

미세 성형 방법을 이용한 형광 표지된 이중 분획 입자의 제조

심규락 · 정성근 · 홍우경 · 강경구 · 이창수[†]

충남대학교 응용화학공학과
34134 대전광역시 유성구 대학로 99
(2018년 9월 14일 접수, 2018년 10월 2일 수정본 접수, 2018년 10월 4일 채택)

Fabrication of Fluorescent Labeled Bi-compartmental Particles via the Micromolding Method

Gyurak Shim, Seong-Geun Jeong, Woogyong Hong, Koung-Ku Kang and Chang-Soo Lee[†]

Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Chungnam National University, 99, Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 34134, Korea

(Received 14 September 2018; Received in revised form 2 October 2018; accepted 4 October 2018)

요 약

본 연구는 다중 형광이 표지된 이중 분획 입자의 제조에 관한 것이다. 입자 내에서 형광 발현을 분획화하기 위하여, 형광의 여기 및 방출 스펙트럼의 중첩이 적은 두가지의 형광 염료를 선정한다. 또한, 형광 안정성을 확보하기 위하여 선정된 형광 염료는 입자를 구성하는 소제와 함께 가교될 수 있도록 분자 내에 아크릴레이트(acrylate) 작용기를 포함한다. 공초점 현미경 촬영을 통하여 선정된 형광 물질을 이용하여 제조된 입자에서 강한 형광 발현 및 형광의 분획화를 확인하였다. 더 나아가 4주 동안 형광 발현 및 세기를 측정하여 장기간의 형광 안정성을 검증하였다. 본 연구에서 제조된 다중 형광 표지된 이중 분획 입자는 다중 표적형 약물 전달 체계, 3차원 브라운 운동의 해석 연구, 3차원의 복잡한 자기 조립체 형상의 규명 연구 등에 널리 활용될 수 있으리라 기대한다.

Abstract – This study presents fabrication of bi-compartmental particles labeled by multiple fluorescence. To compartmentalize fluorescent expression at the particle, two fluorescent dyes with less overlap of the excitation and emission spectra are selected. To ensure the fluorescence stability, the fluorescent dyes contain acrylate functional groups in the molecules so that they can be cross-linked together with monomers constituting the particle. Strong fluorescent expression and compartmentalization were observed at the particle fabricated using the selected fluorescent dyes through confocal microscopy. Furthermore, long-term fluorescence stability was verified by measuring fluorescent expression and intensity for 4 weeks. We anticipate that the bi-compartmental particles labeled by multiple fluorescence can be widely used for multi-target drug delivery system, analysis of 3 dimensional Brownian motion, and investigation of 3 dimensional complex self-assembled morphologies.

Key words: Fluorescent labeled particle, Bi-compartmental particle, Compartmentalization, Fluorescence stability, Micromolding method

1. 서 론

최근 형광 현미경(fluorescent microscope)과 공초점 현미경(confocal microscope)을 이용한 형광 관측이 용이해짐에 따라서, 형광 표지된 입자(fluorescent labeled particle)를 활용한 연구가 널리 수행되고 있다[1,2]. 특히, 실시간으로 형광 표지된 입자를 관찰할 수 있기 때문에, 입자의 위치 및 운동 해석[3-6], 입자 간 자기 조립에 의한 형

상 분석[7-10], 약물 전달 체계(drug delivery system)[11-15], 생체 센서(biosensor)[16,17], 생체 이미징(bioimaging)[18-24] 등의 연구에 그 활용도가 더욱 높아지고 있다. 그러나, 하나의 형광만 표지된 입자는 단일 형광만을 발현하기 때문에, 보다 복잡한 응용 연구에 효율적으로 활용하기는 어렵다. 특히, 보다 복잡한 입자의 형상과 구조를 요구하는 3차원 브라운 운동의 해석, 자기조립 구조체의 분석 연구 및 다중 표적 약물 전달체계 등의 연구분야에 이용하기에는 여전히 한계를 가진다. 따라서, 다중 형광이 표지된 다중 분획 입자에 대한 요구가 날로 증가하는 추세이다[25].

다중 형광이 표지된 다중 분획 입자는 하나의 입자 내에 서로 다른 형광 염료들이 동시에 존재하는 입자를 뜻하며, 입자를 구성하는 각 분획을 뚜렷하게 구분할 수 있기 때문에 단일 형광이 표지된 입

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: rhadam@cnu.ac.kr

‡이 논문은 충남대학교 강용 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

자보다는 더욱 복잡한 입자계에 대한 연구에 활용될 수 있다. 특히, 다중 물질의 다단 약물 전달 체계(multi-step drug delivery system) [26,27], 입자의 3차원 회전 브라운 운동 해석[28], 복잡한 자기 조립체 형상의 규명[29,30] 등의 연구에 활용가능성이 충분하며, 실제로 많은 연구에 활용되고 있다. 그러나, 기존의 다중 분획 입자의 제조에 대한 연구들은 제조공정이 복잡하고, 제조에 많은 시간이 소요되며, 발현된 형광 안정성이 낮은 약점을 갖는다. 이와 같은 약점을 극복하기 위하여, 금속 증착 공정과 형광 염료의 도입 공정을 결합한 입자의 제조방법이 보고되었다[31]. 이 방법은 입자의 한쪽면에 금속을 증착하고, 형광 염료를 입자의 표면에 도입하여 이중 분획 입자를 제조한다. 이 방법은 입자의 표면에 다양한 형광 발현이 가능한 형광 염료의 도입을 가능하게 해준다. 그러나 입자 제조 공정이 여러 공정을 거쳐야 하기 때문에 복잡해지고, 그에 따라 입자의 제조 시간이 오래 걸린다는 단점을 갖는다. 다중 분획 입자 제조의 또 다른 방법으로는 미세 유체 장치를 이용하는 방법이 있다[32,33]. 이 방법은 액적 기반의 미세 유체 장치 내에서 광중합(photo-polymerization)을 통하여 입자를 제조하는 방법이다. 이 방법을 이용하면 연속적으로 다중 분획 입자를 제조할 수 있고, 유체의 수를 제어하여 두개 이상의 다중 분획 입자를 제조할 수 있다. 그러나, 이 방법 또한 고도의 유속 제어가 필요하며, 사용되는 유체의 물리 화학적 특성에 제한을 받는다.

본 연구에서는, 기존에 존재하는 다중 형광이 표지된 다중 분획 입자 제조법의 제약들을 극복할 수 있는 미세 성형 방법(micromolding method)을 통한 이중 분획 입자의 제조 방법을 제안한다[34,35]. 이 미세 성형 방법은 하나의 미세몰드(micromold) 상에서 순차적으로 형광 염료를 함유한 입자 전구체를 주입하고, 용매의 증발 및 광중합 공정을 거쳐 별도의 개별적인 공정을 거치지 않고 단시간 내에 입자를 제조할 수 있게 해준다. 또한, 이 방법은 입자를 구성하는 소재와 형광 염료 간의 광중합을 통하여 화학 결합을 유도하여, 별도의 추가적인 형광 염료의 도입 공정이 필요없다는 장점을 가진다. 제조된 이중 분획 입자에서 발현되는 형광의 분획화는 정성, 정량 분석으로 검증하고, 표면 특성의 측정을 통하여 형광 분자의 도입 전, 후의 표면 특성에 현격한 변화가 없음이 안정하다는 것을 확인하였다. 마지막으로 시간에 따른 형광 세기 분석을 통하여 형광 안정성을 검증하였다.

2. 실험

2-1. 실험 재료

마스터 몰드(master mold) 제작에는 감광제(photoresist)로 SU-8 3025와 현상액(developer, SU-8 developer)을 MicroChem Corp. (MA, USA)에서 구매하여 이용하였다. 미세몰드 소재로는 perfluoropolyether (PFPE, Fluorolink MD 700)는 Solvay (Brussels, Belgium) 제품을 구입하여 사용하였다. 입자 제조에 사용된 poly (ethylene glycol) diacrylate ($M_n = 700$) (PEG-DA), trimethylolpropane triacrylate (TMPTA), 2-carboxyethyl acrylate (CEA), pentaerythritol triacrylate (PETA) 및 2-hydroxy-2-methylpropiophenone (Darocur 1173) 및 에탄올(ethanol)을 Sigma-Aldrich (MI, USA)에서 구매하여 추가적인 정제없이 사용하였다. 1, 10-decanediol dimethacrylate (DDDMA)는 Polysciences, Inc. (PA, USA)에서 구매하여 이용하였다. 형광 염료로 사용된 fluorescein *o*-acrylate (FA) ($\lambda_{ex} = 490$ nm, $\lambda_{em} = 514$ nm)와 Nile blue acrylamide (NBAM) ($\lambda_{ex} = 628$ nm, $\lambda_{em} = 667$ nm)는 각각 Sigma-

Aldrich (MI, USA) 및 Polysciences, Inc. (PA, USA)에서 구매하여 사용하였다. 접착각 측정용 시편 제조에 사용된 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate (TPM)과 아세트산(acetic acid)은 Sigma-Aldrich (MI, USA)에서 구매하여 이용하였다.

2-2. 미세몰드의 제작

미세몰드를 제작하기에 앞서 양각의 마스터 몰드를 제조한다. 마스터 몰드는 포토리소그래피 공정(photolithography)을 통하여 제조된다[36]. 실리콘 웨이퍼(silicon wafer) 상에 감광제를 도포한 후, 소프트베이킹(soft baking), 필름 마스크 정렬 및 노광, 포스트베이킹(post baking), 현상(developing)의 공정을 거친다. 제조된 마스터 몰드에 PFPE와 Darocur 1173 광개시제를 20:1의 무게 비율로 섞은 용액을 도포한 후, 질소 환경에서 83 mW/cm²의 광세기로 1,200초 동안 노광하여 음각의 미세몰드를 제조한다. 마스터 몰드 상에 형성된 미세몰드는 마스터 몰드로부터 분리하여 사용한다.

2-3. 형광 표지된 이중 분획 입자의 제조

형광 표지된 이중 분획 입자 제조는 미세 성형 방법을 통하여 진행된다. 첫 번째 단계에서 입자를 구성하는 기본 소재는 소수성의 단량체 용액(DDDMA (76 vol%), TMPTA (19 vol%) 및 Darocur 1173 (5 vol%), FA 15 mg/mL)을 에탄올에 50 vol%로 희석하여 준비한다. 준비된 용액을 미세몰드에 로딩하고, 1분 동안 진공 처리하여 탈포 과정을 진행한다. 에탄올에 희석된 소수성의 단량체 용액은 미세몰드 내로 주입되고, 과량의 용액은 마이크로파이펫(micropipette)으로 제거된다. 그 후, 80 °C 오븐에서 3분간 에탄올을 증발시키고, 질소 환경에서 5,000 mW/cm²의 광세기로 45초 동안 노광을 수행한다. 순차적으로 두 번째 단계에서는 친수성의 단량체 용액(PEG-DA (74 vol%), CEA (20 vol%), PETA (5 vol%), Darocur 1173 (1 vol%), NBAM 0.05 mg/mL)을 미세몰드에 로딩하고, 마찬가지로 1분 동안 진공 처리하여 탈포 과정을 진행한다. 친수성의 단량체 용액은 미세몰드 내로 주입되고, 과량의 용액은 마이크로파이펫으로 제거된다. 마지막으로 질소 환경에서 5000 mW/cm²의 광세기로 150초 동안 노광을 수행하여 이중 분획 입자를 제조한다(Fig. 1).

2-4. 형광 측정

이중 분획 입자의 소수성 부분에 사용한 형광 염료는 FA이며, 친수성 부분에 사용한 형광 염료는 NBAM이다(Fig. 2). 이를 분획된 영역에서 관측하기 위하여 여기 광원으로는 488 nm 레이저(laser)와 638 nm 레이저(laser)를 이용하고, 방출 필터(emission filter)로는 500~550 nm, 및 662~737 nm를 각각 이용하였다. 형광 세기 분석은 Image J 소프트웨어를 이용하였다. 사용된 장비와 소프트웨어는 공초점 현미경(Nikon, ECLIPSE Ti, Japan)과 NIS-Elements Confocal 소프트웨어이다. 또한, 형광 안정성을 측정하기 위하여 FITC 필터($\lambda_{ex} = 480 \pm 15$ nm, $\lambda_{em} = 535 \pm 22.5$ nm)와 Texas Red 필터($\lambda_{ex} = 560 \pm 20$ nm, $\lambda_{em} = 630 \pm 30$ nm)가 내장된 전하결합소자 카메라(charge-coupled device, CCD) (Roper Technologies, Coolsnap, USA)가 장착된 광학현미경(Nikon, TE2000, Japan)과 IP Lab 현미경 소프트웨어를 이용한다.

2-5. 접착각 측정용 시편 제조 및 접착각 측정

접착각 측정용 시편 제조에 앞서 슬라이드 글라스(slide glass)를

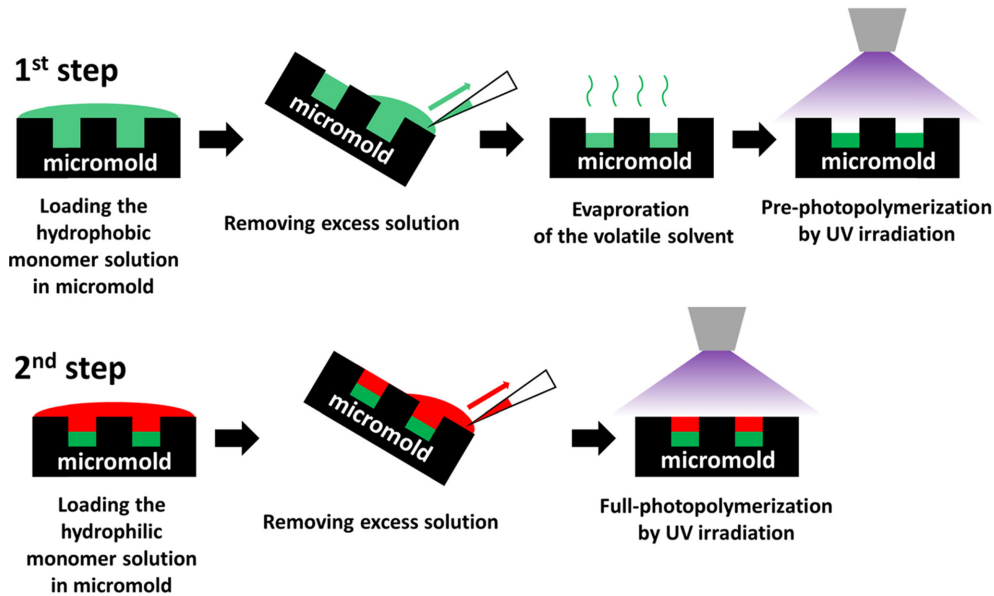


Fig. 1. Schematics for fabricating of fluorescent labeled bi-compartmental particles via the micromolding method.

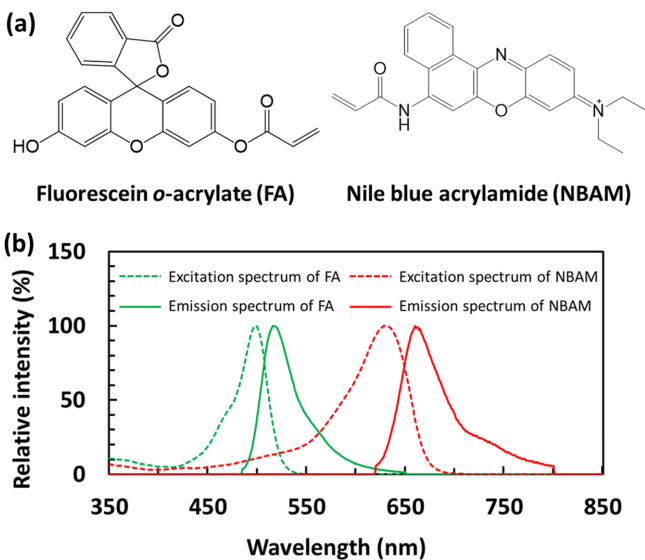


Fig. 2. (a) Chemical structures of fluorescent dyes. (b) Excitation and emission spectra of fluorescein *o*-acrylate (FA), Nile blue acrylamide (NBAM).

우선적으로 표면 처리한다[37]. 표면 처리에는 TPM 용액(TPM (50.0 vol%), 에탄올 (49.9 vol%), 아세트산 (0.1 vol%))이 사용된다. 먼저, TPM 용액에 슬라이드 글라스를 수침시켜 상온에서 20분간 반응시킨 후, 120 °C에서 10분간 반응시켜 사용한다. 슬라이드 글라스 기판을 TPM용액(TPM (50.0 vol%), 에탄올(49.9 vol%), 아세트산(0.1 vol%))으로 처리하게 되면 슬라이드 글라스 기판의 표면과 TPM의 실록산 반응(siloxane reaction)으로 메타크릴레이트 작용기가 슬라이드 글라스 기판 표면에 도입된다. 도입된 메타크릴레이트 작용기는 시편 제조 시 시편과 기판을 공유 결합시켜 접촉각 측정 시 시편이 기판으로부터 박리되지 않도록 해준다. TPM 처리된 슬라이드 글라스에 소수성의 단량체 용액인 DDDMA (76 vol%), TMPTA (19 vol%) 및 Darocur 1173 (5 vol%), FA 15 (mg/mL)를

사용하였고, 친수성의 단량체 용액으로는 PEG-DA (74 vol%), CEA (20 vol%), PETA (5 vol%), Darocur 1173 (1 vol%), 및 NBAM 0.05 mg/mL)을 500 μ L 씩 로딩하고, 커버 글라스(cover glass)를 덮어 균일하게 퍼지도록 한다. 마지막으로 1800 μ W/cm²의 광세기 40분간 노광을 수행하여 접촉각 측정용 시편을 제조한다. 접촉각 측정은 제조된 시편 상에 공기-물-시편의 3상계를 형성한 정적법(sessile drop method)으로 수행된다. 총 10회 측정하여 평균값과 표준편차를 도출한다. 접촉각 측정에 사용된 장비는 광학 표면장력계(optical tensiometer) (Biolin Scientific, Attention Theta, Sweden)이며, 분석 소프트웨어는 Attension Theta이다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 이중 분획 입자에서 분획 된 형광의 확인

본 연구진은 기존 미세 성형 방법에 주로 사용되던 Polydimethylsiloxane (PDMS) 미세몰드 대신 PFPE 미세몰드를 사용하여 입자의 형상 및 형광 안정성을 확보하였다. PDMS는 소수성의 다공성 물질로써, 소수성의 분자들이 기공을 통하여 빠져나가는 문제점이 있다. 다시 말해 입자를 구성하는 소수성 분자들과 형광 분자들이 미처 광중합되기 전 PDMS 미세몰드의 기공으로 빠져나가 불안정한 입자 형상 및 형광 발현을 야기한다. 그러나, PFPE는 옴니포빅(omniphobic)한 물질로써, 발수 및 발유 특성을 함께 가지고 있다. 즉, 친수성, 소수성 물질의 PFPE 미세몰드로의 확산을 방지하여 미세 성형 방법 수행 시 입자의 형상 및 형광 안정성을 확보할 수 있다[38].

뿐만 아니라, 물 상에서 입자의 형상 변화를 줄이기 위하여 친수성 부분을 구성하는 PEG-DA에 가교제(crosslinker)로써, PETA를 첨가하고, 소수성 부분을 구성하는 DDDMA에 가교제로써 TMPTA를 첨가하였다. 각각의 가교제는 단량체 중합 시에 가교 밀도(crosslinking density)를 향상시켜 물 상에서 이중 분획 입자를 관측할 경우, 팽윤(swelling)과 수축(shrinkage)되는 정도를 완화시켜줄 수 있을 것이다[39,40].

그리고 형광의 중첩없이 분획 된 입자를 제조하기 위하여 FA와

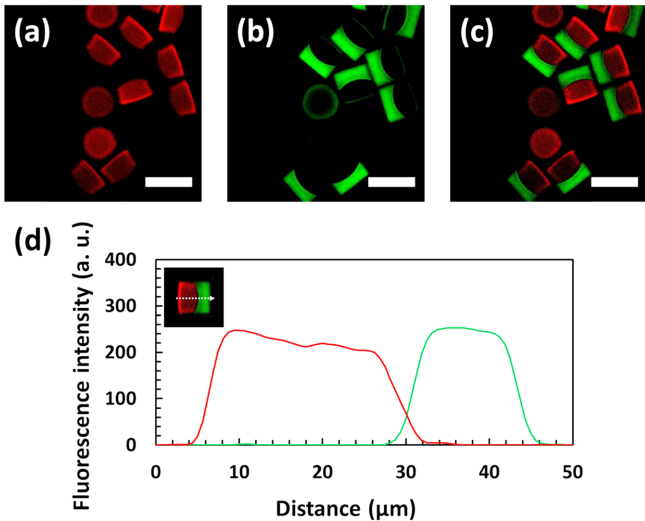


Fig. 3. (a) The confocal microscope image of the hydrophilic part labeled by Nile blue acrylamide (NBAM) at 638 nm laser. (b) The confocal microscope image of the hydrophobic part labeled by fluorescein *o*-acrylate (FA) at 488 nm laser. (c) The merged images of (a) and (b). (d) Measurement of fluorescence intensity of bi-compartmental particles along the white dotted line of the inserted image. Scale bars are 50 μm .

NBAM을 형광 염료로 선정하였다(Fig. 2(a)). 이 두 종류의 형광 염료의 여기 및 방출 스펙트럼에서 미세한 중첩을 확인함으로써 최소한의 형광 중첩이 발생할 것으로 예상할 수 있었다(Fig. 2(b))[41].

공초점 현미경을 이용하여 제조된 이중 분획 입자의 각 분획에서 발견되는 형광의 중첩에 대한 정성분석을 진행하였다. 먼저, 이중 분획 입자의 친수성 부분에 도입된 NBAM을 관측하기 위하여 여기 광원으로 638 nm 레이저를 사용하였고, 이중 분획 입자의 친수성 부분에만 형광이 관측됨을 입증하였다(Fig. 3(a)). 이와 마찬가지로 이중 분획 입자의 소수성 부분에 도입된 FA를 관측하기 위하여 여기 광원으로 488 nm 레이저를 사용하였고, 이중 분획 입자의 소수성 부분에만 형광이 관측됨을 입증하였다(Fig. 3(b)). 촬영된 두 이미지를 병합하여 각 분획에서 형광이 중첩되지 않음을 정성적으로 확인하였다(Fig. 3(c)).

각 분획에서 발견된 형광이 중첩되지 않음을 정량적으로 입증하기 위하여 형광 세기 분석을 진행하였다. 분석 중 여기 광원의 세기는 5%로 최소화하였다. 첫 번째로, 친수성 부분과 소수성 부분의 형광 최대 세기는 각각 247, 253 a.u.로 형광 최대 세기인 255 a.u.에 거의 근접하며, 그 차이는 2.35% 이하이다. 이를 통하여, 최소한의 여기 광원 세기로도 각 분획에서 균일하게 형광이 관측됨을 입증하였다. 두 번째로, 각 분획에서 선형 형광 분석을 진행함으로써 각 분획에서 중첩없이 형광이 관측됨을 확인하였다. 따라서, 본 연구진이 선정된 두 형광 염료가 형광을 분획화하기 적합함을 정성, 정량적으로 입증하였다.

3-2. 이중 분획 입자의 표면 특성 측정

이중 분획 입자를 다양한 연구 분야에 응용하기 위하여, 형광 염료의 도입에 의하여 입자의 개별적인 분획을 구성하는 소재의 물리 화학적 특성 변화가 최소화 되어야한다. 이를 검증하기 위하여, 이

중 분획 입자를 친수성 부분과 소수성 부분으로 구성하였다. 제조된 이중 분획 입자의 표면 특성이 형광 염료의 도입 이후에도 변화가 없음을 물의 접촉각 측정을 통하여 검증하였다. 표면처리를 하지 않은 슬라이드 글라스를 기판(substrate)으로 하여 친수성, 소수성 시편을 제조하였을 때에는 입자의 각 분획 소재와 기판 사이의 부착력이 낮아서 기판으로부터 박리되는 문제가 있었다. 이를 해결하기 위하여 슬라이드 글라스 기판의 표면에 메타크릴레이트(methacrylate) 작용기를 도입하였다.

표면처리된 글라스 기판과 구성하는 각 분획의 소재를 이용하여 제조된 시편의 물의 접촉각을 측정하였다. 친수성의 시편에서 NBAM을 도입하기 전, 후의 물의 접촉각은 각각 $50.02 \pm 1.92^\circ$, $51.34 \pm 1.24^\circ$ 로 접촉각의 차이가 불과 1.32° 밖에 차이가 나지 않는 것을 확인하였다. 이는 친수성 성질은 크게 변함이 없음을 의미한다. 마찬가지로 소수성의 시편에서도 FA를 도입하기 전, 후의 물의 접촉각은 각각 $102.78 \pm 1.40^\circ$, $109.69 \pm 0.43^\circ$ 로 접촉각의 차이는 6.91° 밖에 나지 않았다. 이 결과는 형광 염료 도입 전후의 친수성 부분과 소수성 부분의 접촉각의 변화가 불과 2.64%, 6.72% 이하로 거의 변화가 없음을 보여준다. 또한, 이 결과는 표면 특성이 서로 다른 이중의 분획을 갖는 입자를 이용하여, 입자의 거동이나 자기조립연구에 활용 가능한 안정적인 수준을 보여준다[7,30]. 결과적으로, 소량의 공중합이 가능한 형광 염료가 도입된 이중 분획 입자는 형광 염료의 도입 전의 이중 분획 입자와 그 특성의 현격한 차이가 없음을 간접적으로 보여준다. 또한, 형광 염료의 도입량을 최적화한다면, 아주 미세한 차이를 더욱 더 줄일 수 있다는 것을 예측할 수 있다(Fig. 4).

3-3. 형광 안정성 평가

이중 분획 입자에 도입된 형광 염료인 FA와 NBAM은 분자 내에 아크릴레이트(acrylate) 작용기를 포함한다(Fig. 1(a)). 즉, 미세 성형 방법의 광중합 과정 중에서, 분획 구성 소재인 아크릴 단량체와

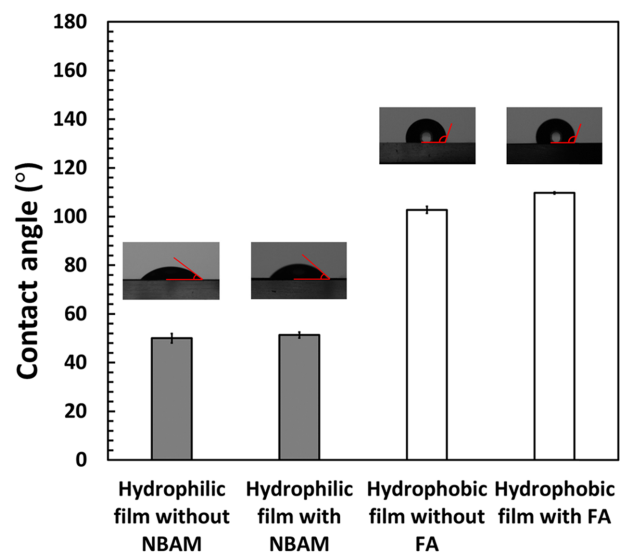


Fig. 4. Water contact angle measurements of the hydrophilic film without Nile blue acrylamide (NBAM), the hydrophilic film with Nile blue acrylamide (NBAM), the hydrophobic film without fluorescein *o*-acrylate (FA), and the hydrophobic film with fluorescein *o*-acrylate (FA).

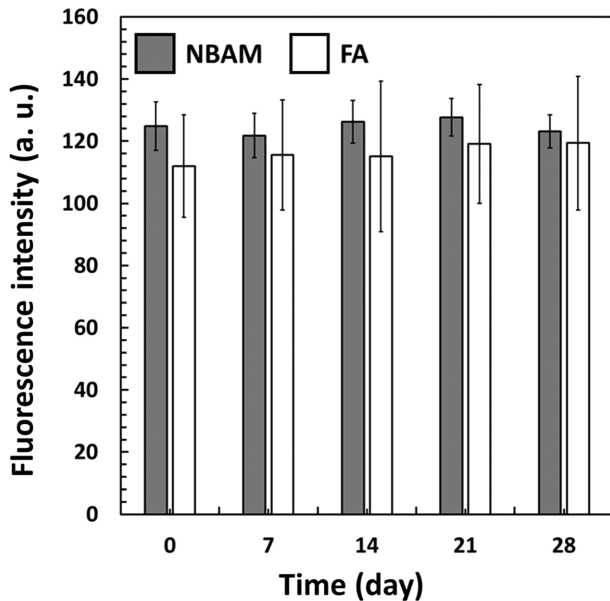


Fig. 5. Long-term fluorescence stability of bi-compartmental particles containing fluorescein o-acrylate (FA) and Nile blue acrylamide (NBAM).

형광 염료 분자는 동시에 중합되어, 강한 화학 결합인 공유결합을 통하여 공중합체를 형성할 수 있다. 따라서, 각 분획을 구성하는 소재와 형광 염료가 서로 강한 화학 결합에 의하여 결합되어, 오랜 시간이 지나도 입자에 도입된 형광이 안정적으로 유지될 것이라 예측하였다. 이를 입증하고자 시간에 따른 형광 세기 분석을 진행하였다. NBAM이 도입된 친수성 부분의 형광 세기는 4주 후까지 겨우 0.5%의 변화폭을 보였으며, FA가 도입된 소수성 부분의 형광 세기 또한 4주 후까지 1.2%의 변화폭을 보였다(Fig. 5). 이 결과를 토대로 제조된 입자의 형광이 오랜 시간이 지나도 안정적으로 유지됨을 증명하였다. 이는 제조된 형광 입자를 활용한 연구에 있어 큰 장점으로 작용될 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 미세 성형 방법을 통하여, 형광 발현을 하는 이중 분획 입자를 제조하였다. 각각의 분획의 형광 발현을 개별적으로 인식하기 위하여, 형광의 중첩이 최소화된 두 형광 염료를 선정하고, 이를 입자에 도입하였다. 이 결과, 각각의 분획이 서로 다른 여기 광원에서 완전히 개별 인식이 가능한 형광 발현을 하는 것을 입증하였다. 또한, 입자의 활용을 위하여, 형광 염료 도입 전, 후에 이중 분획 입자의 각 분획의 표면 특성의 측정을 통하여 도입된 형광 염료가 입자의 각 분획의 특성에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주었다. 기존의 형광 염료의 용출에 의한 형광 발현의 안정성을 높이기 위하여, 분획을 구성하는 소재와 화학 결합을 유도하여 입자 제조 후 4주 이상까지 형광 발현 및 세기를 유지하는 높은 안정성을 확보하였다. 본 연구를 통하여 제조된 형광 표지된 이중 분획 입자는 약물전달 및 미세입자의 거동 연구에 안정적인 활용이 가능할 것으로 기대된다. 특히, 오랜 기간 동안 입자의 형광을 관찰해야 하는 연구에 활용도가 높을 것으로 예측된다.

감 사

이 논문은 2018년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단-글로벌연구실사업(No. NRF-2015K1A1A2033054) 및 해양·극지기초원천기술개발사업(No. NRF-2015M1A5A1037054)의 지원을 받아 수행된 연구임.

References

- Chestnut, M. H., "Confocal Microscopy of Colloids," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2**, 158-161(1997).
- Murray, C. A. and Grier, D. G., "Video Microscopy of Monodisperse Colloidal Systems," *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **47**, 421-462(1996).
- Dinsmore, A. D., Weeks, E. R., Prasad, V., Levitt, A. C. and Weitz, D. A., "Three-dimensional Confocal Microscopy of Colloids," *Appl. Opt.*, **40**(24), 4152-4159(2001).
- Blaaderen, A. V., Peetermans, J., Maret, G. and Dhont, J. K. G., "Long-time Self-Diffusion of Spherical Colloidal Particles Measured with Fluorescence Recovery after Photobleaching," *J. Chem. Phys.*, **96**(6), 4591-4603(1992).
- Moschakis, T., Murray, B. S. and Dickinson, E., "Particle Tracking Using Confocal Microscopy to Probe the Microrheology in a Phase-separating Emulsion Containing Nonadsorbing Polysaccharide," *Langmuir*, **22**, 4710-4719(2006).
- Ruthardt, N., Lamb, D. C. and Bräuchle, C., "Single-particle Tracking as a Quantitative Microscopy-based Approach to Unravel Cell Entry Mechanisms of Viruses and Pharmaceutical Nanoparticles," *Mol. Ther.*, **19**(7), 1199-1211(2011).
- Kim, J., Choi, C. H., Yeom, S. J., Eom, N., Kang, K. K. and Lee, C. S., "Directed Assembly of Janus Cylinders by Controlling the Solvent Polarity," *Langmuir*, **33**, 7503-7511(2017).
- Mohraz, A. and Solomon, M. J., "Direct Visualization of Colloidal Rod Assembly by Confocal Microscopy," *Langmuir*, **21**, 5298-5306(2005).
- McGorty, R., Fung, J., Kaz, D. and Manoharan, V. N., "Colloidal Self-assembly at an Interface," *Mater. Today*, **13**, 34-42(2010).
- Oh, S., Kang, W. K., Kang, J. W., Kim, K. S. and Lee, H., "Conversion of CdTe Nanoparticles into Nanoribbons via Self-Assembly," *Korean Chem. Eng. Res.*, **50**(6), 1082-1085(2012).
- Costanzo, M., Carton, F., Marengo, A., Berlier, G., Stella, B., Arpicco, S. and Malatesta, M., "Fluorescence and Electron Microscopy to Visualize the Intracellular Fate of Nanoparticles for Drug Delivery," *Eur. J. Histochem.*, **60**(2), 107-115(2016).
- Zhang, L. W. and Monteiro-Riviere, N. A., "Use of Confocal Microscopy for Nanoparticle Drug Delivery through Skin," *J. Biomed. Opt.*, **18**(6), 061214-1-5(2013).
- Jeon, W., Kim, G. Y., Kim, G. H. and Ha, C. S., "Preparation and Characterization of Multilayer Microcapsules using Biocompatible Polymers," *Korean Chem. Eng. Res.*, **48**(2), 178-184(2010).
- Lee, Y. C. and Kang, I. J., "Preparation of Chitosan-Gold and Chitosan-Silver Nanodrug Carrier Using QDs," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**(2), 200-205(2016).
- Hwang, J., Lee, K., Gilad, A. A. and Choi, J., "Synthesis of Beta-glucan Nanoparticles for the Delivery of Single Strand DNA," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **23**, 144-149(2018).

16. Reenan, A. V., Jong, A. M. D., Toonder, J. M. J. D. and Prins, M. W. J., "Integrated Lab-on-chip Biosensing Systems Based on Magnetic Particle Actuation – a Comprehensive Review," *Lab Chip*, **14**, 1966-1986(2014).
17. Bally, M., Graule, M., Parra, F., Larson, G. and Höök, F., "A Virus Biosensor with Single Virus-particle Sensitivity Based on Fluorescent Vesicle Labels and Equilibrium Fluctuation Analysis," *Biointerphases*, **8**(1), 1-9(2013).
18. Bhunia, S. K., Saha, A., Maity, A. R., Ray, S. C. and Jana, N. R., "Carbon Nanoparticle-based Fluorescent Bioimaging Probes," *Sci. Rep.*, **3**(1473), 1-7(2013).
19. Zrazhevskiy, P., Sena, M. and Gao, X., "Designing Multifunctional Quantum Dots for Bioimaging, Detection, and Drug Delivery," *Chem. Soc. Rev.*, **39**(11), 4326-4354(2010).
20. Chaudhary, V. and Bhowmick, A. K., "Green Synthesis of Fluorescent Carbon Nanoparticles from Lychee (*Litchi chinensis*) Plant," *Korean J. Chem. Eng.*, **32**(8), 1707-1711(2015).
21. Lee, E. J., "Recent Advances in Protein-based Nanoparticles," *Korean J. Chem. Eng.*, **35**(9), 1765-1778(2018).
22. Kim, Y. M., Kim, J. H., Park, S. C., Park, Y. H. and Kang, M. K., "Characteristic as a Gene Delivery System of Water Soluble Chitosan Conjugated with Cationic Peptide," *KSBB J.*, **31**(4), 300-311(2016).
23. Choi, E. S., Kang, Y. Y. and Mok, H., "Evaluation of the Enhanced Antioxidant Activity of Curcumin within Exosomes by Fluorescence Monitoring," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **23**, 150-157(2018).
24. Lee, J. S., Go, N. K., Lee, S. Y. and Hur, W., "Uptake of Fibroin Microspheres by 3T3 Cells," *KSBB J.*, **29**(5), 328-335(2014).
25. Yi, Y., Sanchez, L., Gao, Y. and Yu, Y., "Janus Particles for Biological Imaging and Sensing," *Analyst*, **141**(12), 3526-3539(2016).
26. Choi, C. H., Kang, S. M., Jin, S. H., Yi, H. and Lee, C. S., "Controlled Fabrication of Multicompartmental Polymeric Microparticles by Sequential Micromolding via Surface-Tension-Induced Droplet Formation," *Langmuir*, **31**(4), 1328-1335(2015).
27. Hwang, S. and Lahann, J., "Differentially Degradable Janus Particles for Controlled Release Applications," *Macromol. Rapid Commun.*, **33**, 1178-1183(2012).
28. Sanchez, L., Patton, P., Anthony, S. M., Yi, Y. and Yu, Y., "Tracking Single-particle Rotation during Macrophage Uptake," *Soft Matter*, **11**, 5346-5352(2015).
29. Hong, L., Cacciuto, A., Luijten, E., and Granick, S., "Clusters of Charged Janus Spheres," *Nano Lett.*, **6**(11), 2510-2514(2006).
30. Kang, S. M., Choi, C. H., Kim, J., Yeom, S. J., Lee, D., Park, B. J. and Lee, C. S., "Capillarity-induced Directed Self-assembly of Patchy Hexagram Particles at the Air-water Interface," *Soft Matter*, **12**, 5847-5853(2016).
31. Tang, J. L., Schoenwald, K., Potter, D., White, D. and Sulchek, T., "Bifunctional Janus Microparticles with Spatially Segregated Proteins," *Langmuir*, **28**, 10033-10039(2012).
32. Nie, Z., Li, W., Seo, M., Xu, S. and Kumacheva, E., "Janus and Ternary Particles Generated by Microfluidic Synthesis: Design, Synthesis, and Self-assembly," *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 9408-9412(2006).
33. Seiffert, S. and Weitz, D. A., "Microfluidic Fabrication of Smart Microgels from Macromolecular Precursors," *Polymer*, **51**, 5883-5889(2010).
34. Choi, C. H., Lee, J., Yoon, K., Tripathi, A., Stone, H. A., Weitz, D. A. and Lee, C. S., "Surface-tension-induced Synthesis of Complex Particles Using Confined Polymeric Fluids," *Angew. Chem., Int. Ed.*, **49**, 7748-7752(2010).
35. Yeom, S. J., Kang, S. M., Kim, J., Nam, J. O., Eom, N., Lee, S. and Lee, C. S., "Fabrication of Multicompartment Particles via Sequential Micromolding Method," *Polym. Korea*, **40**(3), 457-463(2016).
36. Love, J. C., Wolfe, D. B., Jacobs, H. O. and Whitesides, G. M., "Microscope Projection Photolithography for Rapid Prototyping of Masters with Micron-Scale Features for Use in Soft Lithography," *Langmuir*, **17**, 6005-6012(2001).
37. Hwang, S., Choi, C. H. and Lee, C. S., "Regioselective Surface Modification of PDMS Microfluidic Device for the Generation of Monodisperse Double Emulsions," *Macromol. Res.*, **20**(4), 422-428(2012).
38. Shim, G., Yeom, S. J., Jeong, S. G., Kang, K. K. and Lee, C. S., "Fabrication of Anisotropic Hexagram Particles by using the Micromolding Technique and Selective Localization of Patch," *Clean Technol.*, **24**(2), 105-111(2018).
39. Doytcheva, M., Dotcheva, D., Stamenova, R. and Tsvetanov, C., "UV-Initiated Crosslinking of Poly(ethylene oxide) with Pentaerythritol Triacrylate in Solid State," *Macromol. Mater. Eng.*, **286**, 30-33(2001).
40. Azzam, W. R., "Reduction of the Shrinkage-Swelling Potential with Polymer Nanocomposite Stabilization," *J. Appl. Polym. Sci.*, **123**, 299-306(2012).
41. <https://www.thermofisher.com/kr/ko/home/life-science/cell-analysis/labeling-chemistry/fluorescence-spectraviewer.html>.