

# PDMS와 고분자 전해질 표면을 이용한 간편한 세포 패터닝 방법

정현호<sup>1</sup> · 송환문<sup>1</sup> · 황예진<sup>2</sup> · 황택성<sup>1</sup> · 이창수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 화학공학과, <sup>2</sup>워싱턴대학교 화학공학과

## Facile Cell Patterning Based on Selectively Patterned Polydimethylsiloxane (PDMS) and Polyelectrolyte Surface

Heon-Ho Jeong<sup>1</sup>, Hwan-Moon Song<sup>1</sup>, Ye-jin Hwang<sup>2</sup>, Taek-Sung Hwang<sup>1</sup>, and Chang-Soo Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, 220 Gung-Dong, Yu-Seong Gu, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, University of Washington, Seattle, Washington 98195-1700, USA

**Abstract** This study presented facile method of cell patterning using fabricated PDMS patterns on polyelectrolyte coated surface. This basic principle is the fabrication of functional surface presenting two orthogonal surfaces such as cell adhesive and repellent properties. Cell adhesive surface was firstly fabricated with simple coating of polyelectrolyte multilayer. And then, the desired patterns of PDMS for the prevention of nonspecific binding of cells were transferred onto the previously formed thin film of polyelectrolyte multilayer. Thus, we could prepare novel functional surface simultaneously containing PDMS and polyelectrolyte region. As expected, the PDMS regions showed effective prevention of nonspecific binding of cell and the other region, exposed polyelectrolyte area, provided cell adhesive environment. The height of formed PDMS structure was about 100 nm. Based on this method, cell patterning can be successfully obtained with various pattern shapes and sizes. Therefore, we expect that this simple method will be useful platform technology for the development of cell chip, cell based assay system, and biochip.

**Keywords:** Cell Patterning, PDMS structure, Polyelectrolyte, Microcontact Printing

### 서 론

마이크로 수준의 특정 영역에 선택적으로 세포를 고정화시키는 패터닝 (patterning) 기술은 바이오 센서 (Biosensor) 및 바이오칩 (Biochip) 개발에 있어 필수불가결한 기반 기술로 간주되고 있다 [1-2]. 현재까지 단백질, 유전자, 탄수화물, 세포 등과 같은 생체물질의 패터닝 기술은 대부분 전통적인 반도체 공정 기술을 이용한 방법과 달리 고분자를 이용한 softlithography 방법으로 이루어진다 [3-4]. 이러한 패

터닝 기술을 기반으로 구현된 바이오센서 및 바이오칩은 기존의 분석 방법과 비교하였을 때 적은 양의 시료로 짧은 시간에 높은 작업처리량을 나타낼 수 있어 많은 사람들로 부터 각광을 받고 있다 [5-6]. 최근 특정한 지역에 고정화된 세포를 통하여 구현된 세포칩은 세포의 대사작용, 생존 능력, 세포의 생리학적 반응 및 세포 자연사 등의 결과를 이용하여 바이오마커 (bio-maker), 신약개발, 병원균과 독성 물질 검출 및 순수생물학 연구에 활용가치가 매우 높은 중요한 기술로 판단되고 있다.

지금까지 보고된 세포패터닝 방법은 마이크로컨택트프린팅 (microcontact printing;  $\mu$ CP) 방법, 모세관 현상을 이용한 micromolding in capillaries (MIMIC) 방법, 그리고 반도체 공정기술을 이용한 photolithography 방법이 있다 [7-8].

### \*Corresponding author

Tel: +82-42-821-5896, Fax: +82-42-822-8995

e-mail: rhadam@cnu.ac.kr

MIMIC 방법은 물이 좁은 유리관을 따라 움직이는 모세관 힘을 이용하는 방법으로 대표적인 방법은 먼저, 미세채널을 가진 PDMS를 표면 위에 접촉시킨 후 고분자 용액을 주입하여 스탬프의 채널부분을 채워 준다. 이 고분자를 경화시킨 후 PDMS 스탬프를 제거하여 원하는 패턴을 형성할 수 있다. 본 그룹에서는 최근 MIMIC 방법으로 형성된 polyethyleneglycol (PEG) 구조체를 이용하여 단백질, 박테리아, 동물세포의 패턴링을 제시하였다 [9].

한편, 마이크로컨택트프린팅 (microcontact printing) 방법은 softlithography 공정으로 제작된 PDMS 마이크로스탬프 위에 구현하고자 하는 표면물질을 잉크로 사용하여 원하는 표면위에 손쉽게 프린팅 방법을 통하여 특정영역을 표면개질시킬 수 있다. 상기의 방법을 이용하여 다양한 세포의 비특이적 결합 방지할 수 있는 화학물질을 이용하게 되면 손쉽게 세포 패턴링을 구현할 수 있다 [10-11]. 세포의 비특이적인 결합을 방지하기 위해 이용되는 가장 널리 사용되는 화학물질은 다가의 하이드록실기를 가지는 PEG 구조체가 유용하게 이용된다 [12-14]. 하지만, 이 방법은 세포의 방지 표면을 구현할 수 있으나 세포의 부착력을 높일 수 있는 표면을 동시에 처리하기가 매우 어렵다.

전통적인 반도체 기술을 이용한 Photolithography 공정을 이용하여 PEG 패턴을 마이크로 수준에서 정확하고 정밀하게 제작할 수 있다 [15-16]. 하지만 이 방법은 제작공정이 복잡하고 높은 공정비용과 고가의 장비를 필요로 한다. 또한 포토레지스트를 이용하게 되면 단백질 또는 세포의 고유의 생물학적인 성질에 영향을 주어 활성이 감소될 수 있다.

상기의 문제점을 해결하기 위해, 본 연구에서는 이중전사 방법을 이용하여 세포칩 표면을 세포의 부착력을 높일 수 있는 영역과 세포의 비특이적 결합을 방지할 수 있는 영역을 동시에 가질 수 있도록 구현하는 방법을 통하여 손쉽게 세포를 원하는 크기와 모양을 손쉽게 구현할 수 있도록 하고자 한다. 즉, 이 기술에 의해 구현된 2차원 가능성 표면에서 고분자 전해질은 세포가 부착하여 성장할 수 있는 환경을 제공하고 PDMS는 세포의 비특이적인 결합을 방지한다.

## 실험

### 실험재료

Poly (dimethylsiloxane) (PDMS) (Sylgard 184 elastomer)는 Dow Corning사에서 구매했으며, monoglycidyl ether terminated Poly (dimethylsiloxane) (epoxy-PDMS), 세포배양배지로 구성된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), antibiotics는 Sigma-Aldrich사에서 구입하였다. 표면을 개질하기 위해 쓰여진 고분자 전해질인 Poly-4-ammonium styrenesulfonic acid (PSS, Mw 200,000)와 Poly (allylamine hydrochloride) (PAH, Mw 70,000)는 Aldrich사에서 구입하였다.

### 유리기판의 고분자 전해질 코팅

유리는 초음파세척기에서 아세톤, 에탄올, 증류수의 순서로 10분간 세척한 후 마지막 질소가스로 증류수를 제거하였다. 세척된 유리는 산소 플라즈마 (Model PDC-002, HARRIC plasma)로 30초간 처리하였다. 고분자 전해질 코팅은 spincoater (Model SC-60P, Shinumst Inc. Korea)를 이용하여 코팅을 수행하였다. 플라즈마 처리된 유리를 양이온고분자 전해질인 PAH (20 mM, pH 9.0) 용액을 가장 먼저 유리 위에 올리고 3분 동안 반응시킨 후 증류수로 2번 세척한다. 그 다음 음이온고분자전해질인 PSS (20 mM, pH 9.0) 용액을 같은 방법으로 코팅한다. 스핀코팅 조건은 4,000 rpm에 15초로 고정하였다. PAH와 PSS를 layer-by-layer로 9층으로 코팅시킨다. 최종 제작된 기판은 밀봉 후 4°C냉장고에 보관을 하였다.

### 이중전사 방법에 의한 PDMS 패턴제작

PDMS 스탬프는 PDMS원액과 가교제를 10 : 1 비율로 섞고 패턴이 제작된 실리콘 마스터 위에 붓고 65°C에 12시간 동안 열경화 시켜 준비하였다. PDMS 혼합용액은 PDMS : epoxy-PDMS : crosslinking 시약을 2 : 1 : 0.3의 비율로 섞어주었으며 클로로포름 용매에 200 mg/mL의 농도로 희석하였다. 준비된 용액을 유리 위에 뿌린 후 2000 rpm에 20초간 스핀 코팅하여 얇은 PDMS 막을 형성시킨다. 패턴을 가진 PDMS 스탬프를 스핀 코팅된 막 위에 마이크로컨택트프린팅하여 PDMS 혼합용액을 패턴의 돌출부분에만 선택적으로 묻게 한 후 떼어내어 고분자 전해질 위에 접촉시킨다. 고분자 전해질과 접촉된 상태에서 PDMS 스탬프를 65°C 오븐에서 30분 동안 1차 경화를 한 후 PDMS 스탬프를 제거한다. 마지막으로 3시간 동안 경화를 시켜 PDMS 구조체를 형성하였다. PDMS 스탬프 제작 및 PDMS pattern 형성에 대한 전체 공정은 Fig. 1에서 보여준다.

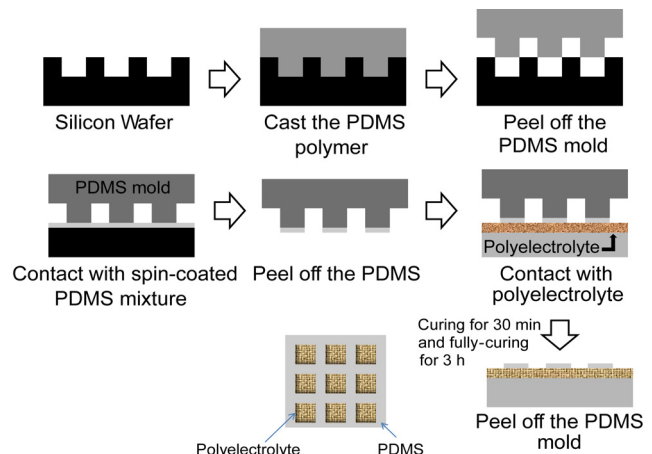


Fig. 1. Schematic diagram of cell patterning onto the selectively fabricated the PDMS and polyelectrolyte.

## 세포 patterning

본 논문에서 세포패터닝을 위해 사용된 동물세포로는 HCC1438 (폐암세포), MRC-5 (폐정상세포), HCT116 (대장암세포), Human normal dermis fibroblast (HDF, 사람섬유아세포)을 이용하였다. HCC1438과 MRC-5는 RPMI 1640배지에서, HCT116과 HDF는 DMEM배지에서 배양하였다. 먼저, 세포배양접시에서 성장한 세포의 배지를 제거한 후 PBS buffer (pH 7.2)로 2번 세척하였다. 그리고 Trypsin-EDTA 용액으로 세포를 부유화 시킨 후 1,000 rpm에서 3분 동안 원심 분리하여 세포를 침전시켜 상층액을 제거한다. 새로운 배지를 넣어주어 다시 세포를 부유화 시킨다. 각 pattern 당 5,000마리를 주입한 후 5분 동안 정지시킨다. 최종적으로 PBS buffer로 세척한 후 새로운 배지를 다시 넣어주어 배양한다.

## 결과 및 토의

### 고분자 전해질을 이용한 표면 처리

전하를 띄고 있는 고분자 전해질 (polyelectrolyte)은 LBL (layer-by-layer)기술로 표면에 다층박막으로 흡착시켜 쉽게 표면처리 된다. 이 기술은 각 고분자박막 표면에 전하를 띄게 하여 전기적인 인력으로 생체분자 또는 세포를 고정화할 수 있는 기술로 발전 할 수 있다 [17-18]. 또한, 표면에 원하는 전하를 띄게 하여 반대의 전하를 띄고 있는 다양한 물질을 흡착시킬 수 있어 그 응용범위가 넓다.

본 연구에서는 유리 표면을 산소 플라즈마 처리하여 강한 음전하 표면을 유도하여 다량의 양전하를 가지고 있는 PAH와 쉽게 정전기적 인력에 의해 결합할 수 있도록 하였다. 다시, PAH 고분자 박막 표면위로, 다량의 음전하를 가지는 PSS 고분자 전해질을 감은 방법으로 손쉽게 결합시킬 수 있다. 이 방법으로 형성된 고분자 전해질 박막 표면은 손쉽게 접촉각을 측정함으로써 고분자 박막의 적층 상태 및 표면 변화 상태를 확인 할 수 있다 (Fig. 2). Fig. 2에서 보듯이, 각 층의 최외각 표면은 PAH와 PSS가 교대로 교차하며 고분자 박막을 구성하고 있음을 직접적으로 보여주고 있다. 형성된 PAH 층은 62°~67°의 접촉각을 가지고, PSS 층은 26°~34° 접촉각을 보여주고 있다. 이는 PAH 표면보다 PSS 표면이 상대적으로 친수성이 강함을 보여주고 있어 박막의 구성상태를 손쉽게 구별할 수 있다. 또한 그래프의 안정된 진동 모양은 최상층의 고분자 전해질에 의해 표면성질이 변화하였음을 증명하고 있다. 하지만 이전에 본 그룹에서 얻은 접촉각 (PAH : 47°~51°, PSS : 28°~30°) 보다는 높게 측정되었다. 이는 본 실험에서 기존의 실험과 달리 고분자 표면을 형성한 후 완전히 건조를 한 후 접촉각을 측정함으로써 수분이 완전히 제거되어 낮아진 것으로 보이며, 이는 기존의 다른 그룹에서 비슷한 방법으로 수행된 결과와 같은

결과를 보여주었다 [19]. 따라서, 본 연구에서는 간편한 접촉각 측정을 통하여 Layer-by-Layer 방법에 의해 고분자 전해질이 안정적으로 코팅이 되었음을 증명하였다.

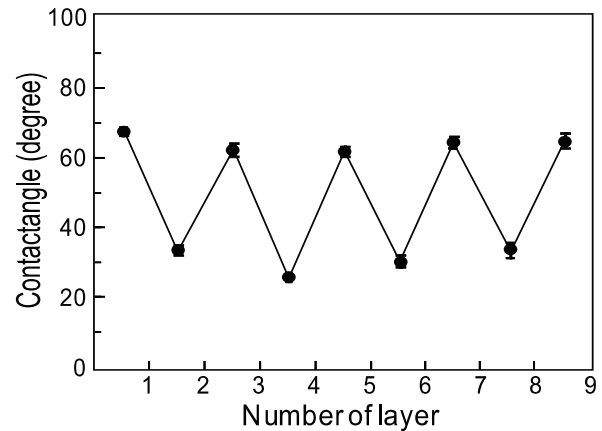


Fig. 2. Measurement of water contact angle of PAH/PSS multilayers : odd numbers indicate PAH layers and even numbers are PSS layers.

### 이중전사 방법에 의한 PDMS 패터닝

본 연구에서는 이중전사 방법을 이용하여 고분자 전해질 위에 PDMS를 전사시켜 2차원패턴을 형성시켰다. 일반적으로 PDMS는 세포가 부착을 방해하는 물질이며, 계면 자유에너지가 낮아 다른 표면과 쉽게 분리가 가능하며, 수용액에서 팽윤 현상이 적어 패턴을 장시간 유지할 수 있는 장점을 가지고 있다 [20]. 따라서 본 연구에서는 PDMS와 표면 처리된 고분자간에 서로 결합을 유도하기 위해 PDMS와 epoxy-PDMS를 2 : 1 (w/w)로 섞어 수행하였다. 양이온 고분자 전해질인 PAH는 다량의 아민 그룹을 가지고 있으며 본 연구에서 사용된 혼합 PDMS에 다량의 에폭시 그룹은 손쉽게 공유결합을 형성 할 수 있어 매우 안정적인 표면을 구현할 수 있다.

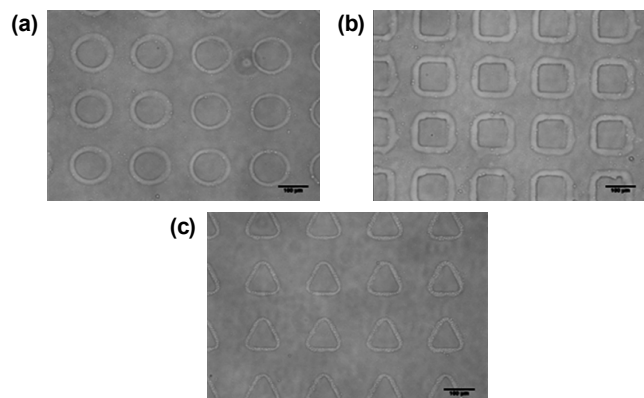
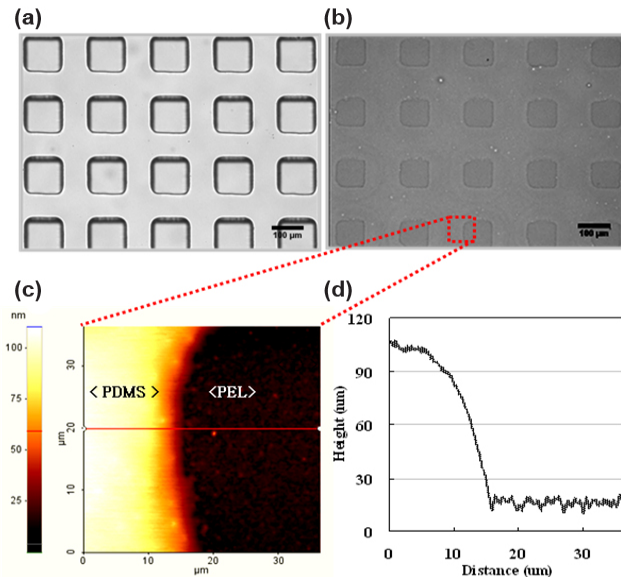


Fig. 3. Optical images of fabricated PDMS structure on polyelectrolyte multilayers coated surface. (a) Circle, (b) Square, (c) Triangle.

Fig. 3에서는 고분자 전해질 위로 전사되어 고형화된 PDMS 패턴들의 광학 현미경 이미지이다. 상기의 방법으로 제작된 2차원 표면은 고분자 전해질 영역과 PDMS 두 영역으로 나뉘어 진다. 이 결과로 고형화 시킨 후 PDMS 스탬프와 PDMS 혼합용액 간의 쉽게 분리 되어 고분자 전해질 위에서 안정적으로 구조체가 형성되었음을 증명하였다.

상기의 이중전사 방법은 다양한 형태의 패턴을 안정적으로 제작할 수 있는 이점이 있다 (Fig. 3). 또한 제작된 표면 패턴을 배지에 14일 동안 담가둔 결과 패턴 모양 및 크기에 변화가 없었다. 따라서, 본 그룹이 제안한 방법을 통하여 물리적으로 매우 안정적인 2차원 표면 패턴을 제작할 수 있음을 알 수 있었다.

Atomic force microscopy (AFM)로 측정된 결과 고분자 전해질의 높이는 15~20 nm, PDMS는 100~110 nm로 측정되었다 (Fig. 4). 기존의 마이크로미터 높이의 고분자는 세포를 가둬두기가 힘들고 물리적인 압박을 제공하였지만, 상기의 나노미터 수준의 PDMS 높이는 세포에게 구조에 대한 영향을 줄여주었으며, 공간적인 압박을 제거하였고, 배지와의 표면적을 넓혀 주어 영양분 공급 또는 각 세포 패턴간의 상호작용이 원활하게 이루어지게 될 것이다.



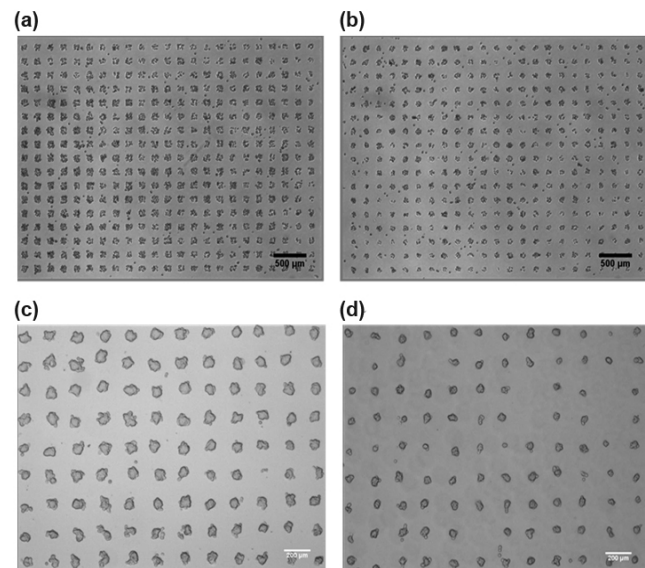
**Fig. 4.** (a) Optical images of PDMS stamp and (b) patterned PDMS on polyelectrolyte multilayers, (c) AFM image of boundary region ( $35 \mu\text{m} \times 35 \mu\text{m}$ ) between polyelectrolyte multilayers and PDMS, and (d) its topographical profile.

또한 표면 거칠기를 측정하였을 때 고분자 전해질의 평균 값은 18 nm이며, PDMS 표면은 2.8 nm로 상대적으로 고분자 전해질 표면이 거친 표면임을 알 수 있다. 이는, 강한 고분자 전해질인 경우 정전기 그룹간의 전기적 반발력에 의해 고분자 사슬은 퍼진 상태로 존재하게 되어 표면에 흡착되는 정도가 낮아지게 된다. 하지만, NaCl과 같은 염이온을 첨가하게 되면 정전기 그룹 주위에 반대이온들이 존재하여

사슬의 구조가 코일 또는 루프 형태로 변하게 된다. 따라서 고분자 전해질의 표면 거칠기 값은 증가하게 된다. 이를 비교하였을 때 고분자 전해질 패턴부분과 이외의 부분을 구별할 수 있었고,  $\mu\text{CP}$ 한 PDMS 몰드의 표면 거칠기 값의 변화가 없음을 확인 함으로서 고분자 전해질 위로 PDMS 가 전사되었음을 명확하게 증명할 수 있다.

### 다양한 종류의 세포 Patterning

세포 패턴닝은 세포의 분석물질에 의해 유도되는 생물학적 변화 및 생존능력의 변화 등을 손쉽게 분석하는데 중요한 기반 기술이 된다. 또한 독성물질 검출 및 신약 개발에 대한 정보를 제공해 줄 수 있다. 본 연구에서는 PDMS를 이용한 비특이적인 결합의 감소와 고분자 전해질에 의한 세포 고정화를 향상시키는데 초점을 맞추었다. 또한 암세포와 정상세포 같은 다양한 세포를 패턴닝 하여 암세포 연구에도 적용될 수 있도록 하고자 한다.



**Fig. 5.** Optical images of various cells on the fabricated surface. (a) HCC1438, (b) MRC-5, (c) HCT116, (d) Human normal dermis fibroblast cell.

본 논문에서 세포 패턴닝 원리는 당지질과 당단백질이 세포막에 존재하기 때문에 표면에 음전하를 띄고, PAH 고분자 전해질은 아민 그룹을 가지고 있어 다량의 양전하를 띄므로 PAH 고분자 전해질과 세포간에 정전기적인 인력의 작용과 PAH의 소수성 성질은 세포가 부착하는데 유리함을 제공할 것으로 예상된다. 고분자 전해질 표면은 정전기적인 인력을 이용하여 세포의 부착을 유도하기 때문에 기존의 방법보다 빠른 접착 속도를 보여주고 있다. HDF 세포를 세포배양접시의 표면에 붙기 위해서는 대략 30분이 지난 후에 접착이 되는 반면, 고분자 전해질 표면은 5분 만에 접착함을 실험적으로 확인하였다. 따라서 고분자 전

해질 표면의 전하에 의해 세포의 부착을 증가시켜 빠르고 효율적인 세포 패터닝을 할 수 있다. Fig. 5에서는 제작된 PDMS 기판위에서 다양한 종류의 세포가 patterning된 모습을 보여주고 있다. 본 표면은 폐암세포, 폐 정상세포, 대장암세포, 및 정상섬유아세포 등 세포의 종류와 크기에 상관없이 패터닝을 할 수 있었으며 이는 다른 보고된 방법과 달리 매우 폭넓게 활용할 수 있음을 암시하고 있다.

더불어 패터닝된 세포들은 정상적으로 시간이 지남에 따라 세포 증식을 보여주고 있으며 이는 고정화된 세포가 매우 활성이 좋음을 암시하고 있다. 따라서 본 연구에서 제안된 표면이 세포의 활성화 증식에 전혀 해로운 영향을 미치고 있지 않음을 명확하게 증명하였다 (Fig. 6). 즉, 본 연구에서 제안한 방법은 빠르고 효율적으로 세포를 패터닝 시킨 후, 패턴안에서 증식이 잘 되고 있음을 증명하고 있다.

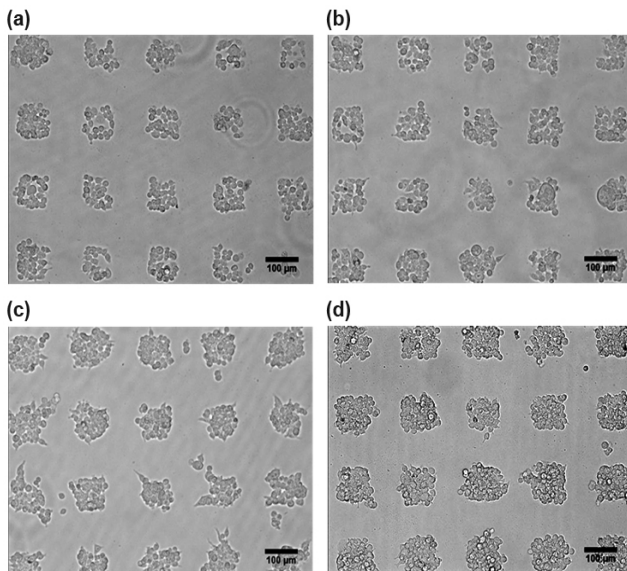


Fig. 6. Optical images of HCT116 cancer cell growth on the fabricated surface. (a) 12 h, (b) 24 h, (c) 36 h, (d) 48 h.

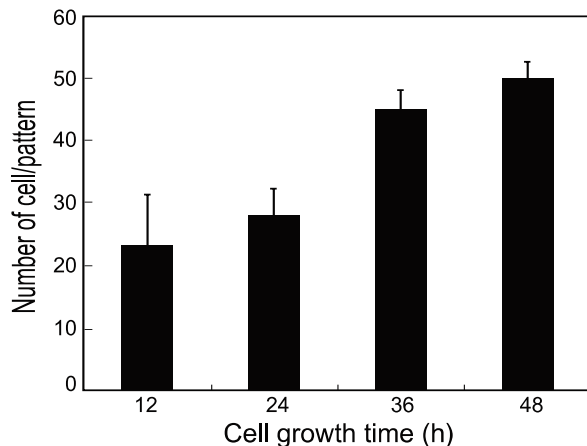


Fig. 7. Number of HCT116 cancer cell growth on the patterned surface. (Cell number of one pattern).

각 하나의 패턴에서 세포의 정량적 성장을 측정된 결과, 24~36 시간에서 가장 왕성한 증식을 보이다가 48시간 후에는 활용 가능한 표면의 감소로 인하여 증식 속도가 감소하는 것을 확인할 수 있다 (Fig. 7). 36시간 이후에는 패터닝된 세포의 모양이 제작된 PDMS 패턴 모양의 형태가 되었고, 패턴의 경계면에서 더 이상 성장 하지 못하였다. 이는 PDMS 표면이 물리적으로 100 nm의 높이에도 불구하고 세포가 결합, 부착 및 성장을 하지 못하였다는 것은 구조적인 영향보다는 화학적인 영향으로 세포가 제한을 받았다는 것을 알 수 있다. 이 결과로 PDMS는 세포의 결합을 방지하는데 큰 효과를 보여주었으며, 이는 다양한 세포에 대한 연구의 기반 기술이 될 것으로 기대된다.

### 결론

본 연구는 이중전사 방법을 이용하여 고분자 전해질 위에 PDMS를 이동시켜 간단하고 매우 효과적인 세포 패터닝을 제시하였다. 또한 형성된 PDMS가 나노미터 수준의 높이임에도 불구하고 비특이적인 결합을 효과적으로 막아 주어 세포 패터닝에 유용하게 적용할 수 있다. 이 방법의 장점은 제작공정이 간단하면서도 다양한 모양의 패턴을 구사할 수 있어 단백질, 유전자, 탄수화물, 지질 또는 다른 생체분자들의 패터닝에 적용할 수 있다. 선택적으로 고분자 전해질을 성공적으로 코팅하여 세포의 생존 능력을 높여 약물의 효과 및 성능, 독성물질 검출, 세포에 대한 생물학적 연구를 하기 위한 바이오 센서, 바이오 칩 및 다양한 형태의 미세 분석 기구의 제작 과정에 응용할 수 있다.

### 감사

본 연구는 한국과학재단 (과제 고유 번호 : R01-2008-000-11260-0), 한국학술진흥재단 (과제 고유 번호 : KRF-2008-331-D00131), 신기술융합형 성장동력사업 (과제 고유 번호 : 2009-0082087) 및 보건복지부 보건의료기술 진흥사업 (과제 고유 번호 : A062254) 지원에 의하여 수행되었기에 이에 감사 드립니다.

접수 : 2009년 2월 18일, 게재승인 : 2009년 11월 24일

### REFERENCES

1. Yamazoe, H., T. Uemura, and T. Tanabe (2008) Facile cell patterning on an albumin-coated surface. *Langmuir* 24: 8402-8404.

2. Rosenthal, A., A. Macdonald, and J. Voldman (2007) Cell patterning chip for controlling the stem cell microenvironment. *Biomaterials* 28: 3208-3216.
3. Suh, K. Y., J. H. Seong, A. Khademhosseini, P. E. Laibinis, and R. Langer (2004) A simple soft lithographic route to fabrication of poly (ethylene glycol) microstructures for protein and cell patterning. *Biomaterials* 25: 557-563.
4. Cheng, C. M. and P. R. LeDuc (2006) Micropatterning polyvinyl alcohol as a biomimetic material through soft lithography with cell culture. *Mol. BioSyst.* 2: 299-304.
5. Lange, K., G. Blaess, A. Voight, R. Gotzen, and M. Rapp (2006) Integration of a surface acoustic wave biosensor in a microfluidic polymer chip. *Biosens. Bioelectron.* 22: 227-232.
6. Zaytseva, N. V., V. N. Goral, R. A. Montagna, and A. J. Baeumner (2005) Development of a microfluidic biosensor module for pathogen detection. *Lab. Chip* 5: 805-811.
7. Wilbur, J. L., A. Kumar, H. A. Biebuyck, E. Kim, and G. M. Whitesides (1996) Microcontact printing of self-assembled monolayers: applications in microfabrication. *Nanotechnology* 7: 452.
8. Kim, E., Y. Xia, and G. M. Whitesides (1996) Micromolding in capillaries: applications in material science. *J. Am. Chem. Soc.* 118: 5722-5731.
9. Shim, H. W., J. H. Lee, T. S. Hwang, Y. W. Rhee, Y. M. Bae, J. S. Choi, J. Y. Han, and C. S. Lee (2007) Patterning of proteins and cells on functionalized surfaces prepared by polyelectrolyte multilayers and micromolding in capillaries. *Biosens. Bioelectron.* 22: 3188-3195.
10. Foley, J., H. Schmid, R. Stutz, and E. Delamarche (2005) Microcontact printing of proteins inside microstructures. *Langmuir* 21: 11296-11303.
11. Cucelier, D., O. Rossier, P. Bassereau, P. Nassoy (2003) Micropatterned adherent/repellent glass surfaces for studying the spreading kinetics of individual red blood cells onto protein-decorated substrates. *Eur. Biophys. J.* 32: 342-354.
12. Kim, Y. W., J. J. Kim, and Y. H. Kim (2003) Surface characterization of biocompatible polysulfone membranes modified with poly (ethylene glycol) derivatives. *Korean J. Chem. Eng.* 20: 1158-1165.
13. Suh, K. Y. and S. Jon (2005) Control over wettability of polyethylene glycol surfaces using capillary lithography. *Langmuir* 21: 6836-6841.
14. Kim, P., S. E. Lee, H. S. Jung, H. Y. Lee, T. Kawai, and K. Y. Suh (2006) Soft lithographic patterning of supported lipid bilayers onto a surface and inside microfluidic channels. *Lab. Chip* 6: 54-59.
15. Revzin, A., R. J. Russell, V. K. Yadavalli, W. G. Koh, C. Deister, D. D. Hile, M. B. Mellott, and M. V. Pishko (2001) Fabrication of poly (ethylene glycol) hydrogel microstructures using photolithography. *Langmuir* 17: 5440-5447.
16. Kim, D. N., W. J. Lee, and W. G. Koh (2008) Micropatterning of proteins on the surface of three-dimensional poly (ethylene glycol) hydrogel microstructures. *Anal. Chim. Acta.* 609: 59-63.
17. Lee, J. H., H. W. Shim, H. S. Choi, Y. A. Son, and C. S. Lee (2008) Protein patterning on self-assembled polyelectrolyte thin films. *J. Phys. Chem. Solids* 69: 1581-1584.
18. Shim, H. W., J. H. Lee, H. S. Choi, and C. S. Lee (2008) Cell patterning on various substrates using polyelectrolyte multilayer and microstructure of poly (ethylene glycol). *Korean Chem. Eng. Res.* 46: 1100-1106.
19. Kolasinska, M. and P. Warszynski (2005) The effect of support material and conditioning on wettability of PAH/PSS multilayer films. *Bioelectrochemistry* 66: 65-70.
20. Lee, J. N., C. M. Park, and G. M. Whitesides (2003) Solvent compatibility of poly (dimethylsiloxane)-based microfluidic devices. *Anal. Chem.* 75: 6544-6554.