

DNA 하이드로젤 기반 기능성 바이오소재

DNA Hydrogel-Based Functional Biomaterials

남건욱 · 김태형 · 노영훈 | Keonwook Nam · Tae Hyung Kim · Young Hoon Roh

Department of Biotechnology, Yonsei University, 50 Yonsei-ro, Seodaemoon-gu, Seoul 03722, Korea

E-mail: yr36@yonsei.ac.kr

1. 서론

최근 바이오소재 중 테옥시리보핵산(DNA)은 유전정보를 저장, 전달, 제어하는 기존의 생물학적 역할과 더불어 나노구조체 및 지지체로서의 응용 가능성이 매우 뛰어난 생체소재로 주목을 받고 있다. DNA는 생분해성 일 뿐만 아니라 분해된 물질이 생체 내의 대사산물에 생체 독성이 적은 생체친화적인 고분자 물질이다. 또한 DNA에는 다양한 화학적 방법을 통한 기능기 부착이 가능하고, 기질 특이성과 염기서열 정보에 따라 프로그램 된 자기조립기능을 가지고 있으며, 나노미터 단위로 정교한 구조체 형성이 가능하다는 장점이 있다.

바이오소재 측면에서의 연구와 더불어, 실생활과 산업적 활용을 위해서 다양한 형태로의 적용이 필요한데 그 중 대표적인 것이 고분자로 이루어진 하이드로젤이다. 하이드로젤이란 명칭은 1894년에 처음 사용되었으며, 공유결합, 수소결합, 반데르발스 힘(Van der Waals Force) 등의 물리 화학적인 인력과 결합에 의하여 가교된 3 차원 네트워크 구조를 가진 친수성 고분자를 말한다.¹ 하이드로젤은 수용액일 때 다량의 물을 내부에 함유하여 팽윤하는 성질을 가지고 있으며, 팽윤되었을 때 90% 이상이 물로 구성되어 있다. 고분자 하이드로젤은 표면의 고분자 사슬의 높은 유동성 때문에 표면장력이 낮고, 이로 인해 하이드로젤 내외부의 물질전달이 용이하며, 높은 수분함량으로 일반세포 조직과 유사한 유연성을 가지고 있으면서, 생체적합성이 좋다는 장점이 있다.² 이런 장점들 때문에 고분자 하이드로젤은 콘택트 렌즈, 의료용 전극, 조직재생을 위한 세포 배양 시 많이 쓰이고 특수 한 용도로 성형 재료나 화상 상처용 붕대류, 수분공급을 위한 미용제품 등의 목적에도 다양하게 쓰인다. 현재는 더 좋은 기능성과 활용성을 위하여 생체소재를 복합적으로 사용하여 물리적, 화학적 특성을 조절할 수 있고, 다양한 기능성이 부여된 하이브리드 고분자 하이드로젤을 제작 및 응용하는 연구도 활발히 진행하고 있다.³

최근 나노공학(NT)과 생명공학(BT)을 결합한 나노바이오 융합학문의 발전으로 핵산나노공법을 이용한 DNA 기반 하이드로젤 제작과 바이오소재로서의 응용에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 본 특집에서는 현재

Author



남건욱

2013 시라큐스대학교 생명공학과 (학사)
2014 카네기멜론대학교 생명공학과 (석사)
2015-현재 연세대학교 생명공학과 (박사과정)



김태형

2013 연세대학교 생명공학과 (학사)
2013-현재 연세대학교 생명공학과 (석박통합과정)



노영훈

2002 연세대학교 생명공학과 (학사)
2004 연세대학교 생명공학과 (석사)
2010 코넬대학교 생명공학과 (박사)
2011-2015 코넬대학교 생명공학과 (Post-Doc.)
MIT 화학공학과 (Post-Doc.)
2015-현재 연세대학교 생명공학과 조교수

까지 개발된 DNA 하이드로젤 제조 방법에 대한 대표적인 유형들을 소개하고, DNA 하이드로젤을 이용한 다양한 의·생명공학적 응용 예시와 활용 가능성을 소개하고자 한다.

2. 본론

2.1 바이오소재로서의 DNA의 특성

DNA의 이중나선형 구조는 1953년에 James Watson과 Francis Crick에 의해 처음으로 밝혀졌고, 이들은 1954년에 퓨린(purine)과 피리미딘(pyrimidine)기의 수소결합을 통한 뉴클레오티드(nucleotide)의 상보결합(hybridization)으로 구조체를 이루는 것을 밝혀냈다(그림 1).^{4,5} DNA를 구성하는 퓨린기중 아데닌(adenine)과 구아닌(guanine) 염기는 피리미딘의 타민(thymine)과 시토신(cytosine)과의 특이적 결합을 이루고 이러한 결합 특이성을 염기쌍형성규칙(base pairing rule)이라 한다. 추후 과학기술의 발달로 DNA의 기계적, 물리적, 화학적 및 생물학적 특성들을 발견하게 되어 생체재료로서의 활용이 연구되었다.⁶

기계적으로 DNA 구조는 지속 길이(persistence length)를 기준으로 유연함 혹은 단단함을 조절할 수 있다. 지속 길이는 DNA 구조의 구성에 영향을 받으며 이중가닥의 DNA의 경우 ~50 nm, 단일 가닥의 DNA의 경우 ~1 nm가 된다. 이 지속 길이보다 DNA 염기서열이 길면 유연하고 짧으면 단단한 성질을 지니며, 환형 DNA와 같은 구조체로 인한 초나선 DNA 형성을 통해서도 DNA의 기계적 특성 변화를 줄 수 있다. 또한 이중가닥 DNA는 물리적으로 2 nm의 폭과 뉴클레오티드당 0.34 nm의 길이인 나노 사이즈의 매우 작은 생체재료이기 때문에 정교한 DNA 구조체 및 지지체 형성이

가능하다. DNA는 특정 뉴클레오티드와 상보결합을 이루어 형성되므로 결합적 특이성을 갖고 있다. 그러므로 DNA 염기서열을 디자인하여 정교한 모양의 구조체 형성 및 유전정보를 전달할 수 있다. 화학적으로 DNA는 독성이 없고, 안정적이며 수용성이다. 또한 생물학적 및 화학적 반응을 활용하여 DNA를 옹스트롬(angstrom) 단위로 조작할 수 있다. 예를 들어 다양한 종류의 효소들을 이용하여 DNA 구조의 특정 부위를 잘라내거나 이어주고 복제할 수 있으며 선택적으로 재결합하는 등 DNA 구조체의 모양을 정교하게 변형이 가능하다.^{7,8} 또한 화학적 반응을 통해 다양한 소재의 작용기를 결합하여 DNA 구조체에 기능성을 부여할 수 있다.

DNA의 소재적 특성과 핵산나노공법을 활용하여 하이드로젤을 만드는 방법은 크게 세 가지가 있다. 첫째로 DNA의 끝에 존재하는 접착성 말단(sticky end)을 상보결합을 통해 두 DNA의 조각들을 일시적으로 부착하고 리가아제(ligase) 연결효소로 DNA 구조의 당인산 중추(sugar-phosphate backbone) 부위를 연결하는 생물학적 방법으로 하이드로젤과 같은 지지체 형성이 가능하다(그림 2). 둘째로는 DNA 복제 효소를 통해 긴 DNA 가닥들을 생성하고 물리적 상호작용을 통해 얹히게 되어 형성되는 하이드로젤이 있다. 마지막으로 DNA의 접착성 말단에 반응성 기능기를 부착하여 외부 자극에 화학적 반응이 초래되어 생성되는 화학적 반응을 통한 하이드로젤 공법이 있다.

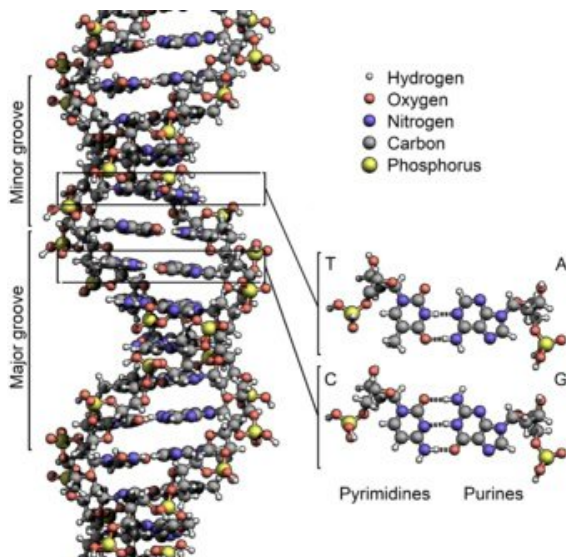


그림 1. 이중나선형의 DNA 구조. 피리미딘과 퓨린으로 구성되어 있는 DNA는 염기서열의 특이적 상보결합을 통해 이중나선형의 구조를 형성한다.

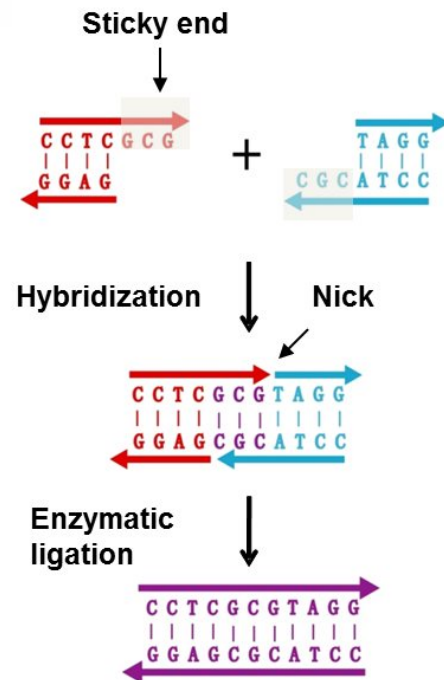


그림 2. 연결효소를 활용한 구조체 제작. 두 DNA 구조체의 서열에 있는 접착성 말단의 상보결합을 통해 각 DNA 구조체를 결합하고, 생성된 홈을 효소반응을 통해 연결시키는 DNA 결합법.⁸ Reproduced with permission of *Chem. Soc. Rev.* (2006) Royal Society of Chemistry.

2.2 생물학적 반응을 통한 DNA 하이드로젤 제작 및 응용

DNA 하이드로젤은 DNA의 구조적 및 소재적 특성과 효소결합을 이용하여 Dan Luo 그룹에서 2006년에 처음으로 보고되었다. DNA 하이드로젤 제작을 위해서는 우선 DNA의 염기서열에 따른 선택적인 상보결합 능력과 정교한 온도 조절을 통하여 X-, Y-, T-와 같은 다양한 형태의 접착성 말단이 존재하는 분지형 DNA 나노단위체의 합성이 필요하다(그림 3a).^{9,10} 합성된 분지형 DNA 나노단위체 접착성 말단의 추가적인 상보결합과 단일 DNA 가닥 간 인산디에스테르 결합을 촉진하는 Ligase 연결 효소를 통해 나노단위체간의 뼈대를 연결하고 중첩으로 인한 정전기 상호 작용, 반데르발스 힘, 소수성 효과 등이 작용하여 구조체를 안정화한다. 경화된 DNA 구조체는 하이드로젤을 구성하는 지지체로 구조적인 역할을 한다(그림 3b). DNA 나노단위체를 기반으로

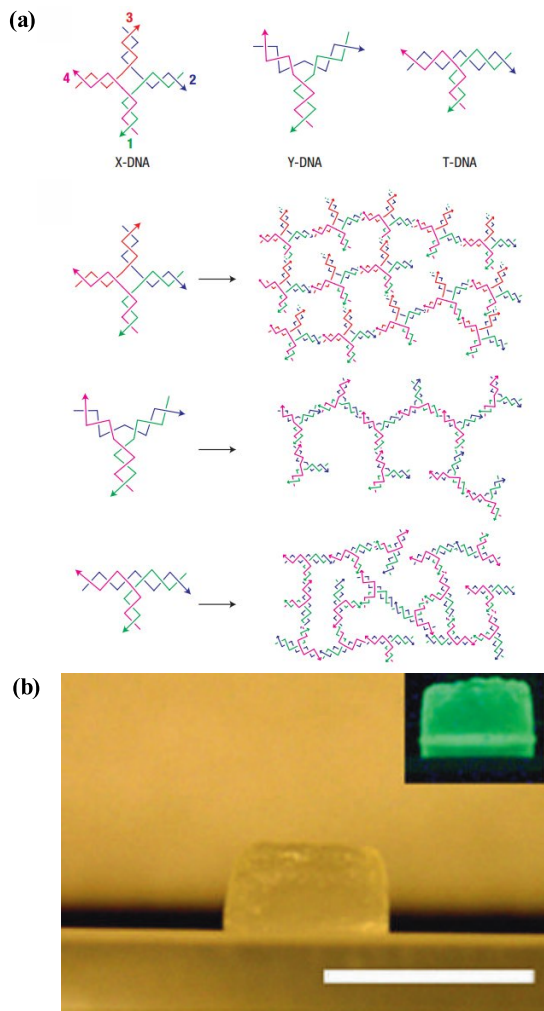


그림 3. X, Y, T 모양의 분지형 DNA 나노단위체와 효소반응을 통해 경화된 DNA 하이드로젤: (a) 여러 DNA 가닥들의 상보결합을 통해 만들어진 X, Y, T 모양의 분지형 DNA 나노단위체와 중합된 하이드로젤의 구조, (b) SYBR으로 염색된 DNA 하이드로젤 사진. 기준자는 1 cm를 나타냄.⁹ Reproduced with permission of *Nat. Mater.* (2009) Nature Publishing Group.

생성된 하이드로젤은 DNA 나노단위체의 종류와 농도에 따라 기공의 크기 및 분포 또는 젤의 팽윤 정도와 같은 특징들을 조절할 수 있으며, 이를 통해 하이드로젤의 생분해성, 물성, 약물 전달물의 최적화가 가능하다.

효소를 통한 DNA 하이드로젤은 구조적 조절성으로 인해 약물 전달체로서의 응용이 가능하다. 암 환자의 경우 주로 인체의 면역체계가 손상되어 있으므로 면역반응을 회복하였을 때 암 증식 억제 효과를 보기 위해 Makiya Nishikawa 그룹에서는 면역반응을 초래하는 immunostimulatory agents를 DNA 하이드로젤로 전달하였다.¹¹ 디뉴클레오타이드인 시토산-인산-구아닌(unmethylated Cytosine-Phosphate-Guanine; CpG)은 널리 알려진 면역자극 생산물질로, CpG 서열을 반복적으로 포함한 염기서열과 그렇지 않은 염기서열을 사용하여 X 모양의 분지형 DNA 나노단위체를 형성하고 효소적 경화를 통해 하이드로젤을 생산하였다(CpG DNA 하이드로젤). 그 후 암 CpG DNA 하이드로젤의 증식 억제효과를 비교해 보았고 더욱 효과적인 치료를 위해 DNA 염기서열 사이의 중간 화합(intercalation)에 의해 결합하는 항암제 독소루비신(doxorubicin, DXR)을 첨가하여 암치료 효과를 확인하였다.¹² 그 결과 독소루비신을 단독으로 처리한 암세포 보다 면역자극 물질과 항암제를 복합적으로 전달하였을 때 더욱 효과적인 항암효과를 확인할 수 있었다(그림 4). 그 외에도 DNA 나노단위체의 염기서열 디자인을 통해 안티센스 치료와 항암제 전달을 복합적으로 진행할 수 있기 때문에 기존의 치료법보다 더욱 효과적인 치료가 기대된다.

또한 효소를 통해 제작된 DNA 하이드로젤은 DNA 나노단위체의 구조적, 물리적 특성 조절뿐만 아니라 단위체의 접착성 말단에 다양한 기능을 가져 응용될 수 있다는 큰 특징이 있다. 현재 각 DNA 나노단위체에 형광 이미징용 물질, 단백질, 핵산 등의 다양한 물질을 결합해 기능성을 부여하는 연구가 진행 중이다. 대표적인 예로써, X 모양의 DNA 나노단위체에 특정 단백질 유전자 정보가 있는 플라스미드를 결합해 무세포의 환경에서 단백질을 생산하는 하이드로젤 시스템(cell-free protein production gel, P-gel)으로 응용되고 있다(그림 4).^{13,14} 플라스미드가 함유된 DNA 하이드로젤을 효소와 마이크로패터닝을 통해 패드 모양으로 경화시킨 후, 단백질 생산에 필요한 리보솜과 RNA 중합 효소 및 mRNA 생성에 필요한 뉴클레오타이드, 에너지원이 될 ATP 등을 첨가하여 세포외의 환경에서 단백질 생산이 가능하도록 하였다(*in vitro* translation system). 단백질 생산 확인을 위하여 Renilla Luciferase와 Aequorea coerulescens green fluorescent protein(AcGFP)와 같이 형광을 발현하는 표적 단백질의 플라스미드를 결합하여 형광 발현량을 확인한 결과, P-gel이 기존의 수용액 상 단백질 발현 시스템(solution phase system, SPS)을 통한 생산량보다 Renilla Luciferase

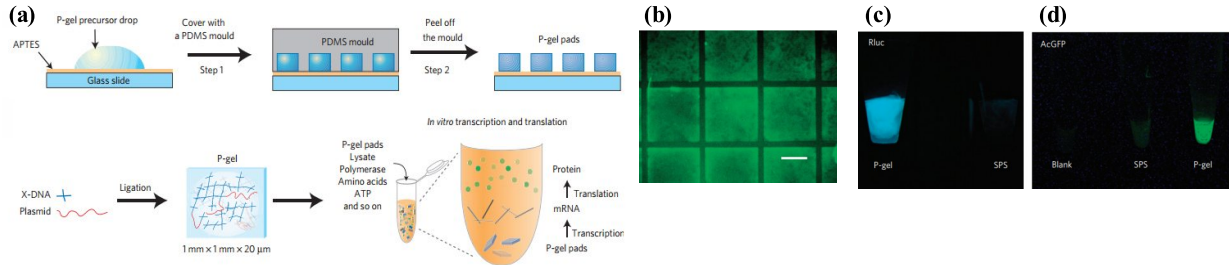


그림 4. X 모양의 DNA 나노단위체에 단백질 발현 플라스미드를 결합한 단백질 생산 하이드로젤 시스템(P-gel): (a) 단백질 생산 하이드로젤의 공정과정. 하이드로젤을 구성할 구조체를 효소 반응을 통해 PDMS 틀에서 경화하여 하이드로젤 패드(P-gel pads)를 형성한 뒤 단백질 생산에 필요한 물질들을 추가하여 mRNA와 단백질 생산, (b) 제작된 DNA 하이드로젤 패드(P-gel pads)의 공초점 현미경 분석, (c, d) P-gel의 단백질 생산 효율과 기존의 단백질 생산 시스템(SPS)의 단백질 생산량 비교(c: RLuc, d: AcGFP).¹³ Reproduced with permission of *Nat. Mater.* (2009) Nature Publishing Group.

의 경우 전체 단백질 생산량 대비 134배, AcGFP는 11.8배 가량으로 월등히 더 높았다(그림 4c, d).

2.3 물리적 상호작용을 통한 DNA 하이드로젤 제작 및 응용

물리적 상호작용을 이용한 DNA 하이드로젤 제작도 보고되어 있다. Dan Luo 그룹에서는 2012년에 환형 DNA 나노구조체를 만든 후 이로부터 회전환복제(rolling circle amplification, RCA) 기작을 통하여 생산된 긴 가닥의 DNA가 물리적인 상호작용으로 서로 얽혀서 지지체로 형성되는 원리를 이용하여 DNA 하이드로젤을 합성하였다.¹⁵ 회전환복제 기작을 위해 필요한 환형 DNA 나노구조체는 선형 DNA의 양 끝을 연결해 제작한다. 선형 DNA의 양 끝을 접합시키기 위해 짧은 프라이머(primer 1)를 상보결합 시킨 뒤 ligase 효소를 통해 연결하여 환형 DNA 나노구조체를 형성한다. 형성된 환형 DNA 나노구조체에 포함된 염기정보를 반복적으로 생산하는 중합 효소를 추가하면 회전환복제가 무한히 반복하여 진행되면서 단일가닥의 긴 DNA가 생성된다. RCA를 통하여 길게 뻗어 나오는 DNA 가닥에 상보 결합하는 추가적인 프라이머(primer 2, 3)를 활용하면 중합 효소가 다프라이머 연쇄복제기작(multi-primed chain amplification, MCA)을 진행하여 추가적으로 단일가닥의 DNA를 복제한다. 이러한 과정을 통해 다발적으로 복제되는 DNA 가닥들이 물리적인 상호작용으로 엉키면서 DNA 하이드로젤이 생성된다(그림 5a). 물리적 상호작용으로 인해 생성된 DNA 하이드로젤은 긴 가닥 DNA의 유연한 기계적인 특징으로 인해 수용액 상에서 형태를 유지하고, 물을 제거하였을 때에는 형태를 잃어버리는 특이한 성질의 메타물질로 RCA와 MCA의 시간 조절을 통해 하이드로젤의 기계적 물성 조절이 가능하다(그림 5b).

물리적 상호작용으로 생성된 DNA 하이드로젤의 대표적인 예로는 병원체 진단 플랫폼으로서의 응용이 있다.¹⁶ RCA 기작을 위해 환형 DNA 구조체 제작이 필요한데, 이때 진단하고자 하는 감염병의 병원체 유전자의 특정 염기서열 정보를 프라이머로써 활용하여 환형 DNA 나노구조체가 병원체

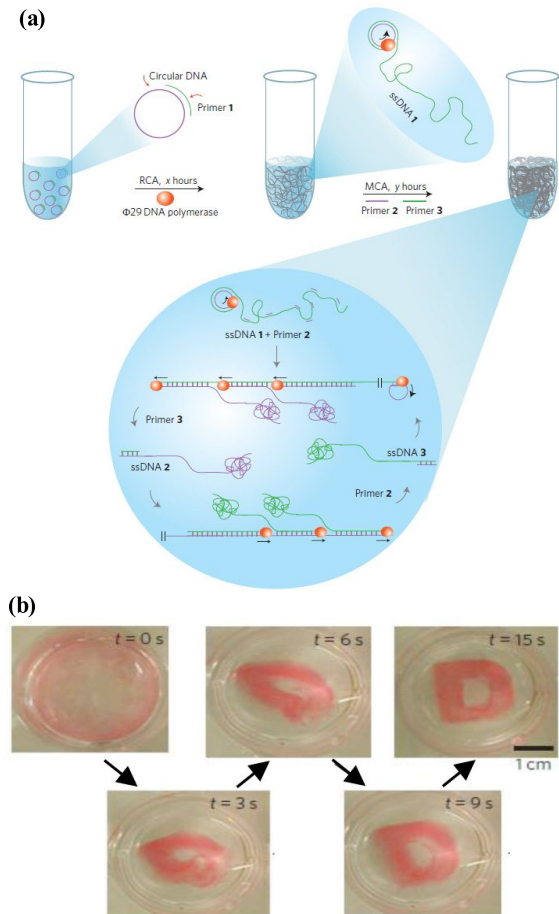


그림 5. 물리적 상호작용을 통해 제작된 DNA 하이드로젤: (a) 환형 DNA 구조체를 기반으로 RCA를 진행하여 긴 DNA 가닥을 생성하고, 생성된 DNA 가닥을 MCA로 복제하여 물리적 상호작용을 통한 DNA 하이드로젤 생성과정, (b) 물을 추가해주어 짧은 시간 안에 형태가 변환되는 과정.¹⁵ Reproduced with permission of *Nat. Nanotechnol.* (2012) Nature Publishing Group.

유전자가 존재할 경우에만 생성되도록 디자인이 가능하다(그림 6a). 진단 방법은 검출하고자 하는 병원체 유전자에 상보적인 염기서열을 지닌 선형 DNA를 유체관(fluid chamber) 벽에 고정화 한 후 병원체 유전자를 흘려준다. 검출하고자 하는 병원체 유전자의 존재 여부에 따라 상보결합 시, 환형 DNA 나노구조체를 형성하고 다음 단계로 RCA 기작을 진행하면

병원체 유전자를 기반으로 DNA 하이드로젤이 형성된다(그림 6b). 병원체 유전자의 특정 염기서열이 존재할 경우에만 하이드로젤이 생성되며, 병원체 유전자가 없을 시에는 환형 DNA 나노구조체가 생성되지 않아 다음 단계인 회전환복제 기작이 작용할 수 없어 하이드로젤이 생성되지 않는다. 따라서 하이드로젤의 생성 여부에 따라 병원체 유전자의 존재를

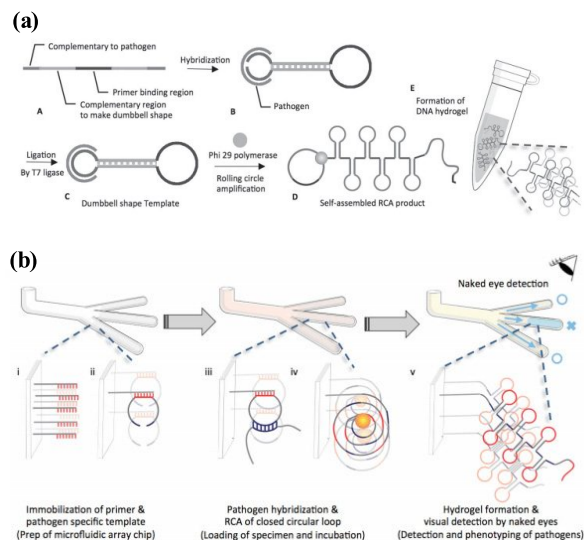


그림 6. 물리적 상호작용을 활용해 DNA 하이드로젤을 응용한 병원체 유전자 진단 시스템: (a) 병원체 유전자와 상보적인 접착성 말단을 지니는 선형 DNA 제작한 후, 선형 DNA와 병원체 유전자의 상보결합을 통해 구조체 형성함. 효소 반응으로 환형 DNA 구조체에서 RCA 기작을 활용하여 긴 가닥의 선형 DNA를 반복적으로 생성하고 물리적 상호작용에 의한 하이드로젤 생성, (b) 유체관에 부착될 프라이머 서열과 진단을 위한 선형 DNA를 고정하고 효소를 통해 병원체 유전자 결합 및 환형 DNA 형성함. RCA를 진행하여 DNA 증폭 후 하이드로젤 생성 여부를 통해 병원체 유전자 진단.¹⁶ Reproduced with permission of *Adv. Mat.* (2015) John Wiley & Sons.

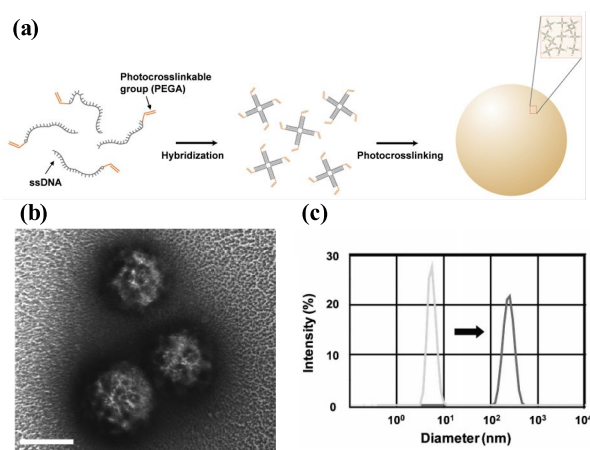


그림 7. 광가교결합을 통해 합성한 나노사이즈의 DNA 하이드로젤: (a) 선형 DNA에 화학 반응을 통해 PEGA를 결합시킨 뒤 X 모양의 DNA 나노단위체를 형성하고 광가교결합을 진행하여 나노사이즈의 하이드로젤 제작. (b) 제작된 나노사이즈의 하이드로젤의 투과전자현미경 분석. 기준자는 200 nm를 나타냄. (c) DNA 나노구조체의 광가교결합 전과 후 크기 비교 분석.¹⁷ Reproduced with permission of *Macromol. Rapid Commun.* (2010) Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

판단할 수 있어 다종의 유전자들 사이에서도 미량의 특이적인 병원체 유전자를 검출하여 질병의 진단을 할 수 있다.

2.4 화학 반응을 통한 DNA 하이드로젤 제작 및 응용

화학 반응을 통하여 분지형 DNA 나노단위체에 기능기를 부여하여 하이드로젤을 제작하기도 한다. 2010년에 Dan Luo그룹에서 PEGA와 결합한 분지형 DNA 나노단위체를 광가교결합(photocrosslinking)을 통해 나노 단위의 DNA 하이드로젤을 생성하였다(그림 7).¹⁷

다른 예시로 화학 반응을 통한 광가교결합 제조방법으로 DNA를 통해 약물방출이 조절 가능한 하이브리드 하이드로젤을 제작할 수 있다. 아크릴아마이드(acrylamide)에 선형 DNA 가닥을 결합한 후, *trans* 구조의 아조벤젠(azobenzene)이 함유된 연결 DNA(Azo-DNA linker)를 통해 아크릴아마이드에 부착된 여러 DNA 가닥에 가교 결합하여 각각의 아크릴아마이드를 서로 연결하여 네트워크 구조를 형성시킬 수 있다.¹⁸ 자외선(~350 nm)을 조사할 경우에는 이 연결 DNA가 *cis* 구조로 변형되어 가교결합이 불가능하여 액상으로 존재하고, 오직 가시광선(~450 nm)을 조사할 경우에만 *trans* 구조로 변하여 광가역적인 하이드로젤이 형성된다. 이처럼 중합된 아크릴아마이드 DNA 사이에 약물이 갇히게 하여 광가역적으로 약물전달이 조절 가능한 하이드로젤을 제작할 수 있다(그림 8). 광가역적 하이드로젤에 항암제 독소루비신을 탑재하여 암세포 억제 능력을 확인하였을 때, 가시광선에 의해 젤의 형태로 경화된 상태에서는 약물이 거의 방출되지 않아 암세포가 20% 정도 사멸된 것에 비해, 자외선에 의해 액화되어 약물 방출하였을 때 암세포가 80% 이상 사멸되었다. 광가역적 하이드로젤을 이용하여 체내 원하는 부위에서 약물전달이 선택적으로 가능할 것으로 기대된다.

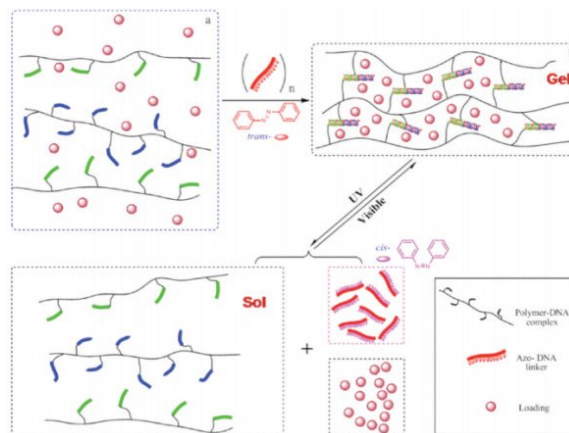


그림 8. 광가교결합을 통해 제작한 광가역적 약물전달용 DNA 하이드로젤. 아크릴아마이드에 선형 DNA를 결합하고 상보적인 아조벤젠 DNA를 추가하여 자외선과 가시광선을 통해 아조벤젠의 구조를 변형하여 상전이를 통한 약물전달이 가능함.¹⁸ Reproduced with permission of *Langmuir* (2010) American Chemical Society.

3. 결론

본 특집에서는 DNA 기반 하이드로젤의 다양한 제조방법과 제조된 하이드로젤의 응용 사례들에 대하여 기술하였다. DNA 기반 바이오소재를 이용한 하이드로젤은 효소적 결합, 물리적 상호작용, 그리고 화학적 반응 등의 제조 방법에 따라 다양한 형태적, 물성적, 기능적 특성을 보이게 된다. DNA 하이드로젤은 주로 나노 크기의 핵산기반 구조체를 단위체로 활용하기에 더욱 정교한 공극 크기와 물성적 특성을 조절하는 것이 가능하며 생체분해성이 뛰어나고 세포 독성이 적다. 또한 사용 목적에 따라 하이드로젤의 경도, 탄성 등의 물리적인 특성 조절과 다양한 물질과의 결합을 통한 기능 부여가 가능하다. 이러한 DNA 하이드로젤의 특성들을 적절히 이용하면 단백질 생산 시스템으로써의 생물공정적 활용, 특정 병원체 검출 가능 진단기술으로써의 의료적 활용, 그리고 약물전달시스템으로써의 의학적 활용을 포함한 다양한 응용 분야에 대하여 적용될 수 있다. DNA 하이드로젤을 기능성 바이오소재로 활용하는 연구는 전 세계적으로 활발히 진행되고 있으며, 앞으로도 지속적인 연구가 진행됨과 동시에 산업화 과정을 통하여 다양한 제품이 개발되어 우리의 삶의 질을 향상시켜줄 것을 기대해본다.

참고문헌

1. E. M. Ahmed, *J. of Adv. Res.*, **6**, 105 (2015).
2. E. Calo and V. V. Khutoryanskiy, *Eur. Polym. J.*, **65**, 252 (2015).
3. D. E. Discher, *Science*, **310**, 1139 (2005).
4. J. D. Watson and F. H. C. Crick, *Nature*, **171**, 737 (1953).
5. F. H. C. Crick, *Chemistry*, **40**, 756 (1954).
6. D. Luo, *Mater. Today*, **6**, 38 (2003).
7. N. C. Seeman and N.R. Kallenbach, *Biophys. J.*, **44**, 201 (1983).
8. Y. H. Roh, R. C. H. Ruiz, S. Peng, J. B. Lee, and D. Luo., *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 5730 (2011).
9. S. H. Um, J. B. Lee, N. Park, S. Y. Kwon, C. C. Umbach, and D. Luo., *Nat. Mater.*, **5**, 797 (2006).
10. Y. Li, Y. D. Tseng, S. Y. Kwon, L. d'Espaux, S. Bunch, P. L. McEuen, and D. Luo., *Nat. Mater.*, **3**, 38 (2003).
11. M. Nishikawa, Y. Mizuno, K. Mohri, N. Matsuoka, S. Rattanakit, Y. Takahashi, H. Funabashi, D. Luo, and Y. Takakura., *Biomaterials.*, **32**, 488 (2011).
12. T. Andre, D. C. Daniele, and D. D. Christian., *Nat. New Biol.*, **239**, 110 (1972).
13. N. Park, S. H. Um, H. Funabashi, J. Xu, and D. Luo., *Nat. Mater.*, **8**, 432 (2009).
14. N. Park, J. S. Kahn, E. J. Rice, M. R. Hartman, H. Funabashi, J. Xu, S. H. Um, and D. Luo., *Nat. Protoc.*, **4**, 1759 (2009).
15. J. B. Lee, S. Peng, D. Yang, Y. H. Roh, H. Funabashi, N. Park, E. J. Rice, L. Chen, R. Long, M. Wu, and D. Luo., *Nat. Nanotech.*, **7**, 816 (2012).
16. H. Y. Lee, H. Jeong, I. Y. Jung, B. Jang, Y. C. Seo, H. Lee, and H. Lee., *Adv. Mater.*, **27**, 3513 (2015).
17. Y. H. Roh, J. B. Lee, S. J. Tan, B. Kim, H. Park, E. J. Rice, and D. Luo., *Macromol. Rapid Commun.*, **31**, 1207 (2010).
18. H. Kang, H. Liu, X. Zhang, J. Yan, Z. Zhu, L. Peng, H. Yang, Y. Kim, and W. Tan., *Langmuir*, **27**, 399 (2011).