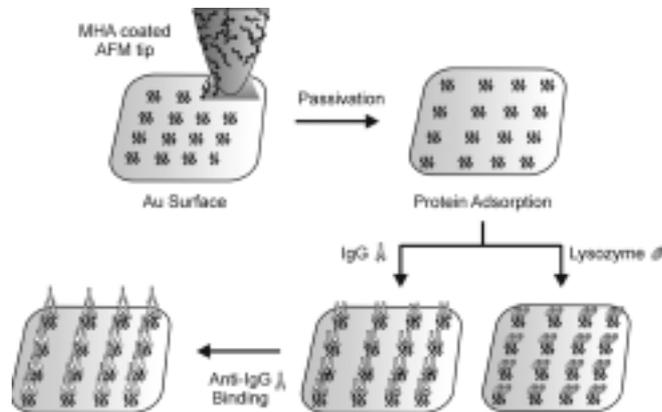


Dip-pen Nanolithography (DPN)의 최신 연구동향 II

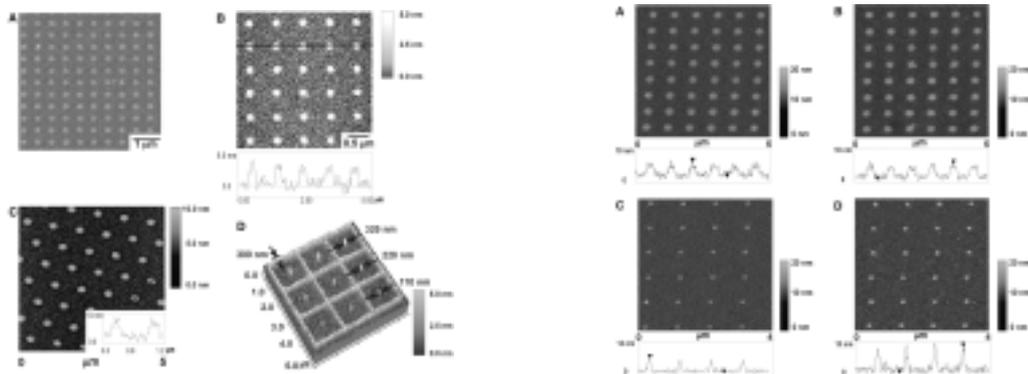
DPN 기술을 이용하여 단백질의 나노어레이를 만들 수 있다. 그 방법은 다음과 같다. 먼저 단백질과 반응할 수 있는 분자를 금표면에 원하는 패턴닝을 한 후에 나머지 부분을 단백질과 반응하지 않는 분자를 이용하여 passivation 하고 여기에 원하는 단백질을 반응시키면 원하는 패턴의 단백질 나노어레이가 형성된다[1]. 그리고 생물 연구에서 중요한 부분을 차지하고 있는 DNA을 DPN 기술을 이용하여 직접 나노패턴닝 할 수 있다[2]. 또한 modified DNA을 이용하여 나노패턴을 만든 후 nanoparticle에 부착된 complementary DNA를 반응시킴으로써 nanoparticle array 를 만들 수 있다[3,4].

1. Protein Nanoarrays Generated via DPN [1]

DPN을 이용하여 단백질의 나노어레이를 만드는 과정을 간단하게 묘사한 것이 아래의 그림이다. 우선 MHA (16-mercaptohexadecanoic acid)을 이용하여 금표면에 원하는 나노 패턴을 만든다. 그 다음에 다른 영역을 반응하고자 하는 단백질과 결합하지 않는 물질로 self assembly를 하여 passivation 한다. 그 다음에 단백질과 반응하게 되면 우리가 원하는 단백질의 나노패턴을 얻을 수 있다. 또한, 패턴된 단백질과 반응할 수 있는 또 다른 단백질을 반응시킬 수도 있다.



다음의 왼쪽 그림은 실제 DPN 기술을 이용하여 lysozyme (ellipsoidal shaped 4.5 nm by 3.0 nm by 3.0 nm) 단백질의 나노어레이를 만든 경우이다. 그림 (A)는 MHA를 이용하여 나노어레이를 만든 후에 LFM (lateral force microscopy)으로 분석한 것이다. 그림 (B)부터 (D)는 lysozyme을 흡착시킨 후에 얻은 topography 이미지들이다. Lysozyme이 패턴된 MHA 영역에만 흡착되었다는 것을 알 수 있다. 즉, non-specific adsorption은 거의 없다는 것이다. 그림 (D)는 3차원의 topography 이미지로 다양한 크기의 패턴들을 시간조절을 통하여 만들 수 있음을 보여주고 있다.

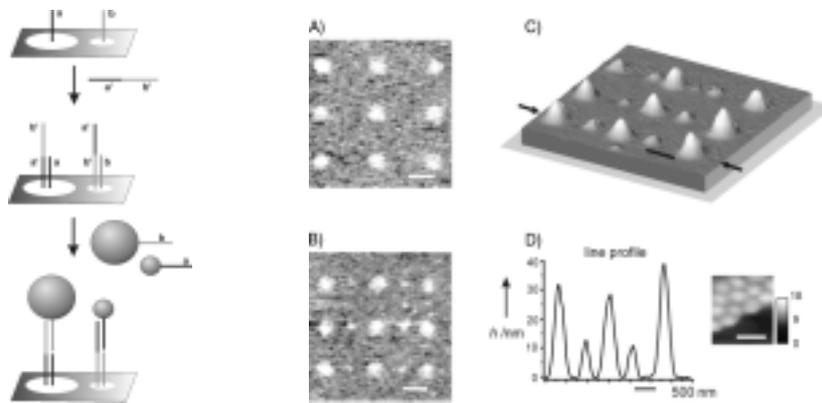


위의 오른쪽 그림은 다른 크기를 갖는 단백질, 즉 rabbit immunoglobulin G (IgG, Y-shape, 높이 14.5 nm, 폭 8.5nm, 두께 4.0 nm)을 이용하여 패턴을 만든 것들이다. (A)에서 높이가 약 6.5 nm임을 알 수 있다. 이는 MHA 패턴에 흡착된 단백질 한 층의 높이에 해당된다. (B)부터 (D)는 rabbit IgG가 흡착된 상태에서 rabbit anti-IgG 와만 결합함을 보여주는 그림이다. (B)는 lysozyme, Retonectin, goat/sheep anti-IgG, human anti-IgG가 포함된 용액과 반응한 후에 결과이고 (C)와 (D)는 lysozyme, Retonectin, goat/sheep anti-IgG, human anti-IgG, rabbit anti-IgG가 포함된 용액과 반응한 전후의 topography 결과들이다. 이들에게서 알 수 있는 것은 (D)의 높이만 약 12.5 nm로 증가하였다는 것이다. 이는 rabbit IgG가 rabbit anti-IgG만 결합하였다는 것을 보여준다. 이러한 단백질 나노어레이가 cell adhesion과 같은 생물학적인 반응에서 다른 기술들보다 더 정확하게 사용될 수 있다는 것을 보여준다.

2. Direct patterning of modified DNA by DPN [2]

금 표면과 부도체인 SiOx에 modified DNA를 DPN을 이용하여 직접 패턴할 수 있다. 아래의 왼쪽의 (A)는 금 표면에 hexanethiol-modified DNA를 이용하여 직접 나노 패턴링을 한 topography 이미지이다. 그 후에 ODT (1-octadecanethiol)을 이용하여 나머지 부분 (패턴하지 않은 부분)을 채운다. 이는 패턴한 부분만이 다른 물질과 반응(DNA, DNA-modified nanoparticle의 흡착하는 반응 등)을 할 수 있게 하기 위해서이다. 그림 (B)는 선택적으로 DNA-modified nanoparticle이 패턴된 부분에만 흡착하였음을 보여주고 있다. 그러나, 금 표면은 실제 적용함에 있어서 여러 가지 제약이 있다. 즉, 금은 전기적 도체이기 때문에 이는 charge transports나 near-field optical phenomena in nanostructures 등에 사용될 수 없다. 따라서 이를 극복하기 위해서는 부도체 기판에 패턴링을 할 수 있어야만 한다. 이를 위해 고안된 방법이 오른쪽 그림에 나타나 있다. 우선, SiOx 기판을 mercaptopropyltrimethoxysilane (MPTMS)을 이용하여 self-assembly한다. 그 후에 5'-terminal acrylamide DNA를 이용하여 나노패턴을 만들면 DNA를 부도체에 원하는 모양을 직접 만들 수 있다.

과적이지 않았다. 이를 극복하기 위하여 DPN 기술이 적용되었다. 아래의 왼쪽 그림은 대략적으로 그 방법을 설명한 것이다. 우선 DPN 방법으로 MHA 분자를 이용하여 원하는 패턴을 만든 후에 나머지 영역은 ODT 분자를 이용하여 self-assembly를 하여 채운다. 그 후에 alkylamine-modified DNA (a)을 MHA 분자와 결합시킨다. 다음은 정확하게 위치를 조절하여 MHA 분자로 다른 크기의 패턴을 만든다. 여기에 또 다른 alkylamine-modified DNA (b)을 MHA 분자와 결합시킨다. 그리고 complementary DNA인 a'b'을 반응시킨 후에 nanoparticle과 결합되어 있는 DNA와 최종적으로 hybridization을 시키게 되면 두 개의 nanoparticle을 원하는 위치에 정확하게 만들 수 있다. 오른쪽 그림은 실제의 실험의 결과를 AFM (atomic force microscopy)으로 분석한 결과이다. 사이즈가 13, 30 nm인 nanoparticle들이 사용되었다. 높이 분석은 nanopatterning이 성공적으로 수행되었음을 보여준다.



References

- [1] Lee, K.-B., Park, S.-J., Mirkin, C. A., Simth, J. C., and Miksich, M., "Protein Nanoarrays Generated By Dip-Pen Nanolithography", *Science*, **295**, 1702, 2002.
- [2] Demers, L. M., Ginger, D. S., Park, S.-J., Li, Z., Chung, S.-W., and Mirkin, C. A., "Direct Patterning of Modified Oligonucleotides on Metals and Insulators by Dip-Pen Nanolithography", *Science*, **296**, 1836, 2002.
- [3] Demers, L. M., Park, S.-J., Taton, T. A., Li, Z., and Mirkin, C. A., "Orthogonal Assembly of Nanoparticle Building Blocks on Dip-pen Nanolithographically Generated Templates of DNA", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 3071, 2001.
- [4] Zhang, H., Li, Z., and Mirkin, C. A., "Dip-Pen Nanolithography-Based Methodology for Preparing Arrays of Nanostructures Functionalized with Oligonucleotides", *Adv. Mater.*, **14**, 1472, 2002.