 구조체를 단시간에 제조할 수 있다는 점에서 흥미롭다.[41]

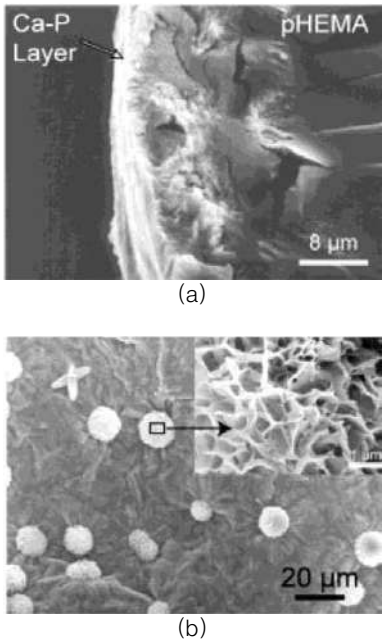


그림 8. (a) 미네랄화된 하이브리드 수화젤의 cross-section 이미지, (b) 미네랄리제이션 후 형성된 platelike morphology의 calcium phosphate의 SEM 이미지.[39]

수화젤 표면으로부터 calcium phosphate 형성은 **그림 8**의 SEM 이미지로부터 확인되었고, 나노크기의 결정으로 구성된 미네랄 층이 형성됨을 알 수 있다.

보다 정밀하게 구조 제어된 수화젤을 사용한 바이오미네랄리제이션 기술도 최근에 보고된 바 있다.[42] **그림 9(a)**의 자연골 구조는 전술한 바와 같이 단백질 구조인 콜라젠 수화젤 및 아파타이트 결정으로 구성되어 있다. 특히, 콜라젠 매트릭스에 연결되어 있는 음이온성 noncollagenous 단백질이 뼈 형성 및 뼈의 리모델링 프로세스에 있어 중요한 템플레이트 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 자연골의 구조 및 기능을 모방하는 접근 방법으로 음이온성 noncollagenous 단백질의 역할이 가능한 음이온성 리간드(anionic ligand)를 poly-methacrylamide/polymethacrylate-based 수화젤 구조에 첨가하여 수화젤 스캐폴드를 제조한 방법이 최근에 소개되었다.[42]

수화젤은 아미노산 구조를 갖는 methacrylate를 수화젤 합성시에 첨가하여 미네랄 형성을 유도할 수 있게끔 디자인 되었고 (**그림 10**), 각각의 음이온성 리간드에 따라 형성되는 미네랄 구조 및 특성이 제어 될 수 있었다.

음이온성 관능기가 도입된 수화젤 표면에서의 미네랄리제이션으로 **그림 11**와 같이 명확하게 특정 방향으로 배향된 calcium phosphate 결정이 형성되었다.

중요한 이슈 중의 하나는 자연골의 형성 메커니즘을 모방한 이 기술로부터 형성된 calcium phosphate가 자연골의 미네랄 결정과 결정특성 및 조성에 있어 유사한가를 밝히는 것이다. **그림 12**의 XRD 패턴으로부터 결정의 c-axis orientation으로부터 유발되는 (002) 및 (004) peak이 관찰되었고, energy dispersive X-ray spectroscopy(EDS) 분석으로부터 Ca/P molar ratio가 1.6±0.1임이 확인되었다. 이는 자연골의 결정특성 및 이온조성과 일치하는 것으로 생체모방형 인공골 소재개발 측면에서 수화젤 템플레이트로부터의 미네랄리제이션 기술이 높은 가치를 갖는다는 것을 알 수 있게 해주는 대목이다.

미네랄리제이션 기술을 이용해 수화젤 표면 및 내부에 calcium phosphate를 형성시키는 방법 이외에도, $-SO_3H$ 및 $-COOH$ 산

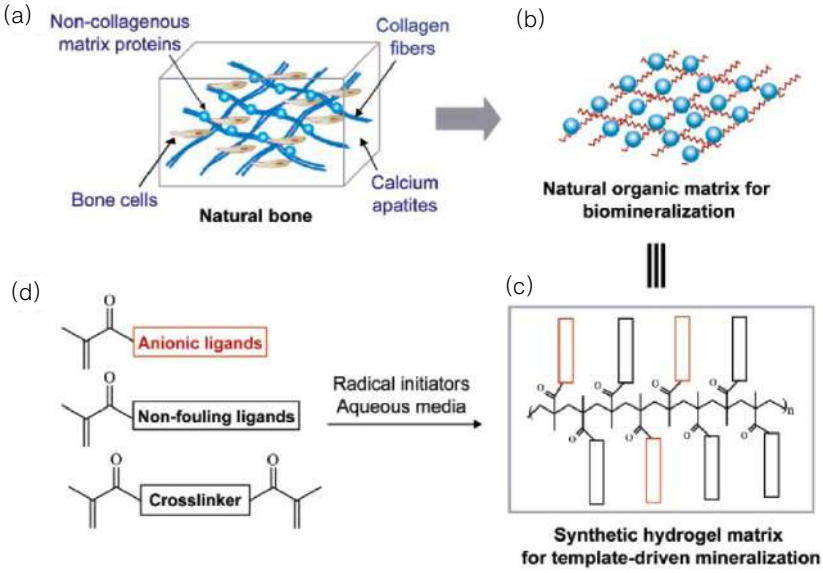


그림 9. 자연골의 구조 및 생체모방형 template-driven 미네랄리제이션을 위한 합성 수화젤 디자인.[42]

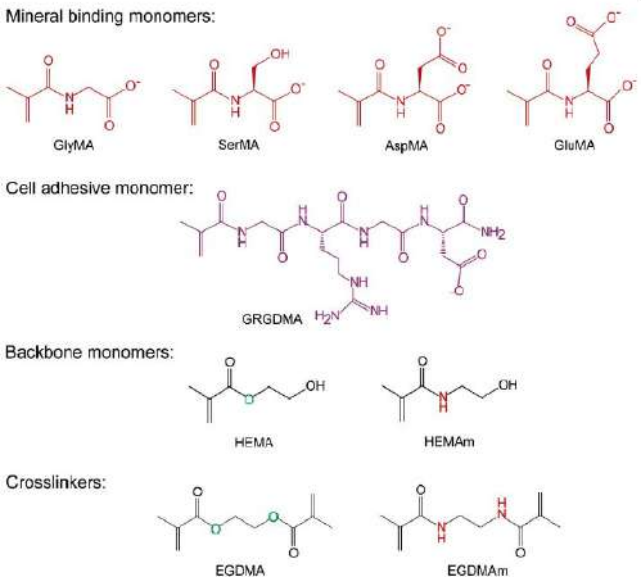


그림 10. Polymethacrylamide- and polymethacrylate-based 고분자 수화젤에 도입가능한 미네랄 바인딩 모노머 및 수화젤 합성을 위한 화합물.[42]

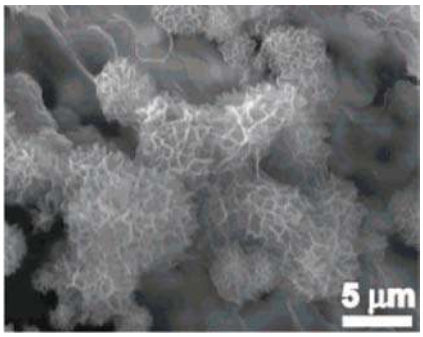


그림 11. 아미노산(glutamic acid) 구조를 갖는 pHEMAm-based 수화젤 표면에서의 바이오미네랄리지이션 및 calcium phosphate 구조.[42]

성기를 도입한 수화젤을 사용하여 calcium phosphate 미네랄을 형성하는 연구도 진행되고 있다.[18]

4.2 하이브리드 마이크로스피어

수화젤은 뛰어난 생체적합성 및 수화된 내부구조를 갖을 뿐만 아니라 단백질 등의 생체 고분자의 도입이 용이하다는 장점이 있다.[43] 전술한 바와 같이 천연 및 합성 수화젤로부터 미네랄리제이션을 유도하고자 하는 시도가 조직공학용 스캐폴드의 큰 수요에 의해 많은 관심을 받고 있다.[44] 수화젤 스피어가 약물, 단백질 및 유전자 전달체로 한 축을 차지하고 있으나, 수화젤 스피어로부터의 생체모방형 미네랄리제이션에 대한 연구는 거의 보고된 바 없다. 실제 자연에는, 특별한 생리활성이 부여된 다양한 형태의 미네랄 형성을 위해 생체 수화젤 스피어에 바이오미네랄리제이션이 되는 많은 예가 존재한다.[45-47] 한가지 예는, 유기 젤에 $CaCO_3$ 결정이 침적된 곤충의 눈 구조이다.[48] Wang 등은 디스크, 셀, 반구상체 등의 독특한 형상을 갖는 유무기 복합체를 형성하기 위해 수화젤 스피어에 *in-situ* 미네랄리제이션을 유도한 연구 결과를 발표한 바 있다.[49]

그림 13은 수화젤 마이크로스피어 내부에서의 *in-situ* $CaCO_3$ 미네랄리제이션에 대한 모식도를 나타내었다. 첫 단계로 수화젤 내부에 $CaCl_2$를 흡수시키고 $(NH_4)_2CO_3$를 통해 CO_2 가스를 공급하게 되면 수화젤 내부에 $CaCO_3$ 미네랄이 형성된다.

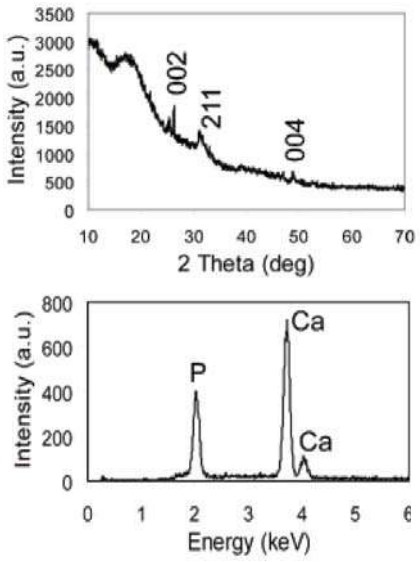


그림 12. 음이온성 수화젤-미네랄 하이브리드의 XRD 패턴 및 EDS 분석 데이터(Ca/P ratio=1.6±0.1).[42]

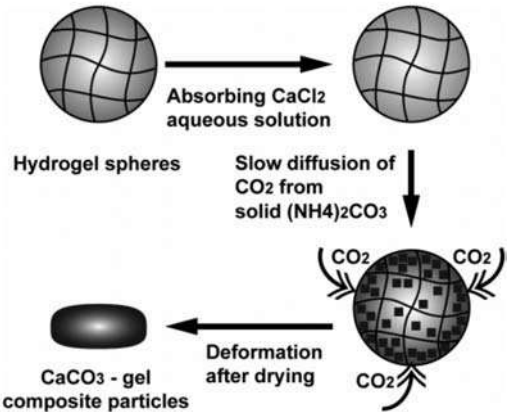
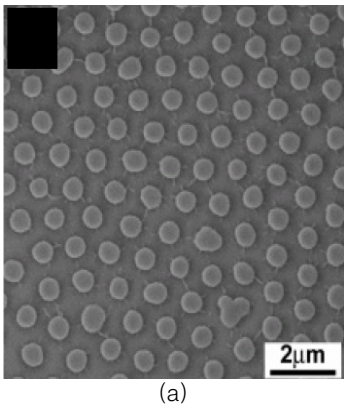
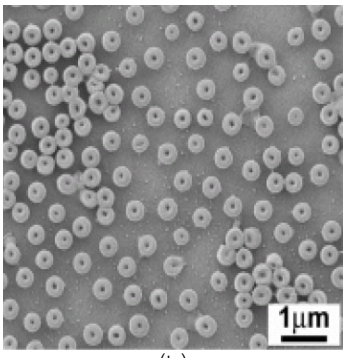


그림 13. Poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-(4-vinylpyridine))(PNIPVP) 수화젤 마이크로스피어 내부에서의 in-situ $CaCO_3$ 미네랄리제이션 모식도.[49]

그림 14는 5시간의 미네랄리제이션 과정을 통해 얻어진 균일한 크기의 하이브리드 마이크로스피어의 이미지를 보여주고 있다. 또한, 흥미로운 결과는 미네랄리제이션 과정 중에 CdTe 나노결정을 도입하게 되면 적혈구(red blood cell)을 연상시키는 cell-like 구조의 하이브리드 스피어가 얻어진다는 점이다. 이 현상은 CdTe 결정 표면의 COOH 그룹에서 유입되는 CO_2 가스를 소비하여 calcification됨으로써 젤 스피어어 내부에 밀도 높은 층을 형성하게 되므로 CO_2 가스의 유입이 차단된다. 최종적으로 얻어지는 구조는 대부분의 $CaCO_3$ 결정이 바깥층으로 국부화되면서 중앙부에 동공구조가 생기는 것으로 해석된다. 이 연구 결과는 CdTe 나노결정의 도입으로 스피어 구조제어 및 발광특성(photoluminescence)까지 도입된 고분자/세라믹 하이브리드 스피어 제조가 가능하다는 측면에서 흥미롭다.



(a)



(b)

그림 14. (a) *In-situ* 미네랄리제이션을 통해 얻어진 PNIPVP 수화젤의 SEM 이미지, (b) CdTe 나노결정이 로딩된 PNIPVP 수화젤의 SEM 이미지.[49]

수화젤 스피어를 이용한 미네랄리제이션은 단위스피어로부터 다양한 구조의 하이브리드 스피어 제조를 가능하게 하고, soft한 수화젤을 기계적 물성이 향상된 hard 스피어로의 전환을 가능하게 한다. 이와 같은 특징적인 물성 변화를 통해 수화젤 스피어를 이용한 새로운 응용분야의 도출이 가능하리라 사료된다.

5. 하이브리드 나노파티클 소재

유기 및 무기 나노파티클 소재는 표적지향형 약물전달 및 분자이미징 분야에 폭넓은 응용가능성을 가지며 현재까지 국내외 많은 그룹의 주요 연구테마이다.[50-53] 바이오미네랄리제이션 기술을 이용한 하이브리드 나노파티클 소재는 현재 연구 및 응용되고 있는 유기 나노입자에 새로운 기능을 부여하여, 간편한 방법으로 약물의 로딩을 유도할 수 있다.[54] 또한, 정맥주사를 통해 인체 내에 도입하였을 때 나노파티클의 구조적 안정성을 유지시킬 수 있고 선택적으로 세포 내부에서 약물을 방출할 수 있는 흥미로운 기능에 대한 연구결과가 최근에 보고된 바 있다.[55] 본 장에서는 약물전달체로 응용가능성이 제시되어 온 리포솜(liposome) 및 고분자 미셀(polymer micelle) 나노입자 또는 나노케이지(nanocage) 템플레이트로부터 미네랄리제이션을 통해 하이브리드 나노구조체를 제조하는 기술에 대해 논하고자 한다.

5.1 Biomineralization on Liposomes

Ostafin 등은 미네랄리제이션 기술을 통해 나노크기의 리포솜 외곽에 수 nm 두께의 무기 calcium phosphate 층을 형성시키는 일에 대해 집중적인 연구를 수행하였다.[56,57] 미네랄화된 나노리포솜의 제조는 먼저 프리커서로 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate(DOPA)를 사용하여 리포솜을 형성한 후, $CaCl_2$ 수용액을 첨가하여 리포솜 음이온성 표면에 칼슘이온을 국부적으로 존재시킨다. 다음 단계로, phosphoric acid를 첨가하여 리포솜 표면 위에서 calcium phosphate 결정의 형성을 유도한다. **그림 15**에서 보는 바와 같이 외곽 층이 세라믹 아파타이트로 균일하게 코팅된 리포솜 나노파티클이 형성되었으며, 미네랄리제이션 시간에 따라 calcium phosphate 아파타이트 층의 두께가 점차 증가함을 알 수 있다. **그림 16**은 시간에 따른 파티클 크기 및 미네랄화된 shell의 두께 변화를 나타내었다. 이는 미네랄리제이션 반응을 종결시키는 carboxyethylphosphoric acid(CEPA)를 각 시간마다 첨가함으로써 얻어지는 하이브리드 구조체를 분석한 결과이다.

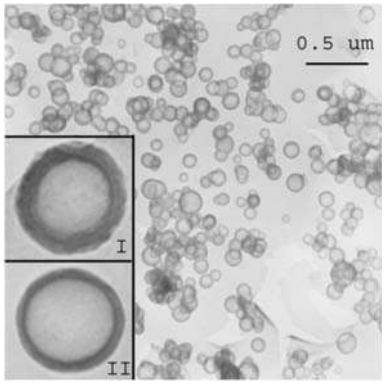


그림 15. Calcium phosphate가 코팅된 리포솜의 TEM 이미지. (I) 15분 미네랄리제이션 후 및 (II) 150분 미네랄리제이션 후 무기세라믹 층의 두께 변화.[57]

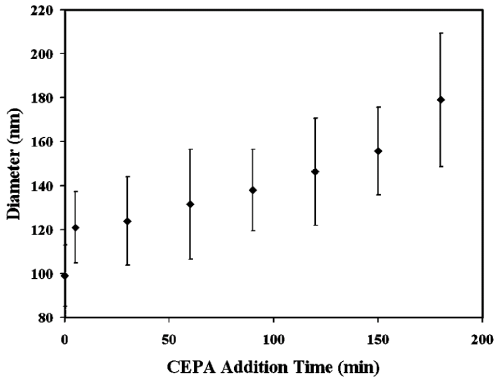


그림 16. 시간에 따른 파티클 크기 및 미네랄화된 shell의 두께 변화.[57]

Calcium phosphate 고체상의 용해도에 영향을 미치는 주요 인자는 수용액의 pH 및 이온농도로 알려져 있다. 미네랄화 된 리포솜은 다양한 친수성 약물의 전달체로서 응용 가능성이 높을 것으로 예상된다. 무기 calcium phosphate층의 두께 제어 및 stoichiometry 조절을 통한 결정상의 제어를 통해 용해 kinetics를 제어하는 기술이 뒤따른다면 내부에 로딩된 약물의 방출속도를 자유롭게 제어할 수 있을 것으로 사료된다. 소개된 기술 외에 현재 리포솜 내부에서 calcium phosphate 결정 형성을 유도하는 시도도 이루어지고 있다.[58,59]

5.2 Biomineralization on Polymer Nanocages

현재, 항암약물 및 유전자 전달체로써 응용범위가 넓은 고분자 미셀 등의 나노입자는 다양한 구조의 양친성 고분자의 자기조립으로 형성되고 있다. 종양조직으로의 선택적인 전달 및 EPR(enhanced permeation and retention) 효과를 극대화하기 위해서 특정 부위에 도달하기 전까지 나노파티클의 구조가 유지되어야 한다. 고분자 자기조립 구조는 고분자 체인과의 평형상태에 있기 때문에, 실질적인 적용을 위해 인체에 도입 시, 체액으로 인한 희석 및 혈류내 성분의 작용으로 자기조립의 붕괴가 빈번하게 일어난다. 따라서, 이러한 낮은 구조적 안정성이 단점으로 지적되어 왔다. 최근, Mann 등은 shell-crosslinked poly(acrylic acid-*b*-isoprene)(PAA-*b*-PI) 고분자 마이셀 및 나노케이지(nanocages)를 바이오미네랄리제이션의 템플레이트로 사용하여 새로운 개념의 하이브리드 나노파티클을 개발하였다.[36] 리포솜 외곽에서의 미네랄 형성과 같은 메커니즘으로 NaH_2PO_4 및 $CaCl_2$ 수용액을 도입하여 **그림 17**와 같이 가교된 PAA 미셀 바깥층에 calcium phosphate 아파타이트 층이 형성된 것을 확인하였다. EDS 분석 결과도 calcium phosphate 구성성분이 나노파티클에 존재한다는 것을 입증하고 있다.

미네랄리제이션 된 외곽 층의 저분자량 화합물에 대한 투과도(permeability)에 대한 실험을 통해(**그림 18**), 나노파티클 내부로의 β-carotene의 로딩 변화를 조사한 결과, 10 nm의 미네랄 층을 갖는 나노파티클의 경우 50% 정도 투과도의 감소가 일어났고, 20 nm의 경우는 β-carotene의 투과가 완전히 일어나지 않았다. 이 특성은 세라믹 층의 두께 조절을 통해 로딩된 약물의 방출을 정밀하게 제어 또는 제한할 수 있음을 시사한다.

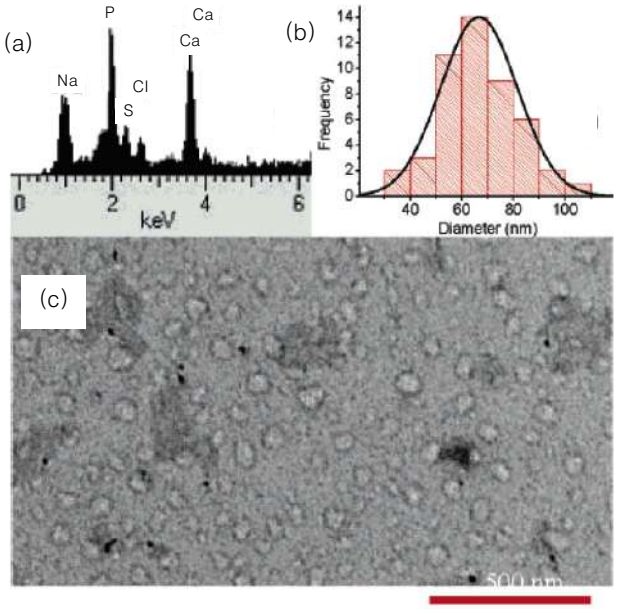


그림 17. (a) 미네랄리제이션 과정을 거친 고분자 nanocage의 EDX 분석 결과, (b) nanocage의 파티클 크기 분포, (c) TEM 이미지.[36]

5.3 유전자 전달용 하이브리드 나노파티클

현재까지, 유전자 전달분야에서 연구된 나노파티클은 자극 감응성, 표적지향 특성 등의 기능 도입이 쉬운 유기 고분자 재료에 집중되어 왔으나, 최근 인산칼슘 등의 무기재료를 이용한 시도도 이루어지고 있다.[55,60] 여러 다양한 분야 중, 흥미로운 연구테마는, 고분자의 장점에 고분자재료에서는 기대하기 힘든 무기재료의 특성을 혼합한 유/무기 하이브리드 나노 컨테이너의 개발이다. 대표적인 무기재료는 인체의 뼈조직을 구성하는 calcium phosphate로, 체내에서 칼슘 양이온과 포스페이트 음이온으로 용해되므로, 체내에 무해한 특성을 갖고 있다. Calcium phosphate와 고분자를 사용한 대표적인 유무기 하이브리드 파티클은 **그림 19**에 나타내었다. 이는 PEG-*b*-poly(aspartic acid) 공중합체의 음이온성 aspartic acid 표면에서 바이오미네랄리제이션과 유사한 기전으로 calcium phosphate 결정이 형성되어 최종적으로 세라믹 코어 및 유기 쉘을 갖는 나노파티클이다. 이 하이브리드는 유전자, 단백질 등의 이온성 거대분자 약물을 간단한 과정을 통해 로딩할 수 있다는 장점이 있다.[54,55]

특히, 이 하이브리드 나노전달체를 사용하여 약물 및 유전자의 세포내 선택적 전달(intracellular drug delivery)이 가능하다는 최근의 연구결과가 보고된 바 있다. Kataoka 등은 **그림 20**과 같이 나

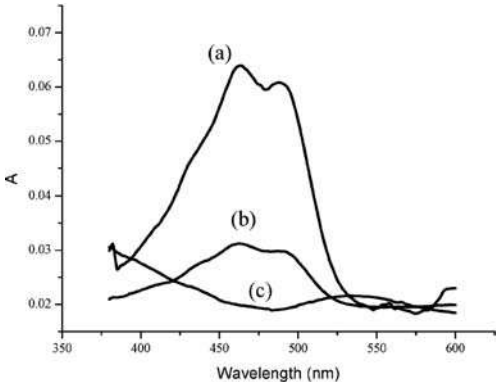


그림 18. Shell-crosslinked PAA-*b*-PI micelle의 β-carotene 봉입. (a) unmineralized polymer, (b) 10 nm calcium phosphate 코팅층을 갖는 미네랄화 된 미셀, (c) control solution(no polymer).[36]

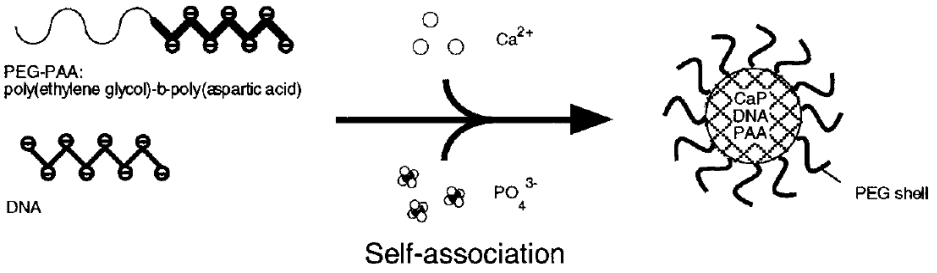


그림 19. DNA가 봉입된 calcium phosphate/PEG-PAA 나노하이브리드 입자의 *in-situ* 제조 과정.[54]

노하이브리드의 용해 kinetics에 대한 연구를 통해, extracellular compartment에서는 인산칼슘 코어의 분해가 일어나지 않아 유전자의 방출이 일어나지 않으나, 칼슘 및 포스페이트 이온의 농도가 급격히 변하는 intracellular compartment에서 선택적으로 인산칼슘이 용해되어 유전자가 방출되는 특이한 메커니즘의 가능성을 보고한 바 있다.[55] 체계적인 연구가 좀 더 이루어진다면, 신개념의 선택적 약물전달 시스템으로서의 높은 응용 가능성을 기대해 볼 수 있을 것이다.

6. Biomineralization on Engineered Surfaces

바이오미네랄리제이션은 템플레이트로 나노섬유, 수화젤, 나노/마이크로파티클 등의 구조체를 기반으로 이루어지나, 기본 단위는 결국 유기 관능기 표면에서의 결정화 과정과 밀접한 관계를 갖고 있다. 따라서, 기능화되고 미네랄리제이션 과정이 비교적 쉽게 이해되는 2차원 표면에서의 미네랄 형성에 대한 연구동향을 파악하는 것이 큰 의미가 있다. 현재 미네랄 형성을 유도하는데 사용되는 기능성 표면은 크게 langmuir monolayer, self-assembled monolayer(SAM) 및 surface-imprinted polymer 세 부류로 나눌 수 있다. 선행 두 부류의 유기 템플레이트는 고분자 기반의 소재는 아니나, 다양한 고분자 박막 및 특성이 이슈가 되고 있으므로, 새로운 구조 및 특성의 하이브리드 표면기술 개발에 유용할 것으로 사료된다.

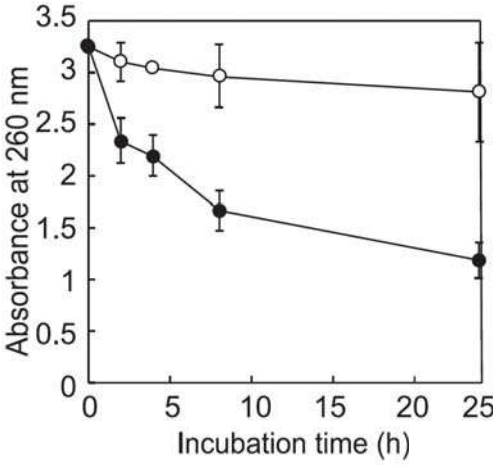


그림 20. Intracelluar(●) 및 extracellular(○) compartment 조건에서의 하이브리드 나노파티클의 dissolution kinetics.[55]

6.1 Biomineralization on Langmuir Monolayers

자연뼈 및 치아 조직의 형성 기전을 모사하는 바이오미네랄리제이션 기술이 주목받고 있으나, 삼차원 구조에서는 유기 템플레이트로부터의 미네랄 형성이 이온확산 속도 및 구조적 불균일성 등의 다양하고 예측하기 어려운 변수에 의해 결정된다. 따라서, 2차원 표면에서의 미네랄리제이션에 의한 무기결정 성장 및 제어를 통해 명확한 기전을 밝히고자 하는 연구가 중요한 이슈가 되어 왔다. Heywood 등은 fatty acids, aliphatic phosphate, aliphatic sulfate 등의 산성 monolayer하에서의 $CaCO_3$ 및 $BaSO_4$ 결정에 대해 광범위한 연구를 수행한 바 있고,[61-64] Cooper 등은 aspartic acid 등의 아미노산 구조를 갖는 양친성 구조의 필름을 이용한 결정화에 대한 연구를 발표한 바 있다.[65,66] 또한, 바이오미네랄리제이션을 유도하는 산성 단백질 역할 기능의 poly(acrylic acid)를 첨가하여 $CaCO_3$ 미네랄 형성을 촉진시키는 방법도 보고 되었다.[67] Monolayer로부터의 calcium phosphate 결정핵 형성 및 성장은 **그림 21**에 나타낸 바와 같이, 다단계 메커니즘으로 설명될 수 있다.[68] 먼저, 칼슘 및 포스페이트 이온이 포함된 아파타이트 과포화 수용액에 air-water 계면에서 분자인식을 통한 monolayer가 형성되면 이온인력으로 포스페이트 음이온 및 칼슘 양이온이 monolayer아래에 집중되어 과포화 상태에 이르게 된다. 미네랄리제이션에 의해 무정형의 calcium phosphate 결정이 형성되고 최종적으로 결정성 calcium phosphate로의 상전이가 일어나게 된다. 이 현상은 Mann 등에 의해 보고된 바와 같이 다양한 생물학적 미네랄리제이션 현상의 결정화 과정으로 설명되고 있다.[69]

그림 22의 SEM 및 SAED 패턴은 dipalmitoylphosphatidylcholine(DPPC) monolayer로부터 형성된 calcium phosphate 아파타이트가 규칙적인 dandelion-like 형상을 가지며, 결정이 monolayer 면에 perpendicular한 방향으로 형성되었음을 보여주고 있다.

6.2 Biomineralization on Self-Assembled Monolayers(SAM)

Self-assembled monolayer(SAM) 형성 기술은 정밀하게 제어된 표면 구조 및 기능성 관능기를 표면에 도입하는 데 있어 큰 위력을 발휘하는 기술로 센싱소자 등에서 광범위하게 도입되고 있다.[70,71] 현재까지, Au 및 Ti-based substrate 위에 도입된 기능화된 SAM 표면으로부터 아파타이트 미네랄리제이션에 대한 연구 보고가 잇따르고 있다.[72] **그림 23**에 나타낸 바와 같이, 이 기술은 SAM 형

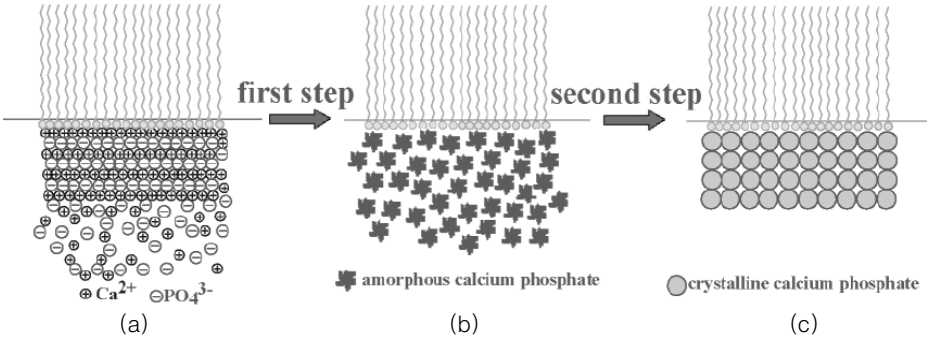
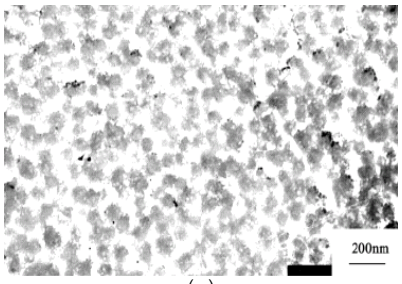


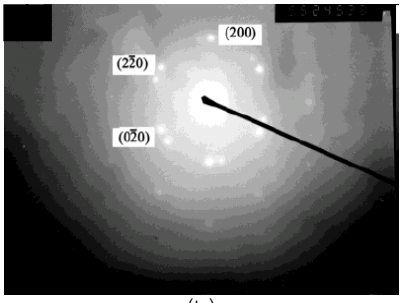
그림 21. Langmuir monolayer 표면에서의 인산칼슘 미네랄 형성.[68]

성 및 PO_4H_2, COOH, 및 OH 등의 기능기를 도입한 후 표면에서의 미네랄리제이션을 유도해 calcium phosphate 결정 코팅층을 형성하는 과정으로 설명될 수 있다.[73]

그림 24 같이, SAM 표면에서의 아파타이트 형성특성이 표면에 도입된 기능기에 따라 좌우됨을 알 수 있다. NH_2가 도입된 표면은 아파타이트 형성이 효율적으로 유발되지 않으나, COOH 산성 그룹이 도입된 표면은 균일한 아파타이트 층으로 광범위하게 덮여 있는 것을 관찰할 수 있다. 이는 천연구조체에서 바이오미네랄리제이션이 산성 단백질의 표면에서부터 이루어지는 메커니즘과 같은 맥락에서 해석될 수 있다.



(a)



(b)

그림 22. (a) Dipalmitoylphosphatidylcholine(DPPC) monolayer 표면에 형성된 calcium phosphate의 TEM 이미지, (b) SAED 패턴.[68]

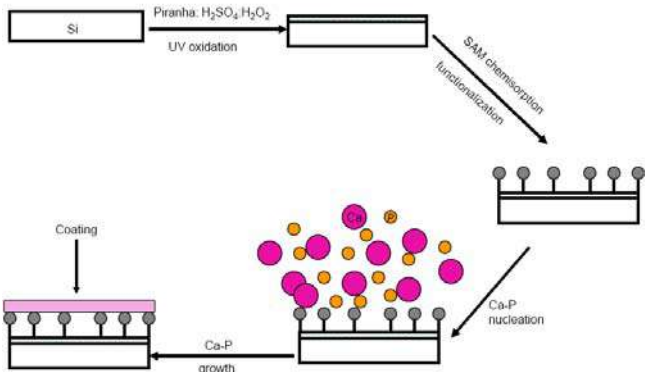


그림 23. 기능화된 silicon oxide의 표면에서의 바이오미네랄리제이션을 통한 calcium hydroxyapatite 코팅층의 합성과정.[73]

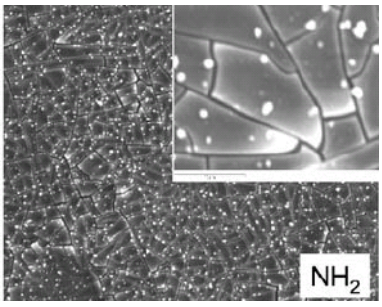
6.3 Biomineralization on Imprinted Polymer Surfaces

천연 바이오미네랄 및 복합체가 갖는 중요한 특징은 구성요소인 결정의 크기, 형상, 및 조직화를 놀랄만한 수준으로 정밀하게 제어한다는 데 있다. 따라서, 합성소재를 사용하여 미네랄 결정구조를 천연시스템 수준에서 제어하는 기술개발이 이루어진다면 기술의 파급효과는 폭넓을 것으로 예상된다. 현재까지, 저분자량 유기물, 고분자 또는 계면활성제 메조페이스(mesophase) 등이 구조제어에 따른 인력으로 무기소재의 성장 및 형상을 제어하는데 이용되어 왔다. D'Souza 등은 합성고분자에 결정 표면의 형상이 임프린팅 될 수 있으며 특정 결정 상의 성장을 템플레이팅 및 제어할 수 있다는 흥미로운 연구결과를 발표한 바 있다.[74] 고분자 합성은 **그림 25**에 나타낸 바와 같이 calcite 표면에 기능성 단량체(6-methacrylamidohexanoic acid)의 흡착 및 가교제인 divinylbenzene 존재하에 중합하여 결정표면의 임프린트를 만드는 과정과 관련된다. 최종적으로 calcite 템플레이트를 제거함으로써 거울상의 결정면을 갖고 calcite의 결정핵 형성을 촉진할 수 있는 고분자 매트릭스가 합성된다.

그림 26은 템플레이트 calcite 결정으로부터 임프린팅된 고분자 템프레이트가 calcium carbonate의 과포화(supersaturation) 수용액 내에서 calcite의 결정핵 형성 및 성장을 촉진한다는 결과를 보여주고 있다. 고분자 임프린팅 기술은 calcite뿐만 아니라 다양한 무기 결정의 directed and programmed nucleation을 유도할 수 있기에 큰 파급효과가 있다. 또한, 제어된 결정상, 형태, 모양을 갖는 결정 합성이 가능한 소자의 개발에 유용하게 도입될 수 있을 것으로 사료된다.

7. 결론

본 총설에서 소개한 바와 같이 바이오미네랄리제이션 현상은 천연물의 유기고분자 기반 템플레이트로부터 calcium phosphate, calcium carbonate 등의 무기 세라믹 결정의 형성, 성장, 및 제어와 관계되는 포괄적인 메커니즘으로 해석된다. 현재 바이오미네랄리제이션 기술을 이용해 제조되는 하이브리드 소재는 이와 같은 생



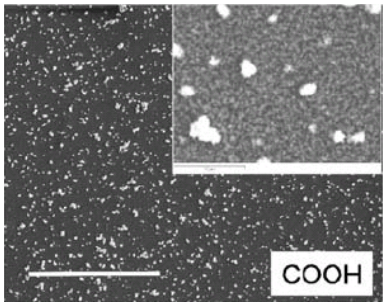


그림 24. NH_2 및 COOH로 기능화된 표면에서 형성된 calcium phosphate 미네랄의 SEM 이미지.[73]

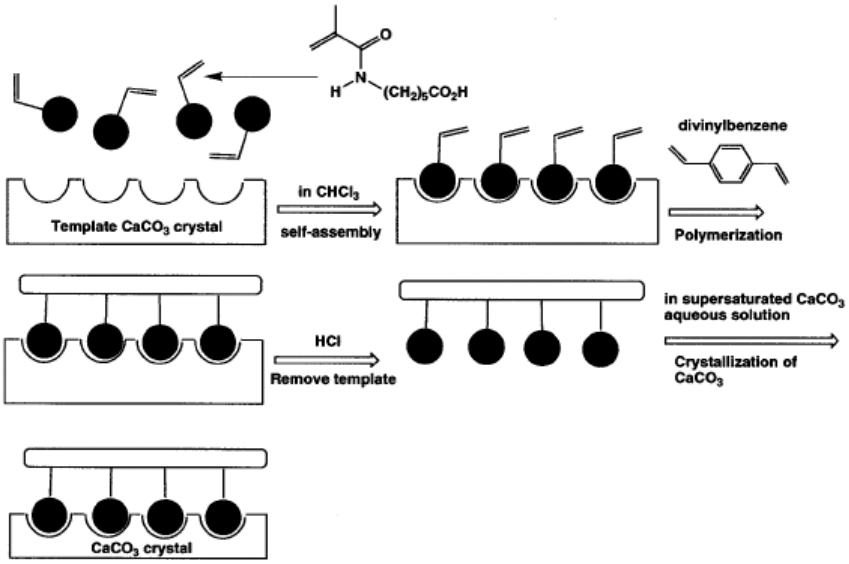


그림 25. 임프린팅된 고분자 표면으로부터의 calcite($CaCO_3$) 미네랄 형성 모식도.

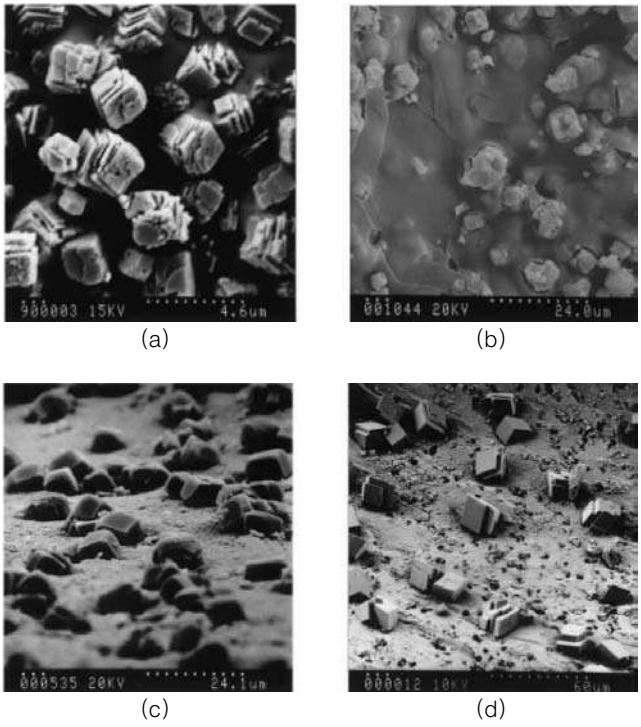


그림 26. 고분자 표면으로부터의 calcite 결정핵 형성. (a) 템플레이트 calcite 결정, (b) Calcite로 임프린팅된 고분자, (c) and (d) 임프린팅된 고분자표면에서의 calcite 형성.

체모방형 메커니즘으로 구현되어 왔다. 다양한 고분자와 세라믹 하이브리드화 기술 가운데, 바이오미네랄리제이션에 의한 하이브리드는 새로운 개념의 나노구조체, 조직재생용 스캐폴드, 약물전달체 등 나노/바이오 융합기술 분야에 높은 응용 가능성을 갖는 소재로서 인식되고 있다. 현재까지의 연구동향은 고분자 나노섬유, 수화젤, 나노/마이크로파티클, 기능성 표면, 및 자기조립체 등 다양한 구조 및 형상의 템플레이트를 사용하여 무기 결정을, 결정화도, 결정화 방향, 및 결정구조 측면에서 제어하는 기술이 주축을 이루어 왔다. 각각의 하이브리드 구조체가 갖는 특성 및 바이오 분야에서의 응용 가능성이 제시되어 왔으나, 고분자 기능기와 미네랄리제이션에 관여되는 다양한 이온과의 상호작용 및 결정화 메커니즘의 명확한 규명이 필요하다. 또한, 유기 및 고분자 화학자들과 무기 및 생화학자의 계속적인 협력으로 천연 생산물과 유사한 복합물질 및 결정 형태를 형성하기 위해 새로운 개념과 방법을 발견하는 것이 바람직하다. 천연 바이오미네랄리제이션 과정을 규명하는 지속적이고 기본적인 노력들이 차세대 산업에 큰 임팩트를 가져올 것이라 예상된다. 하이브리드 융합소재가 고분자 또는 세라믹 단일 소재만으로 구현하기 어려운 기능을 가능하게 한다는 점에서 바이오미네랄리제이션에 대해 좀 더 깊이 있는 연구가 이루어진다면 BT-NT 분야에 응용 가능한 새로운 개념의 융합소재로서 한발 더 다가설 것으로 기대된다.

참고문헌

1. S. Inagaki, S. Guan, T. Ohsuna, and O. Terasaki, *Nature*, **416**, 304 (2002).
2. I. Gorelikov, L. M. Field, and E. Kumacheva, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15938 (2004).
3. J. M. Helt, C. M. Drain, and G. Bazzan, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 9371 (2006).
4. W. L. Murphy and D. J. Mooney, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 1910 (2002).
5. S. A. Hutchens, R. S. Benson, B. R. Evans, H. M. O'Neill, and C. J. Rawn, *Biomaterials*, **27**, 4661 (2006).
6. M. Giorgetti, M. Berrettoni, S. Zamponi, P. J. Kulesza, and J. A. Cox, *Electrochimica Acta*, **51**, 511 (2005).
7. H. J. Lee, H. W. Choi, K. J. Kim, and S. C. Lee, *Chem. Mater.*, **18**, 5111 (2006).
8. H. W. Choi, H. J. Lee, K. J. Kim, and S. C. Lee, *J. Colloid Interface Sci.*, 304, 277 (2006).

9. S. C. Lee, H. W. Choi, H. J. Lee, K. J. Kim, J. H. Chang, S. Y. Kim, J. Choi, K.-S. Oh, and Y.-K. Jeong, *J. Mater. Chem.* (in press).
10. Y. Chujo and T. Saegusa, *Adv. Polym. Sci.*, **100**, 11 (1992).
11. Y. Chujo, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.,* **1**, 806 (1996).
12. K. Naka and Y. Chujo, *Chem. Mater.,* **13**, 3245 (2001).
13. P. Calvert and P. Rieke, *Chem. Mater.,* **8**, 1715 (1996).
14. J. D. Hartgerink, E. Beniash, and S. I. Stupp, *Science*, **294**, 1684 (2001).
15. C. Liand and D. L. Kaplan, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.,* **7**, 265 (2003).
16. B. Zhao, H. Hu, S. K. Mandal, and R. C. Haddon, *Chem. Mater.*, **17**, 3235 (2005).
17. W. Tjandra, J. Yao, P. Ravi, K. C. Tam, and A. Alamsjah, *Chem. Mater.*, **17**, 4865 (2005).
18. O. Grassmann and P. Löbmann, *Biomaterials*, **25**, 277 (2004).
19. A. Oyane, M. Uchida, C. Choong, J. Triffitt, J. Jones, and A. Ito, *Biomaterials*, **26**, 2407 (2005).
20. B. L. Smith, *Nature*, **399**, 761 (1999).
21. L. Addadi and S. Weiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,* **50**, 49 (1986).
22. S. Weiner and H. D. Wagner, *Annu. Rev. Mater. Sci.,* **28**, 271 (1998).
23. W. Traub and S. Weiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.,* **86**, 9822 (1989).
24. R. J. Doyle and K. G. Taylor, *Cells Mater.*, **4**, 91 (1994).
25. S. M. Awramik, *Photosynth. Res.*, **33**, 75 (1992).
26. P. A. Dieppe and P. D. Calvert, *Crystals and Joint Disease ;* Chapman and Hall : London, 1983.
27. M. J. Lochhead, S. R. Letellier, and V. Vogel, *J. Phys. Chem. B,* **101**, 10821 (1997).
28. E. DiMasi, V. M. Patel, M. Sivakumar, M. J. Olszta, Y. P. Yang, and L. B. Gower, *Langmuir*, **18**, 8902 (2002).
29. L. Brecevic, V. Nöthing, D. Kralj, and S. Popvic, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.,* **92**, 1017 (1996).
30. N. Spanos, P. G. Koutsoukos, *J. Phys. Chem. B,* **102**, 6679 (1998).
31. S. Mann, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.,* 3953 (1997).
32. S. Mann, *Nature*, **332**, 119 (1988).
33. S. Mann, *Nature*, **365**, 499 (1993).
34. S. Mann and G. Ozin, *Nature*, **382**, 313 (1996).
35. S. I. Stupp and P. V. Braun, *Science*, **277**, 1242 (1997).
36. K. K. Perkin, J. L. Turner, K. L. Wooley, and S. Mann, *Nano Lett.*, **5**, 1457 (2005).
37. W. Zhang, S. S. Liao, and F. Z. Cui, *Chem. Mater.*, **15**, 3221 (2003).
38. J.-H. Bradt, M. Mertig, A. Teresiak, and W. Pompe, *Chem. Mater.*, **11**, 2694 (1999).
39. J. Song, E. Saiz, and C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.,* **125**, 1236 (2003).
40. T. Kokubo and H. Takadama, *Biomaterials*, **27**, 2907 (2006).
41. J. Watanabe and M. Akashi, *Biomacromolecules* (in press).
42. J. Song, V. Malathong, and C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.,* **127**, 3366 (2005).
43. B. R. Saunders and B. Vincent, *Colloid Polym. Sci.,* **9**, 275 (1997).
44. K. Y. Lee and D. J. Mooney, *Chem. Rev.*, **101**, 1869 (2001).
45. S. Mann, *Biomineralization, principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 2001.
46. S. Mann, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **39**, 3392 (2000).
47. E. Dujardin and S. Mann, *Adv. Eng. Mater.*, **4**, 461 (2002).
48. M. F. Land and D. E. Nilsson, *Animal Eyes*, Oxford University Press, Oxford, 2001.
49. M. Kuang, D. Wang, M. Gao, J. Hartmann, and H. Möhwald, *Chem. Mater.*, **17**, 656 (2005).
50. S. C. Lee, Y. Chang, J.-S. Yoon, C. Kim, I. C. Kwon, Y.-H. Kim, and S. Y. Jeong, *Macromolecules*, **32**, 1847 (1999).
51. K. M. Huh, S. C. Lee, Y. W. Cho, J. Lee, J. H. Jeong, and K. Park, *J. Controlled Release*, **101**, 59 (2005).
52. S. C. Lee, K. M. Huh, J. Lee, Y. W. Cho, R. E. Galinsky, and K. Park, *Biomacromolecules*, in press.
53. Q. Huo, J. Liu, L.-Q. Wang, Y. Jiang, T. N. Lambert, and E. Fang, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 6447 (2006).
54. Y. Kakizawa and K. Kataoka, *Langmuir*, **18**, 4539 (2002).
55. Y. Kakizawa, S. Furukawa, and K. Kataoka, *J. Controlled Release*, **97**, 345 (2004).
56. H. T. Schmidt and A. E. Ostafin, *Adv. Mater.*, **14**, 532 (2002).
57. H. T. Schmidt, B. L. Gray, P. A. Wingert, and A. E. Ostafin, *Chem. Mater.,* **16**, 4942 (2004).
58. P. B. Messersmith and S. Starke, *Chem. Mater.,* **10**, 117 (1998).
59. M. Michel, M. Winterhalter, L. Darbois, J. Hemmerle, J. C. Voegel, P. Schaaf, and V. Ball, *Langmuir*, **20**, 6127 (2004).
60. I. Roy, S. Mitra, A. Maitra, and S. Mozumdar, *Int. J. Pharm.,* **250**, 25, (2003).
61. B. R. Heywood and S. Mann, *Chem. Mater.*, **6**, 311 (1994).
62. S. Mann, B. R. Heywood, S. Rajam, J. D. Birchall, *Nature*, **334**, 692 (1988).
63. P. J. J. A. Buijnsters, J. J. J. M. Donners, S. J. Hill, B. R. Heywood, R. J. M. Nolte, B. Zwanenburg, N. A. J. M. Sommerdijk, *Langmuir*, **17**, 3623 (2001).
64. B. R. Heywood and S. Mann, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4681 (1992).
65. S. J. Cooper, R. B. Sessions, and S. D. Lubertkin, *Langmuir*, **13**, 7165 (1997).
66. S. J. Cooper, R. B. Sessions, and S. D. Lubertkin, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2090 (1998).
67. V. M. Patel, M. Sivakumar, M. J. Olszta, Y. P. Yang, and L. B. Gower, *Langmuir*, **18**, 8902 (2002).
68. L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, R.-J. Zhang, L. Zhang, Y.-D. Mu, J.-C. Hao, D.-J. Qian, and Y.-F. Lou, *Langmuir*, **20**, 2243 (2004).
69. S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum, and N. J. Reeves, *Science*, **261**, 1286 (1993).
70. M. Balz, H. A. Therese, M. Kappl, L. Nasdala, W. Hofmeister, H.-J. Butt, and W. Tremel, *Langmuir*, **21**, 3981 (2005).
71. D. Xu, D. Xu, X. Yu, Z. Liu, W. He, and Z. Ma, *Anal Chem.*, **77**, 5107 (2005).
72. Q. Liu, J. Ding, F. K. Mante, S. L. Wunder, and R. B. Baran, *Biomaterials*, **23**, 3103 (2002).
73. G. K. Toworfe, R. J. Composto, I. M. Shapiro, and P. Ducheyne, *Biomaterials*, **27**, 631 (2006).
74. S. M. D'Souza, C. Alexander, S. W. Carr, A. M. Waller, M. J. Whitcombe, and E. N. Vulfson, *Nature*, **398**, 312 (1999).