

전기장 인가에 따른 DNA 신장에 관한 AFM 연구

박진영 · 한성웅 · 손세영 · 송성훈 · 김종민* · T. Ohtani* · H. Muramatsu** · 장상목†

동아대학교 공과대학 화학공학과

*일본 농림수산청 산하 국립식품연구소

**일본 세이코 연구소 연구개발센터

(2001년 8월 3일 접수, 2001년 10월 8일 채택)

An AFM Study for Stretching Electric Field Induced DNA

Jin-Young Park, Sung-Woong Han, Se-Young Son, Seong-Hun Song, Jong-Min Kim*,
Toshio Ohtani*, Hiroshi Muramatsu** and Sang-Mok Chang†

Dept. of Chemical Eng., Dong-A University, Hadan-dong 840, Saha-gu, Busan 604-714, Korea

*Dept. of Food Eng., National Food Research Institute, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

**R&D Center, Seiko Instruments Inc., 563 Takatsuka-shinden, Chiba 270-2222, Japan

(Received 3 August 2001; accepted 8 October 2001)

요 약

본 연구에서는 마이카 표면상에서 전기장에 의한 극히 낮은 농도의 DNA 신장에 대한 효율적인 방법론을 제시하였다. 전기장에 의한 DNA 신장을 AFM형상으로 분석한 결과, DNA 농도범위가 약 57×10^{-3} ng/mL- 57×10^{-6} ng/mL일 때 매우 잘 적용되며, 신장된 DNA는 두 전극 중앙에 존재하였다. 또한, 일반 마이카, Mg^{2+} 처리된 마이카, 그리고 AP-마이카 표면들에 대한 신장 효율의 차를 기술하였다. 동일한 실험조건 하에서 AP-마이카의 표면이 가장 좋은 효율의 DNA 신장 결과를 나타내었다.

Abstract – An effective method of DNA stretching using electric field on mica surface was proposed for extremely low solution concentration of DNA. DNA stretching based on electric field was observed by AFM and well applied on the concentration range from 57×10^{-3} ng/mL to 57×10^{-6} ng/mL. Stretched DNA existed in the middle of two electrodes. The difference in stretching efficiency for the different surfaces of bare mica, Mg^{2+} soaked mica and AP-mica was discussed. The best performance of stretching was found from the surface of AP-mica under the same experimental condition.

Key words: AFM, NSOM, DNA, Mica

1. 서 론

현미경을 이용한 DNA 관찰은 DNA 형상 구조와 관련된 특성 분석에 있어 매우 중요한 정보를 제공한다. 이와 관련하여 최근까지 전자 현미경(Electron Microscopy)[1-4], 형광 현미경(fluorescence microscopy)[5-10], 그리고 원자간력 현미경(Atomic Force Microscopy)[11-14] 등을 이용하여 DNA 구조에 대한 고해상도의 형상상을 얻을 수 있었다. 그러나 긴 DNA 형상을 해석하는데 있어 예상치 못한 불규칙한 꼬임 현상으로 인하여 DNA 분자의 형상 구조를 해석하는데 다소 어려움이 있었다. 광학상을 관찰할 경우, 분석하기 전에 DNA가 꼬이지 않게 전기영동을 이용하여 신장시킴으로써 ~3 Mbp에서 1-3 kbp까지 해상도를 향상시킬 수 있었다[15-19]. 이러한 결과가 발표된 이후 전자 현미경, 형광 현미경, 원자간력 현미경 분야에서 각종 신장 기법이 개발되어 왔다. 이들 신장 기법들은 대부분 DNA 분자와 결합특이성을 가지는 물질로 직

접히 처리된 표면과의 특정 생화학 반응을 응용하고 있다. 예를 들어, DNA 말단은 비오틴(Biotin)과 결합특이성을 가지므로 Streptavidin이 코팅된 표면과 선택적으로 결합할 수 있다[20-21]. 그러나 이들 방법은 불균일하게 할당된 영역과 결합하는 DNA에 의해 크게 영향을 받는다. 이들 분석 기법을 응용함에 있어 균일 표면 구조상에 가능한 한, 다량의 DNA 분자들을 고정·배열·신장시키는 것이 무엇보다 중요하다. 스핀코팅 등 기계적 힘에 의한 신장 기법들이 소개되어 개선되고 있으나 많은 문제점을 안고 있다. 예를 들어 Yokota 등은 스핀코팅법이 2가 양이온으로 처리된 마이카 표면에 DNA를 신장시킬 수 있으며[22], 또한 모터 힘으로 실란 처리된 유리 표면에서 DNA를 신장시킬 수 있음을 보고하였다[23]. 그러나 이러한 방법 중 특히 DNA 농도가 낮은 경우에 있어서는 신장동안의 DNA 손실이 큰 문제로 지적되고 있다.

최근 표면특성 분석[24-27]에 활발히 응용되고 있는 AFM은 DNA와 DNA-단백질 착체 구조를 연구하는데 있어서도 상당한 잠재력을 가지고 있다. 그러나 DNA의 긴 가지를 형상화하는데 있어서[28-30] 샘플 준비가 복잡하기 때문에 AFM 이용에는 어려움이 많았다. 실란 처리된 마이카 표면[31]과 2가 양이온 처리된 마이카를 사용하여 잘 신장된

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

DNA를 AFM으로 형상화하였으나, 절단된 가지들과 DNA 파이버에서의 큰 응력, 그리고 상의 거친 표면 때문에 AFM을 이용한 DNA의 형상화에는 여전히 한계가 있었다. 하지만 AFM을 이용한 직접적인 DNA 구조의 물리적 맵핑(mapping)은 현재 중요한 관심사로 대두되고 있다[32]. DNA의 물리적 맵핑을 위하여 깨끗한 표면 위에 잘 신장된 DNA를 형상화하는 것이 선행되어야 하며 이것이 가장 중요한 핵심이다.

몇몇 연구 그룹에 의해 전기장이 인가된 DNA 신장[33-35]에 관해 연구된 바 있으나, 이들 실험은 폴리머 겔상에서 행해진 것으로 AFM에 적용하기 어렵다. 그리고 열역학적으로 볼 때 미립자는 농도가 낮을수록 엔트로피가 증가되고, DNA의 경우, 엔트로피가 증가되면 심각한 꼬임을 유발시키므로 저농도에서 DNA의 신장은 더욱 어렵다. 따라서 본 연구에서는 Mg^{2+} 처리된 마이카, aminosilane으로 처리된 마이카(AP-마이카) 그리고 일반 마이카 표면에서 전기장을 인가하여 극히 낮은 농도의 λ -DNA 신장을 행하여 낮은 농도에서의 DNA 신장의 최적 조건을 구하여 AFM에 의한 DNA 물리적 맵핑을 수행하였다.

2. 실험

2-1. DNA 용액

Wako Pure Chemical로부터 구입한 10 mM Tris와 1 mM EDTA에 보관된 이중가닥 박테리오파지 λ -DNA(48.5 kbp, 570 μ g/mL)를 CCD형상과 AFM형상에 알맞게 질소가 포화된 탈이온화 이차 증류수를 사용하여 각각 57×10^{-3} ng/mL, 57×10^{-6} ng/mL의 최종농도로 희석하였다. Supercoiling 확장과 primer 제거를 위해 λ -DNA를 65 $^{\circ}$ C에서 10분간 가열하였으며, 제조회사로부터 제공받은 착색과정에 따라 염색시약인 YOYO-1(Molecular Probes, 1,1'-(4,4,7,7-tetramethyl-4,7-diazaundecamethylene)-bis-4-[3-methyl-2,3-dihydro-(benzo-1,3-oxazole)-2-methylidene]-quinolinium tetraiodide)과 DNA 염기쌍을 1 : 5(dye : bp)의 비율로 염색하였다. 제조한 샘플용액에는 별도의 버퍼용액이나 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하지 않았으므로 YOYO-1로 염색된 DNA 용액을 적어도 2시간 내에 즉시 사용하였다.

2-2. 전극상의 마이카

Matsunami Glass Ltd.로부터 구입한 슬라이드 글라스(두께: 0.12-0.17 mm, 나비: 24 \times 50 mm)를 아세톤과 탈이온화 이차 증류수로 세척한 후, 한쪽 면을 은(두께 200 nm)으로 진공증착시켰다. Fig. 1은 사용된 전극 형태, 기질 준비방법, 실험장치에 대한 개략도이다. 두 전극간의 거리는 약 10 μ m-5 mm이며, HKK Inc.로부터 구입한 마이카(두께 0.1 mm)는 아세톤으로 세척한 다음, 진공증착된 은전극 위에 접착제를 사용하여 부착시켰다. 본 실험에서는 접착제를 이용하여 마이카를 전극상에 부착시켰으나 접착제 이외에 부드러운 오일류도 가능하리라 사료된다. 전압 인가 이전, 슬라이드 글라스 위에 고정된 일반 마이카의 표면을 한꺼풀 자연스럽게 벗겨 사용하였다. 또한 AP-마이카[3-(aminopropyl)-tri-ethoxy-silane-coated mica]와 2가 양이온으로 처리된 마이카도 동일한 처리과정을 행하였다. DNA에 관한 AFM 연구에 있어 밀폐된 저농도의 기상 하에서 준비된 AP-마이카는 기질로서 사용될 만큼 부드럽고 평평한 표면을 가지며, 2가 양이온으로 처리된 마이카는 1 mM $MgCl_2$ 수용액을 10 μ L정도 떨어뜨린 후 약 5분간 방치한 것을 사용하였다.

2-3. 전기장 인가에 따른 DNA 신장

두 전극 사이에 위치한 마이카 상에 약 1 μ L DNA 용액을 떨어뜨린 후, 전극 양단에 수 초 동안 50-3,000 VDC 범위 내에서 전압을 인가하였다. CCD상을 얻기 위해 10분 이상의 지속적인 전압인가 후, 샘플 표면의 건조를 방지하기 위해 1 μ L 탈이온화 증류수를 첨가하였다. 다음 단계로 CCD상을 관찰한 샘플을 사용하여 AFM 촬영을 행하였다. 한편, DNA는 일반 마이카 위에서 강한 부착력을 가지지 않으므로 AFM 촬영 전, 마이카 표면을 세척할 때 강한 질소가스의 분사나 다량의 증류수 사용은 피해야 한다.

2-4. AFM형상

이미 개발된 SPI3800 SPM 컨트롤러(Seiko Instruments Inc.)와 독립형 현미경(Inverse microscope)으로 이루어진 근시야 주사형 광학 현미경(Near-field Scanning Optical Microscopy: NSOM)/AFM 탐침 스테이

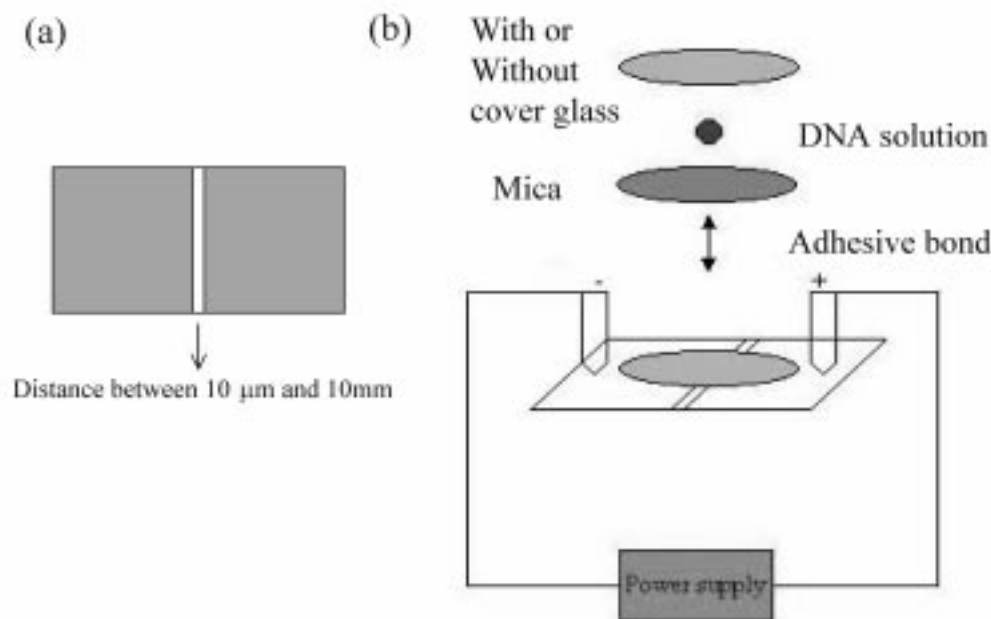


Fig. 1. Schematic drawing for (a) the used electrode shapes, (b) substrate preparation method and (c) experimental setup.

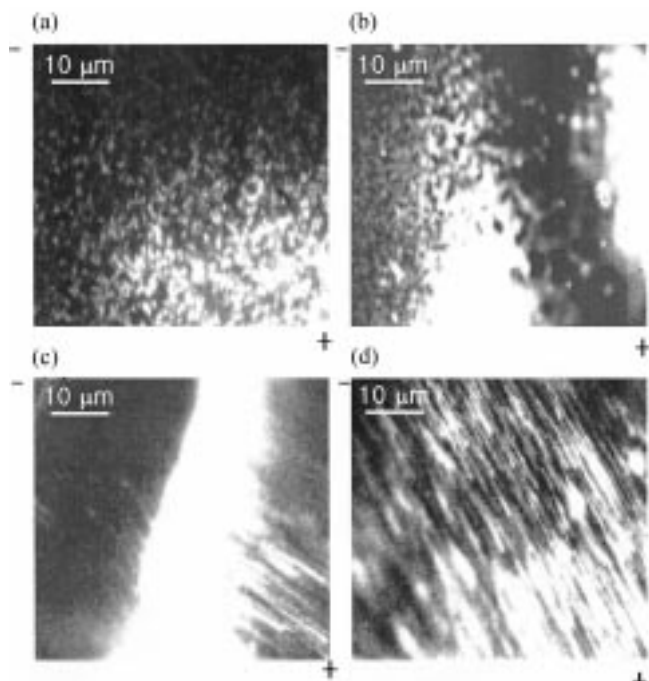


Fig. 2. A time dependence intensified CCD image of electric-field induced DNA stretching when 50 VDC is applied on the two electrodes of distance between two electrode about 5 mm. All image areas are approximately $50 \times 50 \mu\text{m}^2$.

선[36-37]을 이용하여 공기중에서 다이내믹 모드 AFM을 실시하였다. 표준 공진주파수와 탄성계수가 각각 125 KHz, 14 N/m인 다이내믹 모드 Si 캔틸레버(Cantilever; Seiko Instrument Inc., SI-DF20)를 사용하였으며, 마이크로 이하 영역에서의 신장된 DNA를 비교할 경우에는 보다 작은 크기의 팁을 가진 125 KHz, 11 N/m인 캔틸레버(Seiko Instrument Inc., SI-DF20S)를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. DNA 신장 동안의 CCD형상 및 AFM형상

Fig. 2는 약 5 mm 간격의 전극 양단에 50 VDC를 인가했을 때, 시간 경과에 따른 DNA 신장을 나타낸 CCD상이다. 전압 인가 전, 마이카 표면과 DNA간의 친화력을 향상시키기 위해 1 mM MgCl_2 용액을 5분 동안 약 10 μL 정도 마이카 표면에 떨어뜨렸다. Fig. 2에 나타낸 CCD상의 위치는 거의 두 전극 중앙이며, 전극 방향을 양극인 경우는 (+)로, 음극인 경우는 (-)로 표시하였다. 전극 사이에 1 μL DNA용액(57×10^{-3} ng/mL)을 떨어뜨리면 Fig. 2(a)와 같이 DNA 분자들이 활발한 유동성을 가지며 움직인다. 이러한 유동성은 마이카 표면과의 폭넓은 접촉기회를 제공함으로 DNA 신장에 있어 매우 중요한 요소라 할 수 있다. 또한, 본 실험에서의 전기장 내 DNA 신장뿐만 아니라 spin-stretching, combing 심지어 직접 흡착과 같은 다른 일반적인 방법을 이용할 때, 활발한 유동성은 보다 좋은 DNA 신장 결과를 나타내었다. DNA 유동성은 표면과 용액 특성에 의해 영향을 받는다[38]. 전압 인가 후, Fig. 2(b)와 같이 DNA 분자들은 인가 전압으로 인해 이동하기 시작한다. DNA 이동을 관찰하는 동안 Fig. 2(b)의 단계에서 전압을 인가하지 않으면 DNA 이동은 Fig. 2(a)의 원래 상태로 복귀한다. 일반적으로 DNA는 양극을 향해 이동하지만 Fig. 2(c)와 같이 소량의 DNA는 음극으로 이동하기도 한다. DNA는 강한 음전하를 가지므로, 양극으로의 DNA 이동은 DNA 분자와 양극간의 정적 상호작용을 의미한다. 표면건조 방지를 위해 1 μL

탈이온화 이차 증류수를 첨가한 후, 최종적으로 Fig. 2(d)와 같이 신장된 DNA를 확인할 수 있었다. 일반적으로 Fig. 2의 반응은 그 메커니즘을 관찰하기에는 무척 빠르지만, 사실상 CCD상은 매우 느리게 진행되는다. 예를 들어 Fig. 2의 CCD상 분석으로 확인된 전극으로의 DNA 이동 속도는 약 0.5 $\mu\text{m/s}$ 이지만, 훨씬 고전압을 인가하면 이동속도는 더욱 빨라져 100 $\mu\text{m/s}$ 이상에 달한다. 또한 500 VDC 이상의 가속전압을 인가하면 DNA를 신장시키는 데 소요되는 총 시간은 불과 수초에 불과하다. DNA 신장 메커니즘을 분석하는데 있어서는 두 가지 요소를 고려해야 한다. 첫째, 양극에서 음극으로 향하는 전기장, 둘째 DNA의 강한 음전하가 두 전극과 마이카 표면에 작용한다는 것이다. 한편, 두 전극 사이의 용액 이동은 전기장에 의한 DNA 이동과는 반대 방향인 음극으로 향하였으며, Fig. 2(c)와 같이 증류수의 이동으로 인한 음극으로 신장된 DNA를 확인하였다. 두 전극사이의 거리도 메커니즘의 또 다른 변수이다. 예를 들어, 7 mm 이상의 거리를 둔 전극에 1,000 VDC를 인가하면 DNA는 신장되지 않는다. 반면, DNA 길이보다 짧은 거리에서는 강한 전기장으로 인해 DNA가 사라졌으며, 여러 실험을 거쳐 사라진 DNA가 양극 상단에 위치하고 있음을 확인하였다. Washizu 등[33]이 보고한 바에 의하면, AC전압의 경우, 전극 거리가 DNA 길이보다 짧으면 DNA는 신장하여 두 전극 위에 고정된다. 이러한 사실은 AC전압과 DC전압 간의 DNA 신장 메커니즘이 상이함을 의미한다.

Fig. 3은 Fig. 2와 동일한 신장 조건하에서 얻어진 AFM상으로서 각각 (a) 양극 근처, (b) 두 전극의 중앙, (c) 음극 윗부분, 그리고 (d) 양극 윗부분에서 신장된 DNA들을 나타낸다. 본 연구에서 얻어진 모든 AFM상의 스캔 속도는 약 0.4 Hz이다. Fig. 3(a)와 (b)에서 모든 DNA는 동일한 방향으로 배열된 상태이지만, 적어도 두 가지 문제점을 고려해야만 한다. 첫째, DNA 밀도가 AFM 연구에 있어 너무 크다는 점과 둘째, Fig. 3(a)와 같이 신장되지 않은 구형 DNA가 여전히 존재한다는 점이다. 그러나 DNA 밀도는 용액 희석에 의해 쉽게 조절 가능하다. 또한, 높은 전기력으로 작은 크기의 구형 DNA를 제거할 수 있기 때문에, 두 전극 사이의 거리를 변화시킴으로서 두번째 문제를 해결할 수 있으리라 사료된다.

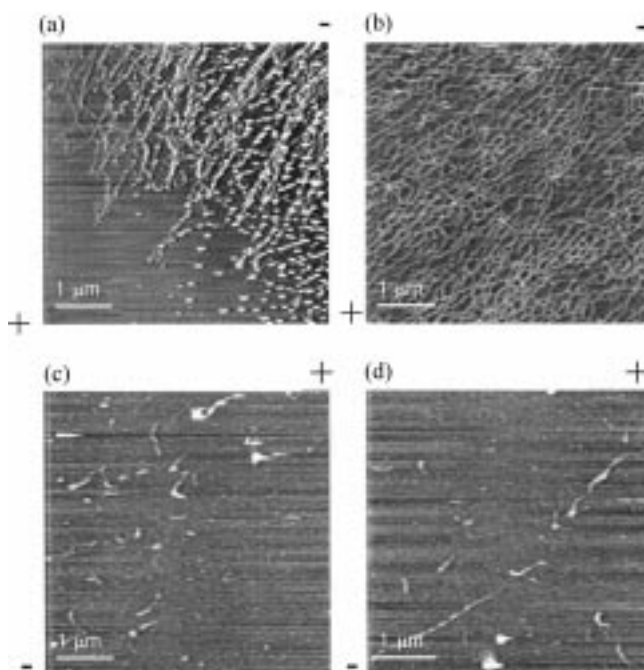


Fig. 3. AFM images by the function of position. Interface between positive electrode and DNA solution (a), middle of two electrodes (b), interface between negative electrode and DNA solution (c) and upper part of positive electrode (d). All scan sizes are $5 \times 5 \mu\text{m}^2$.

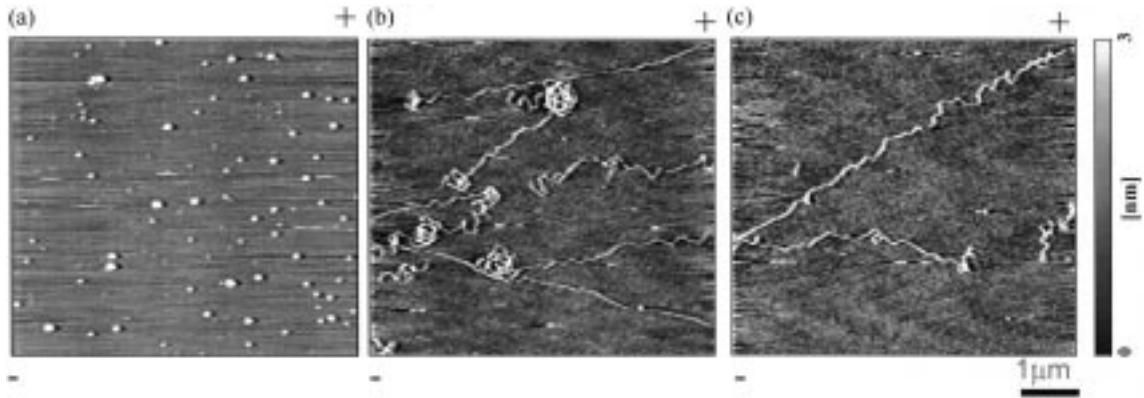


Fig. 4. AFM images of DNAs produced by different applied voltage with same working electrodes in shape and distance. (a) 50 VDC and (b) 500 VDC was applied for 10 sec. Image areas are $5 \times 5 \mu\text{m}^2$.

이미 언급한 바와 같이, DNA 신장은 인가 전압에 의해서도 영향을 받는다. Fig. 4는 각각 0 VDC, 50 VDC, 250 VDC를 약 10분 동안 전극 양단에 인가했을 때의 전형적인 DNA상을 나타내고 있다. Fig. 4와 같이, DNA 배열 방향은 동일하지만 완벽한 신장은 이루어지지 않았다. 이는 전압부족에 따른 영향이라 사료된다. 한편, 인가 전압이 3,000 VDC에 이르렀을 때, 강한 전기장의 영향으로 DNA는 용액과 함께 이동하지 않고 양극으로 이동하였다. 여러 시행착오를 거쳐 거리와 전압 영향을 비교한 결과, 500-2,000 VDC의 적용 전압으로 전극 거리가 약 100-300 μm 일 때 DNA를 신장시킬 수 있음을 알았다.

Fig. 5는 전극사이 거리와 인가 전압을 조절함으로써 얻어진 단일 DNA를 나타낸 AFM상이다. 두 전극 사이의 거리는 약 100 μm 이며, 57×10^{-6} ng/mL DNA 희석용액을 두 전극 중앙에 투입하여 1,000 VDC를 약 10 초 동안 인가하였다. 이 실험조건에서 신장된 DNA 밀도는 약 5 DNA/100 μm^2 이며, 신장된 영역은 1 μL DNA용액 투입시 약 100 $\mu\text{m} \times 5 \text{ mm}$ 이다. Fig. 5에서 DNA 길이는 거의 19 μm 에 달했다. Bennink 등[21]은 YOYO-1 주입에 따른 DNA 길이의 증가에 대해 보고한 바 있다. 그 연구에 따르면 λ -DNA의 길이는 YOYO-1의 영향으로 원래 길이보다 약 10-20% 정도 길게 나타났으며, 또 다른 연구[23, 38]에서는 20 μm 이상의 λ -DNA를 확인하였다. 또한, 이번 관찰에서도 DNA 길이는 YOYO-1

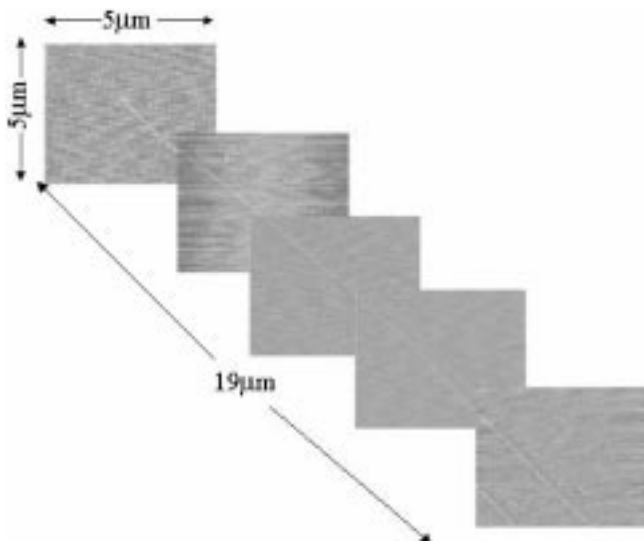


Fig. 5. AFM images of stretched single λ -DNA by applying 1,000 VDC for 10 sec. Each scan size is $5 \times 5 \mu\text{m}^2$.

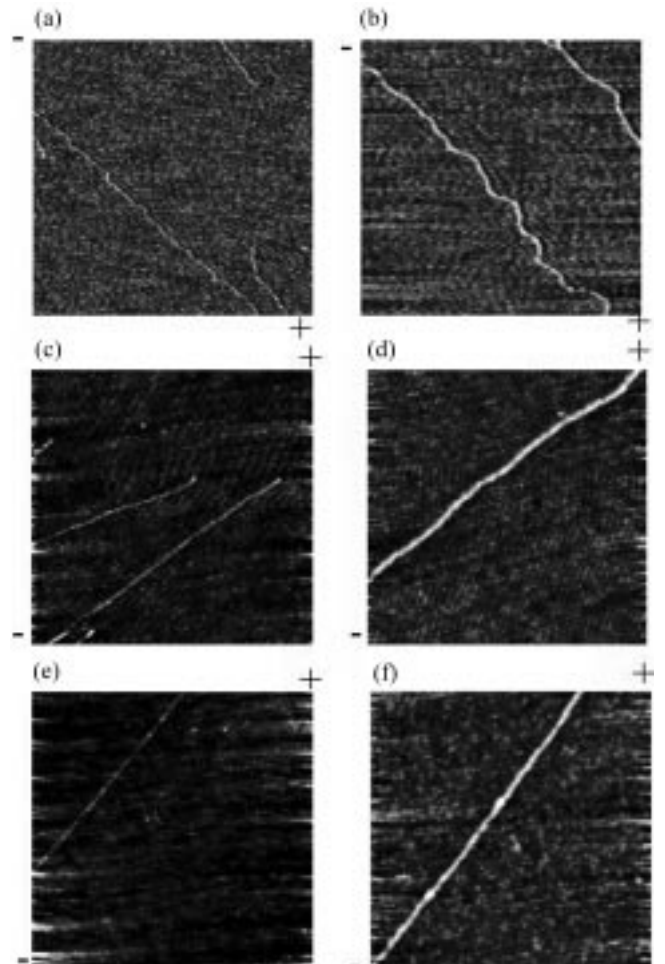


Fig. 6. Difference in stretching efficiency by the surface property with the same experimental condition. (a, b) Bare mica, (c, d) Mg^{2+} soaked mica and (e, f) AP-mica. Image areas are (a, c, e) $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ and (b, d, f) $1 \times 1 \mu\text{m}^2$.

과 DNA사이의 혼합비에 따라 변화하였다. 따라서, DNA의 신장 형태뿐만 아니라, YOYO-1 주입이 DNA 길이에 영향을 주는 것으로 사료된다.

3-2. 마이크로 이하 영역에서의 DNA 신장에 대한 표면 특성의 영향
Fig. 6과 같이, 신장 효율은 표면 특성에 따라 달라진다. AP-파이카를 기

질로 사용했을 때 가장 좋은 효율을 나타내었으며, 이러한 신장 효율의 차는 표면과 DNA 분자간의 서로 다른 정적 상호작용(static interaction)으로 설명될 수 있다. Stein[39]의 연구에 따르면, DNA 말단은 중앙부보다 훨씬 음성적이므로, 표면과의 상호작용은 DNA 분자의 다른 부분과 동일하지 않다. AP-마이카와 Mg^{2+} 처리된 마이카의 양전하는 DNA 분자의 말단을 잘 부착시킴으로, 전압 인가시 쉽게 DNA를 신장시킬 수 있다(AP-마이카의 경우, 증류수 내에서 $-NH_2$ 가 $-NH_3^+$ 로 변하는 것으로 믿어진다). 전기장으로 긴 DNA를 신장시키기 위해서는 인가 전압에 따른 표면과 DNA 분자간의 정적 상호작용, 그리고 양극과 DNA 분자간의 정적 상호작용을 잘 조절해야만 한다. 일반 마이카의 표면은 증류수 내에서 음전하를 띠기 때문에, DNA 말단과의 상호작용은 약하고 다소 반발적이다. 따라서, Fig. 6(a), (b), (c)의 영역에서는 DNA가 신장된 것으로 보이지만, 실제 마이크로미터 이하범위로 확대해 보면 지그재그 형태를 나타낸다. 이러한 마이크로 영역 내에서의 차는 측정된 DNA 길이에 영향을 줄 것이다. Table 1은 일반 마이카, Mg^{2+} 처리된 마이카, AP-마이카를 사용하여 측정된 DNA 치수를 나타낸 것이다. 이들 차이를 확인하기 위해 force curve를 분석한 결과, 모세관력과 큰 차이를 보이지 않았다. 한편, 이러한 상이한 DNA 치수에 대한 또 하나의 가능성은 연속 스캔으로 인한 팁의 오염이다. 동일한 캔틸레버를 사용하여 일반 마이카, Mg^{2+} 처리된 마이카, AP-마이카 순으로 스캔하였으며, 그 결과는 DNA의 높이와 폭에 있어 동일한 순서를 나타내었다. 한편, AP-마이카의 경우, DNA의 높이와 폭에 대한 편차범위는 둘 다 매우 크며, aminosilane의 표면형상 구조 역시 DNA의 높이와 폭에 영향을 준다. 우리는 반응 시간을 제외하고 Bezanilla 등[40]에 의해 보고된 실란화와 동일한 방법을 사용하였으며, 이 방법은 질소가스 내에서 매우 낮은 가스상 실란화에 기초한 것이다. 보다 구체적인 검토를 위해 Fig. 7의 반응 시간에 따른 AP-마이카의 표면 프로파일과 AFM상을 확인하였다. Fig. 7과 같이, AP-마이카의 표면 거칠기는 반응시간이 증가함에 따라 증가하였다. 한편, 이번 실험에서 DNA 분자에 대한 아미노기의 기능성은 이 두께 범

위 내에서 변하지 않았다. Fig. 7(a)에는 40분간 처리된 AP-마이카를 사용했기 때문에 AP-마이카에 대한 DNA 길이와 높이의 편차는 AP-마이카의 표면 거칠기로 설명할 수 있다.

4. 결 론

본 연구 그룹은 각각 일반 마이카, AP-마이카, Mg^{2+} 처리된 마이카 표면상에서 전기장 인가에 따른 극히 낮은 농도의 DNA 신장을 성공적으로 수행하였다. 인가 전압, 두 전극사이의 거리는 DNA 신장에 영향을 주었다. 따라서, 인가전압과 두 전극 거리의 관계는 DNA 신장에 있어 중요한 요소로 사료된다. 또한 기질로서 AP-마이카를 사용했을 경우, 신장 효율이 가장 좋았다. 한편, 본 응용 기법은 극히 낮은 농도의 DNA일 경우에는 매우 효율적이지만 높은 농도에서는 신장된 부분이 상당히 조밀함으로 AFM 연구로의 응용에는 적합하지 못하다.

감 사

본 연구는 RRC(산학협력센터)의 연구비 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kleinschmidt, A. K.: (ed.). "Monolayer Techniques in Electron Microscopy of Nucleic Acid Molecules," Academic Press, New York(1968).
2. Peters, T. D., Newlon, C. S., Byers, B. and Fangman, W. L.: In(ed.). "Chromosome Structure and Function. Cold Spring Harbor Laboratory," Cold Spring Harbor, **18**, 9(1974).
3. Kavenoff, R., Klotz, L. C. and Zimm, B. H.: In(ed.). "Chromosome Structure and Function. Cold Spring Harbor Laboratory," Cold Spring Harbor, **18**, 1(1974).
4. Moudrianakis, E. N. and Beer, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **53**, 565(1965).
5. Yanagida, M., Hiraoka, Y. and Katsura, L.: In(ed.). "Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Cold Spring Harbor Laboratory," Cold Spring Harbor, **47**, 177(1974).
6. Smith, S. B., Finzi, L. and Butamente, C.: *Science*, **258**, 1122(1992).
7. Smith, S. B., Aldridge, P. K. and Callis, J. B.: *Science*, **243**, 203(1989).
8. Engh, G. v. d., Sach, R. and Trask, B. J.: *Science*, **257**, 1410(1992).
9. Wiegant, J., Ried, T., Nederlof, P. M., Ploeg, M. v. d., Tanke, H. J. and Raap, A. K.: *Nucleic Acids Res.*, **19**, 3237(1991).
10. Langer-Safer, P. R., Levine, M. and Ward, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 4381(1982).
11. Lyubchenko, Y. L., Oden, P. I., Lamper, D., Lindsay, S. M. and Dunker, K. A.: *Nucleic Acids Res.*, **21**, 1117(1993).
12. Murray, M. N., Hansma, H. G., Bezanilla, M., Sano, T., Ogletree, D. F., Kolbe, W., Smith, C. L., Cantor, C. L., Spengler, S., Hansma, P. K. and Salmeron, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 3811(1993).
13. Bottomley, L. A., Haseltine, J. N., Allison, D. P., Warmack, R. J., Thundat, T., Sachleben, R. A., Brown, G. M., Woychik, R. P., Jacobson, K. B. and Ferrell, T. L.: *J. Vac. Sci. Technol. A*, **10**, 591(1992).
14. Bustamente, C., Vesenska, J., Tang, C. L., Rees, W. and Guthold, M.: *Biochemistry*, **31**, 22(1992).
15. Wiegant, J., Kalle, W., Brookes, S., Hoovers, J. M. N., Dauwerse, J. G., van Ommen, G. J. B. and Raap, A. K.: *Hum. Mol. Genet.*, **1**, 587(1992).
16. Parra, I. and Windle, B.: *Nature Genet.*, **5**, 17(1993).

Table 1. The measured dimensions of the DNA molecules with bare mica, Mg^{2+} soaked mica, AP-mica

Mica	DNA Height(nm)	Width(nm)
Bare mica	0.43±0.05	14±0.05
Mg^{2+} soaked mica	0.40±0.05	15±0.5
AP-mica	0.45±0.2	15±1

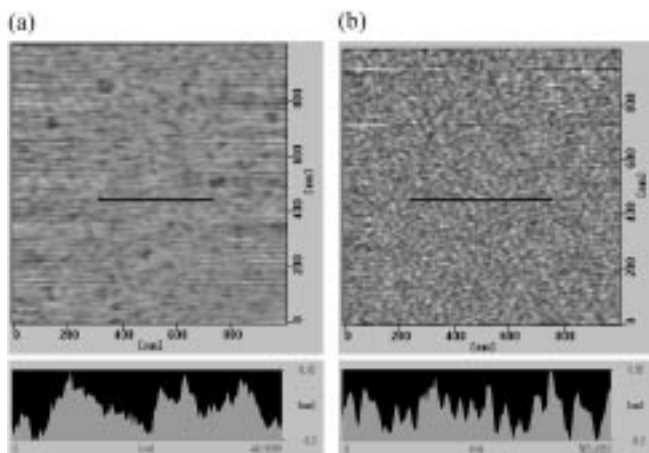


Fig. 7. Changes in AFM image and surface roughness of AP-mica by the reaction time. AFM images after vapor treatment for (a) 40 min and (b) 2 hr in the $1 \times 1 \mu m^2$.

17. Heisanen, M., Karhu, R., Hellsten, E., Peltonen, L., Kallioniemi, O. P. and Palotie, A.: *BioTechniques*, **17**, 928(1994).
18. Posenberg, C., Florijn, R. J., van de Rijke, F. M., Blonden, L. A. J., Raap, T. K., van Ommen, G. J. B. and den Dunnen, J. T.: *Nature Genet.*, **10**, 477(1995).
19. Weier, H.-U. G., Wang, M., Mullikin, J. C., Zhu, Y., Cheng, J.-F., Greulich, K. M., Bensimon, A. and Gray, J. W.: *Hum. Mol. Genet.*, **4**, 1903(1995).
20. Zimmermann, R. M. and Cox, E. C.: *Nucleic Acids Res.*, **22**(3), 492 (1994).
21. Bennink, M. J., Schärer, O. V., Kanaar, R., Sakata-Sogaw, K., Schins, J. M., Kanger, J. S., Grooth, B. G. de and Grove, J.: *Cytometry*, **36**, 200 (1999).
22. Yokota, H., SunWoo, J., Sarikaya, M., Engh, G.-v. d. and Aebersold, R.: *Anal. Chem.*, **71**, 4418(1999).
23. Yokota, H., Johnson, F., Lu, H., Robinson, R. M., Belu, A. M., Garrison, M. D., Ratner, B. D., Trask, B. J. and Miller, D. L.: *Nucleic Acids Res.*, **25**(5), 1064(1997).
24. Kim, J. M., Chang, S. M. and Muramatsu, H.: *Applied physics letters*, **74**, 466(1999).
25. Kim, J. M., Chang, S. M., Suda, Y. and Muramatsu, H.: *Sensors and Actuators*, **A72**, 140(1999).
26. Cho, H. S., Lee, H. J., Choi, K. J., Kim, J. M., Kim, Y. H. and Chang, S. M.: *HWAHAK KONGHAK*, **38**, 160(2000).
27. Park, S. B.: *HWAHAK KONGHAK*, **37**, 904(1999).
28. Hansma, H. G., Revenko, I., Kim, K. and Laney, D. E.: *Nucleic Acids Res.*, **24**, 713(1996).
29. Lyubchenko, Y. L., Jacobs, B. L. and Lindsay, S. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 2137(1992).
30. Thundat, T., Allison, D. P. and Warmack, R. J.: *Nucleic Acids Res.*, **22**, 4224(1994).
31. Hu, J., Wang, M., Weier, H.-U. G., Frantz, P., Kolbe, W., Ogletree, D. F. and Salmeron, M.: *Langmuir*, **12**, 1697(1996).
32. Lyubchenko, Y. L., Jacobs, B. L., Lindsay, S. M. and Stasiak, A.: *Scanning Microscopy*, **9**, 705(1995).
33. Washizu, M. and Kurosawa, O.: *IEEE Trans. Ind. Appl.*, **26**, 1165(1990).
34. Asbury, C. L. and van der Engh, G.: *Biophys. J.*, **74**, 1024(1998).
35. Volkmuth, W. O. and Austin, R. H.: *Nature*, **358**, 600(1992).
36. Muramatsu, H., Chiba, N., Ataka, T., Monobe, H. and Fujihira, M.: *Ultramicroscopy*, **57**, 141(1995).
37. Muramatsu, H., Chiba, N., Homma, K., Kakajima, K., Ataka, T., Ohta, S., Kusumi, A. and Fujihira, M.: *Appl. Phys. Lett.*, **66**, 3245(1995).
38. Allemand, J. F., Bensimon, D., Jullien, L., Bensimon, A. and Croquette, V.: *Biophys. J.*, **73**, 2064(1997).
39. Stein, V. M., Bond, J. P., Capp, M. W., Anderson, C. F. and Anderson, M. R.: *Biophys. J.*, **68**, 1063(1995).
40. Bezanilla, M., Manne, S., Laney D. E., Lyubchenko, Y. L. and Hansma H. G.: *Langmuir*, **11**, 655(1995).