



生命科学前沿及应用生物技术

# 纳米孔： 生物分子相互作用传感基础

[美] S. M. 伊克巴尔 R. 巴希尔 等著

刘全俊 陆祖宏 谢骁 等译

NANOPORES: SENSING AND FUNDAMENTAL  
BIOLOGICAL INTERACTIONS



科学出版社

生命科学前沿及应用生物技术大系·典藏版

# 纳米孔：生物分子相互作用传感基础

## Nanopores: Sensing and Fundamental Biological Interactions

[美] S. M. 伊克巴尔 R. 巴希尔 等 著  
刘全俊 陆祖宏 谢 骁 等 译



科学出版社

北京

图字：01-2012-1766 号

## 内 容 简 介

应用生物技术大系和现代生命科学前沿系列图书分别被列为“十一五”和“十二五”国家重点图书出版规划项目。本丛书针对生命科学领域前沿重点发展方向以及应用生物技术领域的新成果、新思路、新方法和新技术，全面展示了其最新的发展动态，涵盖了基础理论和主要技术方法，呈现了新的概念与理论、技术，在更深层次上阐明了生命的本质规律，给人们提供了新的认识生命本质的手段，也为生物技术服务于人类开辟了新的途径。涉及领域包括生物医药、干细胞技术、工业微生物学、蛋白质及蛋白质组、系统生物学、合成生物学、生物材料、农业生物技术、环境生物技术、海洋生物技术、生物资源与安全等。

Translation from English language edition: *Nanopores* by Samir M. Iqbal and Rashid Bashir

Copyright © 2011, Springer US

Springer US is a part of Springer Science+Business Media

All Rights Reserved

### 图书在版编目 (CIP) 数据

生命科学前沿及应用生物技术大系：典藏版/舒红兵等编著. —北京：科学出版社, 2016

ISBN 978-7-03-047487-2

I. ①现… II. ①舒… III. ①生命科学—研究②生物工程—研究 IV. ①Q1-0②Q819

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 043876 号

责任编辑：王 静 李 悦

责任印制：张 伟 / 封面设计：刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码：100717

<http://www.sciencep.com>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016 年 7 月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张：2108

字数：49 985 000

定价：8900.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换)

## 《新生物学丛书》专家委员会成员名单

主任：蒲慕明

副主任：吴家睿

专家委员会成员（按姓氏汉语拼音排序）

昌增益	陈洛南	陈晔光	邓兴旺	高福
韩忠朝	贺福初	黄大昉	蒋华良	金力
李家洋	林其谁	马克平	孟安明	裴钢
饶毅	饶子和	施一公	舒红兵	王琛
王梅祥	王小宁	吴仲义	徐安龙	许智宏
薛红卫	詹启敏	张先恩	赵国屏	赵立平
钟扬	周忠和	朱祯		

## 本书译者名单

(按姓氏汉语拼音排序)

孔婧琳 李金超 刘丽萍 刘全俊  
刘雪松 陆祖宏 孙 峰 王晓娟  
王毓诚 吴宏文 武灵芝 谢 骁  
轩 阳 姚 慧 叶晓峰 应 松  
赵志亮

## 《新生物学丛书》丛书序

---

当前，一场新的生物学革命正在展开。为此，美国国家科学院研究理事会于2009年发布了一份战略研究报告，提出一个“新生物学”（New Biology）时代即将来临。这个“新生物学”，一方面是生物学内部各种分支学科的重组与融合，另一方面是化学、物理、信息科学、材料科学等众多非生命学科与生物学的紧密交叉与整合。

在这样一个全球生命科学发展变革的时代，我国的生命科学研究也正在高速发展，并进入了一个充满机遇和挑战的黄金期。在这个时期，将会产生许多具有影响力、推动力的科研成果。因此，有必要通过系统性集成和出版相关主题的国内外优秀图书，为后人留下一笔宝贵的“新生物学”时代精神财富。

科学出版社联合国内一批有志于推进生命科学发展的专家与学者，联合打造了一个21世纪中国生命科学的传播平台——《新生物学丛书》。希望通过这套丛书的出版，记录生命科学的进步，传递对生物技术发展的梦想。

《新生物学丛书》下设三个子系列：科学风向标，着重收集科学发展战略和态势分析报告，为科学管理者和科研人员展示科学的最新动向；科学百家园，重点收录国内外专家与学者的科研专著，为专业工作者提供新思想和新方法；科学新视窗，主要发表高级科普著作，为不同领域的研究人员和科学爱好者普及生命科学的前沿知识。

如果说科学出版社是一个“支点”，这套丛书就像一根“杠杆”，那么读者就能够借助这根“杠杆”成为撬动“地球”的人。编委会相信，不同类型的读者都能够从这套丛书中得到新的知识信息，获得思考与启迪。

《新生物学丛书》专家委员会

主任：蒲慕明

副主任：吴家睿

2012年3月

# 本书序

---

纳米孔检测技术的研究起源于 20 世纪末，研究者根据 Coulter 计数器的检测原理，提出了使用含有纳米孔的膜结构器件进行基因组测序的构想。科研工作者最初通过将溶血素蛋白分子组装到脂质双分子层上的方法构建纳米孔检测器件，并用于分子检测。随着半导体材料制备与表征技术和微电子加工技术的介入，以半导体材料为基底的纳米孔检测器件也受到了人们更多的重视。随着材料学、电子学、微电子加工技术、表面物理化学和生物信息学的发展，纳米孔技术必将取得新的突破并带动相关学科和技术的发展，成为 21 世纪重要的分子检测技术。

《纳米孔：生物分子相互作用传感基础》一书围绕纳米孔技术这个主题，介绍了纳米孔结合生物标记检测技术，以及其用作基因组测序和疾病早期检测的最新研究进展。书中介绍了生物纳米孔和固态纳米孔的制备方法与基本性质，以及纳米孔在基因组学、蛋白质组学、药物筛选、疾病早期诊断和新型环境有害物质检测等领域的最新研究进展。该书结合当前研究热点，将有关纳米孔的最新科研进展分为若干个主题，邀请了相关领域的知名专家分别加以介绍，内容翔实，图文并茂，可作为广大科研工作者了解纳米孔及其相关技术的重要参考书籍。

纳米孔技术的研究对于生物分子传感与检测领域的研究具有十分重要的意义。《纳米孔：生物分子相互作用传感基础》中译本的问世，将会对我国纳米孔领域的研究起到良好的推动作用。该书译者为东南大学生物科学与医学工程学院、电子科学与工程学院和生物电子学国家重点实验室的科研工作者，他们在承担繁重的教学、科研任务之余，完成了全书的翻译工作，应该说，他们做了一项非常有意义的工作。

2012 年 6 月于东南大学

# 译者序

---

随着人类基因组计划的顺利进行与完成，DNA 测序技术对生命科学的研究、人类健康和医药卫生事业起着越来越重要的作用。作为第三代测序技术的主要代表，纳米孔单分子测序承载着人们追求可靠、快速、低廉的测序技术的美好愿望。与传统测序方法相比，纳米孔单分子测序样品准备简单，无需扩增等前处理、无需标记，检测片段长度长、速度快、费用低。在 21 世纪前十年内，纳米孔检测无论从检测原理、实验体系构建和数据分析方面都得到了长足发展，出现了以蛋白质构建生物纳米孔和以合成材料构建固态纳米孔两大学术流派，并在单分子 DNA 序列检测（即 DNA 测序）、蛋白质序列和高级结构确定、生物小分子检测、危险物品如爆炸物和恐怖战剂的随机检测等实际应用方面都有令人欣喜的进展。

本书由众多纳米孔领域专家合作完成，涵盖了迄今为止纳米孔作为生物传感器在诸多领域的应用，从理论模拟的分析和阐述到实际应用方案的对比，包括了纳米孔利用生物基本相互作用在单分子检测和分子易位行为等方面的应用研究。本书各章节相对独立，方便读者浏览，从中找寻切合自己工作的技术方案；同时，我们在翻译时尽量尊重原著，保持图解等关键信息的原有内容，而对于缺少常用译法的名词则给大家提出可参考的建议。

我们对能够承担本书中文版的翻译工作，感到荣幸之至。希望本书的出版能够使大家“窥斑而知全豹”，为相关领域的科研工作者、教师和学生带去丰富的背景知识，以及最新的研究进展和权威的发展动态预测解析。在此，我们还想感谢以下人员在本书校对过程中提供的巨大帮助，他们是肖鹏峰老师、丁立渊老师、于静静老师，以及刘航、王磊、侯传荣、赵文远、唐梦醒。同时我们也要感谢科学出版社多位领导和编辑为本书出版工作付出的辛勤劳动，正是他们在翻译、定稿和出版中付出大量精力，才确保本书高质量出版，在此谨向他们表示衷心感谢。

本书的翻译专业性强、工作量大、涉及领域广，同时由于国内缺乏相应的专著供参考，虽然参加翻译的同志均为一线科研人员和研究生，但由于知识、能力水平的限制，在翻译过程中难免存在不足。望读者见谅，给予批评指正并提出宝贵意见。

全体译者

2013 年 1 月 28 日



# 前 言

---

亲爱的同事们：

我们很高兴能够为您编纂这本书。本书是由多位纳米孔传感领域的专家们共同编写的。我们相信这本书能够为从事纳米生物学，特别是纳米孔传感器领域的研究人员和研究生们提供翔实可靠的信息来源。近几年来，纳米孔正在三类科学研究和应用领域里成为强有力的工具。第一，单分子水平上的生物物理学研究。通过纳米孔传感器的光学或电学检测，研究某些分子机制，如 DNA 分子的折叠/解折叠、双链 DNA 的解链过程、单分子 DNA-蛋白质相互作用以及生物分子的力谱测量；第二，纳米孔传感器可以用于在单分子水平进行广义上的“早期诊断”，例如，单个生物分子的重要属性（如甲基化）、特异性短片段（如 miRNA 鉴定以及区分不同长度的核酸分子）等；第三，纳米孔传感器将可能实现单分子 DNA 直接测序的伟大构想，并且人们在这个挑战面前已经取得了相当大的进展。

纳米孔传感器可以是生物体的一部分，也可以由固态材料制备得到。1996 年 Kasianowicz 等报道了  $\alpha$ -溶血素蛋白分子，开创了利用  $\alpha$ -溶血素蛋白通道进行单分子 DNA 鉴定的先河。在随后的几年中，许多研究小组提出可以使用更耐用的固态纳米孔替代这种蛋白质及脂质双分子层。之后，涌现了更广泛的研究，推动了固态纳米孔和蛋白纳米通道向前发展。在本书中您将看到，这些研究从不同角度全面地推进了纳米孔系统的发展，这些角度包括新的制备方法、新的检测技术、更多样的数据处理方法，以及使用更细化的建模技术阐释分子水平上的相互作用、可重复的纳米孔修饰化学等。其中，固态纳米孔的消逝场光学检测能够在光学法测序中获得很高的信噪比。最近，石墨烯纳米孔的出现为制备原子级别厚度的薄膜和电极提供了可能性。与此类似，新兴的利用  $\alpha$ -溶血素边合成边测序的方法以及新发现的生物纳米通道，如 phi29 噬菌体连接蛋白，也为双链 DNA 的检测识别提供了新的可能途径。所有这些进展都推动着实现直接从单分子 DNA 中读取序列信息这一目标向前迈进。

综上所述，纳米孔传感器研究领域正在迅速发展。我们希望在不久的将来能够看到这些传感器在生物物理、生物学、临床医学和其他更多的应用领域取得巨大进展。无论是生物材料纳米孔，还是人工材料制备的纳米孔，本书都能够成为这些激动人心的成就的铺路石。

最大的贡献来自我们的家庭，他们在我们面对这次挑战时给予了极大的支持。我们也要感谢章节作者，没有他们丰富的专业知识、勤奋的写作以及时间上的支持，本

书也不可能完成。尽管任务繁重，许多同事和学生参与了本书的编辑和校对过程，他们是 W. Asghar, J. Azhar, M. J. Bari, J. A. Billo, M. Y. Danawala, A. H. Faraz, K. H. U. Rahman, S. Shoeb 和 B. M. K. Venkatesan。

Samir M. Iqbal (Arlington, TX) 和 Rashid Bashir (Champaign, IL)

(谢 骁 译)

## 作者列表 (排名不分先后)

---

Bala Murali Venkatesan

Department of Electrical and Computer Engineering, Micro and Nanotechnology Lab, University of Illinois at Urbana-Champaign, Champaign, IL 61820, USA  
[bvenkate@illinois.edu](mailto:bvenkate@illinois.edu)

Rashid Bashir

Department of Electrical and Computer Engineering, Department of Bioengineering, Micro and Nanotechnology Lab, University of Illinois at Urbana-Champaign, Champaign, IL 61820, USA  
[rbashir@illinois.edu](mailto:rbashir@illinois.edu)

Adam R. Hall Kavli

Institute of Nanoscience, Delft University of Technology, Lorentzweg 1, Delft, CJ 2628, The Netherlands  
Joint School of Nanoscience and Nanoengineering, University of North Carolina at Greensboro, Greensboro, NC 27401, USA  
[adam.hall@uncg.edu](mailto:adam.hall@uncg.edu)

Cees Dekker

Kavli Institute of Nanoscience, Delft University of Technology, Lorentzweg 1, Delft, CJ 2628, The Netherlands  
[c.dekker@tudelft.nl](mailto:c.dekker@tudelft.nl)

Li-Qun Gu

Department of Biological Engineering and Dalton Cardiovascular Research Center, University

of Missouri, Columbia, MO 65211, USA  
[gul@missouri.edu](mailto:gul@missouri.edu)

Farzin Haque

Nanobiomedical Center, Vontz Center for Molecular Studies, University of Cincinnati, ML #0508, 3125 Eden Avenue, Room 2308, Cincinnati, OH 45267, USA  
[haquefn@ucmail.uc.edu](mailto:haquefn@ucmail.uc.edu)

Peixuan Guo

Nanobiomedical Center, Vontz Center for Molecular Studies, University of Cincinnati, ML #0508, 3125 Eden Avenue, Room 2308, Cincinnati, OH 45267, USA  
[guop@purdue.edu](mailto:guop@purdue.edu); [guopn@ucmail.uc.edu](mailto:guopn@ucmail.uc.edu)

Waseem Asghar

Department of Electrical Engineering, Nanotechnology Research and Teaching Facility, University of Texas at Arlington, Arlington, TX 76019, USA  
[waseem.asghar@mavs.uta.edu](mailto:waseem.asghar@mavs.uta.edu)

Joseph A. Billo

Department of Electrical Engineering, Nanotechnology Research and Teaching Facility, University of Texas at Arlington, Arlington, TX 76019, USA  
[joseph.billo@mavs.uta.edu](mailto:joseph.billo@mavs.uta.edu)

Samir M. Iqbal

Department of Electrical Engineering, Nano-

technology Research and Teaching Facility, Joint Graduate Studies Committee of the Bioengineering Program, University of Texas at Arlington and University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, TX 76019, USA  
[smiqbal@uta.edu](mailto:smiqbal@uta.edu)

Bradley Ledden

Microelectronics-Photonics, University of Arkansas, 248 Physics Bldg., Fayetteville, AR 72701, USA  
[bledden@uark.edu](mailto:bledden@uark.edu)

Daniel Fologea

Department of Biological Sciences, University of Arkansas, SCEN601, Fayetteville, AR 72701, USA  
[dfologea@uark.edu](mailto:dfologea@uark.edu)

David S. Talaga

Department of Chemistry and Biochemistry, Montclair State University, Montclair, NJ 07043, USA  
[talagad@mail.montclair.edu](mailto:talagad@mail.montclair.edu)

Jiali Li

Department of Physics, University of Arkansas, 226 Physics Bldg., Fayetteville, AR 72701, USA  
[jjalili@uark.edu](mailto:jjalili@uark.edu)

Maria E. Gracheva

Department of Physics, Clarkson University, 8 Clarkson Avenue, Potsdam, NY 13699, USA  
[gracheva@clarkson.edu](mailto:gracheva@clarkson.edu)

Amandine Leroux

Department of Electrical Engineering and Computer Sciences, Institut Montefiore, Université de Liège, Liège, Belgium Beckman Institu-

te, University of Illinois at Urbana-Champaign, Champaign, IL 61820, USA

[A.Leroux@ulg.ac.be](mailto:A.Leroux@ulg.ac.be)

Jacques Destiné

Department of Electrical Engineering and Computer Sciences, Institut Montefiore, Université de Liège, Liège, Belgium Beckman Institute, University of Illinois at Urbana-Champaign, Champaign, IL 61820, USA

[destine@montefiore.ulg.ac.be](mailto:destine@montefiore.ulg.ac.be)

Jean-Pierre Leburton

Department of Electrical and Computer Engineering and Department of Physics, Beckman Institute, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA

[jleburto@uiuc.edu](mailto:jleburto@uiuc.edu)

Xinsheng Sean Ling

Department of Physics, Brown University, 182 Hope Street, Providence, RI 02912, USA  
[xsling@brown.edu](mailto:xsling@brown.edu)

Erik C. Yusko

Department of Biomedical Engineering, University of Michigan, 1101 Beal Avenue, Lurie Biomedical Engineering Building, Room 2493, Ann Arbor, MI 48109-2099, USA

[ecyus@umich.edu](mailto:ecyus@umich.edu)

Yazan N. Billeh

Department of Biomedical Engineering, University of Michigan, 1101 Beal Avenue, Lurie Biomedical Engineering Building, Room 2493, Ann Arbor, MI 48109-2099, USA

[ynbilleh@umich.edu](mailto:ynbilleh@umich.edu)

Jerry Yang

Department of Chemistry and Biochemistry,

University of California, San Diego, 9500 Gilman Drive, MC 0358, 6100C Pacific Hall, La Jolla, CA 92093-0358, USA  
[jerryyang@ucsd.edu](mailto:jerryyang@ucsd.edu)

Michael Mayer

Department of Biomedical Engineering, University of Michigan, 1101 Beal Avenue, Lurie Biomedical Engineering Building, Room 2174, Ann Arbor, MI 48109-2099, USA  
[mimayer@umich.edu](mailto:mimayer@umich.edu)

Meni Wanunu

Department of Physics and Astronomy, University of Pennsylvania, 209 S 33rd St., David Rittenhouse Labs, 1N19, Philadelphia, PA 19104, USA  
[wanunu@sas.upenn.edu](mailto:wanunu@sas.upenn.edu)

Allison Squires

Department of Biomedical Engineering, Boston University, 44 Cummington St., Boston, MA 02215, USA  
[asquires@bu.edu](mailto:asquires@bu.edu)

Amit Meller

Department of Biomedical Engineering, Boston University, 44 Cummington St., Boston, MA 02215, USA  
[ameller@bu.edu](mailto:ameller@bu.edu)

Gustavo Stolovitzky

IBM Thomas J. Watson Research Center, 1101 Kitchawan Road, Yorktown Heights, NY 10598, USA  
[gustavo@us.ibm.com](mailto:gustavo@us.ibm.com)

Hongbo Peng

IBM Thomas J. Watson Research Center, 1101 Kitchawan Road, Yorktown Heights,

NY 10598, USA

[pengho@us.ibm.com](mailto:pengho@us.ibm.com)

Binquan Luan

IBM Thomas J. Watson Research Center, 1101 Kitchawan Road, Yorktown Heights, NY 10598, USA  
[bluan@us.ibm.com](mailto:bluan@us.ibm.com)

Gregory Timp

Stinson-Remick Hall, University of Notre Dame, Notre Dame, IN 46556, USA  
[gtimp@nd.edu](mailto:gtimp@nd.edu)

Utkur Mirsaidov

University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute, 405 N Mathews Ave, Urbana, IL 61801, USA  
[uzphoton@uiuc.edu](mailto:uzphoton@uiuc.edu)

Winston Timp

School of Medicine, Johns Hopkins University, 855 N. Wolfe St., Rangos 570, Baltimore, MD 21205, USA  
[wtimp1@jhmi.edu](mailto:wtimp1@jhmi.edu)

Jiwook Shim

Department of Electrical Engineering, University of Notre Dame, B20 Stinson-Remick Hall, Notre Dame, IN 46556, USA  
[Jiwook.Shim.5@nd.edu](mailto:Jiwook.Shim.5@nd.edu)

Deqiang Wang

Department of Electrical Engineering, University of Notre Dame, B20 Stinson-Remick, Notre Dame, IN 46556, USA  
[dwang2@nd.edu](mailto:dwang2@nd.edu)

Valentin Dimitrov

University of Illinois at Urbana-Champaign,

Beckman Institute, 405 N Mathews Ave, Urbana, IL 61801, USA  
[dimitrov@uiuc.edu](mailto:dimitrov@uiuc.edu)

Jan Scrimgeour

School of Physics, Petit Institute for Bioengineering and Bioscience, Molecular Science and Engineering Building, Georgia Institute of Technology, 901 Atlantic Dr. Atlanta, GA 30332-0400  
[jan.scrimgeour@physics.gatech.edu](mailto:jan.scrimgeour@physics.gatech.edu)

Chunchen Lin

Department of Electrical Engineering, University of Notre Dame, B20 Stinson-Remick Hall, Notre Dame, IN 46556, USA  
[clin7@nd.edu](mailto:clin7@nd.edu)

Jeffrey Comer

Department of Physics, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, University of Illinois at Urbana-Champaign, 1110 W Green Street Urbana, Urbana, IL 61801, USA  
[jcomer2@illinois.edu](mailto:jcomer2@illinois.edu)

Anthony H. Ho

Department of Physics, University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, 405 N Mathews Ave, Urbana, IL 61801, USA  
[hho7@illinois.edu](mailto:hho7@illinois.edu)

Xueqing Zou

Physics Department, University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute, Room 3159, 405 N Mathews Ave, Urbana, IL 61801, USA  
[xqzou@ks.uiuc.edu](mailto:xqzou@ks.uiuc.edu)

Aleksei Aksimentiev

Department of Physics, Beckman Institute for Advanced Science and Technology, University of Illinois at Urbana-Champaign, 1110 W Green Street Urbana, Urbana, IL 61801, USA  
[aksiment@illinois.edu](mailto:aksiment@illinois.edu)

Klaus Schulten

University of Illinois at Urbana-Champaign, Beckman Institute 285 for Advanced Science and Technology, 405 N Mathews Ave, Urbana, IL 61801, USA  
[kschulte@ks.uiuc.edu](mailto:kschulte@ks.uiuc.edu)

Xiyun Guan

Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, 700 Planetarium Place, Arlington, TX 76019-0065, USA  
[xguan@uta.edu](mailto:xguan@uta.edu)

Ranulu Samanthi S. de Zoysa

Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, 700 Planetarium Place, Arlington, TX 76019-0065, USA  
[samanthi.dezoysa@mavs.uta.edu](mailto:samanthi.dezoysa@mavs.uta.edu)

Dilani A. Jayawardhana

Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, 700 Planetarium Place, Arlington, TX 76019-0065, USA  
[dilani.jayawardhana@mavs.uta.edu](mailto:dilani.jayawardhana@mavs.uta.edu)

Qitao Zhao

Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, 700 Planetarium Place, Arlington, TX 76019-0065, USA  
[qzhao@uta.edu](mailto:qzhao@uta.edu)

# 目 录

《新生物学丛书》丛书序

本书序

译者序

前言

作者列表

## 第 1 章 用于核酸序列分析的固态纳米孔传感器

1

1.1	引言	1
1.2	生物纳米孔	3
1.2.1	$\alpha$ -溶血素	4
1.2.2	噬菌体 phi29 连接器	6
1.3	固态纳米孔	6
1.3.1	单个纳米孔的加工	6
1.3.2	纳米孔阵列的加工	8
1.3.3	$\text{Al}_2\text{O}_3$ 薄膜上纳米孔的制备	10
1.3.4	固态纳米孔中的离子导电性	12
1.3.5	固态纳米孔的噪声分析	14
1.3.6	固态纳米孔中的易位事件	17
1.3.7	固态纳米孔传感器的化学修饰	19
1.4	结论	21
	致谢	22
	参考文献	22

## 第 2 章 光镊集成的固态纳米孔在分子检测和力谱测量中的应用

29

2.1	引言	29
2.2	实验方法	30
2.3	DNA 的检测	32
2.4	力谱测量	35
2.5	建模: 电泳与电渗剪	36

2.6 蛋白质涂层的 DNA 分子的测量 .....	37
2.7 结论 .....	40
致谢 .....	40
参考文献 .....	40

**第 3 章 适体修饰的纳米孔在单分子检测中的应用** 42

3.1 概述 .....	42
3.1.1 什么是适体? .....	42
3.1.2 分子折叠、相互作用和生物传感 .....	43
3.1.3 单分子检测与纳米孔技术 .....	44
3.1.4 纳米孔的选择性 .....	45
3.2 对于离子调控的 G-四聚体适体折叠过程的认识 .....	46
3.2.1 G-四聚体在纳米孔内的组装 .....	46
3.2.2 G-四聚体在纳米孔中自发的解折叠形态 .....	47
3.2.3 纳米孔与俘获的 G-四聚体的相互作用 .....	48
3.2.4 研究折叠与解折叠动力学的分析方法 .....	48
3.2.5 离子调控的 G-四聚体适体折叠与解折叠过程 .....	49
3.2.6 意义与影响 .....	49
3.3 稳定的纳米孔生物芯片用于单分子生物传感 .....	50
3.3.1 纳米孔传感器的研究进展 .....	50
3.3.2 便携、耐用、模块化的离子通道芯片 .....	50
3.3.3 意义与影响 .....	51
3.4 使用适体结合的纳米孔检测单个蛋白质分子 .....	52
3.4.1 检测结合过程而非易位过程 .....	52
3.4.2 集成适体的人工纳米孔 .....	52
3.4.3 玻璃纳米孔的制备与性能 .....	52
3.4.4 适体结合的纳米孔捕捉 IgE 分子 .....	54
3.4.5 利用结合 RNA 适体的纳米孔检测生物恐怖战剂——蓖麻毒素 .....	55
3.4.6 优势与发展前景 .....	56
3.5 结论 .....	57
致谢 .....	57
参考文献 .....	57

**第 4 章 嵌入生物膜的 phi29 噬菌体 DNA 组装马达对双链 DNA 易位和检测的研究** 65

4.1 引言 .....	65
--------------	----



4.2	phi29 噬菌体连接体的再造、表达和纯化 .....	67
4.2.1	phi29 噬菌体连接体的再造 .....	67
4.2.2	连接体的表达和纯化 .....	68
4.3	包含再造连接体蛋白的脂质囊泡的制备 .....	68
4.4	通过单通道电学检测表征 Phi29 噬菌体连接体蛋白通道 .....	70
4.4.1	实验安排 .....	70
4.4.2	连接体蛋白插入平面脂质双分子层膜 .....	71
4.4.3	单个或多个连接体通道的电流-电压曲线 .....	72
4.4.4	确定插入脂质双分子层的连接体蛋白数量的解析表达式 .....	74
4.4.5	计算 KCl 和 NaCl 缓冲液的校准系数 .....	75
4.4.6	phi29 噬菌体连接体蛋白通道与 $\alpha$ -溶血素孔的电导比较 .....	75
4.5	双链 DNA 的易位 .....	76
4.5.1	双链 DNA 通过 phi 噬菌体蛋白通道 .....	76
4.5.2	DNA 易位阻塞电流事件的表征 .....	77
4.5.3	pH 对连接体蛋白通道稳定性和易位行为的影响 .....	78
4.5.4	电流信号的可能形态 .....	79
4.5.5	定量 PCR 验证 dsDNA 的易位 .....	79
4.6	运用 DNA 单向运输机制的 phi29 噬菌体马达通道 .....	80
4.6.1	改变电压研究 dsDNA 通过脂质膜上单通道的单向性 .....	80
4.6.2	改变电压极性研究 dsDNA 通过脂质膜上单通道的单向性 .....	81
4.6.3	通过量化 DNA 通过多通道膜的频率研究 dsDNA 的单向易位 .....	82
4.6.4	通过 C 端组氨酸上标记 Ni-NTA 纳米金来确定蛋白通道的方向 .....	83
4.7	phi29 噬菌体马达蛋白通道的应用及前景 .....	85
4.7.1	一个新的用于研究病毒 DNA 组装机制的体系 .....	85
4.7.2	基于纳米孔的随机检测 .....	86
4.7.3	纳米孔检测 DNA .....	87
4.8	结论 .....	87
	致谢 .....	87
	参考文献 .....	87

## 第 5 章 用于检测特异性 DNA 的固态纳米孔

92

5.1	引言 .....	92
5.2	制作过程 .....	93
5.2.1	缩孔的沉积过程 .....	95
5.3	依据分子动力学的 DNA-纳米孔间的相互作用 .....	97