

镍离子对 DNA 结构和导电性的影响^{*}

李 珂 董瑞新[†] 班 戈 韩洪文 苏 伟 闫循领

(聊城大学物理科学与信息工程学院, 聊城 252059)

(2008 年 12 月 28 日收到 2009 年 1 月 23 日收到修改稿)

在碱性环境下,向 DNA 溶液中加入较低浓度的镍离子制备了金属 DNA (M-DNA),并分别对单根 DNA 和 M-DNA 的导电性进行了测量.结果表明,二者均表现出半导体性质,随镍离子浓度的增加导电性明显增强,伏特间隙减小.当镍离子浓度超过 0.1 mmol/L 时, DNA 的电导几乎不随镍离子浓度变化.在中性环境下向 DNA 溶液中加入较高浓度的镍离子,实现了 DNA 从右手到左手螺旋结构的转变.利用 STM 观察到了左手螺旋结构的 Z-DNA, Z 构象可以分辨出大沟与小沟,并且螺旋结构不均匀,伴有局部的解旋和有序化.单根 Z-DNA 的导电性明显减弱. DNA, M-DNA, Z-DNA 的电导大小关系为 $G_{M-DNA} > G_{DNA} > G_{Z-DNA}$.通过紫外吸收和 Raman 光谱测量发现,使 DNA 发生右手到左手螺旋结构转变的镍离子浓度约为 1.7 mol/L.

关键词: 镍离子, M-DNA, Z-DNA, 导电性

PACC: 7360R, 8116D

1. 引言

近年来,随着纳米科技和分子电子学的发展,包含生物遗传基因密码的 DNA 分子已经引起了人们的广泛关注,其独特的电子输运性能为其在生物、材料和信息领域带来了许多潜在的应用前景^[1-3].因此研究 DNA 分子的导电性,了解 DNA 分子的电荷输运机理,对于把 DNA 作为分子器件、理解 DNA 突变、修复受损的 DNA 都有重要的意义.目前关于 DNA 的导电性仍然存在争议, Fink 等测量了长度为 600 nm 的 DNA 束导电性,结果 DNA 显示出导体的性质^[4]; Porath 等通过静电吸附的方法将含有 30 个碱基对的 DNA 低聚物固定在间距为 8 nm 的电极上进行导电性测量,结果显示 DNA 为半导体^[5];而 Zhang 等人则认为 DNA 为绝缘体^[6].尽管 DNA 的导电性仍然存在争议,但是由于 DNA 具有独特的纳米尺寸效应、分子线性结构、物理化学稳定性、力学刚性等优势,因此 DNA 可以作为制备分子导线的良好模板. Braun 等以 DNA 为模板制备了宽度为 50 nm 长为 12 μm 的银纳米线^[7].但是这种方法破坏了 DNA 本身的结构.为了保留 DNA 的完整结构,同时

提高其导电性, Lee 等在碱性环境中将锌离子与 DNA 溶液混合,使 DNA 的每个碱基对中都结合一个锌离子,发现这种金属 DNA (M-DNA) 表现出导体性质^[8].但是在 Lee 的实验中电极表面固定 DNA 分子时采用的是静电吸附法,分子与金属电极可能由于接触失配而屏蔽了 DNA 分子自身的导电性,产生较大的接触电阻^[9].因此,本文利用巯基乙胺处理金膜,使 DNA 自组装在电极表面,研究了碱性环境中低浓度镍离子掺杂 DNA 的导电性.同时在中性环境中向 DNA 溶液中加入较高浓度氯化镍,实现了 DNA 从右手到左手螺旋结构的转变,并测量了左手螺旋结构 DNA (Z-DNA) 的导电性.

2. 材料及仪器

实验所用小牛胸腺 DNA, APS, Tris 均购自 Sigma 公司,采用四次蒸馏水配置各种溶液.金电极由 LMBE-300 型激光分子束外延设备在 10^{-7} Pa 下制备. DNA 的图像扫描及导电性测量在俄罗斯 NT-MDT 公司生产的 SOLVER-P47 型扫描探针显微镜上进行.紫外吸收谱在日本日立公司生产的 UV-3100 紫外-可见分光光度计上进行测量;拉曼光谱测定在

^{*} 国家自然科学基金(批准号: 60571062)资助的课题.

[†] 通讯联系人. E-mail: dongruixin@lcu.edu.cn

英国 Renishaw 公司生产的 2000 型共聚焦显微拉曼光谱仪上进行,仪器的分辨率为 2 cm^{-1} ,波长为 782 nm 、功率为 25 mW 的半导体激光器为激发光源.

3. 实验方法及结果

3.1. 纳米电极的制备及 DNA 在金膜表面的固定

利用激光分子束外延制备如图 1 所示的纳米膜电极,其中电极间距约为 25 nm . 利用 5 mmol/L 的巯基乙胺溶液处理膜 30 min ,然后将 $10\text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 $5\text{ ng}/\mu\text{L}$ 的 DNA 溶液滴在左电极处自组装 1 h ,最后将液滴吹向右电极,使 DNA 分子梳直在两金电极上. 利用巯基乙胺处理金膜后,巯基与金膜表面金原子形成硫金键,氨基与 DNA 末端结合成键,这样一方面金原子与 DNA 形成共价连接,大大减小了接触电阻;另一方面又有效地将 DNA 固定在电极表面.

3.2. M-DNA 的制备及导电性测量

参照文献[10]制备 M-DNA 的方法,1) 配制浓度为 $5\text{ ng}/\mu\text{L}$ 的小牛胸腺 DNA 溶液;2) 将氯化镍晶体配成浓度范围为 $0\text{--}0.3\text{ mmol/L}$ 的 9 种不同浓度的水溶液,把不同浓度的氯化镍溶液与 DNA 溶液按照 $1\text{:}X$ (体积比)比例混合;3) 用 Tris 控制混合液的 pH 值在 8.5 左右,室温下反应 2 h . 将 DNA 梳直在巯基乙胺处理过的电极上.

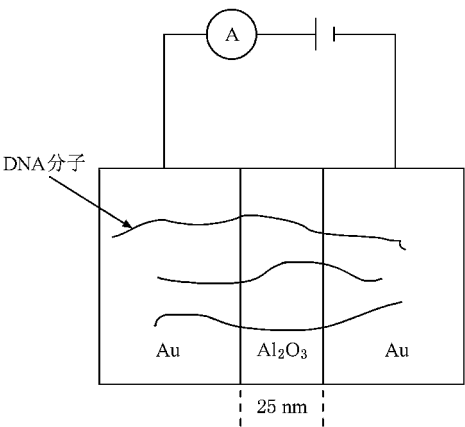


图 1 纳米金电极示意图

图 2 为电极表面 DNA 的 AFM 图像.可以看出,经过巯基乙胺处理后 DNA 在金膜表面分布均匀, $2\text{ }\mu\text{m}$ 长度内约有 1 根 DNA,因此可以根据电极大小计

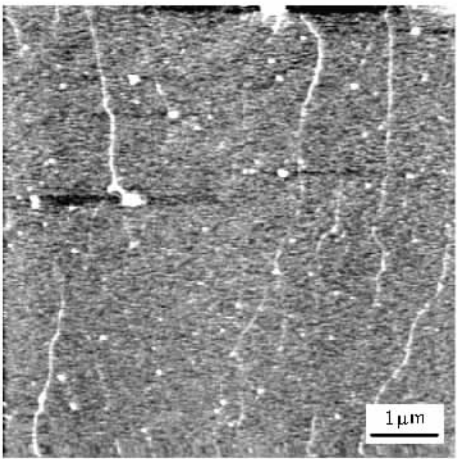


图 2 DNA 在金电极上均匀分布($7\text{ }\mu\text{m}\times7\text{ }\mu\text{m}$)

算流过单根 DNA 的电流.图 3 为单根 DNA 的 $I\text{--}V$ 曲线.可以看出,纯 DNA 显示出半导体性质,伏特间隙约 0.8 V ;掺入镍离子后,随镍离子浓度的增加,DNA 的伏特间隙逐渐减小(浓度为 0.05 mmol/L 时约 0.6 V ,浓度为 0.10 和 0.20 mmol/L 时约 0.4 V),表明在 DNA 碱基对中插入镍离子后改变了 DNA 的最小传导能量^[5].当镍离子浓度超过 0.1 mmol/L 时,导电性不再增加.为了排除镍离子本身导电对本实验的影响,我们将氯化镍溶液滴在电极表面,干燥后进行导电性测量,发现在 10 V 偏压下仍然没有电流通过.因此可以证明加入镍离子后导电性增加的原因是镍离子与 DNA 形成了金属 DNA(M-DNA).

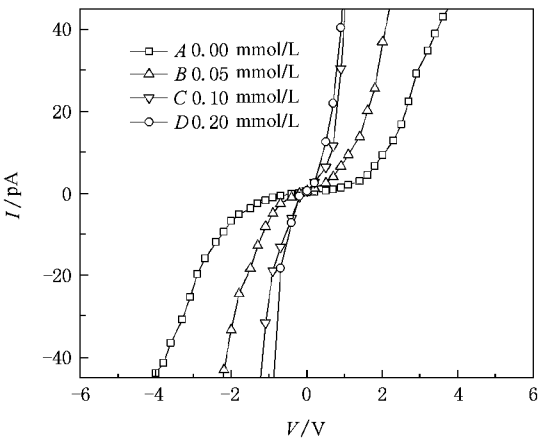


图 3 单根 DNA 在不同镍离子浓度下的 $I\text{--}V$ 曲线

为了进一步说明镍离子浓度对 DNA 导电性的影响,我们计算了不同镍离子浓度下单根 DNA 的电导,如图 4 所示,当镍离子浓度在 $0.00\text{--}0.01\text{ mmol/L}$ 范围内时,电导随离子浓度的增大而显

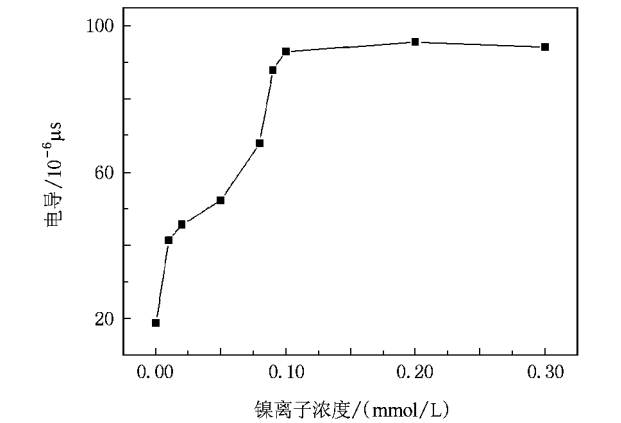


图 4 单根 DNA 的电导随镍离子浓度的变化规律

著增加,在 0.01—0.05 mmol/L 范围内时电导随离子浓度缓慢增加;浓度超过 0.05 mmol/L 时,电导又快速增加;当浓度超过 0.1 mmol/L 时,DNA 的电导不再随离子浓度的变化而变化。这种现象可以解释为:当加入少量镍离子时(<0.01 mmol/L),由于 DNA 的磷酸根骨架带负电,因此,在溶液中 DNA 分子周围会形成镍离子富集区域,并使镍离子结合在磷酸根上,镍离子可能使 DNA 产生了电子掺杂,从而改变了 DNA 的电子态^[11],使电导增加明显。镍离子浓度在 0.01—0.05 mmol/L 范围内升高时,镍离子与 DNA 的磷酸根骨架的结合处于近饱和状态,但很少渗入碱基对,因此导电性的增加变缓。当镍离子浓度超过 0.05 mmol/L 时,镍离子开始渗透到碱基对中,并且分别与胸腺嘧啶的 N3 和鸟嘌呤的 N1 结合^[12]。因此,在 M-DNA 中不仅含有 π 通道,而且在碱基对中还有金属离子形成的金属离子通道,使 DNA 的导电性显著增加,与文献^[12]的结果一致;当离子浓度达到 0.1 mmol/L 时,镍离子与 DNA 的结合趋近于饱和,因此电导不再随离子浓度的增加而增大。

3.3. B-到 Z-DNA 的结构转变及导电性测量

3.3.1. 确定 B-Z DNA 转变的镍离子浓度

DNA 在碱性环境中($\text{pH} > 8.5$)加入镍离子后会形成 M-DNA,在中性环境中却不会形成这种结构。较高浓度的金属离子能够使 DNA 发生 B-Z 结构的转变^[13,14]。为研究中性环境中镍离子对 DNA 结构和导电性的影响,首先将 50 μL 浓度为 600 ng/ μL 的 DNA 滴入 1 mL 不同浓度的氯化镍溶液中,室温下反应 4 h 后进行紫外吸收谱测量。实验发现,纯 DNA 溶液的最大吸收峰出现在 260 nm 处。镍离子浓度低

于 1.5 mol/L 时,紫外吸收谱变化很小。当氯化镍浓度超过 1.5 mol/L 时吸收峰出现明显红移,如图 5 所示。当镍离子浓度为 1.6 mol/L 时,DNA 的吸收峰移动到 266 nm 处,表明有少量 DNA 向 Z 构象转变;离子浓度达到 1.7 mol/L 时,吸收峰移动到 279 nm 处,说明此时有较多的 DNA 向 Z 构象转变;右手到左手螺旋转变的镍离子浓度为 1.7 mol/L,与 Klump 等人的实验结果一致^[15];当离子浓度达到 1.8 mol/L 时,吸收峰移动到 283 nm 处,继续增加镍离子浓度,吸收峰几乎不再移动,说明 B-Z 构象的转变基本结束。

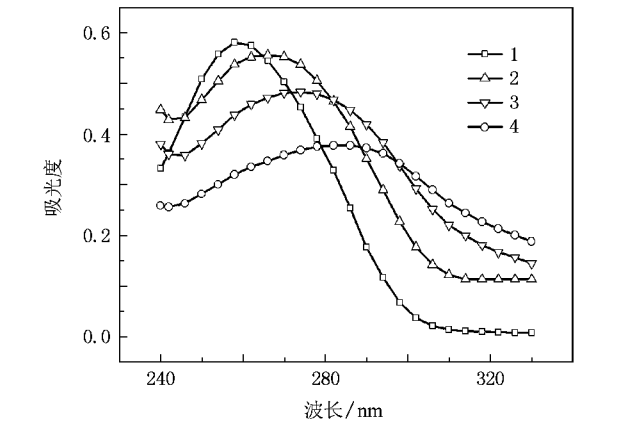


图 5 小牛胸腺 DNA 在不同浓度镍离子溶液中的紫外吸收光谱 (1 0 mol/L 2 1.6 mol/L 3 1.7 mol/L 4 1.8 mol/L)

3.3.2. Z-DNA 的 STM 图像

为了观察中性环境中镍离子导致的 B 到 Z-DNA 的结构转变,我们将发生结构转变的 DNA 进行 STM 图像扫描,如图 6 所示。从图中可以看出:(1) DNA 在镍离子作用下出现了左旋构象,直径约 2 nm,STM

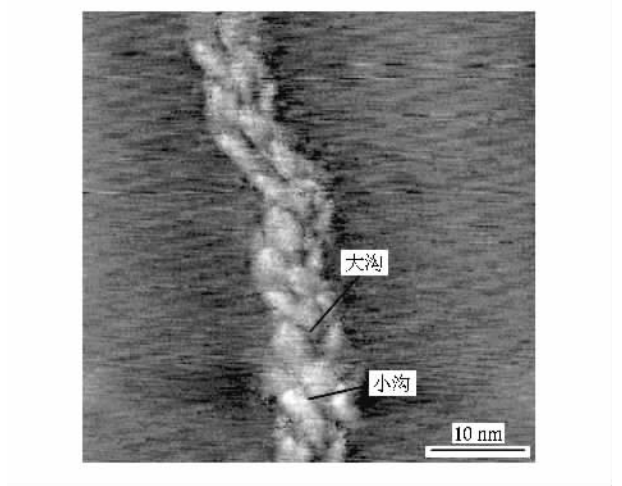


图 6 Z-DNA 的 STM 图像(50 nm × 50 nm)

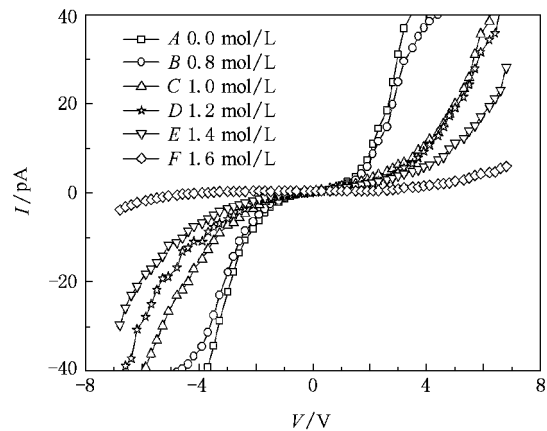


图 7 DNA 在较高镍离子浓度下 I - V 曲线

测量的直径略大于 X 射线衍射测量的直径 (1.8 nm)^[16] 这是由于磷酸基团带负电而吸附了镍离子,导致 DNA 直径有所增加.2)小牛胸腺 DNA 的 Z 构象可以分辨出大沟与小沟,并且螺旋结构不均匀,伴有局部的解旋和有序化,这是因为该 DNA 序列不均匀 (C-G)含量丰富的序列比 (A-T)含量丰富的序列更容易向 Z 构象转变.

3.3.3. Z-DNA 的导电性测量

选取 3.3.1 中镍离子浓度在 $0.8\text{--}1.6\text{ mol/L}$ 范围的 DNA 混合液滴在巯基乙胺处理过的金电极表面自组装 1 h 后,梳直在金电极上,干燥后进行导电性测量,并且与纯 DNA 的导电性进行对比,如图 7 所示.结果显示,中性环境中,离子浓度小于 0.8 mol/L 时, DNA 导电性变化不明显,离子浓度高于 0.8 mol/L 时,随着镍离子浓度的升高, DNA 的电流在同一量级上逐渐减小;当浓度达到 1.6 mol/L 时,电流迅速减小,说明 Z-DNA 的导电性非常差.

3.3.4. 镍离子和 DNA 相互作用的拉曼光谱分析

为了探讨镍离子与 DNA 的相互作用机理,将 $1.5\text{ }\mu\text{g}$ DNA 加入 $5\text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 1.8 mol/L 的氯化镍溶液中,放置 4 h 后进行拉曼光谱测量,结果如图 8 所示.与纯 DNA 的拉曼谱相比:1) Z 构象中腺嘌呤咪唑环的振动峰由 726 cm^{-1} 向低波数移动了 5 cm^{-1} ,这是由于镍离子使嘌呤残基由反式-C2'-内褶 (C2'-endo/anti) 构象向顺式-C3'-内褶 (C3'-endo/syn) 构象转变的结果,与文献 [17] 的结果一致.2) 加入镍离子后 DNA 中磷酸二酯键的振动峰 784 cm^{-1} 没有明显移动,但强度明显降低,说明镍离子对 DNA 骨架产生了一定程度的破坏.3) 表征 PO_2^- 的对称伸缩峰 1095 cm^{-1} 向低波数移动了 6 cm^{-1} ,且强度变弱,说明磷酸

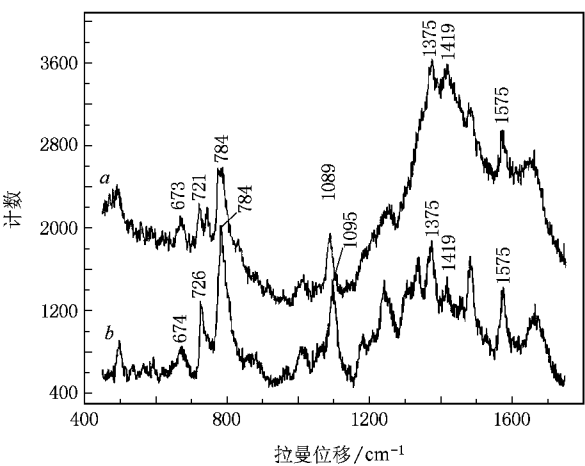


图 8 小牛胸腺 DNA 的拉曼光谱 (a 为 DNA 和氯化镍混合液; b 为纯 DNA 溶液)

根骨架结合了镍离子,这也是 DNA 向 Z 构象转变的一个因素^[18].4) 碱基的振动模式主要集中在 $1200\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$.从图中可以看到加入镍离子后碱基谱线区的底线荧光显著增强,碱基振动特征峰数量明显减少且普遍降低,说明高浓度镍离子在与 DNA 骨架充分结合以后渗透到了 DNA 碱基对中并对其产生了一定的破坏,从而对其特征振动产生了影响.

因此,高浓度镍离子环境下 DNA 的导电性减弱主要归结为以下两方面原因:1) 较高浓度镍离子的加入对 DNA 的骨架和碱基产生了一定的破坏,因此 DNA 的导电性随离子浓度的增加而逐渐减小.2) DNA 发生 B-Z 构象转变后,结构发生了质变.同时因为 DNA 的序列不均匀 (C-G)含量丰富的片段更容易转变为 Z 构象,导致天然 DNA 容易产生大沟和小沟以及解旋和有序化现象,从而使整条 DNA 链趋于无序混沌状态,因此,即使加较高偏压,仍然没有电流通过.

4. 结 论

在碱性环境中加入镍离子形成了 M-DNA,随着镍离子浓度的增加, DNA 的导电性明显增强,伏特间隙减小.在中性环境中,加入较高浓度的镍离子实现了自然序列 DNA 从右手到左手螺旋结构的转变,转变后的 Z-DNA 结构不同于特定序列的 Z-DNA,有比较明显的大沟和小沟,且 Z-DNA 几乎不导电.综上所述,可以得到纯 DNA, M-DNA, Z-DNA 的电导关系为 $G_{\text{M-DNA}} > G_{\text{DNA}} > G_{\text{Z-DNA}}$.

- [1] Murphy C J , Arkin M R , Jenkins Y , Ghatlia N D , Bossmann S H , Turro N J , Barton J K 1993 *Science* **262** 1015
- [2] Arkin M R , Stemp E D A , Holmin R E , Barton J K , Hormann A , Olson E J C , Barbara P F 1996 *Science* **273** 475
- [3] Qian L L , Wang Y , Zhang Z , Zhao J , Pan D , Zhang Y , Liu Q , Fan C H , Hu J , He L 2006 *Chinese Science Bulletin* **51** 2860 (in Chinese) [钱璐璐、汪 颖、张 钊、赵 健、潘 敦、张 益、刘 强、樊春海、胡 钧、贺 林 2006 科学通报 **51** 2860]
- [4] Fink H W , Schonenberger C 1999 *Nature* **398** 407
- [5] Porath D , Ghosh A W , Datta S 2000 *Nature* **403** 635
- [6] Zhang Y , Austin R H , Kraeft J , Cox E C , Ong N P 2002 *Phys. Rev. Lett.* **89** 198102
- [7] Braun E , Eichen Y , Sivan U , Ben-Yoseph G 1998 *Nature* **391** 775
- [8] Lee J M , Ahn S K , Kim K S , Lee Y , Roh Y 2006 *Thin Solid Films* **515** 818
- [9] Meng X L , Gao X T , Qu Z , Kang D W , Liu D S , Xie S J 2008 *Acta Phys. Sin.* **57** 5316 (in Chinese) [孟宪兰、高绪团、渠 朕、康大伟、刘德胜、谢世杰 2008 物理学报 **57** 5316]
- [10] Rakitin A , Aich P , Papadopoulos C , Yu Kobzar A , Vedeneev S , Lee J S , Xu J M 2001 *Phys. Rev. Lett.* **86** 3670.
- [11] Kratochvílová I , Král K , Bunčák M , Víková A , Nešpárek S , Kochalska A , Todorciuc T , Weiter M , Schneider B 2008 *Biophysical Chemistry* **138** 3
- [12] Aich P , Labiuk S L , Tari L W , Delbaere L J , Roesler W J , Falk K J , Steer R P , Lee J S 1999 *J. Mol. Biol.* **294** 477
- [13] Dong R X , Yan X L 2004 *Acta Phys. Sin.* **53** 4414 (in Chinese) [董瑞新、闫循领 2004 物理学报 **53** 4414]
- [14] Dong R X , Yan X L , Pang X F , Liu S G 2003 *Acta Phys. Sin.* **52** 3197 (in Chinese) [董瑞新、闫循领、庞小锋、刘盛纲 2003 物理学报 **52** 3197]
- [15] Klump H H , Schmid E , Wosgien M 1993 *Nucleic Acids Res.* **21** 2343
- [16] Chen Y Z , Prohofskey E W 1993 *Biophys. J.* **64** 1394
- [17] Tomkova A , Miskovsky P , Chinsky L 1995 *Journal of Molecular Structure* **344** 11
- [18] Anastassopoulou J 2003 *Journal of Molecular Structure* **651** 19

The effect of nickel ions on structure and conductivity of DNA^{*}

Li Ke Dong Rui-Xin[†] Ban Ge Han Hong-Wen Su Wei Yan Xun-Ling

(School of Physical Science and Information Technology , Liaocheng University , Liaocheng 252059 , China)

(Received 28 December 2008 ; revised manuscript received 23 January 2009)

Abstract

The modified M-DNA molecular wires were prepared by adding nickel ions of low concentration to the calf thymus DNA in alkaline solution. And we investigated the conductivity of single DNA and M-DNA molecules. The results indicated that the M-DNA and the B-DNA show semiconductor properties. But the conductivity of M-DNA is higher than that of the B-DNA , and the voltage gap is smaller. When the concentration of nickel ions is more than 0.1 m mol/L , the conductance of DNA does not change with the nickel concentration. In addition , the right to left-handed DNA transition was realized by adding nickel ions of appropriate concentration to the calf thymus DNA in neutral solution and the structure of left handed Z-DNA was observed by STM. The result showed that the major and minor grooves are obvious , unwinding and disordering regions can be found in the Z-DNA. The conductivity of left-handed DNA was much lower than that of the B-DNA. The conductivity relationship of B-DNA , M-DNA and Z-DNA is $G_{M-DNA} > G_{B-DNA} > G_{Z-DNA}$. The UV absorption spectra and the Raman spectra indicated that the transition of B-Z DNA appears when the concentration of nickel ions is about 1.7 mol/L.

Keywords : nickel ions , M-DNA , Z-DNA , conductivity

PACC : 7360R , 8116D

^{*} Project supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No. 60571062).

[†] Corresponding author. E-mail : dongruixin@lcu.edu.cn