

초청논문

고분자 구배표면 제조와 생체의료학적 응용

이해방[†] · 김문석 · 조영호* · 강길선* · 이진호**

한국화학연구원 나노생체재료연구팀, *전북대학교 유기신물질공학과,
**한남대학교 정보신소재공학과

Preparation of Gradient Polymer Surface and Their Pluripotent Biomedical Applications

Hai Bang Lee[†], Moon Suk Kim, Young Ho Cho*, Gilson Khang*, and Jin Ho Lee**

Nanobiomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-343, Korea

*Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

**Department of Macromolecular Science, Hannam University,
133 Ojeong Dong, Daedeog Ku, Daejeon 300-791, Korea

초록: 지난 30년에 걸쳐 다양한 생체재료가 개발되어 생체의료 시장에 응용되고 있다. 생물의학 분야에서 생체재료의 실질적인 활용은 생체적합성으로 언급된 생체재료에 알맞은 물리적·생물학적 반응에 대한 연구에 의존하고 있다. 다양한 표면 처리 방법을 통한 생체재료의 개질은 표면 공학 분야에서 최근에 흥미로운 주제로 떠오르고 있다. 대다수의 연구그룹들은 최근 재료의 길이에 따라 점차적으로 다양한 화학적 조성물들이 표면에 존재하게 하는 실험에 관해 초점을 모으고 있다. 이러한 “구배표면”은 생물학적 기종과 재료표면 사이의 상호작용에 대한 기초적인 응용 연구에 특별한 흥미를 보여준다. 본 총설은 한 가지 시료 위에 다양한 구배표면을 만드는 실험과 특성파악, 그리고 이들 재료표면과 생물학적 기종들과의 상호작용 규명에 초점을 두었다.

Abstract: Over last three decades, various biomaterials has been developed and applied in the biomedical market. The practical utilization of biomaterials depends on the study about an appropriate physical and biological response of biomaterials. The modification of biomaterials using various surface treatment methods has recently become an interesting topic in the field of surface engineering. A gradient surface is the surface on which a gradually varying chemical composition exists along its length. A large number of research groups have been focused on the preparation of gradient surfaces. Such gradient surface is of particular interest for basic and applied studies of the interactions between biological species and surfaces since the effect of a selected property like wettability or chemical composition can be examined in a single experiment on one surface. The present review focuses on the preparation and characterization of various gradient surfaces, and their interactions with biological species.

Keywords: biomaterials, wettability, hydrophilicity, hydrophobicity, biocompatibility, gradient, surface engineering, biological interaction.

목차

1. 서론	424	3.3 구배표면 위의 폴리에틸렌옥사이드기 도입	
2. 구배표면 제조 방법	425	3.4 구배표면 위의 리피드기 도입	
2.1 가스 혹은 용매 확산을 이용한 방법		4. 구배표면의 특성분석	427
2.2 고주파수를 이용한 플라즈마 방전(RFPD) 방법		4.1 물을 이용한 접촉각 분석	
2.3 코로나 방전 방법		4.2 Ellipsometer 분석	
3. 구배표면에 생체-작용기의 도입	426	4.3 Electron spectroscopy for chemical analysis 분석	
3.1 구배표면 위의 수산화 그룹 도입		4.4 Infrared spectroscopy 분석	
3.2 구배표면에서 이온작용기 도입		4.5 Atomic force microscopy 분석	
		5. 구배표면의 생체분자와의 상호작용	428
		5.1 단백질과의 상호작용	
		5.2 세포와의 상호작용	
		6. 결론	430

[†]To whom correspondence should be addressed. E-mail: hblee@kriect.re.kr

1. 서론

지난 30년 동안 생체의료 시장에서 생체재료의 중요성이 인식되었고 여러 종류의 특별한 생체재료가 세계 의료 시장에 상업화 단계로 제공되었다. 생체재료들은 금속, 세라믹 그리고 고분자와 같은 합성재료에서부터 생물학적인 재료까지를 포함하고 있다. 가장 최근의 생체재료에 대한 정의는 “살아있는 유기체내에서 자연적으로 얻을 수 있는 재료 또는 인간을 치료할 수 있도록 고안된 재료”로 되어 있다.¹

비록 생체재료가 강도 및 탄성과 같은 훌륭한 벌크성질을 가질지라도 이들은 마모저항성의 저하와 제한된 생체적합성 등 상대적으로 표면성질이 좋지 않다. 충분한 생체적합성을 가지기 위해 벌크와 표면 특성을 절충을 하는 것이 반드시 필요하다. 젖음성(소수성/친수성), 화학적 성질, 전하, 거침성과 같은 생체재료 특성은 생체적합성의 중요성을 시사한다.

일부 연구자 그룹들은 표면 젖음성과 생물학적 종류의 적합성 사이에 관계를 짓기 위하여 다른 젖음성을 갖는 다양한 고체 기질(주로 고분자)을 가지고, 다른 형태의 생물학적 종과의 상호작용을 연구하였다. 생물학적 물질들과의 상호작용은 주로 단백질의 흡착,² 세포의 점착과 확산,³ 그리고 생물학적 환경에서 발생할 수 있는 염증 반응과⁴ 같은 현상에 주로 관련되어 있다.

다양한 표면 처리 방법에 의한 생체재료의 개질은 표면공학 분야에서 흥미있는 주제로서 수십 년 동안 집중화되었다. 많은 연구 그룹들은 고체기질로서 생물학적 물질간의 상호작용에 있어 표면 젖음성이 미치는 영향에 관하여 광범위한 연구를 해왔다. 다른 젖음성을 갖기 위해 널리 이용되는 고체기질들을 Table 1에 수록하였다.^{5,12} 물

Table 1. Water Contact Angles of Various Solid Surfaces

Solid surface	Water contact angle °	Ref. No
Glass	10-32	6,7,8
Cellulose	13-18	7,8
Germanium	17-24	9
Tissue culture polystyrene (TCPS)	32-60	6,8,10
Polyhydroxyethyl methacrylate (PHEMA)	33-38	9
Polyurethane (PU)	35-39	8,9
Polyvinyl alcohol (PVA)	35-47	7
Tissue culture polyethylene terephthalate (TCPET)	42-46	8
Ceramics	44	11
Cellulose acetate	55	12
Polymethyl methacrylate (PMMA)	57-71	5,6,8
Nylon 6	59-63	7
Polyethylene terephthalate (PET)	59-68	5,7,8
Poly-L-lactic acid (PLLA)	68-74	8
Polystyrene (PS)	73-94	5,7,8,9
Polyvinyl chloride (PVC)	75	10
Polyvinylidene fluoride (PVDF)	75	6
Polycarbonate (PC)	83-95	6
Polysulfone (PSf)	86	6,8
Polyethylene (PE)	87-100	5,6,7
Polypropylene (PP)	89-96	5,7
Polydimethyl siloxane (PDMS)	100	6
Paraffin	101	6
Polytetrafluoro ethylene (PTFE)	105-119	6,7

^a Measured by contact angle goniometer.

Table 2. ESCA Analysis of H₂O Plasma-Treated Polymer Surfaces

Substrate	Oxygen content (%)	C-OH/C-C (%)
PE	19.2	13.0
PP	10.3	5.4
PS	17.1	7.8
PET	37.5	7.1
PMMA	34.8	6.6

을 이용한 접촉각은 재료표면의 젖음성을 나타내는 지표이며, 보통 접촉각도측정기(고니오미터)나 Wilhelmy 판 장치(동적 방법)를 이용하여 측정된다.¹³

여러 고체 기질들 사이에서 세포점착에 대한 고분자 표면 젖음성의 중요성은 1960년 Weiss에 의해 보고되었으며,¹⁴ 후에 다른 많은 연구를 통해 확인되었다. Kaelble과 Moacanin은 표면 에너지와 관련하여 생체점착을 연구하였다.¹⁵ Baier와¹⁶ van der Valk 등은¹⁷ 표면 자유에너지와 세포 점착 사이의 상호작용을 일부 보여 주었다. 즉, 표면 에너지가 낮은 재료는 세포 점착률이 저하되었다. Grinnell은 표면 젖음성이 다른 형태의 포유류 세포의 점착과 증식에 영향을 미친다고 설명하였다.¹⁸ 세포점착은 물이 적셔질 수 있는 기질 위에서 먼저 이루어진다.

Schakenraad과⁶ Absolom은¹⁹ 인간 섬유아세포나 내피세포는 소수성의 기질에 잘 안 퍼지며 친수성 기질에서 더 넓게 퍼진다고 보고하였다. Tamada와 Ikada는 섬유아세포의 최대 점착이 적당한 물 젖음성을 갖는 표면 위에서 일어나며 너무 높거나 너무 낮은 젖음성을 갖는 표면에서는 감소함을 알아냈다.²⁰ van Wachem 등은 인간의 내피세포가 적절한 젖음성을 갖는 고분자 위에서 최적으로 붙는다고 밝혔다.⁸ Jansen 등은 상피세포는 그렇지 않은 반면에 인간의 섬유아세포가 표면 젖음성에 민감하다는 것을 관찰하였다.²¹ van Kooten 등은 다른 젖음성을 갖는 기질로부터 섬유아세포의 부착과 탈착의 강도를 결정하였다.²² 탈착의 용이성은 젖음성이 증가함에 따라 감소함을 보였다.

또한 다른 젖음성을 갖는 다양한 고분자와 혈액단백질간의 상호작용에 대한 관심이 집중되고 있다. Uyen 등은 다양한 범위의 젖음성을 가진 기질에 알부민의 흡착을 연구하였다.²³ 그들은 흡착된 단백질의 양이 가장 소수성인 재료에서 높았으며 기질의 젖음성이 증가함에 따라 흡착량이 감소함을 보였다. Lu와 Park은 다른 젖음성의 기질 위에 흡착된 피브리노겐의 형태적 변화 정도를 연구하였다.⁹ 그들은 흡착된 단백질의 양에 대해 표면이 좀더 소수성일수록 증가하며 흡착된 단백질은 표면 소수성 증가에 따라 큰 형태적 변화를 가지게 된 것을 보여주었다.

다른 종류의 기질을 사용하는 연구로부터 발생하는 한 가지 주요한 문제점은 기질이 화학적·물리적(다른 표면화학, 전하, 거침성, 경도, 결정성 등)으로 중요한 변수로 작용하는 불균일성에 있다. 또 다른 방법학적인 문제는 이러한 연구가 대다수의 시료가 원하는 젖음성의 범위를 포함하기 위해 실행되어야 하기 때문에 종종 어려움이 있다. 그것들은 또한 각 샘플의 실험이 분리되어 실행되기 때문에 방법학적인 오류의 가능성을 포함하고 있다.

많은 연구는 최근 재료의 길이에 따라 점차적으로 변하는 특성을 가지는 표면을 제조하는데 초점을 두고 있다. 이러한 “구배표면(gradient surface)”은 생물학적 기종과 재료표면 사이의 상호작용에 대한 기본적인 연구에 특별한 흥미를 보여준다. 이유는 젖음성과 같은 선택적인 성질에 대한 효과가 하나의 표면에 한 가지 실험을 시행할 수 밖에 없기 때문이다.²⁴ 여러 논문은 단백질, 세포 혹은 효소와 같은 생물

학적인 기종의 상호작용 현상의 연구에서 젖음성 구배표면과 그것을 응용한 실험에 대해 발표하였다. 게다가, 다양한 기질 위에서 실행되는 화학적 성분 구배에 대한 여러 기술이 개발되었고, 그러한 구배는 생체분자의 상호작용,²⁵ 세포-이동성 연구,²⁶ 혹은 의료진단과²⁷ 같은 실험과 응용성을 위해 사용되었다.

본 총설의 주요내용은 구배표면에 생체기능성 그룹의 도입을 통해서 젖음성 구배표면의 실행방법을 요약하였고, 생체의료 분야에서 구배표면의 특성과 응용성을 제시한다.

2. 구배표면 제조 방법

젖음성 구배표면의 실행은 세부적인 내용을 다음과 같이 검토함으로써 여러 생체기능성 그룹을 설명하였다.²⁸⁻⁴²

2.1 가스 혹은 용매 확산을 이용한 방법

가스 확산 기술은 확산을 제어할 수 있는 휘발성 실란 증기로 실리콘 웨이퍼에 노출시키는 원리를 기본으로 한다. 6°와 8° 사이의 물 접촉각 이력현상은 가스 확산을 통해 구배를 만들고, 용매 확산을 이용한 구배에서 부딪힌 이력현상과 비교해 볼 때 낫다.⁴³ 불행히도, 가파른 젖음성을 보이는 것은 쉽게 제어할 수 없다.^{43,44} 반면에, 용매 확산 기술은 보통 자이렌과 같은 용매에 용해되는 실란을 사용하며, 실란용액은 자이렌 분자 사이로 확산된다.³⁰ 실란은 동시에 실란 웨이퍼나 유리 표면에 붙고 연속적으로 표면에 결합한다. 실험은 배수를 통해 용액을 제거함으로써 끝나게 된다. 이와 같이 결합된 실란의 구배는 실리콘 웨이퍼의 길이를 따라 형성된다. 이러한 기능성 분자의 구배 방법은 다른 생체분자나 혹은 그래프트된 생체재료의 도입을 통해 2차 반응단계에 대한 template로서 사용될 수 있다.⁴⁵ Liedberg 등은 또한 단백질 흡착과 고정 현상의 기초적인 연구에 대한 표면 모델을 디자인하기 위해 용매 확산 기술을 이용하여 금 입자 위에 다양한 알케인싸이올(alkanethiols) 분자를 통해 구배를 실행하였다.^{46,47}

확산 기술의 주된 장점은 이러한 기술이 쉽게 이용되고 하나의 단순한 기질을 갖는 샘플 위에서 길이에 따라 정확하게 같은 방향과 연속적으로 다양한 화학 조성을 가지는 반면에, 이러한 기술이 실리콘, 실리카, 석영, 혹은 유리와 같은 친수성을 띤 무기물에만 적용이 될 수 있다는 단점 또한 가지고 있다.³⁶

2.2 고주파수를 이용한 플라즈마 방전(RFPD) 방법

산소나 질소와 같은 다양한 가스들은 다양한 물질의 플라즈마 처리에 사용된다. RFPD를 통해 다양한 고분자 표면에 젖음성 구배를 실행시키는 방법은 Pitt,⁴⁸ Golander,⁴⁹ 그리고 본 연구팀에^{5,50-52} 의해 개발되었다.

젖음성 구배는 RFPD에 노출되는 동안 고분자 표면에 대해 덮개가 움직이므로서 제작된다. 고분자 표면이 플라즈마로 노출되는 시간은 샘플의 길이에 따라 점차적으로 증가하며, 구배표면이 실현된다. 이러한 기술은 폴리에틸렌(PE), 폴리프로필렌(PP), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트)(PET), 폴리(메틸메타크릴레이트)(PMMA), 그리고 폴리스티렌(PS)과 같은 고분자에 적용될 수 있다. 또한 증기,⁵⁰ 산소를^{51,52} 포함한 다른 가스의 폭넓은 선택을 가능하게 한다. 이렇게 처리함으로써 고분자 표면은 플라즈마에 노출되는 시간이 증가함으로써 샘플 길이에 따라 점차적으로 산화되고 젖음성 구배가 이와 같이 실현된다. 플라즈마 처리를 통해 만들어진 고분자 표면은 처리상태에 의존하며, 물과의 접촉각이 80~90°에서 35~50°까지의 감소함으로써 젖음성 구배를 나타낸다(Figure 1).⁵⁰⁻⁵²

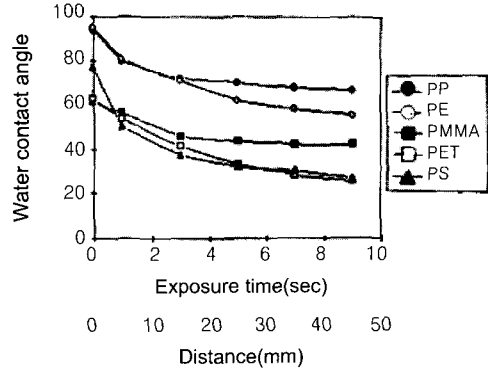


Figure 1. Water contact angles of gradient surfaces as a function of water vapor plasma treatment(plasma exposure time, up to 10 seconds).

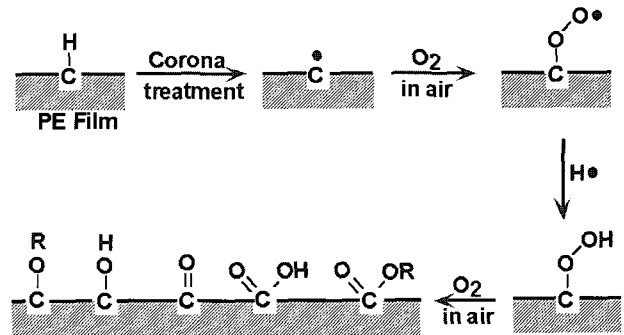


Figure 2. Plausible mechanism of the formation of oxygen-based functionalities on a polymer surface by oxygen plasma discharge treatment.

Figure 2는 PE 혹은 PS와 같은 고분자 표면에 발생한 산화가 플라즈마 처리에 의해 영향을 받았음을 보여주는 메커니즘이다. 고분자 표면에서 플라즈마 방전은 탄화수소 주사술에 탄소 라디칼을 생성하며, 반응기구 안에서 산소와의 빠른 결합을 통해 불안정한 과산화물을 유도한다. 불안정한 과산화물은 반응기구 내 혹은 공기 중의 산소와 반응함으로써(수산화기 그룹, 에스터, 케톤, 알데히드, 카복시산, 카복실에스터 등) 산소를 기본으로 다양한 극성 작용기를 만들기 위해 쉽게 치환된다.⁵³⁻⁵⁸ 그것은 고분자 표면에서 만들어지는 산소를 기본으로 한 작용기가 플라즈마 처리 시간이 길어짐에 따라 증가함을 보여주며, 표면에서 젖음성 구배의 형태를 생성한다. 플라즈마 처리방법의 주된 장점은 보통 진공상태에서 실행되며 또한 부가적으로 과잉 처리 시간에 대해 항상 안정하지 않은 변칙적인 표면 화학을 만들어낼지도 모른다.^{59,61}

2.3 코로나 방전 방법

코로나 방전 처리를 이용하여 고분자 표면에 젖음성 구배를 구현하는 방법은 본 연구 팀에 의해 개발되었다(Figure 3).^{61,62} 고주파수 코로나 방전 기기는 젖음성 구배표면을 제조하기 위해 사용되었다.⁶¹ 코로나 방전 기기는 고분자 표면에 젖음성 구배를 생성시키기 위한 두 가지 핵심 부분으로 구성되어 있다. 즉, 샘플 위에 점차 증가하는 전압을 걸기 위한 칼과 같은 형태의 전극(100 kHz에서 10~35 watts)과 움직일 수 있는 샘플 베드(보통 1.0 cm/s)라 할 수 있다. 이러한 기기를 이용하여 코로나 처리함으로써, 샘플 표면은 점점 증가하는 전압의 코로나에 연속적으로 노출되게 된다. 이와 같이, 표면은 샘플 길이에 따라 점차 산화되고, 다양한 작용기를 가진 젖음성 구배를 생성한다.

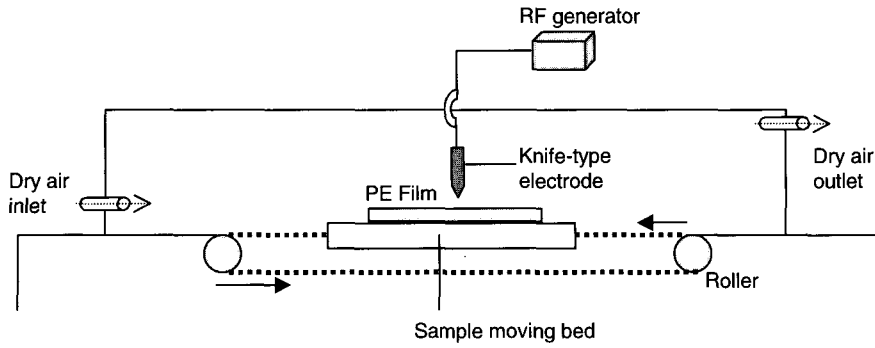


Figure 3. Schematic diagram showing the corona discharge apparatus for the preparation of a wettability gradient on polymer surfaces by the corona discharge treatment.

코로나 방전은 또한 생체재료 그래프트에 의한 구배를 실행하기 위해 사용된다.^{63,65} 이러한 방법은 대기 중에서 시행되기 때문에 적용하기가 용이하다.

3. 구배표면에 생체-작용기의 도입

생체재료 표면에 다양한 생체 작용기의 도입은 생물학적 체계에서 생체적합성이나 알맞은 반응으로 유도하여 개선하기 위해 중요하다. 이러한 도입을 통해서 우리는 다양한 구배 기질 위에 생체활성분자를 물리화학적으로 고정시킬 수 있다.

3.1 구배표면 위의 수산화 그룹 도입

PE, PP, PS, PET, 그리고 PMMA를 포함하는 여러 고분자의 표면은 증기 플라즈마 방전 처리에 의해 개질되었다. 증기 플라즈마 처리에 의해서, 고분자 표면의 젖음성은 대부분 증가하였고, 표면 위에 도입된 거의 모든 작용기가 수산화 그룹이다. 증기 플라즈마 처리에 의한 고분자 표면의 화학적 구조 변화는 물을 이용한 접촉각과 ESCA 측정을 이용하여 분석하였다. 여러 고분자 중에서, PE는 표면에서 수산화 그룹이 가장 높은 밀도를 나타냈다(Table 2). 증기 플라즈마 처리는 고분자 표면에 수산화 그룹을 생성하기 위한 가장 단순하고 효과적인 방법이다.^{5,66}

3.2 구배표면에서 이온 작용기 도입

이온 작용기를 가진 구배표면은 코로나 방전 처리 후에 아크릴산(AA), sodium *p*-styrene sulfonate(NaSS), 그리고 *N,N*-디메틸아미노프로필아크릴아마이드(DMAPAA)와 같은 이온성 비닐단량체의 그래프트 공중합에 의해 수행되었다(Figure 4).^{67,69} 코로나 처리한 PE 표면에 생산된 과산화물은 그래프트 공중합을 위한 개시제로 사용되었다. 이온성 비닐단량체는 코로나 처리된 PE 표면에 과산화물을 통해 그래프트 공중합되었다. AA는 다른 첨가물 없이 70 °C에서 수용액 상태로 PE 표면 (PE-COOH)에 그래프트 공중합되었다. 수산화 그룹(PE-CH₂OH)과 아마이드 그룹(PE-CONH)으로 그래프트된 PE 표면은 -COCl 그룹을 통해서 각각 CH₂OH와 -CHNH₂ 그룹으로 그래프트되어 -COOH 그룹으로 치환되었다(Figure 5). 표면(PE-CH₂NH₂)에서 그래프트된 아민 그룹은 아마이드 그룹으로 그래프트된 표면으로부터 유도하였다. 포스페이트 버퍼 살린(Phosphate-buffered saline) 혹은 pH 7.3-7.4의 플라즈마 용액에서 PE-COOH나 PE-NaSS는 음으로 전하될 수 있고, PE-CONH₂나 PE-DMAPAA는 양으로 전하될 수 있다. 이온 그룹으로 구배표면은 물을 이용한 접촉각, ESCA, 그리고 FTIR-ATR로 특징을 관찰하였다.

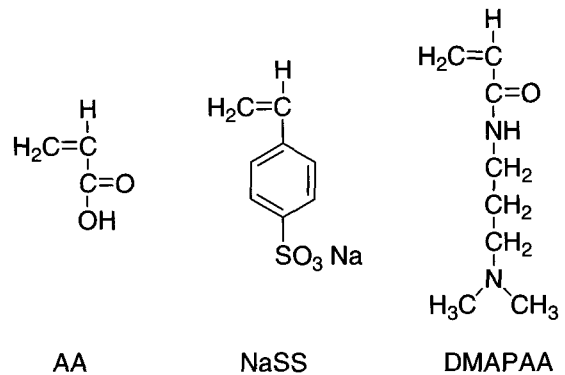


Figure 4. Chemical structures of chargeable monomers.

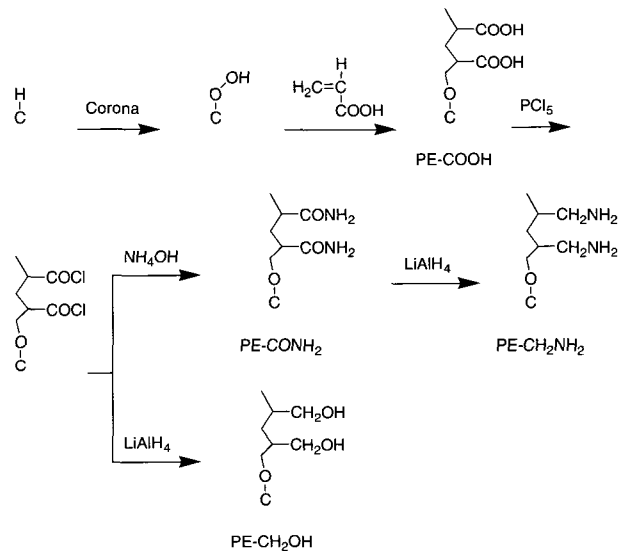


Figure 5. Schematic diagram showing the formation of functional group-grafted PE surfaces by corona discharge treatment followed by graft copolymerization and subsequent reactions.

이와 같은 모든 데이터는 이온 그룹이 PE 표면에서 밀도가 점차적으로 증가함으로써 그래프트화되었음을 보여준다. 그러나, 다른 이온으로 그래프트된 표면의 젖음성은 그래프트된 작용기의 종류에 의해 크

게 달라지지 않는다.

브랜치형 폴리에틸렌아민(PEI)은 표면에 고정시키기 위해 사용될 수 있고, 생물학적 환경에서 표면에 연속적으로 다수의 작용면을 제공한다. 게다가, 물에서 PEI는 양자화 때문에 양이온을 띤다. 이와 같은 PEI를 이용한 화학적 개질이 표면에서 수행되었으며,^{70,71} 코로나 처리된 PE 구배표면에서 카복실 그룹은 *N*-ethyl-*N'*-(3-다이메틸아미노프로필)carbodiimide(EDC)로 활성화시킴으로써 PEI를 도입하였다. ESCA에서, PEI 내에 C-N 종의 기여로 인해 탄소 1S 피크 높이가 PE 샘플 길이에 따라 증가하였다. 게다가 질소 1S 피크의 강도 또한 PE 샘플 길이에 따라 점차 증가되었다. 그러므로 PEI는 구배 PE 표면에 점차적으로 개질되었음을 알 수 있다.

3.3 구배표면 위의 폴리에틸렌옥사이드기 도입

폴리에틸렌옥사이드는 친수성으로 높은 표면 움직임과 입체안정성 효과를 가지며 그리고 특유의 용액특성과 물에서의 분자 형태를 통해 계면간의 최소 자유에너지를 갖고 있어서 “단백질 내성”(혹은 “혈액 적합성”)인 물질로 알려져 있다.^{68,69} Comb-like PEO 구배 표면은 PE 표면에 폴리에틸렌옥사이드 모노메타크릴레이트 macromers (PEO-MA)의 그래프트 공중합에 의해 실행되었다.^{65,72-74} 1, 5, 10의 다른 PEO 반복단위를 갖는 macromers가 사용되었고 comb-like PEO 사슬 밀도는 전압의 세기가 점차 증가하는 코로나 방전 처리에 의해 시료 길이에 따라 점차 변화되었다(Figure 6). PEO-MA에서 PEO 사슬 길이에 따라 증가하는 PEO-MA의 그래프트 양은 PEO-MA macromers에서 긴 PEO 가지 사슬의 입체방해성 때문에 감소한다. 준비된 comb-

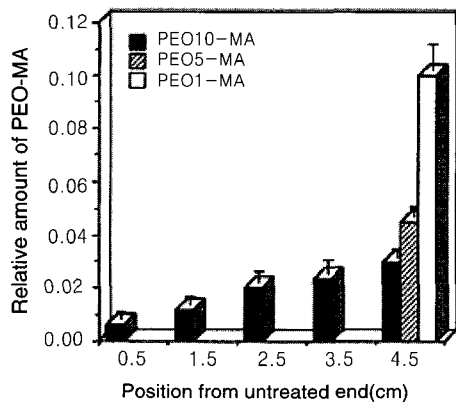


Figure 6. Relative amount of PEO-MA grafted on PE surfaces.

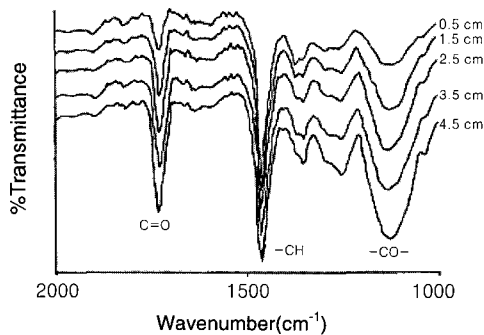


Figure 7. FTIR-ATR spectra of PEG10-MA grafted PE surface along the sample length. Numbers labeled on the spectra(0.5-4.5) represent the positions from the untreated end of the gradient surface.

like PEO 구배표면은 물을 이용한 접촉각과 FTIR-ATR(Figure 7), 그리고 ESCA 측정을 통해 특징을 분석하였다. 이러한 모든 측정 데이터는 점차 증가하는 PEO의 밀도에 따라 PEO 사슬이 PE 표면에 그래프트되었음을 나타내준다.

3.4 구배표면 위의 리피드기 도입

Ishihara 등은 훌륭한 혈액 적합성을 가진 2-메타크릴옥시에틸 포스포릴 콜린(2-methacryloxyethyl phosphoryl choline, MPC) 고분자의 합성을 보고하였고, 그것들을 생물의학 분야에 적용하였다.^{75,76} 그들은 또한 밀도, 이동성, 폴리(MAPC)의 배향성과 같은 표면특성을 시험하기 위해 코로나 방전 처리로서 poly(ω -메타크릴로일옥시알킬 포스포릴콜린(ω -methacryloyloxyalkyl phosphorylcholine(MAPC)))을 그래프트된 PE 구배 표면을 만들고 이에 대한 세포 부착 관련 평가 실험을 실행하였다.

4. 구배표면의 특성분석

4.1 물을 이용한 접촉각 분석

화학적 구배표면은 거의 항상 접촉각 측정 방법을 사용하여 그들의 젖음성 특성을 알 수 있다. 특히, 접촉각 측정은 표면 위의 원자층을 분석할 수 있는 정보를 제공하며, 표면을 연구하는 가장 민감한 기술 중의 하나라고 할 수 있다.^{77,78} 접촉각은 다양한 방법으로 측정될 수 있다.^{79,80} 구배표면의 길이에 대해 마이크로 리터의 물방울을 떨어뜨리고 간단한 각도측정법으로 표면에 떨어뜨린 물방울의 접촉각을 측정하는 기술이다(Figure 8).^{5,59,81,82}

4.2 Ellipsometer 분석

Ellipsometer는 표면의 반사로 인해 생기는 빛의 편광 변화를 측정하며, 예를 들어 표면에서 흡착된 필름의 두께를 연속적으로 계산하기 위해 사용할 수 있다.⁸³ 이와 같이, ellipsometer는 샘플과의 거리가 멀 때 작용하는 것으로써 구배 필름 두께를 측정하기 위한 주요 기술로서 이용되었다. 최근에, ellipsometer의 공간적인 해상도가 나노미터 크기에서도 관찰되었으며, 구배표면의 길이에 대해 기능적인 조성물의 밀도 변화를 결정하기 위해 적용되고 있다.⁴⁷ 게다가, ellipsometer는 구배표면으로 흡착된 단백질의 평균 위치 영역 두께를 결정하기 위해 종종 적용되기도 한다.^{30,32-36}

4.3 Electron Spectroscopy for Chemical Analysis(ESCA, 전자분광법) 분석

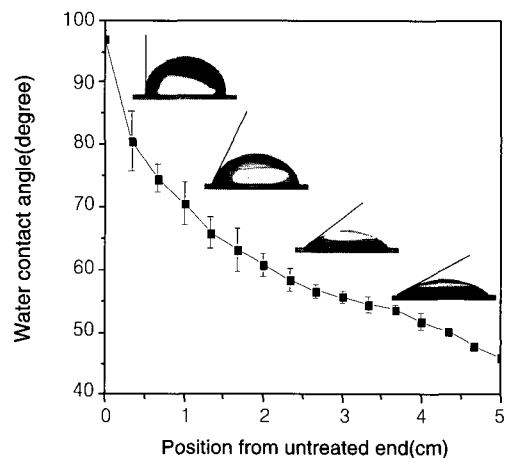


Figure 8. Contact angle of gradient PE surface measured by sessile drop method.

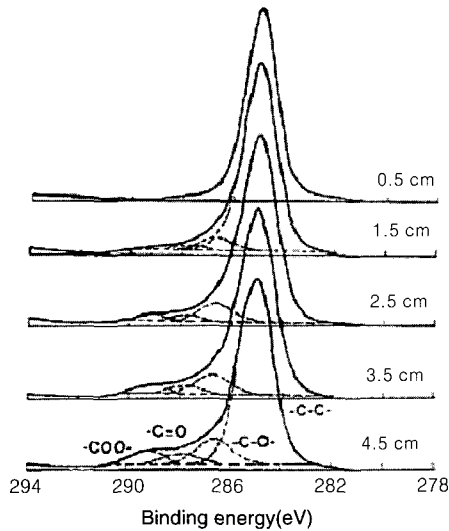


Figure 9. ESCA carbon 1S core level spectra of a corona-treated PE surface along the sample length. Numbers labeled on the spectra(0.5 to 4.5) represent the positions from the untreated end of the gradient surface.

X-ray photoelectron spectroscopy(XPS)라 불리는 ESCA는 비록 XPS 기기를 이용 표면 조사로 수 mm^2 에서 $1\sim 2\ \mu\text{m}^2$ 까지 상대적으로 작은 공간의 해상도를 가지고, 표면 특성을 분석하는데 매우 유용하다. ESCA 정보의 중요성은 나노미터 범위 내에 있으며, ellipsometer보단 좋지 않지만, 적외선 분광기보다는 더 훌륭하다. 대부분의 구배표면 연구가 고분자 재료를 사용하여 수행하기 때문에 ESCA에서 거의 피할 수 없는 구배표면의 탄소 오염은 구배표면의 ESCA 분석에서 심각한 요인으로 작용한다. 비록 ESCA는 완전한 정량을 제공하진 않지만, 표면 조성물의 작은 변화에 매우 민감하다.⁸⁴

RFPD 처리에 의한 고분자 표면의 화학적 구조에서 변화는 ESCA로 조사되었다.⁸⁵ Figure 9는 ESCA를 통해 코로나 처리된 PE 표면의 탄소 1S core의 scan spectra 정도를 보여준다. 구배(0.5 cm 부근)의 소수성 부분은 알킬 탄소(-C-C-) 피크가 $\sim 285\ \text{eV}$ 의 결합 에너지를 가짐을 보여준다. 코로나 전압의 세기가 증가하는 위치에 따라 탄소-산소 상관관계를 보여주는 높은 결합 에너지를 나타내는 새로운 피크가 확인되었다. 높은 결합 에너지 부분의 피크는 -C-O가 $\sim 286.6\ \text{eV}$ (e.g., hydroxyl 혹은 ether 그룹)에서, -C=O가 $\sim 287.9\ \text{eV}$ (e.g., 케톤 혹은 알데히드 그룹)에서, O=C-O가 $\sim 289.1\ \text{eV}$ (e.g., 카복시산 혹은 에스터 그룹)에서 일치됨을 알았다. 산소를 바탕으로 한 작용기는 코로나 전압의 세기가 증가함에 따라 증가하였다. 게다가, 조사한 스펙트럼의 결과는 공기 중의 모든 전자(수소와 헬륨을 제외함)에 대해 표면의 원소성분에 대한 정보를 제공한다. 원소는 각 원소의 고유한 결합 에너지를 통해 확인하였다. 코로나 처리의 경우, 수산기 혹은 ether 그룹(-C-O)은 다른 작용기보다 표면에 더 많이 생성되었다.

4.4 Infrared Spectroscopy 분석

비록 적외선분광기의 표면에 대한 자극감응성은 종종 구배 표면에 흡착된 단일분자 층이 너무 깊어서 감지할 수 없는 마이크로미터 범위 내에 있을지라도 infrared spectroscopy in attenuated total reflection(ATR) mode를 통해 종종 구배표면을 특성분석하기 위해 사용된다. 본 연구팀은 코로나 방전 처리한 PE 표면에 과잉의 산소로 도입시켰고, 연속적으로 FTIR-ATR을 이용하여 적외선 spectra의 경계면을 결정

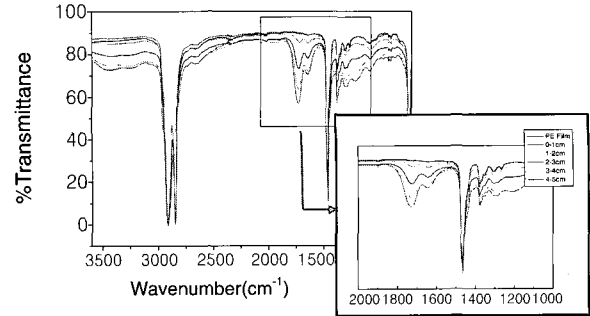


Figure 10. FTIR-ATR spectra along the PE length after corona treatment.

하였다.^{61-69, 72-76,85} 코로나 방전을 통해 장기간 노출된 구배 부분은 강한 C=O 흡착부분을 지녔으며, 강도가 점차적으로 증가하는 피크를 보였다(Figure 10). 이와 같이, 일반적으로 적외선 분광학은 구배표면을 특성화하기 위한 적절한 방법 중의 하나이다.

4.5 Atomic Force Microscopy(AFM) 분석

AFM은 고해상도의 표면 이미지를 위한 방법으로 확립되었다. 표면 위의 나노미터 해상도 분자특성을 분석하기 위한 훌륭한 기기이다.⁸⁶ 코로나 처리 후, AFM 데이터는 0.5 cm 위치의 10 nm에서 4.5 cm 위치의 100 nm까지 코로나 처리한 PE 표면의 거칠기가 증가하는 것을 보여준다.⁷⁴ 또한, 코로나 전압의 세기를 PE 길이에 따라 증가시켰을 때 코로나 처리된 PE 표면의 거칠기는 변한다는 것을 보여준다. 이와 같이, AFM은 구배 표면 이미지화에 대한 훌륭한 방법으로 이용될 수 있다.

4.6 기타 분석

구배표면은 또한 1-anilinoaphthalene-8-sulfonate(ANS)의 존재 하에 total internal reflection fluorescence(TIRF) spectroscopy로 분석 가능하다.^{38,87} ANS 형광의 높은 강도는 구배의 소수성 부분에서 발견되고, 친수성 부분에서 형광 강도는 나타나지 않았다. 이와 같이 TIRF는 구배 실리카 혹은 유리 표면의 젖음성을 분석하기 위해 사용될 수 있다. 또한 time-of-flight secondary ion mass spectrometry(TOF-SIMS)는 1 μm 미만의 공간적 해상도를 가지며, 원소와 분자의 종류를 감지할 수 있는 표면분석기술이다. 이러한 TOF-SIMS의 특성과 이미지화 가능성 때문에, 분석방법이 표면의 구성 성분을 분석하는데 이상적이다.⁸⁸

5. 구배표면의 생체분자와의 상호작용

생체적합성 재료의 최근 개발 동향은 세포의 기질(ECM)이나 특유의 세포반응으로부터 유래된 생체분자를 인식할 수 있는 생체모방성 재료에 초점이 맞춰지고 있다. 생체적합성 재료의 구배 기질은 생체분자를 인식할 수 있는 특성을 지닌 생체모방성 재료를 만들기 위한 가장 단순한 방법 중의 하나이다. 이와 같이 구배표면은 단백질과 세포와 같은 생물학적 종의 생물학적 상호작용과 거동을 시험하기 위해 매우 큰 잠재력을 제공할 수 있다. 구배표면으로 생물학적 종의 흡착은 작용기의 표면밀도가 증가할수록 점진적으로 감소함이 관찰되었다. 젖음성뿐만 아니라, 그들의 전하특성, 그리고 표면의 작용기는 생물학적 종의 흡착에 중요한 역할을 하는 것처럼 보인다. 이것은 표면의 친수성과 소수성 관계에 연관되어 있을 수도 있다. 이와 같이 생체적합성 재료로 특별한 위치에서 *in vivo* 혹은 *in vitro*를 통한

생물학적 종의 빠르고 정확한 인식과 결합반응에 대한 연구는 도전할만한 목표이다. 본 장에서는 구배표면에 단백질 흡착과 세포점착 연구를 소개한다.

5.1 단백질과의 상호작용

Elwing 등은 고체 기질을 이용한 젖음성 구배표면에서 피브리노겐(분자량 340000 Da)과 γ -글로불린(globulin)(분자량 160000 Da)과 같은 단순 단백질의 흡착과 교환에 대한 표면 에너지의 의존성을 연구하였다.^{30,31} 본 연구팀에서는 코로나 처리한 PE 구배표면에서 단백질 흡착의 모델로서 인간의 알부민(human albumin)의 결합특성을 조사하였다.^{62,89} 알부민이 흡착된 구배표면은 ESCA로 분석하였다. 또한 약간의 질소가 대기 중에서 코로나 처리에 의해 표면에 부가되는 것을 관찰했기 때문에 표면으로부터 질소를 나타내는 신호는 단백질 흡착의 척도로 사용되었다. 그것은 단백질 흡착의 펨티드 결합으로부터 주로 유도되었다. ESCA 분석으로부터 질소 피크(결합 에너지, ~399 eV)가 젖음성 구배를 따라서 점차 감소되었음을 보여주며, 알부민 흡착이 표면의 소수성이 증가함에 따라 점차적으로 증가함을 나타낸다. 이것은 구배표면의 소수성 영역에서 단백질 분자의 소수성에 대한 상호작용이 증가했기 때문이다. 알부민이 흡착된 표면은 또한 FTIR-ATR로 분석하였다. 그것은 표면에 흡착된 단백질로부터 아미드 II (1500~1600 cm^{-1}) 흡수 bands가 또한 젖음성 구배에 따라 점차적으로 감소함을 관찰하였다. 계면활성제 용액에 알부민이 흡착된 구배 표면의 노출은 단백질의 부분적인 치환을 발생하였다. 비록 기질에서 도입된 작용기가 다르긴 하지만 코로나 처리된 PE 구배표면의 소수성 영역 쪽으로 단백질의 흡착과 탈착이 증가되는 결과는 다른 사람

의 연구결과와 일치하였다.^{30,31,34,39}

Comb-like PEO로 그래프트된 PE 표면에 흡착된 단백질의 상대적인 양 또한 평가되었다.^{65,72} 대조군인 순수한 PE 표면에 흡착된 단백질은 PEO-MA 그래프트된 표면보다 훨씬 많으며, PE 표면에서 더 많은 양의 단백질이 흡착되었음을 나타냈다. 이것은 또한 소수성을 나타내는 PE 표면에서 단백질 분자의 소수성에 대한 상호작용 때문이다. 또한 단백질의 형광강도를 나타내는 구배표면을 제조하였다.^{75,76} 이는 여러 결합시스템에서, 자연적으로 발생하는 가장 큰 결합력인 avidin-biotin 상호작용($K_D \sim 10^{-15}$ M)을⁹⁰ 이용한 것으로 구배 PE 표면에 따라 점차적으로 증가하는 형광 강도를 관찰하였다.

5.2 세포와의 상호작용

구배표면에 대한 세포 상호작용에 대한 연구는 세포점착, 분포영역, 성장속도로 구별되면서 수행되었다. 1965년에, Carter는⁹¹ 그 당시에 “점착 구배”에서 쥐의 섬유아세포의 직접적 이동을 연구하는 첫 번째 선두주자였다. 최근에 본 연구팀은 젖음성 구배 PE 표면에서 배양된 Chinese 햄스터 ovary(CHO) 세포, 섬유아세포, 내피세포의 특성을 보고했다.⁸⁵ 각 세포는 소수성이나 친수성의 위치보다 젖음성 구배표면의 적당한 친수성을 가지는 위치에서 더 많이 부착됨이 관찰되었다. 세포의 모폴로지는 또한 Figure 11에 의해 관찰된 것처럼 젖음성 구배를 따라 변화되었다. 하루 동안 배양한 후에, 사용된 세포의 형태에 상관없이 세포는 소수성이나 친수성이 더 강한 부분에서 보다 젖음성 구배표면의 적당한 친수성 부분에서 더 넓은 분포와 퍼짐성을 가졌다. 세포가 적당한 친수성 표면에 더 많이 점착하고, 분포하고, 성장한다는 사실은 다른 표면 젖음성을 가지는 다양한 고분자 기질

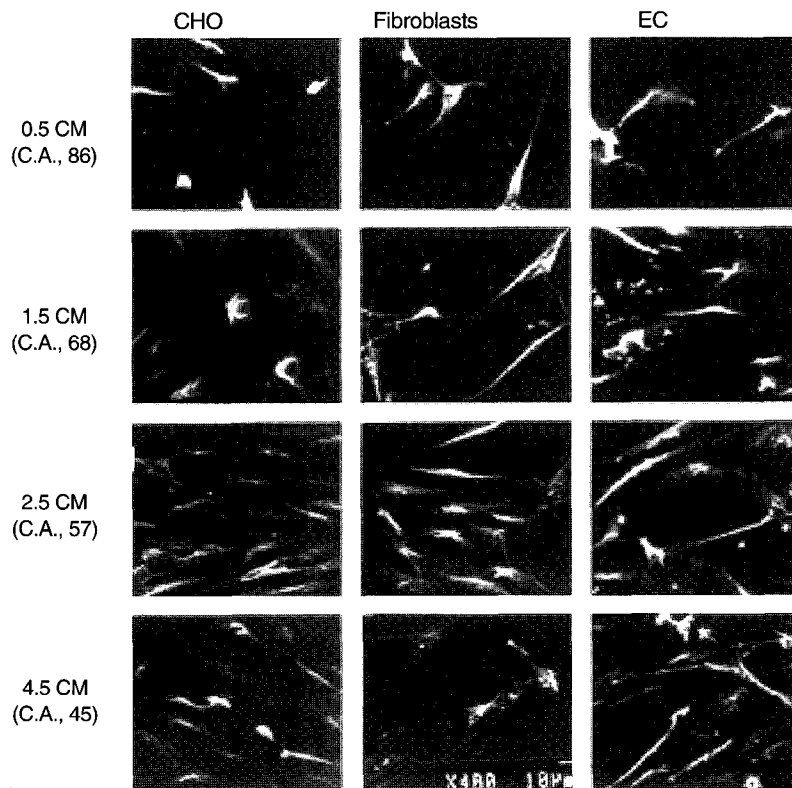


Figure 11. SEM pictures of different types of cells adhered on wettability gradient PE surfaces after a 1 day culture(original magnification, $\times 400$). C. A. means water contact angle(degree).

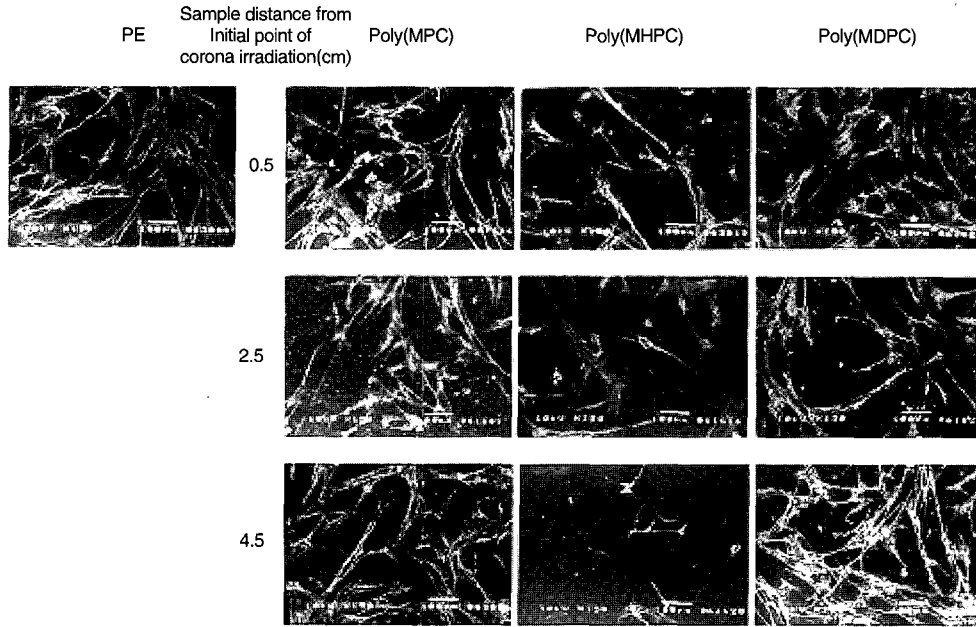


Figure 12. SEM pictures of the gradient PE sheet grafted with the poly(MAPC) at positions 0.5, 2.5, and 4.5 cm from the starting point of corona treatment, after contact with WI-38 for 24 h. $[WI-38] = 5.0 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$.

위에서 내피세포, HeLa S3, 섬유아세포를 배양한 일부 연구그룹들^{7,8,20,22}에 의해서도 관찰되었다. 다른 친수성을 가지는 고분자 표면에 정착된 내피세포의 정착강도는 코로나 방전 처리에 의해 준비된 젖음성 구배 PE 표면을 이용하여 또한 연구되었다.⁹²

Poly(MAPC)로 그래프트된 구배표면 PE 시트 위에 배양된 human normal diploid 섬유아세포(WI-38 세포)의 정착거동은 파종된 WI-38 세포의 농도에 의존했다.^{73,74} Figure 12는 WI-38 세포와 접촉한지 24시간 후에 poly(MAPC)로 그래프트된 구배 PE 표면의 SEM 사진이다. poly(MAPC)와 poly(MDPC)로 그래프트된 구배 PE 표면에 정착된 다량의 세포는 원래의 PE 표면과 유사한 관찰을 보였다. 다른 한편으로, poly(MHPC)로 그래프트된 구배 PE 표면은 효율적으로 WI-38 세포점착이 감소하였다.

6. 결론

다양한 고체 기질상에서 여러 형태의 단백질 또는 세포의 상호작용은 주로 젖음성, 화학, 전하, 거침성, 경도(친수성 / 소수성 또는 표면 자유에너지)와 같은 표면 특성에 의존한다. 본 총설에서 표면 젖음성(특히 젖음성 구배표면)에 초점을 맞췄다. 젖음성 구배표면은 많은 연구그룹들을 통해 1987년 이래 단백질과 세포의 상호작용을 연구하기 위해 수행되었다. 그들은 확산 방법을 통해 실리콘 혹은 유리기질에 수행하였고, 플라즈마 방전 처리와 코로나 방전 처리를 이용하여 다양한 고분자 기질에 수행하였다. 대부분의 연구에서 구배 영역은 다수의 부착된 단백질과 세포를 확인할 수 있었다. 고체 기질에서 단백질 흡착/탈착과 세포의 정착/증식을 연구하기 위한 수단으로서 젖음성 구배표면을 사용하는 주된 장점은 하나의 표면에 여러 특징을 가진 젖음성을 통해 같은 시간에 같은 표면에서 효율적으로 비교할 수 있다는 것이다. 이것은 시간을 절약할 수 있는 매우 편리한 방법이다. 젖음성 구배는 고체기질의 표면 젖음성에 관해 다른 형태의 생

물학적 종의 상호작용을 체계적으로 조사하여 사용할 수 있다. 다른 특수한 작용기나 전하를 띤 구배표면은 플라즈마나 코로나 방전 처리 그래프트 반응을 통해 생성할 수 있으며, 표면화학, 양전하, 음전하 그리고 고체기질의 밀도와 연속적으로 관련된 생물학적 혹은 다른 종의 상호작용 거동에 대한 유용한 정보를 우리에게 줄 수 있다. 제작된 PE 구배표면이 연속적이므로 여러 가지 성질을 가지는 단일 표면을 각각 사용하는 것보다 실험적으로 더 단순하기 때문에 이러한 방법이 실험을 통해 구배표면에서 기능적인 생물학적 종의 분석 연구에 유용할 것이라고 믿는다.

후기 : 본 논문은 1987년부터 현재까지 한국화학연구원 주지사의 연구실에서 추진해온 기초분야의 한 연구결과를 집약하였습니다. 연구의 발단은 86년 한 국제 학회에서 필자의 지도교수였던 유타대학교 안드라테 지도교수와 점심시간 세포와 고분자 재료들과의 상호 친화성 주제를 논의하던 중 실험을 단순화시켜 우리가 알고자 하는 현상을 빨리 이해하고 발전시킬 수 있는 실험 방법의 새로운 고안 이었습니다. 이 때 도출된 아이디어가 “Gradient polymer surface” 개념 이었습니다. 그간 본 주제와 관련하여 많은 공동 연구자들이 기여를 하였지만 본 논문의 공동저자인 한남대학교 이진호 교수, 전북대학교 강길선 교수와 현재 필자와 함께 동거동락하고 있는 김문석 박사에게 더욱 감사드립니다. 본 연구를 장기간 지속적으로 추진하고 있는 이유는 연구의 중요성뿐만 아니라 흥미로운 결과를 도출하고 연구를 발전시키고자 하는 의욕 때문입니다. 현재 우리는 측정기기의 발전에 힘입어 나노 또는 분자차원의 연구시대에 있으므로 실험하고자 하는 시료를 가능한 더 작게, 더 적게 사용하며 특정미세현상을 더 빨리 규명하거나 추적하는 새로운 지식과 기술을 창출할 수 있는 결과물을 요구받고 있습니다. 본 연구팀은 지속적으로 본 연구주제를 승화 발전시키므로써 생체재료, 바이오 센서, 표적지향 약물전달 시스템, 디스플레이 등 광범위한 분야에 기여할 수 있기를 희망하며

오늘도 후배 과학자들과 함께 새로운 현상을 찾고 이해하려 노력하고 있습니다.

참고문헌

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Biomaterial>, www.biology-online.org/dictionary/biomaterials, http://www.lexicon-biology.com/biology/definition_29.html.
2. A. G. Gristina, *Science*, **237**, 1588 (1987).
3. L. Vroman, *Lancaster*, 81 (1983).
4. B. M. Gumbiner, *Cell*, **84**, 345 (1996).
5. J. H. Lee, J. W. Park, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **12**, 443 (1991).
6. J. M. Schakenraad, H. J. Busscher, C. R. H. Wildevuur, and J. Arends, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 773 (1986).
7. Y. Tamada and Y. Ikada, *J. Colloid Interf. Sci.*, **155**, 334 (1993).
8. P. B. van Wachem, T. Beugeling, J. Feijen, A. Bantjes, J. P. Detmaers, and W. G. van Aken, *Biomaterials*, **6**, 403 (1985).
9. D. R. Lu and K. Park, *J. Colloid Interf. Sci.*, **144**, 271 (1991).
10. S. D. Johnson, J. M. Anderson, and R. E. Marchant, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 915 (1992).
11. S. Joschek, B. Nies, R. G. Krotz, and A. Opferich, *Biomaterials*, **21**, 1645 (2000).
12. E. Oh and P. E. Luner, *Int. J. Pharm.*, **188**, 203 (1999).
13. J. D. Andrade, L. M. Smith, and D. E. Gregonis, "The contact angle and interface energetics", in *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, J. D. Andrade, Editor, Plenum Press, New York, Vol. 1, pp. 249 (1985).
14. L. Weiss, *Int. Rev. Cytol.*, **9**, 187 (1960).
15. D. H. Kaelble and J. Moacanin, *Polymer*, **18**, 475 (1977).
16. R. E. Baier, A. E. Meyer, J. R. Natiella, R. R. Natiella, and J. M. Carter, *J. Biomed. Mater. Res.*, **18**, 337 (1984).
17. P. van der Valk, A. W. J. van Pelt, H. J. Busscher, H. P. de Jong, C. R. H. Wildevuur, and J. Arends, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 807 (1983).
18. F. Grinnell, *Int. Rev. Cytol.*, **53**, 65 (1978).
19. D. R. Absolom, L. A. Hawthorn, and G. Chang, *J. Biomed. Mater. Res.*, **22**, 271 (1988).
20. Y. Tamada and Y. Ikada, "Cell attachment to various polymer surface", in *Polymer in Medicine II*, E. Chellini, P. Giusti, C. Migliaresi, and L. Nicolais, Editors, Plenum Press, New York, pp. 101 (1986).
21. J. A. Jansen, J. P. C. M. van der Waerden, and K. de Groot, *Biomaterials*, **12**, 25 (1991).
22. T. G. van Kooten, J. M. Schakenraad, H. C. van der Mei, and J. H. Busscher, *Biomaterials*, **13**, 897 (1992).
23. H. M. W. Uyen, J. M. Schakenraad, J. Sjollem, J. Noordmans, W. L. Jongebloed, I. Stokroos, and H. J. Busscher, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 1599 (1990).
24. T. G. Ruardy, J. M. Schakenraad, H. C. van der Mei, and H. J. Busscher, *Surf. Sci. Rep.*, **29**, 1 (1997).
25. S. F. D'Souza, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **96**, 225 (2001).
26. A. Upadhyaya, and A. van Oudenaarden, *Curr. Biol.*, **13**, R734 (2003).
27. G. B. Fields, J. L. Lauer, Y. Dori, P. Forns, Y. C. Yu, and M. Tirrell, *Biopolymers*, **47**, 143 (1998).
28. D. S. Walker, M. D. Garrison, and W. M. Richert, *J. Colloid Interf. Sci.*, **157**, 41 (1993).
29. M. J. Lydon, T. W. Minett, and B. J. Tighe, *Biomaterials*, **6**, 396 (1985).
30. J. Elwing, S. Welin, A. Askendahl, U. Nilsson, and I. Lundstrom, *J. Colloid Interf. Sci.*, **119**, 203 (1987).
31. J. Elwing, A. Askendahl, and I. Lundstrom, *Prog. Colloid Polym. Sci.*, **74**, 103 (1987).
32. H. Elwing, A. Askendahl, and I. Lundstrom, *J. Biomed. Mater. Res.*, **21**, 1023 (1987).
33. H. Elwing, B. Nilsson, K. E. Svensson, A. Askendahl, U. R. Nilsson, and I. Lundstrom, *J. Colloid Interf. Sci.*, **125**, 139 (1988).
34. H. Elwing, A. Askendahl, and I. Lundstrom, *J. Colloid Interf. Sci.*, **128**, 296 (1989).
35. S. Welin-Klintstrom, M. Wikstrom, A. Askendahl, H. Elwing, I. Lundstrom, J. O. Karlsson, and S. Renvert, *Colloids Surfaces*, **44**, 51 (1990).
36. H. Elwing, and C. G. Golander, *Colloid Interf. Sci.*, **32**, 317 (1990).
37. S. Welin-Klintstrom, A. Askendahl, and H. Elwing, *J. Colloid Interf. Sci.*, **158**, 188 (1993).
38. V. Hlady, C. Golander, and J. D. Andrade, *Colloids Surfaces*, **33**, 185 (1988).
39. C. G. Golander, Y. S. Lin, V. Hlady, and J. D. Andrade, *Colloids Surfaces*, **49**, 289 (1990).
40. V. Hlady, J. N. Lin, and J. D. Andrade, *Biosensors Bioelect.*, **5**, 291 (1990).
41. V. Hlady, *Appl. Spectrosc.*, **45**, 246 (1991).
42. J. F. Carley and P. T. Kitz, *Polym. Eng. Sci.*, **20**, 330 (1980).
43. G. P. Lopez H. A. Biebuyck, C. D. Frisbie, and G. M. Whitesides, *Science*, **260**, 647 (1993).
44. H. Zhao and D. Beysens, *Langmuir*, **11**, 627 (1995).
45. Y. S. Lin, V. Hlady, and C. G. Golander, *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, **3**, 49 (1994).
46. B. Liedberg and P. Tengvall, *Langmuir*, **11**, 3821 (1995).
47. M. Riepl, M. Ostblom, I. S. Lundstrom, C. T. Svensson, A. W. Denier van der Gon, M. Schaferling, and B. Liedberg, *Langmuir*, **21**, 1042 (2005).
48. W. G. Pitt, *J. Colloid Interf. Sci.*, **133**, 223 (1989).
49. C. G. Golander and W. G. Pitt, *Biomaterials*, **11**, 32 (1990).
50. J. H. Lee, J. W. Park, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **14**, 646 (1990).
51. H. B. Lee and J. D. Andrade, Cell adhesion on gradient surfaces, *Trans. 3rd World Biomaterials Congr.*, **43** (1988).
52. H. B. Lee, "Application of synthetic polymers in implants", in *Frontiers of Macromolecular Science*, T. Saegusa, T. Higashimura, and A. Abe, Editors, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 579 (1989).
53. C. H. Bamford and J. C. Ward, *Polymer*, **2**, 277 (1961).
54. N. Morosoff, B. Crist, M. Bumgarner, T. Hsu, and H. Yasuda, *J. Macromol. Sci., Chem.*, **A10**, 451 (1976).
55. Jr. J. Mitchell and L. R. Perkins, *Appl. Polym. Symp.*, **4**, 167 (1967).
56. D. T. Clark and A. Dilks, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **17**, 957 (1979).
57. H. Steinhauser and G. Ellinghorst, *Angew. Makromol. Chem.*, **120**, 177 (1984).
58. H. Iwata, A. Kishida, M. Suzuki, Y. Hata, and Y. Ikada, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **26**, 3309 (1988).
59. C. M. Chan, T. M. Ki, and H. Hiraoka, *Surf. Sci. Rep.*, **24**, 1 (1996).
60. C. G. Golander and W. G. Pitt, *Biomaterials*, **11**, 32 (1990).
61. J. H. Lee, H. G. Kim, G. Khang, H. B. Lee, and M. S. Jhon, *J. Colloid Interf. Sci.*, **151**, 563 (1992).
62. J. H. Lee and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **4**, 467 (1993).
63. H. G. Kim, J. H. Lee, H. B. Lee, and M. S. Jhon, *J. Colloid Interf. Sci.*, **157**, 82 (1993).
64. J. H. Lee, H. W. Kim, P. K. Pak, and H. B. Lee, *J. Polym. Sci.; A: Polym. Chem.*, **32**, 1569 (1994).
65. B. J. Jeong, J. H. Lee, and H. B. Lee, *J. Colloid Interf. Sci.*, **178**, 757 (1996).
66. J. H. Lee, J. W. Park, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **14**, 646 (1990).

67. J. H. Lee, H. W. Jung, I. J. Kang, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **15**, 705 (1994).
68. J. H. Lee, J. W. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **18**, 351 (1997).
69. J. H. Lee, G. Khang, J. W. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomed. Mater. Res.*, **40**, 180 (1998).
70. Y. Iwasaki, K. Ishihara, N. Nakabayashi, G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **9**, 801 (1998).
71. Y. Iwasaki, S. Sawada, N. Nakabayashi, G. Khang, H. B. Lee, and K. Ishihara, *Biomaterials*, **20**, 2185 (1999).
72. M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, and H. B. Lee, *Langmuir*, **21**, 4066 (2005).
73. M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, and H. B. Lee, *Bioconjug. Chem.*, **16**, 245 (2005).
74. N. L. Burnham, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **51**, 210 (1994).
75. R. B. Greenwald, Y. H. Choe, J. McGuire, and C. D. Conover, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **55**, 217 (2003).
76. J. H. Lee, B. J. Jeong, and H. B. Lee, *J. Biomed. Mater. Res.*, **34**, 105 (1997).
77. C. D. Bain and G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 5897 (1988).
78. E. B. Troughton, C. D. Bain, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, D. L. Allara, and M. D. Porter, *Langmuir*, **4**, 365 (1988).
79. R. E. Johnson and R. H. Dettre, in *Surface and Colloid Science*, E. Matijevic, Editors, Wiley Interscience, New York, Vol. 2, pp.85 (1969).
80. A. W. Adamson, *Physical Chemistry of Surfaces*, 3rd ed., Wiley, New York, 1976.
81. T. G. Ruardy, H. E. Moorlag, J. M. Schakenraad, H. C. van der Mei, and H. H. Busscher, *J. Colloid Interf. Sci.*, **188**, 209 (1997).
82. T. Ueda-Yukoshi and T. Matsuda, *Langmuir*, **11**, 4135 (1995).
83. R. M. A. Azzam and N. M. Bashara, *Ellipsometry and Polarized Light*, Elsevier, Amsterdam, pp. 269 (1987).
84. J. D. Andrade, "X-ray photoelectron spectroscopy(XPS)", in *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, J. D. Andrade, Editor, Plenum Press, New York, Vol. 1, pp. 105 (1985).
85. J. H. Lee, G. Khang, J. W. Lee, and H. B. Lee, *J. Colloid Interf. Sci.*, **205**, 323 (1998).
86. J. N. Lin, B. Drake, A. S. Lea, P. K. Hansma, and J. D. Andrade, *Langmuir*, **6**, 509 (1990).
87. V. Hlady, R. A. van Waggenen, and J. D. Andrade, "Total internal reflection intrinsic fluorescence(TIRF) spectroscopy applied to protein adsorption", in *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*, J. D. Andrade, Editor, Plenum Press, New York, Vol. 2, pp. 81 (1985).
88. S. V. Roberson, A. J. Fahey, A. Sehgal, and A. Karim, *Appl. Surf. Sci.*, **200**, 150 (2002).
89. J. H. Lee, Ph. D. thesis, University of Utah, Salt Lake City (1988).
90. N. Green, *Biochem. J.*, **89**, 585 (1963).
91. S. B. Carter, *Nature*, **208**, 1183 (1965).
92. J. H. Lee, S. J. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *J. Colloid Interf. Sci.*, **230**, 84 (2000).