

GOVP1200507207

M1-0214-00-0230

나노핵심기반기술개발사업
National RND Program for Nano Science and Technology

나노구조제어를 통한 단백질 분리용
나노분리막 소재개발

Nanostructural Membranes for Proteins Separation

포항공과대학교

과 학 기 술 부

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 “ 나노구조 제어를 통한 단백질 분리용 나노분리막 소재개발”과제 의 보고서로 제출합니다.

2004.10.27

주관연구기관명 : 포항공과대학교

주관연구책임자 : 김진곤

연구원 : 박민수

” : 이정인

” : 양승윤

보고서 초록

과제관리번호	M1-0214-00-0230	해당단계 연구기간	1단계 (02.12.01~04.07.31)	단계 구분	(1단계) / (2단계)
연구사업명	중 사업명	국책연구개발사업			
	세부사업명	나노핵심기반기술개발사업			
연구과제명	중 과 제 명				
	세부(단위)과제명	나노구조 제어를 통한 단백질 분리용 나노분리막 소재개발			
연구책임자	김진곤	해당단계 참여연구원수	총 : 24명 내부 : 4명 외부 : 20명	해당단계 연구비	정부: 350,000천원 기업: 천원 계: 350,000천원
연구기관명 및 소속부서명	포항공과대학교 화학공학과		참여 기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위탁연구	연구기관명 : 한국과학기술원		연구책임자 : 정희태		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	47
<p>1. 연구개발의 목적 및 필요성</p> <p>수 나노에서 수십 나노 크기의 균일한 나노 채널을 제조하고 여기에 관능기를 부착시켜 다양한 사이즈를 가지는 단백질 분리와 단백질 사이즈는 비슷하지만 작용기가 다른 단백질을 분리하는 나노분리막을 제조하는 것을 본 연구의 목표로 한다.</p> <p>2. 연구개발의 내용 및 범위</p> <p>블록공중합체 박막의 나노구조를 기질위에서 수직으로 배향시키고, 한 성분을 선택적으로 에칭하여 나노기공성 필름을 만든다. 이 나노기공성 필름을 분리막으로 사용하여 표면 기공도 및 선택성을 향상시켜, 고효율의 단백질 분리용 소재로 적용한다.</p> <p>3. 연구개발의 내용 및 결과</p> <p>블록공중합체를 이용한 나노기공성 필름에서 나노기공의 수직 배향 및 그 크기를 제어하는 기술을 도출하였으며, 분리막 세트로 제작하는 데 성공하였다. 표면의 기공도를 증가시켜 Flux를 향상시켰으며, Rhinovirus 14에 대한 분리 실험에서 성공적인 가능성을 확인하였다.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	블록공중합체, 나노템플레이트, 단백질 분리, 분리막, 나노구조			
	영 어	Blockcopolymer, Nanotemplate, Protein separation, Membrane, Nanostructure			

요 약 문

I. 제 목

나노구조제어를 통한 단백질 분리용 나노분리막 소재개발
(Nanostructural Membranes for Proteins Separation)

II. 연구개발의 목적 및 필요성

수 나노에서 수십 나노 크기의 균일한 나노 채널을 제조하고 여기에 관능기를 부착시켜 다양한 사이즈를 가지는 단백질 분리와 단백질 사이즈는 비슷하지만 작용기가 다른 단백질을 분리하는 나노분리막을 제조하는 것을 본 연구의 목표로 한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

블록공중합체 박막의 나노구조를 기질위에서 수직으로 배향시키고, 한 성분을 선택적으로 에칭하여 나노기공성 필름을 만든다. 이 나노기공성 필름을 분리막으로 사용하여 표면 기공도 및 선택성을 향상시켜, 고효율의 단백질 분리용 소재로 적용한다.

IV. 연구개발의 내용 및 결과

블록공중합체를 이용한 나노기공성 필름에서 나노기공의 수직 배향 및 그 크기를 제어하는 기술을 도출하였으며, 분리막 세트로 제작하는 데 성공하였다. 표면의 기공도를 증가시켜 Flux를 향상시켰으며, Rhinovirus 14에 대한 분리 실험에서 성공적인 가능성을 확인하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

Rhinovirus 14에 대한 분리공정을 수행하여 단백질 characterization을 생명과학과와 공동연구로 수행할 것이며, 특허 출원 및 논문 투고를 계획하고 있으며, 창의적연구진흥사업의 한 연구주제로 연계하여 진행할 것이다.

S U M M A R Y

(영 문 요약 문)

Development of new membrane materials with nanoporous films prepared by blockcopolymer was introduced in this report. Conventional membrane with a broad pore size distribution and a lower pore fraction on the surface exhibit lower size selectivity and flux. A high selectivity and flux was achieved by using block copolymer nanoporous films with uniform size distribution and high surface pore fraction. Polystyrene-block-poly(methyl methacrylate) (PS-PMMA) copolymer was used in the study because PS-PMMA had nanostructures with a few nanometer to tens of nanometer size. Also, the nanodomain of PMMA phase could be easily removed by UV exposure and solvent etching. PS-PMMA nanodomains were successfully oriented normally to the silicon substrate modified by a neutral surface by using of PS-r-PMMA copolymer. Size of nanodomains in PS-PMMA was varied from 5 nm to 30 nm by adding homopolymer of PMMA and ozone exposure. After UV exposure and etching of PMMA, PMMA block becomes nanoporous. This porous film on silicone substrate was floated by HF solution on another porous supporting materials. We found that compared with conventional membrane of polycarbonate, flux of purified water increased by 500 times for blockcopolymer nanoporous film. Finally, Rhinovirus 14, a virus inducing cold, was successfully separated.

C O N T E N T S

(영 문 목 차)

Chapter 1. Introduction

1. The goals of the research
2. The necessity of the research
3. The scope of the research

Chapter 2. Current research status

Chapter 3. Research Results

1. Background
2. Experimentals
3. Results

Chapter 4. Status of the Research and Contribution

Chapter 5. Applications of Research results

Chapter 6. Informations from other countries during the Research

Chapter 7. References

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발목표
2. 연구개발의 필요성
 - 2-1. 기술적 측면
 - 2-2. 경제·산업적 측면
 - 2-3. 사회·문화적 측면
3. 연구범위

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내외 연구동향
2. 현기술상태의 취약성
3. 앞으로의 전망

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 이론적 배경
2. 실험방법
3. 연구결과

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발목표

수 나노에서 수십 나노 크기의 균일한 나노 채널을 제조하고 여기에 관능기를 부착시켜 다양한 사이즈를 가지는 단백질 분리와 단백질 사이즈는 비슷하지만 작용기가 다른 단백질을 분리하는 나노분리막을 제조하는 것을 본 연구의 목표로 한다.

2. 연구개발의 필요성

- ▶ 수 나노에서 수백 나노크기를 분리하는 단백질 분리기술은 NT/BT의 핵심융합기술로서, 미래 10대 핵심 나노-바이오 기술중의 하나임.
- ▶ 현재 사용하는 ultra-filtration 등의 단백질 분리기술은 time-consuming과 크기별로 정확히 분리하지 못하기 때문에, 사이즈가 제어된 나노 기공을 가진 분리소재 개발이 요구됨.
- ▶ 현재의 나노 기공 제조 방법으로는 고집적되고 균일한 기공을 형성하는데 한계가 있으므로, 수에서 수십 나노의 기공형성과 화학적 표면처리를 위한 새로운 접근이 필요함.
- ▶ 수 나노에서 수백 나노 크기까지의 화학적 처리가 가능한 블록공중합체, 유기분자구조체 등의 새로운 단백질 분리형 기공소재의 사용이 요구됨.

○ 기술적 측면

Post-genome 시대에서 단백질의 정제 기술은 생체 조직이나 세포에서 단백질의 조성을 분석하고 단백질의 3차 구조를 결정하며 또한 단백질의 역할을 연구하는데 있어서 첫 단계라고 할 수 있으며, 중합효소 연쇄반응 (PCR)과 같은 화학적 방법을 통하여 대량 합성이 용이한 DNA나 mRNA와는 달리 단백질은 이와 같은 방법의 적용이 불가능하기 때문에 정제 및 분리 기술의 중요성이 매우 크다.

단백질은 아미노산의 길이에 따라 통상 수 나노크기(헤모글로빈, 인슐린)에서 수 십 나노(콜라겐, 아스파테이트), 수 백 나노미터(membrane proteins)에 이르는 다양한 크기를 갖는데, 각 크기 별로 꼭 필요한 단백질이 존재한다. 현재 단백질의 분리는 주로 ultrafiltration을 사용하고 있으며, 이 경우에 사용되는 membrane의 기공 사이즈는 300 나노미터부터 수 마이크로 정도 로 아주 넓은 분포의 기공으로 구성된다. 따라서, 분리된 단백질의 크기 분포가 아주 넓어서 정교한 분리는 쉽지 않은 상태이다. 보다 미세한 분리는 주로 HPLC를 이용하고 있으나, 시간이 많이 걸릴 뿐 아니라, 사용이 번거로운 단점이 있다. 따라서, 유기 분자 구조체를 바탕으로 나노 채널의 크기를 수 나노에서 수 십 나노미터의 크기로 자유로이 조절할 수 있는 나노 분리막 제조가 가능하면, 단백질을 크기별로 손쉽게 분리할 것으로 판단한다. 아울러, 나노 채널에 특정관능기를 부착할 경우, 크기가 유사하지만 기능이 다른 단백질도 쉽게 분리할 수 있다.

○ 경제·산업적 측면

의학, 건강분야에서 바이오기술(BT)은 아주 중요한 분야이다. 현재는 특정 단백질에 작용하는 의약품을 개발할 때 5 백 개의 단백질을 동원하였지만, 불과 몇 년 안에 그 수가 1만 개 정도로 늘어날 전망이다. 향후에는 진단용 단백질 분리기술과 제약용 단백질 분리기술의

경제적 가치가 더욱 커질 것으로 예상되며, 두 기술이 함께 발전하여야만 한다. 특히, 크기와 기능별로 미세하면서도 손쉬운 분리가 가능한 유기 분자 구조체로 이루어진 나노 분리막의 제조는 경제적으로도 상당한 매력이 있을 것이며, 타 산업체에도 많은 파급 효과를 이끌어 낼 수 있을 것이다.

○ 사회·문화적 측면

약 30만 종에 달하는 인간 단백질의 모든 활동을 조사하는 국제공동연구 프로젝트가 2002년 가을부터 시작되는 것으로 알려졌다. 이는 유전자를 포함한 몸 전체의 메카니즘을 이해하기 위해서는 단백질에 대한 이해가 없이는 불가능하기 때문이다. 에이즈, 당뇨, 암과 심장, 혈관 질환 등 모든 인간 질병을 연구하는 데 있어 해당 단백질의 발견과 기능 분석뿐만 아니라, 단백질의 분리 및 대량 생산은 앞으로 인간의 건강과 관련되어 점점 그 중요성이 증대될 것이다. 이처럼 BT에 관한 연구가 다양해지고 복잡해질수록 미세하면서도 손쉬운 단백질 분리가 필수 요건으로 대두될 것으로 생각한다.

3. 연구범위

블록공중합체 나노박막에서 나노구조의 수직배향 기술과 그 크기제어 기술을 도출한다. 제어된 나노구조에서 한 성분을 선택적으로 에칭하여 나노기공성 박막을 제작하고 분리막으로 응용하여 단백질 분리를 수행한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내외 연구동향

분리막을 이용한 정제기술은 오래전부터 널리 사용되는 것인데, 최초의 고분자 막은 셀룰로스를 이용하여 제조하였다. 하지만, 이것을 사용할 경우, 작은 크기의 기공을 가지고 있어 적층 구조의 막을 통한 높은 압력 감소로 인하여 분리에 적합하지 않았기 때문에 상업적으로는 셀룰로스 유도체를 이용한 microfiltration이 사용되었다. 그러나, 이러한 막은 거친 섬유질 형태로 이루어져서 더 많은 기공을 가지면서 기공의 크기 또한 더 커지게 되었으나 (1-2 μ m) 균일한 구조를 가지지는 못하였다. 최근에는 우수한 필름 형성 특성과 열적/생리적 안정성 때문에 폴리 숄폰으로 이루어진 막이 사용되고 있다. 또한, Microporous 폴리아미드 막 또한 기계적으로 강직하면서 좁은 분포의 미세 기공을 가지기 때문에 막으로서의 이용가치가 높지만, 3차 아민의 수가 아주 적어, 낮은 수의 리간드만이 도입될 수밖에 없는 약점이 있고, 단백질의 비선택적 흡착이 일어나는 약점도 있다.

따라서, 수 나노에서 수 백 나노의 다양한 크기를 가지는 단백질을 효과적으로 분리하기 위하여 각각의 크기에 적합한 기공 (나노 채널)을 제조해야 한다. 한편, 크기는 비슷하지만, 서로 다른 화학/생리 작용을 하는 단백질을 효과적으로 분리하기 위해서는 나노 채널에 특정한 관능기가 부착되어야 하는데, 이 분야의 연구는 전 세계적으로 개념 정립단계이기 때문에 거의 행하여지지 않고 있다. 나노 기공을 제조하는 방법으로는 블록 공중합체 한쪽 블록에만 상용성이 있는 단일 고분자를 혼합하여 이 단일 고분자만 선택적으로 제거하거나, 적당한 가교 조건을 이용하면 된다.

현재, 블록 공중합체를 이용하여 나노기공성 막막을 제조하는 연구 중 가장 활발히 연구되는 분야는 블록 공중합체의 나노 구조를 이용한 나노 템플레이트 제조이다. 이 경우 사용되는 나노 구조는 실린더 구조인데 먼저 실린더를 수직으로 배향시키는 연구와 수직 배향된 실린더가 대면적에 완벽하게 배향시키는 작업이다. 실린더 나노 상을 수직으로 배향하는 방법으로는 필름 두께가 50 nm 정도로 작은 경우에는 랜덤 brush를 사용하거나 passivated silicone을 사용하여 두 블록이 실리콘 웨이퍼와의 인력이나 척력을 같게 만들어주면 된다.[1] 한편 두께가 마이크론 정도로 증가할 경우에는 전장을 걸어주면 된다.[2] 최근에는 본 연구실에서 두께가 300 nm까지는 전장을 걸어주지 않고도 단일공중합체를 블록 공중합체의 나노상에 confine시켜서 수직배향에 성공하기도 하였다.[3] 한편, 일반적인 PS-b-poly(methyl methacrylate) 블록공중합체의 실린더 직경은 15 ~ 40nm으로 많은 실린더를 세우기 위해서는 직경이 줄어들면 좋은데, 통상은 분자량을 줄이면 직경이 줄어들지만 10 나노 이하의 줄일 수가 없게 된다. 왜냐하면, 이 경우에 해당하는 분자량을 선정하면 나노상 자체가 형성되지 않기 때문이다. 직경을 10나노이하로 줄이는 방법으로는 단일 공중합체를 blending한 후 추출하거나 오존으로 매트릭스의 부피를 줄여서 홀을 제조하면 된다.[4, 5] 이렇게 형성된 실린더 나노 홀은 단백질이나 바이오품질을 분리하는 분리막이나 정보 저장 물질, quantum dots, photovoltaic device에 응용할 수 있다는 가능성들이 제시되고 있다.

또한, 현재 membrane을 이용한 protein separation이나 bio-material의 분리는 주로 electron beam을 polycarbonate나 polyester에 조사하여 구멍을 만드는 track-etched membrane에 의해 주로 이루어지고 있다.[6] track-etched membrane은 일정한 구멍크기를 가지기 때문에 선택적 분리라는 측면에서 매우 각광받고 있다. 그러나 beam을 주사하는 간격을 일정하게 하기 힘들어서 표면 공극률이 한정될 수밖에 없다. 그래서 매우 낮은 flux를 보여주는 단점이 있다. 그리고 aluminum을 산화시켜 만든 alumina

membrane의 경우 track-etched membrane과 같이 균일한 크기의 기공을 만들지만 단백질이나 bio-material의 분리를 위한 pore size인 수나노의 기공을 만드는 데는 한계점을 가지고 있다. 실험실 수준에서 alumina membrane의 공극 표면에 surfactant을 반응시켜 pore의 크기를 3.4nm 까지 줄인 논문이 발표되었지만 flux가 매우 낮아 실제 분리에 응용되기에는 많은 문제점을 가지고 있다.[7, 8] 그리고 효소를 membrane에 고착시켜 효소의 선택성을 이용한 분리막도 연구되고 있다.[9]

2. 현기술상태의 취약성

현재 분리막으로 사용되는 소재는 기계적 강도 면에서는 큰 문제가 없지만, 기공 크기의 분포가 너무 넓기 때문에, 크기가 가진 각각의 단백질을 효과적으로 분리하는 곳에는 적합하지 않는다. 따라서, 기공 사이즈의 분포가 거의 단 분산상으로 이루어진 나노구조 제어 기술이 필수적인데, 이러한 목적으로 블록공중합체를 이용한 나노기공성 박막은 매우 유용한 재료로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

3. 앞으로의 전망

효과적인 단백질 분리막 제조에 중요한 사항은 잘 제어된 나노 기공을 제조하는 것과 두번째는 특정 단백질과 상호작용을 하는 관능기를 나노 기공에 적절하게 부착하는 것이다. 이것을 효과적으로 달성하기 위해서는 기공의 나노 구조가 자유롭게 제어되어야 한다. 나노 사이즈를 얼마나 잘 제어하여 단 분산상의 크기를 갖는가 하는 것과 이러한 기공이 얼마나 넓은 면적에서 single grain을 가지는가에 거의 모든 연구의 초점이 맞추어져 있고, 이러한 연구는 당분간 계속 진행될 것이라고 예상된다. 본인이 평가하기로는 약 3~5년 후엔 이러한 목적에 적합한 나노 분리막이 태동할 것이라고 판단하며, 실제 제품개발은 10년 이내에 이루어질 것이라고 예상된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 이론적 배경

블록공중합체란 단일중합체와는 달리 두 가지 이상의 서로 다른 고분자 사슬이 공유결합으로 연결된 물질로서 1950년 후반 음이온 중합에 의해 가능성이 제시되었다. 블록공중합체의 가장 특징적인 면은 고분자 블록 사이의 상호 배척하는 성질과 고분자 블록들이 공유결합으로 연결되기 때문에 자발적인 상분리에 의하여 10 nm에서 100 nm 정도의 크기를 갖는 나노구조를 자기 조립 방식으로 만들 수 있다는 것이다. 자기 조립된 나노구조의 형태와 크기는 블록공중합체의 분자량, 각 블록의 부피비, 각 블록간의 Flory-Huggins 상호작용계수 등에 의하여 결정되며, 특히 가장 간단한 형태인 AB형의 이중 블록공중합체는 판상형, 자이로이드형, 원통형, 구형 등의 나노구조를 형성한다. 이러한 블록공중합체의 나노구조는 크기뿐만 아니라 형태의 조절도 가능하며, 나노구조의 화학적 특성에 대해서도 선택이 가능하여 나노기술로의 적용에 유리한 장점을 갖고 있다.

특히, 블록공중합체를 이용한 나노템플레이트는 나노구조 패턴형성의 용이성, 패턴의 다양성, 나노미터 스케일의 패턴 크기를 고분자의 길이를 변화시킴에 의해 조절이 가능하다는 패턴 크기의 조절 용이성, 뿐만 아니라 화학적 방법에 의해 블록 공중합체의 패턴의 성질을 쉽게, 선택적으로 변형하고 조절할 수 있는 점들의 장점으로 많은 잠재적인 응용 가능성을 가진 재료로서 각광을 받고 있다. 그 중에서도, 나노 수준의 물질을 분리해내는 분리막 (separation membrane)으로서의 가능성은 상당한 관심을 불러일으키고 있다. block copolymer의 자기조립성질을 이용한 나노기공형성방법은 membrane의 가장 중요한 효율적인 선택성과 flux의 향상이라는 두가지 조건을 모두 만족시킬 것이라 생각된다. 먼저 선택성의 측면에서는 기존 막제조방법에서의 문제점인 pore distribution을 평균 공극의 $\pm 50\%$ 로 줄일 수 있고 [10] (상반전 제조방법으로 제조된 막의 경우 수 μm 에서 수 나노의 pore distribution을 가진다.) flux측면에서는 기존 track-etched 방식으로 제조된 막보다 표면 공극률과 분리층의 두께가 얇기 때문에 수천배의 flux증가효과가 있을 것이다. block copolymer를 이용하여 만든 이상적인 membrane의 특성은 단백질과 같은 bio-material을 분리하고 정제하는데 가장 크게 이용될 것이라 생각된다. 왜냐하면 bio-material의 경우 아주 미량의 불순물만 섞여 있어도 그 기능을 못하는 경우도 있고 심지어 chiral compound나 virus의 경우 인간에게 치명적인 해도 끼칠 수 있기 때문이다.[11, 12] 그리고 bio-material의 상업화 측면에서는 quality 뿐만 아니라 quantity의 문제도 간과할 수 없기 때문에 높은 수준의 flux가 요구된다. 이러한 점들을 고려해 볼 때 block copolymer을 이용한 nano-membrane의 제조는 생명공학을 바탕으로 하는 산업전반에 큰 기여를 할 것으로 기대된다.

2. 실험방법

실험에 사용된 블록공중합체는 음이온 중합 및 Atom Transfer Radical Polymerization(ATRP)법에 의해 합성된 poly(styrene-b-methyl methacrylate) (PS-PMMA) 이며, 그 분자량과 PMMA의 부피 함량은 표 1과 같다. 실리콘 웨이퍼의 표면을 PS와 PMMA에 대하여 중성인 상호작용을 가지게 하기 위한 PS와 PMMA의 랜던공중합체 (PS-r-PMMA)는 Living Radical 중합법으로 제조되었으며, 표 1에 나타내었다. PS-r-PMMA를 스핀코팅에 의하여 실리콘 웨이퍼 위에 코팅하고, 170°C에서 3일간 아닐링 하였다. 하이드록시기는 실리콘 웨이퍼 표면의 옥사이드와 반응하여 공유결합을 형성하고, 톨루엔으로 세척하면 두께 6nm의 브러쉬 층을 형성하게 되어 PS-PMMA에 대하여 중성인 상호작용을 하는 표면층을 형성한다. 중성인 표면에 PS-PMMA 혹은 PS-PMMA/(PMMA homopolymer) blend를 원하는 두께로 코팅하고, 아닐링하여 나노구조를 형성시켰다. PS 나노기공성 필름은 불산 용액으로 실리콘 웨이퍼의 옥사이드 층

을 용해하여 박리할 수 있고 이러한 박막의 지지체로 수 마이크론 기공을 가지는 술폰계열의 막을 이용하여 나노박막을 얻었다. 나노구조가 형성된 필름에 UV를 조사하고 acetic acid로 세척하면 PMMA를 선택적으로 제거하여 나노기공을 가지는 nano-membrane을 만들 수 있다. DI water flux 실험이나 bio-material 분리 실험은 Amicon사에서 만든 stirred cell을 이용하였다.[13] 실제 장치와 도식도는 Figure 1에 나타내었다.

3. 연구결과

3-1. 기질 위에 수직 배향된 균일한 크기의 수 nm~수십 nm 기공형성

블록 공중합체 박막의 경우 공중합체가 가지는 자기조립체적 성질 때문에 나노 사이즈의 구조를 가지게 된다. 이런 공중합체의 사용가치를 높이기 위해서는 수직으로의 배양과 크기의 제어가 중요해진다. 폴리 스타이렌-메틸메타아크릴레이트(PS-PMMA) 중에서 PMMA 블록이 실린더의 형태가 되고 PS 블록이 매트릭스를 이루는 것은 랜덤 공중합체를 통해서 각각의 블록에 대해 선택성이 없도록 만든 기질에 박막으로 깔았을 때, 기질에 대해서 수직의 실린더가 육각형의 모양을 이루는 구조체를 이루게 된다. 여기에서 기질에 깔린 박막위에 UV를 조사하면 PS 블록은 경화가 일어나지만 PMMA는 분해가 되기 때문에 나노크기의 구멍이 생기게 된다. 뿐만 아니라 블록 공중합체에 PMMA 단일고분자를 상분리가 일어나지 않을 만큼의 적당량을 넣으면 더 작은 크기, 혹은 더 큰 구멍을 만들 수 있다. PMMA 10%, 30%를 넣은 후 수직배향을 시켜서 PMMA 단일고분자만 제거하였을 경우 약 6nm의 구멍을 만들 수 있고, UV를 통해서 PMMA 단일고분자와 PMMA 블록을 모두 제거하였을 경우 약 22nm의 구멍을 만들 수 있다.(Figure 2) 다른 방법으로는 기질위에 있는 PS-PMMA 박막에 오존에 노출시키게 되면 PMMA에는 아무런 영향이 없지만 PS만 경화가 일어난다. 그러면서 PS의 수축으로 가운데 부분에 작은 크기의 구멍들이 생기게 된다. 각각 노출시간을 10분, 30분, 60분으로 달리하면서 구멍의 크기를 3~8nm로 제어할 수 있다.(Figure 3) 그래서 나노사이즈의 구멍들의 크기를 제어할수 있는 나노템플레이트도 손쉽게 만들 수 있으며 그 응용가치도 높다고 할 수 있겠다.

Table 1. Materials used in the study

Name	Molecular Weight	PDI	PS vol%	Morphology
PS-r-PMMA	9600	1.08	60	
PS-PMMA	83000	1.06	70	Cylinder
PS-PMMA(ATRP)	71000	1.09	73	Cylinder
PMMA19	19000	1.10	0	
PMMA10	9600	1.08	0	

(a)



(b)

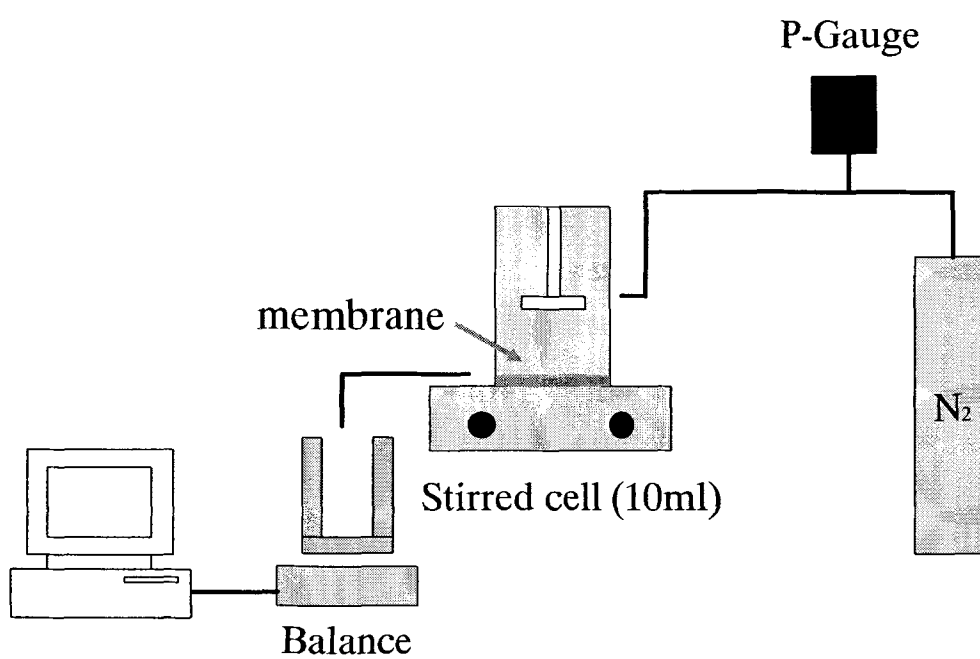


Figure 1. (a) Photograph of Equipment of membrane separation (b) overall diagram

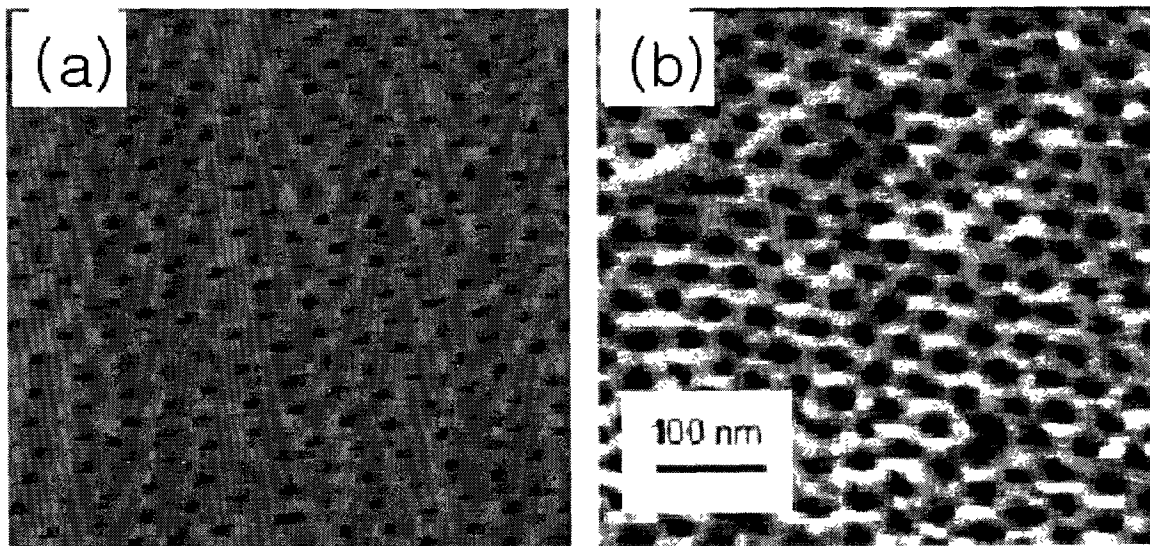


Figure. 2. Phase contrast AFM images of the surface of a mixture of PS-*b*-PMMA with 10% added PMMA10 homopolymer, (a) the thin film after selective removal of the PMMA homopolymer, and (b) the thin film after removal of all the PMMA in the copolymer and added homopolymer.

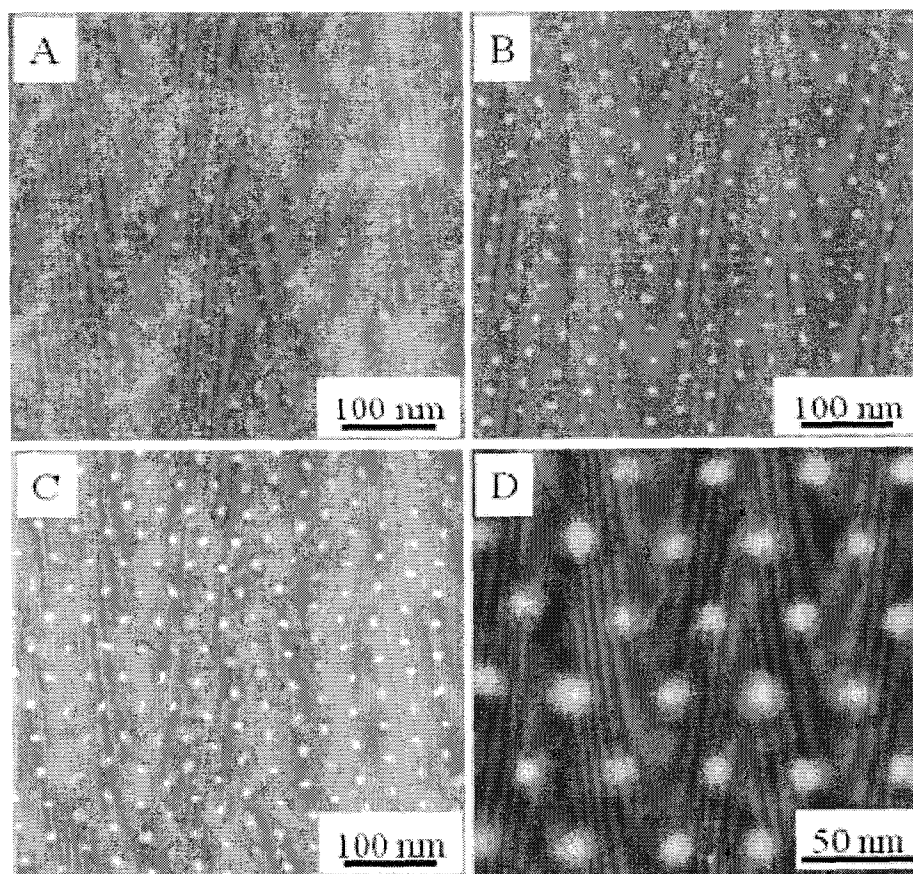


Figure 3. TEM images of PS-b-PMMA diblock copolymer films with the cylindrical microdomains oriented normal to the surface of the film as a function of exposure time to ozone followed by annealing at 170°C for 4h in vacuum oven. The films were floated onto the surface of a 5% HF solution, transferred to copper grid, and stained with RuO₄. A) 10min , B) 30min, C)60min ozone exposure, D) out of focus TEM image of 60min exposed sample without staining. The boundary of PMMA domain with PS block is easily observable and the bright spots indicate nanosized holes in the center of the PMMA microdomains.

3-2. 박막의 두께를 300nm 정도까지 증가시키고 기공은 기질까지 생성

Random brush를 이용해 substrate의 표면장력을 조절하면 표면에 대해 수직으로 배향된 hexagonal packed cylinder 블록 공중합체의 self-assembled thin film을 얻을 수 있다. 일반적으로 음이온중합을 통해 얻어진 PS-PMMA의 경우 $1L_0$ (~30nm)이상에서는 hexagonal packing의 정도가 매우 나빠짐을 쉽게 확인할 수 있었다. 이는 음이온 중합을 통한 블록 공중합체는 전체적으로 tacticity가 syndiotactic으로 Tg가 약 165°C인데 반해 ATRP의 방법을 통해 중합된 블록 공중합체는 isotactic으로 Tg가 30°C정도 감소한다. 이는 ATRP를 통한 공중합체의 mobility가 훨씬 뛰어남을 의미하며 이는 보다 높은 두께에서도 good hexagonal packing을 관찰할 수 있는 것으로 증명된다. 실험에서는 300nm정도까지는 good packing이 확인되었다. (Figure 4, 5)

여기에 PMMA homo polymer를 블록공중합체에서 PMMA가 차지하는 portion에 대한 적절한 분자량을 택하여 첨가하게 되면 homo polymer가 일종의 지지대 역할을 하면서 수직배향을 더욱 도와주는 것으로 생각된다.

3-3. 블록공중합체 분리막 제조

1) Floating 방법에 의한 분리막 제조

분자량 89,000 g/mol인 polystyrene-block- poly(methyl methacrylate) [PS-b-PMMA]을 toluene에 녹여 1 wt%의 solution을 만든 후 100nm의 SiO₂가 증착된 Si wafer에 spin coating하였다. 그런 다음 wafer를 Tg 이상의 온도인 170°C의 vacuum oven에 넣고 24시간 annealing 하였다. 이 때 블록공중합체의 자기조립 성질에 의하여 nano-sized micro structure가 형성된다. 그리고 Hydrofluoric acid(HF)에 wafer를 담궈서 실리콘 기질의 산화층을 에칭시켜 thin film을 floating시키고 1 μm 기공을 가진 sulfone계열의 membrane을 support material로 film을 얹어서 nano structure를 가진 membrane을 제조하였다. nano-sized cylindrical pore를 제조하기 위해 membrane에 UV를 90분정도 조사시킨다. 그러면 PS 부분은 경화가 일어나고 PMMA부분은 degradation이 일어나 Acetic acid에 60분정도 담궈 두면 선택적으로 PMMA 부분만 제거하여 우리가 원하는 nano porous membrane을 얻을 수 있다. 아래 Figure 6은 실제 완성된 membrane의 사진과 표면의 SEM image를 나타내었다.

2) 기공 면적 향상을 통한 flux 증가

제조된 membrane의 효율을 파악하기 위해 membrane의 중요한 특성 중 하나인 유출수(permeate)의 flux를 측정하는 실험을 수행하였다. 실험의 비교대상으로는 cylindrical pore를 가지고 track-etched method로 만들어진 Polycarbonate membrane (Whatman)으로 선정하였고 stirred cell(Amicon)을 이용하여 3차 증류수를 가지고 실험하였다. 운전조건은 500rpm으로 고정시켜 mixing 하였고 flux의 차이로 인해 0.1bar(PS-b-PMMA membrane)와 0.5bar(polycarbonate)에서 실험하였다. 실험방법에서 설명한 조건으로 제조한 PS-b-PMMA membrane (diameter : 15nm, thickness:70nm)과 상업적으로 시판되는 Polycarbonate(diameter : 30nm, thickness:10μm)의 SEM image를 그림 1에 나타내었다. Figure 7에서 보는 바와 같이 기공면적에서 약 10배 이상의 차이를 보이고 있다. Figure 8의 초순수를 이용한 flux 실험에서는 polycarbonate membrane과 PS-b-PMMA membrane의 평균 flux 값이 각각 16.2 L/m² hr, 202 L/m² hr 로 압력과 flux의 비례관계를 적용하면

동일한 압력하에서는 500배 이상의 flux를 보였다. 이러한 큰 flux향상은 표면 기공율과 membrane의 두께차이에 의한 것으로 판단된다.

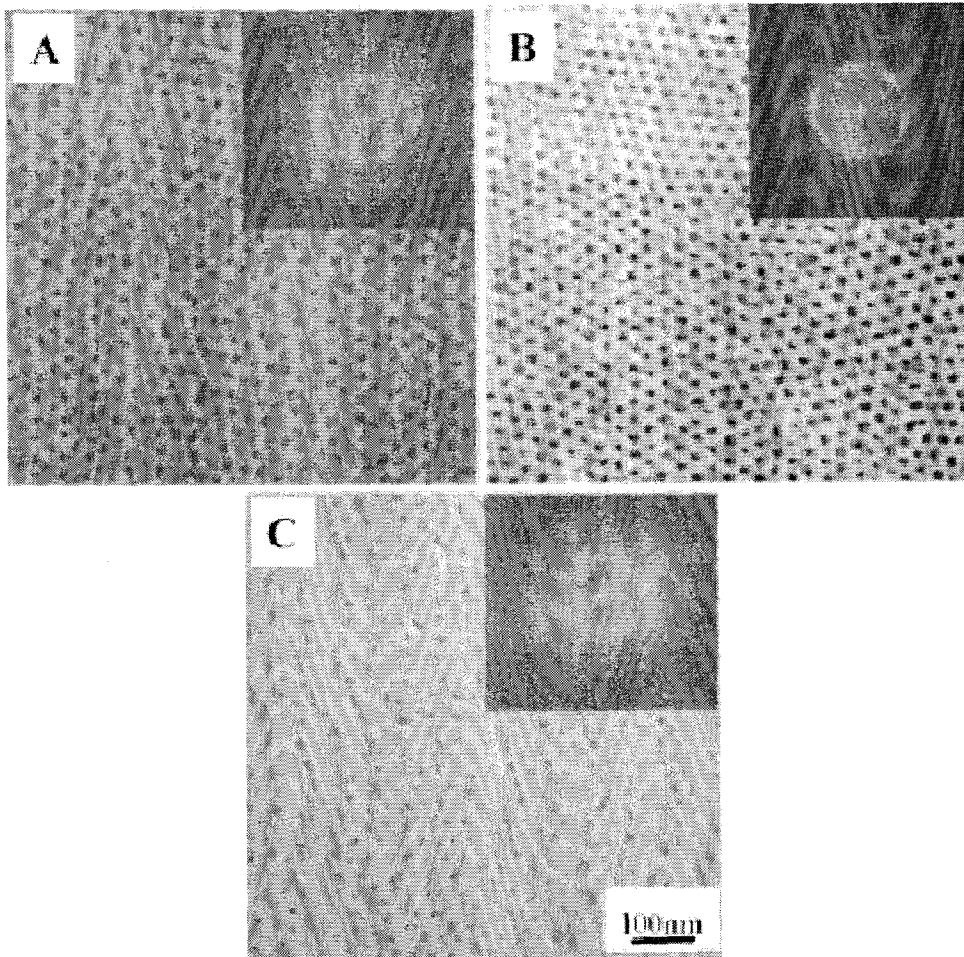


Figure 4. SEM micrographs of thin film mixtures of PS-PMMA(ATRP)/PMMA19 for three different values of A) 91nm, B) 278nm, C) 329nm. All Samples were annealed at 150°C for 2days. All PMMA phases were etched using UV.

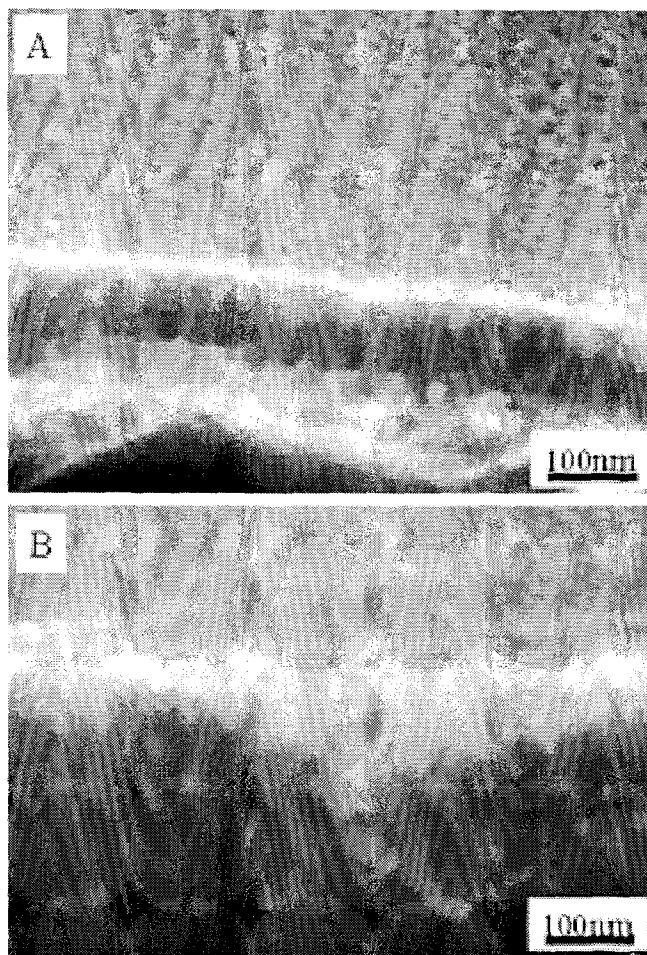
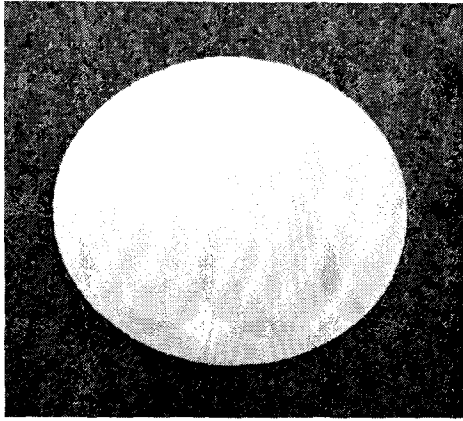
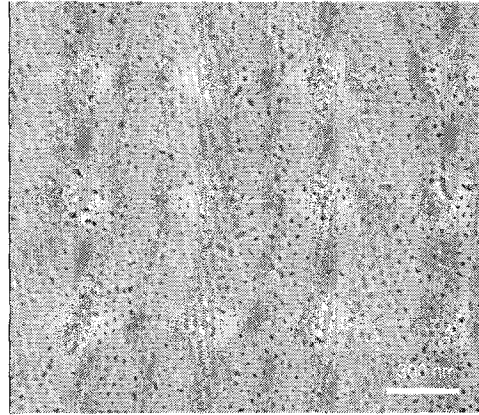


Figure 5. Cross-sectional SEM images for mixtures of PS-PMMA(ATRP)/PMMA19 at two different film thicknesses: A) 92nm and B) 329nm. All PMMA phases were etched using UV.



(a)



(b)

Figure 6. (a) 25mm disc membrane made by depositing the thin film of PS-PMMA on the porous support material. (b) SEM image of the PS-PMMA membrane. (average pore size : ~15nm)

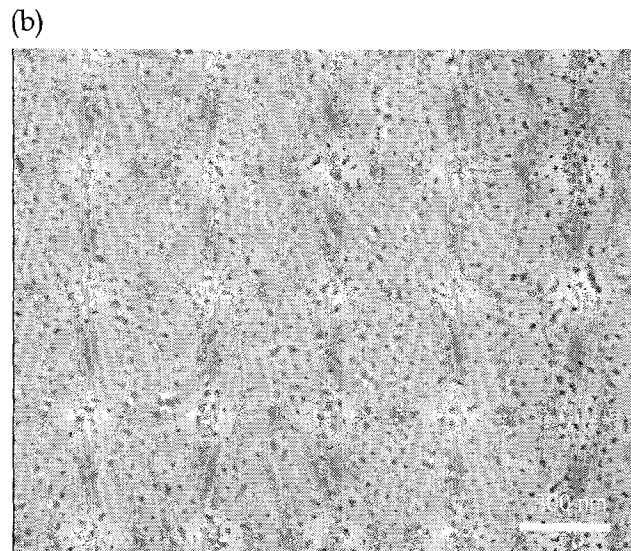
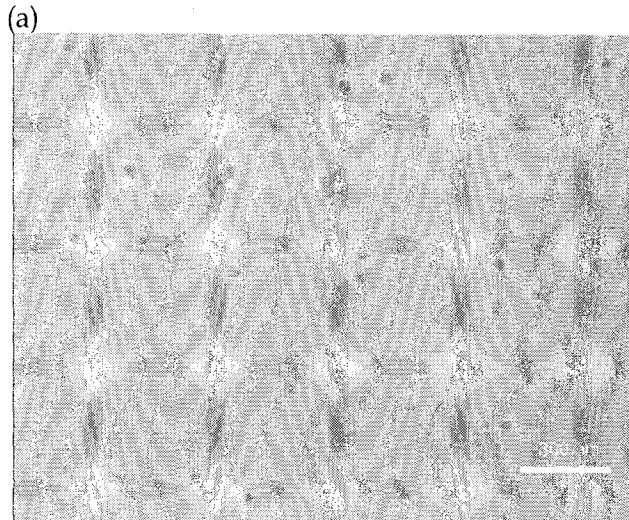


Figure 7. Scanning electronic microscopy image of (a) Polycarbonate membrane (b) PS-PMMA block copolymer membrane

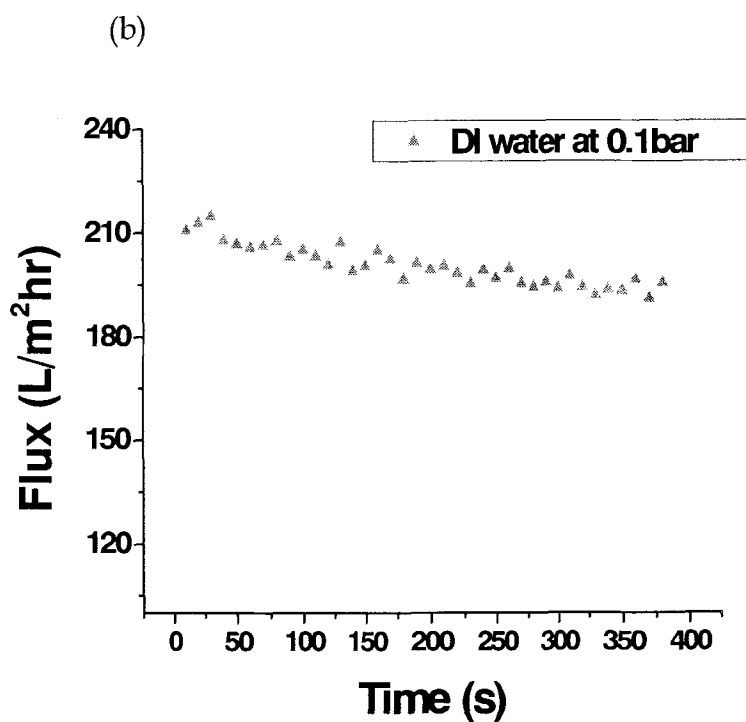
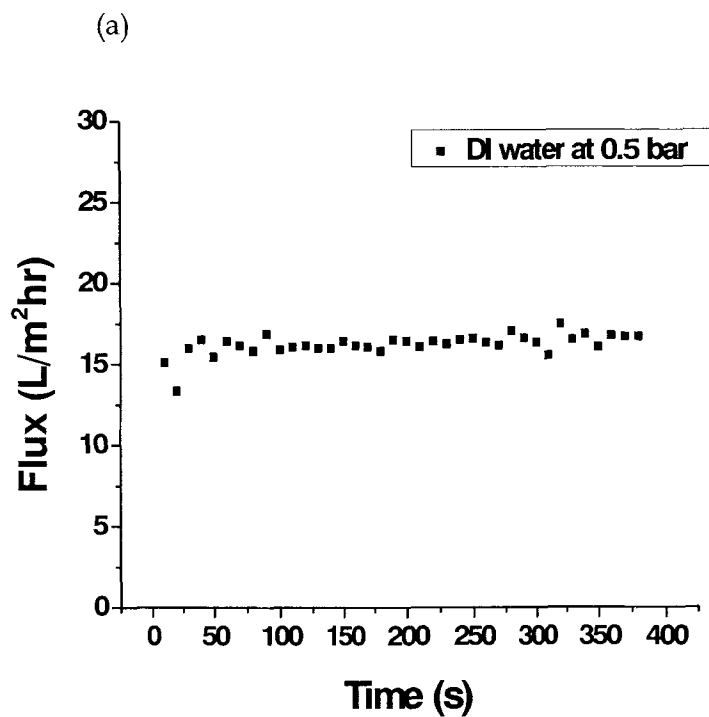


Figure 8 . DI water Flux data of (a) Poly carbonate membrane and (b) PS-b-PMMA membrane

3) Bio-material 분리 실험

나노 분리막의 분리능을 알아보기 위해서 human rhinovirus 14(HRV 14)이라는 bio-material을 이용하여 실험하였다. HRV 14은 일반적인 감기 virus로 구형의 정 20면체 구조로 이루어져 있으며 직경 28-30nm의 크기를 가진다. [14, 15] Figure 9에 virus image를 나타내었다. 막 실험 조건은 상온에서 stirred cell을 이용하여 500rpm으로 mixing하였고 0.1 bar의 낮은 압력으로 운전하여 virus와 membrane의 변형을 최소화하였다. 나노 분리막은 앞서 설명한 조건으로 제조하였고 실험도중 virus의 오염을 막기 위하여 실험장치는 미리 autoclave를 하여 멸균하였다. virus 농도는 1.4×10^6 PFU(plaque forming unit)로 실제 virus particle은 약 200배의 PFU가 있다고 판단된다.[14] Figure 10에 virus 분리실험을 한 후 vacuum oven으로 건조한 후 SEM image를 찍은 사진을 나타내었다. 그림에서 알 수 있듯이 약 30nm 크기의 입자들이 표면에 걸려진 모습을 확인할 수 있다. 분리효율은 Plaque assay 방법을 이용하여 실시하였는데 막자체의 pore distribution으로 인하여 다수의 virus의 투과로 낮은 분리능을 보였다. 하지만 block copolymer pore 크기조절을 통하여 선택적으로 nano size의 bio-material(virus, protein and enzyme)을 분리할 수 있을 것이라 판단된다.

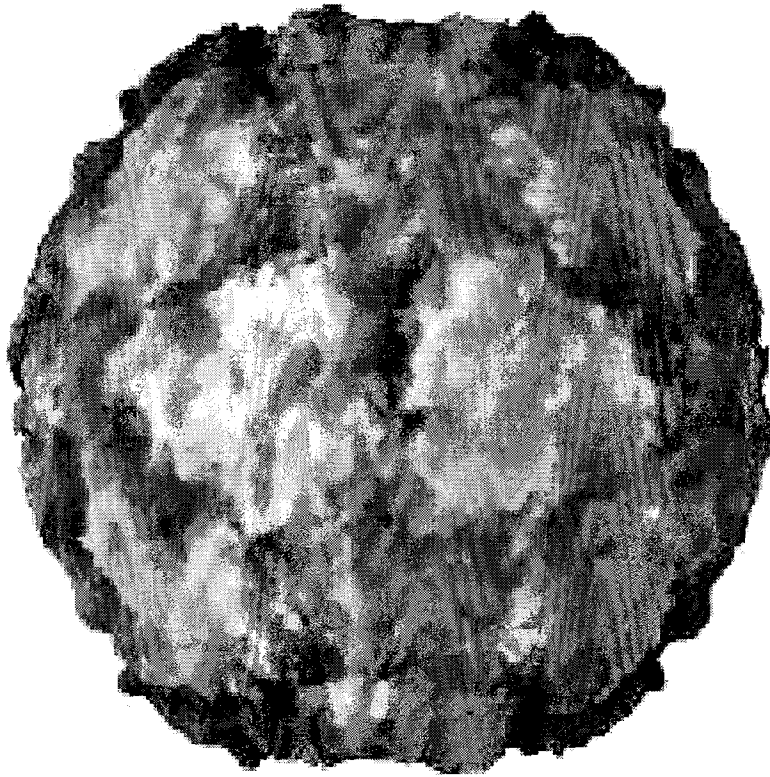


Figure 9. X-ray crystallography image of human rhinovirus 14.

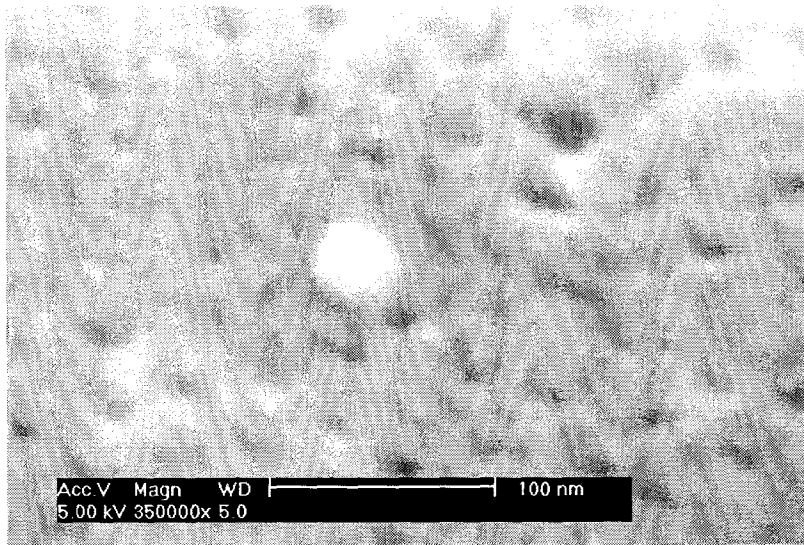
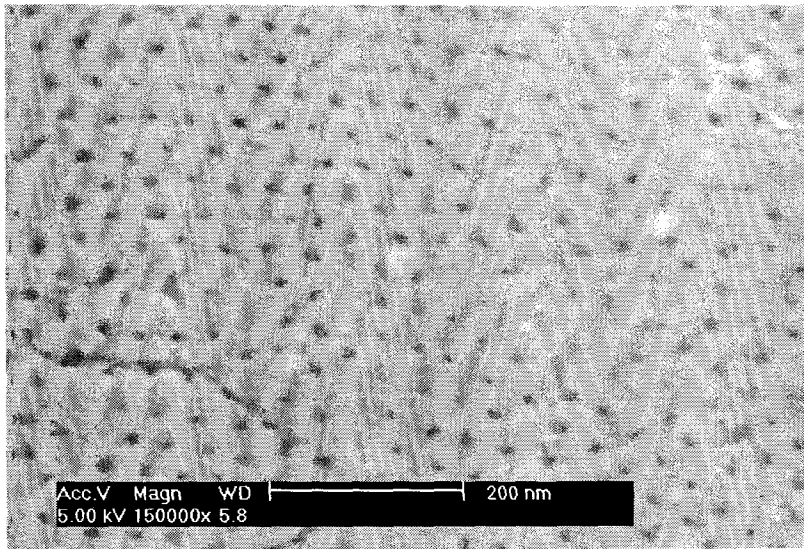


Figure 10. Scanning electronic microscopy image for human rhinovirus 14 on the PS-b-PMMA membrane which have average 15nm pore.

3-4. 생체막, 고분자에서의 전기적 효과

전기장에 의한 천공과 세포융합

생체막에 강한 펄스형 전기장(pulsed electric field)을 걸어주면 막 상에 기공(pore)이 생겨나고, 이러한 조건의 두 막은 융합하게 된다. 이온용액에 기공 반경 R 을 가진 두막이 거리 D 에 있다고 가상하여 전기융합에 대한 전자기적 모형을 개발하였다. 이를 통하여 막 표면 전하와 전해질 용액의 조건에 따라 융합에 이르는 경로($D \rightarrow 0, R \rightarrow \infty$), 즉 이를 에너지 전경(energy landscape)상에서 (Figure 11, 12), 융합의 경로가 되는 계곡(valley)이 존재함을 알 수 있었다. 또한 이 과정은 막 주변의 전해질의 농도(혹은 λ_D)에 강하게 영향을 받음을 알 수 있었다.

Stochastic Resonance in Pores

Ion 기공에 외부 전기장을 주기적으로 걸어 주었을 때 계에 기공 개폐에 내재하는 열적요동이 미치는 협동현상인 Stochastic Resonance(SR)에 대한 MC simulation을 하였다. thermal noise의 효과를 보기 위해서 Kramer rate와 같은 형식이나 온도에 의존하는 rate를 construct하였다. 기공을 통과하는 전류의 signal to noise ratio(SNR)이 적절한 생체 온도에서 peak를 이루는 SR을 발견하였다. (Figure 13)

3-5. DNA 염기 배열 효과에 의한 형상 및 열적 내구성 고찰

통계적 관점에서 DNA는 열적 요동에 의해 상온에서 완벽한 이중 나선 구조체로 존재할 수 없다. Figure 14. 과 같이 염기쌍(base-pairing)들은 부분적으로 깨져서 고리(bubble)의 형상을 만들게 되며 임계온도(T_c , denaturation temperature) 이상에서 DNA는 두 가닥의 single-stranded DNA로 분리된다[Figure 14]. 그런데 DNA를 구성하는 네 가지의 염기(A, T, G, C)는 짝을 이룰 때 반드시 A-T와 G-C로만 붙어있게 되며 이 때 binding strength는 G-C pairing이 A-T pairing에 비해 대략 1.5 배 강하다. 따라서 DNA의 염기 배열의 순서에 따라 Figure 14. 같은 온도 효과에 의한 이중나선구조의 깨짐은 다르게 나타나게 된다.

Polymer를 연구하는 데 잘 알려진 Edwards 방정식으로부터 전술한 효과를 적절히 묘사할 수 있는 Fokker-Planck 방정식과 Langevin 방정식을 유도했고 이를 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

DNA의 염기서열이 무작위로 주어졌다고 가정할 때 임계온도는 DNA에 포함되어 있는 G-C pairing의 비율에 정비례한다. 이는 이중 나선 구조의 열적 내구성이 염기서열 안의 G-C양에 따라 민감하게 변화함을 말해주고 있으며 이는 실험적 사실과 일치한다. (Figure 15.)

만약 염기의 배열이 완전히 무작위적이지 correlation effect가 존재한다면 온도에 따른 bubble의 크기분포(bubble size distribution)는 염기서열의 효과가 없는 DNA(homogeneous DNA)와 비교하여 달라진다. Figure 16. 은 대략 5만개의 염기로 이루어진 인간 염색체 1의 일부분이 310K에서 보여주는 bubble size distribution으로서 완전히 무작위인 DNA의 그것과 다르다는 것을 확인할 수 있다. 또한 우리가 염기서열의 correlation effect를 exponential decay로 모델한다면 (즉, 임의의 base-pair i 와 j 사이의 sequence correlation이 $\exp(-|i-j|/\xi)$ 으로 기술되고 이때 ξ 를 correlation length로 정의함.) 온도가 A-T 염기쌍으로만 만들어진 DNA의 임계온도에 가까워질수록 correlation

length(ξ)보다 크기가 큰 bubble들은 염기서열의 효과가 없거나 완전히 무작위로 배열되어 있는 DNA에 비해 현저히 많이 나타나게 된다.[Figure 17. 참조]

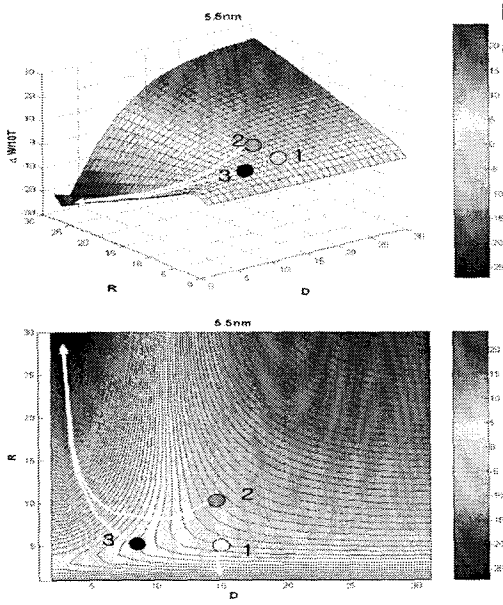


Figure 11.

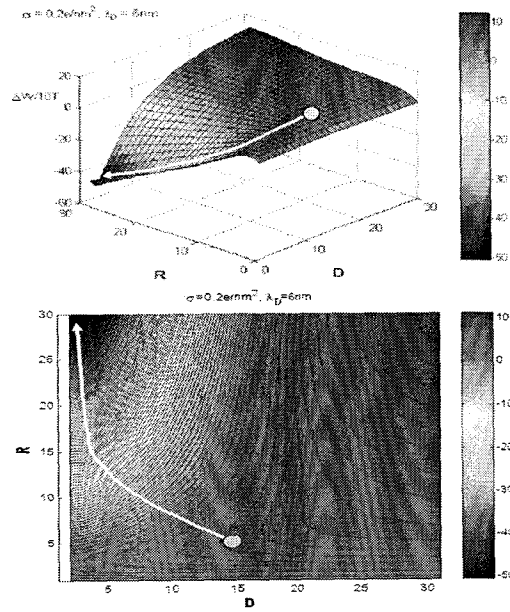


Figure 12.

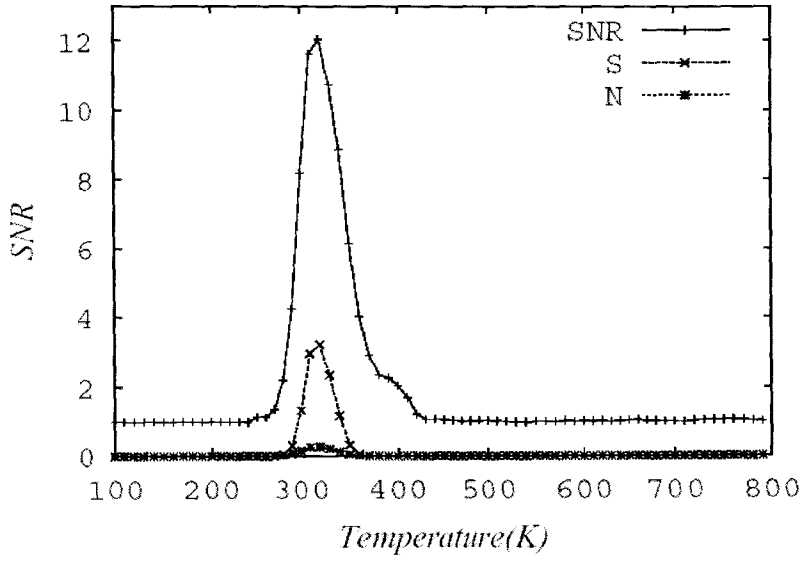


Figure 13

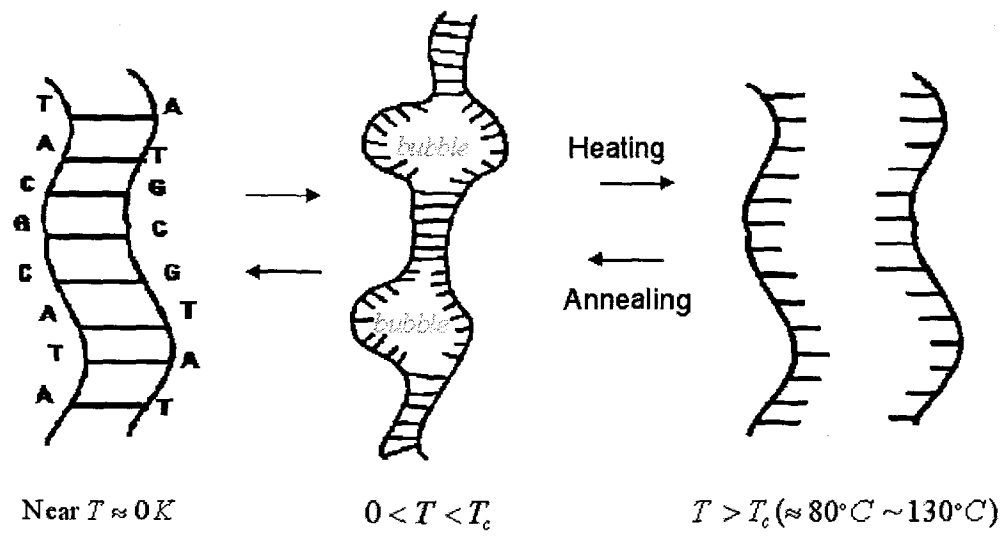


Figure 14. 온도에 따른 DNA의 형상의 변화

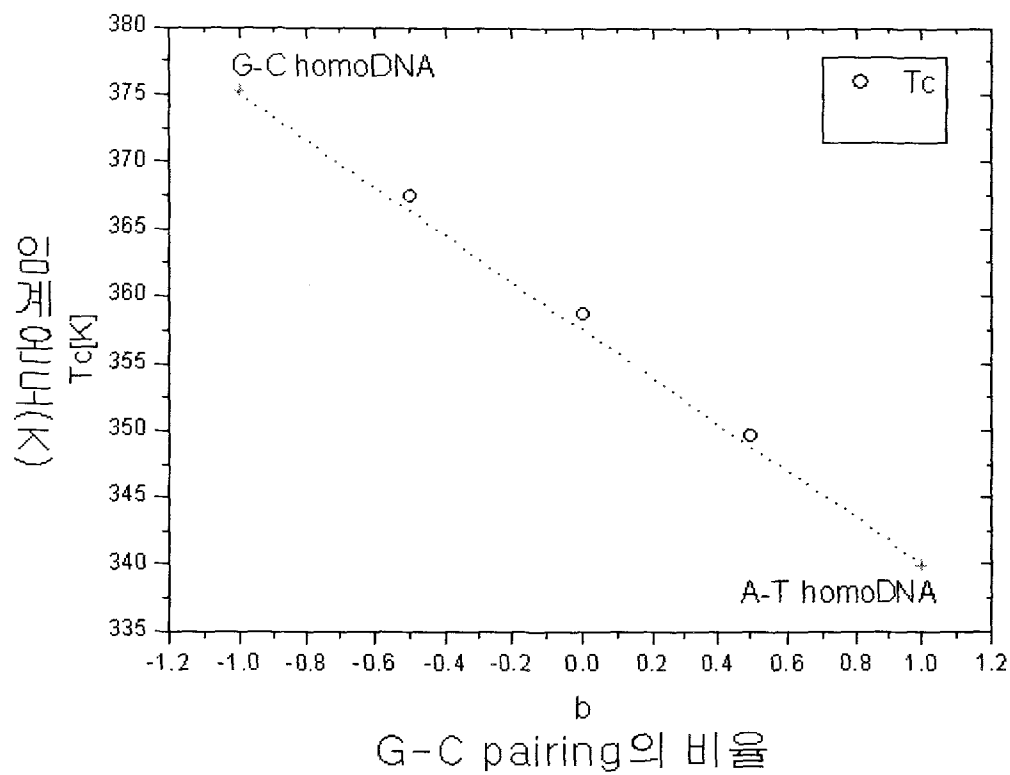


Figure 15. G-C pairing의 비율에 대한 임계온도의 변화

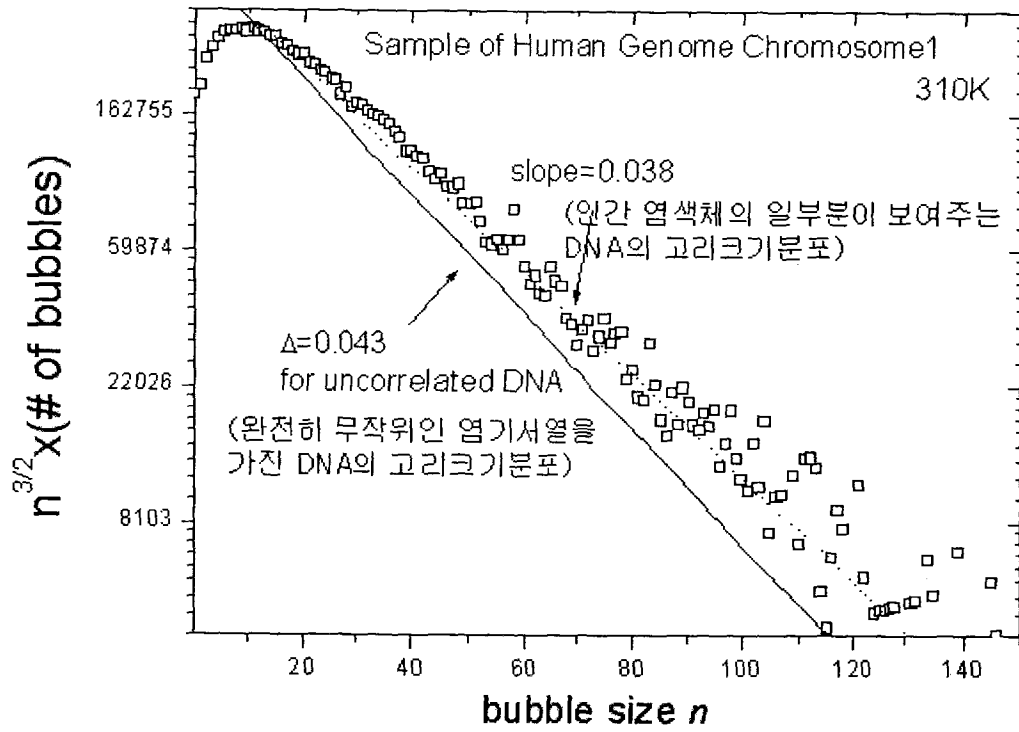


Figure 16. 인간 염색체의 일부분이 보여주는 고리크기분포

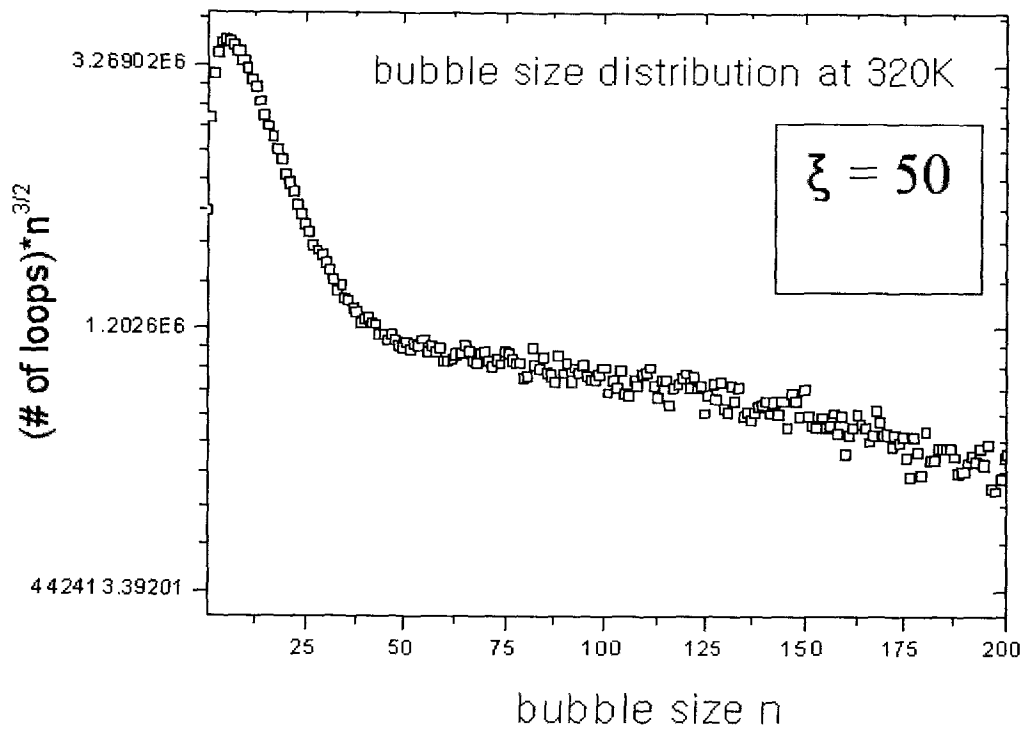


Figure 17. sequence correlation 효과에 의한 고리크기분포

3-6. DNA의 stiffness 효과에 의한 DNA 형상과 동역학 대한 고찰

여기서는 열적 요동에 의한 이중나선구조체(double helix)의 형상 변화와 열적 내구성(thermal stability)에 대해 DNA의 chain stiffness의 역할을 연구했다.[Figur 14] 여기서 DNA는 유연한 사슬이 아니라 뻣뻣한 사슬을 적절히 다룰 수 있는 wormlike chain model로 기술했고 이를 가지고 여러 조건에서 Brownian Dynamics Simulation을 해보았다.

Figure 18. DNA의 persistence length(l_p , DNA의 뻣뻣함을 나타내는 길이)의 변화에 따른 melting curve를 나타낸 것이다. 여기서 θ 는 order parameter를 나타내며 DNA의 전체 염기쌍(base-pair) 중에 열적 요동에 의해 깨어지지 않은 염기쌍의 비율을 의미한다. 보는 바와 같이 DNA는 chain stiffness 효과에 의해 유연한 사슬의 경우($l_p=5[A]$)과 다르게 임계온도($\theta=0$ 일 때의 온도) 근처에서 급격히 이중나선구조가 깨지고 두 가닥의 single-stranded DNA로 분리됨을 볼 수 있다. 뿐만 아니라 임계온도가 persistence length에 매우 민감함을 볼 수 있고 이것은 DNA의 열적 내구성에 대해 DNA의 chain stiffness가 큰 역할을 하고 있음을 보여준다.

임계 온도 아래에서 열적 요동에 의해 발생하는 bubble의 크기 분포(size distribution)는 Figure 19와 같다. 결과에 따르면 bubble size distribution은 bubble의 크기를 n 이라 할 때 $\exp(-n\Delta)/n^a$ 에 비례함을 의미하며, 이는 관련분야의 다른 연구들의 예측과도 잘 맞는다. 이 때 a 값은 bubble상태가 가지는 entropy양과 관련이 있다. 우리의 결과에 따르면 DNA의 뻣뻣함에 의해 a 는 유연한 사슬일 때의 값1.5로부터 증가하여 대략 1.7의 값을 갖게 된다. 이는 DNA의 뻣뻣함에 의해 유연한 사슬일 때에 비해 열적 요동에 의한 bubble이 상대적으로 덜 발생함을 의미한다.

마지막으로 bubble의 lifetime에 대해서 고찰했다. Lifetime은 bubble이 열리는 시간(opening time)과 닫히는 시간(closing time)의 합으로 정의하며 bubble의 크기에 따른 lifetime의 분포는 Figure 20. 과 같다. 보는 바와 같이 bubble의 lifetime은 그것의 크기에 대해 비선형적으로 급격히 증가하고 있다. 이는 열적 요동에 의해 우연히 발생한 커다란 bubble의 경우, 작은 크기의 bubble에 비해 오랫동안 그 상태를 유지함을 의미하며 이런 특징은 DNA 전사(transcription)나 복사(replication)과정에서 bubble을 주관하는 효소들(enzyme)에 의해 실제로 유용히 이용될 수 있음을 추측해볼 수 있다.

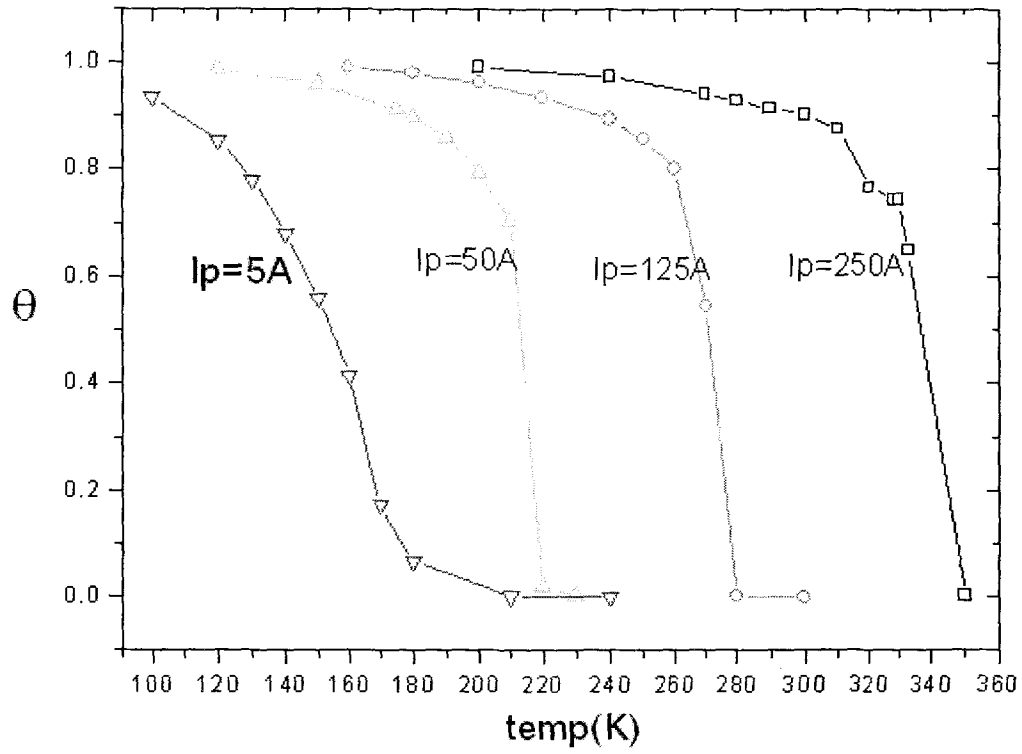


Figure 18. Persistence length의 변화에 대한 melting curve

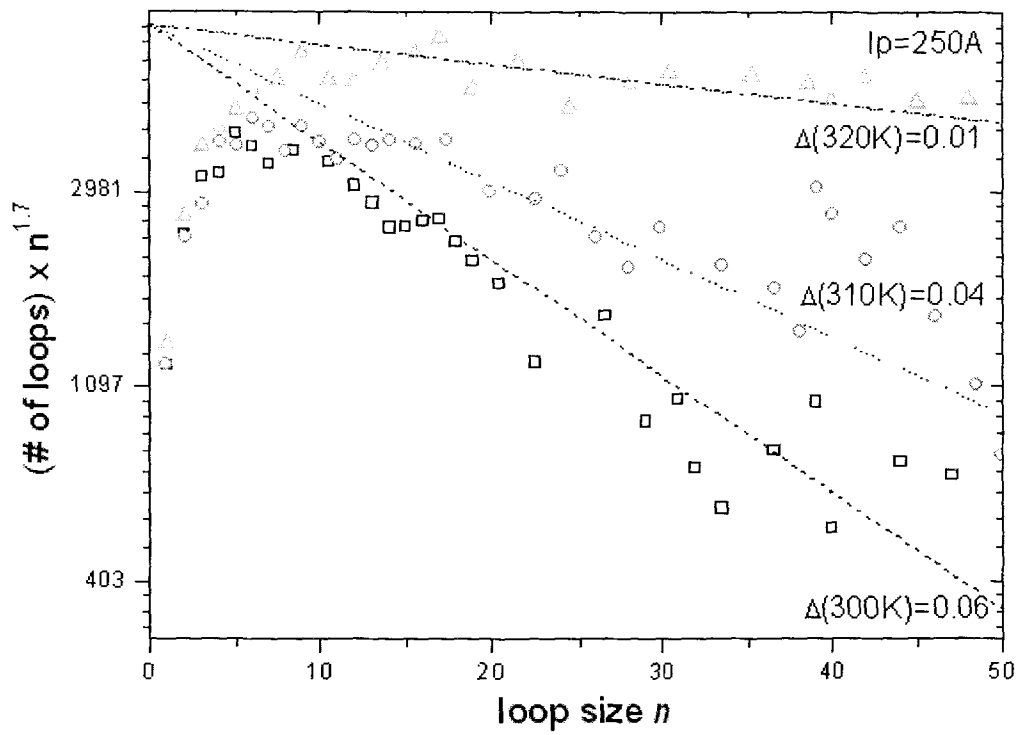


Figure 19. 온도 변화에 대한 고리크기분포(bubble size distribution)

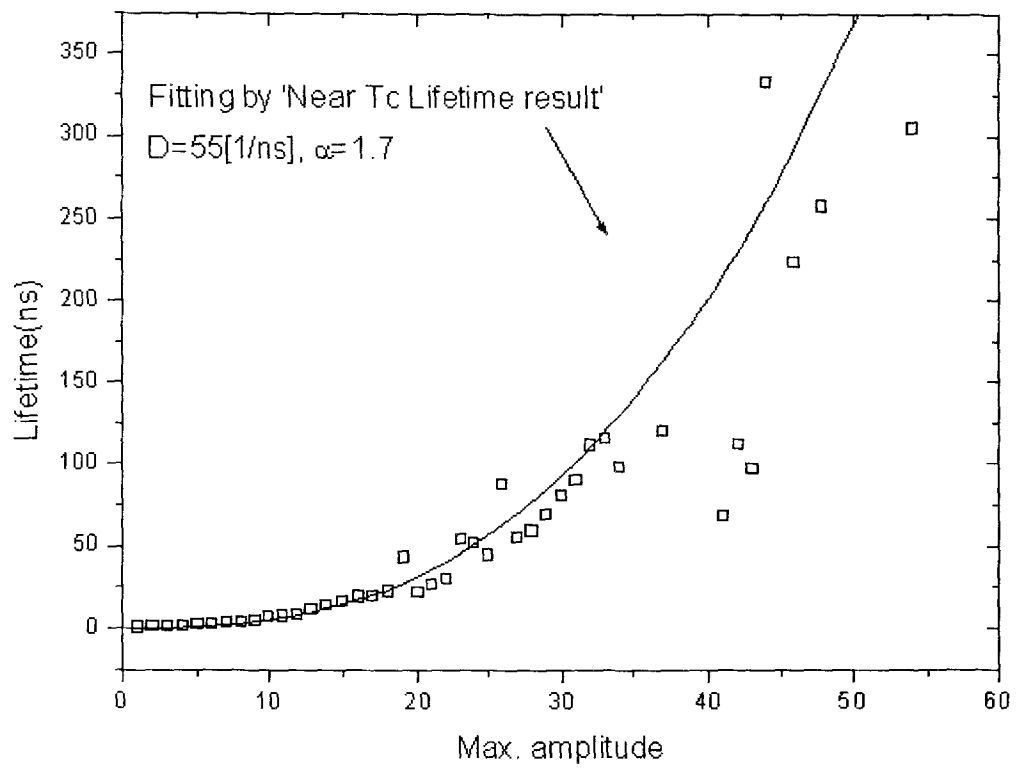


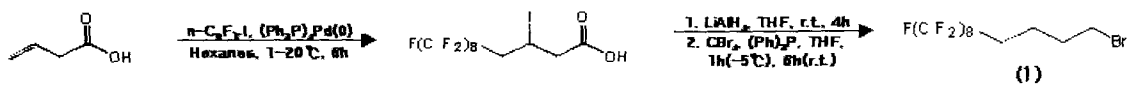
Figure 20. bubble의 크기에 대한 bubble의 lifetime 분포

3-7. 기능성 단백질 분리를 위한 유기초분자 제조 및 hexagonal 형태의 나노구조 형성

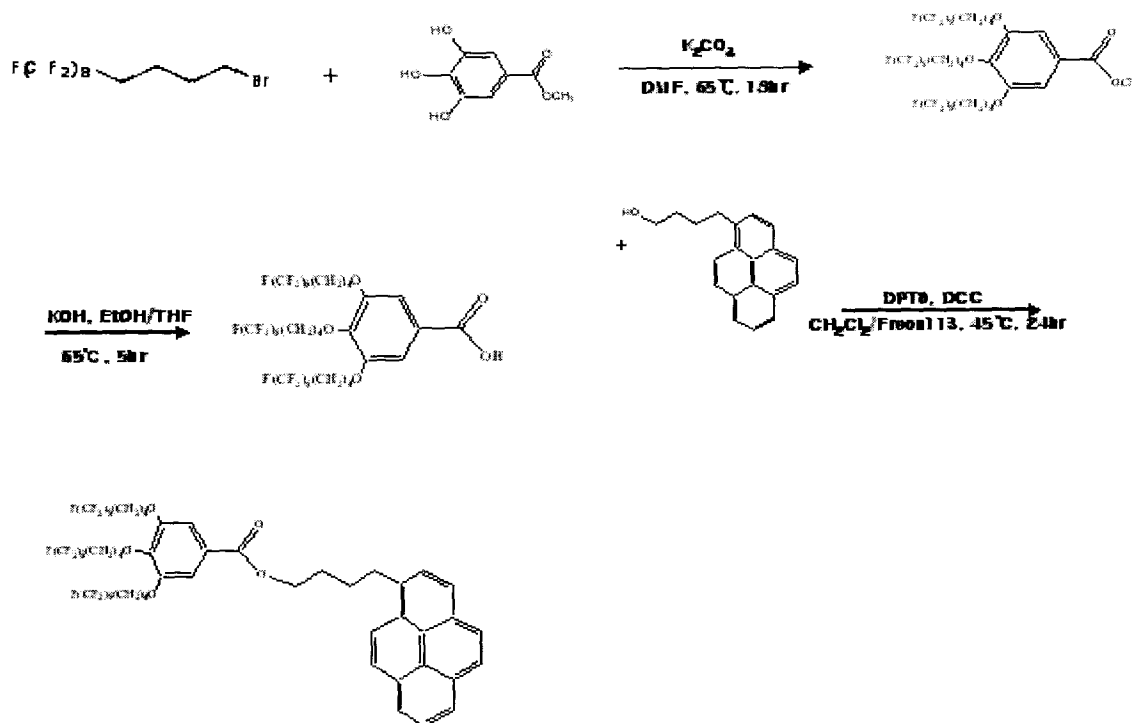
Hexagonal columnar의 형태의 나노구조체로 자기조립(self-assembly)을 유도하기 위해 아래의 Figure 21. 같이 fluorinated side chain을 갖는 taper 형태의 유기초분자, Pyrenebutyl3,4,5-Tris[p-n-5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,12,12-heptafluorododecan -1-yloxy] benzoate를 합성하였다. Perhydrogenated $[(CH_2)_m]$ segments와 perfluorinated $[F(CF_2)_n]$ segments의 비가 $4/8(m/n)$ 인 semifluorinated alkyl bromides (1)는 불소분자와 탄소분자와의 미세분리 현상이 뛰어나다는 사실에 착안하여 분자구조를 디자인 하였으며, 디자인된 분자의 합성과정은 Figure 21. 과 같다..

합성된 중간 물질들과 target 물질은 NMR spectroscopy로 확인하였으며, 최종적으로 합성된 시료가 예상했던 바와 같이 hexagonal cylinder 형태의 구조를 형성하는지 알아보기 위해, SEM, TEM, POM 실험과 AFM실험을 수행하였다.

Figure 22. 와 같은 POM texture를 통해, hexagonal cylinder임을 예상하였고, 부가적으로 위 유기초분자를 실리콘 웨이퍼 상에 spin-coating 방법을 사용하여 박막을 형성한 뒤 Ruthenium tetroxide(RuO_4)를 이용하여 core를 staining한 후 AFM과 SEM 실험을 수행하였다. Figure 23. 및 Figure 24. 는 각각의 SEM, AFM 결과를 나타되며, 본 결과 통해 기판 상에서 hexagonal 형태의 나노구조체가 수직방향으로 배향 하는 것을 확인하였다. 이 연구결과는 향후 단백질 분리를 위한 필수적인 연구결과에 해당한다.



Scheme 1



Scheme 2

Figure 21 Synthetic scheme of designed supramolecule



Figure 22. POM image of this supramolecule at 32.2°C

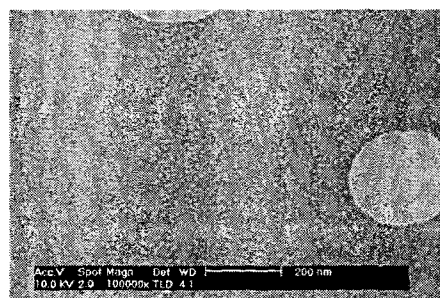


Figure 23. SEM image of spin coated thin film on the wafer

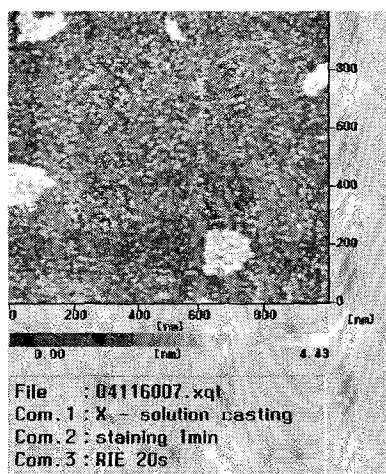


Figure 24. AFM image of this supramolecule by contact mode

3-8. 덴드리머와 하이퍼브랜치 고분자기공 형성방법

나노 분리막을 제조하기 위해 덴드리머나 하이퍼브랜치 고분자를 이용하는 접근 방법은 다음과 같다. 우선 덴드리머나 하이퍼브랜치 고분자와 같은 확장 가지형 나노 입자를 적당한 크기로 준비한 후 그 말단 그룹을 카르복시산으로 전환한다. 가교가 가능한 비닐 작용기를 가지는 유기 분자를 쉽게 가수 분해가 가능한 에스터 그룹 등을 통하여 확장 가지형 고분자 나노 입자에 결합시킨다. 따라서 이제 말단에는 빛이나 열에 의하여 가교가 가능한 비닐 작용기가 많이 존재하게 되고 이 들은 필름 형성 후에 적당한 방법으로 가교 하여 기계적 강도가 우수한 막을 제작한다. 다음으로 지지체와 확장 가지형 고분자 나노 입자 사이의 연결 부분인 에스테르를 가수 분해 등을 통하여 분해한 후 확장 가지형 나노 입자를 적당한 용매를 이용하여 추출한다. 이제 막에는 치밀한 지지체 가교 구조와 확장 가지형 나노 입자가 존재하던 자리에 있던 기공이 존재하고 이 기공의 표면에는 가수 분해 결과 생성된 하이드록시기가 존재하고 있다. 이 하이드록시 그룹에 단백질의 리간드로 사용되어질 triazine 작용기를 화학적 방법으로 결합시키면 단백질 분리막은 완성된다. 기공의 크기는 사용한 확장 가지형 고분자 나노 입자의 크기에 따라 결정되고 리간드의 수도 나노 입자의 말단 그룹에 따라 정하여 진다.

기존에 상업적으로 널리 알려진 덴드리틱 지방성 폴리 에스터는 Perstorp사에서 Boltorn H20, H30, H40 이라는 상품명으로 시판되고 있다. 이러한 폴리머는 bis-MPA(AB_2 모노머)를 acid 촉매하에 core molecule을 첨가하여 pseudo-one step 방법으로 만들어 지고 있다¹. 그러나 중합과정 중 생기는 etherification과 같은 부반응으로 인해 높은 분자량의 덴드리틱 지방성 폴리 에스터의 합성이 힘들고 core molecule 없이 반응 진행시 젤이 형성되는 단점이 있다. 이에 비해 본 연구에서 쓰이는 $HfCl_4(THF)_2$ 촉매는 이러한 부반응이 없기 때문에 구조가 제어된 덴드리틱 지방성 폴리 에스터의 합성이 가능하다. 따라서 1차년도 연구에서는 기존에 에스터 결합을 갖는 유기물을 높은 효율로 얻을 수 있다고 발표가 된 $HfCl_4(THF)_2$ 촉매를 사용하여 bis-MPA(AB_2 모노머)를 core molecule 없이 one step으로 에스터 결합을 함유하는 덴드리틱 지방성 고분자를 만들었다.

본 2차년도에서는 덴드리틱 고분자의 또 다른 합성 방법인 A_2+B_3 approach³로 덴드리틱 지방성 폴리 에스터를 합성하고자 한다. 여기서 소개될 A_2+B_3 approach는 A_2 와 B_3 모노머를 중합하여 one step으로 soluble한 덴드리틱 고분자를 얻는 방법으로 AB_m type 모노머의 합성 없이도 손쉽게 상업적으로 판매하고 있는 A_2 와 B_3 모노머를 써서 덴드리틱 고분자의 합성이 가능하다는 이점이 있다. 기존에 알려진 바에 의하면 A_2+B_3 approach는 젤화 현상이 일어난다고 잘 알려져 있지만 젤화 현상이 일어나기 전에 침전이나 end capping을 통하여 중합을 중단시키면 원하는 덴드리틱 고분자의 합성이 가능하다. 뿐만 아니라 Figure 25. 에서 보는 바와 같이 A_2 와 B_3 모노머의 비율을 조절하여 end 그룹의 작용기를 바꿔줄 수 있다.

중합은 Figure 26. 에서 보는 바와 같이 두개의 카르복시산을 함유하는 Succinic acid (A_2 모노머)와 세 개의 하이드록시기를 함유하는 1,1,1-Tri(hydroxymethyl)ethane (B_3 모노머)를 $HfCl_4(THF)_2$ 촉매(2mol%)하에 150°C로 진행하였으며 중합 중 생성되는 부산물인 물을 제거하기 위해 o-Xylene을 넣어주었다. 젤화현상을 막기 위해 2시간 전에 반응물을 물에 침전시켰으며 각각 A_2 와 B_3 모노머 비율을 조절하여 각각 end 그룹이 하이드록시기($N_A < N_B$) 그리고 카르복시산($N_A > N_B$)인 덴드리틱 지방성 폴리 에스터를 합성하였다. Figure 27. 의 ¹H NMR 스펙트럼으로 덴드리틱 지방성 폴리 에스터의 end 그룹(-OH, -COOH) proton peak을 직접적으로

확인할 수 있다.

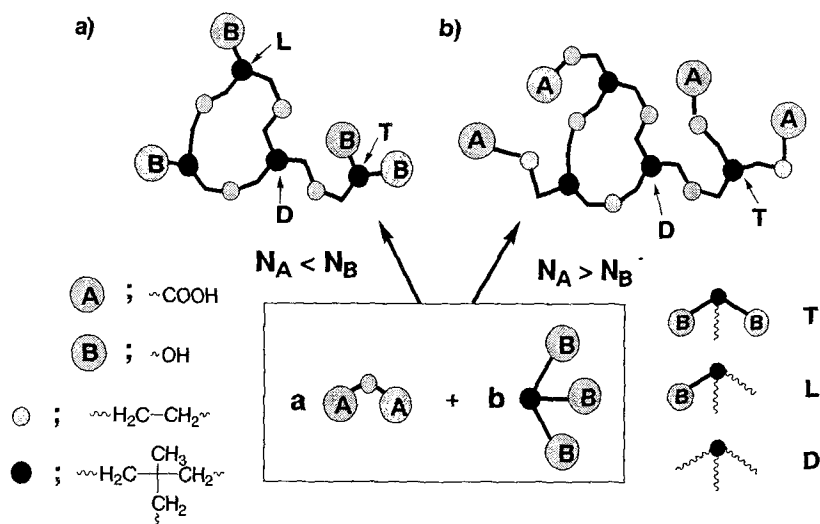


Figure 25. A_2+B_3 approach

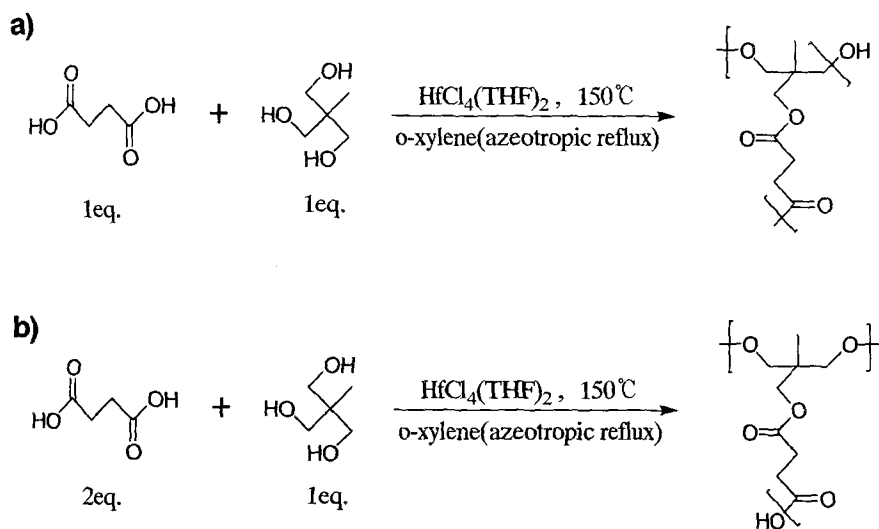


Figure 26. Synthesis of dendritic aliphatic polyesters via A_2+B_3 approach

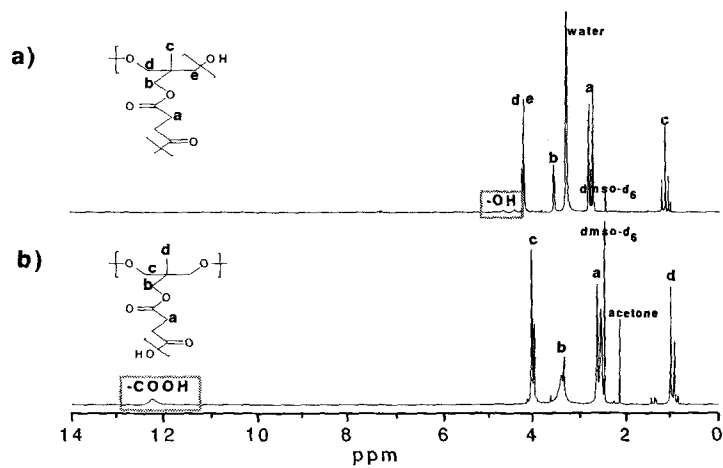


Figure 27. ^1H NMR spectra of synthesized polymers (DMSO- d_6 δ 2.49)

4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 연구개발목표의 달성도

목 표	달성도(%)	내 용
나노구조의 수직배향 및 균일한 크기의 기공형성	95	-PS-PMMA 블록공중합체 실린더 상의 수직배향 -에칭 및 오존 경화수축에 의한 기공형성 -Breath Figure에 의한 기공형성
기공의 Aspect ratio를 10:1 까지 증가	95	박막의 두께를 300nm 정도까지 증가시키고 기공은 기질까지 생성한다.
블록공중합체 말단에 관능기가 있을 때 나노구조 형성 메커니즘 규명	95	말단기에 의한 무질서-질서 전이온도 변화 및 나노구조 형성
블록공중합체 분리막 제조	100%	Floating 방법에 의하여 분리막 제조 후 특성 평가

2. 관련분야의 기술발전예의 기여도

현재 나노 분야에서 활발히 연구되고 있는 나노 기공 소재에 관한 형성 메커니즘을 규명하고 대면적하에서 single crystal형태의 균일한 기공을 제어시킴으로서 이 분야의 독보적인 기술을 확립하여 기술의 특허화 및 세계적인 논문지에 게재 할 수 있을 것으로 판단한다. 현재 개념 정립의 연구가 결실을 맺으면, 이것을 이용하여 실제 단백질을 손쉽게 분리하는 원천 기술을 확보하리라고 판단한다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 당해연도 활용계획

본 연구자는 포항공과대학교 생명과학과와 공동연구를 통하여 블록공중합체의 나노 분리막을 이용하여 감기 바이러스인 "Rhinovirus 14"를 선택적으로 분리하는 연구를 수행할 것이다. 이 연구는 본 연구자가 수행하는 블록 공중합체 자기 조립단의 창의 연구에서 계속 진행될 예정이다.

2. 활용방법

블록공중합체를 이용한 나노분리막은 아직 시도되지 않은 신개념의 분리막이므로 신규성과 창의성이 높다고 판단된다. 따라서 특허출원 및 논문게재를 통한 기술선점 및 홍보할 계획이다.

3. 차년도이후 활용계획

블록공중합체를 이용한 나노분리막으로 혈액을 구성하는 Serum Albumin, Immunoglobulin의 혼합용액의 분리를 수행할 예정이다. 또한 말단에 관능기를 부여하여 상호작용에 의한 분리 성능 향상에 대한 실험을 수행할 예정이다. 이러한 연구는 본 연구자가 현재 수행하고 있는 창의 연구단 (블록 공중합체 자기 조립단)에서 중요한 theme으로 수행되고 있다.

4. 연구성과의 타사업의 연계/활용가능성 및 계획

(1) 기공의 Aspect ratio를 10:1 까지 증가

기공의 Aspect ratio가 증가하게 되면 분리막으로 사용했을 경우, 크기에 의한 분리과정에서 선택도를 높일 수 있을 것이다. 또한 기공의 표면적이 증가한 것을 이용하여 p-n 결합면적을 높이기 위하여 유, 무기물을 성장시킬 것이다. p-n 결합면적이 늘어나게 되면 태양전지에 이용할 경우 효율을 높일 수 있다. 이 연구결과는 연구는 현재 창의적 연구진흥 사업의 한 주제인 블록공중합체 나노템플레이트 제작 부분에 해당하는 연구내용으로 차후 분리막으로 응용하는 데 문제가 없을 것으로 판단한다. 또한, 현재 KIST 와 공동연구로 수행중인 (위탁연구 과제: 블록공중합체의 상분리를 이용한 나노 템플레이트 제조) 연구과제로 계속 연구될 것이다.

(2) 블록공중합체 말단에 관능기가 있을 때 나노구조 형성 메커니즘 규명

분리막에서 말단 관능기는 상호작용에 의한 분리막의 선택도를 주기 위한 목적이다. 또한 말단 관능기에 무기 나노입자를 반응시켜 나노입자를 고르게 분산할 경우 광학필름이나 비등방성 전기전도성 필름으로 사용될 수 있어 나노소재 개발연구에도 활용성이 높다. 그리고, 말단기에 의해 블록공중합체의 상거동이 매우 달라짐을 밝혔는데, 이는 창의적 연구진흥사업의 연구주제 중 첫 번째 연구주제인 블록공중합체 상거동에 관한 부분으로 연계 진행될 것이다.

(3) 블록공중합체 분리막 제조

블록공중합체를 기공성 분리막 제조에 성공하였으므로, 본 연구과제는 종료되었으나, 실제 단백질을 이용한 분리공정을 수행할 것이다. 먼저, 본교 생명과학과와 공동연구로 Rhinovirus 14에 대한 분리를 수행하여 단백질 characterization을 할 예정이다. 또한 혈구단백질인 Serum Albumin, Immunoglobulin의 혼합용액의 분리를 수행할 예정이다. 본 연구내용은 블록공중합체 나노템플레이트 제조에 관한 응용성을 제시하는 것으로 본 연구자가 수행하게 될 블록공중합체 나노템플레이트에 관한 연구주제에 포함되어 연계 진행하는 것이 타당하다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

본 연구에서 나노분리막으로 사용하고자 한 블록공중합체 나노기공성 필름은 나노템플레이트로 분류된다. 나노템플레이트의 제조는 나노구조를 어떻게 제어하느냐가 가장 중요한 점이라고 하겠다. 블록공중합체 박막의 나노구조를 배향하는 방법은 전기장을 이용한 방법이 있고[1], 기판의 단차를 통하여 나노구조를 배향시키는 graphoepitaxy 방법이 있다.[16] 또한 결정성 단분자가 방향성있게 결정화가 일어나게 되면 그 결정화 방향으로 블록공중합체의 나노구조를 성장시키는 방법또한 제시되었다.[17] 본 연구에 사용된 나노구조는 실린더 형태로서 실린더를 수직으로 배향시키는 연구와 수직 배향된 실린더가 대면적에 완벽하게 배향시키는 작업이다. 실린더 나노 상을 수직으로 배향하는 방법으로는 필름 두께가 50 nm 정도로 작은 경우에는 랜덤 brush를 사용하거나 passivated silicone을 사용하여 두 블록이 실리콘 웨이퍼와의 인력이나 척력을 같게 만들어주면 된다. 한편 두께가 마이크론 정도로 증가할 경우에는 전장을 걸어주면 된다. 최근에는 본 연구실에서 두께가 300 nm까지는 전장을 걸어주지 않고도 단일공중합체를 블록 공중합체의 나노상에 confine시켜서 수직배향에 성공하기도 하였다. 한편, 일반적인 PS-b-poly(methyl methacrylate) 블록공중합체의 실린더 직경은 15 ~ 40nm으로 많은 실린더를 세우기 위해서는 직경이 줄어들면 좋는데, 통상은 분자량을 줄이면 직경이 줄어들지만 10 나노 이하는 줄일 수가 없게 된다. 왜냐하면, 이 경우에 해당하는 분자량을 선정하면 나노상 자체가 형성되지 않기 때문이다. 직경을 10나노이하로 줄이는 방법으로는 단일공중합체를 blending한 후 추출하거나 오존으로 매트릭스의 부피를 줄여서 홀을 제조하면 된다. 이렇게 형성된 실린더 나노 홀은 단백질이나 바이오품질을 분리하는 분리막이나 정보 저장 물질, quantum dots, photovoltaic device에 응용할 수 있다는 가능성들이 제시되고 있다.

또한, 현재 membrane을 이용한 protein separation이나 bio-material의 분리는 주로 electron beam을 polycarbonate나 polyester에 조사하여 구멍을 만드는 track-etched membrane에 의해 주로 이루어지고 있다. track-etched membrane은 일정한 구멍크기를 가지기 때문에 선택적 분리라는 측면에서 매우 각광받고 있다. 그러나 beam을 조사하는 간격을 일정하게 하기 힘들어서 표면 공극률이 한정될 수밖에 없다. 그래서 매우 낮은 flux를 보여주는 단점이 있다. 그리고 aluminum을 산화시켜 만든 alumina membrane의 경우 track-etched membrane과 같이 균일한 크기의 기공을 만들지만 단백질이나 bio-material의 분리를 위한 pore size인 수나노의 기공을 만드는 데는 한계점을 가지고 있다. 실험실 수준에서 alumina membrane의 공극 표면에 surfactant를 반응시켜 pore의 크기를 3.4nm 까지 줄인 논문이 발표되었지만 flux가 매우 낮아 실제 분리에 응용되기에는 많은 문제점을 가지고 있다. 그리고 효소를 membrane에 고착시켜 효소의 선택성을 이용한 분리막도 연구되고 있다.

제 7 장 참고문헌

- [1] P. Mansky, T. P. Russell, *Science*, 275, 1458-1460, 1997
- [2] T. Thurn-Albrecht, T. P. Russell, *Science*, 290, 2126-2129, 2000
- [3] U. Jeong, J. K. Kim, *Advanced Materials*, 16(6), 533-536, 2004
- [4] U. Jeong, T. P. Russell *Advanced Materials*, 274-276, 14, 2002
- [5] U. Jeong, T. P. Russell, C. J. Hawker *Advanced Materials*, 1247-1250, 15, 2003
- [6] Munir Cheryan, *Ultrafiltration handbook*, Technomic publish, 1986
- [7] Akira Yanaguchi, Tomhisa Yamashita and Norio Teramae, *Nature Mater*, 3 (2004) 337-341
- [8] Charles R. Martin, *Nature Mater.*, 3 (2004) 284-285
- [9] Brinda B. Lakshmi and Charles R. Martin, *Nature* 388 (1997) 758- 760
- [10] Kathryn W. Guarini, Charles T. Black, and Stephanie H. I. Yeung, *Adv. Mater.* 14 (2002) 1290-1294
- [11] Sang Bok Lee, David T. Mitchell, Charles R. Martin, *Science* 296 (2002) 2198-2200
- [12] Akon Higuchi, Mariko Hara, Masatoshi Saitoh and Kohei Sanui, *J. Membrane Sci.*, 221 (2003) 207-218
- [13] Carme Guell and Robert H. Davis, *J. Membrane Sci.*, 119 (1996) 269-284
- [14] Beverly A. Heinz, Dean O. Cliver and Gene L. Hehl, *J. Virol. Methods*, 14 (1986) 71-83
- [15] Ferry Kienberger, Rong Zhu and Peter Hinterdorfer, *J. Virol.* 78 (2004) 3203-3209
- [16] Rachel A. Segalman, Hideaki Yokoyama, and Edward J. Kramer, *Adv. Mater.* 2001 13(15),1152
- [17] C. Park, C. D. Rosa, and E. L. Thomas, *Macromolecules*, 2001 34, 2602-2606