(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0075379
(43) 공개일자 2008년08월18일

(51) Int. Cl.
C12N 11/00 (2006.01) *G01N 33/48* (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01) *H01L 21/306* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0014472
(22) 출원일자 2007년02월12일
심사청구일자 2007년02월12일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교
(72) 발명자
이창수
대전시 유성구 궁동 220 충남대학교 바이오응용화학부
심현우
대전시 유성구 궁동 220 충남대학교 바이오응용화학부
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이동희

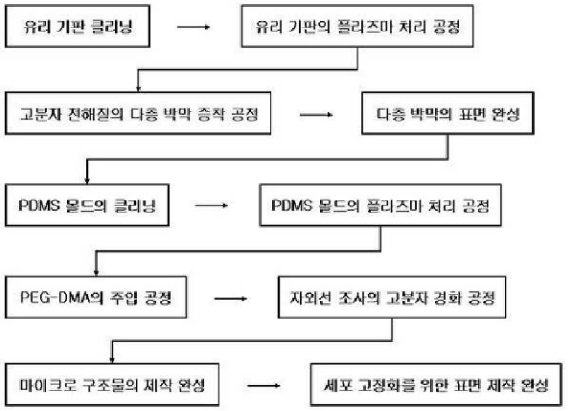
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법

(57) 요 약

본 발명은 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 기판 표면이 음이온을 갖도록 처리하는 단계; 상기 기판 표면에 다수의 양이온을 갖는 제1 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계; 상기 기판 표면에 다수의 음이온을 갖는 제2 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계; 및 상기 단계를 반복 처리하는 다층 박막 증착(Layer-by-layer deposition, LBL) 방법을 이용한 기판의 표면 처리 단계를 포함하는, 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 관한 것이다. 본 발명의 표면 처리 방법은 종래의 세포 고정시의 중간의 복잡한 과정을 간소화하고 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합의 발생 가능성을 줄여 경제적 비용 및 시간 절약의 효과와 높은 수율의 획득 더불어 손쉽고, 빠르게 기판의 표면에 세포를 고정화할 수 있는 이점을 가지므로, 생물 생태학에 관한 연구, 세포와 표면간의 상호 작용 및 세포를 기반으로 하는 고속 스크리닝 시스템에서의 활용에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

이지혜

대전시 유성구 궁동 220 충남대학교 바이오응용화학부

강경석

대전시 유성구 용산동 530번지

특허청구의 범위

청구항 1

ⅰ) 기판 표면이 음이온을 갖도록 처리하는 단계;

ii) 상기 기판 표면에 다수의 양이온을 갖는 제1 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계;

iii) 상기 기판 표면에 다수의 음이온을 갖는 제2 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계; 및

상기 ii) 단계와 iii) 단계를 반복 처리하는 다층 박막 증착(Layer-by-layer deposition, LBL: 도 1) 방법을 이용한 기판의 표면 처리 단계를 포함하는, 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

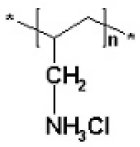
청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 기판은 유리 기판이고, 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 기판의 표면을 $-OH^-$로 음이온화시키는 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

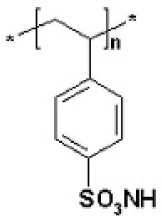
청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 다수의 양이온을 갖는 고분자 전해질은 하기 화학식 1로 기재되는 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드(Polyallylamine hydrochloride, PAH) 또는 하기 화학식 2로 기재되는 폴리4-암모니움 스타이렌 술포닉 엑시드(Poly(4-ammonium styrene sulfonic acid, PSS)인 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

[화학식 1]



[화학식 2]



청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 고분자 전해질은 제1 고분자 전해질은 PAH이고, 제2 고분자 전해질은 PSS인 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

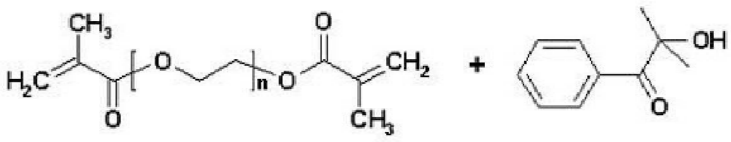
청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 기판의 표면 처리 방법은 추가적으로 마이크로 몰딩 케필러리(Micro molding in capillaries; 도 2) 기술을 이용하여 마이크로 구조물을 제조한 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 마이크로 몰딩 케필러리 기술은 하기 화학식 3으로 기재되는 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트(Polyethylene glycol dimethacrylate, PEG-DMA)와 D1173 광 개시제(photo initiator)의 3차원 마이크로 구조물의 형성을 통해 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

[화학식 3]



청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 화학식 3의 마이크로 구조물을 만들기 위한 고분자는 평균 분자량이 300 ~ 30,000의 범위인 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 PEG-DMA의 마이크로 구조물은 PDMS 몰드를 사진 식각(Photolithography)을 통해 패턴이 형성된 실리콘 마스터(Silicone master) 위에서 PDMS 전중합체(prepolymer)와 경화제를 혼합한 열적 경화로 실리콘 마스터로부터 분리되어 제작되는 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 다층 박막 증착의 수는 5 내지 10 인 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

청구항 10

제 1항에 있어서, 상기 기판의 표면 처리 방법은 도 3에 기재된 유리 기판 클리닝 단계; 유리 기판의 플라즈마 처리 단계; 고분자 전해질의 다층 박막 증착 단계; 다층 박막의 표면 완성 단계; PDMS 몰드의 클리닝 단계; PDMS 몰드의 플라즈마 처리 단계; PEG-DMA의 주입 단계; 자외선 조사의 고분자 경화 단계; 및 마이크로 구조물의 제작 완성 단계로 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<7> 본 발명은 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 기판 표면이 음이온을 갖도록 처리하는 단계; 상기 기판 표면에 고분자 전해질을 처리하는 단계; 및 상기 단계를 반복 처리하는 다층 박막 증착(Layer-by-layer deposition, LBL) 방법을 이용한 기판의 표면 처리 단계를 포함하는, 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 관한 것이다.

<8> 사회적으로 삶의 질이 높아지고 평균 수명이 증가하면서, 환경과 의료, 질병의 진단, 치료 등에 사회적인 관심이 부각되고 있다. 특히, 그 빈도가 점차 증가하고 있고 의료계에서 법적인 문제가 되기 시작한 병원성 감염이나, 아직까지 명확한 치료 방법이 없는 암, AISD 등의 질병에 관한 조기 진단 시스템이나 합병증 없는 치료 기술의 개발은 가장 큰 관심의 초점이라고 할 수 있다. 더욱이 최근에는 항생제 투여의 오남용으로 인해 세균의 배양 율이 감소하게 되었고, 이식에 따른 면역 억제제 사용의 증가, 항암 치료로 인한 약물 투여의 증가, AIDS의 증가 등으로 원인 균주가 다양해지게 되면서 배양 검사와 같은 기존의 감염 질환을 진단하는 진단 방법들이 점차 어려움에 부딪히고 있는 실정이다.

<9> 이렇듯 질병의 조기 진단이나 치료 목적에 따른 바이오에 대한 큰 관심은 생명공학 기술의 발달과 더불어 최근 다양한 미세전기 기계시스템(Micro-electro-mechanical-system, MEMS) 기술의 발달로 인해 이것들의 다양한 응용 분야로의 이용을 가능케 했다. 나노바이오테크놀러지(Nano-biotechnology), 나노메디신(Nanomedicine) 등 미세 공학 기술을 바탕으로 생명 공학 분야와의 접목은 바이오센서(Biosensor), 바이오 칩(Biochip) 등의 실용 가능성을 높였으며, 랩온어 칩(Lab-on-a-chip), 마이크로 유체 칩(Microfluidic chip) 등의 개념이 등장할 만큼

생명 공학 분야에서의 응용은 크게 증가되고 있다. 한 예로, 크게 DNA 탐침(Probe)이 고정된 'DNA 칩', 효소, 항체, 항원 등과 같은 단백질이 고정된 '단백질 칩(Protein chip)', 시료의 전처리, 생화학 반응, 검출, 자료 해석 기능까지 소형 집적화 되어 자동 분석 기능을 갖는 'Lab-on-a-chip'으로 대표되는 바이오 칩은 생물에서 유래된 효소, 단백질, 항체, DNA, 미생물, 동식물 세포 및 기관, 신경 세포 및 기관, 신경 세포 등과 같은 생체 유기물과 반도체와 같은 무기물을 조합하여 기존의 반도체 칩 형태로 만든 소자이다. 이는 유전자, DNA 조각, 또는 특정 단백질 등을 기판 상의 미세한 특정 구역 내에 원하는 생체 물질 분자를 고정하고 미세 배열하여 이루어지는데, 이 칩들을 이용하여 생화학 물질에 대한 분석 실험을 하는 경우, 짧은 시간 내에 적은 양의 시료로 대량의 시료를 분석할 수 있다는 장점이 있다(Templin, M.F. *et. al.*, *Trends Biotechnol.,* 2002 Apr; 20(4); 160-6; Review). DNA 칩의 경우는 미생물 생태계 안에서 일어나고 있는 중요한 문제들을 설명하기 위해 적용될 수 있는 여지가 많은데 이는 병렬적 분석이 가능하고, 고 효율적 검출과, 핵산의 정량화를 위한 강력한 기술이기 때문이다. 하지만 실질적인 몇몇의 한계(종과 아종 사이에서 나타나는 낮은 감수성과 낮은 해상도)는 그것의 보편화된 적용을 늦추게 한다(Cook, *et. al.*, Curr. Opin. Biotechnol., 14, 311-318, 2003). 단백질 칩의 경우는 진단 의학 및 신약 탐색 분야에서 활발히 진행되고 있는데, 그 이유는 인간을 포함한 모든 생명체에서 일어나는 생화학적 활동은 근본적으로 DNA 정보에 의해 이루어지지만, 실제 질병의 발현은 DNA보다 실제적으로 세포 내에서 특정 역할을 담당하는 단백질에서 일어나기 때문이다. 그러나 현재까지 단백질 칩에 대한 연구가 초기 단계에 머물러 있어서 생체 시료네 특정 생화학 물질의 검출을 목적으로 하는 진단용 단백질 칩의 개발에 한정되어 있으며, 신약 탐색에 있어서 단백질 칩의 응용은 여러 제약을 갖고 있는 실정이다. 이런 DNA 칩이나 단백질 칩과 관련된 핵심 기술 분야는 크게 '기능 및 작용에 대한 인식 기술 분야', '데이터 처리 기술 분야', '기판 상에 물질을 고정시키는 고정화 기술 분야', '특정 물질을 기판 상에 미세 배열하는 집적화 기술 분야'로 볼 수 있다. 특히, 생체 물질을 이용한 의료용 진단이나 시료의 분석과 같은 스크리닝을 요구하는 시스템에서 생체 물질과 기판의 계면을 효율적으로 형성하고 생체 물질의 고유 기능을 최대한 활용할 수 있도록 하는 생체 물질의 고정화 기술 및 기판의 표면 처리는 기본이 되는 중요한 기술이다. 상기, 단백질 칩이나 DNA 칩과 같이 세포를 직접 기판에 부착시키는 것을 기반으로 하는 세포 칩(Cell chip) 역시 기판에 세포를 고정화하는 기술이 중요하며, 세포 칩 역시 제작을 위해서 표면 처리는 안정적이고 특이적으로 세포를 고정화하기 위한 표면을 확보하고, 발생된 세포의 어레이는 고속으로 스크리닝을 수행하여 적은 시료의 양으로도 분석의 효율을 증가시키는 것에 있다. 그러나 상대적으로 세포 칩이라는 분야가 DNA 칩이나 단백질 칩에 비해 보편화된 개념이 아니며 아직까지 그 개념 자체가 초기 단계에 머물러 있는 실정이고, 세포를 고정화하기 위한 과정 또한 복잡하고 많은 시간을 필요로 한다.

<10> 종래 기술에서는 세포의 고정화를 위해 중간 매개체로 콜라겐(Collagen), 라미닌(Laminin), 단백질 A(Protein A), RGD 서열 등과 같은 ECM(Extra Cellular Matrix) 의 환경이 세포의 고정을 위해 요구 되었으며, 세포의 비특이적인 흡착 및 결합을 방지하고 특정 지역만의 세포 고정을 위해 흡착 방지제 코팅을 처리하는 과정이 필요로 하였다. 이 경우 세포를 고정화하기까지의 중간 과정이 복잡하고, 여러 단계의 과정을 거치기 때문에 시간이 오래 소요되고, 오염에 노출될 확률이 높기 때문에 효율적인 면에서 좋지 않다(Gray, D.S. *et. al.*, *Biosens. Bioelectron.* 2004, 19, 771; Nelson, C. M. *et. al.*, *Langmuir* 2003, 19, 1493; Bhatia, S. N. and Chen, C. S., *Biomed. Microdevices* 1999, 2, 131). 특히, 표면에 중간 매개체로 단백질을 붙일 경우에 있어서는 단백질의 3차원적인 구조로 인해 세포와 부착할 수 있는 단백질의 결합 자리만을 표면에 나타내도록 하는 것 자체가 쉽지 않을 뿐만 아니라, 결합 자리가 잘못 형성될 수도 있기 때문에 세포의 고정화가 제대로 형성 되지 않을 수 있고, 원하지 않던 지역과의 비 특이적인 흡착 및 결합이 이루어질 수 있다. 또한, 세포와 같이 살아있는 생체 물질의 패턴을 형성하는데 있어서, 그것의 3차원적인 환경에서의 성장 모습, 효과, 영향 등은 생물체를 연구하는 관련된 학문 분야에서 중요한 관심의 초점이 될 수 있다. 하지만 종래의 대표적인 패턴 형성 방법이라 할 수 있는 마이크로 컨텍 프린팅(Micro contact printing)과 같은 방법에 있어서는 패턴의 형성 자체가 2차원적이기 때문에 고정되는 생체 물질 역시 2차원의 패턴을 형성하게 되어, 그 한계점이 있다(Douglas, B. *et. al.*, *Langmuir* 2005, 21, 6436).

<11> 대한민국 특허출원 제2005-0055687호(담체의 표면에 세포를 고정화하는 방법, 2005년 06월 27일 출원) 및 제2006-007940호(세포 흡착 및 분화를 유도하는 음이온성 불규칙 공중합체 및 그 사용 방법, 2006년 7월 6일 출원)에 세포 고정화 기법이 제출되었으나, 다공성 물질 및 기판의 제약을 가지며, 세포의 고정을 위해 기판 표면에 중간 매개체가 필요하다 단점 및 세포 고정 과 세포 패턴을 형성할 수 있는 과정 자체가 복잡하고 상당한 시간을 요구한다는 단점이 있다. 또한, Falconnet, D. 등에 의해 "세포를 기반으로 하는 바이오어세이(Bioassay)의 개발을 위해 세포의 마이크로어레이(Microarray)를 발생 시킬 수 있는 패턴의 형성과 이를 위한 다양한 표면 처리 방법"(*Biomaterials*, 27, 2006, 044-3063)이 개발되었으나, 이것 역시 세포의 고정화를 위하

여 중간 매개체가 요구되며, 기판 표면 처리 및 비 특이적 흡착과 결합을 방지하는 과정이 매우 복잡한 단점이 있다.

<12> 따라서 세포의 안정적이고 특이적인 고정화를 요구하면서 보다 쉽고 빠르며 과정 자체가 복잡하지 않아 경제적, 시간적 효과를 절약할 수 있는 효율적인 표면 처리 방법 및 높은 수율의 고정화된 세포 패턴의 결과를 얻기 위해서, 보다 높게 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지할 수 있는 새로운 세포 고정화 기술에 대한 방법의 개발이 요구되고 있다.

<13> 이에, 본 발명자들은 세포를 기판의 표면상에 고정화하는데 있어, 다공성 물질 및 기판의 제약을 갖지 않으며, 종래와는 달리 표면에 세포의 고정을 위해 요구되는 중간 매개체가 필요 없이 직접 세포를 기판 위에 고정화하는 방법을 찾고자 노력하던 중, 고분자 전해질의 정전기적 인력을 통한 박막의 표면과 폴리에틸렌글리콜의 마이크로 구조물을 이용하여 세포를 원하는 표면상에 특이적으로 고정화시킬 수 있으며, 이로 인해 표면상에 세포의 패턴 형성으로 세포를 기반으로 하는 마이크로어레이(Microarray)의 제작이 가능함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<14> 본 발명의 목적은 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 및 비 특이적인 흡착과 결합을 방지하는 과정의 단순화를 통하여, 세포 고정 및 세포 패턴을 형성할 수 있는 과정 자체가 간소화됨으로써 크고 작은 경제적 이득과 시간적인 절약의 효과를 가질 수 있는, 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법을 제공하는 것이다.

<15> 보다 구체적으로, 본 발명의 목적은 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 이용한 표면 처리를 통해 안정적이고 특이적으로 쉽고 빠르게 세포 고정화를 위한 표면 처리의 구현과 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 3차원 마이크로 구조물 제작을 이용해 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하고, 기존의 복잡한 중간 과정을 간소화함으로써 시간적, 경제적 효율을 높이고, 빠르게 특이적인 지역에만 세포의 고정 및 패턴을 형성할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

<16> 본 발명의 또 다른 목적은 상기 세포 고정화 방법을 이용하여 생물 생태학 및 세포와 표면 사이의 상호 작용에 관한 연구, 고속 스크리닝 시스템 등에 응용할 수 있는 기술을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

<17> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 i) 기판 표면이 음이온을 갖도록 처리하는 단계; ii) 상기 기판 표면에 다수의 양이온을 갖는 제1 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계; iii) 상기 기판 표면에 다수의 음이온을 갖는 제2 고분자 전해질을 처리하고 이를 세척하는 단계; 및 상기 ii) 단계와 iii) 단계를 반복 처리하는 다층 박막 증착(Layer-by-layer deposition, LBL: 도 1) 방법을 이용한 기판의 표면 처리 단계를 포함하는, 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법을 제공한다.

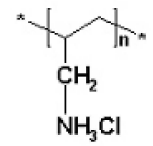
<18> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<19> 본 발명은 세포(Cell)를 기반으로 하는 고속 스크리닝 시스템(High-throughput screening systems, HTS)의 마이크로어레이(Microarray)를 제작하는데 이용될 수 있는 방법으로써, 고체의 기판 위에 세포의 고정화를 위한 표면 처리 방법에 관한 것이다.

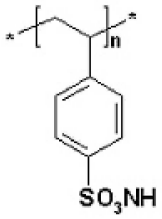
<20> 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 있어서, 상기 기판은 유리 기판이고, 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 기판의 표면을 $-OH^-$로 음이온 화시키는 것이 바람직하다.

<21> 또한, 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 있어서, 상기 다수의 양이온을 갖는 고분자 전해질은 하기 화학식 1로 기재되는 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드(Polyallylamine hydrochloride, PAH) 또는 하기 화학식 2로 기재되는 폴리4-암모니움 스타이렌 술포닉 엑시드(Poly(4-ammonium styrene sulfonic acid, PSS)인 것이 바람직하고, 상기 고분자 전해질은 제1 고분자 전해질은 PAH이고, 제2 고분자 전해질은 PSS인 것이 보다 바람직하다.

화학식 1

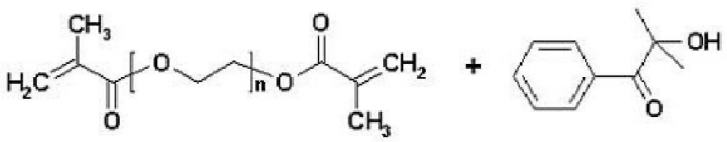
<22> 

화학식 2

<23> 

<24> 또한, 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 있어서, 기판의 표면 처리 방법은 다층 박막 증착(Layer-by-layer deposition, LBL) 방법을 이용하는 것이 바람직하며, 추가적으로 마이크로 몰딩 케필러리(Micro molding in capillaries; 도 2) 기술을 이용하여 마이크로 구조물을 제조한 것이 보다 바람직하고, 상기 마이크로 몰딩 케필러리 기술은 하기 화학식 3으로 기재되는 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트(Polyethylene glycol dimethacrylate, PEG-DMA)와 D1173 광 개시제(photo initiator)의 3차원 마이크로 구조물의 형성을 통해 이루어지는 것이 더더욱 바람직하고, 하기 화학식 3의 마이크로 구조물을 만들기 위한 고분자는 평균 분자량이 300 ~ 30,000의 범위인 것이 가장 바람직하다. 또한, 상기 PEG-DMA의 마이크로 구조물은 PDMS 몰드를 사진 식각(Photolithography)을 통해 패턴이 형성된 실리콘 마스터(Silicone master) 위에서 PDMS 전중합체(prepolymer)와 경화제를 혼합한 열적 경화로 실리콘 마스터로부터 분리되어 제작되는 것이 바람직하다.

화학식 3

<25> 

<26> 상기 마이크로 몰딩 케필러리 기술에 의하여, 별도의 흡착 방지제를 코팅하지 않고도 세포의 비 특이적인 흡착 또는 결합을 억제할 수 있다.

<27> 또한, 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 있어서, 상기 다층 박막 증착의 수는 5 내지 10인 것이 바람직하다.

<28> 또한, 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법에 있어서, 상기 기판의 표면 처리 방법은 도 3에 기재된 유리 기판 클리닝 단계; 유리 기판의 플라즈마 처리 단계; 고분자 전해질의 다층 박막 증착 단계; 다층 박막의 표면 완성 단계; PDMS 몰드의 클리닝 단계; PDMS 몰드의 플라즈마 처리 단계; PEG-DMA의 주입 단계; 자외선 조사의 고분자 경화 단계 및 마이크로 구조물의 제작 완성 단계로 이루어지는 것이 바람직하다.

<29> 본 발명의 세포 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법은 세포를 기반으로 하는 마이크로어레이(Microarray)를 제작하는데 기본이 될 수 있는 세포 고정화 및 패턴을 형성하기 위하여 빠르고, 쉽고, 편리하며 미생물부터 동물 세포에 이르기까지 모든 세포의 대해서 세포의 고정과 패턴의 형성을 구현할 수 있다. 따라서 본 발명의 세포 고정화 방법을 이용하면 생물 생태학, 세포와 표면간의 상호 작용 및 세포를 바탕으로 하는 고속 스크리닝 시스템에서의 활용이 가능하다.

<30> 이하, 도면을 이용하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

<31> 도 1은 세포의 안정적이고 특이적인 고정화를 위해 수행되는 다층 박막 증착기술의 표면 처리 방법에 대한 개념도이다. 보다 상세하게는, 유리 기판을 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 기판의 표면을 $-OH^-$로 활성화 시키고, 서로 상반되는 전하를 띠는 두 고분자 물질; 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드와 폴리4-암모니움 스타이렌 술포

닉 엑시드 중 양전하를 띠는 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드를 첫 층으로 시작해서 다층 박막 증착 방법을 사용하여 기판의 물성을 세포의 고정이 용이할 수 있도록 만드는 구조이다. 본 발명에서 제시되는 유리 기판의 최상층의 표면 처리는 다층 박막 증착 방법을 이용하여 플러스 전하를 나타내는 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드 표면이다.

<32> 도 2는 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하기 위해 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물을 제작하는 방법에 대한 개념도이다. 보다 상세하게는, 도 1의 방법을 통해 표면 처리된 유리 기판위에 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트를 PDMS 몰드의 틈 사이로 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 이용하여 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물을 만드는 구조이다. 본 발명에서 제시되는 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물은 3차원적인 구조의 특징을 이용 평면뿐만 아니라, 측면에서까지 발생할 수 있는 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지해 주는 구조이다.

<33> 상기 화학식 3의 마이크로 구조물을 만들기 위한 고분자는 평균 분자량이 300 ~ 30,000의 범위인 것이 바람직하다. 분자량이 너무 큰 경우, 나중에 세포를 표면에 고정화하기위해 용액을 로딩 했을 때, 팽윤 현상으로 인해 마이크로 구조물이 떨어질 수 있으며, 분자량이 너무 작은 경우에는 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 막는 역할을 잘 수행하지 못하게 되는 문제가 있다.

<34> 본 발명에 따른 세포의 고정화를 위한 기판의 표면 처리 방법은 고분자 전해질의 다층 박막 증착에 의한 세포 고정의 용이한 표면 처리와 마이크로 몰딩 케필러리를 통한 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 구조물을 제작함으로써 안정적이고 특이적으로 세포 고정 및 패턴의 형성이 효과적으로 이루어질 수 있다.

<35> 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물의 제작은 다음과 같이 이루어진다. 몰드로 사용될 PDMS 몰드를 준비하고, 기판으로 사용될 유리를 클리닝한다. PDMS 몰드는 사진 식각(Photolithography)을 통해 패턴이 형성된 실리콘 마스터(Silicone master) 위에 PDMS 전중합체(prepolymer)와 경화제를 10 : 1의 비율로 섞은 후에 65℃의 온도에서 8시간 정도 열적 경화 후에 실리콘 마스터로부터 분리를 통해 얻을 수 있다.

<36> 도 3은 상기 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법에 의한 표면 처리와 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물 제작을 통한 세포 고정화 방법을 간략히 표시한 공정도이다.

<37> **1. 플라즈마 공정**

<38> 이소프로필(Isopropyl), 아세톤(Acetone), 에탄올(Ethanol) 등으로 클리닝을 마친 유리 기판 위에 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 위한 표면 처리를 수행하기에 앞서, 먼저 유리 기판을 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 기판의 표면을 활성화시킨다.

<39> **2. 다층 박막 공정**

<40> 플라즈마 처리를 마친 유리 기판은 그것의 원래의 성질로 회복되기 전에 다층 박막의 증착 방법을 수행하기 위해 플러스 전하를 띠는 첫 번째 층인 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드 용액에 담근 이후, 증류수를 통한 세척을 하는데, 30초 정도는 담가둔 상태로 있고, 1분은 담갔다가 뺐다가를 반복한다. 이 과정을 반복 수행한다. 증류수의 세척 과정을 마친 유리 기판은 플러스 전하와 반대의 전하를 띠는 폴리4-암모니움 스타이렌 술포닉 엑시드 용액에 바로 담근다. 상기 증류수의 세척 과정을 동일하게 수행한다. 상기 일련의 과정을 반복해서 수행하여 다층 박막의 증착 방법을 통한 세포 고정이 용이한 표면 처리를 이룰 수 있다. 그 결과, 다층 박막 증착 방법의 표면 처리에 따른 유리 기판의 표면 젖음 성의 물성 변화를 얻을 수 있다(표 1 참조).

<41> 만약, 원하는 층에 도달 하게 되면 표면 처리는 끝나게 되며, 세포의 고정화를 위해서는 마지막 층은 반드시 플러스 전하를 띠는 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드 층이 되어야 한다. 세포막을 구성하는 인지질로 인해 세포는 음전하를 띠기 때문에 세포 고정을 위해서는 플러스 전하를 띠는 층이 되어야만 한다.

<42> **3. 플라즈마 공정**

<43> 유리 기판의 표면 처리가 완료된 후에 기판 위에 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물을 제작하기 위하여, 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트와 광 개시제(Photo initiator)를 혼합한 시료를 준비하고, 몰드로 사용될 PDMS 몰드는 케필러리 현상이 잘 발생할 수 있도록 하기위해 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 플라즈마 처리를 한다.

<44> **4. 마이크로 몰딩 케필러리 공정**

<45> 플라즈마 처리된 PDMS 몰드는 다층 박막 증착 방법으로 인해 고분자 전해질로 표면이 처리된 유리 기판 위에 올

려놓고 패턴의 완전한 밀착을 위해 잠시 기다린다. 이후, 준비된 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트와 광 개시제가 혼합된 시료를 주입한다. 케필러리 힘에 의해 주입된 시료가 전체적으로 잘 퍼질 때까지 잠시 기다리고, 휴지를 이용하여 PDMS 몰드 주변 테두리의 잔여 흘러나온 혼합물 시료를 제거한다.

<46> **5. 자외선 경화 공정**

<47> 혼합 시료가 채워진 시료는 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물을 형성하기 위해 자외선 조사를 한다. 자외선 조사를 마친 후 샘플에서 PDMS 몰드를 제거하면 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물이 형성된다. 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 구조물의 틀이 되는 PDMS 몰드는 다양한 모양, 사이즈의 패턴을 실리콘 마스터로부터 얻을 수 있다. 이것은 3차원의 폴리에틸렌 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 구조물 또한 다양한 크기 및 모양을 얻을 수 있음을 의미한다. 제작된 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 구조물의 틀이 되는 PDMS 몰드와 잘 매치됨을 주사 전자 현미경을 통해 확인할 수 있다(도 5 참조).

<48> 제작된 시료에 원하는 세포의 고정을 위해 세포가 포함되어있는 용액을 로딩하고 세포가 표면과 부착되어 고정화되는 것까지의 시간을 고려해 기다린 후에, PBS(phosphate buffer saline)을 이용해 천천히 클리닝을 수행하게 되면 다층 박막 방법으로 인해 표면 처리 고분자 전해질 부분에만 세포가 고정화되고 패턴이 형성된다. 세포 고정 및 패턴 형성의 성공적인 결과는 광학 현미경과 형광 현미경의 이미지를 통해 얻을 수 있다.

<49> 본 발명자들은 박테리아 및 동물 세포를 본 발명의 제작된 기판 위에 세포의 고정화 여부를 확인하기 위한 테스트를 수행하였다(표 2 내지 표 4 및 표 5 내지 표 7 참조). 세포가 기판의 표면에 부착하고 고정화된 후에, 시료를 세척하고 현미경을 통해 세포의 고정 여부를 확인한 결과, 광학 현미경 및 형광 현미경의 이미지를 통해서 본 발명의 세포 고정화 방법이 성공적으로 이루어졌다(도 6 참조).

<50> 상기 방법에 의해 제조된 유리 기판은 증착된 고분자 전해질의 다층 박막의 층수에 따라 컨택 앵글 분석 장치를 이용해 컨택 앵글을 특정함으로써, 유리 기판의 표면 물성의 젖음 성이 소수성과 친수성의 변화를 번갈아 가면 이루어진다(도 4 참조). 본 발명의 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 이용한 표면 처리를 통해 유리 기판 표면의 젖음 성을 소수성에서 친수성으로, 친수성에서 소수성으로 손쉽고, 빠르게 표면의 물성을 변화 시킬 수가 있어 세포 부착에 유리한 표면과 원하는 표면 처리가 가능하다(도 4 참조).

<51> 본 발명에 의한 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 통해 제작되는데, 제작된 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 구조물의 틀이 되는 PDMS 몰드와 잘 매치됨을 주사 전자 현미경을 통해 확인할 수 있다(도 5 참조).

<52> 또한, 본 발명에 따른 세포의 용이한 고정화를 위한 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법의 표면 처리와 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 이용해서 박테리아 및 동물 세포가 유리 기판 위에 안정적이고 특이적으로 고정화되고 패턴이 형성된다(도 6 참조). 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트는 그것의 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하는 역할을 충분이 수행하고, 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 이용한 표면 처리를 통해 원하는 곳에만 세포의 고정과 패턴의 형성이 이루어지며, 중간 매개체 없이도 세포의 고정이 바로 표면에 이루어진다.

<53> 이상과 같이, 본 발명의 세포 고정화 방법은 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 통하여 세포 고정이 용이한 표면 처리와 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하는 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 이용한다. 그 결과 종래의 세포 고정을 위해 중간 매개체를 필요로 하는 표면 처리 방법에 비하여 쉽고, 간결하여, 경제적, 시간적으로 모두 절약하는 효과를 가지며, 세포 부착에 유리한 표면 처리가 선택적으로 가능하다. 또한, 3차원의 마이크로 구조물 안에서 세포의 고정화 및 패턴의 형성이 이루어짐에 따라, 세포의 비 특이적인 부착을 사면에서 방지하고 2차원에서 가능하지 못했던 세포의 3차원적인 환경에서의 변화에 관한 연구를 수행할 수 있다. 따라서 본 발명의 세포 고정화 방법을 이용하면 생물 생태학, 세포와 표면간의 상호 작용에 관한 연구 및 세포를 바탕으로 하는 고속 스크리닝 시스템에서의 효율적인 활용이 가능하다.

<54> 이하, 본 발명을 실시 예에 의해 상세히 설명한다.

<55> 단, 하기 실시 예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시 예에 한정되는 것은 아니다.

<56> **<실시 예 1> 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 통한 표면 처리**

<57> 유리 기판 위에 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 위한 표면 처리를 수행하기 위하여, 먼저 유리 기판을 가로 × 세로(2.5 ㎝ × 2.5 ㎝)로 자르고, 이소프로필(Isopropyl), 아세톤(Acetone), 에탄올(Ethanol)로 각각

5분씩의 클리닝 과정을 거치고 난 후에, 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 유리 기판의 표면을 활성화시켰다. 약 20초 정도의 플라즈마 처리를 마친 유리 기판은 그것의 원래의 성질로 회복되기 전에 다층 박막의 증착 방법을 수행하기 위하여, 플러스 전하를 띠는 첫 번째 층인 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드 용액에 약 20분 정도 담갔다. 이후, 증류수를 통한 세척을 위해 약 4분 30초 정도의 시간이 소요되는데, 30초는 담가둔 상태로 있게 하고 1분은 담갔다가 뺐다가를 반복하였다. 상기 과정을 총 3회를 수행하였다. 증류수의 세척 과정을 마친 유리 기판은 플러스 전하와 반대의 전하를 띠는 폴리 4-암모니움 스타이렌 술포닉 엑시드 용액에 바로 담갔다. 역시 약 20분 정도 담근 후에, 증류수의 세척 과정을 동일하게 수행하였다. 이 일련의 과정을 반복해서 수행하여 다층 박막의 증착 방법을 통한 세포 고정이 용이한 표면 처리를 이룰 수 있었다. 다층 박막 증착 방법의 표면 처리에 따른 유리 기판의 표면 젖음 성의 물성 변화는 컨택 앵글 분석 장치를 이용하여, 컨택 앵글의 값을 측정함으로써 얻었다(표 1).

표 1

<58>

다층 박막 층수	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
평 균	51.80	17.12	49.87	20.24	49.93	17.18	50.58	15.08	50.13	18.88	49.82	13.98
표준편차	3.799	2.101	5.970	1.344	4.376	2.556	3.558	1.291	4.077	1.395	5.361	1.561

<59> **<실시 예 2> 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물 제작**

<60> 본 발명에 의한 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 통해 제작되었다. 3차원 구조물의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트는 수 평균 분자량이 ~ 330인 폴리에틸렌글리콜 디메타크릴레이트(poly(ethylene glycol) dimethacrylate) 95%와 광 개시제(photo initiator) D1173 5%를 혼합한 후에 시료를 준비하고, 다층 박막 증착 방법에 의해 고분자 전해질로 표면이 처리된 유리 기판 위에 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 제작하기 위하여, 몰드로 사용될 PDMS 몰드는 케필러리 현상이 잘 발생할 수 있도록 하기위해 산소 플라즈마 클리너를 이용하여 약 20초 정도의 플라즈마 처리를 하였다. 산소 플라즈마로 처리된 PDMS 몰드는 다층 박막 증착 방법으로 인해 고분자 전해질로 표면 처리된 유리 기판 위에 올려놓고 패턴의 완전한 밀착을 위해 약 10초 정도의 시간을 기다렸다. 이후, 준비된 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트와 광 개시제가 혼합된 시료를 주입하였다. 케필러리 힘에 의해 주입된 시료가 전체적으로 잘 퍼질 때까지 역시 10초 정도의 시간을 기다리고 이후, PDMS 몰드 주변 테두리의 새어나온 잔여 혼합물 시료를 제거하였다. 혼합 시료가 채워진 샘플은 마이크로 구조물을 형성하기 위해 약 1시간 정도의 자외선 조사를 통해 경화가 이루어지게 되었다. 자외선 조사를 마친 후 샘플에서 PDMS 몰드를 제거하여 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 얻었다. 제작된 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 구조물의 틀이 되는 PDMS 몰드와 잘 매치됨을 주사 전자 현미경을 통해 확인할 수 있었다(도 5).

<61> **<실시 예 3> 박테리아 및 동물 세포의 세포 고정과 패턴의 형성**

<62> 박테리아(*E. coil*-pET23b GFP / *E. coil*-PS2002) 및 동물 세포(NIH-3T3)를 각각 하기 표 2 내지 표 4와 표 5 내지 표 7의 조건에 따라 본 발명의 제작된 기판 위에 세포의 고정화 여부를 확인하기 위한 테스트를 수행하였다. 세포가 포함되어있는 용액을 로딩한 후에, 세포가 기판 표면에 부착하여 고정화되는 시간을 감안하여, 각각 30분, 26시간, 48시간 정도의 기다렸다. 상기 시간이 지난 후에, PBS(phosphate buffer saline)를 이용해 기판을 천천히 세척하고 현미경을 통해 세포의 고정 여부에 대한 결과를 확인하였다(도 6). 광학 현미경 및 형광 현미경의 이미지를 통해서 본 발명의 세포 고정화 방법에 의해서 세포의 고정과 패턴의 발생이 성공적으로 이루어짐을 확인할 수 있었다.

표 2

<63>

구 분	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 1	6	50	원	20	0.5	0.5
		100	사각형	50	1	
			선			

표 3

<64>

구 분	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 2	7	50	원	20	0.5	0.5
		100	사각형	50	1	
			선			

표 4

<65>

구 분	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 3	9	50	원	20	0.5	0.5
		100	사각형	50	1	
			선			

표 5

<66>

구 분	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 4	5	50	원	30	3,400	26
		100	사각형			48
			선			

표 6

<67>

구 분	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 5	7	50	원	30	3,400	26
		100	사각형			48
			선			

표 7

<68>

	다층 박막 층수	패턴 크기 (㎛)	패턴 모양	로딩 부피 (㎕)	세포 광학밀도 (세포/㎕)	지연시간 (hr)
실시 예 6	9	50	원	30	3,400	26
		100	사각형			48
			선			

<69> **<실시예 4> 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법에 따른 유리 기판 표면 물성의 변화 확인**

<70> 상기 방법에 의해 제조된 실시 예 1의 유리 기판에 증착된 고분자 전해질의 다층 박막의 층수에 따라 컨택 앵글 분석 장치를 이용해 각각 20회 정도의 컨택 앵글을 특정함으로써, 유리 기판의 표면 물성의 젖음 성이 소수성과 친수성의 변화를 번갈아 가면서 이루어지는 것을 확인하였다. 알려진 문헌 자료에 의하면 폴리아릴아민 하이드로크롤라이드의 컨택 앵글 값은 50° ~ 60° 사이이며, 폴리 4-암모니움 스타이렌 술포닉 엑시드의 경우 15° ~ 25° 사이의 값이다. 도 4는 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 통한 표면 처리된 층수에 따른 유리 기판의 컨택 앵글에 대한 평균 데이터이다.

<71> 본 발명에서 사용한 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 이용한 표면 처리를 통해 유리 기판 표면의 젖음성을 소수성에서 친수성으로, 친수성에서 소수성으로 손쉽고, 빠르게 표면의 물성을 변화 시킬 수가 있어서 세

포 부착에 유리한 표면과 원하는 표면 처리가 가능함을 확인할 수 있었다(도 4).

<72> **<실시 예 5> 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 3차원 마이크로 구조물의 확인 및 세포 고정화와 패턴의 형성 확인**

<73> 본 발명에 의한 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 통해 제작되었다. 3차원 마이크로 구조물의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트는 수 평균 분자량이 ~ 330인 폴리에틸렌글리콜 디메타크릴레이트(poly(ethylene glycol) dimethacrylate) 95%와 광 개시제(photo initiator) D1173 5%를 혼합한 후에, 자외선 조사를 통한 약 1시간 정도의 경화 과정을 거쳐서 형성되었다. 제작된 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물은 구조물의 틀이 되는 PDMS 몰드와 잘 매치됨을 주사 전자 현미경을 통해 확인할 수 있었다(도 5).

<74> 또한, 본 발명에 따른 세포의 용이한 고정화를 위한 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법의 표면 처리와 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 이용해서 박테리아(*E. coil*-pET23b GFP / *E. coil*-PS2002) 및 동물 세포(NIH-3T3)가 유리 기판 위에 안정적이고 특이적으로 고정화되고 패턴이 형성됨을 광학 현미경 이미지와 형광 현미경 이미지를 통해 확인하였다(도 6). 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트는 그것의 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하는 역할을 충분이 수행하였으며, 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 이용한 표면 처리를 통해 원하는 곳에만 세포의 고정과 패턴의 형성이 이루어 졌다. 또한, 중간 매개체 없이도 세포의 고정이 바로 표면에 이루어짐을 확인할 수 있었다(도 6).

<75> 이상과 같이, 본 발명의 세포 고정화 방법은 고분자 전해질의 다층 박막 증착 방법을 통하여 세포 고정이 용이한 표면 처리와 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하는 3차원의 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트 마이크로 구조물을 이용하였다. 그 결과, 세포 고정을 위해 중간 매개체를 필요로 하는 종래의 방법에 비하여 표면 처리 방법이 용이하고, 간결하여 경제적, 시간적으로 효율성이 높았다. 아울러, 세포 부착에 유리한 표면 처리가 선택적으로 가능하며, 3차원의 마이크로 구조물 안에서 세포의 고정화 및 패턴의 형성이 이루어짐에 따라 세포의 비 특이적인 부착을 사면에서 방지하고 2차원에서 가능하지 못했던 세포의 3차원적인 환경에서의 변화에 관한 연구를 가능케 하였다. 따라서 본 발명의 세포 고정화 방법을 이용하면 생물 생태학, 세포와 표면간의 상호 작용에 관한 연구 및 세포를 바탕으로 하는 고속 스크리닝 시스템에서의 효율적인 활용이 가능하다.

발명의 효과

<76> 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 표면 처리 방법은 고분자 전해질과 폴리에틸렌글리콜의 마이크로 구조물을 통해 기판의 표면을 처리함으로써, 종래의 기판 표면에 세포 고정시의 문제점이었던 중간의 복잡한 과정을 간소화하고 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합의 발생 가능성을 줄여 경제적 비용 및 시간 절약의 효과와 높은 수율의 획득, 더불어 손쉽고, 빠르게 기판의 표면에 세포를 고정화할 수 있는 이점을 갖는다. 아울러, 고체의 기판 표면에 쉽고, 빠르게 세포를 고정화할 수 있으므로, 안정적이고 특이적으로 높은 수율의 획득이 가능한 마이크로 어레이의 제작과 경제적인 비용 감소와 시간적인 절약 효과를 얻을 수 있으므로, 이를 바탕으로 생물 생태학에 관한 연구, 세포와 표면간의 상호작용 및 세포를 기반으로 하는 고속 스크리닝 시스템에서의 활용에 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 유리 기판 위에 다층 박막 증착 방법을 이용한 고분자 전해질로 표면을 처리하는 방법을 보여주는 개념도이다.

<2> 도 2는 세포의 비 특이적인 흡착 및 결합을 방지하기 위하여, 고분자 전해질로 표면이 개질된 유리 기판 위에 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 사용하여 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물을 형성하는 것을 보여주는 개념도이다.

<3> 도 3은 유리 기판위에 세포의 고정화 및 패턴을 형성하기 위한 방법을 단계별로 보여주는 흐름도이다.

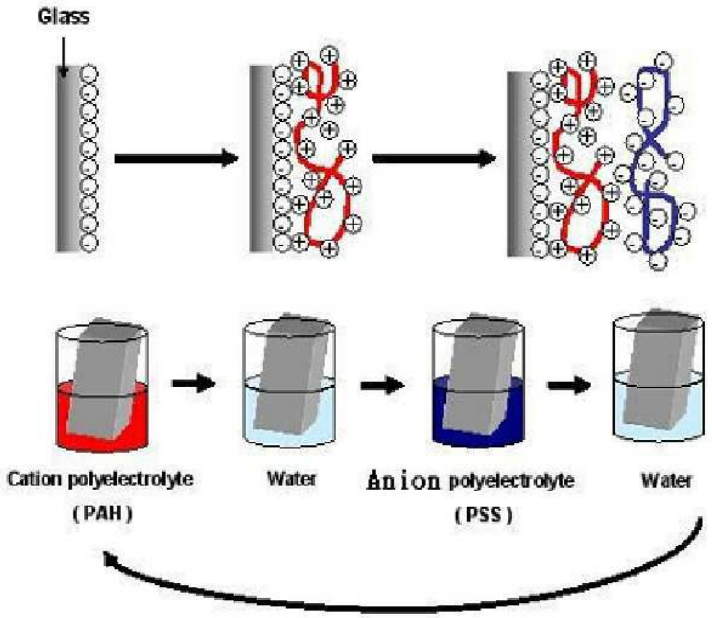
<4> 도 4는 다층 박막 증착 방법을 통해 고분자 전해질로 표면 개질된 유리 기판 표면의 젖음 성의 물성 변화를 보여주는 컨택 앵글(Contact angle) 결과 데이터이다.

<5> 도 5는 마이크로 몰딩 케필러리 방법을 이용해 형성된 폴리에틸렌글리콜 디메타아크릴레이트의 마이크로 구조물과 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane, PDMS) 몰드의 주사 전자 현미경 이미지이다(이때, 도 5a는 PDMS 몰드, 도 5b는 PEG-DMA의 마이크로 구조물이다).

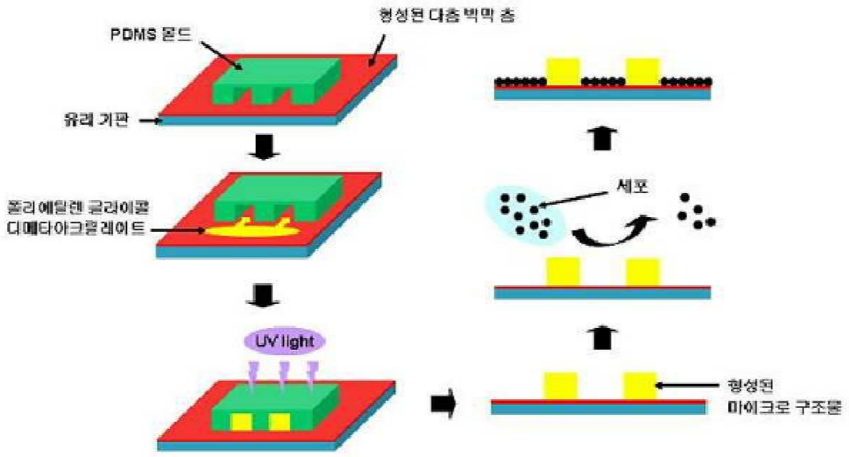
<6> 도 6은 본 발명의 세포 고정화를 위한 표면 처리 및 제조 방법을 이용해 발생된 박테리아 및 동물 세포의 패턴이 형성된 결과를 보여주는 광학 현미경과 형광 현미경 이미지로, 도 6a는 박테리아(*E. coil*-pET23b GFP)의 광학 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛), 도 6b는 박테리아(*E. coil*-pET23b GFP)의 형광 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛), 도 6c는 박테리아(*E. coil*-PS2002)의 형광 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛), 도 6d는 박테리아(*E. coil*-PS2002)의 형광 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛), 도 6e는 동물 세포(NIH-3T3)의 광학 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛) 및 도 6f는 동물 세포(NIH-3T3)의 광학 현미경 이미지(이미지 상의 스케일 바는 50 ㎛)이다.

도면

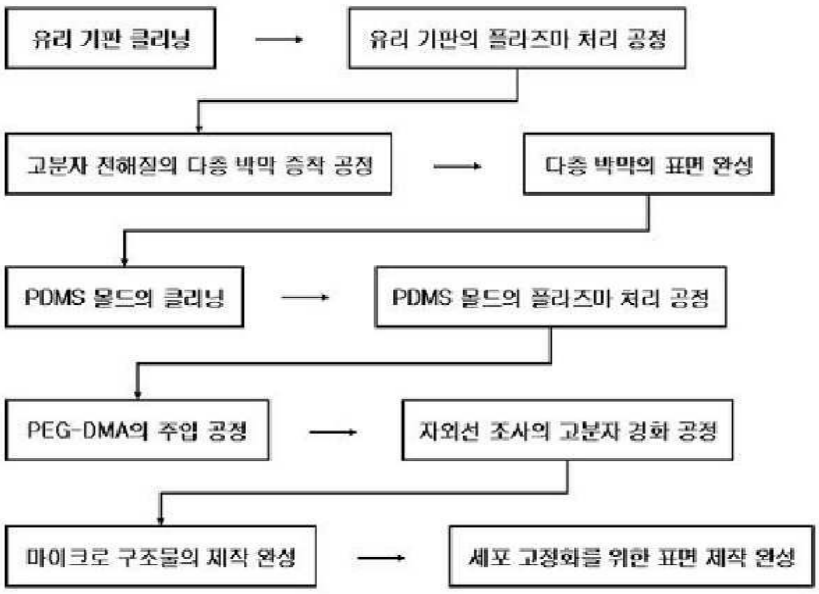
도면1



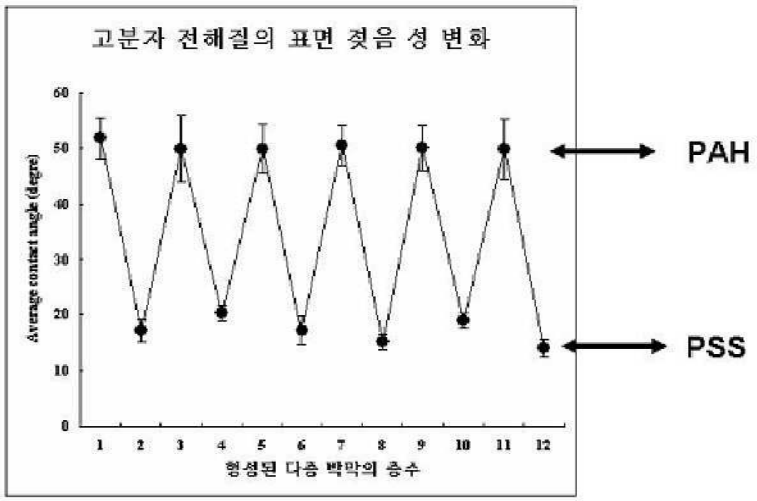
도면2



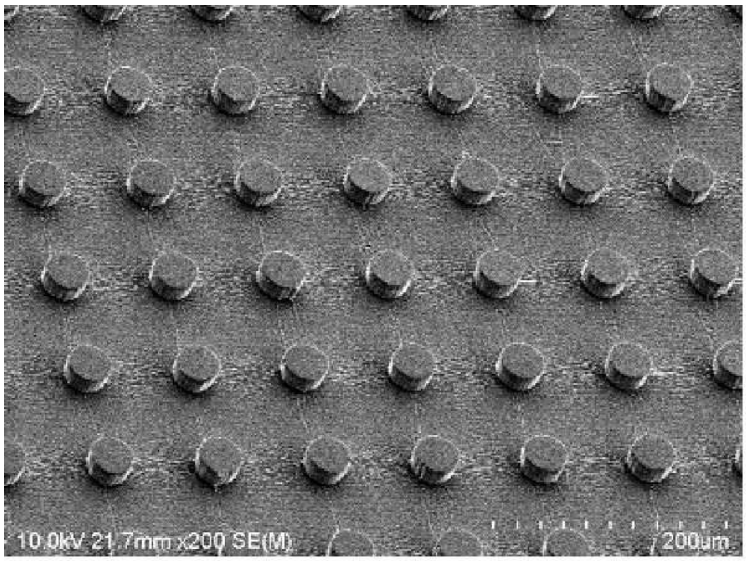
도면3


유리 기판 클리닝
유리 기판의 플리즈마 처리 공정
고분자 전해질의 다층 박막 증착 공정
다층 박막의 표면 완성
PDMS 몰드의 클리닝
PDMS 몰드의 플리즈마 처리 공정
PEG-DMA의 주입 공정
자외선 조사의 고분자 경화 공정
마이크로 구조물의 제작 완성
세포 고정화를 위한 표면 제작 완성

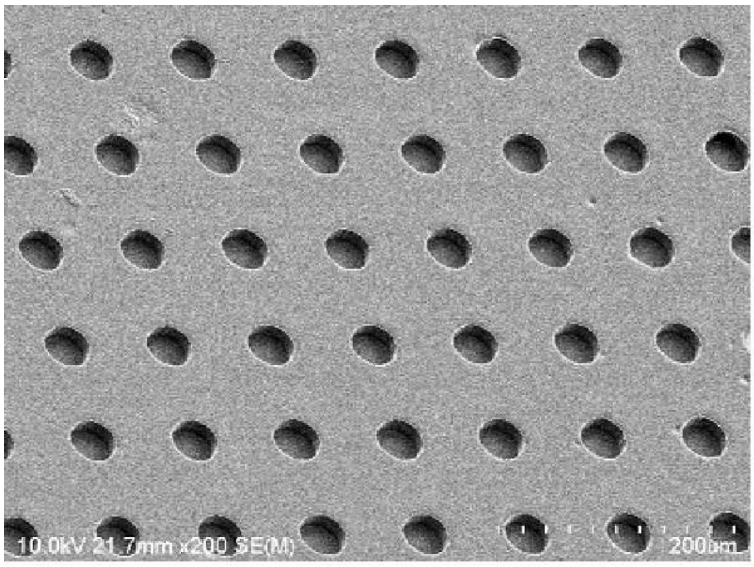
도면4


고분자 전해질의 표면 젖음 성 변화
Average contact angle (degree)
0
10
20
30
40
50
60
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
형성된 다층 박막의 층수
PAH
PSS

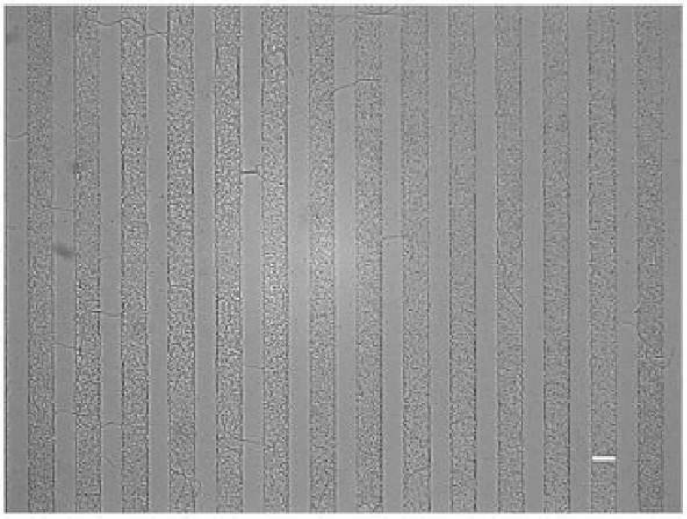
도면5a



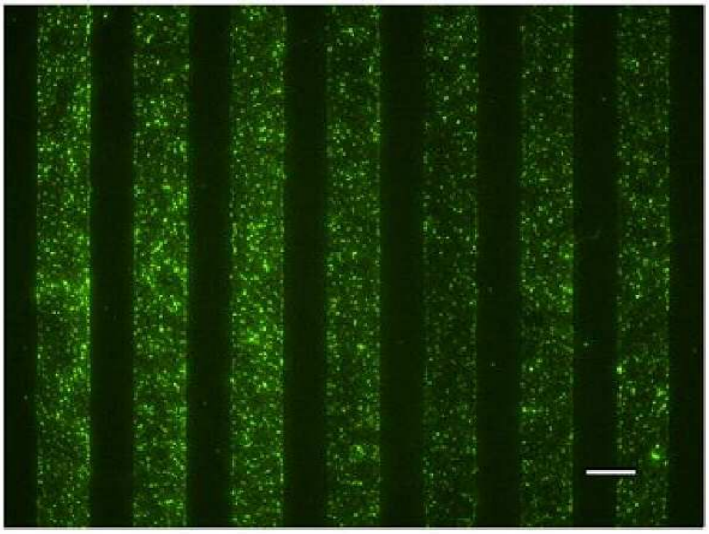
도면5b



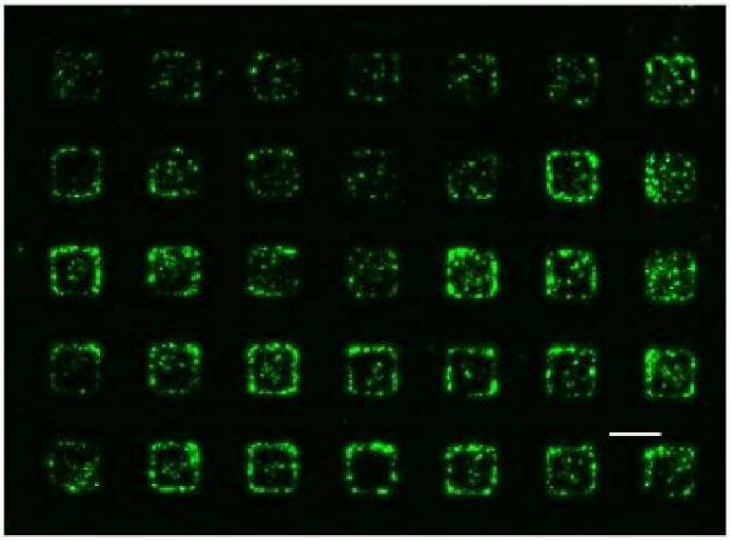
도면6a



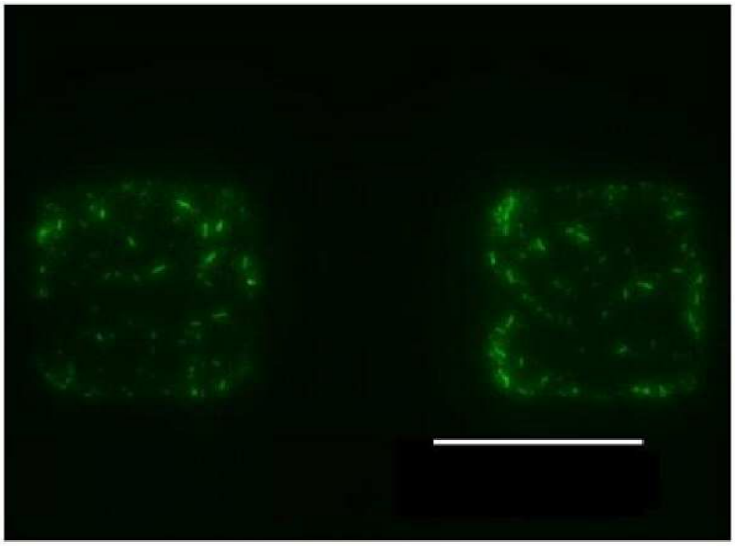
도면6b



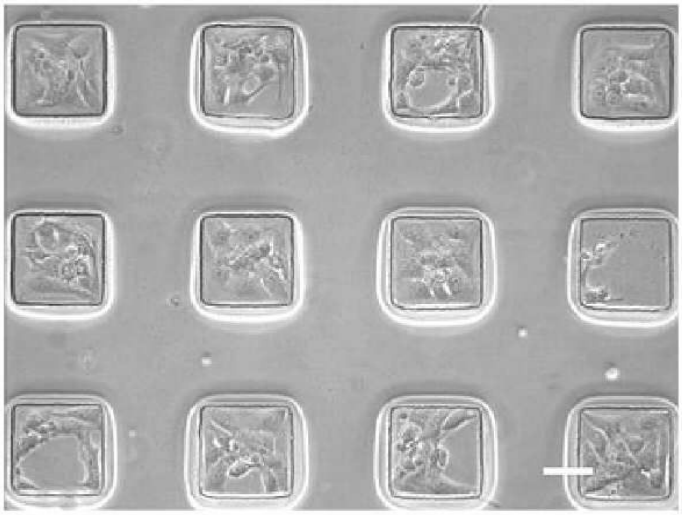
도면6c



도면6d



도면6e



도면6f

