

## 감마선 이용 AEMA 도입 PCL 나노섬유의 제조 및 특성분석

서다은\* · 정성린 · 박종석 · 권희정 · 안성준 · 이병헌 · 임돈순 · 신희수\* · 임윤목†

한국원자력연구원 첨단방사선연구소 공업환경연구부, \*한양대학교 생명공학과  
(2016년 10월 26일 접수, 2016년 11월 15일 수정, 2016년 11월 15일 채택)

### Preparation and Characterization of AEMA Grafted PCL Nanofibers Using Gamma-ray Irradiation

Da-Eun Seo\*, Sung In Jeong, Jong-Seok Park, Hui-Jeong Gwon, Sung-Jun An, Byoung Hun Lee,  
Don-Sun Im, Heungsoo Shin\*, and Youn-Mook Lim†

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute,  
1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212, Korea

\*Department of Bioengineering, Division of Applied Chemical and Bio Engineering, Hanyang University, Seoul 04763, Korea

(Received October 26, 2016; Revised November 15, 2016; Accepted November 15, 2016)

**초록:** 폴리카프로락톤(polycaprolactone, PCL)은 생체적합성이 우수하고 시간이 지나면 체내에서 생분해되어 조직공학용 생체재료로 많이 사용되고 있다. 하지만, 소수성 표면과 낮은 세포 부착성을 나타내는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 PCL 필름 및 전기방사를 통한 나노섬유 지지체를 제조하고 감마선을 이용하여 친수성과 양전하의 아민기를 갖는 2-아미노에틸메타크릴레이트(2-aminoethylmethacrylate, AEMA)로 표면을 개질하였다. 감마선을 이용하여 표면 개질된 PCL 필름과 나노섬유의 분석 결과, ATR-FTIR을 통해 감마선 선량과 반응 표면적이 증가할수록 표면의 아민기가 증가함을 확인하였다. 아민기의 증가로 인해 친수성이 증가했음을 확인하였고 단백질 흡착량이 정전기적 인력으로 인해 증가함을 확인하였다. 이를 통해 AEMA가 도입된 PCL 필름보다 나노섬유 지지체의 경우 세포적합성이 향상된 조직공학용 지지체로서의 응용 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

**Abstract:** Polycaprolactone (PCL) has been applied to tissue engineering because it has excellent biocompatibility and biodegradable properties. However, there is a limit to hydrophobic surface and low cell adhesion, therefore the PCL requires surface modification for increasing hydrophilicity and cell adhesion capacity. In this study, PCL films and nanofibers were manufactured by solvent casting and electrospinning, respectively. They were modified by 2-aminoethylmethacrylate (AEMA) that had hydrophilicity and amine groups of positive charge using gamma-irradiation. The surface properties of AEMA-grafted PCL films and nanofibers were confirmed by ATR-FTIR, and amine groups were increased by surface area and gamma-irradiation dose. A significantly higher amount of negative-charged proteins adhered to hydrophilic and cationic surface of AEMA-grafted PCL nanofibers than that of AEMA-grafted PCL films, because of increased amine groups and electrostatic interaction. The results show that AEMA-grafted PCL nanofibers are possible to apply tissue engineering scaffolds.

**Keywords:** polycaprolactone, 2-aminoethylmethacrylate, surface modification, positive charge, gamma irradiation.

## 서 론

조직공학이란 기존의 기술로 해결할 수 없는 손상된 인체의 조직이나 장기를 공학적 방법을 바탕으로 재생시키는 방법을 통칭한다.<sup>1,2</sup> 생체 조직은 세포와 세포의 물질의 상호작용에 의해 기능과 형태가 유지된다. 특히 세포의 기질은 세

포의 분열, 분화, 사멸 등의 세포생리 조절인자로서 중요한 역할을 하고 세포가 성장하는데 필요한 생화학적 인자들을 저장하고 적절한 물리적 환경을 제공한다.<sup>3</sup> 따라서 세포의 기질을 모방한 조직공학용 지지체를 제작하는 연구가 많이 진행되고 있다.<sup>4,6</sup>

조직공학용 지지체로 사용되기 위해서는 생체적합성, 무독성, 생분해성, 구조적 안정성, 낮은 면역 반응성, 친수성, 성형가공성 등의 특징을 가져야 한다. 그 중 생분해성은 중요한 비중을 차지하고 있다. 비분해성 합성고분자가 체내에 이

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ymlim71@kaeri.re.kr

©2017 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

식될 경우 이를 외부 물질로 인식하여 염증반응이 지속될 가능성이 있어 지지체를 제거하기 위한 2차 수술이 필요하기 때문에 생분해성 합성고분자를 이용한 조직공학용 지지체 개발 연구가 진행되고 있다.<sup>2,7,8</sup> 이러한 생분해성 합성 고분자로는 polycaprolactone(PCL), poly(L-lactide-co-glycolide)(PLGA), poly(L-lactide-co-ε-caprolactone)(PLCL) 등이 있다.<sup>9-12</sup> 하지만, 합성 고분자는 세포친화성이 부족하고 표면의 소수성으로 인해 초기 세포부착 및 성장률이 낮다는 단점이 있다.<sup>13</sup>

이러한 단점을 보완하고 세포가 빠르게 형성되기 위해서는 지지체가 이식된 후 초기의 세포 부착 및 퍼짐이 빠르게 진행될 수 있어야 한다. 지지체가 체내에 이식되면 세포와 가장 먼저 접하게 되고 세포의 부착, 퍼짐, 분화, 사멸 등의 세포활동에 영향을 미치게 된다. 따라서 초기 세포의 부착 및 퍼짐을 촉진시켜주기 위해서 조직공학용 지지체는 소재 표면과 세포 표면의 상호작용을 조절할 수 있는 세포친화성 표면을 가져야 한다.<sup>14</sup> 세포의 부착을 조절하기 위한 연구로는 먼저, 표면의 전하를 조절하여 세포의 부착을 조절하는 방법이 있다.<sup>14-16</sup> 단백질 및 세포막은 음전하를 띠고 있기 때문에 양전하를 띠는 표면에서 단백질 흡착이 증가하게 되고 이를 통해 세포의 부착 및 퍼짐성이 증가하게 된다.<sup>17</sup> 양전하를 띠는 표면에서는 세포가 전체적으로 지지체에 부착되는 반면, 음전하를 띠는 표면에서는 특정 부분만 부착된다는 연구 결과가 있다.<sup>18</sup> 또한 표면의 구조적 특성에 의해 세포 부착의 양상이 달라진다는 연구가 있는데 부드러운 표면에 비해 거친 표면에서 더 많은 양의 세포가 부착되고 세포의 부착 면적이 증가한다.<sup>19,20</sup> 또 다른 연구에서는 초기에 세포가 부착될 때 소수성 표면에 비해 친수성 표면에서 세포 부착력이 증가한다고 보고하였다. 이는 표면에서의 단백질 흡착 배열 차이 및 흡착량의 차이가 있고 친수성 표면에는 칼슘과 마그네슘 이온이 많아 세포의 친화력이 높아지기 때문이다.<sup>17,20,21</sup> 마지막으로 표면에 생리적 기능을 가지는 생체분자를 결합하는 방법이 있는데 펩타이드, 인테그린, 콜라겐, 성장인자 등의 생체물질을 결합시켜 단백질의 발현을 유도하거나 세포의 부착을 돕는다.<sup>17,22</sup>

이러한 이유로 합성 고분자의 친수성 및 세포친화성을 향상시키기 위하여 표면에 기능기를 도입하는 표면 개질 방법이 연구되고 있다. 표면 개질 방법에는 산성 및 알칼리성 수용액으로 표면을 처리하는 방법, UV 조사, 플라즈마 처리, 전자선 및 감마선 조사 등의 방법이 사용되고 있다.<sup>23-27</sup> 그 중 감마선 조사 기술은 개시제나 가교제같은 화학 첨가물 없이 방사선이라는 이온화에너지만을 이용하여 라디칼을 형성하고 중합반응이 일어나게 하는 기술로 저온에서도 반응이 가능하며 물질의 상태에 상관없이 반응이 가능하다는 장점이 있다.<sup>28-31</sup> 이전의 연구에서 감마선 조사 기술을 이용하여 PLCL을 합성하여 제작한 필름 표면에 아크릴산을 도입하여 카복실 그룹을 도입한 후 젤라틴을 추가로 도입하여 세포 친화성을

을 향상시킨 바 있다.<sup>32</sup> 또한 polycaprolactone(PCL)/biphasic calcium phosphate(BCP) 혼합나노섬유 지지체를 제작한 후 아크릴산을 도입하여 친수성 표면 개질을 통해 세포 친화성을 향상시킨 연구 역시 진행된 바 있어 감마선 조사 기술을 이용한 표면 개질 연구가 다방면으로 진행되고 있다.<sup>33</sup>

따라서 본 연구에서는 소수성 표면 및 낮은 세포 부착성을 갖는 PCL 표면에 친수화도 및 세포 친화성을 증진시켜 주기 위하여 친수성 및 양전하를 갖는 2-aminoethyl methacrylate (AEMA)를 감마선 조사 기술을 이용하여 표면에 도입하였다. 또한 감마선 조사선량을 조절하여 AEMA 도입량의 조절 가능성을 확인하고자 하였다. 이를 통해 단백질 흡착을 조절하여 추후 세포 부착을 촉진시킬 수 있게 하여 조직공학용 지지체로서의 응용 가능성에 대해 확인하였다.

## 실 험

**재료 및 시약.** Polycaprolactone(PCL), 2-aminoethylmethacrylate(AEMA), fluorescamine, boric acid, bovine serum albumin(BSA)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 그리고 tetrahydrofuran(THF), *N,N*-dimethylformamide(DMF), sodium dodecyl sulfate(SDS)는 SHOWA(Tokyo, Japan)에서 구매하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약과 용매는 다른 정제 과정 없이 사용하였다.

**PCL 필름 및 나노섬유 제작.** PCL 필름을 제조하기 위해서 50 mL glass vial에 13 wt% PCL을 THF 용매에 섞어 6시간 동안 상온에서 마그네틱 교반기를 이용하여 용해하였다. 용해된 PCL 용액 30 mL을 148 cm<sup>2</sup> 크기의 glass petri-dish에 솔벤트 캐스팅하고 3일간 후드에서 건조시켜 필름을 제작하였다. PCL 나노섬유를 제조하기 위해서 30 mL glass vial에 13 wt% PCL을 THF, DMF 혼합 용매(7:3, v/v)와 섞어 6시간 동안 상온에서 마그네틱 교반기를 이용하여 용해하여 준비하였다. 용해된 PCL 용액은 21 G 바늘(NanoNC, Korea)에 노즐이 연결된 12 mL 플라스틱 주사기(Norm ject, Henke Sass Wolf, 독일)에 10 mL를 주입하여 실린지 펌프(infusion pump, ESR-200RD, NanoNC, Korea)에 고정하고 drum collector에 알루미늄 호일을 감아 전기방사를 실시하였다. 전기방사 조건은 DC 전압 공급장치(DC voltage power supply, NNC-60K-2 mA, NanoNC, Korea)를 통해 주사기 바늘에 11.3 kV의 전압을 흘려 주었고 2 mL/hr의 방출 속도로 5시간 동안 방사하였다. 또한 drum collector의 회전속도는 200 rpm이었으며 collector와 needle 사이의 거리는 15 cm로 설정하였다. 방사된 PCL 섬유는 잔여 용매를 제거해주기 위하여 상온에서 48시간 동안 완전히 건조시켰다.

**감마선을 이용한 AEMA 도입.** 전기방사를 이용하여 제작된 PCL 필름 및 나노섬유의 표면에 AEMA 도입을 진행하기 위해 100 mL glass vial에 7 wt% AEMA를 메탄올에 녹

여 상온에서 마그네틱 교반기를 이용하여 용해하였다. AEMA 용액을 8 mL glass vial에 7 mL씩 담아 1×5 cm<sup>2</sup> 크기의 PCL 필름 및 나노섬유를 담지하였다. 담지된 PCL 필름 및 나노섬유에 <sup>60</sup>Co 선원의 감마선(ACEL type C-1882, Korea Atomic Energy Research Institute)을 상온에서 선량률 10 kGy/hr로 0, 5, 15, 25 kGy 조사하였다. 조사 후 미반응된 AEMA를 제거하기 위하여 50 mL conical tube에 필름 및 나노섬유를 옮겨 담고 증류수로 48시간 동안 세척하였다. 세척한 필름은 상온에서 24시간 건조하였고 나노섬유는 3일간 동결건조하였다. 필름 및 나노섬유 제작 과정과 AEMA 도입 모식도는 Figure 1에 나타내었다.

**주사전자 현미경(Scanning Electron Microscope) 분석.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유의 형태학적 변화를 확인하기 위하여 주사전자 현미경(TM3030, Hitachi, Japan)을 이용하여 확인하였다. 나노섬유의 평균 두께를 측정하기 위하여 SEM 이미지에서 100개의 섬유를 임의로 선택한 후 image analyzer(Image J, National Institutes of Health, USA)를 통해 측정하였다.<sup>34</sup>

**전반사 적외선 분광 분석기(Attenuated Total Reflection Fourier-transform Infrared Spectroscopy) 분석.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 섬유 표면의 화학적 특성 및 반응기를 확인하기 위하여 전반사 적외선 분광 분석기(ATR-FTIR, Bruker Tensor 37, Bruker AXS, Inc., Germany) 분석을 실시하였다. 필름 및 섬유는 5×5 mm<sup>2</sup>의 크기로 잘라 absorbance mode에서 주사횟수는 64회, 파장 범위는 600-4000 cm<sup>-1</sup> 해상도는 6 cm<sup>-1</sup>의 조건으로 측정하였다.

**접촉각(Water Contact Angle) 분석.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유의 친수화도를 확인하기 위하여 접촉각 측정기(Phoenix-300m, surface electro optics Ltd, Korea)를 이용하여 접촉각을 측정하였다. 슬라이드 글라스에 양면

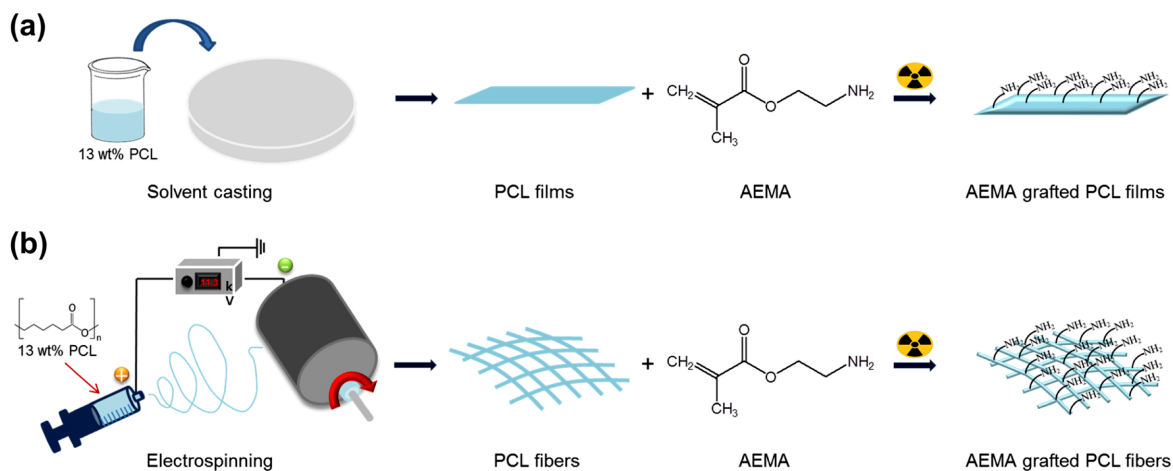
테이프를 부착한 후 필름 및 나노섬유를 1×1 cm<sup>2</sup>의 크기로 잘라 준비하였다. 준비된 필름 및 나노섬유의 중앙에 증류수가 떨어질 수 있도록 위치시킨 후 정제된 증류수를 실린지에 주입하여 나노섬유의 표면에 10 μL씩 떨어뜨렸다. 총 10초 동안 1초당 10장의 사진을 얻었고 얻어진 사진을 통해 접촉각을 측정하였다.

**Fluorescamine 염색.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유 표면의 아민 그룹을 확인하기 위하여 fluorescamine 염색을 진행하였다. 3 mm<sup>2</sup>의 biopsy punch를 이용하여 필름 및 나노섬유를 준비한 후 에탄올에 1분 담침한 후 증류수에 5분간 담침하여 2 mL EP tube에 준비하였다. 각 필름 및 나노섬유를 borate buffer(0.2 M boric acid, pH 9.2) 200 μL에 담침한 후 DMSO에 4 mg/mL 농도로 아세톤에 녹여 준비한 fluorescamine 용액 50 μL를 첨가하였다.<sup>30</sup> 첨가한 후 vortex를 이용하여 1분간 섞어준 후 슬라이드 글라스 위에 올려 Leica Microsystems GmBh(DM1400B, Germany)를 이용하여 λ<sub>ex</sub> 392 nm, λ<sub>em</sub> 480 nm에서 관찰하였다.

**그라프트율(Graft Yield) 측정.** 방사선을 이용하여 AEMA가 그래프팅된 양을 확인하기 위하여 수율 측정을 진행하였다. 방사선 조사 전 건조된 필름 및 나노섬유의 무게를 측정 한 뒤 방사선 조사 후 건조된 필름 및 나노섬유의 무게를 측정하였다. 식 (1)을 이용하여 조사 전 무게(w<sub>1</sub>)와 조사 후 무게(w<sub>2</sub>)로부터 수율을 측정하였다.<sup>35</sup>

$$\text{수율(Graft yield, \%)} = \frac{w_2 - w_1}{w_1} \times 100 \quad (1)$$

**열 중량 분석기(Thermogravimetry Analysis) 분석.** PCL 필름 및 나노섬유에 도입된 AEMA의 중량 및 열적 특성을 확인하기 위하여 열중량 분석기(TGA, SDT Q600, TA instruments, USA) 분석을 실시하였다. 10 mg의 필름 및 나노섬유를



**Figure 1.** Schematic diagrams of (a) fabrication of PCL films using solvent casting; (b) fabrication of PCL nanofibers using electrospinning. PCL films and nanofibers were grafted on AEMA using gamma-irradiation.

100 mL/min의 질소기류 하에서 10 °C/min의 승온속도로 상온부터 600 °C까지의 범위 내에서 측정하였다.

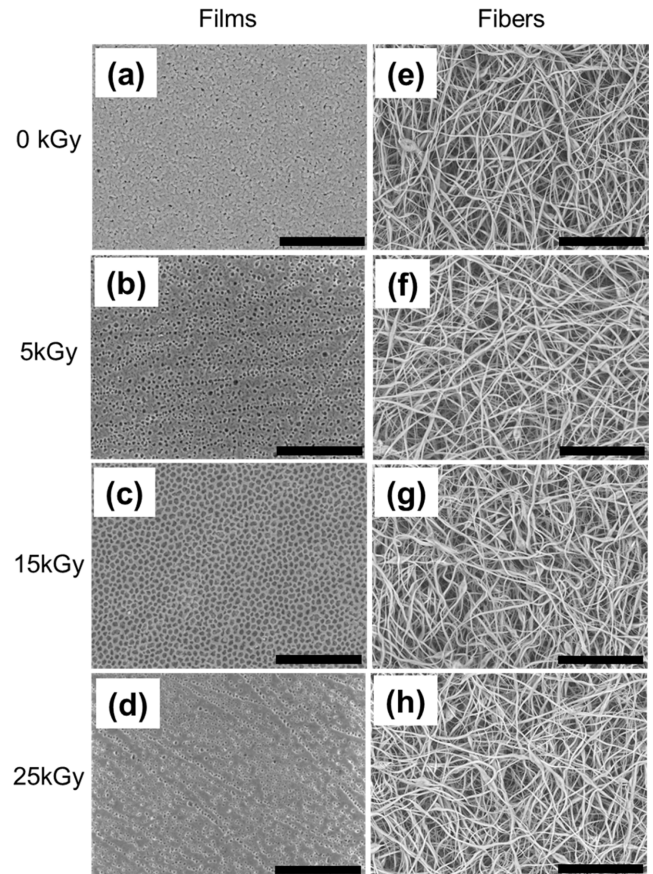
**단백질 흡착 평가.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유에 단백질이 흡착되는 양을 평가하기 위하여 단백질 흡착 평가를 진행하였다. 3 mm<sup>2</sup>의 biopsy punch를 이용하여 필름 및 나노섬유를 준비한 후 에탄올에 1분 담침한 후 증류수에 5분간 담침하여 96-well plate에 준비하였다. 다음으로 2 µg/mL의 BSA(bovine serum albumin) 용액을 PBS에 녹여 준비하여 각 필름 및 나노섬유에 200 µL씩 침착시켰다. 담지된 필름 및 나노섬유는 37 °C에서 2시간 동안 흡착시킨 후 PBS에 담침하여 3분씩 5번 세척하였다. 세척 후 1% SDS 용액 200 µL에 담지하여 1시간 동안 상온에서 교반하였고 micro BCA protein assay kit(Thermo scientific, USA)를 이용하여 흡착된 단백질을 정량분석하였다.<sup>36</sup> 추출된 SDS 용액에서 150 µL씩 96 well에 옮겨 담은 후 BCA 용액을 150 µL씩 첨가하였다. 37 °C에서 2시간 동안 반응시킨 후 UV-visible spectrometer(Cytation, Biotek, USA)를 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 BSA로 만들어진 단백질 standard curve에 따라 정량하였고 standard curve의 OD 값은 단백질 농도에 따라 선형으로 증가하였다.

**통계처리.** 모든 실험 결과의 통계처리는 각각의 시료에 대한 평균±표준오차로 나타내었으며, two-tailed unpaired student's *t*-test(Excel, Microsoft)로 *p*<0.05 수준에서 실시하여 평가하였다.

## 결과 및 토론

**PCL 필름과 나노섬유 지지체의 표면분석.** 감마선을 이용하여 AEMA가 도입된 필름 및 나노섬유의 형태학적 구조를 확인하기 위하여 주사전자현미경 분석을 진행한 결과 Figure 2(a)에서 보는 바와 같이 PCL 필름에서 기공을 확인할 수 있는데 이는 솔벤트 캐스팅법에 의해 제작될 때 용매가 증발하면서 기공이 형성되는 것으로 사료된다. 하지만, 표면처리 후 큰 변화가 없는 것을 확인할 수 있었다. 감마선이 조사되지 않은 PCL 나노섬유 지지체와 감마선 선량률에 따른 AEMA가 도입된 PCL 나노섬유 지지체는 Figure 2(e)-(h)에서 보는 바와 같이 형태학적인 변화가 거의 없었으며 매끈하고 균일한 표면을 확인하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 감마선 선량의 증가에 따른 AEMA의 개질 정도에 따라 PCL 나노섬유의 평균 두께가 증가한 것으로 보였으나 오차 범위 내에 존재하여 섬유 두께에 큰 차이가 없음을 확인하였다.

표면의 형태학적 구조에 큰 차이가 없기 때문에 감마선을 조사하지 않은 PCL 필름 및 나노섬유 지지체와 감마선을 이용하여 친수성 및 양전하의 특성을 갖는 단량체인 AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유 표면의 화학적 특성 및 반응기를 확인하기 위하여 전반사 적외선 분광 분석기 분석을 진

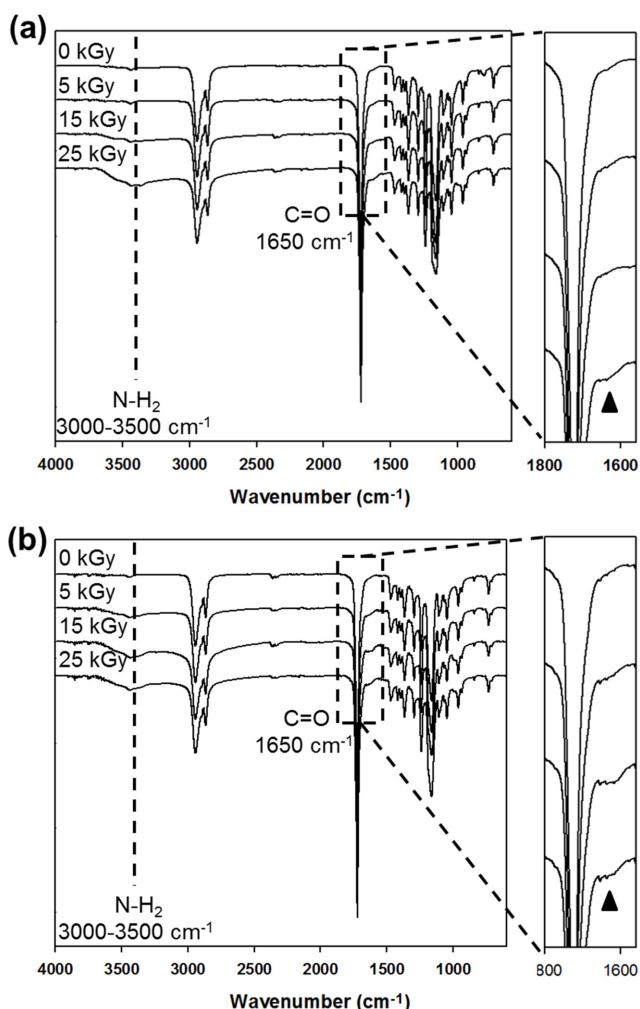


**Figure 2.** SEM images of AEMA-grafted PCL films (a-d); nanofibers (e-h) : (a, e) 0 kGy, (b, f) 5 kGy, (c, g) 15 kGy; (d, h) 25 kGy radiation dose (Scale bar: 100 µm).

**Table 1. Fiber Diameters of AEMA Grafted PCL Nanofibers**

Radiation dose (kGy)	Fiber diameters (µm)
0	1.11±0.70
5	1.12±0.74
15	1.14±0.74
25	1.25±0.92

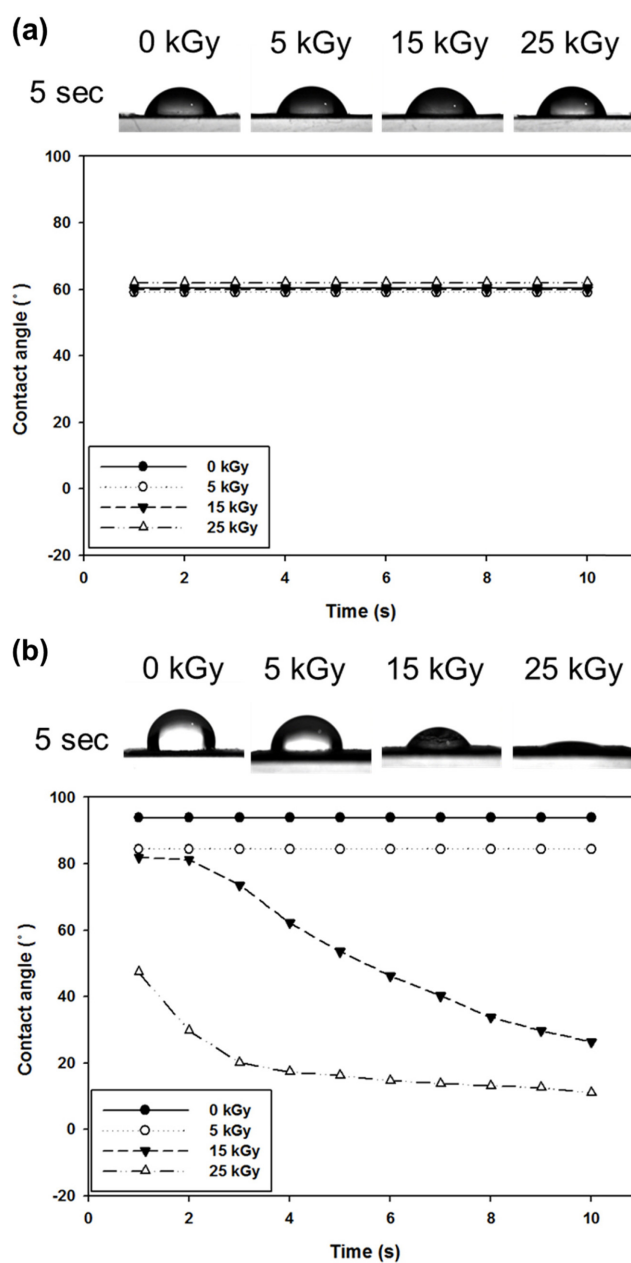
행하였다. Figure 3에서 보는 바와 같이 감마선 조사선량이 증가할수록 아민기를 갖는 AEMA에 의해 3000-3500 cm<sup>-1</sup>에서 N-H stretching 피크와 1610 cm<sup>-1</sup>에서 -NH<sub>2</sub> 피크가 증가하는 것을 확인하였다. Figure 3(a)에서 보는 바와 같이 필름에서는 0, 5, 15 kGy까지는 큰 차이가 없으나 25 kGy에서는 N-H stretching 피크 및 -NH<sub>2</sub> 피크가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Figure 3(b)에서 보는 바와 같이 나노섬유에서는 감마선 조사선량이 증가함에 따라 각 피크의 intensity 역시 더욱 증가되는 것을 확인하였다. 이를 통해 감마선 조사선량이 증가함에 따라 도입되는 AEMA의 양은 2차원적인 필름에서보다 3차원 구조를 갖는 나노섬유 지지체에서 증가하는



**Figure 3.** ATR-FTIR spectra of (a) AEMA-grafted films; (b) nanofibers by 0 (pure PCL), 5, 15, and 25 kGy radiation dose.

데 이는 필름에 비해 나노섬유의 표면적이 넓기 때문에 사료된다. 감마선 조사선량에 의해 양전하의 아민기를 갖는 AEMA 도입률이 증가할수록 음전하를 갖는 세포막이 전체적으로 밀접하게 부착되어 세포 성장이 향상될 것으로 사료된다. 이와 같이 비다공성 PCL 필름과 다공성 3차원 구조를 갖는 나노섬유 지지체에 독성을 갖는 화학물질을 사용하지 않고 친수성 단량체인 AEMA만을 이용하여 감마선 조사에 의해서 친수성과 양전하의 전기적 작용기를 도입할 수 있었다. 특히 세포의 기질같은 표면적인 넓은 3차원 나노섬유 구조를 갖는 생체재료의 친수성과 양전하가 높을수록 세포 부착 정도 및 면적이 증가된다고 보고하였다. 이를 바탕으로 최근에는 이러한 생체재료와 세포의 분화 및 접촉면에 대한 형태학적 및 생물학적 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다.<sup>14,16</sup>

친수성 단량체인 AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유 지지체의 친수화도를 확인하기 위하여 접촉각 분석을 진행하

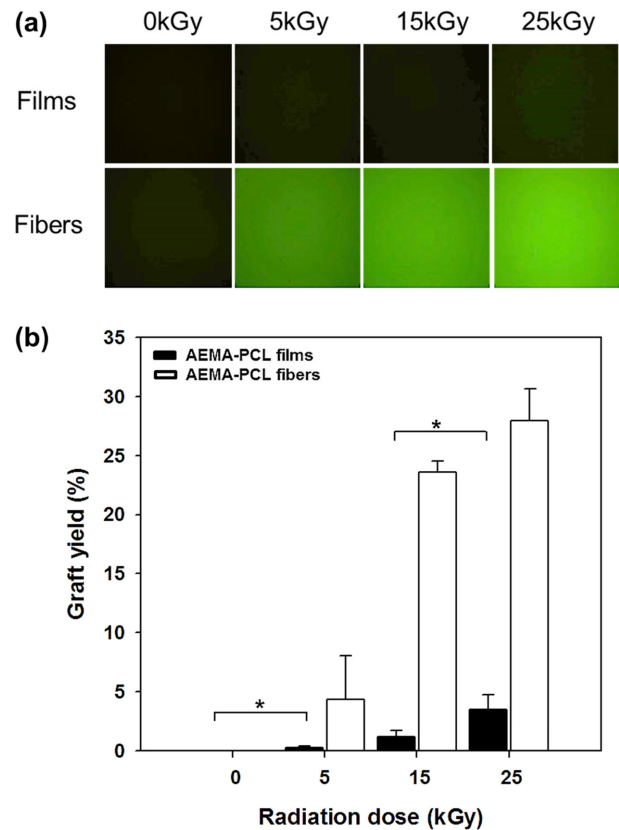


**Figure 4.** Morphologies of water droplet and static water contact angles on (a) AEMA-grafted films; (b) nanofibers by 0 (pure PCL), 5, 15, and 25 kGy radiation dose.

였다. AEMA가 도입되지 않은 PCL은 물이 흡수되지 않는 소수성 표면을 보일 것으로 예상하였고 AEMA가 도입될 경우 AEMA에 의해 친수성 표면을 보일 것으로 예상하였다.<sup>35</sup> 하지만, Figure 4(a)에서 보는 바와 같이 필름에서는 PCL 및 AEMA가 도입된 PCL 필름 모두 59~62° 사이의 접촉각을 보였고 10초 동안 시간이 지나도 물이 흡수되지 않는 소수성 표면을 보였다. 이는 필름에서는 감마선 조사에 의해 도입된 아민기를 갖는 친수성 단량체 AEMA가 아주 소량 개질되어

PCL 필름 표면 전하의 양에 큰 차이를 보이지 않았기 때문 일 것으로 사료된다. 반면에, Figure 4(b)에서 보는 바와 같이 나노섬유에서는 감마선 조사선량이 증가할수록 친수성 단량 체인 AEMA가 도입량이 증가함에 따라 친수성이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 감마선을 조사하지 않은 PCL 나노 섬유 지지체에서는 93.86°의 접촉각을 보이며 시간이 지나도 물이 흡수되지 않는 소수성 표면을 나타내었고 5 kGy의 감 마선 조사선량에서 AEMA가 도입된 PCL 나노섬유는 84.40°의 접촉각으로 PCL에 비해 낮아진 접촉각을 보였으나 PCL 과 마찬가지로 시간이 지나도 물이 흡수되지 않는 소수성 표 면을 나타냈다. 이는 필름에서와 같이 감마선 조사에 의해 도 입된 AEMA가 아주 소량 개질되어 PCL 필름 표면 전하의 양에 큰 차이를 보이지 않았기 때문일 것으로 사료된다. 하 지만, 15, 25 kGy의 감마선 조사선량에서 AEMA가 도입된 PCL 나노섬유에서는 81.80°, 47.31°의 접촉각으로 감마선 조 사선량이 증가함에 따라 접촉각이 감소하였고 시간이 지남에 따라 물이 흡수되는 친수성 표면을 나타내었다. 이는 3차원 다공성 구조를 갖는 나노섬유의 구조에 친수성을 나타내는 AEMA가 도입됨에 따라 친수성이 증가하여 3차원적인 나노 섬유 지지체 속으로 빨리 흡수되는 것으로 사료된다.

한편, 양전하의 아민기를 갖는 AEMA가 도입된 PCL 표면 에서 AEMA를 확인하기 위하여 아민기와 반응하여 형광을 발 현하는 fluorescamine 염색을 진행하였다. Figure 5(a)에서 보 는 바와 같이 AEMA가 개질된 PCL 필름에서는 fluorescamine 에 의한 형광이 거의 발현되지 않음을 확인하였다. ATR-FTIR 분석을 통해 조사선량이 25 kGy일 때 AEMA가 개질된 PCL 필름 표면에서 AEMA의 아민기를 확인할 수 있었지만, 아 민기를 갖는 AEMA가 도입된 모든 PCL 필름과 반응한 fluorescamine의 형광 발현이 낮아 현미경으로는 확인할 수 없었다. 하지만, PCL 나노섬유에서는 감마선 조사선량이 증 가할수록 도입된 AEMA량이 증가되어 강한 형광이 나타남 을 확인하였다. 이를 통해 표면적인 적은 필름보다는 표면적 이 증가된 나노섬유에서 조사선량이 증가함에 따라 더 많은 양의 AEMA가 도입되고 이에 따라 말단의 아민 그룹이 증 가하여 강한 형광을 나타냄을 확인할 수 있었다. 감마선 조 사선량에 따른 AEMA의 도입량을 확인하기 위하여 무게의 비율을 통해 그래프트율 측정을 진행하였다. Figure 5(b)에서 보는 바와 같이 감마선 조사선량이 증가함에 따라 그래프트 율이 증가함을 확인할 수 있었다. Table 2에서 보는 바와 같 이 필름에서보다 나노섬유의 표면적이 넓기 때문에 그래프트 되는 양이 많기 때문으로 사료된다. 또한 25 kGy에서 조사된 PCL 필름과 5 kGy에서 조사된 PCL 나노섬유에서 AEMA의 그래프트율은 유사하지만 fluorescamine의 형광 발현에서 차 이가 나는 이유는 형광현미경으로 측정 시 2차원적 구조의 필름보다 3차원 구조를 갖는 나노섬유의 표면에서 균일하게 개질된 AEMA와 결합된 fluorescamine의 형광이 산란되는



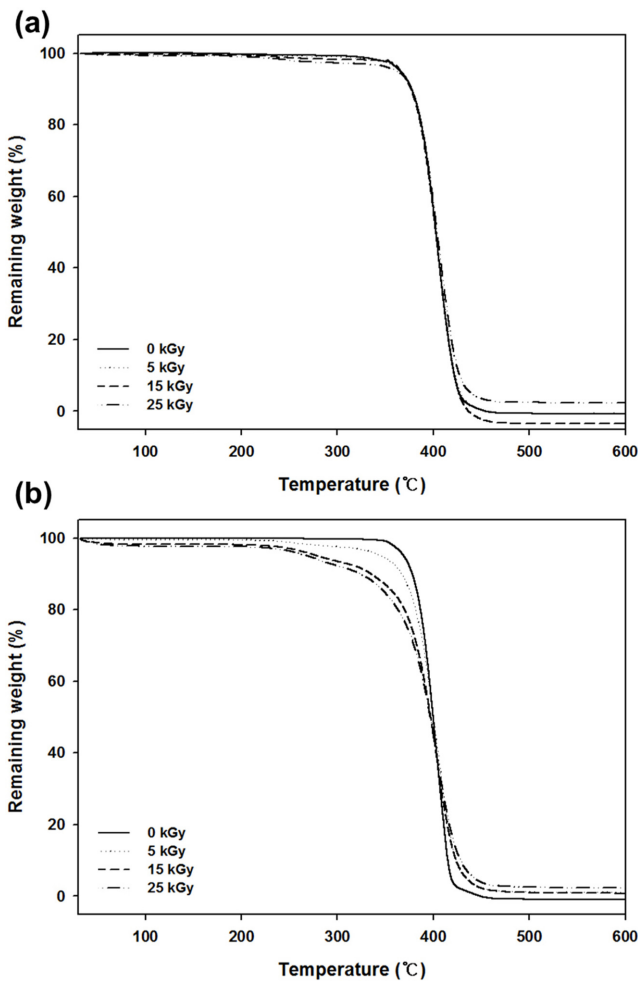
**Figure 5.** (a) Fluorescamine staining; (b) graft yield of AEMA-grafted films and nanofibers by 0 (pure PCL), 5, 15, and 25 kGy radiation dose. \*Corresponds to a  $p > 0.05$ , no-mark corresponds to a  $p < 0.05$ .

**Table 2. Graft Yield of AEMA-Grafted PCL Films and Nanofibers**

Radiation dose (kGy)	Graft yield (%)	
	Films	Nanofibers
0	0	0
5	0.28±0.11	4.37±3.67
15	1.19±0.51	23.62±0.87
25	3.48±1.26	27.96±2.70

양에 차이가 있기 때문으로 사료된다.

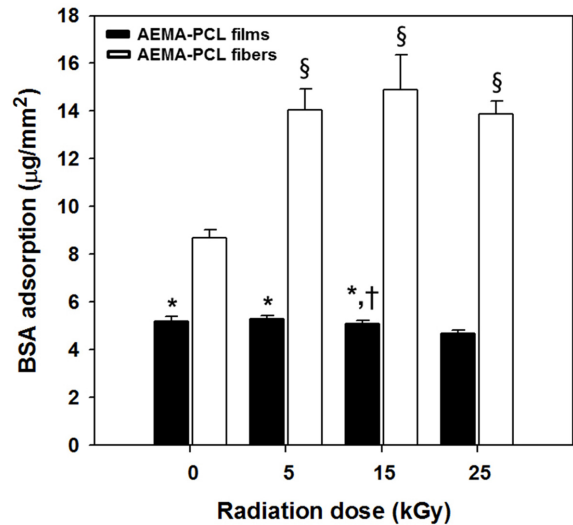
더욱더, PCL 필름 및 나노섬유에 도입된 AEMA의 중량 및 열적 특성을 확인하기 위하여 열 중량 분석기 분석을 진 행하였다. Figure 6(a)에서 보는 바와 같이 필름에서는 PCL 과 AEMA가 도입된 PCL의 분해온도가 약 370 °C로 큰 차 이가 없었지만 감마선 조사선량이 증가할수록 분해온도까지 의 중량변화가 증가함을 확인할 수 있었다. 반면, Figure 6(b) 에서 보는 바와 같이 나노섬유에서는 감마선 조사선량이 0, 5, 15, 25 kGy로 증가함에 따라 초기 열분해온도가 약 370,



**Figure 6.** TGA curves of (a) AEMA-grafted PCL films; (b) nano-fibers by 0 (pure PCL), 5, 15, and 25 kGy radiation dose.

368, 364, 360 °C로 점차 감소함을 확인하였고 초기 열분해 온도까지의 중량감소가 약 5, 12, 21, 24%로 필름에 비해 확실하게 증가함을 확인할 수 있었다. 이는 AEMA가 도입됨에 따라 AEMA가 먼저 분해되어 중량이 감소되고 초기 열분해 온도도 낮아지는 것으로 사료된다.

**PCL 필름 및 나노섬유 지지체의 단백질 흡착성.** AEMA가 도입된 PCL 필름 및 나노섬유에 단백질이 흡착되는 양을 확인하기 위하여 알부민(bovine serum albumin, BSA)을 이용하여 단백질 흡착 평가를 진행하였다. Figure 7에서 보는 바와 같이 필름에서는 PCL과 AEMA가 도입된 PCL에서 단백질 흡착량에 큰 차이가 없는 것을 확인하였다. 이는 필름에서는 감마선 조사에 의해 도입된 아민기를 갖는 친수성 단량체인 AEMA가 아주 소량 개질된 PCL 필름과 감마선 처리 되지 않은 소수성 PCL 필름이 유사하게 친수성에서 큰 차이를 보이지 않았기 때문에 단백질 흡착성이 차이가 없는 것을 확인하였다. 하지만, 감마선을 이용하여 양전하의 아민



**Figure 7.** Protein adsorption of AEMA-grafted PCL films and nanofibers of BSA adsorption with 0 (pure PCL), 5, 15, and 25 kGy radiation dose. \*Corresponds to a  $p < 0.05$  in comparison with 25 kGy AEMA-PCL films, †Corresponds to a  $p < 0.05$  in comparison with 5 kGy AEMA-PCL films, and §Corresponds to a  $p < 0.05$  in comparison with 0 kGy AEMA-PCL fibers.

기 및 친수성 단량체인 AEMA가 도입된 PCL 나노섬유 지지체에서 표면처리 되지 않은 소수성 PCL 나노섬유 지지체에 비해 BSA의 흡착량이 증가하는 것을 확인하였다. 친수성 및 소수성 표면을 갖는 생체재료를 비교했을 때 친수성 표면이 세포의 점착과 증식이 증가되는 이유는 친수성 및 소수성 표면에서의 혈액 성분으로부터 흡수된 단백질의 배열에서 차이가 나기 때문이다. 또한 방사선 선량이 증가할수록 AEMA의 도입량이 증가됨에 따라 친수성 및 양전하의 아민기가 증가되어 양전하를 갖는 AEMA가 도입된 PCL 나노섬유 지지체와 음전하를 갖는 단백질 사이에서 정전기적 인력이 형성된다는 것을 알 수 있었다.

## 결론

기존의 생분해성 고분자는 세포부착에 관여하는 생체활성 리간드가 없고 소수성 표면을 보여 낮은 세포 부착성을 보인다. 따라서 본 연구에서는 조직공학용 지지체로의 응용 가능성을 확인하기 위해 비다공성 PCL 필름과 3차원적 구조를 갖는 다공성 나노섬유 지지체의 표면에 양전하의 아민기 및 친수성을 갖는 단량체인 AEMA를 감마선 조사를 통해 도입하였다. AEMA를 도입하기 위하여 화학 첨가물 없이 표면 개질이 가능한 방법인 감마선 조사 방법을 이용하였고 조사 선량에 따라 AEMA의 도입량을 조절하였다. 제작된 필름 및 나노섬유 지지체는 아민기의 도입을 확인하기 위하여 전반사 적외선 분광기를 통해 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$ 에서의 N-H 피크와

1610  $\text{cm}^{-1}$ 에서의  $-\text{NH}_2$  피크를 확인하였다. 또한 친수성으로의 표면 개질을 확인하기 위하여 접촉각을 측정한 결과, 필름에서는 아주 소량의 AEMA가 도입되어 차이가 없고 나노섬유 지지체에서는 3차원적 구조에 의한 표면적의 증가로 필름에 비해 다량의 AEMA가 도입되어 친수화도가 증가한 것을 확인하였다. BSA 흡착성 평가 결과, 마찬가지로 필름에서는 아주 소량의 AEMA가 도입되어 친수성에 큰 차이를 보이지 않아 BSA 흡착성에 큰 차이가 없는 것을 확인하였고, 나노섬유 지지체에서는 소수성의 PCL에 비해 AEMA가 도입되어 친수성이 증가된 PCL 지지체에서 BSA의 흡착성이 증가하는 것을 확인하였다. 위의 결과로 보아 제작된 필름 및 나노섬유 지지체는 AEMA가 도입됨으로써 지지체 표면에 양전하를 갖고 친수화도가 증가할 것으로 예상된다. 또한 감마선 조사선량을 조절해주어 표면에 도입되는 AEMA의 양을 조절할 수 있고 이를 통해 표면의 친수화도와 양전하의 양을 조절하여 단백질 흡착을 조절할 수 있을 것으로 사료되며 이는 세포의 부착을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 AEMA가 도입된 지지체는 조직공학용 지지체로서의 응용 가능성이 있을 것으로 생각된다. 하지만, 표면 양전하의 증가로 인한 단백질 흡착량 증가는 빠른 세포 부착에 영향을 주는 장점이 있는 반면 단백질 흡착 증가로 인한 혈전이 형성될 수 있다는 단점이 있다. 이러한 단점을 보완하기 위해 표면에 항응고성을 부여하여 혈전 형성을 막기 위한 연구 및 보완이 필요할 것으로 사료된다.

**감사의 글:** 본 연구는 미래창조과학부에서 주관하는 원자력연구개발사업(과제번호: 2012M2A2A6013196)의 지원에 의해 이루어진 것으로, 이에 감사드립니다.

## 참고 문헌

- I. K. Ko, James J. Yoo, A. Anthony, and S. J. Lee, *Polymer Science and Technology*, **22**, 17 (2011).
- Y. M. Shin and H. Shin, *Polymer Science and Technology*, **18**, 458 (2007).
- J. H. Lee and H. W. Kim, *KSBMB News*, **9**, 32 (2011).
- J. M. Bourget, R. Gauvin, D. Larouche, A. Lavoie, R. Labbé, F. A. Auger, and L. Germain, *Biomaterials*, **33**, 9205 (2012).
- P. Karuppuswamy, J. R. Venugopal, B. Navaneethan, A. L. Laiva, S. Sridhar, and S. Ramakrishna, *Appl. Surf. Sci.*, **322**, 162 (2014).
- X. Wang, B. Ding, and B. Li, *Materials Today*, **16**, 229 (2013).
- A. G. Mikos and J. S. Temenoff, *Electron. J. Biotechnol.*, **3**, 1 (2000).
- S. Zang, R. Zhang, H. Chen, Y. Lu, J. Zhou, X. Chang, G. Qiu, Z. Wu, and G. Yang, *Mater. Sci. Eng. C*, **46**, 111 (2015).
- S. A. Park, J. H. Lee, and W. Kim, *Elast. Compos.*, **44**, 106 (2009).
- T. Y. Kang, J. M. Hong, B. J. Kim, H. J. Cha, and D. W. Cho, *Acta Biomater.*, **9**, 4716 (2013).
- C. Y. Xu, R. Inai, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, *Biomaterials*, **25**, 877 (2004).
- S. I. Jeong, J. H. Kwon, J. I. Lim, S. W. Cho, Y. Jung, W. J. Sung, S. H. Kim, Y. H. Kim, Y. M. Lee, B. S. Kim, C. Y. Choi, and S. J. Kim, *Biomaterials*, **26**, 1405 (2005).
- H. S. Yang, K. Park, K. D. Ahn, B. S. Kim, and D. K. Han, *Polym. Korea*, **30**, 168 (2006).
- S. K. Kim, S. H. Jung, S. H. Jung, H. Seong, S. C. Chi, S. H. Cho, and B. C. Shin, *J. Korean Chem. Soc.*, **52**, 57 (2008).
- J. H. Sung, S. S. Kim, Y. S. Kim, N. Y. Lyou, K. S. Jeong, S. Y. Shin, and Y. K. Woo, *J. Korean Orthop. Assoc.*, **32**, 919 (1997).
- M. Ohgaki, T. Kizuki, M. Katsura, and K. Yamashita, *J. Biomed. Mater. Res.*, **57**, 366 (2001).
- J. E. Davies, B. Causton, Y. Bovell, K. Davy, and C. S. sturt, *Biomaterials*, **7**, 231 (1986).
- J. S. Park and Y. J. Lim, *J. Korean Acad. Osseointegr.*, **5**, 5 (2013).
- D. Y. Kim, H. Park, and K. Y. Lee, *Polym. Korea*, **39**, 412 (2015).
- D. P. Dowsing, I. S. Miller, M. Ardhauoui, and W. M. Gallagher, *J. Biomater. Appl.*, **26**, 327 (2011).
- S. Jeon and H. Noh, *Polym. Korea*, **36**, 338 (2011).
- Y. M. Shin, H. Shin, and Y. M. Lim, *Macromol. Res.*, **18**, 472 (2010).
- J. H. Lee and S. K. Kim, *Polym. Korea*, **21**, 332 (1997).
- A. Vesel and M. Mozetic, *Vacuum*, **86**, 643 (2012).
- D. I. Proskurovsky, V. P. Rotshtein, G. E. Ozur, Yu. F. Ivanov, and A. B. Markov, *Surf. Coat. Technol.*, **12**, 49 (2000).
- J. Choi, H. J. Jung, B. J. Park, Y. K. Joung, K. Park, and D. K. Han, *Polym. Korea*, **36**, 357 (2011).
- J. O. Jeong, S. I. Jeong, Y. M. Shin, J. S. Park, H. J. Gwon, S. J. An, J. B. Huh, H. Shin, and Y. M. Lim, *Polym. Korea*, **39**, 1 (2015).
- J.-H. Choi, Y.-J. Lee, Y.-M. Lim, P. H. Kang, J. Shin, and Y.-C. Nho, *Polymer Science and Technology*, **18**, 253 (2007).
- X. Ping, M. Wang, and X. Ge, *Radiat. Phys. Chem.*, **80**, 567 (2011).
- J. B. Choi, S. I. Jeong, H. J. Gwon, J. S. Park, Y. C. Nho, Y. H. Choi, K. J. Park, M. Y. Park, H. Shin, and Y. M. Lim, *J. Radiat. Ind.*, **6**, 159 (2012).
- Y. M. Shin, K. S. Kim, Y. M. Lim, Y. C. Nho, and H. Shin, *Biomacromolecules*, **9**, 1772 (2008).
- J. O. Jeong, S. I. Jeong, Y. M. Shin, J. S. Park, H. J. Gwon, S. J. An, J. B. Huh, H. Shin, and Y. M. Lim, *Polym. Korea*, **39**, 1 (2015).
- S. I. Jeong, M. D. Krebs, C. A. Bonino, S. A. Khan, and E. Alsberg, *Macromol. Biosci.*, **10**, 934 (2010).
- J. H. Woo, Y. S. Seo, and K. J. Yoon, *Text. Sci. Eng.*, **43**, 107 (2006).
- A. Higuchi, K. Sugiyama, B. O. Yoon, M. Sakurai, M. Hara, M. Sumita, S. Sugawara, and T. Shirai, *Biomaterials*, **24**, 3235 (2003).
- S. I. Jeong, J. O. Jeong, J. B. Choi, Y. M. Shin, J. S. Park, H. J. Gwon, Y. C. Nho, S. J. An, M. Y. Park, and Y. M. Lim, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **11**, 56 (2014).