

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 13/16

G01B 7/34

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96107366.7

[45] 授权公告日 2002 年 4 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1083105C

[22] 申请日 1996.2.15 [24] 颁证日 2002.4.17

[21] 申请号 96107366.7

[30] 优先权

[32] 1995.2.15 [33] DE [31] 19504855.5

[73] 专利权人 BASF 公司

地址 联邦德国路德维希港

[72] 发明人 D·霍恩 H·凯勒 W·施列普

S·阿卡里

审查员 田金涛

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

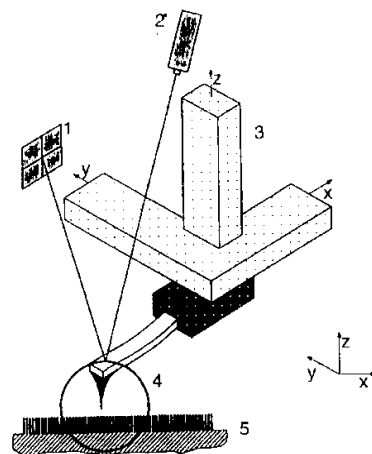
代理人 王景朝

权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图页数 7 页

[54] 发明名称 利用扫描原子力显微镜的化学鉴别成象

[57] 摘要

本发明涉及一种利用化学改性探针借助扫描原子力显微镜的化学鉴别成像法,在其中成像是按法向力模式、弹性模式、搭接模式或非接触模式进行的。



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

权 利 要 求 书

1. 一种借助扫描原子力显微镜、使用化学改性探针进行化学鉴别成像的方法,在该方法中,用作探针的化学改性的尖头以恒定的斥力在待成象的表面上方移动,尖头与表面之间的距离在范德华斥力区域内,斥力由压电调节器保持恒定,其中化学改性的尖头直接地,或在涂敷金属或氧化物层之后,涂敷至少一种与待分析表面具有选择性相互作用的物质,尖头改性物质是一种具有附加酸或碱官能团的硫醇、具有附加核酸的碱基官能团的硫醇、具有附加酸或碱官能团的二硫化物或具有附加核酸的碱基官能团的二硫化物,并且成象以法线力模式、弹性模式、搭接模式或非接触模式进行,得到待分析表面的化学组成的二维、放大的图象。

2. 一种借助扫描原子力显微镜、使用化学改性探针进行化学鉴别成像的方法,在该方法中,用作化学改性探针的尖头以恒定的斥力在待成象的表面上方移动,尖头与表面之间的距离在范德华斥力区域内,斥力由压电调节器保持恒定,其中化学改性的尖头用聚阴离子、有机或无机酸、有机或无机碱、路易斯酸涂敷,酸或碱也可以是聚合物形式,并且成象以法线力模式、弹性模式、搭接模式或非接触模式进行,得到待分析表面的化学组成的二维、放大的图象。

3. 根据权利要求 1 或 2 的方法,其中成象在有机溶剂、水中或在生理学状态下进行。

4. 前述权利要求之一的方法在对工艺表面成象中的应用。

5. 权利要求 1-3 中任一项的方法在对具有粘性的物质表面成象中的应用。

6. 权利要求 1-3 中任一项的方法在对生物样品成

象中的应用。

7. 权利要求 1-3 中任一项的方法在筛选或大批量筛选活性组分中的应用。

8. 权利要求 1-3 中任一项的方法在储存和读出信息中的应用。

说 明 书

利用扫描原子力显微镜 的化学鉴别成象

本发明涉及利用化学改性的探针借助扫描原子力显微镜的化学鉴别成象的方法。

由于 Binning 和 Rohrer 发明了扫描调谐显微镜 (参考 G. Binning, H. Rohrer, C. Gerber and E. Weibel, Phys. Rev. Lett. 49(1982)57], 使人们有可能在标准实验室条件下以原子分辨率获得导电表面的外貌(凹凸)像。过了四年以后(参考 G. Binning, C. F. Quate and C. Gerber, Phys. Rev. Lett. 56(1986)930)发现了一个新的方法, 该方法可以利用扫描原子力显微镜以类似的分辨率分析非电导样品。

按照扫描原子力显微镜的正规模式(见图 1)在恒定的斥力下使一个接合到一个悬臂上的硅或氮化硅尖头紧靠整个样品上面移动。所加的负荷力通过在悬臂上偏转间接设定, 该偏转借助一种光指示器测量。如果该尖端碰到一个升起的点, 则距样品表面的距离减少。可是, 因为在这种接近过程中范德华斥力增加, 所以借助压电晶体调节器向后移动样品可以使原来的斥力恢复。利用来自压电调节器的控制信号再现处在分析状态下的样品的外貌像。通过调制悬臂甚至可以有效地研究软的或粘的样品。两种可能的方法分别称为搭接和非接触模式。在搭接模式下, 调制频率是在悬臂的共

振频率范围(通常为300至500KHZ),振幅为从约50至约200nm,简单地说就是使样品表面与尖头接触。对于非接触模式的操作数据为:调制频率100至200KHZ,振幅1nm左右,在这个方法中根本不与样品接触。

扫描原子力显微镜的缺点在于:至今仍不能获得与表面的化学性质有关的图像。通过特殊的调制技术使该扫描原子力显微镜的性能获得某种程度的改进,可以使在表面上的硬/软的差异(弹性模式)和在摩擦行为下的对比度的差异(在测量悬臂偏转的使用的横向力模式下,)显示出来(参阅L.F. Chi, M Anders, H. Fuchs, R. R. Johnston和H.Ringsdorf. Science 259(1993)213)。

目前配位基一受体对之间的识别也有报导(参阅E.F.Tlorin, V .T.Moy 和H.E.Gaub, Science 264(1994)415)。

利用扫描原子力显微镜仍不能检测在表面上的化学性质有差别的区。最近由C.D.Frisbie, L.F.Rozsnyai, A.Noy, M.S.Wrighton 和Lieber 在 Science 265(1994)207上发表了一个局部解决方案。其中所描述的试验采用一个在一整个化学构成型表面上移动的化学改性的尖头。利用横向力模式把以甲基和以酸为端基的部分区分开,该对比机理起因于疏水作用。

本发明的目的在于提供一种利用化学改性的探针并且不必利用横向力模式借助扫描原子力显微镜的化学鉴别成象方法。

我们已经发现,这个目的可以借助于利用化学改性探针借助扫描原子力显微镜的化学鉴别成象法达到。该方法包括按照法向力模式、弹性模式、搭接模或非接触模式进行成像。

这种方法还适合用于对工艺表面(例如粗糙的或粘的表面,具

有粘性的物质表面)成像,适合存储和读出信息,还适合用于对生物样品成象,例如定序蛋白质分子,DNA 和 RNA 分子(核武酸)。

在这种新方法的有益实施例中,是在用作化学改性探针的扫描原子力显微镜尖头上直接地或者在涂上一层金属或氧化物层以后涂上一层或几种与待分析表面具有选择性相互作用的物质。该尖头改性物质可以是一种具有附加酸或碱官能团的硫醇,具有附加核酸的碱基官能团的硫醇、具有附加酸或碱官能团的二硫化物,具有附加核酸的碱基官能团的二硫化物,具有附加酸或碱官能团的硅烷或具有附加核酸的碱基官能团的硅烷。

在该新颖方法的另一个有益的实施例中,用聚阳离子、聚阴离子、有机或无机酸、有机或无机碱、路易斯(Lewis)酸或路易斯(Lewis)碱涂敷该扫描原子力显微镜的尖头,其中酸或碱还可以是聚合形式的。

令人预想不到的是业已发现即使按照上述的法向模式(即在记录外貌期间)也可以达到借助扫描原子力显微镜完成化学成象的目的。法向力模式的优点在于不需要附加的设备(实际上为了该模式安装了所有的设备)和通常在该模式下达到最大的横向分辨率。

化学成象的自动也可以在弹性,搭接或非接触方式下利用改性尖头达到。

图 1 是本发明的扫描原子力显微镜的原理示意图;通过光指示器测量由外貌引起的摇臂的偏转;

在图 1 中,不同的数字表示不同的器件 1. 检测器, 2. 激光源, 3. 压电晶体调解器, 4. 尖头和摇臂, 5. 待分析样品。

图 2 借助从液相中吸附的方式涂敷的尖头。

由于硫醇其对金的亲合力, 酸基是在外侧, 即存在一种适合于

例如检测碱基或氢键的"酸尖头"。

4和5与图1中的含义相同,6是蒸镀的金层,7是作为选择层的硫醇羧酸,8是,选择反应的指示剂

图3,是具有包含氨或甲基基团区的类似棋盘的模型表面。

5与图1的含义相同,9是亲水层(在此是三甲氧基丙基氨基硅烷).10.是疏水层(三甲氧基丁基硅烷),11硅掩模。

图4示出了利用未改进的尖头在扫描原子力显微镜正常模式下的样品像;

因为样品实际上根本无高度差,只有化学组成的差,在这个纯的外貌像中没有对比度的差别。除了一些缺陷外,表面看上去光滑,化学上的差别不能成像。

图5示出用涂敷的尖头产生的样品像。

在此情况下,与样品的各个区的特定反应意味着可以按法向力模式形成像。根据样品化学组成的不同可以获得不同的对比度,从而可以获得表面化学结构的像。

图6是带有很薄聚合物涂料的头发表面的像;

在图像中的中心可以看到聚合物涂层,如果不用涂敷的尖头不可能直接检测该聚合物。

图7示出了用高分子电解质涂敷的聚乙烯亚胺的聚苯乙烯胶乳球的涂层。

被涂敷的尖头可以检聚合物涂料,由于在胶乳球表面上隆起可以检查出该聚乙烯亚胺聚合物。

下面通过例子说明这种新的方法。

例如,以下的程序可以依次进行: 在氮化硅尖头上用气相沉积

法(等于从液相中吸附,参考H.Keller,W.Schrepp and H. Fuchs, Thin Solid Films 210/211(1992) 799,见图2)涂金并且用自组合法涂上一层硫代羧酸。把这个改性的尖头用作特种探针。例如按照下述方法,生产模型样品:用三甲氧基丁基硅烷涂敷掩模。通过将掩模压在衬底上按照一个棋盘图形形成包含甲基端基的区域。通过冲洗去掉多余的分子层,只在表面上留下单层硅烷。通过加热完成在衬底上的共价固定,通过把大致单层的局部涂敷过的衬底浸到氨基丙基三甲氧基硅烷的稀释溶液中,通过在上面形成以氨基为端基的表面的方法,借助吸附作用涂敷尚未涂敷的区域,即该待分析样品是一个具有相邻高度差,但没有外貌差的以氨基和甲基为端基的单层的类似棋盘的图形(见图3)。

用传统的未改性的尖头在法向力模式下对上述的产物样品进行分析所获得的样品在外貌图像上只显示出一个光滑的表面(见图4);在该样品的图像中不饱含任何高度差,也没明显地显示出任何结构。

与此相反,利用改性的尖头,即使在法向力模式下,也能显示出样品的结构(参见图5)。

此外,还意想不到的发现,把这种新方法用于分析相当粗糙的甚至工业样品效果也很好。作为一个例子,图6示出用调节剂处理然后冲洗的头发的表面。在某些情况下,即使在湿的状态下对该头发进行梳理,其上面也仍保留一层很薄的聚合物层。用未改性的尖头进行分析实际上不能显示出聚合物层,但是,当采用改性的尖头时,就可以清楚显示出该聚合物涂层。

当然,用类似分析头发的方式,还可以就表面成分、辅助剂涂

层、预处理(例如按尺寸进行预处理) 等对织物领域内的其他的天然和合成纤维进行分析。

工艺有机的和无机的表面上的聚合物辅助剂的吸附状态的特性鉴定在生产上是相当重要的。在这个领域里,例如对于沉积、絮凝和薄层辅助剂或抗腐蚀成分来说,对于具有化学差异的表面上的非常薄的聚合物涂层的高分辨率检测相当重要。图7中示出了这方面的一个例子。模型系统在这里是涂有高分子电解质(在这里是聚乙烯亚胺)的聚苯乙烯/胶乳小球的涂层。该聚乙烯小球的点状涂层清楚可见。

这种用于区分各种化学物质的新方法也可用在数据存储领域,如果采用传统的化学或物理步骤来保证在样品表面上产生化学不均匀性,则可以借助上述方法读出这种化学不均匀性。可以进行信息写入,即在这种情况下例如借助光、电子束或离子束等手段使表面发生化学改性。也可以借助扫描探针方法本身写入信息,例如加一个电压脉冲或通过催化反应。

利用这种新方法还可以读出借助光(例如利用铈盐) 写到母料聚合物中的信息。

利用这种新方法可以解决在表面上各种物质检测上的许多问题,因为这种方法对于检测表面上的分子和表面结构来说是非常灵敏(甚至在子单层区中)并且分辨率也很高(达到原子级)。这些待检测的表面包括通常已具有促进附着作用的物质的塑性表面,例如为了达到比较好的附着效果,这种附着物质在该表面上的分布对附着效果是有重要影响的。润滑剂和抗氧化剂在这也是重要的。在聚合物混合物中,不仅主成分的分布,即形态,是重要的,而且辅助

成分,例如相容剂、引发剂等,的分布也很重要。

这些问题对于聚合物的弥散也是特别重要的,其中弥散颗粒的结构,在表面上和在横剖面上(当分析剖面表面时)的各种组分的分布或辅助剂例如乳化剂的分布也是重要的。

在泡沫材料领域中,可以分析在孔隙之间的骨架上或在壳层上的辅助剂的分布。

在催化剂领域中,分析主要针对表面上的各种催化剂成分的分布。有时可能还要检测中毒现象。

带有例如专门为了改变晶体晶形的辅助剂的染料表面的涂层是相当重要的,该涂层可以利用改进的尖头进行达到分子水平的高分辨率分析。用同样的方法还可以借助于检测流动控制剂来分析油漆表面、检查油漆表面的微观结构、研究缺陷例如蚀坑、风化的原因等。还可以研究辅助剂、漆原材料等在皮革上的分布。同样的方法可以在印刷系统中应用,其中,例如(可以研究)亲油区在印刷板的表面上的分布,也可以研究印刷墨,在例如纸的表面上分布。在与有机物或无机物表面上的腐蚀现象有关的方面进行研究也成为可能的,因为这些研究导致了表面组成的改性,而这种改性的表面组成可以通过利用改性的尖头进行扫描来分析。

其他可能的应用的范围是在生物学和医药学领域,其中可以借助用活性组分标记的尖头确定受体格点在生物结构中的位置。本发明还可以用于借助专性的相互作用检测在生物结构(例如细胞或染色体)之上和之中的生物学相关区。可以检测的相互作用包括(例如)基因/抗原相互作用或蛋白质和低分子量活性组分,低聚糖或多糖,类脂、DNA、RNA和蛋白质平身之间的一般的相互作用。为了

检测和成象,还可以利用外源凝集素所经历过的相互作用,特别是在植物学领域。

由于对相互作用的检测,这种新的方法通常可以用于活性组分方面的筛选或者甚至是大批量筛选。这通常需要固定适当的受体结构或靶,这种作用可以用有活性组分标记的尖头扫描。这就产生了一幅相互作用图象。反过来,把受体涂到尖头上,同时将活性组分固定也是可以的。在作物保护方面,也可以检测叶子上或植物或植物构成部分之上或之中的作物保护剂。

还可以对例如通过适合的碱基把DNA或RNA链进行的排序成像。

同样可以在溶剂中,在水中或在生理学状态下成像。

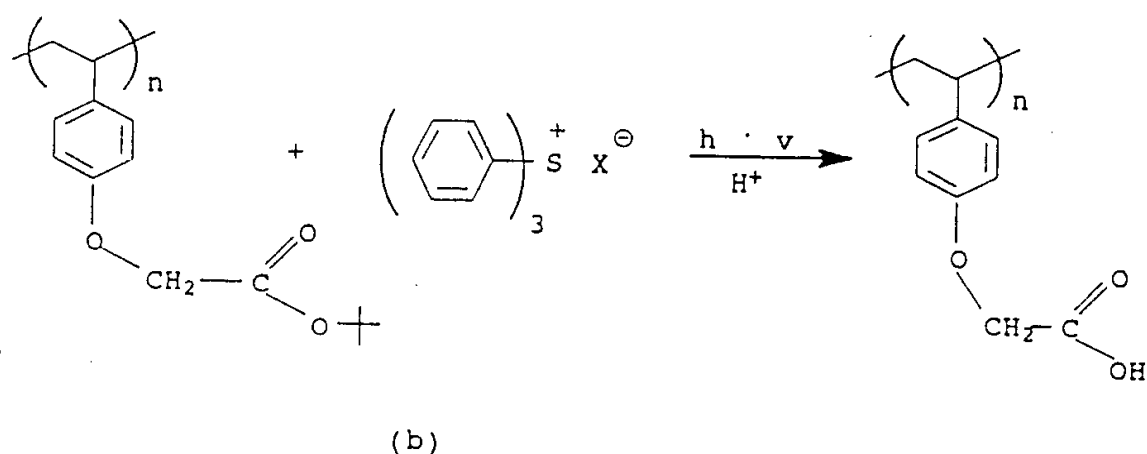
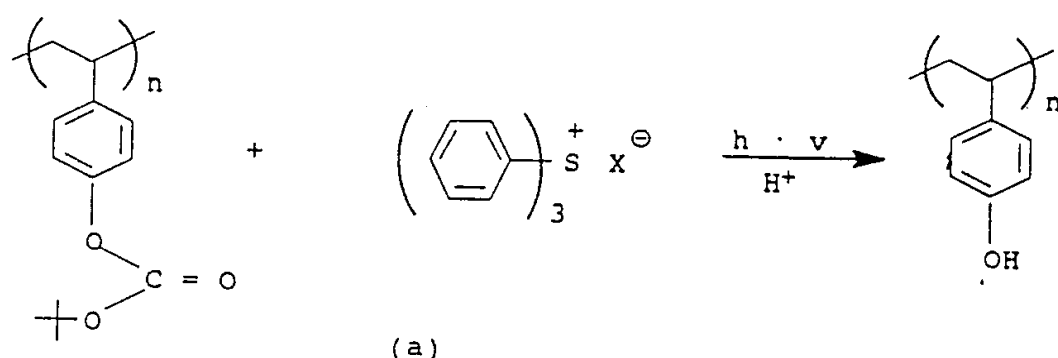
尖头的涂层并非必须按照所述方法进行,其宗旨只不过是确定一种或几种物质的应用罢了。例如,可以将以下过程成像,即可以直接涂敷氮化硅、二氧化硅或硅尖头而无需金属中间层。例如硅烷类适合于这种用途。还可以利用真空工艺[简单的汽相沉积或化学的或物理的汽相沉积(CVD 或PVD)]等涂敷尖头。也可以使用Langmuir-Blodgett工艺涂敷。在这种情况下,具体讲也可以涂敷由一系列物质构成的混合层。也可以固定其他的测试物体,例如胶乳球。可以从粘合区开始固定若干层,然后这样研究该涂敷区中的性质。

涂层的厚度可以薄到单层区,这样便可以以各种方式制备改进的尖头。

除了在Science 265(1994)207中提及的疏水作用之外,实际上可成像的相互作用力在原则上适合用于化学的空间分辨成像。如

图5中的例子所示那样,可以利用酸/碱反应。按相同的方式,当相互作用可以引起电荷转移跃迁时,如果对尖端进行了适当的改进,就可以利用静电、共价、弥散等相互作用力。对本发明的目的来说,为了成像,还可以利用形成氢键和供体/受体相互作用。

一个把这个新方法用于存储和读信息的可以提及的例子是利用光写入信息。在这种情况下,可以将以借助于酸标记基(例如借助于叔丁氧基羰基或叔丁氧基乙氧基改性的乙烯基苯酚单元)改性的以聚-对-羟基苯乙烯为主成分的母体聚合物同铈盐的混合物以成像方式暴露于紫外辐射下。根据本文的反应式(a)和(b),在曝光区形成酸基,而后可以利用所述新方法将其读出。



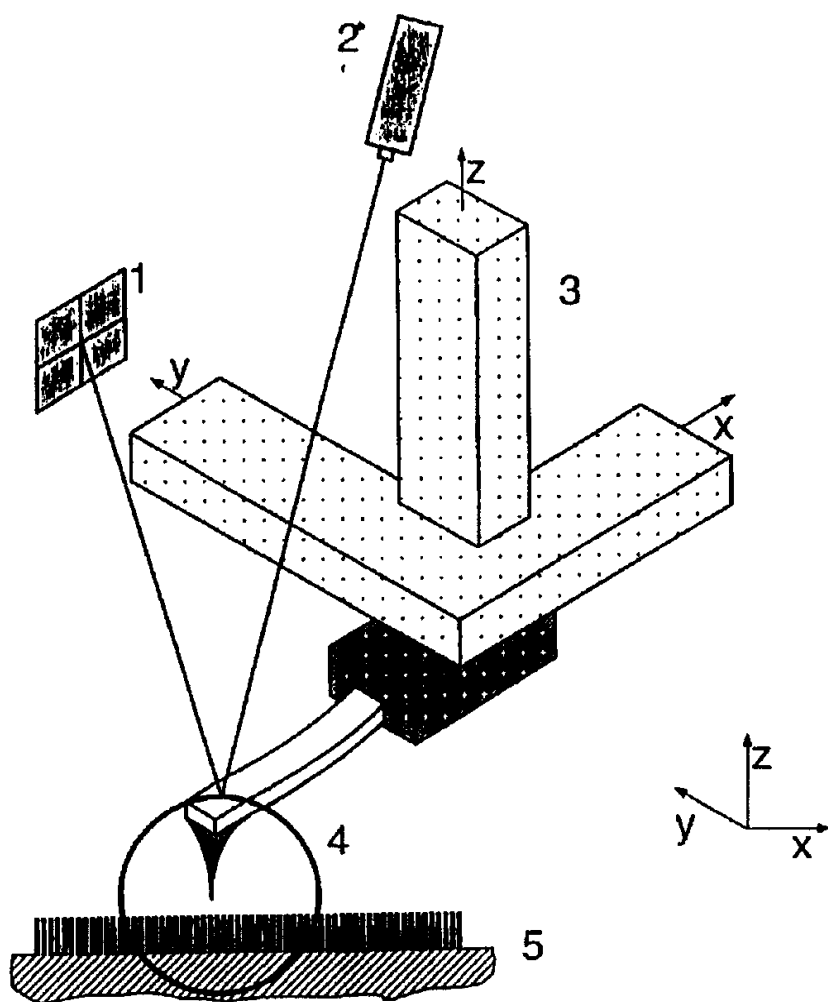


图 1

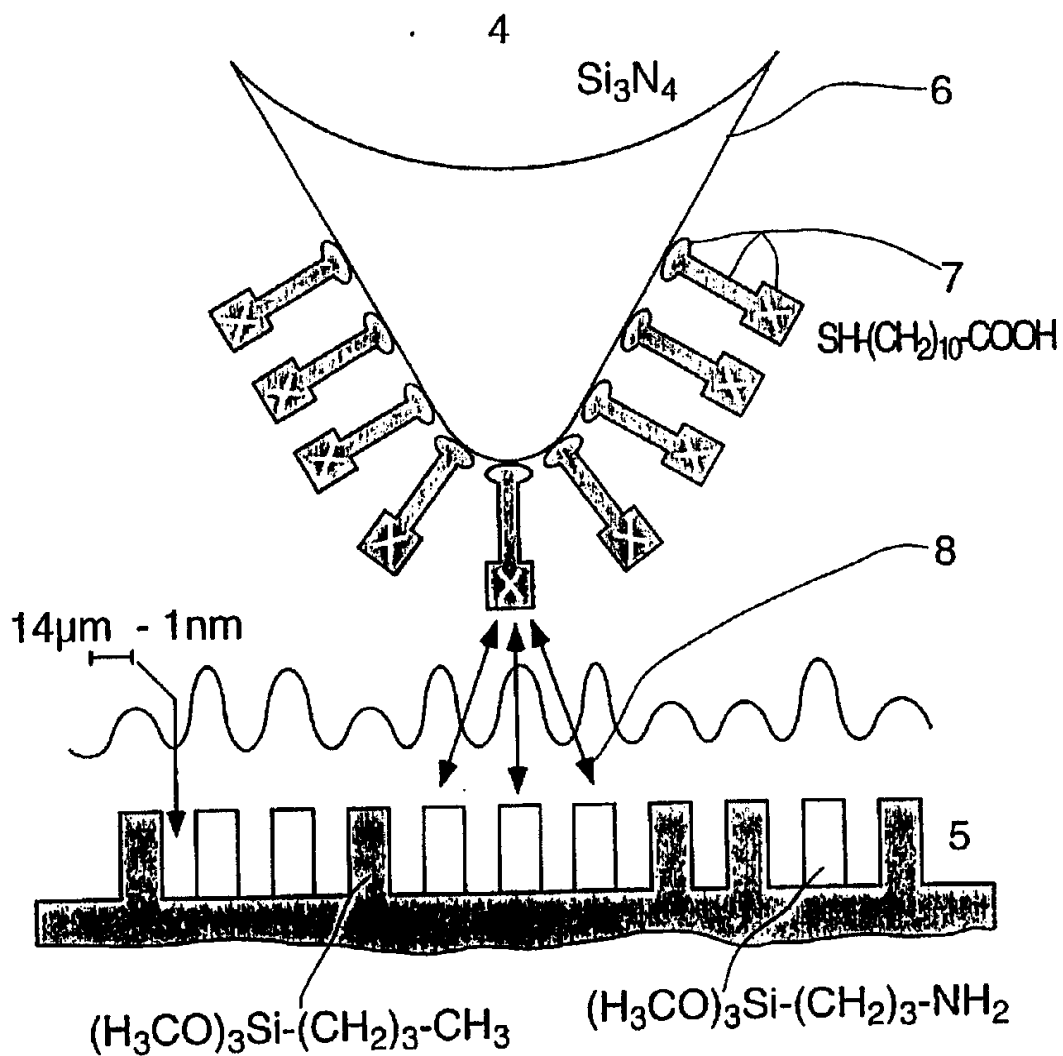


图 2

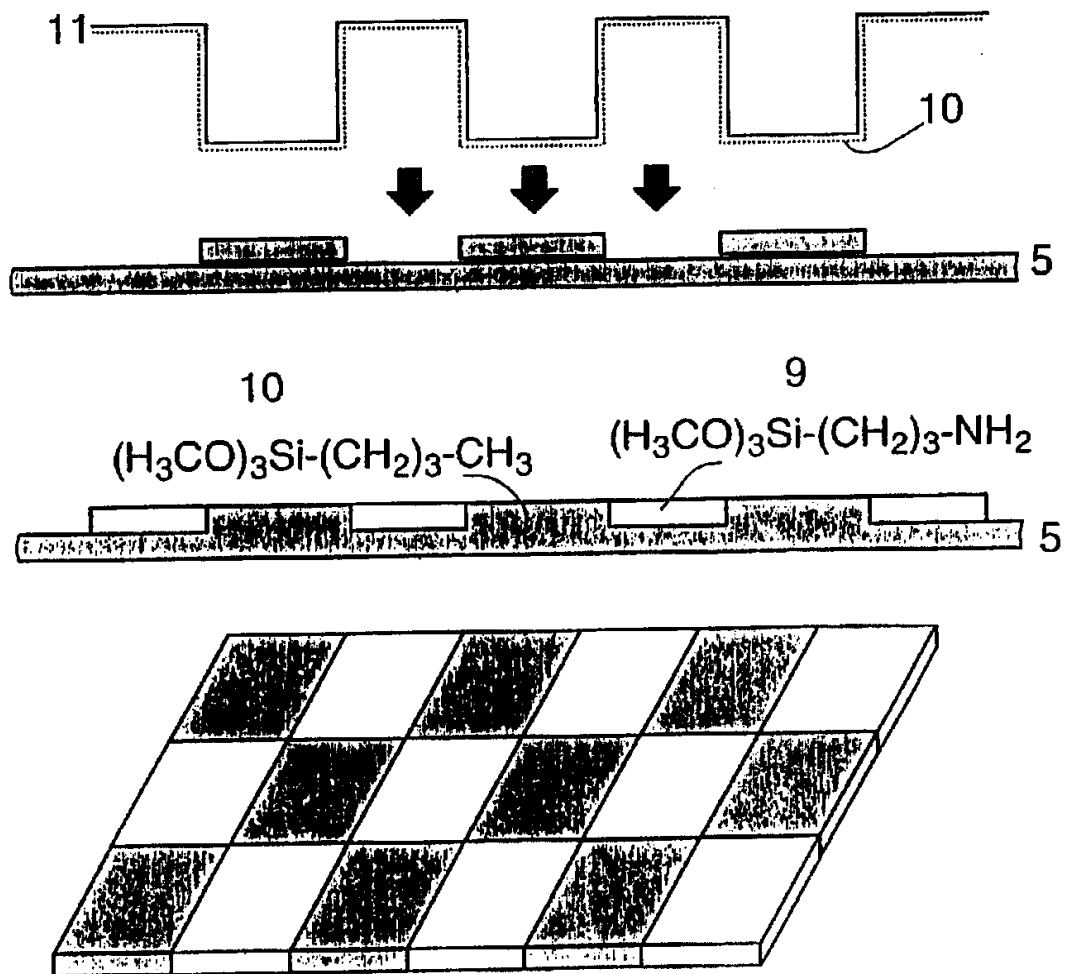


图 3

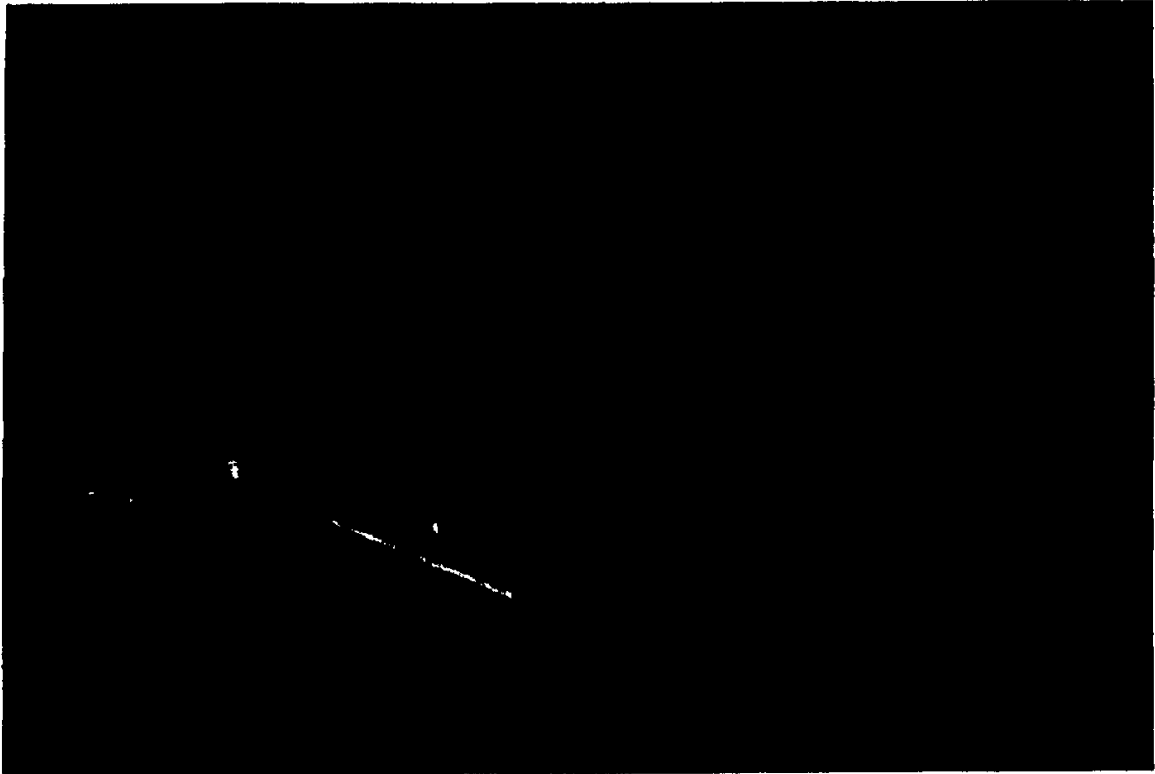


图 4

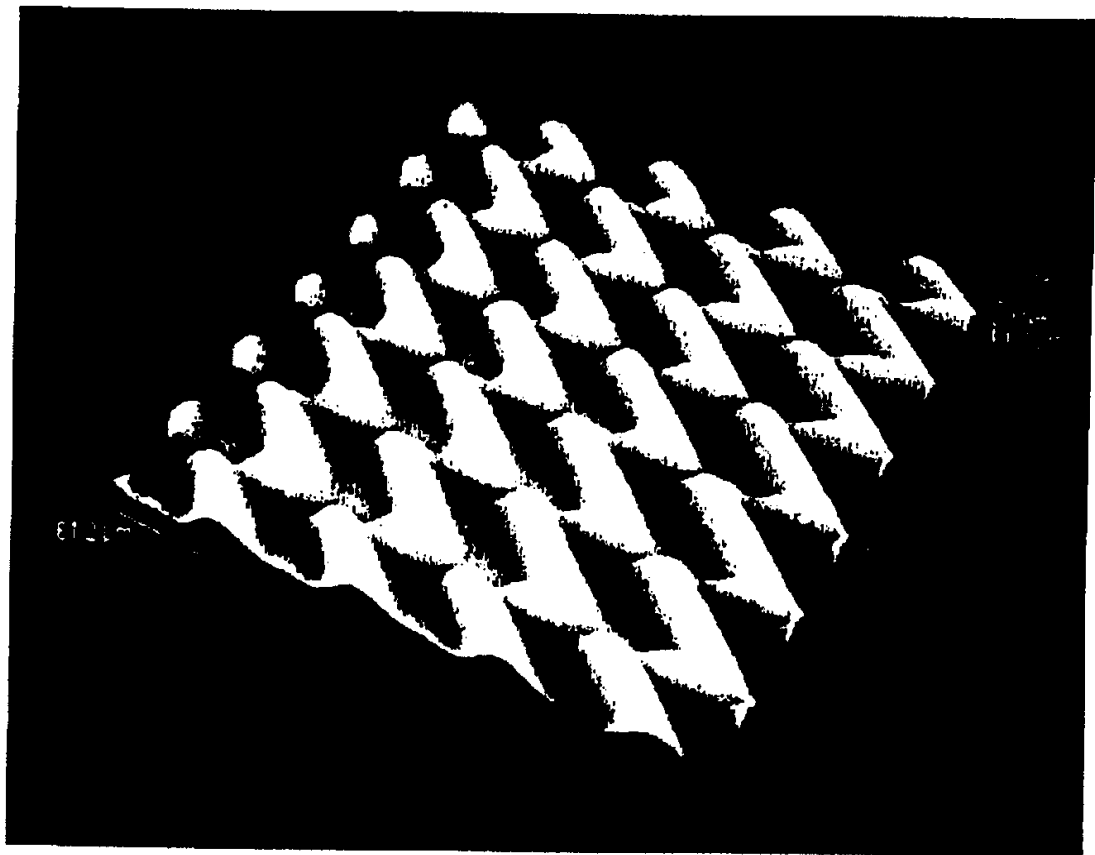


图 5

00.00

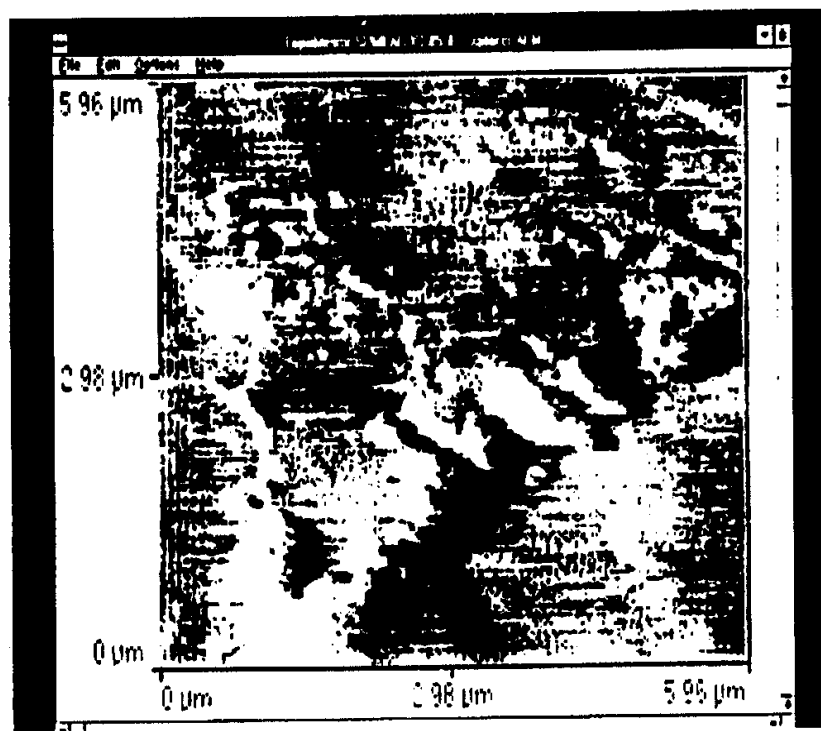


图 6

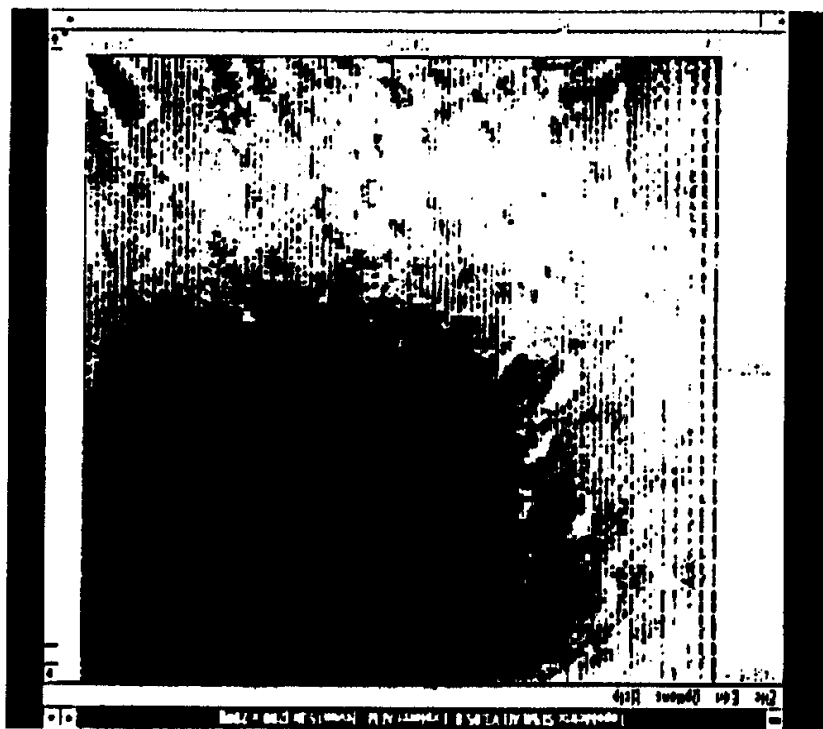


图 7