

홍합모사 고분자를 사용한 Material-Independent Surface Functionalization

Material-Independent Surface Modification Inspired by Mussel-Adhesion

홍선기¹ · 유인성² · 송인택¹ · 이해신^{1,2} | Seonki Hong¹ · Inseong You² · In Taek Song¹ · Haeshin Lee^{1,2}

¹Department of Chemistry, KAIST, 291 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-701, Korea

²Graduate School of Nanoscience & Technology (WCU), KAIST, 291 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-701, Korea

E-mail: haeshin@kaist.ac.kr

1. 서론

홍합은 수중 환경에서 거의 모든 표면에 강하게 붙어서 자라는 수중 생물이다. 이러한 홍합의 특이적인 접착력은 많은 연구자들에게 관심을 받고 있다. 홍합의 접착력에 관여하는 화학적 작용기를 모방한 폴리도파민/폴리노르에피네프린 표면 개질 기술은 자연의 홍합이 가지는 특성을 그대로 가지고 있어 염기성 pH의 수용액 조건에서 표면의 성질에 관계없이 거의 모든 표면에 뛰어난 표면 접착력을 나타낸다. 또한 폴리도파민/폴리노르에피네프린이 표면에 개질 되면 카테콜 작용기가 가지는 산화 환원 능력과 아민 작용기, 티올 작용기와의 공유 결합 형성을 통한 2차 표면 개질화가 가능하다. 한편 기존의 상용화 되어 있는 고분자에 도파민을 접합시켜 고분자에 표면 무관 접착성을 부여하고 이를 이용해 표면을 개질 하는 연구도 활발히 진행되었다. 이러한 자연 모방 표면 개질 기술은 다양한 생체/에너지 재료, 신소재 복합 재료 등의 개발에 응용되고 있으며, 다양한 분야에서 활용될 것으로 전망된다.

2. 홍합 접착 단백질의 개요

2.1 홍합 접착 단백질의 특이적 접착능력

바다에서 서식하는 홍합은 접착성을 가지는 단백질로 만들어진 섬유실(byssal thread)에 의해 돌이나 이끼, 수초

Author



홍선기

2009
2009-현재 한국과학기술원 화학과(학사)
한국과학기술원 화학과
석박사통합과정



송인택

2009
2009-현재 한국과학기술원 화학과(학사)
한국과학기술원 화학과
석박사통합과정



유인성

2009
2009-현재 서강대학교 화공생명공학과(학사)
한국과학기술원 나노과학기술학과
석박사통합과정



이해신

1997 KAIST 생명과학과(학사)
1997 GIST 생명과학과 석사수료
1997-1998 KAIST 생명과학과 연구원
2000-2002 KAIST 생명과학과 연구원
2002-2003 Department of Biochemistry and
Molecular Biology, The University
of Chicago, Researcher
2008 Biomedical Engineering,
Northwestern University(박사)
2008 Chemical Engineering, Koch Institute
for Cancer Research, MIT(Post-Doc.)
2008-현재 KAIST 화학과 및
나노과학기술학과 부교수

등에 붙어서 자라는 수중 생물이다. 이러한 홍합 접착 단백질은 일반적으로 실생활에서 사용되는 본드나 테이프 등이 물에 접촉하였을 때 접착성을 잃어버리는 것과 달리 수중 환경에서 강한 접착력을 가지기 때문에 연구 대상으로 많은 관심을 받고 있다. 또한 홍합 접착 단백질은 표면에 물질이 잘 달라 붙지 않는 것으로 알려진 폴리테트라플루오로에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE)을 비롯하여, 금속, 비금속, 유기 고분자, 무기물질 등의 대부분의 표면에서 모두 강한 접착력을 가지는 것으로 알려져 있어 접착 메커니즘(mechanism)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.¹

홍합의 이러한 접착능력은 홍합 단백질의 아미노산 조성 분석을 통해 밝혀진 아미노산인 도파(3,4-dihydroxyphenylalanine, DOPA)의 존재에서 기인하는 것으로 보고되었다.¹ DOPA

는 단백질이 형성될 때 티로신(tyrosine)의 해독 후 변형(post-translational modification)에 의해 형성되는 특이적인 아미노산으로써, 특히 홍합의 접착 섬유실을 구성하는 단백질 중에 표면과 직접 상호작용하는 접착 경계면에 존재하는 Mefp-3(Mytilus edulis foot protein-3)에서의 단백질 아미노산 조성에서 DOPA가 전체 아미노산의 20 mol%에 해당되는 매우 높은 비율로 존재한다는 것이 밝혀졌다. 그림 1의 아미노산 조성에서 볼 수 있듯이, 홍합 접착 단백질에서 높은 비율을 차지하는 일반적인 아미노산인 글리신(glycine), 아스파라긴(asparagine), 트립토판(tryptophan), 라이신(lysine)의 비율이 10 mol% 정도인 것에 반해, DOPA는 매우 특이적으로 높은 아미노산 함량을 가지는 것을 알 수 있고 이로부터 홍합 단백질의 특이적인 접착능력에 매우 중요한 역할을 수행함을 유추할 수 있다. 홍합의 또 다른 접착 경계면의 단백질인 Mefp-5에서 역시 DOPA의 비율이 28 mol%로 매우 높았으며, Mefp-5에서는 DOPA와 함께 라이신의 비율 또한 다른 단백질에 비해 높은 것으로 분석되었다.

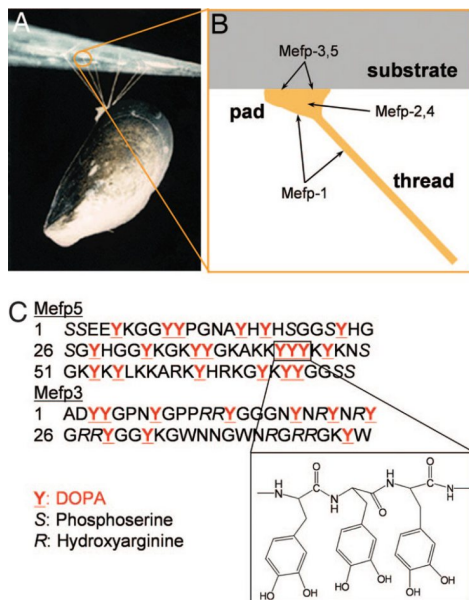
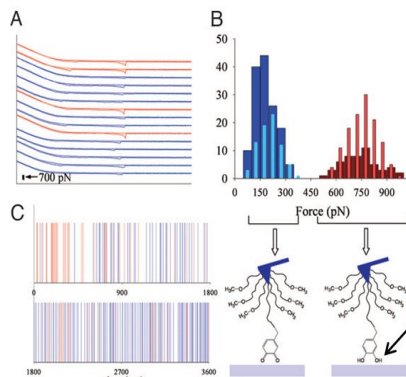


그림 1. 홍합 접착 단백질의 구조와 아미노산 조성.²

2.2 홍합 유래 접착 작용기의 단일분자 수준 접착력 측정

홍합 접착 단백질에서 접착력에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 DOPA의 화학적 작용기인 카테콜(catechol) 단일 분자의 표면 접착력이 2007년 Northwestern 대학의 Messersmith 교수팀과 이해신 박사에 의해 정량적으로 측정되었다.² 원자힘 탐침 현미경(atomic force microscopy, AFM)을 이용하여 카테콜이 부착된 탐침(tip)을 표면에 부착시켰다가 떼어낼 때 필요한 힘을 측정하였는데, 이렇게 측정된 카테콜 단일분자의 힘은 산화 티타늄 표면에 배위결합에 해당되는 정도의 결합력을 보였으며, 아민 작용기로 표면개질된 표면에서는 아민 작용기와 화학적으로 반응하여

산화 티타늄 표면: 배위결합



아민 작용기를 가지는 표면: 공유결합

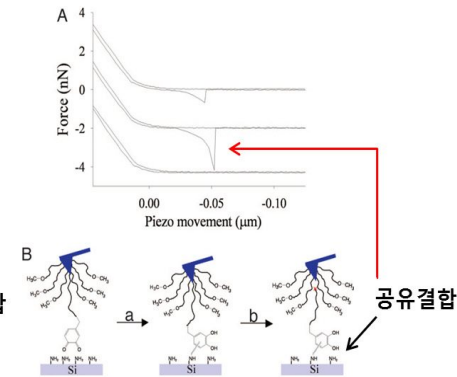


그림 2. 원자힘 탐침 현미경을 통해 측정된 산화 티타늄 표면과 아민 작용기를 가지는 표면에서의 서로 다른 카테콜-표면 결합력의 차이.²

공유결합을 형성하는 것으로 밝혀졌다. 그림 2는 두 가지의 서로 다른 표면에서 카테콜-표면의 결합 상태를 보여준다.

산화 티타늄 표면에서는 바다 속 환경과 비슷한 pH 8.3 또는 카테콜 산화를 위한 좀 더 높은 pH 9.7에서 측정했을 때에 두 가지 조건에서 모두 150-250 pN과 700-800 pN의 힘이 동시에 측정되었는데, 700-800 pN의 강한 힘은 카테콜과 산화티타늄 표면 사이의 단일분자 결합력을 나타내며, 150-250 pN은 카테콜이 산화된 형태의 퀴논(quinone)이 표면과 결합할 때의 결합력에 해당된다. 산화티타늄에서 카테콜이 배위결합에 해당되는 결합력을 가지는 반면에 아민 작용기로 표면개질된 경우에는 2.2 nN으로 산화 티타늄에 비해 큰 결합력이 측정되었는데, 이는 아민 작용기와 카테콜 사이에 형성되는 공유결합력이 매우 강해서 카테콜이 오히려 질화규소 재질의 탐침(Si_3N_4 tip)으로부터 떨어져 나가 표면의 아민과 비가역적으로 강하게 결합해 있는 상태로 해석되었다.

카테콜의 단일분자 수준에서의 접착력에 대한 연구로부터 카테콜 작용기가 다양한 표면에 서로 다른 화학적 결합을 형성하여 가역적/비가역적으로 상호작용할 수 있음이 제시되었으며, 이로부터 홍합의 접착 섬유실에 특이적으로 많은 비율을 차지하는 DOPA의 카테콜 작용기 역시 이와 같은 다양한 화학적 결합을 형성함으로써 다양한 표면에서의 높은 접착력을 나타내는 것으로 생각된다.

3. 홍합유래 접착성을 이용한 표면개질 그린 테크놀로지

3.1 폴리도파민 표면 개질 기법

3.1.1 폴리도파민 표면 개질의 특성 및 방법

홍합의 접착단백질에서 접착력을 나타내는 중요한 화학적 작용기인 카테콜로 구성된 단분자 물질인 도파민(dopamine)을 이용한 기능성 표면개질 기법이 2007년 발표되었다.³ 도파민은 카테콜과 아민 작용기를 가지는 분자량 153(Da)의 단분자 물질인데, 바다 속 환경과 동일한 염기성 pH 조건(pH 8.5)의 도파민 수용액에 표면 개질 하고자 하는 물질을 넣었다가 일정 시간 뒤에 꺼내면 물질의 표면에서 카테콜의 산화에 의해 폴리도파민(polydopamine, pDA) 코팅 층이 형성되는 것이 보고 되었다(그림 3). 이러한 폴리도파민 코팅은 선행 연구로부터 밝혀진 홍합의 접착 메커니즘을 이해하고 이로부터 중요한 화학적 작용기만을 선택적으로 모방하여 도입한 생체 모방 표면 개질 기법(bio-inspired surface modification)으로써, 홍합이 수중 환경에서 다양한 표면에서 접착력을 가지는 것과 마찬가지로

로 역시 수용액의 조건에서 표면의 화학적 성질에 관계없이 다양한 표면에 모두 뛰어난 표면 부착능력을 보여주었다.

위에서 보여준 특이적 표면 부착능력 뿐만 아니라 폴리도파민 표면개질은 그 자체의 화학적 성질에 의한 2차 표면개질을 가능하게 해서 다양한 응용으로 연구가 진행되고 있다. 표면에 형성되는 폴리도파민 코팅 막은 여전히 카테콜 작용기를 가지고 있는데, 카테콜 작용기는 산화, 환원 능력(redox power)을 가지고 있어 금속 이온(metallic ion) 환원 능력과 동시에 특이적인 접착성을 통해 표면에 고정화 할 수 있어 원하는 표면에 금속 나노입자를 형성시킬 수 있다. 또한 카테콜 작용기는 앞의 단일분자 접착력에서 볼 수 있듯이 아민 작용기와 공유결합을 형성할 수 있어 이로부터 아민 작용기를 가지는 다양한 분자를 표면에 역시 2차 표면개질로써 도입할 수 있다. 이와 함께 폴리도파민 표면 개질 자체의 효과를 이용한 연구도 진행되고 있는데, 폴리도파민 표면 개질을 통해 그림 4(a)에서 볼 수 있듯이, 이제까지 수용액 상에서 표면개질 되기 어려웠던 초소수성(super-hydrophobic) 표면의 코팅이 가능하게 되었으며,⁶ 그림 4(b)에서 볼 수 있듯이, 소수성의 폴리에틸렌(polyethylene, PE) 막을 폴리도파민으로 표면개질 함으로써 그 자체로 친수성 성질(hydrophilic)이 증가되는 효과를 가지게 되어 이를 리튬이차전지의 분리막(separator)으로 사용하는 연구도 진행되었다.⁷

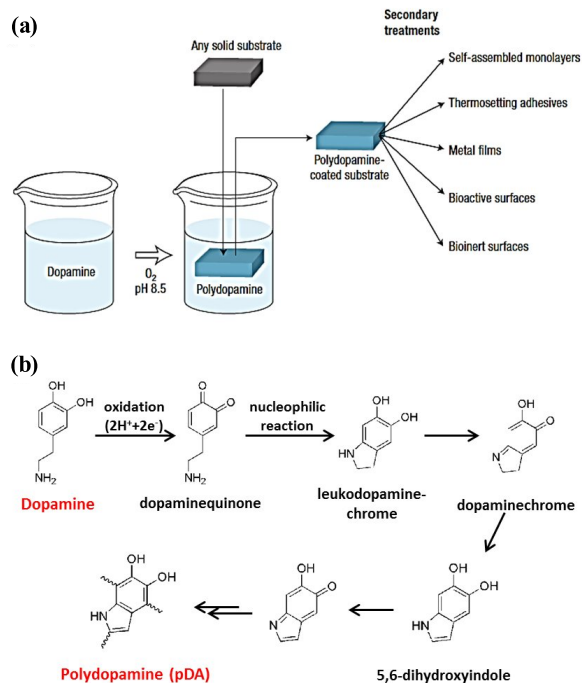


그림 3. (a) 폴리도파민 표면 개질의 방법 및 이를 이용한 2차 표면 개질에 대한 개요,⁴ (b) 도파민의 산화반응에 따른 구조적 변화 및 이에 따른 폴리도파민의 형성 단계.⁵

3.1.2 다양한 폴리도파민 코팅 기술

폴리도파민 표면 개질 기법이 처음 발표된 이래로 지금까지 코팅 속도를 조절하기 위한 다양한 코팅 방법이 보고되고 있다. 처음으로 발표되었던 폴리도파민 표면 개질 조건은 pH 8.5 염기성의 Tris 완충용액에 다른 산화제의 첨가 없이 공기 중의 산소기체를 산화제로 하여 개질하고자 하는 표면을 넣었다가 꺼내는 방법이었다. 염기성 조건뿐만 아니라 산성 또는 중성의 다양한 수용액에서 코팅을 하기 위한 방법으로 과황산 암모늄(ammonium persulfate)를 수용액상에서 도파민의 산화제로 사용하는 표면 개질 기법이 발표되었는데, 이러한 표면 개질 방법을 통해 염기성 조건에서 부식되는 표면과 pH조건에 민감하게 분해되는 표면을 염기성 표면이 아닌 산성 또는 중성 수용액에서 표면 개질 하여, 처음 발표되었던 폴리도파민 코팅과 같은 효과를 나타낼 수 있었다.⁸ 또한 구리 이온(Cu^{2+})을 산화제로 사용하는 폴리도파민 표면 개질 방법도 보고되었는데, 이 경우 역시 기존의 염기성 조건과 달리 pH 4.5의 산성 수용액 조건에서 진행되었으며, 염기성 수용액 상에서의 기존 방법은 코팅 두께가 40-50 nm 이상으로 증가하지 않고 멈추게 되는 반면에 구리 이온을 사용한 경우에는 70 nm 이상으로 시간이 지남에 따라 연속적으로 증가하였다.⁹ 그렇지만 자외선-가시광선 분광 광도법(UV-Vis spectrophotometry) 분석에서 기존의 폴리도파민 코팅 층에 나타나지 않는 새로운 흡수 파장이 나타나는 것으로 보아 카테콜과 구리 이온 사이의 어떠한 상호작용에 의해 기존의 폴리도파민과 약간 다른 코팅이 형성되는 것으로 보인다. 산화제가 아닌 무기 촉매를 사용한 폴리도파민 표면 개질 기법 또한 2011년에 보고되었다.¹⁰ 사용된 무기촉매인 오산화 바나듐 나노와이어(V_2O_5 nanowire)는 vanadium haloperoxidase를 생체모방(biomimetic)한 물질로써 효소와 동일하게 과산화효소(peroxidase)의 효과를 나타내었고, 이를 통해 중성 pH 조건의 수용액 상에서 폴리도파민이 형성됨을 알 수 있었다.

이렇게 산화제 및 용액의 pH 조건을 조절함으로써, 좀 더 다양한 표면에 원하는 코팅 시간에 따라 코팅 두께를 조절 하면서 폴리도파민 표면 개질 기법을 도입할 수 있게 되었고, 이를 통해 폴리도파민 표면 개질의 장점인 다양한 표면 접착력의 장점을 실현을 극대화 할 수 있다.

3.1.3 폴리도파민의 생체 독성

접착성을 가지는 생체재료는 현재의 외과적인 수술 방법을 획기적으로 대체할 수 있는 조직접착패드, 접착성 약물전달 패치 등의 다양한 의료기술의 앞으로 나아갈 방향

을 제시한다. 또한 세포 또는 조직 친화적인 물질은 조직 공학 기술을 이용한 인공조직 재생에서 매우 중요한 역할을 한다. 하지만 현재까지의 기술은 수중환경인 몸 안에서 강력한 접착력을 가지고 이를 유지하는 것에 어려움이 있다. 수중 환경에서 강력한 접착력을 보이는 폴리도파민 표면 개질 방법은 접착성뿐만 아니라 생체재료의 가장 중요한 요소인 생체친화적인(biocompatible) 코팅 기법으로써 다양한 접착성 생체재료 개발 및 조직공학 분야에서 매우 중요한 기술로 작용할 잠재력을 가지고 있다.

폴리도파민 코팅의 세포 독성은 이제까지 다양한 종류의 세포 배양 실험을 통해 밝혀져 왔다. 2010년 카이스트 박찬범 교수팀에서는 소수성 성질 때문에 세포가 잘 붙지 않는 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리테트라플루오로에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 실리콘 고무(silicon rubber), 그리고 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS) 등의 표면을 각각 폴리도파민으로 표면개질 한 후에 각각 뼈모세포(osteoblast) MC3T3-E1, 쥐의 크롬친화성세포종(pheochromocytoma) PC12 세포가 개질 후의 표면에 높은 생존율을 보이면서 부착되어 자라는 것을 확인하였다(그림 5).¹¹

이차원의 평면뿐만 아니라 고분자 나노튜브에서도 표면의 특성에 관계없이 폴리도파민으로 표면개질 되었으며, 이렇게 개질된 나노 튜브는 human umbilical vein endothelial cells(HUVECs)가 역시 높은 생존율을 보이면서 부착되었다.¹² 이렇게 만들어진 혈관 내피세포 친화

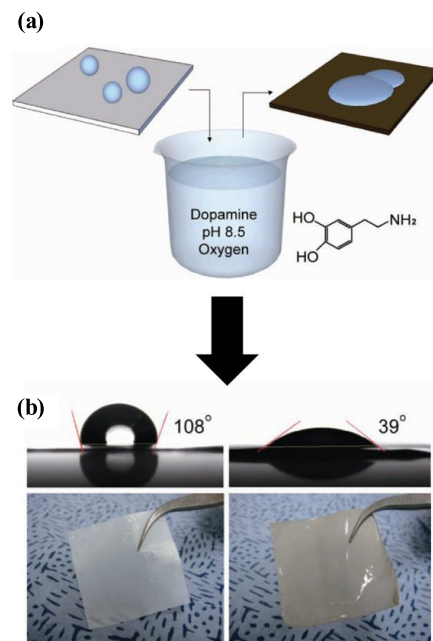


그림 4. (a) 폴리도파민 코팅의 개요,⁷ (b) 폴리도파민 표면 개질 전, 후의 폴리에틸렌 분리막.⁷

적인 나노튜브는 혈관재생을 위한 조직공학에서 중요한 인공기질(scaffold)로 응용될 수 있다. PLCL(poly-L-lactide-co-ε-caprolactone) 표면에서의 폴리도파민 표면 개질 후 나타난 근아세포(myoblast) C2C12 cell의 표면 친화력 또한 폴리도파민 표면 개질 기법의 세포 친화성을 보여준다.¹³ 세포 독성을 가지지 않으면서 동시에 높은 세포부착 능력을 보이는 폴리도파민 표면개질은 세포 패턴형성으로 응용될 수 있다. 기존의 리소그래피(lithography) 기법으로 원하는 표면에 폴리도파민을 패턴으로 코팅한 뒤에 세포를 키움으로써, 세포 친화적인 폴리도파민 패턴을 따라 세포가 패턴을 이루면서 부착되어 자라도록 할 수 있으며, 박찬범 교수팀에서 섬유육종(fibrosarcoma) HT1080, 쥐의 전조골세포(preosteoblast) MC3T3-E1, 쥐의 섬유아세포(fibroblast) NIH3T3 등의 다양한 포유동물세포(mammalian cell)를 패턴으로 키울 수 있음을 밝혔다.¹⁴

폴리도파민 코팅물질은 *in vitro* 상에서 세포 친화적임이 위와 같이 많은 연구를 통해 보고되었지만, 폴리도파민의 *in vivo* 독성에 대한 연구는 아직까지 거의 진행되지 않았으며, 2011년 이해신 교수팀에서 폴리도파민 코팅의 *in vivo* 독성에 대한 연구를 처음으로 진행하였다.⁵ 그림 6에 전체적인 실험 방법과 결과가 간략하게 정리되어 있다. 먼저 이미 *in vivo* 독성이 있는 것으로 알려진 무기 나노 물질인 양자점 나노입자(quantum dot)를 폴리도파민으로 표면개질 한 뒤에, 이것을 쥐의 혈관을 통해 주입하고 혈액에서의 백혈구 세포(leukocytes) 수치를 관찰하였다. 표면개질 하지 않은 양자점 나노입자의 경우에는 면역반응이 일어나면서 림프구 수치가 감소하고 중성구와 단핵구가 증가한 반면에

폴리도파민으로 표면개질한 경우에는 양자점 나노입자를 넣지 않은 경우와 비교하여 백혈구 세포들의 수치가 거의 변하지 않고 그대로 유지되었다. 이는 개질된 물질의 표면인 폴리도파민이 어떠한 면역반응을 활성화하지 않았음을 의미하며, 동시에 오히려 기존의 표면이 가지는 *in vivo* 독성을 줄여주는 효과를 보여주었음을 나타낸다. 양자점 나노입자뿐만 아니라 역시 *in vivo* 독성을 가지는 것으로 알려진 PLLA(poly-L-lactic acid) 표면에서도 표면 개질 전후에 표면에 면역반응에 의해 형성되는 대식세포와 거대세포(foreign body giant cell)를 관찰하였는데, 표면 개질되지 않은 표면에 비해 표면 개질 후의 표면에서 *in vivo* 면역반응이 1/4로 크게 감소되었음을 확인하였다. 이러한 *in vivo* 독성실험을 통해 폴리도파민 표면개질 기법은 *in vivo* 독성을 가지지 않고 생체 친화적이며, 특히 기존의 물질이 가지는 독성을 억제해주는 새로운 효과를 보여줄을 알 수 있다.

3.2 폴리도파민 표면 개질 기법의 응용

3.2.1 폴리도파민의 산화 환원 특성을 이용한 2차 표면 개질 기법

도파민의 산화반응에 의해 형성되는 폴리도파민은 코팅된 표면에서 그 자체로 산화, 환원력을 가지고 있다. 이러한 산화, 환원력은 금속 이온을 금속 나노입자로 환원할 수 있으며, 폴리도파민 코팅 물질의 접착력에 의해 환원된 금속 나노입자는 생성과 동시에 표면에 붙어서 고정화된다. 이러한 금속입자 형성/고정화 기법은 기존의 금속나노입자 형성과정과 달리 어떠한 계면활성제(surfactant)와 환원제를 전혀 사용하지 않고 오직 폴리도파민의 환원력에 의해 형성되는 새로운 방법이며, 특히 금속 나노입자의 표

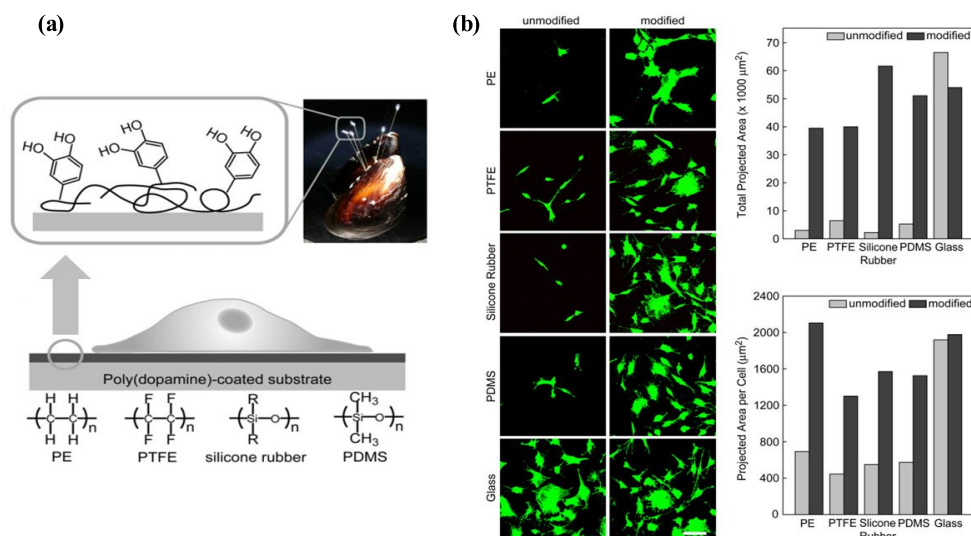


그림 5. (a) 다양한 소수성 표면에서의 폴리도파민 표면 개질의 개요, (b) 다양한 소수성 표면에서의 표면 개질 전 후의 세포 부착 능력 확인.¹¹

면 고정화를 위해 기존에 많은 부가적인 표면 개질과 합성 물질을 필요로 하였지만, 역시 폴리도파민 자체의 접착력만으로 고정화하는 매우 간단한 한 단계 과정이다(그림 7). 금/은, 백금, 팔라듐 등의 금속 나노입자가 다양한 표면에서 형성되는 것이 보고되었으며, 이렇게 표면에서 형성, 고정화된 금속 나노입자는 표면에 새로운 기능성을 부여하는 새로운 표면 개질 기법으로써 다양한 분야에 응용되었다.

금 이온(Au^{3+} ion)의 환원에 의해 형성된 금 나노입자는 바이오센서, 복합 나노와이어(hybrid nanowire) 제조 등에 응용되었다. ITO 표면에서 폴리도파민 표면 개질에 의해 형성/고정화된 금 나노입자는 항체반응의 바이오센서로 사용되었으며,¹⁵ 탄소 나노튜브 표면에서 형성된 금 나노입자와¹⁶ 은 나노튜브 표면에서 형성된 금 나노입자는¹⁷ 유기/무기 복합 나노와이어를 이루어 물질의 특성을 개선하였다.

은 이온(Ag^+ ion)의 환원에 의해 형성되는 은 나노입자 역시 바이오센서, 표면 촉매 개발 등에 응용될 수 있는데, 특히 은 나노입자가 가지는 특이적 성질을 이용한 항균제와 전도성 필름 형성 및 표면 LDI-ToF MS(laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)의 matrix로 응용되어 왔다. 자성 나노입자가 부착되어 있는 박테리

아 섬유소(bacterial cellulose) 나노섬유를 폴리도파민으로 표면개질 한 후에는 은 이온과 접촉시켰을 때 나노섬유 표면에 은 나노입자가 형성/부착되었으며, 이렇게 만들어진 복합 나노섬유는 은 입자에 의해 항균성의(antibacterial) 성질을 가지게 되었다.¹⁸ 또한 고분자 필름 위에 폴리도파민/은 나노입자로 표면개질된 표면은 전도성 필름으로 작용할 수 있게 되었다.¹⁹ 다양한 표면에서의 폴리도파민/은 나노입자 표면개질 기법을 이용해 새로운 개념의 LDI-ToF MS matrix도 구현되었다.²⁰ 금속 나노입자를 MALDI-ToF MS(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry)의 matrix로 사용할 수 있다는 연구는 진행되어 왔지만, 이제까지의 연구와 달리 기판에 직접 이러한 나노입자를 고정화함으로써 분석하고자 하는 샘플을 matrix와 섞어서 기판에 올리는 과정 없이 LDI-ToF MS의 기판에서 동시에 matrix의 역할을 할 수 있도록 표면개질 함으로써 샘플을 기판에 올려서 matrix의 첨가 없이 바로 분석할 수 있는 새로운 기술을 개발하였다.

이 외에도 백금 또는 팔라듐 입자를 표면에서 형성, 고정화 하여 이를 표면 촉매로 사용할 수 있다는 연구가 보고되는 등^{21,22} 폴리도파민의 환원력을 이용한 금속 나노입자 표면개질 기법은 다양한 분야에서 활발하게 연구되고 있다.

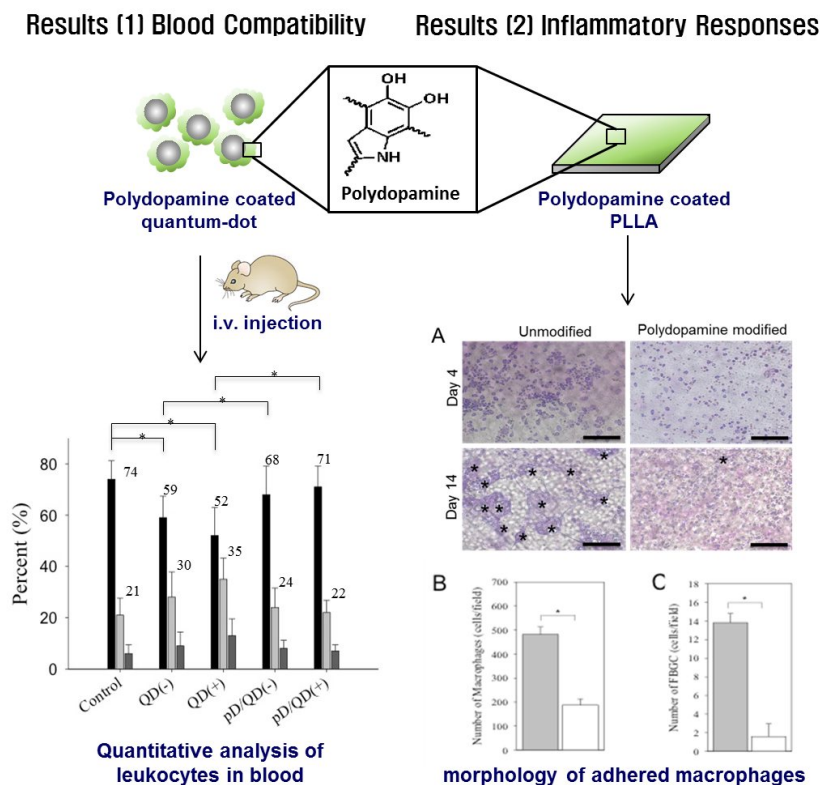


그림 6. 폴리도파민 표면 개질된 양자점 나노입자와 PLLA 필름에서의 혈액적합성, 면역반응 실험 결과.⁵

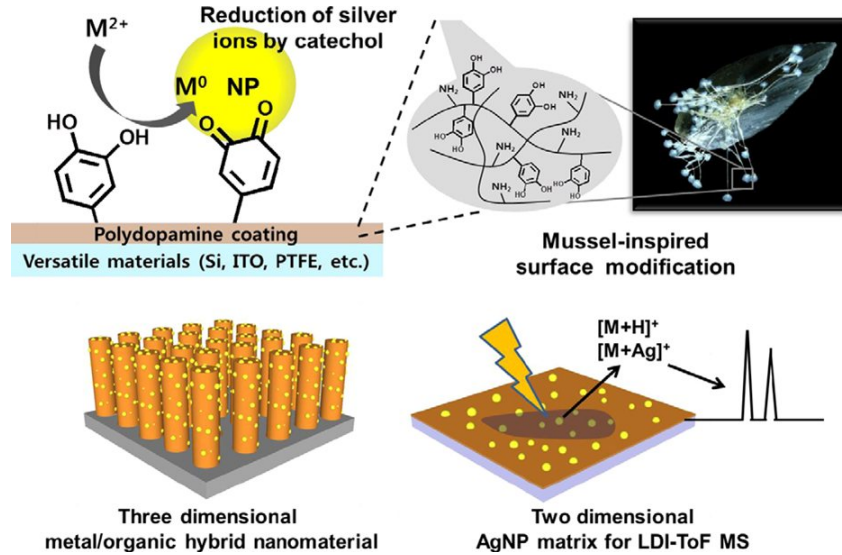


그림 7. 폴리도파민 표면 개질된 표면에서의 2차 표면 개질: 금속 나노입자의 형성/고정화 기법 및 개질된 표면의 응용.²⁰

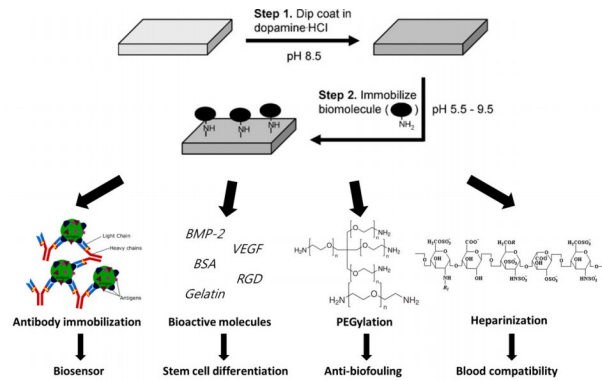


그림 8. 카테콜과 아민 작용기의 공유결합 형성에 의한 2차 표면 개질의 개요 및 응용 방안.²⁵

3.2.2 폴리도파민의 화학적 반응성을 이용한 2차 표면 개질 기법

폴리도파민 코팅은 자체로 환원력을 가짐과 동시에 표면의 카테콜 작용기에 아민 작용기가 Michael 첨가반응에 의한 공유결합을 형성함으로써 폴리도파민 코팅 층을 접착제로 사용하는 2차 표면개질이 가능하다. 이러한 화학적 반응성을 이용하여 표면에 단백질, 생체 고분자, 다당류(polysaccharide) 등의 다양한 생체물질을 고정화하고 이를 응용하는 연구가 많은 관심을 받으면서 진행되고 있다(그림 8).

다양한 종류의 단백질이 표면에 고정화 되었는데, 트립신(trypsin),²³ 아밀라아제(amylase),²⁴ 과산화효소(horse radish peroxidase),²⁵ 리파아제(lipase)²⁶ 등의 효소가 표면에 고정되어 표면에서의 효소 반응 능력을 보여주었으며, IgG,²⁷ anti-sulfate-reducing bacteria(SRB)²⁸ 등의 항체가 부착되어 항원항체 반응을 통한 바이오센서로 사용될 수 있었다. 폴리도파민을 접착제로 이용한 단백질의 표면 고정화

는 효소, 항체뿐만 아니라 다양한 단백질을 표면에 도입함으로써 표면에 세포 친화성을 부여하기도 하였다. 폴리도파민 개질된 표면에 BSA(bovine serum albumin)를 고정하여 세포 친화적인 표면을 만들어 PC-12 cell의 세포독성을 확인하는 연구가 진행되었고,^{29,30} 혈관내피세포 형성인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)를 고정화하여 표면에 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell)의 혈관내피세포로의 분화를 촉진하는 연구가 진행되어 임플란트 표면개질로 사용될 수 있음을 보여주었다.³¹ 또한 BMP-2(bone morphogenetic protein-2)의 표면 고정을 통한 중간엽 줄기세포의 분화 촉진 연구 역시 진행되었다.³²

세포 친화적인 표면 개질과 반대로 표면의 부착 방지성(anti-biofouling) 향상을 위한 PEGylation 역시 같은 방법으로 폴리도파민과 아민 작용기 사이의 화학적 반응성에 의해 진행되고 있으며, 대표적인 예로 PEGylated 표면은 부착방지막,³³ 단백질 부착 억제 표면³⁴ 등으로 응용되었다.

폴리도파민의 화학적 반응성을 통한 헤파린(heparin) 표면 고정화는 혈액 적합성(blood compatible)을 갖는 표면 개질의 새로운 방법으로 제시되었다. 폴리에틸렌³⁵ PVDF(polyvinylidene fluoride)³⁶ 표면 등의 다양한 표면에 헤파린을 고정화하여 혈액 적합성을 가지는 표면을 형성하였고, 이를 임플란트 개발에 응용하고자 하는 연구가 진행되었다.

3.2.3 폴리도파민에 의한 초소수성 표면의 선택적인 코팅

기술과 이를 통한 마이크로플루이드스의 응용

수중 환경에서 강한 접착력을 띠며 동시에 거의 모든 표면을 개질할 수 있다는 폴리도파민 코팅의 장점은 발수성

이 매우 커서 표면을 화학적으로 개질하기 어려웠던 초소수성 표면을 개질하는데 이용되었다.⁶ 폴리도파민 코팅에 의하여 초소수성 표면을 약염기성의 도파민 용액에 담가 두는 간단한 방법을 통하여 150° 이상의 접촉각을 갖는 초소수성 표면을 40°의 친수성 표면으로 개질하는 것이 가능하게 되었다(그림 9). 플라즈마 처리와 같은 기존의 기상 표면 개질 기술에 의하여 초소수성 표면을 개질할 경우 표면의 불안정성, 일시성에 의하여 친수성 표면이 다시 초소수성 표면으로 회복되는 문제가 발생하는데 반해 폴리도파민에 의한 초소수성 표면 개질 기술은 화학적으로 안정한 폴리도파민이 강하게 표면과 결합되어 코팅을 하기 때문에 접촉각의 회복이 없이 영구적으로 초소수성을 친수성으로 코팅할 수 있게 되었다.

이러한 기술의 성공은 곧바로 초소수성 표면 위에 친수성 폴리도파민을 부분적으로 패터닝하는 연구로 발전하여 폴리도파민 마이크로 패턴 위에서 미세 유체의 이동, 제어 및 화학 반응이 가능한 신개념 마이크로플루이드스 장치가 개발되었다. 본 연구실에서는 이 새로운 개념을 폴리도파민 마이크로플루이드스라고 정의하였다.³⁷ 리소그래피 기술을 이용하여 초소수성 표면에 폴리도파민 마이크로라인(60 μm)이 도입되었고 이 마이크로 라인 표면 위에서는 물방울이 150° 이상의 접촉각을 가지고 또한 물

방울이 친수성 폴리도파민 라인 위에서만 이동하는 성질을 가지게 된다. 더 나아가 Y자 형태의 폴리도파민 마이크로라인을 초소수성 표면 위에 도입을 한 뒤 두 개의 마이크로 뷰렛을 통해 자동적으로 나오는 두 물방울이 폴리도파민 마이크로라인 위에서 이동하며 제어되고 섞이는 폴리도파민 마이크로플루이드스 장치가 개발되었다(그림 10). 이 장치는 기존의 3차원 마이크로 플루이드스 디바이스가 값비싼 마이크로 펌프를 사용하여 물방울을 제어하는 것과 달리 에너지 투입이 전혀 없이 중력에 의한 힘만을 이용하여 물방울을 표면 위에서 제어할 수 있다는 장점이 있다.

이 폴리도파민 마이크로플루이드스 디바이스는 적은 부피의 액적을 효과적으로 섞이게 할 수 있기 때문에 벌크 반응보다 더욱 더 효율적인 반응 결과를 얻을 수 있다. 본 실험에서는 매우 빠르게 일어나는 금입자 생성 반응을 마이크로플루이드스 디바이스를 사용하여 진행하였고 그 결과 벌크 반응보다 더욱더 입자 크기가 작고 고른 나노입자를 얻을 수 있었다. 또한 폴리도파민 마이크로플루이드스 디바이스는 단백질의 구조의 폴딩현상을 실시간으로 관찰하는데 쉽게 이용될 수 있다. Photoactive yellow protein(PYP)와 구아니딘을 폴리도파민 마이크로라인 위에서 섞이게 한 뒤 실시간으로 단백질의 폴딩의 정도를 색깔분석법을

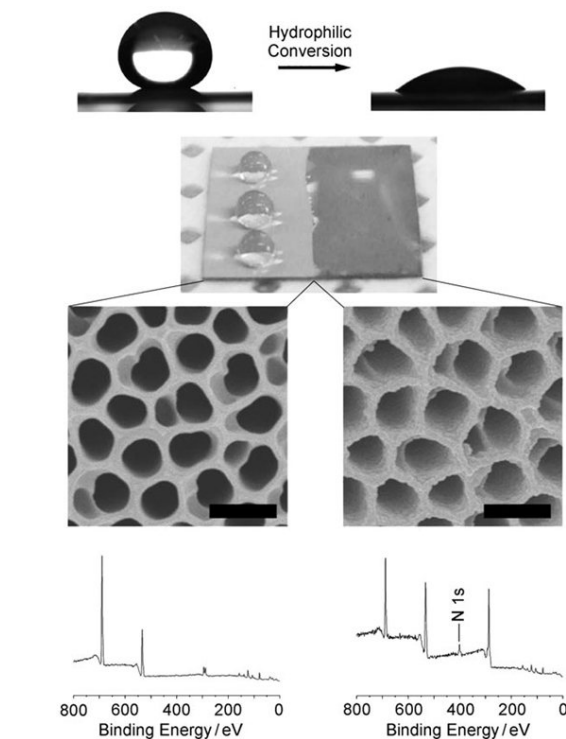


그림 9. 폴리도파민 코팅에 의한 영구적인 초소수성 표면 개질.⁶

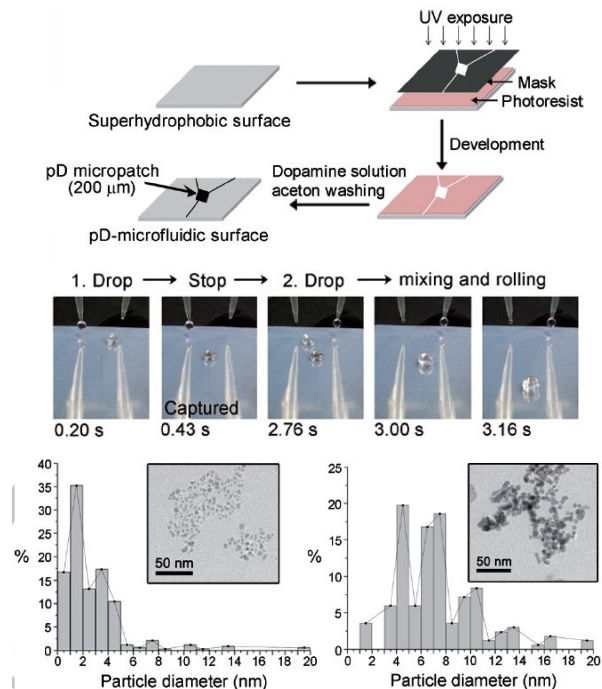


그림 10. 리소그래피에 의한 초소수성 위 Y자형 폴리도파민 패턴 도입법, 폴리도파민 마이크로플루이드스 디바이스를 통한 물방울의 이동 및 제어, 입자 분포가 고른 금입자 생성 반응으로의 응용.³⁷

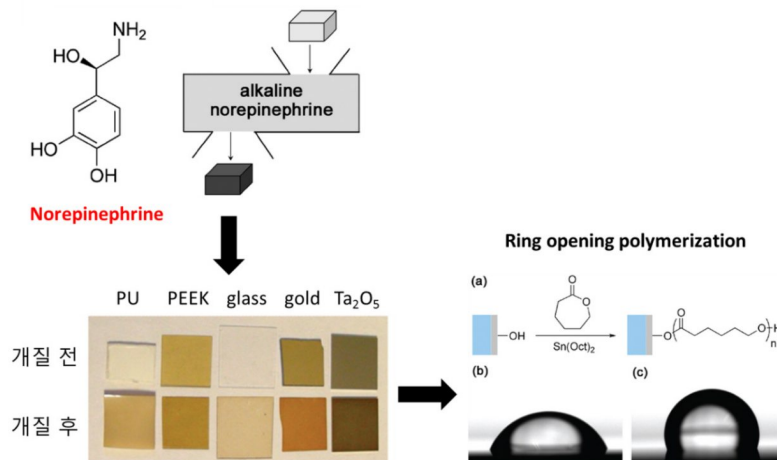


그림 11. 폴리노르에피네프린 표면 개질 기법의 개요 및 특징.³⁸

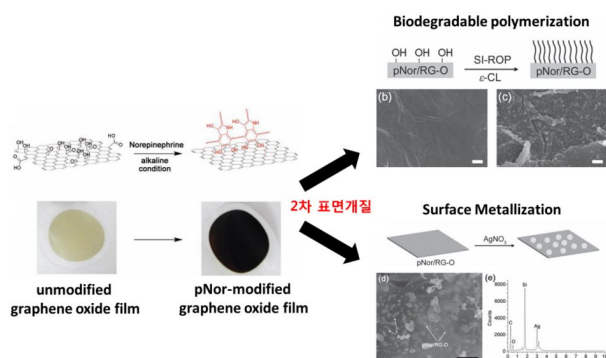


그림 12. 폴리노르에피네프린으로 표면 개질된 산화 그래핀 필름의 형성 및 2차 표면 개질 결과.³⁹

통하여 분석해왔다. 새로운 개념인 폴리도파민 마이크로 플루이딕스는 앞으로 바이오센서, 마이크로 반응기로 다양하게 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

4. 폴리노르에피네프린 표면개질

4.1 폴리노르에피네프린의 구조 및 폴리도파민과의 차이점

도파민 뿐만 아니라 노르에피네프린(norepinephrine) 또한 홍합 유래 접착성 작용기인 카테콜과 아민 작용기를 동시에 가지고 있는 단분자로써 다양한 표면에 폴리노르에피네프린(polynorepinephrine, pNor) 표면개질이 가능하다는 것이 2009년 발표 되었다.³⁸ 노르에피네프린은 역시 홍합 접착 단백질의 특성을 그대로 모방하여 도파민과 동일하게 염기성 pH의 수용액 조건에서 표면의 성질에 관계없이 다양한 표면에 표면 접착 능력을 나타내며, 카테콜 작용기가 가지는 산화 환원 능력과 아민 작용기와의 공유결합 형성을 통한 2차 표면개질이 모두 가능하다. 반면

에 그림 11에서 볼 수 있듯이, 도파민의 구조에서 한 개의 hydroxyl 작용기를 더 가지고 있기 때문에 폴리노르에피네프린 형성 후에 여전히 그대로 표면에 도입되어 존재하는 히드록시기(hydroxyl group)를 통해 고리열림 중합반응(ring-opening polymerization, ROP)이라는 새로운 2차 표면 개질이 가능한 것으로 보고되었다. 이러한 2차 표면 개질을 통해 원하는 표면에 PCL(poly-ε-caprolactone)과 같은 생분해성(biodegradable) 고분자를 도입할 수 있다.

4.2 폴리노르에피네프린 표면 개질 기법의 응용

폴리노르에피네프린을 사용한 표면 개질 기법은 아직까지 폴리도파민에 비해 많은 곳에 응용이 진행되지 않은 가능성이 열린 분야라 할 수 있다. 대표적으로 2011년 이 해신 교수팀에서는 폴리노르에피네프린 표면 개질을 통해 산화 그래핀(graphene oxide)을 환원과 동시에 2차 표면 개질 할 수 있다는 것을 보고하였다.³⁹

탄소나노튜브(carbon nanotube) 또는 그래핀(graphene), 산화 그래핀과 같은 탄소나노물질은 전자적 성질과 기계적 강도 등의 다양한 특성 때문에 신소재 물질로 각광받고 있다. 이러한 물질의 표면 개질 기법의 개발은 물질 자체가 가지는 특성을 극대화 해주고 더 나아가 부가적으로 새로운 특성을 도입함으로써 또 다른 새로운 물질로 발전할 수 있는 매우 중요한 연구이다. 그림 12에서 볼 수 있듯이, 폴리노르에피네프린을 이용한 산화 그래핀 표면개질을 통해 종이와 같이 사용할 수 있는 그래핀 필름을 형성할 수 있었는데, 이 때 형성되는 그래핀 필름은 폴리노르에피네프린의 환원력에 의해 개질과 동시에 환원되었으며, 폴리노르에피네프린의 특성인 hydroxyl 작용기의 도입에 의

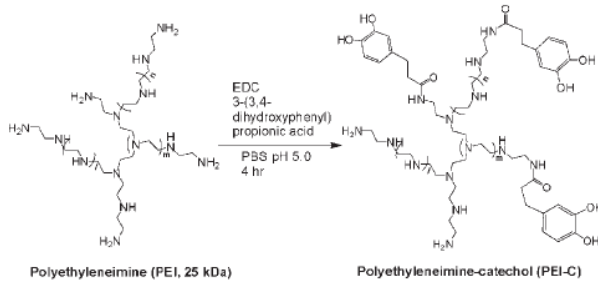


그림 13. PEI와 catechol과의 hybrid 고분자.⁴⁰

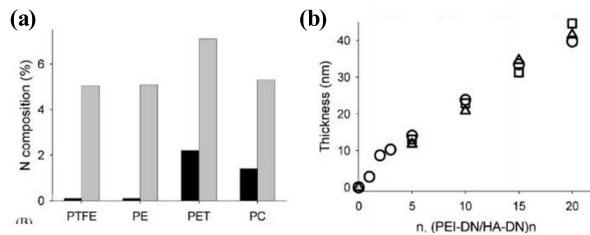


그림 14. (a) XPS 분석을 통한 N원소 증가 확인 (PEI-C의 코팅 확인), (b) PEI-C/HA-C의 LBL 단계에 따른 코팅 두께 증가.⁴⁰

해 PCL로 2차 표면 개질될 수 있었다. 또한 카테콜의 산화 환원력에 의해 표면에 은 나노입자가 합성과 동시에 고정 화됨으로써 유기/무기 복합재료(hybrid composite)를 새롭게 형성할 수 있었다.

5. 도파민을 사용한 접착성 고분자

도파민을 고분자화 시켜 표면을 개질하는 폴리도파민과는 달리, 기존의 상용화 되어 있는 고분자에 도파민을 결합시켜 접착성을 띄는 성질을 만들어 표면을 개질 하는 연구도 진행되어왔다. 다양한 아민(1, 2, 3 차 아민)을 가지고 있는 PEI(폴리에틸렌이민)에 카테콜을 접합시켜(그림 13) 뛰어난 표면 개질 능력을 확인한 연구가 2008년 발표 되었다.⁴⁰ PEI-C(PEI와 카테콜의 접합체)은 아민과 카테콜과의 상호작용에 의해 좀 더 단단한 결합을 이루면서 표면을 개질하는 능력을 보이게 되고 아민의 노출과 PEI 특유의 (+) 전하 때문에 LBL(layer-by-layer)이나 카테콜 혹은 아민을 사용하는 다른 화학 작용 같은 2차 개질도 가능해 지는 장점이 있다.⁴¹

5.1 도파민을 사용한 접착성 고분자의 특성을 이용한 2차 표면 개질

2008년 발표된 논문에서는 PEI-C의 카테콜의 성질을 사용하여 다양한 표면(PTFE, PE, PET, PC)을 개질하고

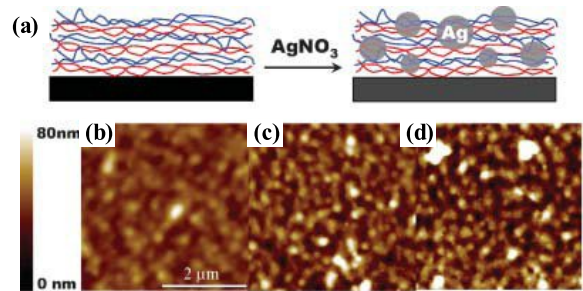


그림 15. (a) LBL 코팅된 표면에 Ag 입자 생성 모식도, (b) 1mM AgNO₃ 용액에 담그기 전, (c) 30분간 담금, (d) 18시간 담금.⁴⁰

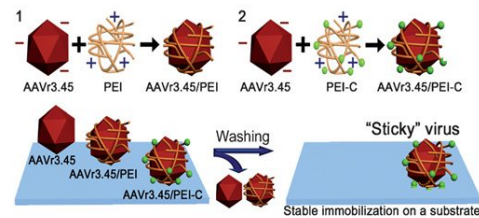


그림 16. PEI-C를 사용한 접착성을 띄는 바이러스 표면.⁴¹

그위에 Hyaluronic Acid-Catechol(HA-C)을 LBL 방법을 사용하여 2차 개질을 진행하였다(그림 14). PEI의 (+) 전하와 HA의 (-) 전하를 사용하여 고분자층을 쌓는 기법을 사용하였는데 이는 폴리도파민 만으로는 할 수 없는 2차 개질을 hybrid된 고분자를 사용하여 진행할 수 있음을 보여준 의미가 있다. Hybrid 된 고분자에서는 기존 고분자의 특성 뿐만 아니라 catechol 자체의 특성을 사용하여 Ag 이온을 환원시켜 Ag 입자를 얻는 결과도 얻을 수 있었다(그림 15).

최근에는 이해신 교수팀과 연세대학교 장재형 교수팀의 공동연구를 통하여 PEI-C를 사용한 바이러스 표면개질 연구가 진행되었다.⁴¹ 이 또한 catechol의 특성을 이용하여 바이러스의 표면에 접착성이라는 성질을 띄게 해주어 외부 표면에 고정화를 시킬 수 있게 하였고(그림 16), PEI의 (+) 전하의 특성을 가지고 cell 안으로 delivery도 가능하게 되어 표면에서의 간단한 patterning을 통한 patterned gene delivery and expression이 가능함을 보여주었다(그림 14).

6. 결론

융합 접착 단백질의 접착력에 관여하는 화학적 작용기를 모방한 폴리도파민 및 폴리노르에피네프린 표면 개질 기법은 수용액 상에서 표면의 성질에 관계없이 다양한 표면에 접착력을 가지는 새로운 표면 개질 기법이며, 표면 개질로 도입된 코팅물질의 화학적 성질에 의해 금속 나노입

자를 합성/고정화 하거나 아민 작용기와의 공유결합 형성을 통한 2차 표면 개질을 가능하게 한다. 또한 고분자에 도파민을 접합시켜 고분자에 표면 무관 접착성을 부여하고 이를 이용해 표면을 개질 하는 방법도 가능하다. 이러한 표면 개질을 통해 생체재료 및 에너지, 신소재 재료 등의 다양한 복합 재료를 개발하고 다양한 범위에 응용할 수 있다.

7. Acknowledgements

본 연구는 World Premier Material 사업(지경부), 교과부 Korea Biotech R&D Program(2011-0001619)와 우수연구센터(SRC)(2011-0001319)의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고문헌

1. B. P. Lee, P. B. Messersmith, J.N. Israelachvili, and J.H. Waite, *Annu. Rev. Mater. Res.*, **41**, 99 (2011).
2. H. Lee, N. F. Scherer, and P. B. Messersmith, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 12999 (2006).
3. H. Lee, S. M. Dellatore, W. M. Miller, and P. B. Messersmith, *Science*, **318**, 426 (2007).
4. J. H. Waite, *Nature Mater.*, **7**, 8 (2008).
5. S. Hong, K. Y. Kim, J. W. Hwang, S. Y. Park, K. D. Lee, D. Y. Lee, and H. Lee, *Nanomedicine*, **6**, 793 (2011).
6. S. M. Kang, I. You, W. K. Cho, H. K. Shon, T. G. Lee, I. S. Choi, J. M. Karp, and H. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 9401 (2010).
7. M. H. Ryou, Y. M. Lee, J. K. Park, and J. W. Choi, *Adv. Mater.*, **23**, 3066 (2011).
8. Q. Wei, F. Zhang, J. Li, B. Li, and C. Zhao, *Polym. Chem.*, **1**, 1430 (2010).
9. F. Bernsmann, V. Ball, F. Addiego, A. Ponche, M. Michel, J. J. A. Gracio, V. Toniazio, and D. Ruch, *Langmuir*, **27**, 2819 (2011).
10. F. Natalio, R. Andre, S. A. Pihan, M. Humanes, R. Wever, and W. Tremel, *J. Mater. Chem.*, **21**, 11923 (2011).
11. S. H. Ku, J. Ryu, S. Hong, H. Lee, and C. B. Park, *Biomaterials*, **31**, 2535 (2010).
12. S. H. Ku and C. B. Park, *Biomaterials*, **31**, 9431 (2010).
13. Y. M. Shin, Y. B. Lee, and H. Shin, *Colloids Surf. B*, **87**, 79 (2011).
14. S. H. Ku, J. S. Lee, and C. B. Park, *Langmuir*, **26**, 15104 (2010).
15. G. Wang, H. Huang, G. Zhang, X. Zhang, B. Fang, and L. Wang, *Langmuir*, **27**, 1224 (2011).
16. B. Fei, B. Qian, Z. Yang, R. Wang, W. C. Liu, C. L. Mak, and J. H. Xin, *Carbon*, **46**, 1792 (2008).
17. M. Zhang, X. Zhang, X. He, L. Chen, and Y. Zhang, *Chem. Lett.*, **39**, 552 (2010).
18. M. Sureshkumar, D. Y. Siswanto, and C. K. Lee, *J. Mater. Chem.*, **20**, 6948 (2010).
19. Y. Long, J. Wu, H. Wang, X. Zhang, N. Zhao, and J. Xu, *J. Mater. Chem.*, **21**, 4875 (2011).
20. S. Hong, J. S. Lee, J. Ryu, S. H. Lee, D. Y. Lee, D. P. Kim, C. B. Park, and H. Lee, *Nanotechnology*, **22**, 4020 (2011).
21. W. Ye, H. Hu, H. Zhang, F. Zhou, and W. Liu, *Appl. Surf. Sci.*, **256**, 6723 (2010).
22. H. I. Ryoo, J. S. Lee, C. B. Park, and D. P. Kim, *Lab Chip*, **11**, 378 (2011).
23. H. Lee, J. Rho, and P. B. Messersmith, *Adv. Mater.*, **21**, 431 (2009).
24. M. Sureshkumar and C. K. Lee, *Carbohydr. Polym.*, **84**, 775 (2011).
25. Y. Zhang, Y. Zhang, H. Wang, G. Shen, and R. Yu, *Acta. Chim. Sin.*, **67**, 2375 (2009).
26. Y. Ren, J. G. Rivera, L. He, H. Kulkarni, D. K. Lee, and P. B. Messersmith, *BMC Biotechnol.*, **11**, 63 (2011).
27. S. D. Spillman, *Anal. Chem.*, **83**, 5592 (2011).
28. Y. Wan, D. Zhang, Y. Wang, P. Qi, and B. Hou, *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 2595 (2011).
29. C. Tao, J. Zhang, and S. Yang, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **11**, 5068 (2011).
30. C. Tao, S. Yang, J. Zhang, and J. Wang, *Appl. Surf. Sci.*, **256**, 294 (2009).
31. C. K. Poh, Z. Shi, T. Y. Lim, K. G. Neoh, and W. Wang, *Biomaterials*, **31**, 1578 (2010).
32. M. Lai, K. Cai, L. Zhao, X. Chen, Y. Hou, and Z. Yang, *Biomacromolecules*, **12**, 1097 (2011).
33. B. D. McCloskey, H. B. Park, B. W. Rowe, D. J. Miller, B. J. Chun, K. Kin, and B. D. Freeman, *Polymer*, **51**, 3472 (2010).
34. O. P. Georgievski, S. Popelka, M. Houska, D. Chvostova, V. Proks, and F. Rypacek, *Biomacromolecules*, **12**, 3232 (2011).
35. J. H. Jiang, L. P. Zhu, X. L. Li, Y. Y. Xu and B. K. Zhu, *J. Membrane Sci.*, **364**, 194 (2010).
36. L. P. Zhu, J. Z. Yu, Y. Y. Xu, Z. Y. Xi, and B. K. Zhu, *Colloids Surf. B*, **69**, 152 (2009).
37. I. You, S. M. Kang, S. Lee, Y. O. Cho, J. B. Kim, S. B. Lee, Y. S. Nam, and H. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 1 (2012).
38. S. M. Kang, J. Rho, I. S. Choi, P. B. Messersmith, and H. Lee, *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 13224 (2009).
39. S. M. Kang, S. Park, D. Kim, S. Y. Park, R. S. Ruoff, and H. Lee, *Adv. Func. Mater.*, **21**, 108 (2011).
40. H. Lee, Y. Lee, A. R. Statz, J. Rho, T. G. Park, and P. B. Messersmith, *Adv. Mater.*, **20**, 1619 (2008).
41. E. Kim, I. T. Song, S. Lee, J.-S. Kim, H. Lee, and J.-H. Jang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 1 (2012).