

나노-바이오 매니플레이션 기술의 현황 및 전망

State-of-the Art Review in Nano-Biomanipulation Technologies

김 덕 호, 김 병 규, 주 병 권*, 박 종 오
(Deok-Ho Kim, Byungkyu Kim, Byeong-Kwon Ju, and Jong-Oh Park)

Abstract : This article describes a state-of-the art review in nano-biomanipulation technologies. Nanomanipulation of biological objects enables an in-depth study of single molecules such as DNA and RNA, and of biophysical events at the molecular level like molecular motors. Controlled nanomanipulation is challenging but essential for precisely engineering biomolecules or cells and for manufacturing functional nano-biosystems. In this paper, we summarize several contact, non-contact and hybrid methods available for nanomanipulation of biological objects. Advantages currently available methods and their limitations are also compared. Finally, we discuss possible applications of nano-biomanipulation technologies to life science and molecular medicine including cell biology, genetic engineering, biophysics, and biochemistry.

Keywords : nano-biomanipulation, AFM, optical manipulation, dielectrophoretic manipulation, DNA, RNA, protein, molecular motors.

I. 서론

21세기에 들어서 바이오테크놀로지(BioTechnology: BT)은 많은 관심과 함께 가장 빠르게 발전하고 있는 분야중의 하나이다. 관련기술이 성숙해짐에 따라 궁극적으로는 마이크로-나노 스케일의 생물학적 시스템을 제어하고 인공적으로 제작 하는 일이 가능해질 전망이다. DNA, RNA는 단백질과 함께 가장 중요한 나노 스케일 영역의 생물학적 분자들로서 많은 연구자들이 그 기능 및 작용을 연구하고 있다. 기존의 나노-바이오 분자의 분석에 있어 문제점은 생물학적인 반응이 확률적으로 일어나는데 반해, 오직 평균량만을 측정할 수 있다는 것이다. 나노영역의 생물학적 시스템을 정확하게 조작하고 제어하기 위해서는 시스템의 본래 환경내에서 나노스케일의 물체들과 상호작용할 수 있는 도구가 필요하다. 이와 같이 나노영역의 생물학적 시스템을 연구할 수 있는 도구 및 공정을 개발하는 기술을 나노-바이오 기술(nanobiotechnology)이라고 한다[1]. 예를 들면, 그림 1은 ATP 분자모터를 동력원으로 하여 결합된 나노바이오시스템 [2] 으로서 2000년 사이언스지에 발표된 나노-바이오 융합기술의 대표적인 연구개발 사례이다. 이 연구에 따르면 분자모터에 결합된 프로펠러 형태의 나노 구조물이 약 2시간 동안 초당 최대 8바퀴를 회전하는 것이 관찰되어 보고되었다. 자연상태의 모든 살아있는 생물시스템은 분자모터를 가지고 있으므로, 이들의 화학적인 에너지를 기계적인 에너지로 변환하는 나노-바이오 시스템의 개발이 가능하다면 파급 효과가 매우 클 것으로 예상된다.

나노스케일 분자의 정확한 조작은 분자 모터의 원리를 이해할 수 있게 하고, 유전자 시퀀스에 대한 DNA 칩 등의 설

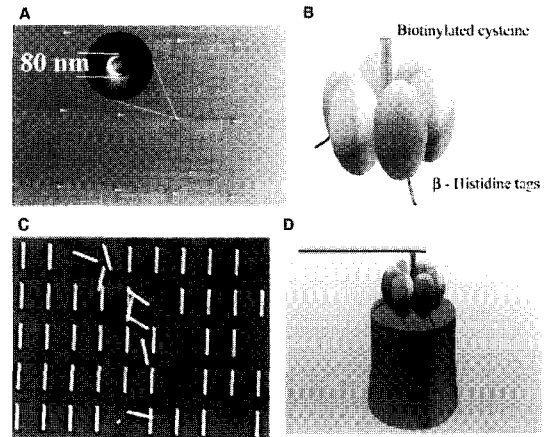


그림 1. F1-ATPase 분자모터에 의해 구동되는 나노기전시스템의 개념 [2].

Fig. 1. Schematic diagram of the F1-ATPase biomolecular motor-powered nanomechanical device [2].

계를 용이하게 해주고, 바이오 센서와 랩온어칩(lab-on-a-chip) 진단장치를 개발할 수 있도록 해준다. 그러나 생물학적 시스템은 파괴되기 쉽고 제 각기 고유한 생화학적 주변 환경을 필요로 하며, 이러한 특성은 인가할 수 있는 힘의 종류와 사용할 수 있는 조작방법의 종류를 제한한다. 1990년 초반, 즉 나노-바이오 매니플레이션 연구분야의 초기에는 주로 DNA 조작 [3-6]에 관심이 쏠려 있었지만, 그 이후 지금은 RNA [7], 단백질 [8,9], 바이러스 [10,11], 세포 [12-14] 등 다양한 생물학적 시스템들에 관심이 확대되고 있다. 본 기술논문을 통해 생물학적 시스템에 대한 기존의 나노조작 방법을 정리하고, 이러한 방법들의 장단점을 분석해 보고 현재 해결하지 못한 기술적 문제점들과 가능한 적용방법을 검토해 보고자 한다.

II. 나노바이오 매니플레이션 기술의 분류

먼저, 그림 2을 통해 마이크로, 나노스케일의 매니플레이션 기술의 현황을 소개하겠다. 나노-바이오매니플레이션(nano-biomanipulation)은 나노스케일 생물학적 물체의 위치,

* 책임저자(Corresponding Author)

논문접수 : 2004. 9. 22., 채택확정 : 2004. 12. 1.

김덕호, 김병규 : 한국과학기술연구원 마이크로시스템연구센터

(kim-dh@kist.re.kr/bkim@kist.re.kr)

주병권 : 고려대학교 전기공학부(bkju@korea.ac.kr)

박종오 : 전남대학교 기계시스템공학부(jop@chonnam.ac.kr)

※ 본 연구는 과학기술부 21세기 프론티어 연구개발사업인 지능형 마이크로시스템 개발사업(http://www.microsystem.re.kr)의 연구비 지원을 받아 수행되었음.

모양, 부피를 변화시킬수 있게 외력을 원하는 대로 적용하는 것을 말한다. 나노-바이오매니플레이션 기술은 크게 관찰기술, 위치결정기술, 조작기술 3가지로 분류할 수 있다. 관찰기술은 형광현미경, 근접장 현미경, 원자현미경 (Atomic Force Microscope: AFM) 등을 이용하여 나노-바이오 분자의 형상 및 반응을 분석할 수 있도록 한다. 위치결정기술은 나노-바이오 분자를 나노 정밀도로 특정 위치에 고정 및 포획 (trapping), 위치 이송을 가능하게 하는 기술이다. 조작기술은 원자현미경 (AFM), 광학집게 (optical tweezer), 자기집게 (magnetic tweezer), 전기영동 (electrophoresis) 등의 다양한 방법이 사용 가능하며, 나노-바이오 분자에 외력을 가해 임의의 조작을 가능하게 하는 기술이다.

나노-바이오 매니플레이션 시스템을 분류하는 데는 다양한 기준이 적용될 수 있다. 상호 작용하는 힘의 종류에 기초

하면, 접촉, 비접촉, 혹은 혼합방식의 시스템으로 분류된다. [15] 또한, 조작에 요구되는 힘의 영역에 따라 다른 종류의 힘이 사용될 수 있다.

예를들어 자기집게 (magnetic tweezers) 는 0.01-10 pN 영역에서 유용하고, 광학 및 전기적인 방식에 의한 힘은 0.1-100 pN 영역에서 유용한 반면 원자현미경은 10-10000 pN 범위의 힘 [16]에 영역에서 사용할 수 있다. 분자상에서 작용하는 힘의 크기에 대한 이해가 선행해야 하는데, 참고로 통계적이긴 하지만 액상에 박테리아 (bacteria) 등의 브라운 운동에 의한 힘은 10 fN 정도이며, ATP 에너지에 의한 힘은 10nm 크기에서 10 pN, 수소결합에 의한 결합력은 100 pN, 공유결합을 깨는데 필요한 힘은 nN 정도로 알려져 있다. [16] 나노-바이오 대상체의 조작을 위해 사용가능한 다양한 방법을 관련 참고문헌들과 함께 표 1을 통해 정리하였다.

표 1. 나노-바이오 조작방법의 분류.

Table 1. Classification of nano-bio manipulation methods.

	직렬식 조작 방법	병렬식 조작 방법
접촉식	Single nanotweezer [17] Micro-capillary/pipette-based positioning [18] AFM/STM manipulation [19]	Massively parallel gripper arrays [25] Mating patterns of self-assembling onolayers [26]
비접촉식	Optical trapping [20] Magnetic tweezer [21]	Dielectrophoretic trapping [27] Magnetic field-based [28] Ultrasonic-based [29]
혼합식	Combined AFM and optical trapping [22] Combined AFM and fluorescence [23] Combined optical trapping and fluorescence [24]	Hydrodynamic/electro-osmotic manipulation [30,31] Vibratory agitation and electrostatic force fields [32]

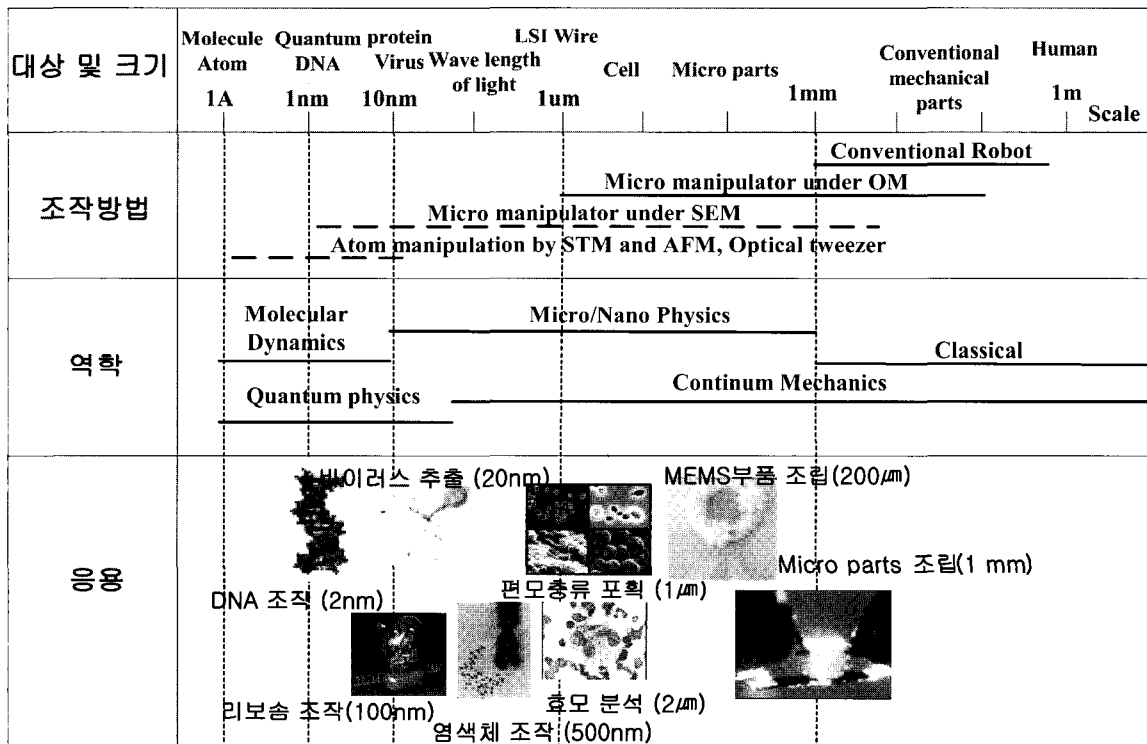


그림 2. 마이크로-나노 매니플레이션기술의 분류.

Fig. 2. Classification of micro-manomanipulation technology.

III. 접촉식 조작 방법

일반적으로 접촉식 조작 방법은 비접촉식보다 큰 힘을 발생시키므로 생물학적 시스템에 주의하여 사용해야 한다. Binnig [33]의 발명 이후로, 원자현미경은 생체시료의 접촉식 조작 방법의 주요한 도구가 되었다. 흔히 DNA, 단백질뿐 만 아니라 생물세포를 조작하는데도 사용된다. 원자현미경의 부속품 중에 유체 셀(fluid cell) [34]은 용매 내에서 생물분자의 조작을 가능하게 한다. 원자현미경의 접촉모드(contact mode)는 절단 혹은 해부와 같은 작업에서 높은 힘이 요구되는 경우에 사용 가능하다. 한편, 탭핑 모드(tapping mode) [35] 혹은 자기 진동 모드(magnetically activated oscillating mode) [36]는 원자현미경의 접촉 모드에 비해 마찰력이 더 적다는 특성이 있다. 라벨링(labeling) 기술을 이용하여 생물학적 시스템의 표면이 원자현미경에 의해서 이미징되어 구조가 결정될 수 있도록 빛과 원자현미경을 혼합하여 사용하기도 한다[23].

1. DNA 및 염색체 조작

진핵(eukaryotic) 세포내에서 DNA는 염색체를 이루기 위하여 단백질을 따라서 묶여진다. Hansma [3]은 유전물질을 조작하기 위해 원자현미경을 사용한 첫번째 연구자이다. Stark [38]은 원자현미경을 이용하여 인간의 중기 염색체를 대기상의 버퍼안에서 절개하였다(그림 3). 대기 중에서 원자현미경의 공진 모드(resonant mode) 이미징이 염색체 조작에 사용되었다. 절개 작업에 있어서 연속적으로 단일 라인 스캔(single line scans)을 하면서 z 축 방향으로 팁을 변조하여 발생하는 미세한 힘을 이용하였는데, 이는 정밀하게 제어할 수 없어 조작 물질의 파괴로 이어지기 쉽다. 절단한 후에 염색체는 원자현미경 끝단 팁에 붙게 되고 이후의 생화학적 처리를 위해 사용될 수 있다. Yuqui [4]은 DNA를 잡아 어떤 장소로 옮기기 위해서 주사터널링현미경(Scanning Tunneling Microscope: STM)을 사용하였다. 주사터널링현미경(STM) 팁에 (+) 전압 펄스를 적용할 때, DNA 분자는 팁에 붙게 되고 팁과 함께 새로운 위치로 이동하게 된다. 전압을 전환하고, 팁을 빠르게 흔들면 팁으로부터 DNA를 떼어낼 수 있다. Thalhammer [39]은 폴리머라제 연쇄 반응법(Polymerase Chain Reaction: PCR) [40]을 이용하여 팁에 붙은 DNA를 증폭 하였는데, pg 보다 적은 양의 DNA 도 증폭할 수 있다. 버퍼안에서의 절단은 염색체가 팽창하고 염색체의 비교적 큰 조각들이 부서지게 하는 큰 측면 방향의 힘을 팁이 가하기 때문에 현재 기술로는 제어할 수 없다.

염색체를 절단하는 것은 선택된 영역으로부터 DNA를 분리시키고 염색체 군 라이브러리(chromosome band libraries) [41], 세포유전학 해석을 위한 맵핑(mapping for cytogenetic analysis), 복제 연구를 위해서 사용될 수 있다. 하지만 이러한 원자현미경을 이용한 조작 과정들은 팁이 이미징 모드에서 표면과 접촉할 때마다 DNA 시료가 오염되는 심각한 단점이 있다. [16] 다른 문제점은 절단된 DNA가 반드시 프로브에 붙지는 않는다는 것과 몇몇 물질들은 절단면에 남아있게 된다는 것이다. 이러한 문제점들은 특별한 모양의 프로브를 사용함으로써 해결될 수 있을 것이다.

2. 아데노바이러스(Adenovirus) 조작

바이러스와 표면사이의 상호 작용하는 힘은 바이러스학에서

중요하다. 그 이유는 바이러스의 구조적인 완전함이 단백질과 표면사이의 상호작용에 영향을 받기 때문이다. Guthold [10]은 햅틱 인터페이스를 가지는 변형된 원자현미경을 사용하였는데, 이는 실리콘 표면에서 하나의 아데노바이러스(adenovirus) 입자를 이동시키기 위함이다. 25nN의 힘이 그 운동에 필요하고 12nN의 힘이 운동을 유지하는데 필요하다. 그러나 이러한 원자현미경을 이용한 분자역학 실험에 있어 원자현미경 끝단과 표면 사이의 접촉 역학이 완전히 이해되지 않았기 때문에 측정의 정확성을 보장하기는 힘들다. 그림 4을 통해 상세한 조작방식을 설명하면 다음과 같다. 담배모자이크바이러스(tobacco mosaic virus; TMV) 입자의 처음 위치와 자세는 (a)와 같다. 이후 절개 (b), 회전 (c), 전이 (d) 등의 조작 과정을 거쳐 남아있는 다른 담배모자이크바이러스와 평행하도록 퍼진다. (e)(f) 그림 4A상의 수직선은 작업시 원자현미경 끝단의 위치를 표시하는 그래픽 도구이다. 그림 5는 미

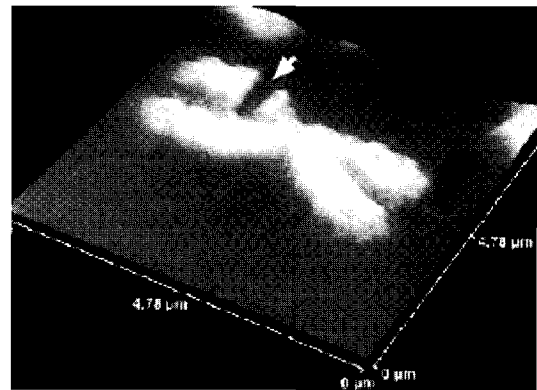


그림 3. 절개된 염색체의 원자현미경 이미지 [38].
Fig. 3. AFM topograph of dissected chromosome [38].

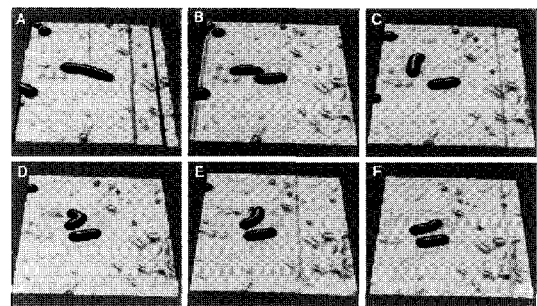


그림 4. 담배모자이크바이러스의 절개 제어 [10].
Fig. 4. Controlled dissection and manipulation of TMV particle on graphite [10].

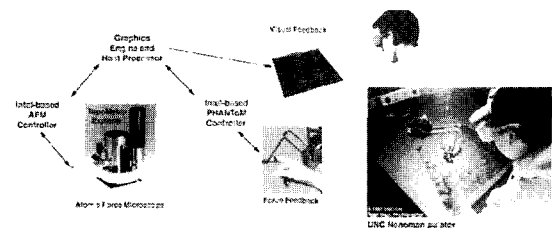


그림 5. 나노매니퓰레이터의 시스템 구성 예 [10].
Fig. 5. System setup of nanomanipulator system [10].

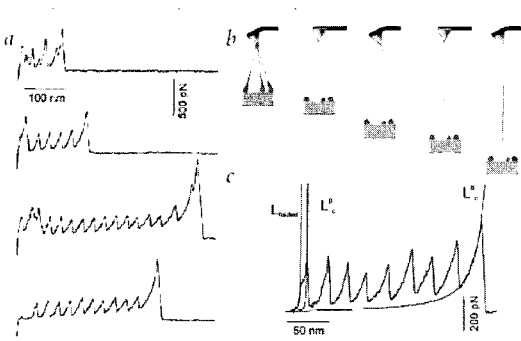


그림 6. 원자현미경 제어실험을 통한 단백질 결합력 측정 [8].
Fig. 6. Binding force measurement in protein stretching using a controlled AFM experiment [8].

국 노스캐롤라이나대학에서 나노물체의 특성을 평가하기 위해 개발한 나노매니퓰레이터 [10,11,42] 시스템의 구성도를 보여주는 예이다.

3. 단백질 조작

단백질의 구조분석은 프로테오믹스 (proteomics) 분야의 핵심연구 주제로서, 개개의 단백질 고유 구조는 곧 그 단백질의 기능을 결정하게 된다. 단백질 구조와 단백질간의 상호작용을 규명하면 신약 개발에 큰 파급효과를 미치게 된다. 예를 들어, 단백질의 1차 구조가 어떻게 유일한 3차원 구조로 형성되는지, 즉 단백질 접힘현상 (protein folding) 등을 규명하는 것은 특정 병원균에 대항하는 단백질 구조를 형성할 수 있는 가능성을 열어준다. [43] 따라서, 단백질의 3차원 구조가 외력에 대해 어떤 식으로 변형하며 운동하는지 예측하는 것은 매우 중요하다. Ikai [8,9] 는 원자현미경을 이용한 단백질 구조역학 분석분야에 권위자로서, 항원-항체 반응 사이에서 특정 단백질의 구조를 변형할 때 발생하는 힘을 측정하는 연구 등을 수행하였다(그림 6 참조). Fotiadis [44]는 단백질 합성물로부터 독립적인 부차단위물 들을 제거하기 위해 나노수술도구로서 원자현미경을 사용하였다. 단백질 구조파괴에 있어 현재까지는 x-ray결정법이 주로 사용되고 있으나 앞으로는 나노기술에 의해 개발된 다양한 도구들이 널리 사용될 전망이다.

4. 분자역학 응용

Bustamante [45]은 DNA의 탄성 특성을 측정하였고 원자현미경을 이용하여 DNA에서의 서로 다른 힘-변형 영역을 확인하였다. Bustamante은 후속연구로 DNA-RNA 전사 (transcription)에 의한 구조변화를 DNA와 RNA사이의 거리, 속도 및 힘의 변화를 통해 측정했다(그림 7). 한편 Kojima [46]은 액틴 필라멘트의 경도를 측정하였다. 생물리학적 매커니즘을 규명하는 데 있는 원자현미경을 사용하는 장점은 물 속에서도 사용가능하고 [47] 다른 비접촉 조작방법보다 훨씬 더 큰 힘을 만들어 낼 수 있기 때문이다. 그러나 원자현미경은 실험 대상에 피해를 입힐 수 있고, 팁과 표면 사이의 접촉역학이 규명되지 않아 아직 정밀한 실험을 설계하기에 어렵다는 단점이 있다.

IV. 비접촉식 조작 방법

비접촉식 나노-바이오 조작 방법에서는 대부분의 경우에

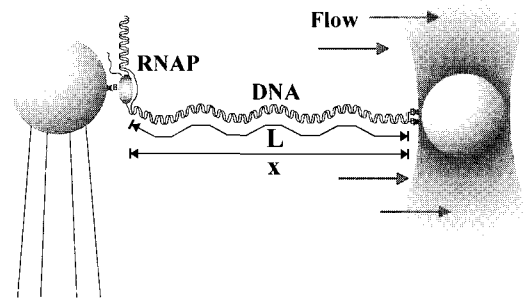


그림 7. DNA-RNA 전사에 의한 구조변화 측정.
Fig. 7. Measurement of structural change induced by DNA-RNA transcription.

있어서 전기력장이나 레이저가 힘을 발생시키기 위해 사용된다. 이러한 힘은 수 pN에서 100pN의 범위이지만 접촉식 방법에 비해 더 작은 힘을 생성하여 실험대상 표본에 피해를 입히는 경우가 드물어 널리 사용되고 있다.

1. 광학식 조작방법(Optical Manipulation)

Ashkin [48]에 의해 처음 시연된 광학식 포획 방법은 생물리와 세포 생물학에서 중요한 분석 도구가 되었다. 광학식 포획 방법은 다양한 부피의 입자를 가둘 수 있는데, 빛의 파장보다 훨씬 작은 지름의 입자로부터 빛의 파장보다 훨씬 큰 지름의 입자까지 가둘 수 있다. Ashkin [49]은 중간크기의 입자에 작용하는 두가지 주요한 힘을 고려하였다. 광자의 후산란 (backscattering) 으로 인한 산란력은 광학 축 아래로 내리려 하고 구배력은 입자를 빔 인텐서티가 증가하는 방향으로 끌어 당기려 한다. 이러한 두 가지 힘은 빔 포커스에서 서로 균형을 맞추고 이러한 원리에 의해 대상 물질은 안정적으로 고정될 수 있다. 많은 생물학적 반응과정에서 관련된 힘은 광학포획 방법에 의해 가해질 수 있는 범위 내이다. 역으로, 이러한 힘들은 광학포획 방법을 이용하여 측정할 수 있는데 그 이유는 대상 물질이 작을 때 변위는 힘에 비례하기 때문이다. 이러한 변위는 편광이나 빔의 편향의 변화를 관찰함으로써 측정할 수 있다[50].

1.1 단위 분자 연구

용매 속의 DNA는 포획하는 힘이 열적 브라운이안 운동을 극복하기에는 충분하지 않기 때문에 직접적으로 가두어 질 수 없다. 그래서 DNA는 그림 8에 나타난 아비딘비오틴 (avidinbiotin) 합성물을 사용하여 비즈에 붙여진다.

Bennink [51]는 단백질과 염료를 가지고 dsDNA의 상호작용을 연구하기 위해서 두개의 비즈를 이용하였다. 하나의 비즈는 마이크로피펫에 의해 매달리고, 다른 하나는 광학포획에 매달린다. 마이크로피펫을 움직임으로써 DNA의 조작과 스트레칭을 할 수 있고 동시에 광학포획을 이용하여 가해지는 힘을 모니터링 한다. Mizuno [52]는 DNA 시퀀싱에 대해 광정전식 (opto-electrostatic) 미소조작법을 사용하였다. DNA에 붙은 유액 비즈는 광학포획에 가두어 지고 DNA는 유체 흐름과 전기력장을 사용하여 늘어나게 된다. 조각들은 N₂ 레이저를 사용하여 DNA로부터 성공적으로 잘려나가고 유체상태의 작은 물방울로 옮겨진다. 이러한 방법은 조각들의 순서 정보를 보존하고 시퀀싱 속도가 빨라지게 하는 장점이 있다.

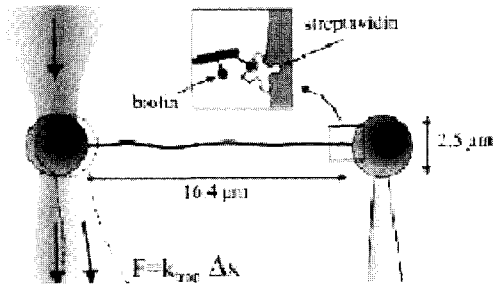


그림 8. 아비딘-바이오틴을 이용한 DNA 접합 [34].
Fig. 8. DNA attachment using avidin-biotin [34].

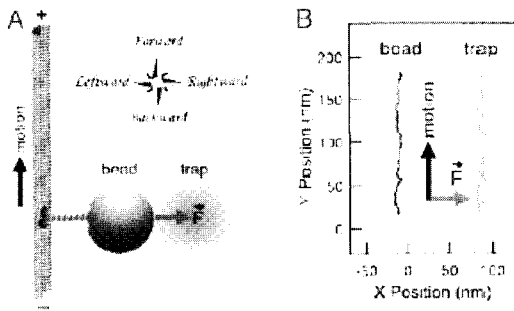


그림 9. 마이크로튜블을 따라 이동하는 키네신 [55].
Fig. 9. Kinesin moving along a microtubule [55].

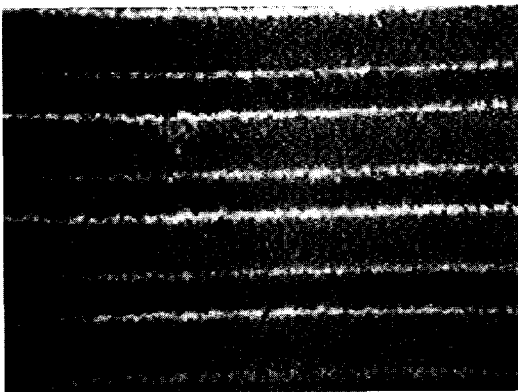


그림 10. 유전영동을 이용한 DNA 포획 [58].
Fig. 10. Dielectrophoretic trapping of DNA [58].

Liphardt [7]는 기계적인 힘에 의해서 하나의 RNA 분자의 가역풀림 (reversible unfolding) 을 조사하였고, 이 반응의 동역학적 반응을 결정하였다. Wuite [53]는 하나의 생분자 조작을 위해 유체제어와 광학식 포획 기능을 갖춘 비디오 현미경 시스템을 사용하였다.

1.2 분자 모터(molecular motors)

Funatsu [54]와 Svoboda [55]는 하나의 키네신 분자를 관찰하고 기계적인 자극과 ATP 상호작용 사이의 관계를 연구하였다. 광학적으로 가두어진 비즈에 부착된 키네신 분자는 유리 위의 흡착된 가는다란 마이크로 미세관과 접촉하게 된다. 키네신이 마이크로 미세관을 따라서 움직일 때 비즈를 당기고 키네신 분자의 8mm 정도의 운동이 광학포획 방법을 이용하여 측정된다.

Finer [56]은 액틴 필라멘트와 붙고 당기는 미오신 분자를

관찰하였다. 액틴 필라멘트는 양쪽 끝에 붙은 비즈에 의하여 팽팽하게 늘어나는데 이러한 현상은 필라멘트를 미오신 분자를 지닌 실리카(silica) 비즈 근처로 옮기는데 이용된다. 광학포획 방법은 비즈의 변위를 추적함으로써 미오신의 움직임을 감지할 수 있다.

광학포획 방법은 힘, 변위 측정뿐만 아니라 조작에도 사용될 수 있기 때문에 DNA와 단백질의 연구에 매우 성공적이었다. 원자현미경과는 달리 이 방법은 비접촉식이고 표본에 아무런 피해를 주지 않는다. 유일한 문제점은 하나의 분자에 가해지는 힘이 너무 약하기 때문에 분자가 비즈에 붙어있어야만 한다는 것이다. 따라서 화학적인 준비를 선행하는 것이 필요하다.

2. 유전영동을 이용한 조작(dielectrophoretic manipulation)

Pohl [57]은 입자내의 유도된 쌍극자로 인한 유전영동 힘을 설명하였다. 입자가 유전체 매개물 내에서 매달려 있을 때, 전기장은 입자를 편광화시키고 입자의 전체 쌍극자 모멘트를 증가시킨다. 만일 전기장이 일정하지 않으면 입자는 유전영동 힘 (F_{DEP}) 을 받게 된다.

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m a^3 \text{Re}\{K(\omega)\} \nabla |E^2| \tag{1}$$

여기서, E는 전기장, w는 field의 각속도, a는 입자의 반지름을 나타낸다. $K(w)$ 는 Clausis-Mossotti 팩터인데 이것은 입자와 매개체의 전기적인 파라미터와 전기장의 주파수에 의존한다. 이러한 팩터에 영향을 받아서, 입자는 높은 전기장 (positive dielectrophoresis) 으로 이동하거나 혹은 음 유전영동으로 이동한다.

2.1 유전영동을 이용한 포획

크게 진동하는 전기장으로 인하여 DNA는 더 높은 장을 가지는 영역으로 이동한다. 그래서 유전영동에 의한 힘 (dielectrophoretic force) 은 기울기가 급격히 변하는 높은 세기의 전기장을 이용할 경우에 DNA를 조작하기 위해 사용될 수 있다. Washizu [5]는 10^6 V/m, 1 MHz 전기장을 얻기 위해서 마이크로 구조를 사용하였다. 이러한 전기장을 이용하는데 있어서, DNA는 한쪽 끝이 전극봉에 붙게 되고 완전히 늘어나게 된다. Asbury [58]는 기울기가 급하게 변하는 전기장을 만들기 위해서 금 막의 매우 가는 조각들을 이용했다. 진동이 되는 전기장 (oscillating field) 이 적용될 때, DNA 분자는 가는 조각의 모서리 근처의 높은 전기장 영역에 갇히게 되고 그림 10에서 처럼 모서리를 따라서 5mm의 너비로 제한된다. 정적 전기장 (static field)과 진동이 되는 전기장 (oscillation field) 을 섞어서, DNA 분자는 한쪽 모서리에서 다른 쪽 모서리로 이동될 수 있고, 모서리를 따라서 정확한 궤적을 따라 움직일 수도 있다. Bakewell [59]는 DNA안의 음 유전영동을 보여주었고 훨씬 안정한 포획을 보인다는 것을 발견하였다.

유전영동을 이용한 포획방법은 필요로 하는 전기장을 발생시키기 어렵고, 높은 주파수에서 높은 전압이 요구되기 때문에 광학식 포획방법처럼 널리 사용되지는 않는다. 또한, 포획 효과는 유도 쌍극자 힘이 입자와 매개물의 극성화에 의존하기 때문에 매개물에 영향을 많이 받는 특징이 있다.

2.2 전기충격 방법(electroporation)

살아있는 세포의 화학적, 생물학적 내용물은 생물학적 막(membrane) 및 막조직에 전기충격(electroporation)을 이용하여 조작할 수 있다. 교류 전기장은 세포안에서 쌍극자 모멘트를 유도하고 플라즈마 막을 가로질러 포텐셜 차이를 유도한다. 이 유도 전압으로 세포벽이 무너지게 되고 세포벽은 투과성이 된다. 세포벽이 무너지는 것은 거꾸로도 할 수 있기 때문에 비투과성 분자는 세포벽을 파괴시키지 않고 살아있는 세포 안으로 들어갈 수 있다. Lundqvist [13]는 DNA와 형광 분자를 세포 안으로 넣기 위해서 전기충격 시스템 개발하였다. Zimmerman [14]은 인공 DNA와 플라스미드를 전기충격(electroporation)을 이용하여 포유류의 세포안으로 주입하였다. Archer [60]은 전기충격 방법이 세포 형태와 세포 주기 역학에 미치는 영향을 발견하지는 못했지만, 단백질과 유전자가 전기장에 노출됨에 의해 발현될 수 있다는 것을 관찰하였다.

전기충격 방법은 세포벽을 파괴시키지 않고도 살아있는 세포의 화학적 조작을 가능하게 해준다. 또한, 높은 공간 분해능(high spatial resolution)으로 인해 가까운 거리에 있는 세포들이 다른 생화학적 생물리적 특성을 갖도록 세포 무리의 설계를 가능하게 한다. 그러나 이러한 방법이 부작용이 없다는 확신을 얻기 위해서는 더 많은 실험이 필요하다.

V. 기타 조작 방법

1. 국소영역 용해 미소조작법

Hirano [61]와 Katsura [62]에 의해 개발된 방법은 얼어있는 용매 내에서 하나의 DNA분자를 조작하는데 사용될 수 있다. 용매가 얼어있을 때, DNA와 같은 용매안의 불순물들은 고체 상태의 용매 안에 박히게 된다. DNA 분자를 포함하고 있는 얼어있는 시편의 매우 작은 부분이 focused YAG 레이저 빔을 이용하여 녹여질 수 있다. 레이저 점(laser spot)을 이동시키므로써 녹는 부분을 바꿀 수 있고 DNA는 그림 11에서와 같이 그 레이저 점을 따라서 움직인다. 드라이 아이스-메탄올은 용매를 -35도로 냉각하는데 사용되고 녹는 부분은 10mW의 레이저 파워로 관찰된다. 레이저 점이 너무 빠르게 움직이면 입자는 다시 얼게 되므로 국소영역 용해 미소조작법에 의해서는 DNA의 경우 15mm/min 정도가 최대 속도이다.

이 기술의 중요한 장점은 DNA를 준비할 필요가 없고 라텍스 비즈가 필요하지 않다는 것이다. 국소영역 용해 미소조작법에 대한 레이저 파워는 광학집계의 경우보다 더 작는데,

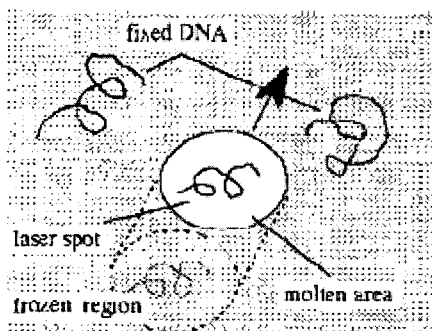


그림 11. 국소영역용해 미세조작법 [62].
Fig. 11. Local area melting micromanipulation [62].

이것은 시스템의 사이즈가 더 작아질 수 있다는 것을 의미한다. 그러나 이 방법은 낮은 온도가 필요하고 체내(in-vivo) 연구에는 별로 좋지 않다. 최대 속도는 분자가 다시 어는 현상으로 인하여 제한된다.

Hamad-Schifferli [63]는 금속 나노입자가 결합된 DNA를 외부에서 RF 자기장을 가하여 조작하고 제어할 수 있음을 보였다. 결과에 의하면 금 나노입자를 DNA 분자와 결합시켜 시료를 준비하고, 외부에서 RF 자기장을 시료에 가해주면 금 나노입자들이 가열되어 DNA의 구조를 변형시키고, 외부의 자기장을 제거해 주면 본래의 형상으로 되돌아 온다. Hamad-Schifferli [12]는 그림 12에서 보듯이 단백질에도 같은 기법을 적용하여 단백질의 활동과 구조를 밝히는 연구를 현재 진행 중이다.

2. DNA의 형상 전이(conformational transitions in DNA)

염색체 DNA같은 긴 DNA는 용매 안의 흐름으로 인해 발생하는 전단응력(shear stress) 때문에 파괴된다. DNA는 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol: PEG)을 이용하여 임의의 코일모양에서부터 구형으로 변형할 수 있고, [64] 이 변형은 용매의 농도에 따라 그 역과정도 가능하다. 구형은 전단응력에 저항하며 거대 DNA를 조작하는데 더 유리하다. [65] Hirano [66]는 구형 모양의 큰 단일 DNA를 이동시킬 수 있었고, 어떠한 분열도 없이 유리판 안에 다시 가져다 놓을 수 있었다. 구형 모양의 DNA는 크게 응축되어 있고 높은 굴절률(refractive index)과 밀도를 가지고 있기 때문에 공모양의 DNA를 직접 광학적으로 포획할 수 있다. Morishima [67]는 유전영동에 의한 힘을 이용해서 공 모양의 거대 DNA를 이동시키는 방법을 제안하였다. 마이크로시스템 기술은 미세전극과 미세유체채널을 만드는데 이용되며 공모양의 DNA는 미세전극에 의해서 발생하는 유전영동에 의한 힘을 이용하여 유체채널을 따라서 이동하게 된다. 그들은 또한 DNA의 이동 속도가 공 모양인 DNA의 반지름의 제곱에 비례한다는 사실을 발견하였다. 이 방법은 젤 전기영동(gel electrophoresis)과 같은 기술을 사용하면 시간이 너무 오래 걸리는 큰 DNA 분자의 크기 분리에 이용될 수 있다. 또한 이 방법은 전단응력

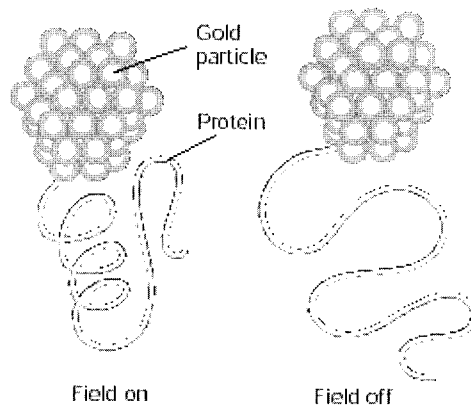


그림 12. 나노입자와 결합된 단백질에 RF 자기장을 인가한 조작방법 개념도 [12].
Fig. 12. Schematics of inductive coupling to nanoparticles linked to proteins [12].

(shear stress) 이 아주 중요한 문제가 되는 큰 DNA 분자들 조작에 아주 유용하다. 따라서 큰 DNA의 자동 이동과 시퀀싱에 이 방법을 사용하는 것이 가능할 지도 모른다. 그러나 염색체 DNA같은 큰 공 모양의 분자를 준비하는 것은 여전히 어려운 문제이고 아직 완벽하게 할 수 있는 것도 아니다.

VI. 혼합식 방법

위에서 설명된 대부분의 시스템들은 하나의 물리적인 원리에 기반하여 개발된 조작 방법들이다. 더 복잡한 작업을 위해서는 각각 조작방법들의 장점을 결합한 시스템을 개발하는 것이 필요할 수 있다. 본 장에서는 여러가지 다양한 물리적인 원리에 기반하여 몇가지 접촉, 비접촉 조작방법을 결합하는 혼합 방법 (hybrid method)에 대해 소개하고자 한다.

1. 광학식 포획방법과 형광현미경법의 결합

Lang [24]은 광학포획 기법과 단일형광법을 결합하였고, 최초로 두가지 조작방법의 동일 공간상에서 동시 동작이 가능하도록 하였다. 이들은 개발한 시스템을 이용하여 로다민으로 형광된 이중나선 구조 DNA의 15번째 기저쌍 단편을 분리해 낼때의 힘을 측정해 냈다(그림 13 참조). 가해진 외력은 광학에 의한 힘에 의한 것으로 DNA 분자축에 수직하게 작용하는 힘이다. 광학식 포획과 단일형광법의 결합은 광학식 포획 조작을 이용하여 분자에 가해지는 외력을 제어할 수 있고, 동시에 형광분자가 거대분자들의 구조에 대한 정보를 제공해 줄수 있어 단일 분자의 연구에 큰 기여를 할 전망이다.

2. 원자현미경과 유전영동에 근거한 조작법의 결합

Kurosawa [68]는 원자현미경과 유전영동 (dielectrophoresis) 을 이용하여 임의의 위치에 있는 DNA를 자르기 위한 분자수술 (molecular surgery) 법을 개발하였다. 1 MV/m, 1 Mhz 전기장을 적용할 때, DNA는 늘어나고 전극쪽으로 이동하며 유전영동법에 의해 고정된다. 원자현미경 바늘은 DNA의 면을 자르기 위한 칼처럼 사용된다. 모든 분자들이 정렬되어 있기 때문에, 한번 자를 때 많은 동일한 조각을 얻을 수 있고, 이 조각들은 폴리머라제 연쇄 반응법 (PCR) 에서 사용될 수 있다. 이 방법의 문제점은 DNA의 크기가 수백 나노미터인데 반해 원자현미경 끝단이 수십 나노미터의 반지름을 가지고 있기 때문에 해상도가 제한된다는 점이다. 다른 문제점은 자른 면의 분자 구조를 예측할 수 없고 몇몇 원하지 않은 조각들이 얻어질 수도 있기 때문에 이로 인하여 폴리머라제 연쇄 반응법 (PCR) 을 사용할 시에 오염될 수 있다는 것이다.

3. 광학식 조작법과 유전영동에 근거한 조작법의 결합

Yamamoto [69]는 DNA를 자르기 위해서 특정 효소를 이용하여 해상도를 개선하였다. 그들은 유전영동을 사용하여 DNA의 끝을 기질에 붙어 있게 하였다. 사용된 효소는 라텍스 입자에 붙게 되고, 그림 14에 나와 있는 늘어난 DNA에 대해 광학집게 (optical tweezer) 는 라텍스 입자를 고정시키고 라텍스 입자를 누르기 위해 사용된다. 효소가 시퀀스 특이성 (sequence specific) 이냐 그렇지 않으나에 따라서 아주 정확하게 DNA의 특정한 위치를 자를 수 있다. 이러한 기술은 분자수준의 시술, 화학적 변형 그리고 유전자 삽입에 대한 높은 해상도를 가진다.

4. 원자현미경과 광학식 조작법의 결합

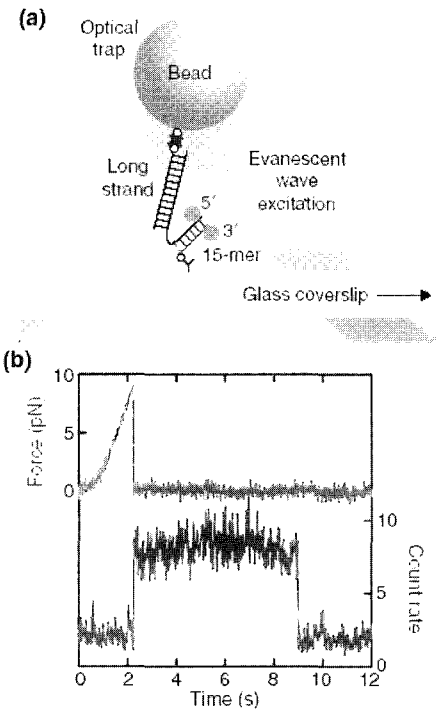


그림 13. DNA구조분석을 위해 광학식 포획과 형광현미경법을 결합한 실험 [24].

Fig. 13. A combined optical trapping and fluorescence experiment to unzip DNA [24].

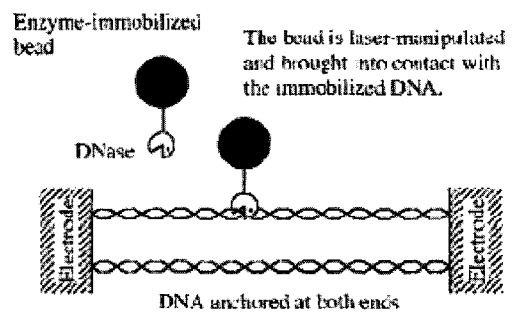


그림 14. 효소를 이용한 분자수술 [69].

Fig. 14. Molecular surgery using enzymes [69].

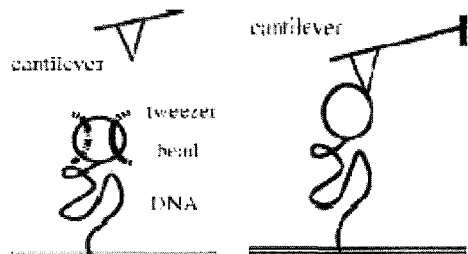


그림 15. 원자현미경과 광학집게의 결합 [22].

Fig. 15. Combined optical tweezer and AFM [22].

Shivashankar [22]는 비즈에 붙어있는 단일 DNA 분자를 광학집게를 이용하여 원자현미경 캔틸레버 위의 실리콘 기판 위에 이식할 수 있음을 증명하였다. 원자현미경 팁은 비즈에

가까이 위치하게 되고 광학집게는 비즈가 포획되어 있는 상태에서 팁을 가열하기 위해 사용된다. 라텍스 비즈는 그림 15에서처럼 가열되고 있을 때 원자현미경 캔티레버에 붙게 된다. 원자현미경은 하나의 분자의 힘-변형 관계를 측정하기 위해 사용된다.

앞서 소개한 연구사례들에서 다른 여러가지 조작 방법들을 하나의 시스템으로 통합하기 위해서는 어려움이 많다. 그러나 혼합방법은 더 진보되고 기능적인 시스템을 만드는 방향으로 계속 연구될 전망이다.

VII. 응용 및 전망

DNA, 단백질, 세포와 같은 나노스케일의 생물학적 대상을 조작하는 도구와 방법을 개발하는 나노바이오매니플레이션 기술은 새롭게 등장한 중요한 연구분야이며, 응용가능한 분야는 다음과 같다.

- 분자 수술 : 원자현미경을 이용한 물리적인 조작으로 원하는 위치에서 DNA를 반복적으로 자를 수 있고, 레이저 및 효소를 이용하여 유전자를 뽑아낼 수 있고 특정한 유전자를 변형시킬 수 있다[69,70].

- 분자 모터 : 단일 분자를 관찰하고 조작할 수 있는 기술은 어떻게 생화학 반응이 분자머신 내에서 움직임(이동)이 있게 하고 힘을 발생시키는지, 어떻게 효율이 높은 인공기계 [2,71]을 만들수 있는지를 이해시켜 준다.

- 랩온어칩 : 유전영동, 전기회전, 그리고 광학집게 등과 같은 방법들은 핵산, 바이러스 크기의 입자를 다룰 수 있고 향후 강력한 의료진단 장치가 될 수 있는 랩온어칩과 함께 사용될 수 있다.

- DNA 시퀀싱 : 전통적인 시퀀싱은 조각들의 순서를 유지하지 않고 DNA의 경우에는 오랜 시간이 걸린다. 나노-바이오 매니플레이션 기술의 발전을 통해 정확한 조작을 함으로써, DNA 조각들은 순서대로 잘려질 수 있고 시퀀싱 속도는 증가될 수 있다.

- DNA 선별분리 : 구형 상변환 (globular transformation) 과 쌍극자 포획 [59] 같은 방법은 큰 분자에 대해 젤을 이용하는 방법보다 더 빠른 속도로 DNA를 선별 분리하는데 사용될 수 있다. 모세관 전기영동 채널의 입구 가까이에 위치한 쌍극자 포획은 이 방법의 해상도를 크게 개선할 수 있다.

- 세포 공학 : 전기충격 방법은 인공 염색체를 살아있는 세포안으로 삽입하는 것을 가능하게 하고, 궁극적으로 암이나 다른 질병을 치유하는 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있다.

- 나노가공 : 원자현미경은 DNA를 선택해서 실리콘 표면 위의 특정한 부분에 DNA를 붙이는데 사용된다. 이는 바이오 센서와 바이오기전시스템 [72]의 나노가공을 위해 사용될 수 있다.

VIII. 결론

본 논문에서는 생물학적 시스템을 조작하고 분석하기 위해 사용되는 주요한 나노매니플레이션 기술들을 요약하였다. 각 방법들의 장점과 단점을 분석하였고, 현재 응용되고 있는 연구사례와 함께 향후 응용가능한 분야들을 제시하였다. 마지막으로 나노-바이오 매니플레이션 기술에서 해결해야 할

연구과제들을 토의하면서 마치고자 한다. 하지만 아래에 열거된 문제점 외에도 여전히 밝혀지지 않은 잠재적인 문제점들이 많다는 점을 강조하고 싶다.

유체내의 원자현미경과 같은 접촉식 조작방법에서의 상호작용은 아직 역학적인 특성들이 잘 이해되지 않았고 이러한 현상들의 정확한 물리적 모델이 안전한 조작을 위해 필요하다. 살아있는 세포를 포함한 경우에 높은 전기장에 노출시키는 것의 단점이 명확하지 않다. 이는 전기장을 이용한 힘을 사용하는데 있어서 매우 위험할 수 있으며 세포의 돌연변이를 야기시킬 수 있다.

본 논문에서 요약한 대부분의 방법들은 정확한 조작을 보장하지만 근본적으로 직렬식 조작방법이다. 반면에 폴리머라제 연쇄 반응법 (PCR) 과 같은 생화학 반응은 병렬식 조작방법이지만 제어가능하지 않다. 만약 이런 두가지 패러다임을 결합하여 병렬식 이지만 동시에 정확하고 제어가능한 시스템으로 통합할 수 있다면 이상적인 것이다. DNA 등을 물리적으로 조작함으로써 얻어진 수확은 전통적인 화학 방법과 비교할 때 아직 좀 부족하다. 나노스케일의 기능적 시스템을 실현하는 자동화에 대한 연구가 필요하다. 이러한 시스템의 구현은 최근에 와서야 마이크로 스케일에서 조금씩 실현되고 있으며, 이런 시스템을 대량 집적화 생산 할 수 있기 위해서는 시간과 노력이 더 필요할 것으로 예상된다.

참고문헌

- [1] Cornell Nanobiotechnology Center, <http://www.nbt.cornell.edu/>
- [2] R. K. Soong et al., "Powering an inorganic nanodevice with a biomolecular motor," *Science*, vol. 290, pp. 1555-1558, 2000.
- [3] H. Hansma, "Reproducible imaging and dissection of plasmid DNA under liquid using atomic force microscope," *Science*, vol. 256, pp. 1180-1184, 1992.
- [4] J. Yuqiu et al., "Mechanical, electrical, and chemical manipulation of single DNA molecules," *Nanotechnology*, vol. 3, pp. 16-20, 1992.
- [5] M. Washizu, and O. Kurosawa, "Electrostatic manipulation of DNA in microfabricated structures," *IEEE Trans. Ind. Appl.*, vol. 26, pp. 1165-1172, 1990.
- [6] D. R. Baselt, G. U. Lee, and R. J. Colton, "Biosensor based on force microscope technology," *Journal of Vacuum Science and Technology B*, vol. 14, no. 2, pp. 789-793, 1996.
- [7] J. Liphardt et al., "Reversible unfolding of single RNA molecules by mechanical force," *Science*, vol. 292, pp. 733-737, 2001.
- [8] Ikai, A. Idiris, H. Sekiguchi, H. Arakawa, and S. Nishida, "Intra- and intermolecular mechanics of proteins and polypeptides studied by AFM: with applications," *Applied Surface Science*, vol. 188, pp.1-7, 2002.
- [9] K. Mitsui, K. Nakajima, H. Arakawa, M. Hara, and A. Ikai, "Dynamic measurement of single protein's mechanical properties," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 272, pp. 55-63, 2000.
- [10] M. Guthold, G. Matthews, A. Negishi, R. M. Taylor, D. Erie, F.P. Brooks, and R. Superfine, "Quantitative manipulation of DNA and viruses with the nanomanipulator scanning force microscope," *Surface Interface Analysis*, vol. 27, pp. 437-443, 1999.

- [11] M. R. Falvo, S. Washburn, R. Superfine, M. Finch, F.P. Brooks, V. Chi, and R.M. Taylor, "Manipulation of individual viruses: friction and mechanical properties," *Biophysical Journal*, vol. 72, pp. 1396-1403, 1997a.
- [12] The tiny toolkit, *Nature*, vol. 423, pp. 10-12, 2003.
- [13] J. Lundqvist et al., "Altering the biochemical state of individual cultured cells and organelles with ultramicroelectrodes," *Proc. Nat. Acad. Sci.*, vol. 95, pp. 10356-10360, 1998.
- [14] U. Zimmermann et al., "Electromanipulation of Mammalian Cells: Fundamentals and Application," *IEEE Trans. Plasma Science*, vol. 28, no. 1, 2000.
- [15] M. Sitti, "Survey of nanomanipulation systems," *Proc. of the IEEE Conf. Nanotechnology*, pp. 75-80, 2001.
- [16] G. Bao, "Mechanics of biomolecules," *Journal of Mechanics and Physics of Solids*, vol. 50, pp. 2237-2274, 2002.
- [17] P. Kim and C. M. Lieber, "Nanotube nanotweezers," *Science*, vol. 286, pp. 2148-2150, 1999.
- [18] K. T. Brown and D. G. Flaming, "Advanced micropipette techniques for cell physiology," in *IBRO Handbook: Methods in Neurosciences*, Chichester, Ed. New York: Wiley, 1992.
- [19] J. A. Stroschio and D. M. Eigler, "Atomic and molecular manipulation with the scanning tunneling microscope," *Science*, vol. 254, pp. 1319-1326, 1991.
- [20] Ashikin, J. M. Dziedzic, and T. Yamane, "Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams," *Nature*, vol. 330, pp. 769-771, 1987.
- [21] M. S. Lavine, "Biofunctional Magnetic Tweezers," *Science*, vol. 292, pp. 171, 2001.
- [22] G. V. Shivashankar and A. Libchaber, "Single DNA molecule grafting and manipulation using a combined atomic force microscope and an optical tweezer," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 71, no. 25, pp. 3727- 3729, 1997.
- [23] P. Hillner et al., "Combined atomic force and confocal laser scanning microscope," *JMSA*, vol. 1, pp. 127-130, 1995.
- [24] M. J. Lang, P. M. Fordyce, and S. M. Block, "Combined optical trapping and single-molecule fluorescence," *Journal of Biology*, vol. 2, no. 6, 2003.
- [25] C. Keller and R. T. Howe, "Nickel-filled hexsil thermally actuated tweezers," in *Digest: Int. Conf. on Solid State Sensors and Actuators*. Stockholm, Sweden: Transducers Research Foundation, 1995.
- [26] G. M. Whitesides and B. Grzybowski, "Self-assembly at all scales," *Science*, vol. 29 pp. 2418-2421, 2002.
- [27] T. Schnelle, R. Hagedorn, G. Fuhr, S. Fiedler, and T. Muller, "3-Dimensional electric-field traps for manipulation of cells - calculation and experimental verification," *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1157, pp. 127-140, 1993.
- [28] S. Miltenyi, W. Muller, W. Weichel, and A. Radbruch, "High gradient magnetic cell separation with MACS," *Cytometry*, vol. 11, pp. 231-238, 1990.
- [29] W. T. Coackley, *TIBTECH*, vol. 5, pp. 506-511, 1997.
- [30] J. C. Giddings, *Science*, vol. 260, pp. 1456-1464, 1993.
- [31] Fu, C. Spence, A. Scherer, F. H. Arnold, and S. R. Quake, "A microfabricated fluorescence activated cell sorter," *Nature Biotech.*, vol. 17, pp. 1109-1111, 1999.
- [32] M. B. Cohn, "Self-assembly of microfabricated devices," U.S. Patent 5,355,577, 1992.
- [33] G. Binnig, C. F. Quate, and C. Gerber, "Atomic force microscope," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 56, pp 930- 933, 1986.
- [34] B. Drake et al., "Imaging crystals, polymers and processes in water using AFM," *Science*, vol. 243, pp. 1586-1589, 1989.
- [35] P.K. Hansma et al., "Tapping mode atomic force microscopy in liquids," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 64, pp. 1738-1740, 1994.
- [36] W. Han, S. Lindsay, and T. Jing, "A magnetically driven oscillating probe microscope for operation in liquids," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 69, pp. 4111-4113, 1996.
- [37] E. Henderson, "Imaging and nanodissection of individual supercoiled plasmids by AFM," *Nucleic Acids Res.*, vol. 20, pp. 445-447, 1992.
- [38] R. Stark et al., "The AFM as a tool for chromosomal dissection," *Appl. Phys. A*, vol. 66, pp. 579-584, 1998.
- [39] S. Thalhhammer et al., "The Atomic Force Microscope as a new microdissecting tool for the generation of genetic probes," *Journal of Structural Biology*, vol. 119, pp. 232-237, 1997.
- [40] H. Telenius et al., "Cytogenetic analysis by chromosome painting using DOP-PCR amplified flow sorted chromosomes," *Genes-Chromosomes-Cancer*, vol.4, no. 3, pp. 257-263, 1992.
- [41] H. Lu"decke, G. Senger, U. Claussen, and B. Horsthemke, "Cloning defined regions of the human genome by microdissection of banded chromosomes and enzymatic amplification," *Nature*, vol. 338, pp. 348-350.
- [42] M. R. Falvo, G. J. Clary, R. M. Taylor, V. Chi, F.P. Brooks, S. Washburn, and R. Superfine, "Bending and buckling of carbon nanotubes under large strain," *Nature*, vol. 389, pp. 582-584, 1997b.
- [43] J. Howard, *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*, Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2001.
- [44] D. Fotiadis et al., "Imaging and manipulation of biological structures with the AFM," *Micron*, vol. 33, pp. 385-397, 2002.
- [45] C. Bustamante, S. Smith, J. Liphardt, and D. Smith, "Single molecule studies of DNA mechanics," *Journal of Structural Biology*, vol. 10, pp. 279-285, 2000.
- [46] H. Kojima, A. Ishijima, and T. Yanagida, "Direct measurement of stiffness of single actin filaments with and without tropomyosin by in vitro nanomanipulation," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 96, no. 21, pp. 12962-12966, 1994.
- [47] S. Hodges, "Measuring forces with the AFM: polymeric surfaces in liquids," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 90, pp. 13-75, 2002.
- [48] Ashkin et al., "Observation of single-beam gradient force optical trap for dielectric particles," *Opt. Lett.*, vol. 11, pp. 288-290, 1986.
- [49] Ashkin, "Forces of a single beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray-optics regime," *Biophysics J.*, vol. 61, pp. 569-582, 1992.
- [50] W. Denk and W. Webb, "Optical measurements of picometer displacements of transparent microscopic objects," *Appl. Optics*, vol. 29, pp. 2382-2391, 1990.
- [51] M. Binnink et al., "Singlemolecule manipulation of double-stranded DNA using optical tweezers," *Cytometry*, vol. 36, pp. 200-208, 1999.
- [52] Mizuno, M. Nishioka, and R.Ishii, "Optoelectrostatic micromanipulation of single cell and DNA molecule," *6th Intl. Symp. on Micromachines*, pp. 153-159, 1995.
- [53] G. Wuite, R. Davenport, A. Rappaport, and C. Bustamante, "An integrated laser trap flow control video microscope for the study of single biomolecules," *Biophysical Journal*, vol. 79, pp. 1155-

1167, 2000.

[54] T. Funatsu, Y. Harada, H. Higuchi, and et al., "Imaging and nano-manipulation of single biomolecules," *Biophysical Chemistry*, vol. 68, pp. 63-72, 1997.

[55] K. Svoboda, C. Schmidt, B. Schnapp, and S. Block, "Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry," *Nature*, vol. 365, pp. 721-727, 1993.

[56] J. Finer, R. Simmons, and J. Spudich, "Single Myosin Molecular Mechanics: Piconewtons Forces and Nanometer Steps," *Nature*, vol. 368, pp. 113-119, 1994.

[57] H. A. Pohl, "Dielectrophoresis," *Cambridge Univ. Press*, 1978.

[58] G. Asbury and G. van den Engh, "Trapping of DNA in non-uniform oscillating electric fields," *Biophysical Journal*, vol. 74, pp. 1024-1030, 1998.

[59] D. Bakewell, M. Hughes, J. Milner, and H. Morgan, "Dielectrophoretic manipulation of Avidin and DNA," *Proc of the IEEE Conf. Eng. in Medicine and Biology*, vol. 20, no. 2, pp. 1079-1082, 1998.

[60] S. Archer et al., "Cell reactions to dielectrophoretic manipulation," *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, vol. 257, pp. 687-698, 1999.

[61] K. Hirano et al., "Application of local temperature control for DNA micromanipulation," *6th Intl. Symp. Micromachines*, pp. 177-182, 1996.

[62] S. Katsura et al., "Handling of single DNA molecules by controlling the temperature," *IEEE Trans. Ind. Appl.*, pp. 1927-1931, 1996.

[63] K. Hamad-Schifferli, J. J. Schwartz, A. T. Santos, S. Zhang, and J. M. Jacobson, "Remote electronic control of DNA hybridization through inductive coupling to an attached metal nanocrystal antenna," *Nature*, vol. 415, pp. 152-155, 2002.

[64] L.S. Lerman, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 68, pp. 1886-1890, 1971.

[65] S. Katsura et al., "Manipulation of globular DNA molecules for sizing and separation," *Electrophoresis*, vol. 21, pp. 171-175, 2000.

[66] K. Hirano et al., "Manipulation of single DNA molecules in globular state," *IEEE Symposium on Micromechatronics*, pp. 205-211, 1998.

[67] K. Morishima, T. Fukuda, F. Arai, and K. Yoshikawa, "Manipulation of DNA molecules utilizing the conformational transition in the higher order structure of DNA," *Proc. of the IEEE Conf. Robotics and Automation*, pp. 1454-1459, 1997.

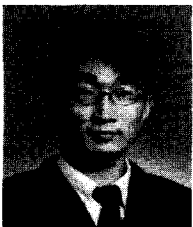
[68] Kurosawa, K. Okabe, and M. Washizu, "DNA analysis based on physical manipulation," *IEEE Trans. Industry Applications*, pp. 311-316, 2000.

[69] T. Yamamoto and O. Kurosawa, "Molecular surgery of DNA based on electrostatic micromanipulation," *IEEE Trans. on Industry Appl.*, vol. 36, no. 4, pp. 1010-1017, 2000.

[70] D. Bensimon, A. J. Simon, V. Croquette, and A. Bensimon, "Stretching DNA with a receding meniscus: experiments and models," *Physical Review Letters*, vol. 74, pp. 4754-4757, 1995.

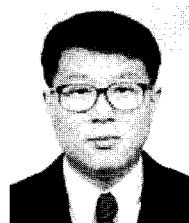
[71] Mehta et al., "Single-molecule biomechanics with optical methods," *Science*, vol. 283, pp. 1689-1695, 1999.

[72] Y. Ishii, A. Ishijima, and T. Yanagida, "Single molecule nanomanipulation of biomolecules," *Trends in Biotechnology*, vol. 19, no. 6, 2001.



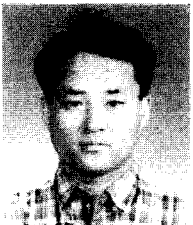
김 덕 호

1975년 7월 3일생. 2000년 서울대 대학원 기계설계학과(공학석사). 2000년~현재 한국과학기술연구원(KIST) 연구원. 2003년 Swiss Federal Institute of Technology 방문연구원. 관심분야는 세포역학, BioMEMS, 나노바이오공학.



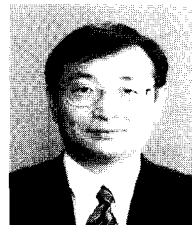
김 병 규

1965년 2월 7일생. 1997년 Univ. of Wisconsin 기계공학과(공학박사). 2000년~현재 한국과학기술연구원(KIST) 책임연구원. 관심분야는 마이크로로봇, 마이크로 액츄에이터, MEMS 시뮬레이션.



주 병 권

1962년 12월 2일생. 1995년 고려대 대학원 전자공학과(공학박사). 1988년~2005년 한국과학기술연구원(KIST) 책임연구원. 2005년~현재 고려대학교 전기공학과 부교수. 1996년 Univ. South Australia (in Australia) 방문연구원. 관심분야는 마이크로시스템, 평판 디스플레이, 나노소자.



박 종 오

1955년 9월 13일생. 1987년 Univ. of Stuttgart (in Germany) 기계공학과(공학박사). 1982년~1987년 Institut Produktions-technki Automatisierung 객원연구원. 1987년~2004년 한국과학기술연구원 책임연구원. 지능형 마이크로시스템 센터 단장. 2005년~현재 전남대학교 기계시스템공학부 교수. 관심분야는 마이크로/나노로봇, 마이크로시스템.