

用原子力显微镜观察水流处理后的 DNA 图案*

申梓刚 李海 王化斌 王鹏 王鑫艳 黄一波 张益 胡钧

(中科院上海应用物理研究所单分子探测和操纵实验室 上海 201800)

摘要 原子力显微镜 (Atomic force microscopy AFM) 由于自身的优势, 在生物领域内应用越来越广泛。同时, DNA 分子由于其稳定的物理化学性质而成为纳米领域的重要实验材料, 现阶段把它作为模板应用在构建纳米线等方面的研究越来越多, 而怎样建立有规则图样的 DNA 模板就成为一个关键问题。本文介绍用原子力显微镜观察液流操纵后的 DNA 规则图案。

关键词 原子力显微镜 (AFM) DNA 操纵 图案 水流

现代科技的发展要求制造技术实现从微米到纳米尺度的转变。原先在微米制造领域广泛应用的“从上到下”的制造工艺, 在纳米领域遇到很大困难; 而“从下到上”的方法越来越受到重视, 其中脂肪、蛋白、核酸等生物大分子在纳米制造领域中得到广泛的应用^[1-3]。DNA 分子具有稳定的物理、化学性质和碱基互补特性, 直径只有 2nm, 螺距在 3.4~3.6nm 左右, 具有较强的刚性。正是因为有这些特性使得 DNA 分子尤其适合用来建立纳米模板, 这些模板有可能被应用于小于 100nm 的纳米器件设计中。有研究者将 DNA 分子镀上金属在纳米电子学中应用。例如, David S. Hopkins^[4] 等人利用金属镀层覆盖 DNA 的方法制造超导纳米线, 建立纳米尺度的量子干涉器件。

DNA 分子是很好的构建纳米结构的材料, 可是如何简便、有效地操控 DNA 分子仍然是目前尚未解决的难题。利用 DNA 分子组成有规则图样的模板的方法很多, 如利用 DNA 分子杂交组成图案^[4-6], 利用原子力显微镜 (Atomic force microscope, AFM) 针尖直接操纵 DNA 分子^[7,8] 等。本文将介绍一种方便、快捷地操纵 DNA 分子的方法: 利用固体表面的水流, 不仅可以形成规则的 DNA 图案, 而且提供一种研究 DNA 分子、水流和固体表面相互作用关系的途径。

1 实验部分

1.1 仪器和材料

原子力显微镜: Veeco 公司 MultiMode Nanoscope IIIa 采用 MikroMasch 公司的硅探针; 华美生物工程公司的 λ DNA (λ DNA); MilliPore 水; 3-氨基丙基三乙氧基硅烷 (3-aminopropyl triethoxysilane)

lane; APTES); 云母。

1.2 样品制作

λ DNA 原液是 400ng/ μ L, 用 TE 缓冲液 (200mmol/L Tris-HCl, 10mM EDTA, pH 8.0) 稀释到 20ng/ μ L。云母需要用 1% 的 APTES 水溶液修饰。样品的制作是采用“改进的分子梳”技术^[9]。在 APTES 修饰过的云母 (APTES-云母) 上滴一滴稀释过的 λ DNA 溶液, 用玻璃片引导液流在云母表面移动 (见图 1A), 在这个过程中将使 DNA 分子拉直并吸附在 APTES-云母表面 (见图 1B)。在这个表面上再滴加一滴, 并用玻璃片引导液流在云母表面移动, 其液流方向与第一次液流方向相垂直, 从而产生悬链状的 DNA 图案 (见图 1C)。然后再在其它方向引导液流, 制造不同的 DNA 分子图案 (见图 1D)。

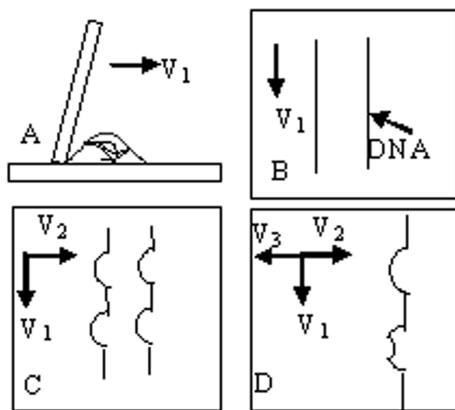


图 1 利用改进的分子梳技术操纵 DNA 分子示意图

A 利用玻璃片引导含有 DNA 分子的液滴。B 是经过 A 操作后在云母片上 DNA 分子的图案示意图。C 是在 B 图的基础上在横向引导二次液流 (液滴不含 DNA 分子)。D 是在 C 图的基础上引导反向液流 (液滴不含 DNA 分子)。V₁、V₂、V₃ 分别表示多次液流的方向。

2 结果与讨论

在第一次引导含 DNA 分子的液流时可以拉直

* 本文是由国家自然科学基金 (10335070, 10404032, 30470441) 资助

DNA^[10], 如果再在垂直拉直 DNA 的方向上引导第二次水流, 则可以得到悬链状的 DNA 图^[11] (见图 2A)。然后在第二次的基础上沿着相反方向引导第三次水流则可以观察到悬链状的 DNA 图案发生改变。如图 2B 中 DNA 分子的直线部分是第一次液流作用拉直的, 图 2B 中箭头 1 指示的是 DNA 分子被液流拉直的方向。但是在某些区域与衬底的吸附不够紧密, 在第二次水流的冲击下形成悬链线图形, 如图 2B 中箭头 2 所示。箭头 3 所指的区域就是第三次水流把悬链线冲弯后的图样。在第一次液流作用下 DNA 分子一般会被拉伸到超过其理论长度^[12], 在第二次水流冲击下 DNA 分子还会进一步被拉伸, 拉伸程度不亚于第一次。这里注意到第三次水流冲击变形的悬链线并没有恢复到最初的拉直状态, 而只是在顶部区域反方向弯曲。DNA 分子表面的磷酸基团是带负电, 而 APTES 修饰过的云母表面带正电, DNA 分子可以依靠静电吸附和 APTES-云母表面结合。由于 APTES-云母表面修饰存在不均一性, DNA 分子的吸附具有一定的随机性, 图 2 中看到的直线部分应该是在第一次液流引导时就很好吸附在 APTES-云母表面, 而没有吸附或吸附力较小的区域就会在第二次液流作用下形成悬链线结构, 第三次液流又使仍然没有很好吸附的区域形状再次发生改变。

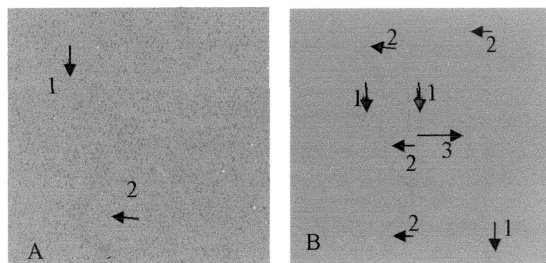


图 2 DNA 分子图案

A 是二次液流后的 DNA 分子图案。扫描范围: $4.0\mu\text{m} \times 4.0\mu\text{m}$
 B 是三次液流后 DNA 分子图案。箭头 1 是第一次液流作用下 DNA 分子拉直方向。箭头 2 是第二次水流形成悬链线图形。箭头 3 是第三次水流后形成的弯曲图形。扫描范围: $4.0\mu\text{m} \times 4.0\mu\text{m}$

在 DNA 溶液浓度较高时经常发现 DNA 分子束^[13], 分子束内的 DNA 分子以螺旋的方式缠绕在一起。发现, 在多次液流的作用下, 可以使得原本纠缠在一起的 DNA 分子束分离开来, 只在很少的区域仍有粘连 (见图 3)。图 3A 中是两束 DNA 分子在两次液流作用后的图案, 图 3B 是图 3A 虚框部分的放大图。测量图 3 中分子 1~5 的高度在 0.4nm 左右, 和文献 [14] 中报道的高度一致, 证实在水流的作用下两束 DNA 分子分开, 分开部分则形成悬链状

的 DNA 图案。从图 3 中可以判断 DNA 分子 1 和 2 组成的分子束缠绕情况较为简单, 在第一次液流的作用下 DNA 分子就基本分开。但是 DNA 分子 3、4 和 5 组成的分子束缠绕方式复杂, 经过二次液流作用后仍然很难彻底分离。

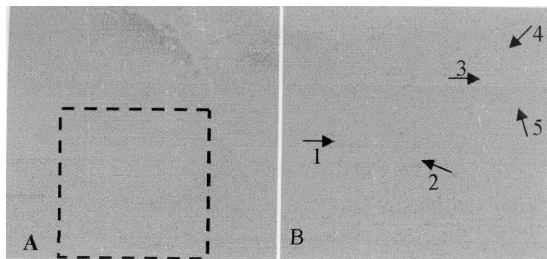


图 3 DNA 分子在二次液流作用下的图案

A 图是缠绕成束的 DNA 分子在二次液流作用下的图案。扫描范围: $3.0\mu\text{m} \times 3.0\mu\text{m}$ 。B 图是 A 图的虚框部分的放大图。

3 结论

通过多次的液流作用可以得到多种多样的 DNA 分子图案, 提供一种深入了解 DNA 分子和水流以及 APTES 修饰过的云母表面的相互作用的途径, 为将来在固体表面制造 DNA 纳米模板提供实验依据。

参考文献

- 1 Yuri M. Lvov, Ronald R. Price, Jonathan V. Selinger et al. Imaging Nanoscale Patterns on Biologically Derived Microstructures. *Langmuir*, 2000, 16: 5932~5935
- 2 Thomas Scheibel, Raghuveer Parthasarathy, George Savicki et al. Conducting nanowires built by controlled self assembly of amyloid fibers and selective metal deposition. *PNAS*, 2003, 100: 4527~4532
- 3 Wendy U. Dittmer and Friedrich C. Simmel. Chains of semiconductor nanoparticles templated on DNA. *Appl Phys Lett*, 2004, 85: 636~635
- 4 David S. Hopkins, David Peking, Paul M. Goldbart et al. Quantum Interference Device Made by DNA Templating of Superconducting Nanowires. *Science*, 2005, 308: 1762~1765
- 5 Seeman, N. C. Molecular craftwork with DNA. *Chem. Intell*, 1995 (1): 38~47
- 6 Winfree, E., Liu, F., Wenzler, L. A. et al. Design and self assembly of two dimensional DNA crystals. *Nature*, 1998, 394: 539~544
- 7 Paul W. K. Rothemund. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, 2006, 440: 297~302
- 8 郑伟民, 蔡继业. 原子力显微镜在 DNA 领域中研究应用, *现代仪器*, 2006, 12 (1): 9~18

(上转第 13 页)

参考文献

- 1 姚骏恩, 商广义, 焦越坎等. 一种原子分辨率扫描隧道显微镜 [J], 电子显微学报, 1998, 17(1): 48~54
- 2 Binnig G, Rohrer H. Helv Phys Acta, 1982, 55: 726
- 3 白春礼. 扫描隧道显微术及其应用 [M], 上海: 上海科学技术出版社, 1991
- 4 Binnig G, et al Europhys Lett, 1986, 1: 31~36
- 5 王家楫, 唐凌. 深亚微米 ULS I 工艺检测技术——扫描探针显微镜 [J], 微纳电子技术, 2002, 2: 38~40
- 6 白春礼, 田芳. 扫描力显微术 [M], 北京: 科学出版社, 2000
- 7 黄惠忠. 纳米材料分析 [M], 北京: 化学工业出版社, 2003
- 8 Zelenograd Research Institute of Physical Problems SOLVER SCANNING PROBE MICROSCOPE—Instruction Manual Solver PRO [M], Moscow, Russia NT-MDT Co
- 9 Zelenograd Research Institute of Physical Problems SOLVER SCANNING PROBE MICROSCOPE—SEM Methodology [M], Moscow, Russia NT-MDT Co
- 10 Saril D. Scanning Force Microscopy, with Applications to Electric, Magnetic, and Atomic Force [M], Oxford University Express, 1991
- 11 Seizo Morita, Daisuke Fujita. Instrumentation and Techniques—F6 Surface microscopy: The 16th International Microscopy Congress, 4
- 12 胡志强, 胡志敏, 李永丰. 数字扫描探针显微镜中的 DSP 技术 [J], 电子显微学报, 2000, 19(1): 65~68
- 13 Kaiser W J, Bell L D. Phys Rev Lett, 1988, 60: 1406
- 14 Hansma P K, Drake B, Marti O, Gould S A C, Prater C B. Science, 1989, 243: 641
- 15 Wickramasinghe H K. Scientific American, 1989, Oct: 98
- 16 Pohl D W. Proceedings of Ernst Abbe Conference Jena, 1989. Friedrich-Schiller-Universität Jena. Eds B W Ilber, m i P 21
- 17 Gimzewski J K, Moller R. Phys Rev, 1987, B34: 1284
- 18 Osamu Kubo, Yoshitaka Shingaya, Tomonobu Nakayama. Electro-Nanocharacterization Group, Nanomaterials Laboratory (NML). Direct measurement of electric resistance of conductive nanowire [J], N M S NOW, 2004, 2(1): 4

Discussion of multimode scanning probe microscope based on AFM

Wu Bin Huang Zhixin Wang Hui Zhang Feng

(College of Physical Science and Technology, HuaZhong Normal University, Wuhan 430079)

Abstract Scanning probe microscope can reach atomic resolution, and it is important for nanotechnology. Based on the discussion of the principle of atomic force microscope, the function of multimode scanning probe microscope has been investigated. And the developing prospects of the scanning probe microscope have been stated at last.

Key words Scanning probe microscope Atomic force microscope Multimode

(下接第 20 页)

- 9 Zhenqian Ouyang Jun Hu, Sheng-fu Chen, et al, Molecular patterns by manipulating DNA molecules. J Vac Sci Technol B 15(4), Jul/Aug 1997, 1385~1387
- 10 Bensimon D., Simon A., Croquette V., et al (1995) Stretching DNA with a receding meniscus: experiments and model. Phys Rev Lett, 74, 754~757
- 11 吴世英, 张益, 雷晓玲等. 用液流操纵单个 DNA 分子形成纳米悬链线图形. 物理学报, 2002, 51(8): 1887~1891
- 12 Zhang Y., Cheng S F., Ouyang Z. Q. et al, Stretching and imaging studies of single DNA molecules. Chinese Science Bulletin, 2000, 45(15): 1365~1368
- 13 Guanglai Li Yi Zhang Bin Li et al, Fine Structure of DNA Bundles Atomic Force Microscopy Study. Jpn J Appl Phys, 2001, 40, L1330~L1332
- 14 Jing Tang Junwei Li Chen Wang and Chunli Bai. Enhancement of resolution of DNA on silylated mica using atomic force microscopy. J Vac Sci Technol B 18, 4, 1858~1860

AFM investigation of the DNA patterns formed by water flow

Shen Zigang Li Hai Wang Huabing Wang Peng Wang Xinyan

Huang Yibo Zhang Yi Hu Jun

(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

Abstract Recently atomic force microscopy (AFM) has been increasingly used in biological sciences, especially in imaging and manipulation of single DNA molecules. Due to its unique physicochemical stability and mechanical rigidity, DNA becomes a promising material for nanotechnology. Many articles focus on how to use DNA molecules as a template for nanowires. Therefore, how to fabricate various patterns of DNA molecules becomes a key technical problem. This article introduces our method by using a liquid flow to manipulate single DNA molecules to form special patterns, which were revealed by AFM.

Key words Atomic force microscopy (AFM) DNA Manipulation Pattern Water flow