

양친성 빗 모양 고분자의 PDMS 표면 고정화 및 세포독성 평가

최재유¹ · 정재연¹ · 정 걸¹ · 이종환¹ · 현진호^{1†} · 김현중²

¹서울대학교 바이오시스템 · 소재학부, 농업생명과학연구원

²서울대학교 환경재료과학전공 바이오복합재료 및 접착과학 연구실
(2010년 5월 7일 접수, 2010년 6월 15일 수정, 2010년 6월 15일 채택)

Surface Immobilization of Amphiphilic Comb-like Polymer on Polydimethylsiloxane and *in vitro* Cytotoxicity Assay

Jaeyoo Choi¹, Jaeyeon Jung¹, Jie Cheng¹, Jonghwan Lee¹, Jinho Hyun^{1†}, and Hyunjoong Kim²

¹Department of Biosystems and Biomaterials Science and Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²Lab of Adhesion and Bio-Composites, Program in Environmental Materials Science, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received May 7, 2010; Revised June 15, 2010; Accepted June 15, 2010)

요약: 본 연구에서는 양친성 빗 모양 고분자인 methyl methacrylate-based polyethylene glycol (PMMA-b-PEG)의 박막을 polydimethylsiloxane (PDMS) 표면에 형성하여 표면 친수성을 증진시키고 고분자 코팅에 따른 세포 독성의 증가 여부를 확인하고자 하였다. PMMA-b-PEG 고분자 용액을 스핀 코팅의 방법으로 PDMS 표면에 도포하였으며, 장기간의 접촉각 측정을 통하여 표면 성질의 변화를 관찰하였고, 박막의 표면 안정성은 전계 방출 주사전자현미경과 원자힘 현미경 분석을 통하여 확인하였다. 안정적으로 형성된 PMMA-b-PEG 박막의 세포 독성여부는 MTT 시험법을 이용하여 확인하였다. 이러한 세포 독성 평가(*in vitro*)는 생체주입 후에 있을 조직적합성 평가(*in vivo*)에 앞서 주요한 결과 자료로 활용될 수 있으며, PMMA-b-PEG 박막이 형성된 PDMS의 경우 생체주입이 가능함을 나타내었다.

Abstract: It described the modification of polydimethylsiloxane (PDMS) with amphiphilic methyl methacrylate-based polyethylene glycol (PMMA-b-PEG) to enhance the hydrophilicity of a PDMS surface and cytotoxicity of it. PMMA-b-PEG solutions in water/ethanol mixture was spun-cast on the PDMS surface and the surface was characterized by long-term measurement of water contact angle. The morphology of PDMS surfaces coated with PMMA-b-PEG was characterized by field emission scanning electron microscopy and atomic force microscope. Cytotoxicity of the modified surfaces was investigated by MTT assay which would be necessary for the evaluation of tissue compatibility after implantation of the materials. Based on the MTT assay, PDMS coated with PMMA-b-PEG didn't show any significant cytotoxicity.

Keywords: Polydimethylsiloxane (PDMS), cytotoxicity, amphiphilic polymer, methyl methacrylate-based polyethylene glycol (PMMA-b-PEG), MTT assay

1. 서 론

Polydimethylsiloxane (PDMS)는 기계적 물성이 좋을 뿐만 아니라 열화학적 안정성까지 가지고 있는 물질이다. 또한 투명하고 가공이 용이하며 낮은 제조비용의 장점을 가지고 있을 뿐만 아니라[1], 바이오센서 제작,

생체 적용 및 미세유체 제어기술을 포함한 바이오 응용분야에 가장 널리 이용되고 있는 재료 중의 하나이다[2,3]. 또한 세포독성 실험결과 생체적합성을 지닌 안전한 물질로 밝혀짐에 따라 생체 주입을 위한 소재로도 사용될 수 있다[4]. 그러나 이러한 장점들에도 불구하고 PDMS의 매우 높은 소수성은 응용에 있어 걸림돌로 작용하고 있다[5]. PDMS의 특징적인 표면 성질은 PDMS의 생체 주입 시 원하지 않는 단백질 및 고

[†]Corresponding author: Jinho Hyun (jhyun@snu.ac.kr)

분자계 생체분자의 비특이적인 표면 흡착을 야기하게 된다[6,7]. 지난 수십년간 이러한 문제점을 해결하기 위하여 다양한 시도들이 있어 왔으며, 화학적 처리, 플라즈마 처리, 화학기상증착법(CVD)과 같은 표면 개질 방법들이 개발되었다[5,8].

표면 코팅 방법은 단순공정, 단시간 처리 및 저비용의 긍정적인 면에서 주목할만 하였다[8]. PDMS 표면에 금속 박막을 형성하여 친수성을 부여하거나[9-11], 다양한 고분자의 공유결합을 통해 친수성 증진 및 단백질 부착 방지효과를 얻을 수 있었다[12-14]. 최근에는 공유결합보다도 공정이 간단한 물리적 흡착 방법이 많이 연구되고 있는데, 계면활성제나 전해질을 사용하는 경우와[15], 고분자를 사용하는 경우가 대표적이라 할 수 있다[16,17]. 특히 양친성 공중합체를 사용할 경우 PDMS와의 소수성 상호작용을 통해 쉽게 흡착이 일어나고 다른 부분의 친수성기들로 인하여 효과적으로 표면을 개질하는 것이 가능하다[5].

이 연구에서는 이러한 양친성 공중합체를 스핀코팅하여 PDMS의 표면을 개질하고자 하였다. 양친성 빗 모양 고분자인 methyl methacrylate-based polyethylene glycol (PMMA-b-PEG)는 유연한 소수성의 PMMA 주사슬에 짧은친수성의 PEG 사슬이 가지처럼 붙어있는 빗 모양 고분자로서[18] 단백질과 세포에 대하여 우수한 흡착 억제 능력을 가지고 있다[19]. PMMA-b-PEG 고분자를 PDMS 표면에 스핀코팅한 경우, 소수성인 PDMS 표면에 PMMA 주사슬이 용이하게 흡착되고 친수성인 PEG 가지들이 바깥쪽에 노출되면서 재료의 표면 성질을 변화시킬 수 있다. 이 연구에서는 PMMA-b-PEG 고분자 박막을 PDMS 표면에 고정시키고 장기간의 표면 특성 관찰을 통한 박막의 표면 안정성을 확인하였다. 또한 생체 주입용 소재로 응용하기에 앞서 필요한 세포독성 평가를 실시하였다.

2. 실험

2.1. PMMA-b-PEG의 합성

코팅을 위한 PMMA-b-PEG는 이전에 보고된 자유라디칼 고분자 합성법으로 제조하였다(Figure 1) [18]. Methyl methacrylate (MMA, 197 mmol) poly(oxyethylene) methacrylate (POEM, 13.8 mmol), hydroxy-poly(oxyethylene) methacrylate (HPOEM, 36.4 mmol)를 혼합한 500 mL tetrahydrofuran (THF) 용액에 2.46 g 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile (AIBN, 15 mmol)를 개시제로 넣어 합성을 시도하였다. 혼합 용액은 합성에 앞서 질소를 20 min 동안 거품 충전하여 용액에 잔존하는 산소를 충분히 제거하였으며, 이후 75°C에서 18 h 동안 용액 순환 시스템을 이용하여 고분자를 합성하였다. 합성된 고분자는 8

: 1 (v/v) petroleum ether : methanol 혼합용액으로 수차례에 걸쳐 정제하였으며, 최종 얻어진 고분자는 25°C에서 24 h 동안 진공 건조하였다.

2.2. 시험 시료의 제조

PDMS (Sylgard 184, Dow Corning, USA) prepolymer와 가교제의 비율을 무게비 10 : 2로 하여 제조하였다. 3일간 건조 후 가로, 세로의 길이가 각각 1.5 cm가 되도록 잘라 시료로 사용하였다. PMMA-b-PEG 코팅 용액은 에탄올과 증류수를 1 : 1로 (v/v) 혼합한 용매에 고분자를 녹여 준비하였다. 최적의 코팅 농도를 찾기 위해 1, 2, 5, 10 wt%의 고분자 용액이 실험에 사용되었다. 미리 준비된 PDMS시료에 각 농도의 고분자 용액을 50 μ l씩 떨어뜨린 후 1,000 RPM으로 30 s 간 스핀 코팅한 후 상온에서 30 min 동안 건조시켰다.

2.3. PMMA-b-PEG 특성 분석

제조된 PMMA-b-PEG의 구조분석, 모노머 구성비는 내부 기준 시료인 0.05 wt%의 테트라메틸실란(TMS)을 포함한 (CD₃)₂SO를 용매로 하여 ¹H-NMR (500 MHz, Avance 500, Bruker)을 이용해 확인하였다. PMMA-b-PEG의 분자량은 겔 투과 크로마토그래피(GPC, KF 804 column, intelligent refractive index detector (RI930), intelligent HPLC pump (PU980), Jasco)를 이용하여 측정하였다.

2.4. 접촉각 측정

표면의 화학적 특성 변화를 관찰하기 위해 증류수를 떨어뜨린 후 접촉각 측정기를 사용하여 접촉각을 측정하였다. 주변 환경에 따른 표면 성질 변화를 확인하기 위하여 37°C에서 공기 중에 노출시켜 보관한 군과 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) 용액상에 보관한 군으로 나누어 일주일간 관찰하였으며 측정 오차를 줄이기 위해 각 농도별로 코팅된 10개의 시료를 사용하여 평균값을 얻어냈다. PBS용액상에 보관한 군은 증류수로 세척한 후 측정하였다.

2.5. 표면 형태 분석

PDMS 표면에 코팅된 PMMA-b-PEG 고분자의 morphology를 확인하기 위해 1,000배 확대된 전계방출 주사전사현미경(FESEM, SUPRA 55VP, Carl Zeiss, Germany, NICEM)이미지를 얻었다. 코팅된 고분자 층의 두께를 측정하기 위해서는 원자힘 현미경(AFM, XE-100, Park Systems, Korea)장비를 이용하였다. 표면 미세형태 이미지는 공기 중에서 비접촉(non-contact) 방법으로 silicon nitride 컨틸레머(NCHR, Park systems, Korea)를 사용하여 얻어졌다. 얻어진 이미지는 Park systems의 XEI 프로그램을 통해 분석하여 시료들의 평균두께를 측정하였다.

2.6. 생체적합성 평가

기준에 알려진 방법들 중 ISO 10993-5 (의료기기의 생물안정성 평가-제5부 : 세포 독성 시험-체외시험)에 따라 평가를 진행하였다. 멸균된 유리병에 PDMS를 1.5 g씩 넣어 균한 후 고분자를 농도별로 코팅한 시료에, 혈청이 들어있지 않은 RPMI 1640배지(Gibco) 500 μ l를 첨가하여 추출물로 사용하였다. 24 h 추출물과 7일간 추출물 두 가지를 가지고 동일한 실험을 수행했다. 모든 작업은 무균 작업대 안에서 이루어졌으며, 양성 대조군으로 일반적인 organotin 1% 용액이 사용되었다. 시료와 대조군은 6개의 well에서 중복 측정하여 평균값을 얻었다. 평가에 이용된 NIH-3T3 fibroblast 세포(ATCC)는 fetal bovine serum (FBS)이 포함된 RPMI 1640배지 내에서 배양되었다. 세포독성 평가는 2가지 방법으로 진행되었으며, NIH-3T3 fibroblast 단일세포층을 형성한 후 추출물을 첨가하는 방법과 세포와 함께 추출물을 넣어 동시에 배양하는 방법을 사용하였다. 첫 번째 방법에서의 단일 세포층 형성은 3×10^3 /well 개의 세포를 100 μ l의 배지와 함께 96 well plate에 넣어 37°C, 5% CO₂ 배양기 내에서 24 h 동안 배양하였다. 그 후 배양액을 제거하고 멸균된 PBS와 멸균수로 각각 1번씩 세척했다. 그리고 새로운 배지 50 μ l와 추출물 50 μ l를 넣어 같은 배양조건으로 24 h 배양한 뒤 MTT assay를 수행하였다. 두 번째 방법은 3×10^3 /well 개의 세포를 100 μ l의 배지와 함께 96 well plate에 넣음과 동시에 새로운 배지 50 μ l와 추출물 50 μ l를 첨가하여 24 h 배양한 뒤 MTT assay를 수행하였다. 최종 데이터인 흡광도는 UV-visible 흡광도계(Power-wave XS, Biotek, USA)를 이용하여 570 nm 파장에서 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

PMMA-b-PEG는 Figure 1에 보여지는 바와 같이 3종류의 모노머로 구성되어 있는 고분자의 화학 구조를 가지고 있다. 소수성의 PMMA를 기본 주쇄로 하여 합성조건에 따라 측쇄의 변화를 줌으로써 친수성을 조절하도록 하였다. 측쇄는 CH₃ 또는 OH기를 말단으로 가지도록 하여 OH기가 밀집함으로써 발생할 수 있는 말단기간 결합을 최소화하고자 하였다. CH₃ 또는 OH기 말단을 조절하는 것은 전체적인 고분자 성질을 좌우하게 되므로 용해도, 수용액상에서의 안정성 연동작용의 효율성 등에 크게 영향을 미치게 된다. 따라서 하나의 조건으로 유지하여 제조된 고분자를 이후 지속적으로 사용하였다. 그림에서 보는 바와 같이 m, n을 조절하여 측쇄의 길이를 변화시키면 바이오분자에 대한 부착방지 효과를 조절할 수 있으나, 용해도와 안정성에 문제를 야기할 수 있으므로 본 연구에서는 각각 10, 7로서 고

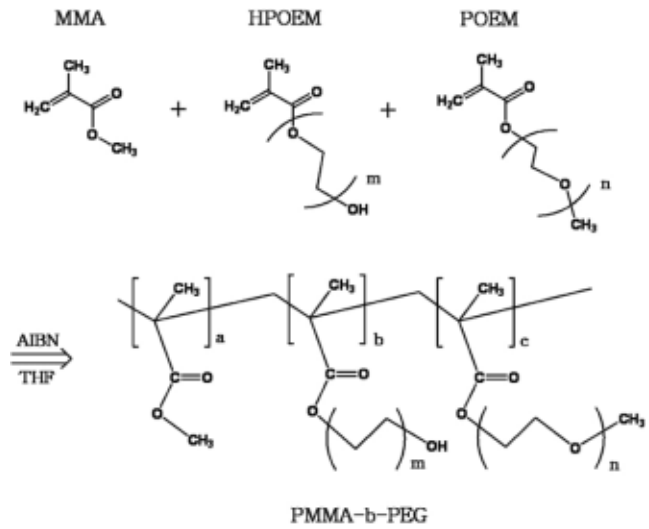


Figure 1. Chemical structure of polymerized PMMA-b-PEG.

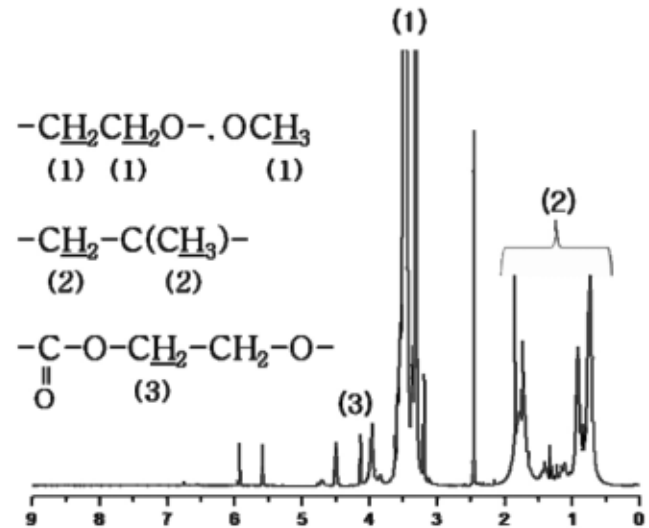


Figure 2. ¹H-NMR spectrum of PMMA-b-PEG.

정하였다.

미반응 모노머와 용매를 제거한 후 합성 여부를 확인하기 위하여 ¹H NMR로 측정하여 본 결과 Figure 2에 나타낸 바와 같이 4.14 ppm (-C(=O)-O-CH₂-), 3.6~3.8 ppm (-C(=O)-O-CH₃와 CH₂-CH₂-O-), 0.5~2 ppm (CH₂-C(CH₃-)와 3.39 ppm (-O-CH₃)에서 특징적인 peak이 나타났다. 이들 peak을 비교하여 합성된 고분자의 모노머 구성비를 구할 수 있으며, 80 wt% MMA, 12 wt% HPOEM, 그리고 8 wt% POEM이라는 결과를 얻었다. 합성된 PMMA-b-PEG의 경우 물을 제외하고, 에탄올, 메탄올, 벤젠, THF, DMSO, DMF, Chloroform등의 유기용매에는 용해성을 나타내었다. 물과 에탄올의 혼합액은 3 : 1, 1 : 1, 1 : 3의 비율로 제조하여 용해도 조사를 하였다. 각 혼합액에 따른 용해 시간의 차이는 보였으나, 모두 용해

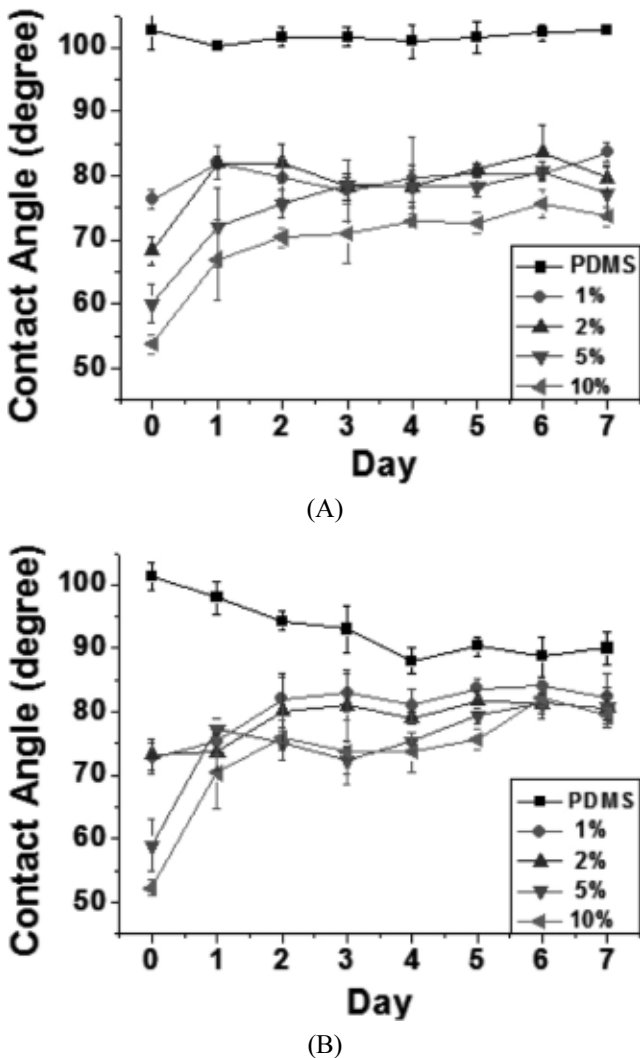


Figure 3. Contact angles of PMMA-b-PEG coated PDMS under (A) dry and (B) wet conditions.

되는 것을 확인할 수 있었다.

양친성 빗 모양 고분자의 코팅을 통한 PDMS의 표면성질 변화는 접촉각의 측정을 통하여 쉽게 알아 볼 수 있다. Figure 3은 접촉각 측정기로 측정된 시료의 일주일간 접촉각 변화를 나타낸 것이다. 시료를 37°C 배양기 안에 보관하며 24 h 단위로 측정하였다. Figure 3A는 건조 상태에서 보관된 것으로, PMMA-b-PEG 용액의 네 가지 농도별 시료를 표시하였다. Figure 3B는 시료를 PBS용액에 침지시켜 보관한 후 측정된 결과이다.

건조상태에 보관한 PDMS는 일주일 동안 평균 103° 정도로 큰 변화 없이 측정되었으나, PMMA-b-PEG 고분자의 경우 코팅 직후에 50~80°에 걸쳐 코팅 농도가 증가할수록 낮은 접촉각을 나타내었으며 일주일의 지난 후에는 70~80° 정도로 일정하게 유지되는 경향을 보였다(Figure 3(A)). 코팅 초기의 접촉각 분포는 코팅

농도가 증가할수록 PDMS 표면에 위치한 양친성 고분자의 친수기들이 많아지는데 기인한 것으로 보인다. 또한 시간이 지날수록 접촉각이 증가하는 현상은 PDMS의 소수성 회복거동에 의한 것이라 할 수 있다 [20]. 고분자 코팅 후 하루 동안 급격히 접촉각이 증가하는 이유는, 코팅 초기에 용매인 물과 에탄올이 고분자 사슬 내에 남아 있다가 시간이 지남에 따라 빠르게 외부로 증발하였고, 코팅 초기의 고분자 이동 거동이 훨씬 용이하기 때문이다. 소수성의 PDMS 저분자량 물질은 지속적으로 표면으로 이동하며 계면에너지가 최소화될 때까지 분자사슬의 재배열이 일어난다. 습윤상태에서 보관된 PDMS는 초기의 103°에서 점점 감소해 일주일 후에는 약 10° 정도 떨어지는 경향을 보였는데, 이는 PDMS고분자 안으로 물 분자들이 침투해 들어가는 양이 점점 많아지면서 측정을 위한 건조과정에도 불구하고 미처 빠져 나오지 못한 분자들이 존재하기 때문으로 생각된다. 습윤상태에서 보관된 PMMA-b-PEG 고분자 코팅의 경우 건조상태에서와 비슷한 경향을 나타내고 있으며 농도간의 편차가 더 줄어들어 80° 근처에서 모두 평형이 유지되었다. 결론적으로 PDMS 표면에 PMMA-b-PEG를 코팅함에 따라 10° 이상의 소수성 감소 효과를 보였고, 이런 표면성질의 변화는 일주일 이상 지속되었다. 또한 공기 중에서뿐만 아니라 체내와 같은 습윤환경에서도 마찬가지로 감소된 표면의 소수성이 잘 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 표면 성질의 변화는 양친성 빗 모양 고분자인 PMMA-b-PEG 분자의 소수성 PMMA 주사슬이, 소수성 상호작용에 의해 PDMS 표면에 흡착되면서 PEG 가지들이 표면에 노출된 결과로 해석된다. 또한 변화된 표면 성질이 일주일 이상 지속되는 것으로 보아, 코팅된 고분자가 PDMS 표면에 안정적으로 흡착되어 있는 것으로 생각된다.

접촉각 측정을 통해 양친성 고분자 코팅의 효과를 확인한 후, 코팅된 PDMS 표면의 모폴로지를 알아보기 위해 FE-SEM 으로 관찰하였다. 다양한 농도의 고분자로 코팅한 후 건조상태에서 보관한 시료 표면을 1,000배 확대해 보면, PMMA-b-PEG 1% 농도로 코팅한 경우에는 표면 미세 균열이 거의 없었으나 농도가 증가할수록 균열이 심해지면서 10% 농도에서는 물고기 비늘 모양의 코팅 표면을 관찰 할 수 있었다(Figure 4). 이러한 표면의 불균일성은 코팅 고분자의 두께 및 밀집도에 기인하는 것으로 판단되었다.

코팅 고분자의 농도가 증가함에 따라 두꺼운 표면 고분자 층이 형성되고, 건조과정에서 용매 분자가 빠져나가는 시간차에 의해 단단해진 표면에서 불균일도가 높아지는 것으로 생각되었다. 또한 물과 에탄올의 혼합 용매에 용해되어 있는 PMMA-b-PEG 용액이 박막을 형성한 후 에탄올의 증발이 물 보다 빨리 일어나게 된다.

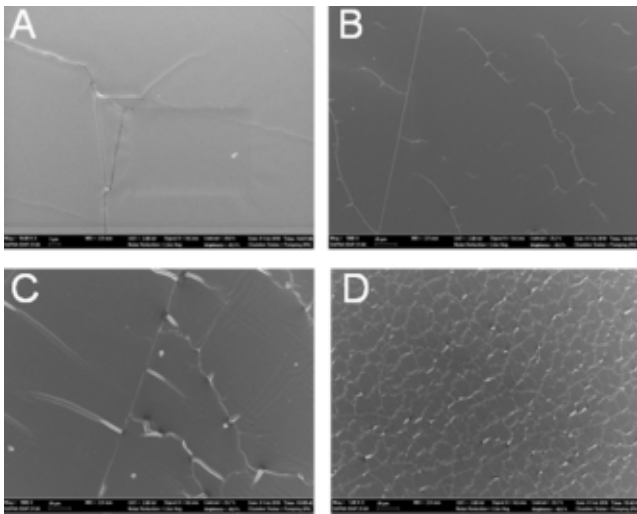


Figure 4. FE-SEM images of PMMA-b-PEG coated PDMS at different concentrations (A) 1%, (B) 2%, (C) 5%, and (D) 10%.

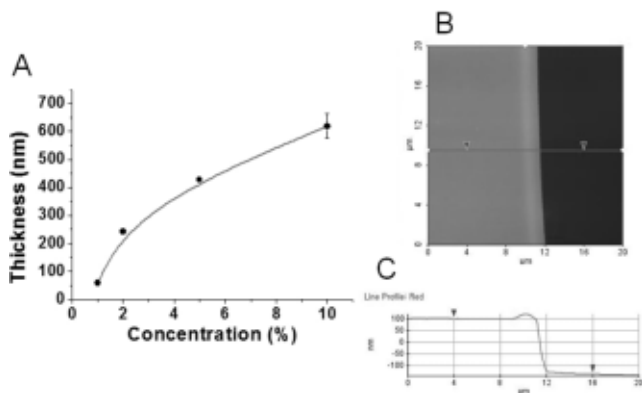


Figure 5. (A) Thickness of PMMA-b-PEG layer coated at different concentrations, (B) AFM height image of PMMA-b-PEG on PDMS, and (C) line profile of B.

따라서 물 용매상에서는 불용성을 띠는 PMMA-b-PEG의 특성을 고려하여 볼 때, 액상 고분자 박막층의 PMMA-b-PEG 용해도가 현저히 감소하게 됨으로 인하여 PMMA-b-PEG의 국소적인 응집이 일어나는 것으로 판단될 수 있다.

PDMS 표면에 형성된 PMMA-b-PEG 박막 두께는 Figure 5B에 나타난 바와 같이 AFM height 모드로 얻어진 이미지를 선형 분석하여 얻을 수 있었다(Figure 5B). PMMA-b-PEG 도포 용액의 농도가 높음에 따라 박막의 두께가 점진적으로 증가함을 알 수 있었고, 50~600 nm의 두께 분포를 보였다(Figure 5). 초기 저농도에서는 다소 급격한 두께의 증가가 있었으며 농도가 높아짐에 따라 직선적인 비례 관계를 확인할 수 있었다(Figure 5(A)).

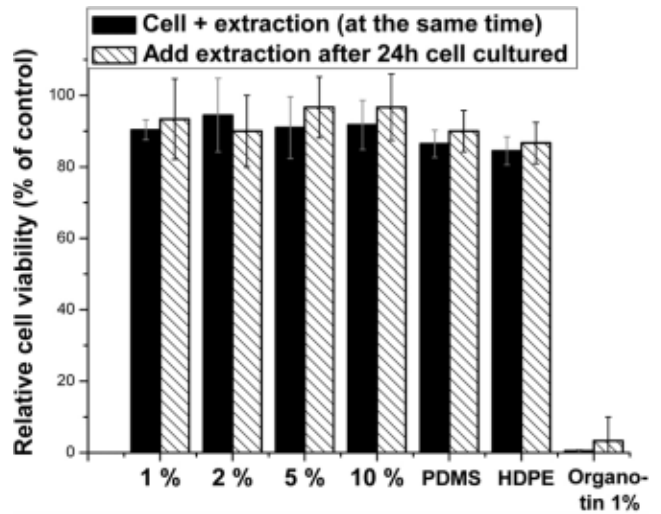


Figure 6. Cell viability measurement of PMMA-b-PEG coated PDMS by MTT assay.

PMMA-b-PEG를 사용하여 표면 코팅된 PDMS의 생체 적합성을 확인해 보기 위해서 세포독성 테스트를 진행하였다. 코팅된 시료에 혈청이 포함되어 있지 않은 추출용 배지를 넣고 하루 동안 방치하여 얻어진 추출 용액과 일주일 동안 방치하여 얻은 추출 용액으로 동일한 실험을 수행하였다. 독성 성분이 천천히 빠져나올 가능성도 있기 때문에, 두 추출 용액으로부터의 결과를 통해 독성 성분이 배출되는지 그리고 배출된다면 어떤 속도로 녹아 나오는지 동시에 알아보기 위한 실험을 설계하였다. Figure 6에서 보여지는 바와 같이 두 추출 용액에서 세포의 성장에 악영향을 줄 수 있는 성분은 없는 것으로 나타났다. 이 결과는 96 well plate에 세포와 추출액을 동시에 넣고 하루 배양한 뒤 측정된 세포 활성도를 나타낸 것으로, 세포만 하루 배양했을 때의 세포 활성도에 대한 상대값을 백분율로 나타내었다. 양성 대조군으로 사용한 1% organotin 용액을 첨가했을 경우 상대적으로 매우 낮은 값을 보이는데 이는 독성으로 인하여 세포가 거의 사멸한 것을 의미한다. 하지만 추출물을 첨가 했을 때는 농도에 관계없이 90% 이상의 높은 세포 활성도 값을 보였다.

한편, 세포의 부착 안정성을 부여하기 위하여 96 well plate에 세포를 하루 동안 배양한 후 추출물을 첨가한 경우, 또한 마찬가지로 90% 이상의 세포 활성도를 나타내었으며 농도에 따른 세포 활성도의 변화도 특별히 관찰되지 않았다. 따라서 PMMA-b-PEG로 코팅된 PDMS는 세포의 성장 과정에 있어 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료 되었으며 생체 삽입을 위한 재료의 표면 개질 및 박막 소재로 응용이 가능하다고 판단된다.

4. 결 론

양친성 빗 모양 고분자인 PMMA-b-PEG를 스핀 코팅하여 소수성 PDMS 표면에 안정적으로 흡착시킴으로써 친수성 PEG 사슬이 도입되었고, 접촉각을 10° 이상 감소시킬 수 있었다. 또한 공기 중에서뿐만 아니라 습윤 환경에서도 감소된 소수성이 일주일 이상 지속되는 것으로 보아 고분자의 흡착이 안정적으로 유지됨을 확인할 수 있었다. PMMA-b-PEG 박막으로부터 얻어진 추출물을 이용한 세포독성 테스트에서는 아무런 세포 독성이 관찰되지 않았다. 따라서 양친성 빗 모양 고분자인 PMMA-b-PEG가 코팅된 PDMS는 생체 주입을 위한 소재로 사용될 수 있으며, 과도한 단백질 및 세포의 흡착과 그에 따른 부반응을 방지할 수 있는 생체적합성 소재로 응용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발연구과제(과제번호: 308004-03-2-HD110)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참 고 문 헌

1. M. L. van Poll, F. Zhou, M. Ramstedt, L. Hu, and W. T. S. Huck, *Angew. Chem.-Int. Edit.*, **46**, 6634 (2007).
2. E. J. Botzolakis, A. Maheshwari, H. J. Feng, A. H. Lagrange, J. H. Shaver, N. J. Kassebaum, R. Venkataraman, F. Baudenbacher, and R. L. MacDonald, *Journal of Neuroscience Methods*, **177**, 294 (2009).
3. A. Mata, A. J. Fleischman, and S. Roy, *Biomed. Microdevices*, **7**, 281 (2005).
4. J. H. L. S. B. Park, K. A. NA, J. Y. Jung, M. J. Kim, S. J. Park, and J. H. Hyun, *Adhesion and Interface*, **10**, 77 (2009).
5. J. W. Zhou, A. V. Ellis, and N. H. Voelcker, *Electrophoresis*, **31**, 2 (2010).
6. J. S. Katz, J. Doh, and D. J. Irvine, *Langmuir*, **22**, 353 (2006).
7. D. J. Irvine, A. M. Mayes, and L. G. Griffith, *Biomacromolecules*, **2**, 85 (2001).
8. I. Wong and C. M. Ho, *Microfluidics and Nanofluidics*, **7**, 291 (2009).
9. Z. Q. Niu, F. Gao, X. Y. Jia, W. P. Zhang, W. Y. Chen, and K. Y. Qian, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.*, **272**, 170 (2006).
10. A. J. Wang, J. J. Xu, Q. Zhang, and H. Y. Chen, *Talanta*, **69**, 210 (2006).
11. G. T. Roman and C. T. Culbertson, *Langmuir*, **22**, 4445 (2006).
12. E. Ostuni, R. G. Chapman, R. E. Holmlin, S. Takayama, and G. M. Whitesides, *Langmuir*, **17**, 5605 (2001).
13. R. G. Chapman, E. Ostuni, M. N. Liang, G. Meluleni, E. Kim, L. Yan, G. Pier, H. S. Warren, and G. M. Whitesides, *Langmuir*, **17**, 1225 (2001).
14. D. P. Wu, B. X. Zhao, Z. P. Dai, J. H. Qin, and B. C. Lin, *Lab Chip*, **6**, 942 (2006).
15. E. A. S. Doherty, R. J. Meagher, M. N. Albarghouthi, and A. E. Barron, *Electrophoresis*, **24**, 34 (2003).
16. D. P. Wu, Y. Luo, X. M. Zhou, Z. P. Dai, and B. C. Lin, *Electrophoresis*, **26**, 211 (2005).
17. C. Y. Liu, X. Xu, and J. R. Chen, *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.*, **53**, 171 (2008).
18. J. Jung, K. Na, B. Shin, O. Kim, J. Lee, K. Yun, and J. Hyun, *J. Biomater. Sci.-Polym. Ed.*, **19**, 161 (2008).
19. N. Nath, J. Hyun, H. Ma, and A. Chilkoti, *Surf. Sci.*, **570**, 98 (2004).
20. J. L. Fritz and M. J. Owen, *J. ADHESION*, **54**, 33 (1995).