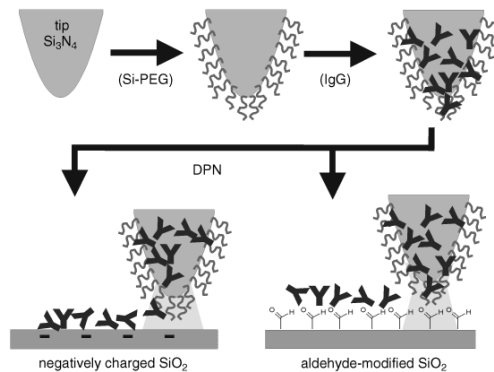


# Dip-pen Nanolithography (DPN)의 최신 연구동향 VI

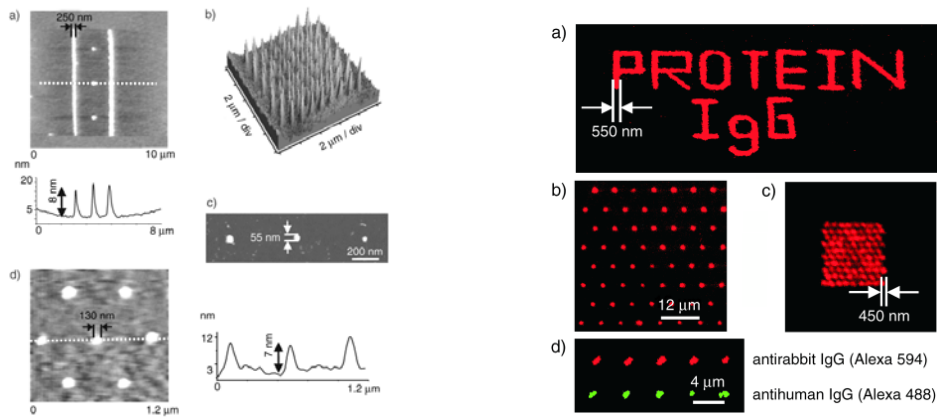
DPN 기술을 이용하여 다양한 기판에 단백질을 패터닝 하는 방법[1-3]을 알아보고 향후 DPN 기술의 전망에 대하여 알아보자.

## 1. Direct-Write DPN of Proteins on Modified Silicon Oxide Surfaces [1-3]

Proteomics, diagnostics, material science를 연구하는 연구자에게 단백질에 기초한 나노구조를 원하는 기판에 직접 패터닝 기술은 매우 중요하다. 이를 위해 DPN 기술이 사용될 수 있음을 보여준다. 우선 아래 그림은 단백질을 이용하여 기판에 패터닝 하는 방법을 간단하게 묘사하고 있다. 여기서 고려해야만 할 것이 두 가지 있다. 첫째, 우선 단백질이 tip으로부터 기판으로 쉽게 이동하기 위해서는 tip을 개질해야 한다. 이는 단백질이 denaturation되는 것을 막고 단백질이 tip과 강하게 결합하는 것을 막으며 기판으로 이동하기 위한 활성화에너지를 줄여 준다. 이를 위해 2-[methoxypoly(ethyleneoxy)propyl]trimethoxysilane (Si-PEG)을 사용하여 tip의 표면을 친수성으로 개질하였다. 둘째는 패터닝 하고자 하는 기판을 개질해야 한다. 단백질이 tip으로부터 기판으로 쉽게 이동할 수 있도록 하기 위해 기판을 두 가지 방법으로 개질하였다. 산화 실리콘 기판에 음전하를 띄게 만들어서 electrostatic interaction을 이용하여 패턴을 형성하는 방법과 기판을 aldehyde기로 기판을 개질하여 단백질의 amine 기들과 결합하게 함으로써 패턴을 형성하는 방법이다.

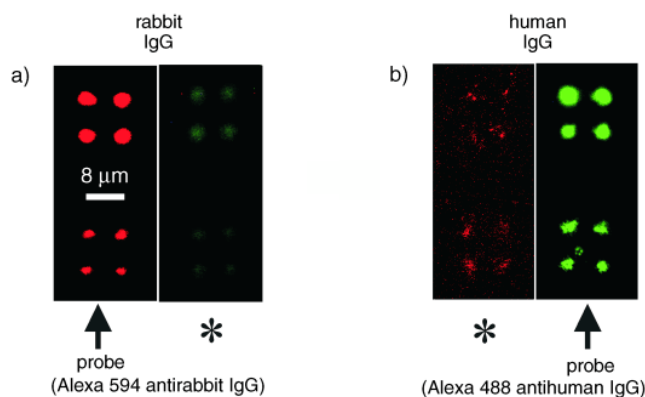


다음 왼쪽 그림은 실제 단백질을 이용하여 나노패턴을 형성한 후 atomic force microscope (AFM)으로 분석한 topography 결과들이다. a, b는 antirabbit immunoglobulin G (IgG)를 이용하여 산화 실리콘에 음전하를 띄게 만든 기판에 선과 dot arrays를 형성한 결과이다. c는 형성된 dot의 크기가 55nm 정도로 작게 만들 수 있다는 것을 보여준다. d는 aldehyde-modified 기판에 rabbit IgG가 패터닝된 결과이다. 높이 분석에서 보여주는 7-8nm는 단백질의 monolayer 높이와 일치한다. 즉, 한 층의 분자들로 기판에 패터닝이 잘 형성되었다는 것을 알 수 있다.



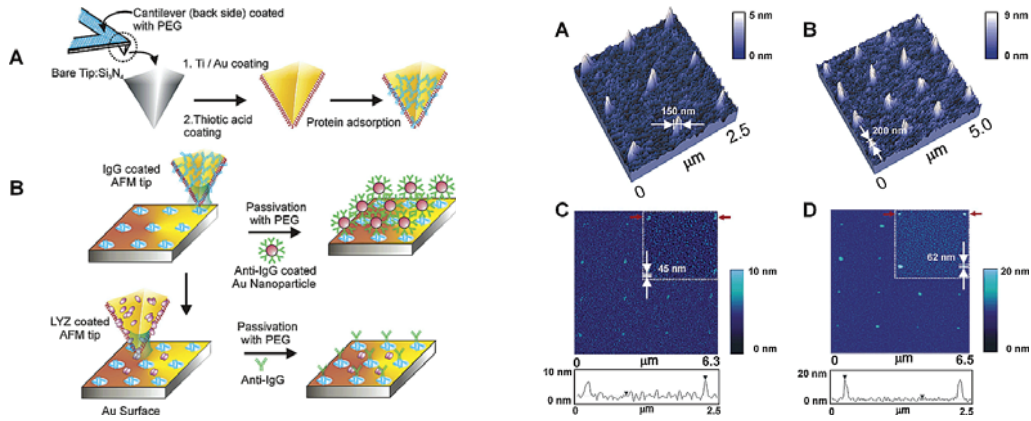
위의 오른쪽 그림은 형광물질로 라벨링을 한 단백질 패턴들의 형광이미지들이다. a,b,c는 antirabbit IgG (labeled with Alexa 594; red)을 이용하여 음전하를 띠는 산화 실리콘에 패턴한 것들의 형광 이미지들이다. 패턴이 잘 형성되었음을 보여준다. d의 결과는 aldehyde-modified된 기판에 두 개의 다른 단백질(antirabbit IgG with Alexa594와 antihuman IgG with Alexa 488; green)이 연속적으로 패턴된 것의 형광 이미지이다.

아래의 그림은 이렇게 형성된 패턴들이 biorecognition 성질을 계속 가지고 있음을 보여주는 결과이다. 우선 그림 a는 rabbit IgG와 human IgG로 패턴닝을 한 기판에 antirabbit IgG (with Alexa594)와 반응한 후의 결과이다. 형광이미지부터 antirabbit IgG가 선택적으로 rabbit IgG와만 결합하였다는 것을 알 수 있다. 이는 기판에 형성된 패턴들이 생물학적인 성질들을 계속해서 지니고 있음을 보여주는 것이다. 그림 b는 a와 반대로 antihuman IgG가 human IgG와만 선택적으로 반응한다는 것을 보여주는 결과이다. 이는 multiple-pen AFM array를 이용할 경우 복잡한 단백질 array들을 아주 작게 만들 수 있는 가능성을 보여주는 것이다.



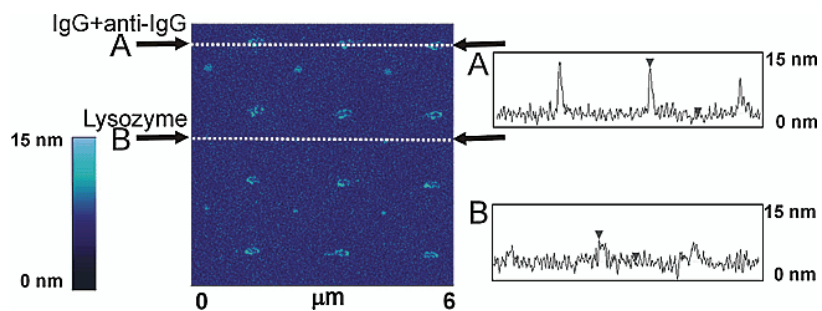
다음 왼쪽 그림은 금 표면에 단백질을 이용하여 패턴닝 하는 방법을 간단하게 묘사한 것이다. 그림 A는 일반적으로 DPN에서 사용하는  $Si_3N_4$  tip에 금을 코팅한 후에 11-mercapto-undecylpenta(ethylene glycol)disulfide (PEG)을 코팅한다. 여기서 PEG의 역할은 단백질이 tip에 흡착하는 것을 방지하고 기판으로의 이동이

용이하게 하기 위함이다. B의 위의 그림은 단백질을 이용하여 원하는 패턴을 만든 후에 나머지 영역을 PEG를 이용하여 passivation한다. 그 다음에 패턴된 단백질과 특정 결합을 하는 단백질이 코팅된 금 나노파티클을 반응시키면 패턴된 영역에서만 반응이 진행되는 것을 보여준다. B의 아래는 서로 다른 단백질을 기판에 패턴닝 한 후에 나머지 영역은 passivation한 후에 두 단백질 중에 하나하고만 결합하는 단백질을 반응시켜서 특정 단백질 영역에서만 반응이 진행되는 것을 묘사하고 있다[2].



위의 오른쪽 그림은 실제로 형성된 패턴들을 AFM을 이용하여 분석한 결과이다. A는 lysozyme의 dot 패턴을 보여주고 있고 B는 rabbit IgG 단백질의 패턴 모양이다. 그림 C와 D는 IgG 단백질을 패턴한 후에 anti-IgG이 코팅된 금 나노파티클과 반응 시킨 전후의 결과이다. 반응 후에 크기와 높이가 모두 증가하는 것을 알 수 있는데 이는 IgG 단백질과 anti-IgG가 결합하였다는 것을 보여준다.

다음 그림은 금 표면에 rabbit IgG와 lysozyme 단백질을 이용하여 multipattern을 형성한 후에 antirabbit IgG를 반응 시킨 후 AFM을 이용하여 분석한 결과이다. 높이 분석에서 확인할 수 있듯이 IgG 단백질이 패턴된 부분은 anti-IgG와 반응하여 높이가 증가(그림 A)한 것을 알 수 있지만 lysozyme이 패턴된 영역은 높이의 변화가 없었다(그림 B). 이는 기판에 생성된 단백질들은 생물학적 성질을 그대로 가지고 있다는 것을 보여준다. 이로부터 DPN 기술을 이용하면 원하는 단백질 물질이 활성을 잃지 않고서 아주 작은 크기로 패턴될 수 있음을 알 수 있다.



## 2. 향후 전망

DPN 기술이 사이언스에 최초로 발표되었던 것이 1999년이다. 지금까지 약 5년이라는 기간에 많은 발전이 있었고 지금도 계속해서 많은 연구들이 진행되고 있다. 처음의 결과들은 일반적으로 self-assembly에서 사용되는 분자들과 기판을 이용한 연구들이었다. 하지만 그 영역은 점차로 확대 되어 전도성 고분자 물질, 단백질, 자성체 물질, DNA, 또한 금속 자체의 나노 패터닝등 많은 분야에서 적용 가능성이 증명되어 왔다. 앞으로 DPN 기술이 어떠한 산업에서 실제로 경쟁력을 가진 산업으로 발전하게 될지는 확실하지 않다. 하지만, DPN 기술의 산업화에서 가장 중요하다고 생각되는 것은 더 정확하게 위치를 제어할 수 있는 기술을 개발하는 것과 어떻게 저비용으로 고밀도의 cantilever를 생산하는가라고 생각한다. 아주 작은 resolution을 갖는 고밀도의 패턴을 정확하게 패터닝 하기 위해서 위치 제어 기술이 가장 중요하고 또한 산업화를 위해서는 역시 가격 경쟁력이 있어야 하기 때문이다. 현재 우리나라를 포함한 세계의 많은 나라들이 나노기술에 적극적인 투자와 함께 급속하게 발전하고 있는 나노 기술을 고려해 보았을 때 DPN을 이용한 산업화 또한 곧 출현할 것으로 기대된다.

지금까지 현재 세계적으로 각광받는 나노기술 중에서 AFM tip을 이용하여 나노 패터닝 하는 기술은 DPN에 대하여 알아보았다. DPN 기술에 관심 있는 분들에게 조금이나마 도움이 되었으면 하는 마음으로 글을 마친다.

2003년 10월에 scanning probe lithography (SPL) 기술에 대한 좋은 리뷰 논문이 발표 되었다. 논문에서 DPN에 대한 내용이 자세하게 설명되어 있다. 여기서 미처 다루지 못한 내용들도 다수 포함 되어 있으니 관심 있으신 분들은 읽어 보시면 많은 도움이 되리라 생각한다. 이를 위해 리뷰 논문을 첨부해 놓았다.

## References

- [1] Lim, J.-H., Ginger, D. S., Lee, K.-B., Heo, J., Nam, J.-M., and Mirkin, C. A., "Direct-Write Dip-Pen Nanolithography of Proteins on Modified Silicon Oxide Surfaces", *Angew. Chem, Int, Ed.*, **42**, 2309, 2003.
- [2] Liu, X., Guo, S., and Mirkin, C. A., "Surface and Site-Specific Ring-Opening Metathesis Polymerization Initiated by Dip-Pen Nanolithography", *Angew. Chem, Int, Ed.*, **42**, 4785, 2003.
- [3] Kramer, S., Fuierer, R. R., and Gorman, C. B., "Scanning Probe Lithography Using Self-Assembled Monolayers", *Chem. Rev.*, **103**, 4367, 2003.