

芯片上单链 DNA 生物膜的弯电性能分析

Flexoelectric Analysis of Single-stranded DNA Biofilm on Chip

李晶晶^{1,2}, 徐凌伟¹, 陈建中¹, 张能辉^{1,2}

(1 上海市应用数学和力学研究所 上海市力学在能源工程中的应用重点实验室, 上海 200072; 2 上海大学 理学院 力学系, 上海 200444)
LI Jing-jing^{1,2}, XU Ling-wei¹, CHEN Jian-zhong¹, ZHANG Neng-hui^{1,2}
(1 Shanghai Key Laboratory of Mechanics in Energy Engineering, Shanghai Institute of Applied Mathematics and Mechanics, Shanghai 200072, China; 2 Department of Mechanics, College of Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

摘要: 基于非线性 Poisson-Boltzmann (NLPB) 方程和液晶薄膜弯电理论, 利用 Fogolari 修正公式, 建立了单链 DNA (ssDNA) 分子结构特征、溶液离子浓度等因素与生物膜电势、芯片宏观变形之间的非线性多尺度关系。结合现有的实验数据, 拟合了单链 DNA 生物薄膜的弯电系数, 并将生物膜电势分布及芯片变形的线性预测和非线性预测进行了比较, 阐明了非线性多尺度关系的有效性。考察了 DNA 链片断数和封装密度等因素对芯片变形的影响。结果表明: 随着 DNA 链片断数和封装密度的增加, 芯片变形逐渐增加。

关键词: DNA 生物膜; 电势; 变形; 弯电效应; 非线性 Poisson-Boltzmann 方程
中图分类号: Q66; R318.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4381(2011)10-0011-04

Abstract: Based on nonlinear Poisson-Boltzmann equation (NLPB) and flexoelectric theory of liquid crystal thin films, with the help of Fogolari's correct formula, a nonlinear multiscale relation among single-stranded DNA (ssDNA) molecule structure feature, salt solution concentration and biofilm electrostatic potential, chip macroscopic deformation is formulated. The flexoelectric coefficient is obtained by curve fitting based on existing experimental data. The linear and nonlinear predictions for biofilm electrostatic potential and chip deformation are compared to validate the present nonlinear multiscale relation. The influences of DNA fragment length, packing density on chip deformation are also investigated. The results show that chip deformation increase with the enhancement of DNA fragment length and packing density.

Key words: DNA biofilm; electrostatic potential; deformation; flexoelectric effect; nonlinear Poisson-Boltzmann equation

由于成本低、速度快、灵敏度高, 基于微悬臂梁光学挠度方法的无标记生物检测技术吸引了许多科学家的关注, 并在基因识别、病毒检测、环境监测、军事安全等领域获得了广泛的应用。目前理论工作大部分是基于实验在一定条件下的定性研究^[1,2]。研究表明: 无标记生物检测时, DNA 生物膜的力、热、电等效应对芯片变形有着重要影响^[3,4]。然而, 由于实验结果的分散性致使芯片变形机理仍存在较大争议, 减缓了这一技术的市场化进程, 为此急需定量研究芯片上 DNA 生物膜(一类软物质)的力电性能。

已有少量工作研究 DNA 生物膜的电学性能。考虑到生物膜中 DNA 分子磷酸基团的负电性, Liu^[5] 等认为生物电是造成芯片变形的主要原因, 将生物膜视为含盐离子的聚合物毛刷结构, 研究了 DNA 芯片的弯电效应, 但计算时直接采用了红细胞的弯电系数。Vainrub 等^[6] 将生物膜和基底分别视为等效的电荷不可穿透的球体和无限大的平面, 研究了表面作用对探针分子和靶分子杂交率的影响。Zhang^[7-10] 等利用两变量模型刻画芯片变形, 研究了对单链 DNA (ssDNA) 生物膜的压电性质, 推测生物膜压电系数的正负

可能是在不同工况下造成 DNA 芯片侧向变形出现反号现象的主要原因^[11],然而忽略了生物材料的压电(弯电)机理与传统固体材料压电机理本质不同。以上有关 DNA 生物膜电势理论模拟中均采用了线性 Poisson-Boltzmann (LPB)方程,但在高密度封装等条件下 LPB 方程已无法准确预测生物膜弯电效应引起的芯片变形,且 DNA 生物膜弯电系数的确定也有待于进一步研究。

本工作基于聚电解质毛刷结构的非线性 Poisson-Boltzmann(NLPB)方程和液晶薄膜的弯电理论,利用 Fogolari 修正公式^[12],给出了 DNA 纳观几何特征、盐溶液离子浓度、基底宏观力学性能等因素与生物膜电势、芯片宏观侧向变形之间的多尺度关系。根据 Wu 的实验数据^[2],对 ssDNA 生物膜的弯电系数进行了拟合,并将生物膜电势和芯片变形的线性预测与非线性预测进行了比较,同时考察了 DNA 链片断数和封装密度等因素对芯片侧向变形的影响。

1 非线性多尺度关系

图 1 为芯片上 DNA 生物膜示意图,正负符号分别代表正离子和负离子。如图 1 所示,ssDNA 芯片一般由基底和吸附在基底上的 ssDNA 生物膜组成,将生物膜视为含离子的聚电解质溶液。以生物膜与基底界面处为 x 轴,沿生物膜厚度方向为 y 轴建立坐标系。图中 I 区和 II 区分别表示探针区和非探针区。根据聚电解质溶液理论^[5],当封装密度 η 大于临界封装密度 η_c ,平均单体浓度 $\phi(y)$ 可认为沿毛刷高度均匀分布,由此可得

$$\phi h = N\eta \quad (1)$$

其中 N 是 ssDNA 的片段长度; h 是 ssDNA 的平衡高度,其大小取决于片段长度、封装密度和盐浓度等因素,需结合实验数据,采用尺度法进行预测。

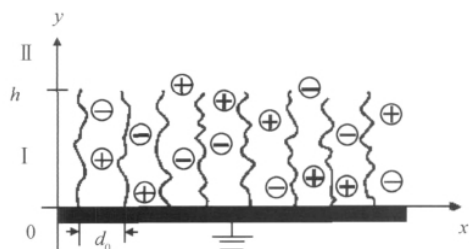


图 1 芯片上 DNA 生物膜示意图

Fig. 1 Schematic map of DNA biofilm on chip

假设平衡状态下溶液中盐离子沿生物膜高度服从 Boltzmann 分布,基于 Poisson 方程,芯片探针区和非

探针区相应电势 $\phi_I(y)$ 和 $\phi_{II}(y)$ 可用如下 NLPB 方程描述

$$\frac{d^2 \phi_I}{dy^2} = -4\pi(\rho_{DNA} + \rho_{ion})/\epsilon, 0 \leq y \leq h \quad (2)$$

$$\frac{d^2 \phi_{II}}{dy^2} = -4\pi\rho_{ion}/\epsilon, y > h \quad (3)$$

式中: $\rho_{DNA} = z_p q \phi$ 为 ssDNA 链的电荷密度, z_p 为 ssDNA 片断的化合价($z_p \approx -1$);而 $\rho_{ion} = \sum_{i=1}^n z_i n_i q \exp(-z_i q \beta \phi)$ 为溶液中离子的电荷密度; n 为盐溶液中离子的种类数; q 表示电子电量; $\beta = 1/(k_B T)$,其中 k_B 和 T 分别为 Boltzmann 常数和温度; z_i 和 n_i 分别是平衡缓冲电解质溶液中第 i 个离子的化合价和平均浓度; ϵ 为介电常数,并在 I 区和 II 区内取相同的值。

由于在 $y=0$ 处芯片金层接地,且无穷远处电势为 0,同时考虑到在两个区域的界面 $y=h$ 处电位移连续,并忽略应力对电位移的影响,当介电常数在 I 区和 II 区取值相同时,电位移连续意味着电势导数连续。因此,电势应满足如下边界条件和连续性条件

$$\phi_I|_{y=0} = 0, \phi_{II}|_{y \rightarrow +\infty} = 0 \quad (4)$$

$$\phi_I|_{y=h} = \phi_{II}|_{y=h}, \frac{d\phi_I}{dy}|_{y=h} = \frac{d\phi_{II}}{dy}|_{y=h} \quad (5)$$

基于液晶薄膜弯电理论^[5],ssDNA 芯片侧向变形 w 与生物膜电势之间的关系为

$$w = e_{11} \phi_I(h) l_0^2 / (2D) \quad (6)$$

其中 e_{11} 为弯电系数, l_0 为芯片长度, $D = Et^3/[12(1-\mu)]$ 为基底的弯曲刚度, t 为厚度, E 为弹性模量, μ 为泊松比。方程(2)~(6)构成了分析芯片上 ssDNA 生物膜弯电性能的非线性多尺度关系,显然,精确求解式(2)和(3)是很困难的,这里采用修正 LPB 解析解的方法来获得 NLPB 的近似解析解。

假设溶液为电中性,在弱电势的条件下,即当 $z_p q \phi \ll 1/\beta$ 时,对式(2)和(3)进行 Taylor 级数展开,并忽略高阶项,NLPB 方程(2)和(3)可退化为如下 LPB 方程

$$\frac{d^2 \Psi'_I}{dY^2} = \Psi'_I - \frac{4\pi \bar{\rho}}{\epsilon}, 0 \leq Y \leq H \quad (7)$$

$$\frac{d^2 \Psi'_{II}}{dY^2} = \Psi'_{II}, Y > H \quad (8)$$

相应于式(4)和(5)的无量纲边界条件和连续性条件为

$$\Psi'_I|_{Y=0} = 0, \Psi'_{II}|_{Y \rightarrow +\infty} = 0 \quad (9)$$

$$\Psi'_I|_{Y=H} = \Psi'_{II}|_{Y=H}, \frac{d\Psi'_I}{dY}|_{Y=H} = \frac{d\Psi'_{II}}{dY}|_{Y=H} \quad (10)$$

其中已引入如下无量纲变量和参数

$$\Psi'_I = \frac{q\phi'_I}{k_B T}, \Psi'_{II} = \frac{q\phi'_{II}}{k_B T}, Y = \kappa y,$$

$$H = \kappa h, \bar{\rho} = \frac{q \rho_{\text{DNA}}}{\kappa^2 k_B T},$$

这里 $\kappa = (4\pi q^2 \beta \sum n_i z_i^2 / \epsilon)^{1/2}$ 为逆德拜屏蔽长度。由式(7)~(10)可得生物膜电势分布的线性解为

$$\Psi_1' = -2\pi e^{-(Y+H)} (-1 + e^Y) (1 - 2e^H + e^Y) \bar{\rho} / \epsilon \quad (11)$$

记 ssDNA 生物膜底面的电场强度为

$$\tau = \left. \frac{\partial \Psi_1'}{\partial Y} \right|_{Y=0} \quad (12)$$

利用 Fogolari^[12] 公式,修正 LPB 方程的线性解 Ψ_1' , 可得到 NLPB 方程的近似解析解为

$$\psi_1 = k_B T A(\tau) \tanh(\Psi_1' / A(\tau)) / q \quad (13)$$

其中 $A(\tau) = -3.037 + 0.1940\tau + 0.00227\tau^2$ 。将式(13)代入式(6),可得到芯片侧向变形的近似解析解。

根据聚电解质毛刷理论^[13],平衡高度 h 与片段长度、封装密度和盐浓度的关系为^[14]

$$h \sim K a N \eta^u \varphi^v \quad (14)$$

其中 $a(\approx 0.22\text{nm})$ 是 ssDNA 的碱基对长度^[15]; u 和 v 分别取 0.17 和 0.2; K 取 0.0066, 可通过 DNA 毛刷的中子反射实验数据^[14] 求得。

2 DNA 生物膜的弯电性能

下面将基于 Wu 等^[2] 提供的实验数据,对非线性多尺度关系中的弯电系数 e_{11} 进行拟合。计算中相关参数取为 $k_B = 1.38 \times 10^{-23} \text{m}^2 \text{kg/s}^2 \text{K}$, $T = 298 \text{K}$, $N = 20$, $a = 0.22 \text{nm}$, $\eta = 0.06 \text{chains/nm}^2$, $\epsilon = 80$, $t = 0.5 \mu\text{m}$, $l_0 = 200 \mu\text{m}$, $E = 85 \text{GPa}$, $\mu = 0.25$ 。图 2 给出了在浓度 $\varphi = 0.1 \text{M}$ 的 Na_3PO_4 盐溶液下的参数拟合,可见拟合结果与实验数据吻合良好,此时弯电系数为 $e_{11} = 1.1 \times 10^{-5} \text{dyn}^{1/2}$,这与 Liu 等^[5] 和 Helfrich^[16] 所使用红细胞的弯电系数 $e_{11} = 1.0 \times 10^{-5} \text{dyn}^{1/2}$ 基本一致,说明了本工作提出的非线性多尺度关系有一定的可靠性。同时,从图 2 可以看出,随着 DNA 片断数增加,芯片侧向变形逐渐增加,这可能是由于片断数的增加导致了生物膜高度的增加,从而增大了链间的排斥合力,促使芯片侧向变形的加剧。

图 3 给出了线性预测与非线性预测的生物膜电势沿生物膜高度的分布情况。由图 3 可见,生物膜电势沿生物膜高度方向逐渐增大,且生物膜电势的线性解与非线性解的差异沿生物膜高度方向也逐渐加大。生物膜电势非线性预测的量级大约在 40mV 以内,与一般生物膜电势在 100mV 以内的实验数据相符。图 4 给出了线性预测与非线性预测的芯片侧向变形随 DNA 片段长度的变化曲线。由图 4 可见,芯片侧向变

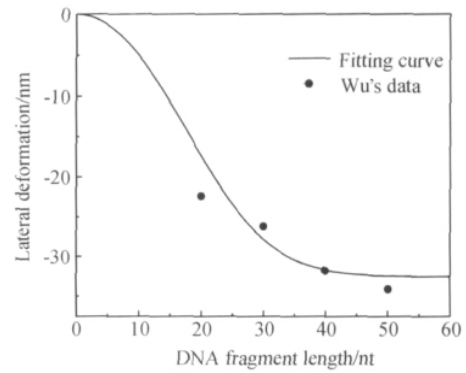


图 2 芯片侧向变形与 DNA 片断长度关系

Fig. 2 Relation between chip lateral deformation and DNA fragment length

形的线性解与非线性解的差异随 DNA 片段长度的增加而增加。尤其在 DNA 链较长的情况下,两者的差异非常大,这是由于当 DNA 链较长时,磷酸基团所带电荷逐渐累积,造成生物膜电势增大,超出了 LPB 方程的预测范围。这说明与线性多尺度关系^[5] 相比,本文的非线性多尺度关系更具合理性。

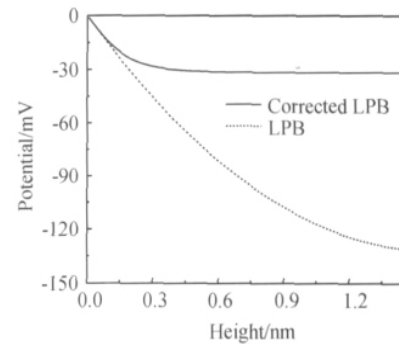


图 3 生物膜电势的线性与非线性预测比较

($N = 30 \text{nt}$, $\varphi = 0.1 \text{M}$, $\eta = 0.03 \text{chains/nm}^2$)

Fig. 3 Comparison between linear and nonlinear prediction for biofilm potential ($N = 30 \text{nt}$, $\varphi = 0.1 \text{M}$, $\eta = 0.03 \text{chains/nm}^2$)

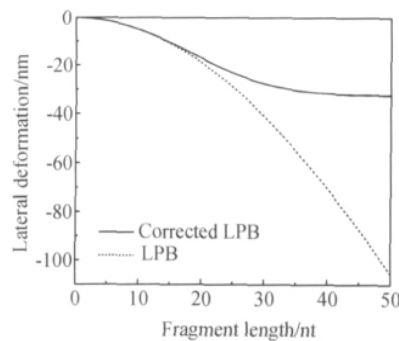


图 4 芯片侧向变形的线性与非线性预测比较

($\varphi = 0.1 \text{M}$, $\eta = 0.06 \text{chains/nm}^2$)

Fig. 4 Comparison between linear and nonlinear prediction for chip lateral deformation ($\varphi = 0.1 \text{M}$, $\eta = 0.06 \text{chains/nm}^2$)

图 5 给出了基于非线性多尺度关系预测的芯片侧向变形与封装密度的关系。由图 5 可见,随着封装密度的增加,芯片侧向变形也逐渐增加。这可能是由于封装密度的增加使得生物膜中电荷密度增大,同样会导致链间排斥合力的增加,从而导致芯片侧向变形的增加。

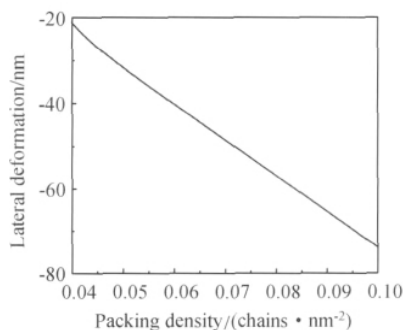


图 5 芯片侧向变形与封装密度的关系
($N=30\text{nt}$, $\varphi=0.1\text{M}$)

Fig. 5 Relation between chip lateral deformation and packing density($N=30\text{nt}$, $\varphi=0.1\text{M}$)

3 结论

(1) ssDNA 生物膜弯电系数为 $e_{11} = 1.1 \times 10^{-5} \text{ dyn}^{1/2}$ 。

(2) 随着 DNA 片断数和封装密度的增加,芯片变形逐渐增加。

(3) 与线性多尺度关系相比,在高片断数和高封装密度情况下,本文提出的非线性多尺度关系更合理。

参考文献

- [1] FRITZ J, BALLAR M K, LANG H P, et al. Translating biomolecular recognition into nanomechanics[J]. Science, 2000, 288(5464): 316—318.
- [2] WU G H, JI H F, HANSEN K M, et al. Origin of nanomechanical cantilever motion generated from biomolecular interactions[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2001, 98(4): 1560—1564.
- [3] ZHANG N H, SHAN J Y. An energy model for nanomechanical deflection of cantilever-DNA chip[J]. Journal of the Mechanics and Physics of Solids, 2008, 56(6): 2328—2337.
- [4] ZHANG N H, SHAN J Y, XING J J. Piezoelectric properties of single-strand DNA molecular brush biolayers[J]. Acta Mechanica Sinica, 2007, 20(3): 206—210.

- [5] LIU F, ZHANG Y, OU-YANG Z C. Flexoelectric origin of nanomechanical deflection in DNA-microcantilever system[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2003, 18(5—6): 655—660.
- [6] VAINRUB A, PETTITT B M. Surface electrostatic effects in oligonucleotide microarrays: Control and optimization of binding thermodynamics[J]. Biopolymers, 2003, 68(2): 265—270.
- [7] ZHANG N H, CHEN J Z. Elastic bending analysis of bilayered beams by an alternative two-variable method[J]. European Journal of Mechanics A/Solids, 2009, 28(2): 284—288.
- [8] ZHANG N H, CHEN J Z. An alternative two-variable model for bending problems of multilayered beams[J]. ASME Journal of Applied Mechanics, 2008, 75(044503): 1—3.
- [9] ZHANG N H. Thermoelastic stresses in multilayered beams[J]. Thin Solid Films, 2007, 515(23): 8402—8406.
- [10] ZHANG N H, XING J J. An alternative model for elastic bending deformation of multilayered beams[J]. Journal of Applied Physics, 2006, 10(103519): 1—5.
- [11] 陈建中. DNA 芯片上生物层的机电性能[D]. 上海:上海大学, 2009. 36—45.
- [12] FOGOLARI F, ZUCCATO P, ESPOSITO G, et al. Biomolecular electrostatics with the linearized Poisson-Boltzmann equation[J]. Biophysical Journal, 1999, 76(1): 1—16.
- [13] BORISOV O V, ZHULINA E B, BIRSHTEN T M. Diagram of the states of a grafted polyelectrolyte layer[J]. Macromolecules, 1994, 27(17): 4795—4803.
- [14] SHEN G, TERCERO N, GASPARD M A, et al. Charging behavior of single-stranded DNA polyelectrolyte brushes[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(26): 8427—8433.
- [15] REKESH D, LYUBCHENKO Y, SHLYAKHTENKO L S, et al. Scanning tunneling microscopy of mercapto-hexyl-oligonucleotides attached to gold[J]. Biophysical Journal, 1996, 71(2): 1079—1086.
- [16] HELFRICH W. Strength of piezoelectricity in liquid crystals[J]. Zeitschrift Naturforschung A, 1971, 26: 833—838.

基金项目:国家自然科学基金(10872121);上海市教育委员会科研创新项目(09YZ07);国家杰出青年基金(10725209);上海市重点学科建设(S30106)

收稿日期:2010-08-25;修订日期:2011-07-10

作者简介:李晶晶(1963—),女,副教授,博士,研究方向为生物芯片系统纳米力学、黏弹性力学,联系地址:上海大学理学院力学系(200444), E-mail:jjli@shu.edu.cn

通讯作者:张能辉(1970—),男,教授,博士,研究方向为生物芯片系统纳米力学、黏弹性力学,联系地址:上海大学理学院力学系(200444), E-mail:nzhzhang@shu.edu.cn