

纳柱阵列通道中生物分子等效淌度的宏观输运理论分析*

李子瑞^{1)†} 廖宁波¹⁾ 周余庆¹⁾ 薛伟¹⁾ 刘谋斌^{2)‡}

1) (温州大学机电工程学院, 温州 325035)

2) (中国科学院力学研究所, 北京 100190)

(2013年6月22日收到; 2013年7月19日收到修改稿)

各向异性生物分子或带电布朗粒子在周期性孔隙结构运动的分析在生物医学、水处理、环境工程等无数领域具有非常重要的意义. 本文基于宏观输运理论计算粒子在周期性微纳阵列结构中等效输运参数, 预测分离结果. 首先通过引入构型熵及有效电荷等参数, 建立各向异性生物分子在纳米级受限环境下的等效布朗粒子模型, 然后应用宏观输运理论和数值方法计算分子的等效淌度. 以小分子 DNA 片段在周期性纳柱阵列通道中电泳迁移为例, 证明当通道空隙接近或小于分子尺寸时, 熵受限对分子的等效迁移速度有重要的影响, 是实现生物分子分离的主要机理. 因为熵受限的作用随着外电场的增强而减低, 所以在较低电场强度条件下, 分子淌度差别较大, 对应分离效果较佳.

关键词: 生物分子分离, 构型熵, 微纳阵列, 宏观输运理论

PACS: 87.15.Tt, 87.16.dp

DOI: 10.7498/aps.62.218701

1 引言

生物分子分离在基因组学、蛋白质组学、疾病诊断、药物分析等方面都占有极其重要的地位. 理想的生物分子分离技术必须具备分离速度快、纯度高、成本低廉、不改变分子物理化学性态等特征. 目前作为主流科技的凝胶电泳、毛细管电泳等方法凭借操作简单、成本低廉等优势, 在生物、医学、化工等无数领域占据主导地位. 但这些技术却有耗时、分离效率低、材料重复使用率差等缺点. 此外, 凝胶结构的随机性以及分子在纳米尺度空间运动本身的复杂性也使得实验结果的分析非常困难. 相比之下, 通过精密加工制造的人工微纳阵列结构具有无需填充筛分介质、可多次使用、结构可控性高、高分离效率、高分离速度等诸多优点, 给生物分子分离技术以及相关系统的机理分析带来了全新的解决方案.

基于微纳阵列结构实现生物分子分离在物理机理上大体可分为 Ogston 筛分、熵俘获 (entropic trapping)、爬行控制、静电场筛分等. 其中, Ogston 筛分适用于生物分子尺寸小于通道尺寸的情形, 该技术已经有半个多世纪的历史, 在微纳米加工技术出现之前主要用于球形粒子通过凝胶介质筛分. 近年来, 随着微纳加工技术的发展, 应用微纳流控技术实现 Ogston 筛分有了很大的进展^[1]. 间隙尺寸在 10—100 nm 的微纳流控阵列成功用于分离双螺旋 DNA (dsDNA) 片段及蛋白质等生物分子^[2-5]. 熵俘获适用于柔性高分子大小与间歇性出现的孔隙的尺寸相当的情形, 此时分子需要发生较大变形或者调整姿态才可以通过. 自从 Craighead 和 Han 研究组^[6,7] 利用深浅交替的微纳通道成功分离 5—50 KBP dsDNA 分子片段以来, 科研人员做了大量的实验、理论和数值仿真方面的研究, 得到了许多描述俘获时间和分子长度、电场强度及空隙尺寸等关系的经验公式^[8]. 爬行控制技术适

* 国家自然科学基金 (批准号: 11372229) 资助的课题.

† 通讯作者. E-mail: lizirui@gmail.com

‡ 通讯作者. E-mail: liumoubin@imech.ac.cn

用于分子长度远远大于阵列的空隙尺寸的情形. 该技术通过控制流场或电场的强度和方向, 实现不同大小的分子的分离^[1,8]. 静电场筛分利用带电固体界面静电在双电层厚度内对带电分子的排斥与吸引作用, 实现分子分离^[9]. 此外, 通过在 DNA 端部附加特定片段, 将不同长度的单链或双链 DNA 分子固定在微流控芯片固体表面上, 然后通过增强外电场, 可以将分子从长到短逐步从固体表面剥离开来^[10-12], 从而实现分子分离. 这种方法虽然需要化学预处理, 但具有分子长度无限制, 分离精度高(可达 10 个碱基长度)等优点. 总之, 微纳芯片技术的迅猛发展给生物分子分离技术带来了革命性的提升^[13], 利用微纳流控芯片分离蛋白质有望成为蛋白质组学时代的主流. 我国自 2000 年以来在微流控芯片的研究与开发方面投入了很大的科研力量, 微流控芯片实验室方面取得了重大进展, 在微流控方面发表的论文数量也居于世界前列^[14-18].

在基础理论方面, 对于微纳阵列结构中生物分子运动的准确分析, 涉及到通道的几何及物化特性、分子电学和力学特征、分子周围流体动力学及外电场分布等物理现象和过程的精确描述. 因为这些因素所处学科跨度大, 所考虑的核心问题又完全不同, 对这种高度耦合的多物理系统的理论分析非常困难. 总体来讲, 研究生物分子在孔隙空间中运动最常见的理论模型和仿真方法包括基于传统的基于宏观经验的 Ogston-Morris-Rodbard-Chrambach(OMRC) 模型^[19], 基于介观描述的随机移动法 (RW)^[20]、朗之万动力学 (Langevin dynamics)^[21,22]、布朗动力学 (BD)^[23], 以及耗散粒子动力学 (DPD)^[24-27]、Monte Carlo 方法 (MC)^[28,29], 以及基于原子描述的分子动力学 (MD)^[30,31] 等. 其中 OMRC 模型作为经典理论可提供一些基本的趋势性的指导信息, 一般难以直接用来分析具体实验结果, 其主要原因在于当生物分子与孔隙尺寸相当时, 生物分子不可简化成简单粒子^[32]. 而考虑分子形状及变形特征的 RW, MD, BD, DPD, MC 等方法虽然能够在不同方面揭示实验无法观测的物理机理和过程, 但因为这些方法都作随机动态过程的模拟计算、运算过程复杂、所涉及的输入参数确定困难, 所以很难做工程预测性分析.

实际上, 小分子 DNA 片段、RNA 片段、蛋白质等各向异性生物分子在微纳尺度空间内的运动可以转化为等效布朗粒子的对流扩散问题(连续模型). 比起 BD, DPD 等基于随机动力学的模拟方法,

连续模型的最大优点在于模型简单、过程确定、无自由参数、所需运算量少, 并且易于和实验结果比较. 注意到宏观连续模型描述的是无尺寸布朗粒子的运动过程, 应用该类方法需解决受限空间内各向异性、有限尺寸的生物分子转化为无尺寸布朗粒子的问题^[33]. 具体方法上, 就是将分子的几何形状和姿态限制等特征量化为分子在特定空间内的构型熵. 在此基础上, 通过在周期性结构中动态求解考虑熵能的等效布朗粒子的对流扩散方程来分析不同分子的运动过程并预测分离结果^[34,35].

实际上, 比起通过数值方法模拟粒子在周期性整体结构中的动态运动过程, 宏观输运理论 (macro-transport theory)^[36] 更适合于求取粒子在周期性孔隙空间中等效迁移速度等输运参数. 首先, 该理论把一个在周期性无穷大孔隙空间内的粒子输运问题转化为粒子在单一单元内概率分布的描述, 所需计算空间最小; 其次, 该理论把粒子在周期性结构中的瞬态分析转化为在单元内的稳态分析, 只需一步计算, 比起瞬态分析的至少几万步的时间积分, 将运算时间降到最低; 最后, 因为该理论得出的是等效输运参数的精确渐进解, 计算精度达到了最高. 无论在理论方法还是数值分析方面, 宏观输运理论都具有不可替代的优越性. 尽管如此, 国内外应用宏观输运理论描述粒子在周期性孔隙空间内布朗粒子运动问题的研究还比较少见. Dorfman, Drazer 等研究组将此理论应用于粒子在周期性结构中的传输问题中^[37-41]. Li 等也曾用一维宏观输运理论研究小分子 DNA 片段在具有深浅区域交替微纳通道中传输问题, 结果显示通过周期性改变电场方向可以实现大分子以较快速度从特定出口流出, 而小分子的迁移速度则非常缓慢^[42].

本文采用宏观输运理论分析生物分子特别是小分子 DNA 片段在周期性出现的圆柱阵列障碍通道中的运动与分离的问题. 通过数值仿真结果说明宏观输运理论方法的有效性, 定量描述电渗流、电场及流场变化, 以及熵受限对分子等效迁移速度的影响. 通过比较各向异性分子与具备相同自由溶液淌度与扩散系数的布朗粒子在微纳阵列通道中的等效淌度, 刻画熵受限在分子分离过程中的关键作用. 这些结果对相关系统的机理分析和具体阵列通道结构的设计都具有重要的指导意义.

2 理论方法

本文研究各向异性生物分子在二维周期性纳

柱阵列中的运动与分离. 如图 1 所示, 将空间 X 坐标系轴定义在通道的主轴方向, Y 轴定义为宽度方向. 作为二维系统, 我们默认深度方向的尺度 (即纳柱的高度) 远大于纳柱之间的缝隙. 微纳通道宽度为 W , 长度周期为 L , 阵列中单个纳柱的直径为 d_p , 纳柱间隙在 X 和 Y 方向分别为 g_x 和 g_y , 每个纳柱阵列由 $N_X \times N_Y$ 个圆柱构成. 设分子长度为 l_M , 其在自由溶液中的淌度为 μ_0 , 扩散系数为 D_0 . 在

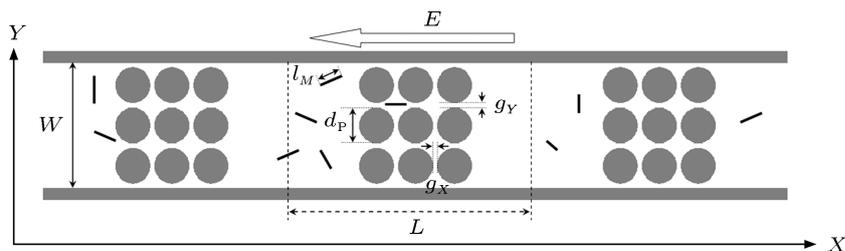


图 1 杆状 DNA 小分子片段在周期性圆柱阵列组成的纳滤通道运动与分离

外电场 E 作用下, 带负电荷的杆状 DNA 片段受静电力驱动跨越周期性障碍向右运动. 当分子的长度大于纳柱之间的间隙时, 分子必须以特定的姿态穿越纳柱阵列. 纳柱阵列对分子姿态方面的限制构成熵屏障, 进而降低分子在通道中的迁移速度. 本文的主要任务是建立等效迁移速度 (或等效淌度) 与分子特征、通道结构以及电场强度之间的关系.

2.1 二维输运基本方程

设 $P \equiv P(\mathbf{R}, t)$ 表示布朗粒子 t 时刻处在二维孔隙空间中位置 $\mathbf{R} \equiv \mathbf{R}(X, Y)$ 的概率密度函数, 其随时间变化的控制方程 (Fokker-Planck) 为

$$\partial P / \partial t = -\nabla \cdot \mathbf{J}, \quad (1)$$

其中 ∇ 为梯度算子 ($\nabla \cdot$ 为散度), 概率流密度 $\mathbf{J} \equiv \mathbf{J}(\mathbf{R}, t)$ 为

$$\mathbf{J} = -D_0 \nabla P - \frac{D_0}{k_B T} P \nabla U, \quad (2)$$

其中 $U \equiv U(X, Y)$ 为分子势能场. 物质守恒条件为

$$\iint_{\Gamma} P d^2 \mathbf{R} = 1, \quad (3)$$

其中 Γ 代表纳米通道内部空间. 在固体边界处

$$\hat{\mathbf{n}} \cdot \mathbf{J} = 0, \quad (4)$$

其中 $\hat{\mathbf{n}}$ 壁面法线向量.

在给定时间 t 所有粒子的平均位置 ($\bar{\mathbf{R}} \equiv \bar{\mathbf{R}}(t)$) 为

$$\bar{\mathbf{R}} = \iint_{\Gamma} P \mathbf{R} d^2 \mathbf{R}. \quad (5)$$

随着时间的推移, 当时间 t 远大于粒子外力跨越一个微观单元所需的时间以及通过布朗运动扩散至整个横截面的时间时, $\bar{\mathbf{R}}$ 趋向于渐进解

$$\bar{\mathbf{R}} \sim \bar{\mathbf{V}}^* t, \quad (6)$$

其中 $\bar{\mathbf{V}}^*$ 为宏观等效迁移速度.

2.2 宏观输运理论

宏观输运理论是专门用于描述布朗例子在周期性孔隙结构中的对流扩散过程的数学理论. 其核心思想在于将粒子在无穷大周期性孔隙空间内传输的动态过程转化为粒子在单一单元内的稳态传输问题. 具体来讲, 当一定数量生物分子溶液在图 2(b) 所示的周期性孔隙通道中运动时, 宏观上可观测到如图 2(a) 所示分子浓度随时间平移及扩散的过程, 在这一尺度, 流体通道和分子浓度都看起来是连续而且是一维的. 然而在图 2(b) 所示的微观尺度, 微纳通道是二维的, 而且单元之间以及单元内分子的浓度分布也完全不同. 宏观输运理论通过求解如图 2(c) 所示的单个单元 (本文称之为元胞) 的分子概率密度的稳态分布, 得出图 2(a) 中的宏观动态过程的精确解. 用同等网格密度, 宏观输运理论分析所需时间比直接求解动力学方程要少几个量级, 而且精度也会大大提高.

宏观输运理论中有两个不同的空间尺度即微观尺度 (单元局部坐标系 $x-y$) 和宏观尺度 (总体坐标系 $X-Y$). 假设宏观系统有 N 个重复单元, 总体坐标 $\mathbf{R}_i \equiv \mathbf{R}_i(X, Y)$ 与局部坐标 $\mathbf{r} \equiv \mathbf{r}(x, y)$ 的关系为 $\mathbf{R}_i = \mathbf{R}_{c,i} + \mathbf{r}$, 其中 $\mathbf{R}_{c,i} = \mathbf{R}_{c,i}(X, Y)$ 为第 i 个单元局部坐标原点在总体坐标系中的位置.

在微观描述中, 元胞概率密度函数定义为

$$P_0^\infty \equiv P_0^\infty(\mathbf{r}) = \lim_{t \rightarrow \infty} \sum_{i=1}^N P_0(\mathbf{R}_i, t),$$

其中下标“0”代表第0级矩, ∞ 表明该变量为时间无穷大(稳定状态)时的渐进值. 稳定状态下, 元胞系统的控制(质量守恒)方程为

$$\nabla \cdot \mathbf{J}_0^\infty = 0, \quad (7)$$

其中元胞概率密度流密度函数 $\mathbf{J}_0^\infty \equiv \mathbf{J}_0^\infty(\mathbf{r})$ 为

$$\mathbf{J}_0^\infty = -D_0 \nabla P_0^\infty - \frac{D_0}{k_B T} P_0^\infty \nabla U. \quad (8)$$

假设局部坐标原点位于元胞结构左边界, 对于周期性结构通道应加载周期性边界条件

$$P_0^\infty(0, y) = P_0^\infty(L, y). \quad (9)$$

元胞内概率密度总和满足

$$\iint_{\Gamma_0} P_0^\infty d^2 \mathbf{r} = 1, \quad (10)$$

其中 Γ_0 表示元胞的内部空间.

在元胞结构固体边界处,

$$\hat{\mathbf{n}} \cdot \mathbf{J}_0^\infty = 0. \quad (11)$$

通过求解方程(7)—(11)可以确定 \mathbf{J}_0^∞ , 进而计算等效迁移速度

$$\bar{\mathbf{V}}^* = \iint_{\Gamma_0} \mathbf{J}_0^\infty d^2 \mathbf{r}. \quad (12)$$

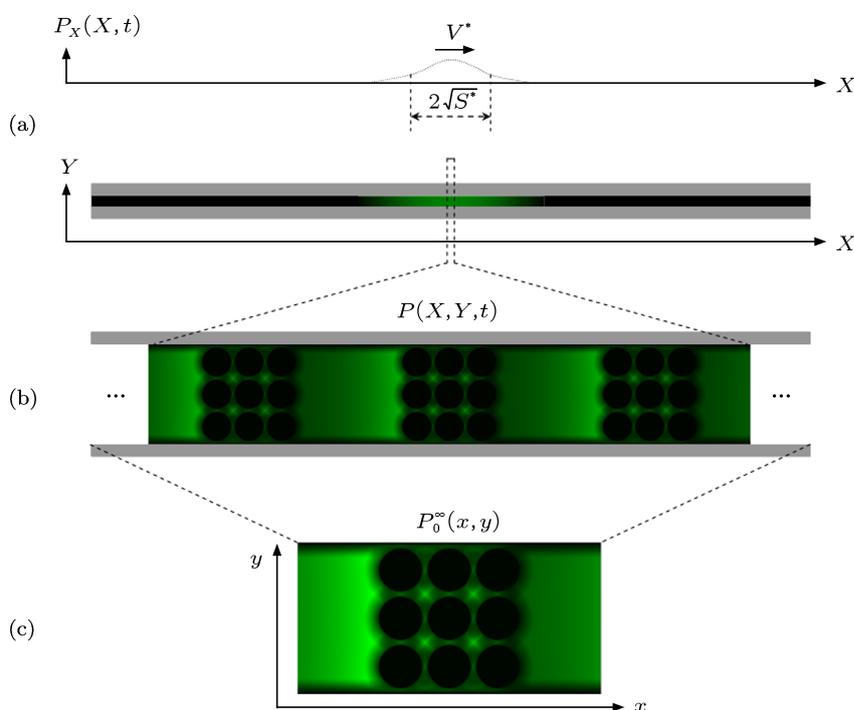


图2 周期性纳柱系统的宏观输运模型 (a) 分子微纳通道中的运动在宏观尺度表现为连续通道中的对流扩散过程; (b) 分子的在微观尺度上的动态分布取决于微观局部特征; (c) 元胞结构以及元胞概率密度分布的渐进解

2.3 各向异性分子向简单布朗粒子的转换

2.3.1 生物分子等效电荷数的确定

在电场 $\mathbf{E} = -\nabla \Phi$ (Φ 为外电势场, 满足 $\nabla^2 \Phi = 0$) 作用下, 自由溶液中带电量为 q 的粒子所受的静电力为 $q\mathbf{E}$, 粒子在溶液中以速度 $\tilde{\mathbf{V}}$ 运动时, 其受的黏滞阻力为 $\zeta^e \tilde{\mathbf{V}}$, 其中 ζ^e 为对应于静电力所产生的迁移运动的摩擦阻力系数. 稳态条件下, 静电力与摩擦阻力平衡 $q\mathbf{E} = \zeta^e \tilde{\mathbf{V}}$, 据此可得自由溶液中的淌度为 $\mu_0 = \tilde{\mathbf{V}}/\mathbf{E} = q/\zeta^e$. 除了电场驱动, 分子在环境流体分子热运动影响下做布朗运动, 其扩散系数为 $D_0 = k_B T/\zeta_d$, 其中 k_B 为玻尔兹曼常数, T 为绝对温度, ζ_d 为对应于布朗运动的摩擦系数^[43].

通常, 摩擦系数 ζ_e 和 ζ_d 的数值会有所差别, 这是因为分子做电泳运动时, 分子周围局部聚集的相反离子在电场作用下向相反方向运动, 因此产生额外的反向摩擦力, 然而分子布朗运动受周围离子环境的影响比较小, 也没有方向性. 为了将静电力引起的电泳运动和热运动统一起来, 我们在保持淌度值 μ_0 不变的情况下, 采用单一的摩擦系数 (ζ_d), 这样从 $\mu_0 = \tilde{q}/\zeta_d = q/\zeta_e$ 可以得到分子的等效带电量为

$$\tilde{q} = k_B T \mu_0 / D_0. \quad (13)$$

如此处理的好处是, 静电力引起的运动可以通过静电电势能值 $U_e = -\tilde{q}\Phi$ 统一到方程(2)中的势能项 U 中, 其中负号“ $-$ ”表示 DNA 分子片段带负电荷.

2.3.2 生物分子的构型熵

以小分子 DNA 片段为例, 一般 500 kB 以下的 dsDNA 分子片段在液体环境中可以简化为杆状结构. 因为分子变形可以忽略, 分子构型空间只包含空间姿态角一项. 在自由液体环境中, 旋转布朗运动使得杆状分子可以任意姿态角度存在, 而且各个角度出现的概率是相同的. 然而在接近固体边界的区域, 因为受到固体边界的约束, 分子只有部分状态是可以实现的. 如图 3 所示, 假设长度为 l_M 的刚性杆的中心位于边界附近点 R , 如果 R 到边界距离 $h < l_M/2$, 只有部分姿态 (图中阴影部分) 是允许的, 其他姿态因为空间限制的原因无法实现. 在无外力作用的热力学平衡状态下, 分子出现在 R 点的概率正比于该点允许状态的数目与总状态数的比值. 此比值描述的恰好是分子出现在 R 处与出现在自由溶液中的概率的比值, 即局部分配系数 $\kappa \equiv \kappa(R)$. 对此我们可以在分子的势能函数 U 中引入一个熵能 $U_S = -k_B T \ln \kappa$. 综合考虑分子构型与边界作用以及分子周围电荷作用后, 代表分子的等效布朗粒子的势能函数为

$$U = U_e + U_S = -\tilde{q}\Phi - k_B T \ln \kappa. \quad (14)$$

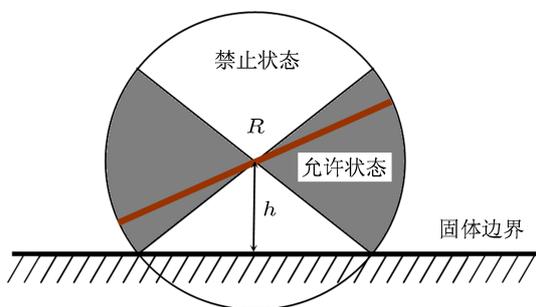


图 3 固体边界附近各向异性分子的姿态受限程度决定分子的构型熵

2.3.3 电渗流

微纳通道固体壁面与电解质溶液接触时会带有一定的表面电荷, 导致电解质溶液中相反离子的数量高于同性离子, 在平行于壁面外电场作用下会产生电渗流. 一般上, 因为固体表面特性和电解质特性非常复杂, 所以德拜长度以及电渗流分布难于精确测定. 幸运的是, 已有研究表明, 如果德拜长度远小于通道尺寸并且电场强度较低时, 电渗流场的分布与电场强度基本一致并且速度正比于外电场强度 $\mathbf{V}_{\text{eof}} \propto \mathbf{E}$. 因此, 对应于分子淌度的定义, 我们可以定义电渗流淌度 $\mu_{\text{eof}} = |\mathbf{V}_{\text{eof}}|/|\mathbf{E}|$, 其中 $|\cdot|$ 表示向量的模. 实验表明, 在通道尺寸为 100 nm 左右, 电渗流的速度和小分子 DNA 片段相对流体的

运动速度基本相当, 在电场方向不变的条件下, 通过改变缓冲液离子浓度来调整电渗流的速度, 可以实现分子相对固体通道正反两个方向的运动.

3 计算实例

作为算例, 本节采用有限差分法求解宏观输运理论控制方程 (7)—(11), 计算长度分别为 50 BP, 150 BP, 300 BP 的 dsDNA 片段组成的混合溶液在图 1 所示的微纳阵列通道中的宏观等效淌度, 预测分离效果.

为了方便起见, 小分子 dsDNA 片段简化为直径为 2 nm 的刚性杆, 其长度 l_m 通过 Krathy-Porod 公式计算^[44]. 虽然 dsDNA 分子的持久长度在一般溶液环境下只有 50 nm (~ 150 BP), 但对于本文所研究的熵受限效应的计算, 将 300 BP (总长度约 100 nm) 的柔性 DNA 分子简化成 76 nm 的刚性杆, 结果基本正确^[3,34]. 一方面, 将柔性杆简化成刚性忽略了分子的变形能力, 会高估分子跨越势垒的时间; 另一方面, 减小杆件的长度, 提高了分子的构型熵, 从而降低了所分子熵受限所形成的势垒, 二者相互抵消, 使得基于刚性简化模型获取的能量分布能够正确反映复杂分子的热力学状态. 小分子 dsDNA 片段在自由溶液中的淌度 μ_0 及扩散系数 D_0 取文献中的估算值^[45,46]. 并据 (13) 式计算等效带电量 \tilde{q} . 注意到 50 BP, 150 BP, 300 BP 分子自由溶液淌度值差别很小, 本文取相同值 $\mu_0 = 3.7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. 微纳通道几何参数为 $d_p = 160 \text{ nm}$, $g_x = g_y = 40 \text{ nm}$, $L = 1120 \text{ nm}$, $W = 640 \text{ nm}$, $n_x = n_y = 3$. 外电场强度 E 的变化范围为 10—300 V/cm. 数值计算方面, 首先将元胞结构划分成间距 2 nm 的网格 (包括中间的固体圆柱障碍区域), 在每个网格节点上采用图 3 所示方法, 并考虑在 z 方向的角度计算分配系数 κ , 通过在通道两端施加压降并求解 $\nabla^2 \Phi = 0$ 获取电势场 Φ . 因为缺乏针对本系统的实际数据, 电渗流的淌度取 $\mu_{\text{eof}} = -2.81 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 此数值为文献中通过比较相似系统计算结果和实验观测数而取得的拟合数据^[34].

图 4(a)—(c) 依次显示 300 BP dsDNA 分子片段在 100 V/cm 外电场作用下的分配系数、电势能、以及总势能 (图中深红色代表最高值, 深蓝色代表最低值). 在固体边界附近, 因为分子构型受到限制, 分配系数明显降低 (见图 4(a)), 因此对应区域的熵

能较高,在叠加电势能(图4(b))之后所形成的总势能场(图4(c))中,固体边界附近以及纳柱中间区域形成了势垒.应用有限差分法求解输运控制方程

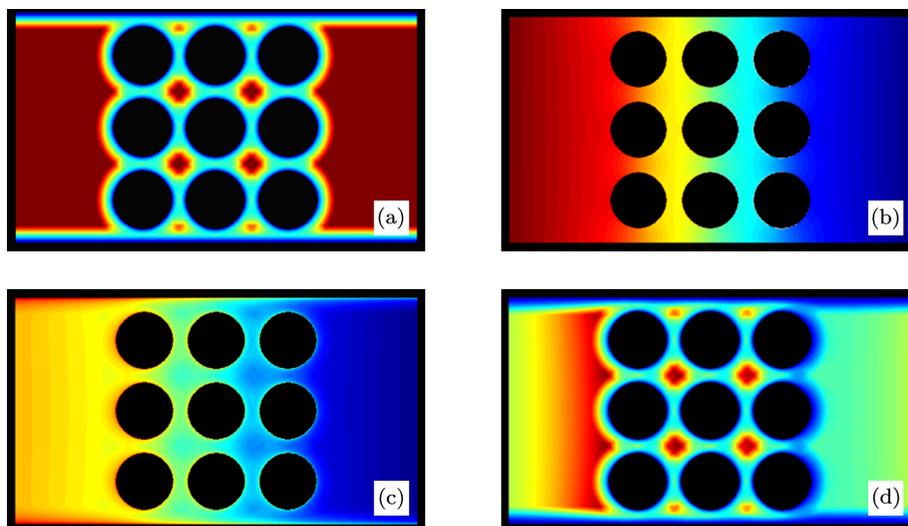


图4 dsDNA 片段元胞内 (a) 分配系数 κ ; (b) 电势能 U_e ; (c) 总势能 U ; (d) 稳态元胞概率密度的分布

根据元胞内分子概率密度分布可进一步求得概率密度流密度函数 \mathbf{J}_0^∞ 以及分子的宏观等效迁移速度 $\bar{\mathbf{V}}^* = (V_x, 0)$ (宏观上分子只是沿着 x 方向运动), 对应的分子的等效淌度为 $\mu_{\text{eff}} = V_x/E$. 归一化淌度, 即等效淌度与生物分子自由溶液淌度的比值 $\mu^* = \mu_{\text{eff}}/\mu_0$, 表达了该分子在纳柱阵列中的迁移受阻程度. 不同分子的 μ^* 值差异越大, 意味着分子分离效果越明显. 图5显示在考虑电渗流的条件下不同分子的归一化淌度随外电场强度的变化曲线. 从该图中可以看出, 分子越大, 分子等效速度越低. 另外, 在低电压作用下, 不同分子的归一化淌度值差别较大, 比如在 10 V/cm 电场强度下, 50 BP, 150 BP 和 300 BP 的归一化淌度值为分别为 0.153, 0.126, 0.100, 最大相差约 53.4%. 相对的, 在 300 V/cm 电场强度下, 50 BP 和 300 BP 分子的淌度差别只有 18.5%. 因此, 从分子运动速度差别的角度, 要取得好的分离结果应该选择较低电压值, 然而低电压意味着低速度, 分子在微纳阵列通道中的逗留时间长, 扩散范围大, 分子浓度低, 不利于分子的收集和后续处理. 另一方面, 在强电场下, 分子运动速度较高, 而且速度差异很小, 也会降低区分度. Fu 等用总长为 1cm 的深浅区域交替阵列通道得到的实验数据表明, 较理想的工作电压范围为 30—100 V/cm^[2]. 虽然目前尚无直接实验数据, 此结果可为同等宏观尺寸的基于纳柱阵列的微纳通道提供参考.

(7)—(11), 可得元胞内分子的稳态概率密度分布 P_0^∞ (图4(d)). 从中可以看出, 大量分子集中在纳柱阵列的前面, 熵受限阻碍分子运动的效果明显.

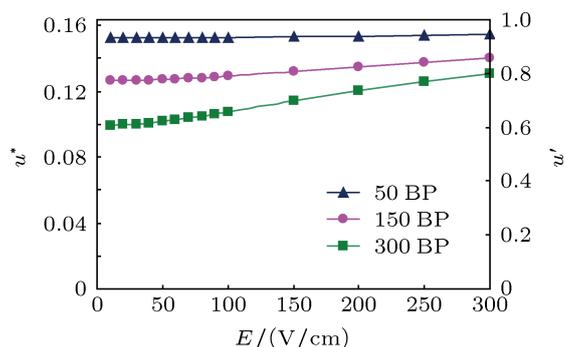


图5 不同长度 dsDNA 片段的淌度随电场强度变化曲线

图5中的数据显示, 分子在纳柱阵列中的淌度只有自由溶液中淌度的 10%—20%, 其主要原因有三个: 1) 电渗流产生的摩擦阻力; 2) 纳柱的存在改变电场分布及分子运行轨迹; 3) 纳柱阵列的熵受限效应. 其中前两项对所有分子(包括无尺寸布朗粒子)的作用相同, 因此对具备相似自由溶液淌度的小分子 DNA 片段的分离没有效果, 只有熵受限效应是不同分子迁移速度差别的唯一决定因素. 实际上, 为了更加清晰的分析熵受限在本系统中的作用, 我们定义相对淌度为 $\mu' = \mu_{\text{eff}}/\mu_{\text{eff}}^B$, 其中 μ_{eff}^B 为具备相同 μ_0 及 D_0 值的无尺寸布朗粒子在相同条件下的等效淌度. 从图5中右侧坐标轴所示数据可以看出, 在低电压条件下, 熵受限使得 300 BP 分子的等效淌度降低约 40%, 而对于 50 BP DNA 分子, 淌度降低只有约 7%. 对于所有 DNA 分子, 随着

电压的增强, 熵受限的作用降低, 分子的淌度值趋向于 1.0, 并且不同分子淌度值差别变小, 因此强电场不利于实现分子分离.

为了进一步说明通道空隙尺寸对分子迁移速度的影响, 我们计算长度为 150 BP (约 43 nm) 的 dsDNA 分子, 在不同尺寸的微纳通道中的等效淌度. 为了便于比较, 我们在保持 $n_x = n_y = 3$, $d_p = 4g_x = 4g_y$ 的条件下改变 g_x, g_y 的值 (L 和 W 的值也相应改变), 这样可以保证孔隙率以及 μ_{eff}^B 值保持不变. 从图 6 所示结果可以看出, 当孔隙尺寸 $g_x = g_y = 60$ nm, 即分子长度的 1.4 倍时, 分子的相对淌度约为 0.9, 熵受限效果尚不明显. 随着孔隙尺寸的降低, 分子的相对淌度也明显降低. 当孔隙尺寸为 10 nm 时, 分子的相对淌度约为 0.35. 另外, 图示三条曲线的接近程度表明, 在较低电压区域, 分子淌度对场强度的敏感程度远远低于通道尺寸, 这也进一步说明了当孔隙尺寸接近或小于分子尺寸时, 熵受限效应对分子迁移运动的决定性作用.

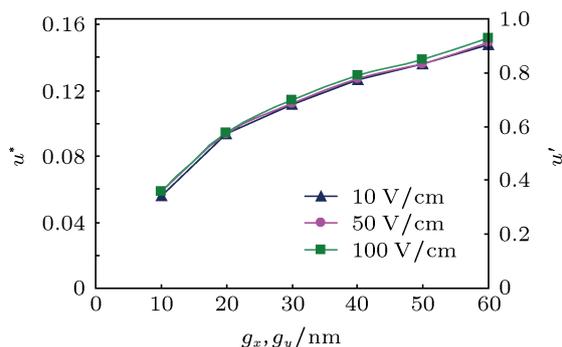


图 6 150 BP dsDNA 片段淌度在不同电场强度下随孔隙尺寸变化曲线

4 结论

本文应用宏观输运理论对各向异性生物分子在周期性纳柱阵列构成的微纳通道中的运动进行理论模型和数值仿真. 通过引入等效电荷数、构型熵等参数将有限尺寸各向异性分子转化成简单布朗粒子. 进而开发宏观输运理论求解周期性孔隙材料中布朗粒子的等效迁移速度的数值算法, 定量研究熵受限对分子在微纳受限空间中运动的影响. 研究表明:

1. 在充分考虑各向异性分子的构型、姿态等信息, 并依据热力学理论将这些信息转化成布朗粒子的势能场的条件下, 连续理论模型能够准确表达分子的宏观迁移行为.

2. 熵受限是实现具有相同的自由溶液淌度值 (比如小分子 DNA 片段) 的分子的分离的主要物理机理. 对于同一阵列通道, 分子越大, 熵受限程度越高, 分子等效迁移速度越小.

3. 熵受限效果随电场强度的增加而减小, 电场强度越高, 不同分子的迁移速度越接近, 因此不利于分子分离. 因此分子分离的工作电场一般应该在 100 V/cm 以下, 与实验观测结果一致.

4. 用宏观输运理论求解粒子在周期性孔隙空间的等效输运参数, 只需求解分子在一个单元内概率分布的稳态问题, 运算量最小, 并且精度最高, 具备明显优势.

本文主要在理论模型和数值方法上解决了各向异性分子或布朗粒子在周期性微纳阵列结构中运动的等效迁移速度的问题, 通过定量分析澄清了熵受限的对分子迁移速度的影响. 然而实际应用中, 分离结果的预测既取决于迁移速度, 也取决于扩散系数, 本文下一步工作将致力于等效扩散系数及分辨率的计算分析, 验证已有一维模型的准确性 [47]. 另外, 本文基于不含两体关联对流扩散方程描述足够稀释的生物分子的迁移问题, 随着分子浓度的增高, 分子间的相互关系主要表现为分子间空间体积排除效应以及静电互斥作用, 因为这两种作用力对分子整体迁移没有贡献, 所以不会对分子迁移速率有明显的贡献. 分子间的互斥作用会增加分子的扩散, 分子越大, 体积排除和静电互斥作用越强, 由此引起的扩散增强效果越明显. Li 等通过计算表明, 在仅仅考虑分子布朗运动引起的热扩散以及不同路径差异引起的 Taylor-Aris 扩散的条件下, 大分子的扩散系数的预测结果明显低于实验测定值 [34], 并且分子越大, 差异越大. 作者相信, 在适当考虑分子间相互作用后, 理论预测和实验观测的匹配程度会有明显的改进. 本文的后续工作中, 作者将研究如何定量分析分子间相互作用对分子扩散系数的影响.

- [1] Han J, Fu J, Schoch R B 2008 *Lab. Chip.* **8** 23
- [2] Fu J, Mao P, Han J 2005 *Appl. Phys. Lett.* **87** 263902
- [3] Fu J, Yoo J, Han J 2006 *Phys. Rev. Lett.* **97** 018103
- [4] Fu J, Schoch R B, Stevens A L, Tannenbaum S R, Han J 2007 *Nat. Nano.* **2** 121
- [5] Mao P, Han J 2009 *Lab. Chip.* **9** 586
- [6] Han J, Turner S W, Craighead H G 1999 *Phys. Rev. Lett.* **83** 1688
- [7] Han J, Craighead H G 2000 *Science* **288** 1026
- [8] Dorfman K D 2010 *Rev. Mod. Phys.* **82** 2903
- [9] Stein D, Kruihof M, Dekker C 2004 *Phys. Rev. Lett.* **93** 035901
- [10] Gao L, Wu J, Gao D, Wu J 2007 *Appl. Phys. Lett.* **91** 113902
- [11] Wu J, Zhao S L, Gao L, Wu J, Gao D 2011 *Lab. Chip* **11** 4036
- [12] Wu J, Zhao S L, Gao L, Wu J, Gao D 2013 *J. Phys. Chem. B* **117** 2267
- [13] Fang Z L, Fang Q 2001 *Mod. Sci. Instrum.* **4** 3 (in Chinese) [方肇伦, 方群 2001 现代科学仪器 **4** 3]
- [14] Lin B C, Qin J H 2005 *Chinese J. Chromatogr.* **23** 456 (in Chinese) [林炳承, 秦建华 2005 色谱 **23** 456]
- [15] Qin J H, Feng Y S, Lin B C 2003 *Chinese J. Chromatogr.* **21** 464 (in Chinese) [秦建华, 冯应升, 林炳承 2003 色谱 **21** 464]
- [16] Zhang Z X, Shen Z, Zhao H, Li B, Song S P, Hu J, Lin B C, Li M Q 2005 *Acta. Chim. Sin.* **63** 1743 (in Chinese) [张志祥, 沈铮, 赵辉, 李宾, 宋世平, 胡钧, 林炳承, 李民乾 2005 化学学报 **63** 1743]
- [17] Zhou X M, Li D Z, Shen Z, Liu W, Li G R, Lin B C 2005 *Chem. J. Chinese. U.* **26** 1252 (in Chinese) [周小棉, 李大志, 沈铮, 刘伟, 李桂茹, 林炳承 2005 高等学校化学学报 **26** 1252]
- [18] Yao B, He Q H, Du W B, Shi X T, Fang Q 2009 *Chinese J. Chromatogr.* **27** 662 (in Chinese) [姚波, 何巧红, 杜文斌, 石晓彤, 方群 2009 色谱 **27** 662]
- [19] Rodbard D, Chrambach A 1970 *Proc. Nat. Acad. Sci.* **65** 970
- [20] Zhang J L, Jiang J G, Jiang X G, Huang Y N 2007 *Acta Phys. Sin.* **56** 5088 (in Chinese) [张晋鲁, 蒋建国, 蒋新革, 黄以能 2007 物理学报 **56** 5088]
- [21] Jiang S C, Zhang L X, Xia A C, Chen H P, Cheng J 2010 *Chin. Phys. B* **19** 018106
- [22] Cao X Z, Merlitz H, Sommer J U, Wu C X 2012 *Chin. Phys. B* **21** 118202
- [23] Fayad G N, Hadjicostantinou N G 2010 *Microfluid. Nanofluid.* **8** 521
- [24] Li H X, Qiang HF 2009 *Adv. Mech.* **39** 165 (in Chinese) [李红霞, 强洪夫 2009 力学进展 **39** 165]
- [25] Zhou L W, Liu M B, Chang J Z 2012 *Acta Polym. Sin.* **7** 720 (in Chinese) [周吕文, 刘谋斌, 常建忠 2012 高分子学报 **7** 720]
- [26] Chen S, Shang Z, Zhao Y, Wang D 2010 *J. Tongji Univ. (Nat. Sci.)* **38** 767 (in Chinese) [陈硕, 尚智, 赵岩, 王丹 2010 同济大学学报 (自然科学版) **38** 767]
- [27] Xu S F, Wang J G 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 124701 (in Chinese) [许少锋, 汪久根 2013 物理学报 **62** 124701]
- [28] Wang Y, Xie Y J, Yang H Y, Zhang X Y 2010 *Chinese J. Chem. Phys.* **3** 313 (in Chinese) [王瑶, 谢永军, 杨海洋, 张兴元 2010 化学物理学报 **3** 313]
- [29] Xie Y J, Shi Q W, Wang X P, Zhu P P, Yang H Y, Zhang X Y 2005 *Acta Phys. Sin.* **53** 2796 (in Chinese) [谢永军, 石勤伟, 王晓平, 朱平平, 杨海洋, 张兴元 2005 物理学报 **53** 2796]
- [30] Su J Y, Zhang L X 2008 *Chin. Phys. B* **17** 3115
- [31] Xu L M, He L L, Cheng J 2011 *J. Zhejiang Univ. (Sci. Edn.)* **5** 009 (in Chinese) [徐李梅, 何林李, 成军 2011 浙江大学学报 (理学版) **5** 009]
- [32] Allison S A, Li Z, Reed D, Stellwagen N C 2002 *Electrophoresis* **23** 2678
- [33] Gao H L, Zhou K L, Wang C, Li S J, Zhang H, Xia X H 2012 *Electrochemistry* **18** 229 (in Chinese) [高红丽, 周凯琳, 王琛, 李素娟, 章慧, 夏兴华 2012 电化学 **18** 229]
- [34] Li Z R, Liu G R, Chen Y Z, Wang J S, Bow H, Cheng Y, Han J 2008 *Electrophoresis* **29** 329
- [35] Li Z R, Liu G R, Han J, Cheng Y, Chen Y Z, Wang J S, Hadjicostantinou N G 2009 *Phys. Rev. E* **80** 041911
- [36] Brenner H, Edwards D 1993 *Macrotransport Processes* (Boston MA: Butterworth Heinemann) p1
- [37] Dorfman K D, Brenner H 2002 *Phys. Rev. E* **65** 021103
- [38] Yariv E, Dorfman K D 2007 *Phys. Fluids.* **19** 037101
- [39] Dorfman K D 2010 *Chem. Eng. Commu.* **197** 39
- [40] Wang X, Drazer G 2009 *Phys. Fluids.* **21** 102002
- [41] Bernate J A, Drazer G 2011 *J. Colloid. Interface. Sci.* **356** 341
- [42] Li Z R, Liu G R, Han J, Chen Y Z, Wang J S, Hadjicostantinou N G 2009 *Anal. Bioanal. Chem.* **34** 427
- [43] Berg H C 1993 *Random walks in biology* (Princeton: Princeton University Press) p1
- [44] Rubenstein M, Colby R H 2003 *Polymer Physics* (New York: Oxford University Press) p1
- [45] Stellwagen N C, Gelfi C, Righetti P G 1997 *Biopolymers* **42** 687
- [46] Tirado M M, Martinez C L, Garcia de la Torre J J 1984 *Chem. Phys.* **81** 2047
- [47] Li Z R, Liu G R, Hadjicostantinou N G, Han J, Wang J S, Chen Y Z 2011 *Electrophoresis* **32** 506

Macrotransport analysis of effective mobility of biomolecules in periodic nano-filter polar arrays*

Li Zi-Rui^{1)†} Liao Ning-Bo¹⁾ Zhou Yu-Qing¹⁾ Xue Wei¹⁾ Liu Mou-Bin^{2)‡}

1) (College of Mechanical and Electrical Engineering, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China)

2) (Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

(Received 22 June 2013; revised manuscript received 19 July 2013)

Abstract

Transport of anisotropic biomolecules and/or charged Brownian particles in periodic porous media is of great importance in the fields of biomedicine, water treatment, and environmental engineering etc. In this paper, we present the modeling of transport of biomolecules in periodic polar arrays based on a numerical analysis of effective mobility. Anisotropic biomolecules are transformed to point-sized Brownian particles through introduction of configurational entropy, and the effective charge and effective transport parameters are calculated using macrotransport theory. As an example, the mobility of short dsDNA fragments in a nano-polar array is calculated. It is demonstrated that when the sizes of the gaps between the nano-poles are similar to or smaller than the size of biomolecules, the configurational entropy has a significant effect on the effective velocity. Difference in configurational entropy in the confined space dominates the partitioning of the molecules. In addition, as the effect of entropic barrier decreases with the strength of external electric field, relatively low voltage is preferred in order to achieve better selectivity.

Keywords: biomolecular separation, configurational entropy, nanofilter array, macrotransport

PACS: 87.15.Tt, 87.16.dp

DOI: 10.7498/aps.62.218701

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 11372229).

† Corresponding author. E-mail: lizirui@gmail.com

‡ Corresponding author. E-mail: liumoubin@imech.ac.cn