

## XPS와 AFM에 의한 올리고펩타이드의 자기 집합화 단분자막 분석

송성훈 · 박진영 · 김우식\* · Chikashi Nakamura\*\* · Jun Miyake\*\* · 장상목†

동아대학교 화학공학과  
604-714 부산시 사하구 하단2동 840  
\*경희대학교 화학공학과  
449-701 용인시 기흥읍 서천리 1  
\*\*티슈엔지니어링 연구센터, 산업기술융합연구소  
1-1-1 Higashi, Tsukuba 305-8562, Japan  
(2002년 7월 30일 접수, 2002년 11월 2일 채택)

## Analysis of Oligopeptide Self-Assembled Monolayer Using XPS and AFM

Seong-Hun Song, Jin-Young Park, Woo-Sik Kim\*, Chikashi Nakamura\*\*, Jun Miyake\*\* and Sang-Mok Chang†

Department of Chemical Engineering Dong-A University, 840 Hadan 2-dong, Saha-gu, Busan 604-714, Korea

\*Department of Chemical Engineering Kyunghee University, 1 Seochun-ri, Kiheung-eup, Yongin 449-701, Korea

\*\*Tissue Engineering Research Center, The National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,  
1-1-1 Higashi, Tsukuba 305-8562, Japan

(Received 30 July 2002; accepted 2 November 2002)

### 요 약

금속 기판 위에 유기 박막을 형성하는 방법 중에서 티올기와 Au와의 결합을 이용한 자기집합화에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 포르피린 유도체와 강하게 결합하는 티올기를 가지는 올리고펩타이드 PSP1과 PSP2를 합성하여 MOPS 완충용액에서 금표면에 자기집합화 단분자막(self-assembled monolayer; SAM)을 형성시켜 X-ray photoelectron spectroscopy(XPS)와 atomic force microscopy(AFM)을 이용하여 분석하였다. 그 결과 PSP2의 경우가 PSP1의 경우보다 Au 표면에서 SAM이 더욱 더 잘 형성되고 있음을 알 수 있었고 MOPS 완충용액에 존재하는 황 이온의 영향도 알 수 있었다. 이 결과는 구성단위로부터 이론적으로 계산한 SAM막의 steric energy 값의 차이에서 유추한 결론과 일치하였다.

**Abstract** – Recently, the self-assembled monolayer(SAM) of thiols on noble metals has been studied intensively. Oligopeptides such as PSP1(Tyr-Ala-Gly-Tyr-Cys) and PSP2(His-Ala-Ser-Tyr-Ser-Cys) with thiol group, which interact strongly with a typical cationic porphyrin derivative, are synthesized. Peptides adsorption from the liquid phase on Au has been studied using X-ray photoelectron spectroscopy(XPS) and AFM image. XPS provides further evidence that the primary adsorbate species is bonded to Au through the sulfur atom. By the analysis of XPS spectra and AFM image, it is found that PSP2 is self-assembled better than PSP1 and the sulfur ion in MOPS buffer solution has an effect on the self-assembling performance. This result is coincident with the calculation result of steric energies of Au-Peptide bonded SAM structure.

Key words: Self-Assembly, Self-Assembled Monolayer(SAM), XPS, AFM

### 1. 서 론

1983년 Nuzzo와 Allrar[1]가 Au 기판 위에 디설파이드가 흡착되는 것을 발견한 이래, 금속의 표면 위에 생체 분자와 같은 유기 분자를 결합시키는 연구[2, 3]가 계속적으로 활발하게 진행되고 있다. 이처럼 금속의 기판 위에 형성된 유기 박막인 자기 집합화 단분자막(self-assembled monolayer; SAM)은 금속이나 반도체 기판 위에 선택적으로 흡착될 수 있는 얇은 유기 단분자막[4]으로, 금속이나 반도체 기판 위에 유기 분자

박막을 만드는 연구는 다양하게 진행되어 오고 있으며, 앞으로도 계속적인 연구가 진행될 것이다.

유기 박막에 대한 연구는 Langmuir-Blodgett(LB)법과 진공 증착법과 같은 방법이 최초로 수행되었지만, LB법과 진공증착법과 같은 경우에는 특수한 장치를 필요로 한다.

그러나 티올기와 금속과의 강한 흡착력과 분자간의 상호 작용으로 인해 형성되는 SAM은, 방법은 간단하지만 아주 안정한 단분자층을 형성하게 된다. 규칙적인 원자 배열을 한 Au(111)등의 단결정 기판을 이용하면, SAM도, 이차원적인 규칙의 구조를 나타낸다[5]. 이 구조는 기판의 원자간 거리와 분자의 크기와 형태에 의존한다. 자기 집합화 방법은 티올기를 포함하고 있는 용액에 금, 은 등의 금속판을 단순히 담그는

†To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: smjang@mail.donga.ac.kr

행위만으로도 티올기가 금속 표면에 흡착되면서 규칙적으로 배열되는 SAM을 형성하게 된다. 티올분자는 금 원자 밀도의 3분의 1의 밀도로 금원자의 3개의 원자 중심의 홀인 할로사이드에 흡착하여, 그 결과 이웃한 티올분자의 최단거리는 금원자의 최단거리의  $\sqrt{3}$ 배가 된다는 것이다[6, 7]. 이러한 성질을 이용하여 바이오센서, 방식, 생물 분자의 전자 소자와 같은 다양한 응용 연구[8, 9]도 행해지고 있다. 전기화학 분야에 있어서는 전극 표면에 기능성을 부여한다는 관점에서 주로 연구되고 있고, 전극/전해질 계면과 같은 다양한 계면 현상 연구[10]의 기초 모델로서도 많은 연구가 진행되고 있다.

공기 중에서도 진공에서 SAM의 형성 과정에 대한 연구가 진행되고 있으나, SAM 형성시 박막의 특성이나 표면 구조를 분석하기 위하여 scanning tunneling microscopy(STM)[11, 12]에 의한 보고도 있다. 티올과 Au의 결합 상태를 평가하기 위해서는 X-ray photoelectron spectroscopy(XPS)[13-18]에 의한 분석도 있다. 그 외에도 다양한 분석 방법을 사용하고 있으나, 본 실험에서는 합성 펩타이드에 의해 형성된 SAM을 관찰하고, 형성된 SAM의 표면 특성을 분석하기 위하여 XPS와 표면 형상 분석을 위하여 atomic force microscopy(AFM)를 이용하여 조사 비교하였다.

본 논문에서는 합성 펩타이드의 종류에 따라 형성된 SAM을 XPS와 AFM으로 비교 분석하고, 그 실험 결과와 steric energy 이론치와 비교하고자 하며, 최종적으로 이렇게 얻어진 데이터로 하여금 이 합성 펩타이드에 생체 분자에서 중요한 역할을 담당하고 있는 포르피린과 같은 관능기를 도입하여 고선택적 펩타이드 센서로서의 가능성을 검토하는데 그 목적이 있다.

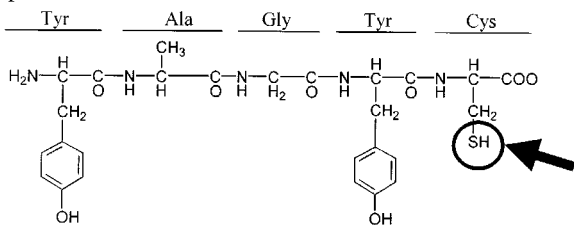
## 2. 실험

본 실험에 사용한 합성 펩타이드 PSP1과 PSP2의 구조를 Fig. 1에 나타내었다. 자기집합화가 일어날 수 있도록 티올기가 있는 Cys를 각각 가지고 있는 PSP1(Tyr-Ala-Gly-Tyr-Cys)과 PSP2(His-Ala-Ser-Tyr-Ser-Cys)는 Fmoc 고상 합성 방법[19]을 이용한 펩타이드 합성장치(PepPlus 9050 synthesizer)로 합성하였고, 정제하지 않은 펩타이드는 역상 HPLC 시스템과 LibraKit RPC18 칼럼(Shimadzu)을 사용하여 정제한 후 사용하였다.

아르곤가스를 주입시켜 공기를 제거한 상태에서 진공도 약 0.003 Pa에서 mica 위에 Au를 2,000Å으로 스파터링 한 후 Au 기판을 Au(111) 구조로 재배열하기 위하여 스파터링 장치 내에서 45 °C로 12시간 annealing하여 사용하였다.

자기 집합화는 Trifluorethanol과 10 mM MOPS buffer용액에 0.5 mM

### PSP1



### PSP2

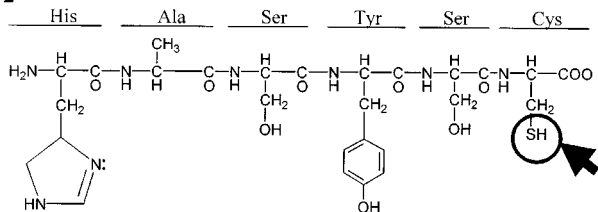


Fig. 1. Structures of PSP1 and PSP2.

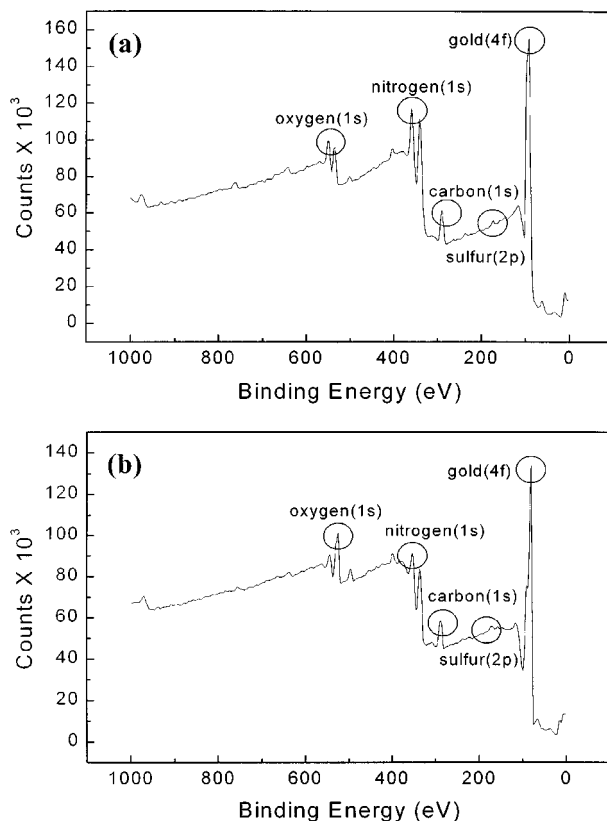


Fig. 2. High-resolution Al K-α induced XPS spectra of the wide range of binding energy from a PSP1(a) and PSP2(b).

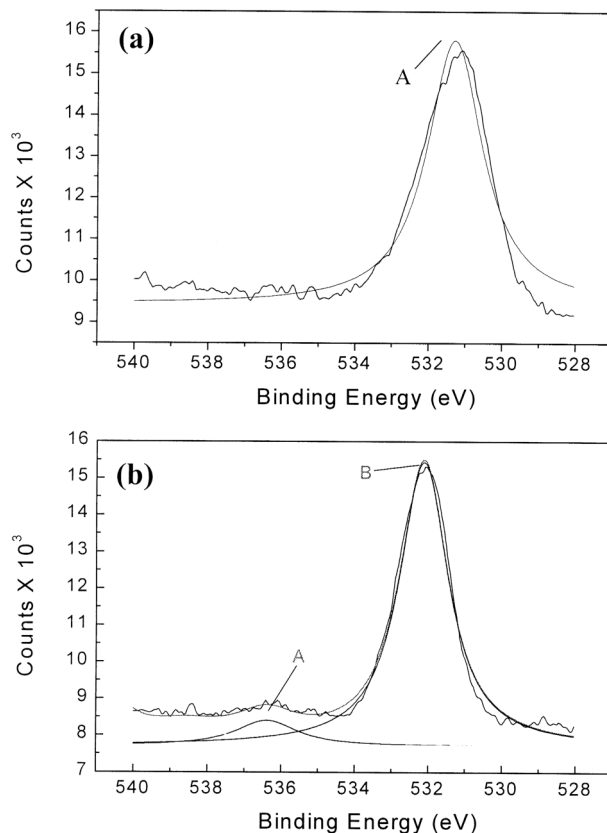


Fig. 3. High-resolution Al K-α induced XPS spectra of the oxygen(1s) core levels from a PSP1(a) and PSP2(b) (A: from C-O binding).

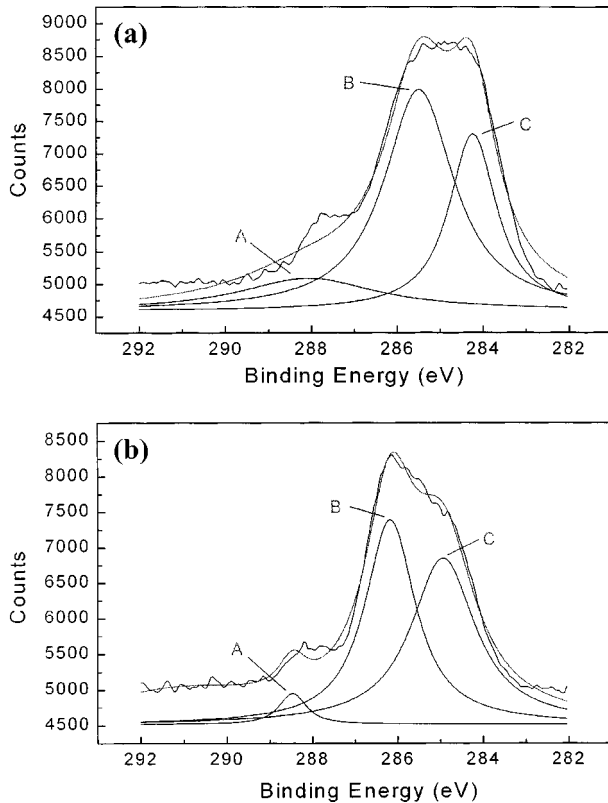


Fig. 4. High-resolution Al K- $\alpha$  induced XPS spectra of the carbon(1s) core levels from a PSP1(a) and PSP2(b) (B: from benzene group, C: from  $\text{CH}_2\text{-S}$ ).

의 펩타이드를 용해시킨 용액에서 12시간동안 인큐베이터 내에서 실시하였고, Au 표면에서의 SAM의 결과는 XPS와 AFM를 통하여 확인하였다.

### 3. 결과 및 고찰

자기 집합화는 단순히 금속의 기판을 티올기가 들어 있는 용액에 담그는 행위에 의해 일어나고, 이는 티올기의 황 원소와 금속의 원자가 강하게 흡착하여 형성되는 유기 박막이므로 각각의 합성 펩타이드 PSP1과 PSP2와 Au 기판과의 결합 정도를 측정하기 위하여 Al K- $\alpha$  입사광을 이용하여 여기시킨 광전자의 XPS 스펙트럼을 조사하여 얻은 결과를 각각 Fig. 2(a)와 (b)에 나타내었다. 그리고 XPS의 측정으로부터 얻어진 데이터에서 각각의 원소에 해당하는 피크를 Gaussian/Lorentzian fitting 방법을 이용하여 분석하고 산소, 탄소, 황의 각 원소에 대하여 살펴보았다.

산소 원소에 대한 XPS 스펙트럼 해석 결과는 Fig. 3(a)와 (b)에 나타내었고, 탄소 원소에 대한 해석은 Fig. 4(a)와 (b)에 나타내었다. 그리고 자기 집합화에 있어서 가장 중심이 되고 있는 황 원소에 대한 해석 결과를 Fig. 5(a)와 (b)에 나타내었다. 첫 번째로 산소(1s) 코어 레벨의 분석에 있어서 PSP1(Fig. 3(a))의 경우에는 결합에너지가 531.90 eV인 곳에서 한 개의 피크가 나타난 것에 비하여 PSP2(Fig. 3(b))의 경우에는 532.24 eV에서 또 다른 하나의 피크를 더 보여 주고 있다.

탄소(1s) 코어 레벨 분석에서는 PSP1(Fig. 4(a))과 PSP2(Fig. 4(b))에서 거의 유사한 피크를 보여 주고 있다.

자기 집합화의 주요 역할을 담당하고 있는 황(2p) 코어 레벨에 대한 분석 결과를 살펴보면 PSP1(Fig. 5(a))에서는 5개의 피크를 PSP2 (Fig. 5(b))에서는 6개의 피크가 나타나고 있다. 각각 피크에서 결합에너지 168-170 eV는 MOPS 완충용액의  $\text{SO}_3$ 의 황 원자를 나타내며 161-165 eV

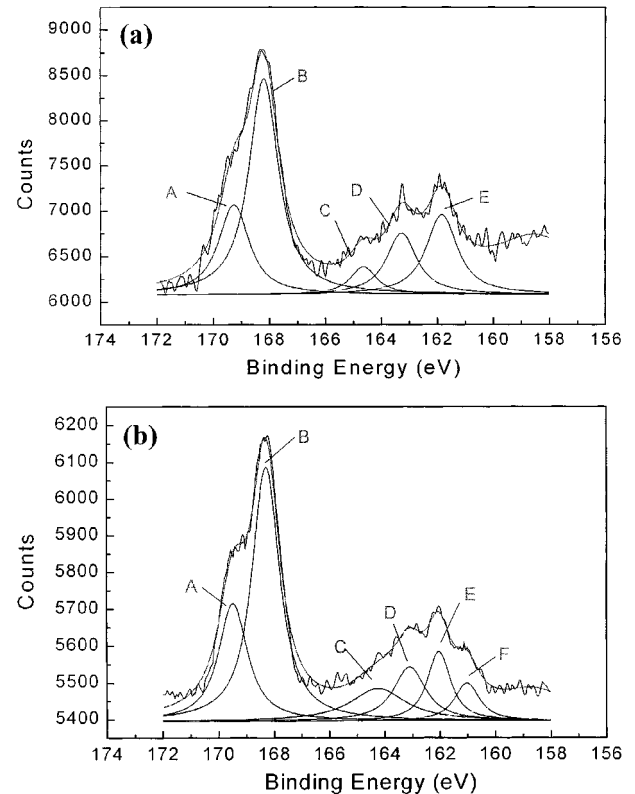


Fig. 5. High-resolution Al K- $\alpha$  induced XPS spectra of the sulfur(2p) core levels from a PSP1(a) and PSP2(b) (A, B: from  $\text{SO}_3$  of MOPS, C: from SH of unbinding PSP2, D, E, F: from SH of binding PSP2).

는 PSP1, PSP2의 티올기의 S를 나타낸다. 황의 XPS 2p 피크는 항상  $2p_{1/2}$ 과  $2p_{3/2}$ 의 두개의 피크가 관찰되는데 결합에너지 169.5 eV 부근의 A 피크는  $2p_{1/2}$ 에 해당하며, 168.2 eV 부근의 B 피크는  $2p_{3/2}$ 에 해당된다. 본 실험에서는 이 두 피크의 면적을 합해서 비교하였다. 티올기 중 165 eV 부근은 화학적 결합이 아닌 물리적 흡착을 나타내며, 161-163 eV 부근 이 화학적 결합한 티올기를 나타낸다. 이들 피크의 면적을 계산하여 비교하면 MOPS 완충용액 중 황 이온과 올리고 펩타이드의 금 기판 표면에서의 흡착 혹은 결합한 상대적인 양을 비교할 수 있다. 이들 피크를 분석한 결과 PSP1 한 분자가 Au와 물리적으로 흡착되었을 때, 약 두 배에 해당하는 두 분자의 PSP1이 Au와 화학적으로 결합되어 있음을 알 수 있고 또 12분자의  $\text{SO}_3$ 이온이 Au와 흡착내지 결합을 하고 있음을 알 수 있다. 그리고 PSP2한 분자가 Au와 물리적으로 흡착하고 있을 때 그 세 배인 세 분자의 PSP2가 Au와 화학적 결합을 하고 있음을 알 수 있고, 또 12분자의  $\text{SO}_3$ 이온이 Au와 흡착내지 결합을 하고 있음을 알 수 있다.

즉 PSP2의 경우, 티올 한 분자가 Au 표면 위에 SAM을 형성할 때 MOPS 완충용액 중  $\text{SO}_3$  작용기 6분자가 Au와 결합을 하고 PSP1의 경우 티올 한 분자가 Au표면 위에 SAM을 형성할 때 MOPS 완충용액 중  $\text{SO}_3$  작용기 4분자가 Au와 결합을 하고 있음을 알 수 있다. 즉 MOPS 완충용액 속에서 PSP2가 PSP1보다 1.5배정도 더 많이 결합하고 있음을 알 수 있다. 그러나 티올에 의한 SAM막의 형성시, 완충용액 중의 황이온의 영향을 심각하게 고려해야 할 것이다.

Fig. 6(a)와 (b)에서 황 원소에 결합하는 Au(4f) 코어 레벨의 피크를 분석하면 Au 표면 위에 흡착된 SAM막의 두께를 계산할 수 있다. SAM 형성 후에도 Au가 관찰되고 있는데 Au피크인 85 eV의 electron의 mean free path가 5-10 Å이며 escaping depth가 2-3 nm인 점을 고려하면 흡착 표면이 균일하게 완전히 PSP1과 PSP2로 박막이 덮였다고 가정하면 PSP1과 PSP2의 흡착 후 두께는 2 nm보다 작을 것으로 생각된다.

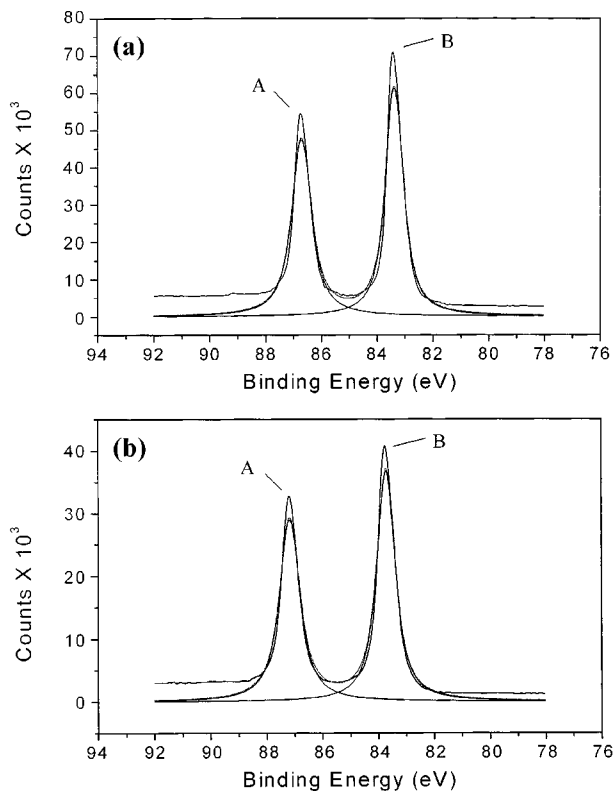


Fig. 6. High-resolution Al K- $\alpha$  induced XPS spectra of the gold(4f) core levels from a PSP1(a) (Thickness of PSP1  $\leq 2$  nm) and PSP2(b) (Thickness of PSP2  $\approx 2-3$  nm).

그러나 Fig. 5에서 분석한 결과와 같이 PSP1, PSP2가 모두 화학적으로 티올 결합한 것도 있고 물리적 흡착한 것도 있어 불균일하게 막이 형성되어 있을 것으로 생각되며, 관찰된 막의 두께도 PSP1은 2 nm를 넘지 않았으나, PSP2의 경우에는 2-3 nm 정도의 두께를 나타내었다.

XPS 분석결과를 확인하기 위하여 PSP1과 PSP2의 AFM 표면 형상 이미지를 관찰하여 Fig. 7에 나타내었다. 합성 펩타이드인 PSP1과 PSP2가 Au 표면 위에 결합된 부분이 펩타이드 자체의 높이가 있으므로 밝게 보이는 부분으로 나타난다. Fig. 7에서도 알 수 있듯이 PSP1(Fig. 7(a))의 경우는 흰색 반점이 듬성듬성하게 분포되어 있으나, PSP2(Fig. 7(b))의 경우에는 아주 조밀하게 형성되어 있음을 알 수 있다. 이 결과는 XPS 분석 결과(Fig. 5(a), (b))와 일치한다. 그리고 AFM 3차원 이미지에서 막의 두께를 분석한 결과도 XPS에서 분석한 박막 두께와 일치하였다.

현재까지 보고[20, 21]된 것에 의하면 일반적으로 가장 안정한 상태의 SAM 구조는 Au 세 원자와 황 원자 한 개가 결합하였을 때이다. Au 세 원자와 황 원자 한 개가 결합한다고 가정한다면, 형성된 박막의 두께 차이는 합성 펩타이드를 구성하고 있는 구성단위와 전체 분자 길이의 차이와도 상관이 있다고 생각된다. 이러한 가정을 토대로 Cambridge Soft사의 Chem Office(Version 5.0, Cambridge soft Corporation, USA) 소프트웨어를 사용하여 Au와 티올 결합한 PSP1과 PSP2의 분자모델 시뮬레이션으로부터 계산한 이론적인 박막의 길이가 PSP1은 1.7-1.9 nm, PSP2는 2.2-2.3 nm이었다. 이 결과도 상대적으로는 XPS결과와 AFM 3차원 이미지와 유사하였다. XPS와 AFM에 의해 얻어진 결과에서 MOPS 완충용액에서 PSP2의 경우가 PSP1 경우보다 자기 집합화가 잘 형성되고 있음을 알 수 있다. PSP1과 PSP2의 자기 집합화 정도에 이러한 차이를 보이고 있는 이유로서 우선 가장 먼저 고려할 수 있는 것은 합성 펩타이드를 구성하고 있는 구성단위와 분자길이의 차이이다. 이러한 관점에서 티올기가 Au 원자 3개와 결합한다고 가정하고 Au 원자 3개와 SAM

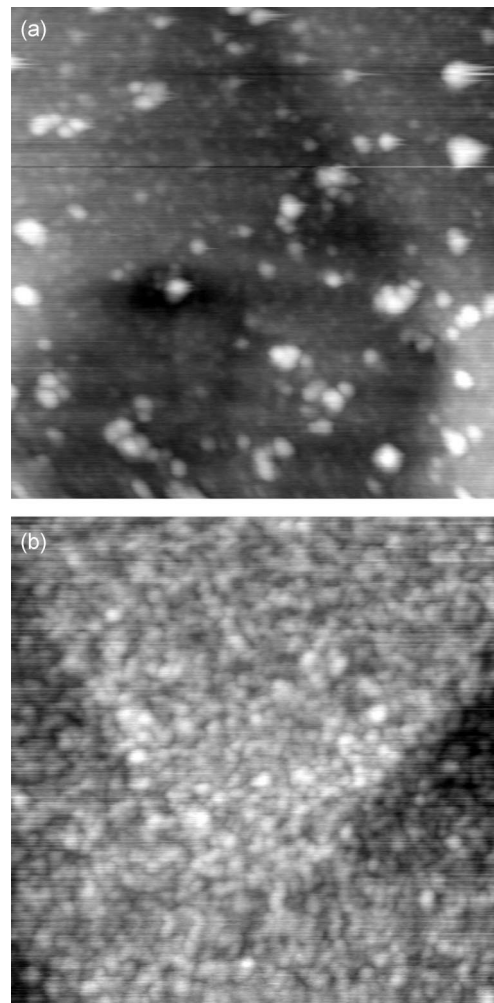


Fig. 7. AFM Topography of Self-Assembled PSP1(a) and PSP2(b) onto gold surface of Mica(Dim. 250 nm $\times$ 250 nm).

을 형성한 PSP1과 PSP2의 steric energy와 구조를 Chem Office로 구하여 보면, PSP1의 경우는 steric energy가 331.643 kcal/mol이고, PSP2의 경우는 steric energy가 75.043 kcal/mol로서 PSP1이 PSP2보다 약 네 배가 넘는 steric energy를 나타내었다. 이는 PSP1의 SAM이 PSP2의 SAM보다 열역학적으로 불안정한 상태를 의미한다. 따라서 이 이론치만 비교하더라도 PSP2의 경우가 PSP1의 경우보다 자기 집합화가 더 잘 형성됨을 알 수 있고, 이 결과는 XPS와 AFM의 분석 결과와 잘 일치하고 있다.

#### 4. 결 론

티올기를 가지는 합성 펩타이드 PSP1과 PSP2의 자기 집합화 단분자 막 형성을 XPS와 AFM을 통하여 살펴보고, 그 결과 PSP2의 경우가 PSP1의 경우보다 Au 표면에서 자기 집합화가 더 잘 된다는 사실을 XPS와 AFM을 통하여 검증할 수 있었고, 이는 이론적으로 계산된 펩타이드를 구성하는 구성단위에서 추론된 SAM막의 steric energy의 차이에서도 예측 가능하였다.

#### 감 사

본 연구는 한국학술진흥재단(KRF-2001-042-E00057)의 연구비로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Nuzzo, R. G. and Allara, D. L., "Adsorption of Bifunctional Organic Disulfides on Gold Surfaces," *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4481(1983).
2. Ulman, A., "Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers," *Chem. Rev.*, **96**(4), 1533-1554(1996).
3. Takiguchi, H. and Sato, K., "Delicate Surface Reaction of Dialkyl Sulfide Self-Assembled Monolayers on Au(111)," *Langmuir*, **16**(4), 1703-1710(2000).
4. Ogawa, H., Takamura, T. and Shimoyama, Y., "Self-Assembly Process of Alkanethiol Monolayers," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **38**, 6019-6023 (1999).
5. Strong, L. and Whitesides, G. M., "Structures of Self-Assembled Monolayer Films of Organosulfur Compounds Adsorbed on Gold Single Crystals: Electron Diffraction Studies," *Langmuir*, **4**(3), 546-558(1988).
6. Samant, M. G., Brown, C. A. and Gordon, J. G., "Structure of an Ordered Self-Assembled Monolayer of Docosyl Mercaptan on Gold(111) by Surface X-ray Diffraction," *Langmuir*, **7**(3), 437-439(1991).
7. Whitesides, G. M. and Laibinis, P. E., "Wet Chemical Approaches to the Characterization of Organic Surfaces: Self-Assembled Monolayers, Wetting, and the Physical-Organic Chemistry of the Solid-Liquid Interface," *Langmuir*, **6**(1), 87-96(1990).
8. Lawrence, D., Jiang, S. T. and Levett, M., "Self-Assembling Supramolecular Complexes," *Chem. Rev.*, **95**, 2229(1995).
9. Yamada, R. and Uosaki, K., "STM Investigation of the Self-Assembly Process of Decanethiol on Au (111)," *Denki Kagaku*, **65**(6), 440 (1997).
10. Whelan, C. M., Smyth, M. R. and Barnes, C. J., "HREELS, XPS, and Electrochemical Study of Benzenethiol Adsorption on Au(111)," *Langmuir*, **15**(1), 116(1999).
11. Chiang, S., "High-Resolution Imaging of the Self-Assembly of Organic Monolayers," *Science*, **272**, 1123(1996).
12. Poirier, G. E. and Pylant, E. D., "The Self-Assembly Mechanism of Alkanethiols on Au(111)," *Science*, **272**, 1145-1148(1996).
13. Takamura, T., Matsushita, K. and Shimoyama, Y., "X-Ray Diffraction Study of Langmuir-Blodgett Films of Mn-Arachidate," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **35**, 5831-5835(1996).
14. Castner, D. G., Hinds, K. and Granger, D. W., "X-Ray Photoelectron Spectroscopy Sulfur 2p Study of Organic Thiol and Disulfide Binding Interactions with Gold Surfaces," *Langmuir*, **12**(21), 5083-5086(1996).
15. Laibinis, P. E., Bain, C. D. and Whitesides, G. M., "Attenuation of Photoelectrons in Monolayers of n-Alkanethiols Adsorbed on Copper, Silver, and Gold," *J. Phys. Chem.*, **95**, 7017-7021(1991).
16. Walezak, M. M., Alves, C. A., Lamp, B. D., Porter, F. and Electroanal, J., *Electroanal. Chem.*, **396**, 103(1995).
17. Jager, B., Schurmann, H., Muller, H. U., Himmel, H. J., Neumann, M., Grunze, M. and Woll, Ch. Z., *Phys. Chem.*, **202**, 263(1997).
18. Biebuyck, H. A., Bain, C. D. and Whitesides, G. M., "Comparison of Organic Monolayers on Polycrystalline Gold Spontaneously Assembled from Solutions Containing Dialkyl Disulfides or Alkanethiols," *Langmuir*, **10**(6), 1825-1831(1994).
19. Atherton, E., Gait, M. J., Sheppard, R. C. and Willams, B. J., *Bioorg. Chem.*, 351(1979).
20. Noh, J. and Hara, M., "Nanoscopic Evidence for Dissociative Adsorption of Asymmetric Disulfide Self-Assembled Monolayers on Au(111)," *Langmuir*, **16**(5), 2045-2048(2000).
21. Carron, K. T. and Turley, G., "Axial and Azimuthal Angle Determination with Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Thiophenol on Copper, Silver, and Gold Metal Surfaces," *J. Phys. Chem.*, **95**(24), 9979-9984(1999).