

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

C12Q 1/68

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02104270.5

[43] 公开日 2002 年 10 月 30 日

[11] 公开号 CN 1376801A

[22] 申请日 2002.3.4 [21] 申请号 02104270.5
[71] 申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130022 吉林省长春市人民大街 159 号
[72] 发明人 吴爱国 李 壮 郑建萍
周化岚 汪尔康

权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 水平动力分子梳

[57] 摘要

本发明属于水平动力分子梳方法。将含有被梳理物质的溶液滴加在待梳理并经过末端表面固定剂修饰处理的基底上,待样品被吸附 2~20 分钟后,用镊子或夹子夹住基底,或采用粘住基底的一端或者其反面;通过手动或马达驱动基底,将基底在溶液表面均匀拉动,移动速度范围为 10 μ m~500mm/s,由于溶液表面和空气表面形成的弯月面的回退作用使样品被拉直。利用吸附有样品的基底在溶液表面均匀拉动,一方面由于仅要求有几微升的样品用量,而大大地降低了样品的用量,节约了资源,降低了实验成本;另一方面,当一次拉伸完成后,可以将吸附有样品的基底脱离溶液表面,再次沿着原被拉伸的方向进行多次拉伸,使样品能够被充分拉伸。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

知识产权出版社出版

权 利 要 求 书

1. 一种水平动力分子梳方法, 适用的样品有 DNA 链, 各种纳米管或纳米棒以及高分子薄膜; 适用的基底有: (A) 具有亲水性表面的玻璃、云母、石英片或聚赖氨酸基底; (B) 疏水性表面的石墨、聚苯乙烯、异丙烯、硅烷化的玻璃、硅片或特氟伦; 其特征在于将含有被梳理物质的溶液滴加在待梳理并经过末端表面固定剂修饰处理的基底上, 待样品被吸附 2~20 分钟后, 用镊子或夹子夹住基底, 或采用粘住基底的一端或者其反面; 通过手动或马达驱动基底, 将基底在溶液表面均匀拉动, 移动速度范围为 $10 \mu\text{m} \sim 500 \text{ m m/s}$, 由于溶液表面和空气表面形成的弯月面的回退作用使样品被拉直。

说 明 书

水平动力分子梳

技术领域：本发明属于水平动力分子梳方法。

背景技术：在 1994 年美国科学杂志二百六十五卷 2096-2098 页, 报道了法国科学家 A. Bensimon 等人根据空气与水界面上的回退形成弯月面的行为, 发明的分子梳技术, 并将其应用于长链 DNA 的铺伸拉直。这种技术的要点是：将一小滴 0.5 -1 ml 的 DNA 溶液滴加在硅烷化的玻璃片上, 再将另一未作任何处理的盖玻片压在滴加有 DNA 溶液的硅烷化的基底上, DNA 溶液形成 20 μ m 厚的一薄层。然后随着两块玻璃片间溶液的不断蒸发, 形成移动的弯月面, 使得 DNA 链铺展拉直。但是利用这种方法无法将 DNA 链拉伸得足够直, 并且弯月面流动对施加在 DNA 上的力也影响 DNA 的拉伸状况。如果力太小, 不足以将 DNA 链拉伸, 相反如果力太大, 又会将 DNA 链拉断, 力的大小不好掌握。基于以上的不足, 1997 年美国科学杂志二百七十七卷 1518-1523 页, 又报道了 A. Bensimon 及其合作者们发明的动力分子梳方法。他们做了一种装置, 使得载有被梳理样品的玻璃基底, 采取一定的速率, 从 DNA 样品溶液池中缓慢地通过机械装置的控制露出液面。其主要特点是：1) 将一干净的载玻片浸在 DNA 样品溶液中 5 分钟, 使得 DNA 分子与表面能够很好地结合；2) 利用马达装置将浸在样品池中的载玻片以 100~200 mm/s 的速度匀速地提升出来；此时被固定在载玻片上的 DNA 分子由于水与大气弯月面的回退作用而被拉伸铺直。利用这种方法在 2*2cm² 的载玻

片上，一般有几百个 DNA 分子吸附在基底上。虽然动力分子梳克服了一般的分子梳的一些缺点，但是仍然存在以下的不足：1) 由于吸附在载玻片上的 DNA 分子是被垂直地从 DNA 样品液中提升出来，在其链被水的弯月面回退作用拉直的同时，还受到其 DNA 链自身向下的重力作用影响，对于不同的拉伸链段区域，重力作用的程度不一，在刚开始拉伸的链段区域，几乎整个 DNA 分子的重力作用在链段上，但是在最后被拉伸的链段区域却几乎没有重力的作用影响。由于重力的不同影响，使得 DNA 链中不同的链段被拉伸的程度不一致。2) 采用动力分子梳的方法要求将载玻片浸入 DNA 溶液中，再提升出来；所以 DNA 溶液要求有 0.5~20 ml，DNA 的用量达 10 mg 甚至更多，这对于要求用量少的生物样品来说，用量偏多；3) 由于采用动力分子梳的方法要求将基片浸入样品溶液池中，使得有些基底不适用这种方法限制了研究领域，如：石墨基片，因为其层状结构不适宜浸泡在水溶液当中。

发明内容：本发明的目的是提供一种水平动力分子梳方法。

本发明将含有被梳理物质的溶液滴加在待梳理并经过末端表面固定剂修饰处理的基底上，待样品被吸附 2~20 分钟后，用镊子或夹子夹住基底，或采用粘住基底的一端或者其反面；通过手动或马达驱动基底，将基底在溶液表面均匀拉动，移动速度范围为 $10\ \mu\text{m}\sim 500\ \text{mm/s}$ ，由于溶液表面和空气表面形成的弯月面的回退作用使样品被拉直。

适用的样品有 DNA 链，各种纳米管或纳米棒以及高分子薄膜；适用的基底有：(A) 具有亲水性表面的玻璃、云母、石英片或聚赖氨酸基底；(B) 疏水性表面的石墨、聚苯乙烯、异丙烯、硅烷化的玻璃、硅片或特氟伦；

使用水平动力分子梳方法具有以下优点： 1) 利用吸附有样品的基底在溶液表面均匀拉动，一方面由于仅要求有几微升的样品用量，而大大地降低了样品的用量，节约了资源，降低了实验成本；另一方面，当一次拉伸完成后，可以将吸附有样品的基底提离溶液表面，再次沿着原被拉伸的方向进行多次拉伸，使样品能够被充分拉伸；2) 采用这种方法拉伸样品时，由于不要求将基底浸入样品池中，使得原先不适用的基片，如：石墨也可以用来做被拉伸样品的基底，拓宽了研究和应用范围。

具体实施方式如下：

实施例 1: mica+pBR322/pstI DNA (Mg^{2+})

将 $5\text{ng}/\mu\text{l}$ 的 DNA, pBR322/pstI 4361 bp, 样品溶液 $12\ \mu\text{l}$ 滴加在用 1mM 的 Mg^{2+} 处理过的云母基底上，待样品被吸附 5 分钟后，用镊子夹住云母基底，通过手动以 $10\text{--}30\ \mu\text{m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，由于溶液表面和空气表面形成的弯月面的回退作用使 DNA 样品被拉直，而伸展在云母基底上。

实施例 2: Mica + λ -DNA (48502 bp)

将 $2.5\ \text{ng}/\mu\text{l}$ 的 λ -DNA, 48502 bp, 样品溶液 $8\ \mu\text{l}$ 滴加在用 $10\ \mu\text{M}$ $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$ 处理过的云母基底上，待样品被吸附 3 分钟后，用夹子夹住云母基底的一端，通过马达驱动装置以 $1800\ \mu\text{m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，DNA 样品被拉直而伸展在云母基底上。

实施例 3: Glass+Human Genome BAC (200kbp)

将 $0.5\ \text{ng}/\mu\text{l}$ 的人类基因组细菌人工染色体 DNA, 200 kbp, 样品溶液 $5\ \mu\text{l}$

1 滴加在用 3 mM Zn²⁺处理过的玻璃基底上，待样品被吸附 5 分钟后，用夹子夹住玻璃基底的一端，通过马达驱动装置以 3800 μm/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使长链 DNA 样品被拉直而伸展在玻璃基底上。

实施例 4: HOPG+DNA (<1kbp)

将 15 ng/μl 的 polyA. polyT, 300 bp, 样品溶液 8 μl 滴加在高定向热解石墨(HOPG)基底上，待样品被吸附 8 分钟后，用夹子夹住 HOPG 基底的一端，通过手动方式以 25-60 μm/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使 DNA 样品被拉直而伸展在高定向热解石墨基底上。

实施例 5: 聚苯乙烯 (P9K-R) + Si

利用电子束刻蚀的方法，将聚苯乙烯刻蚀到云母基底上形成细线，然后将浓度为 3ng/μl 的 λ-DNA, 48502 bp, 样品溶液滴加在刻有聚苯乙烯的云母基底上。待样品被吸附 3 分钟后，用夹子夹住云母基底的一端，通过马达驱动装置以 300 mm/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使长链 DNA 样品被拉直而伸展在云母基底上。

实施例 6: 玻璃片硅烷化+λ-DNA (48502 bp)

先使用氯代三甲基硅烷，将玻璃基底硅烷化，然后将浓度为 2.5 ng/μl 的 λ-DNA, 48502 bp, 样品溶液滴加在硅烷化的玻璃基底上。待样品被吸附 6 分钟后，用夹子夹住云母基底的一端，通过马达驱动装置以 180 mm/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使 DNA 样品被拉直而伸展在玻璃片基底上。

实施例 7: 玻璃片+聚赖氨酸+M13 (6407 bp)

先使用聚赖氨酸将玻璃基底修饰，然后将浓度为 10.5 ng/μl 的

M13-DNA (6407 bp) 样品溶液滴加在修饰后的玻璃基底上。待样品被吸附 18 分钟后，用夹子夹住玻璃片基底的一端，通过马达驱动装置以 38 mm/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使 DNA 样品被拉直而伸展在玻璃片基底上。

实施例 8: 硅片+Teflon+M13 (6407 bp)

先将硅片基底用 Teflon 修饰,然后将浓度为 5 ng/ μ l 的 M13-DNA (6407 bp) 样品溶液滴加在修饰后的硅片基底上。待样品被吸附 13 分钟后，用夹子夹住硅片基底的一端，通过马达驱动装置以 3600 μ m/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使 DNA 样品被拉直而伸展在硅片基底上。

实施例 9: Si 片+多壁碳纳米管

将新制备的长度为 100 μ m，直径为 60 nm 的多壁碳纳米管样品溶液滴加在硅基底上，待样品被吸附 10 分钟后，用镊子夹住硅基底，通过手动以 1500 μ m/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使多壁碳纳米管样品被拉直而伸展在硅基底上。

实施例 10: Si 片+单壁碳纳米管

将新制备的长度为 600 μ m，直径为 20 nm 的单壁碳纳米管样品溶液滴加在硅基底上，待样品被吸附 20 分钟后，用夹子夹住硅基底，通过手动以 220-350 μ m/s 的移动速度将基底紧贴在水溶液表面上拉动，使单壁碳纳米管样品被拉直，而伸展在硅基底上。

实施例 11: 石英片+MoS₂ 纳米管

将新制备的长度为 50 μ m，直径为 80 nm 的 MoS₂ 纳米管样品溶液滴加在石英片基底上，待样品被吸附 3 分钟后，用夹子夹住石英片基底，通过马达装置

以 880 $\mu\text{m/s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动, 使 MoS_2 纳米管样品被拉直, 而伸展在硅基底上。

实施例 12: 石英片+ WS_2 +纳米管

将新制备的长度为 30 μm , 直径为 60 nm 的 WS_2 纳米管样品溶液滴加在石英片基底上, 待样品被吸附 6 分钟后, 用夹子夹住石英片基底, 通过马达装置以 500 mm/s 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动, 使 WS_2 纳米管样品被拉直而伸展在石英片基底上。

实施例 13: 石英片+ NiCl_2 +纳米管

将新制备的长度为 30 μm , 直径为 60 nm 的 NiCl_2 纳米管样品溶液滴加在石英片基底上, 待样品被吸附 12 分钟后, 用夹子夹住石英片基底, 通过马达装置以 330 mm/s 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动, 使 NiCl_2 纳米管样品被拉直而伸展在石英片基底上。

实施例 14: 石英片+ SiC 纳米棒

将新制备的长度为 80 μm , 直径为 100 nm 的 SiC 纳米管样品溶液滴加在石英片基底上, 待样品被吸附 6 分钟后, 用夹子夹住石英片基底, 通过马达装置以 8000 $\mu\text{m/s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动, 使 SiC 纳米管样品被拉直, 而伸展在石英片基底上。

实施例 15: $\text{Si}+\text{GaN}$ +纳米棒

将新制备的长度为 150 μm , 直径为 60 nm 的 GaN 纳米棒样品溶液滴加在硅基底上, 待样品被吸附 10 分钟后, 用镊子夹住硅基底, 通过手动以 200-350 $\mu\text{m/s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动, 使 GaN 纳米棒样品被拉直, 而伸展在

硅基底上。

实施例 16: Si+GaAs+纳米棒

将新制备的长度为 30 μm , GaAs 直径为 70 nm 的纳米棒样品溶液滴加在硅基底上,待样品被吸附 15 分钟后,用镊子夹住硅基底,通过手动以 100-150 $\mu\text{m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动,使 GaAs 纳米棒样品被拉直而伸展在硅基底上。

实施例 17: Si+聚乙烯薄膜

将新制备的聚乙烯样品溶液滴加在硅基底的一端,然后用双面胶粘住硅基底的反面,通过手动以 1000-1500 $\mu\text{m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动,使聚乙烯样品被铺展,而在硅基底上形成一层均匀的聚乙烯薄膜。

实施例 18: 玻璃+聚苯乙烯薄膜

将新制备的聚苯乙烯样品溶液滴加在玻璃基底的一端,然后用双面胶粘住硅基底的反面,通过马达装置 1300 $\mu\text{m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动,使聚苯乙烯样品被铺展而在玻璃基底上形成一层均匀的薄膜。

实施例 19: 云母+聚酰亚胺薄膜

将新制备的聚酰亚胺样品溶液滴加在云母基底的一端,然后用双面胶粘住云母基底的反面,通过手动以 80 $\text{m m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上拉动,使聚酰亚胺样品被铺展而在云母基底上形成一层均匀的薄膜。

实施例 20: 石英片+聚丙烯薄膜

将新制备的聚丙烯样品溶液滴加在石英片基底的一端,然后用双面胶粘住石英片基底的反面,通过马达装置 11 $\text{m m}/\text{s}$ 的移动速度将基底紧贴在溶液表面上

拉动，使聚丙烯样品被铺展而在石英片基底上形成一层均匀的薄膜。