

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101203740 B

(45) 授权公告日 2011.03.23

(21) 申请号 200680020157.4

代理人 刘冬 李炳爱

(22) 申请日 2006.04.06

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

60/668,632 2005.04.06 US

60/688,799 2005.06.09 US

60/727,603 2005.10.18 US

G01N 15/12 (2006.01)

G01N 27/447 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

审查员 葛佳佳

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007.12.06

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2006/012800 2006.04.06

(87) PCT申请的公布数据

W02007/084163 EN 2007.07.26

(73) 专利权人 哈佛大学校长及研究员协会

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 J·戈洛夫琴科 D·布兰顿

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

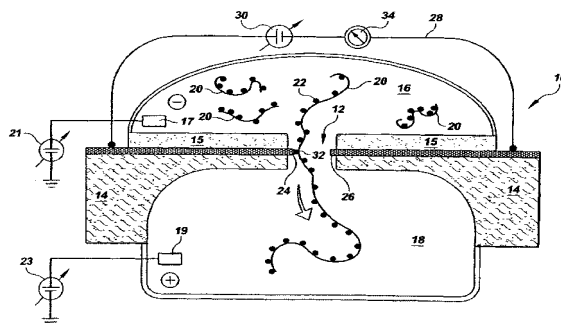
权利要求书 4 页 说明书 24 页 附图 13 页

(54) 发明名称

用碳纳米管控制的分子鉴定

(57) 摘要

提供了盛有包含待鉴定的分子的溶液的第一贮液池和盛有包含已进行鉴定分子的溶液的第二贮液池。提供了包括有孔的固体支撑结构,所述孔具有提供与第一贮液池液体连接的分子入口和提供与第二贮液池液体连接的分子出口。第一和第二电子转运探针每个都安置在支撑结构上并且具有邻接孔周边的表面。至少一个探针包含有富勒烯结构,如碳纳米管。电压源连接在两个探针间,以提供跨孔偏压。电流监控器连接在两个探针间,用以监控与分子移位穿过孔相对应的在探针间的电子转运的变化。



1. 一种分子鉴定装置,包含:
第一贮液池,盛有包含待鉴定分子的溶液;
第二贮液池,盛有包含已鉴定分子的溶液;
固体支撑结构,包括有孔,所述孔具有提供与第一贮液池液体连接的分子入口和提供与第二贮液池液体连接的分子出口;
第一和第二电子转运探针,至少一个探针含有富勒烯结构,每个探针都安置在支撑结构上并且具有邻接孔周边的表面;
连接在探针间,跨越孔施加偏压的电压源;和
连接在探针间的电流监控器,用以监控与分子移位穿过孔相对应的探针间电子转运的变化。
2. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中待鉴定的分子包含生物分子。
3. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中的分子包含聚合物分子。
4. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中的分子包含生物聚合物分子。
5. 权利要求 4 的分子鉴定装置,其中的分子选自蛋白质、多核酸、DNA 和 RNA。
6. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中待鉴定的分子包含与碳纳米管耦合的分子。
7. 权利要求 6 的分子鉴定装置,其中与碳纳米管耦合的分子包含至少一条与碳纳米管耦合的 DNA 链。
8. 权利要求 6 的分子鉴定装置,其中与碳纳米管耦合的分子包含至少一条与碳纳米管耦合的 RNA 链。
9. 权利要求 6 的分子鉴定装置,其中与分子耦合的碳纳米管连接在悬臂致动尖端用于使所述碳纳米管移位穿过孔。
10. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中第一和第二电子转运探针中的每个都含有富勒烯结构。
11. 权利要求 10 的分子鉴定装置,其中的富勒烯结构包含碳纳米管。
12. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中的碳纳米管包含半导体碳纳米管。
13. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中的碳纳米管包含金属碳纳米管。
14. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中的碳纳米管包含单壁纳米管。
15. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中至少一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边的碳纳米管末端定向。
16. 权利要求 15 的分子鉴定装置,其中每个碳纳米管电子转运探针都用邻接孔周边的碳纳米管末端定向。
17. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中至少一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边的碳纳米管侧面定向。
18. 权利要求 17 的分子鉴定装置,其中一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边的碳纳米管末端定向,另一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边的碳纳米管侧面定向。
19. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边的第一碳纳米管末端在分子入口处定向并且用邻接孔周边的第二碳纳米管末端在分子出口处定向。
20. 权利要求 11 的分子鉴定装置,其中至少一个碳纳米管电子转运探针用邻接孔周边

的碳纳米管表面定向,当分子移位穿过孔时可与该纳米管表面偶合。

21. 权利要求 20 的分子鉴定装置,其中分子包含移位穿过孔时可与碳纳米管表面偶合的核苷碱基。

22. 权利要求 11 的分子鉴定装置,进一步包含安置在支撑结构上的控制分子移位速度的纳米管,并且在分子入口处具有可被分子偶合的邻接孔周边的表面。

23. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中孔是延伸穿过支撑结构厚度的,直径小到一次只允许单个分子移位穿过的微孔。

24. 权利要求 23 的分子鉴定装置,其中微孔是直径小于 100nm 的纳米孔。

25. 权利要求 24 的分子鉴定装置,其中纳米孔直径小于 50nm。

26. 权利要求 24 的分子鉴定装置,其中纳米孔直径小于 20nm。

27. 权利要求 24 的分子鉴定装置,其中纳米孔直径小于 10nm。

28. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中孔用电子绝缘材料层包被。

29. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中电子转运探针用电子绝缘材料层包被,但其邻接孔周边的地方除外。

30. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中支撑结构包含其中提供有孔的电子绝缘膜。

31. 权利要求 30 的分子鉴定装置,其中膜包含氮化硅膜。

32. 权利要求 1 的分子鉴定装置,其中连接在探针间的电流监控器被配置成能够用来监测探针间与分子穿过孔的移位相对应的电子隧穿的调制。

33. 一种分子鉴定装置,包含:

第一贮液池,盛有的溶液中含有至少一种与待鉴定的分子-纳米管复合物中碳纳米管偶合的分子;

第二贮液池,盛有的溶液中含有已鉴定的分子-纳米管复合物;

固体支撑结构,包括有孔,所述孔具有提供与第一贮液池液体连接的分子入口和提供与第二贮液池液体连接的分子出口;

用来检测分子-纳米管复合物移位穿过孔的第一和第二电子转运探针,其中至少一个包含富勒烯结构,每个电子转运探针被安置在邻接孔周边的支撑结构上;

连接在探针间,用以施加跨孔偏压的电压源;和

连接在探针间的电流监测器,用来监测与分子-纳米管复合物穿过孔的移位相对应的探针间电子转运的变化。

34. 权利要求 33 的分子鉴定装置,其中连接在孔上的电路被配置成能够用来检测分子-纳米管复合物移位穿过孔时穿过孔的离子流的阻滞。

35. 权利要求 33 的分子鉴定装置,其中孔是直径小到一次只允许单个分子-纳米管复合物移位穿过的微孔。

36. 权利要求 33 的分子鉴定装置,其中与碳纳米管偶合的分子包含选自蛋白质、多核酸、DNA 和 RNA 的聚合生物分子。

37. 权利要求 33 的分子鉴定装置,其中每个电子转运探针都含有碳纳米管。

38. 一种用来鉴定分子的方法,包括:

使分子移位穿过支撑结构中的孔,从盛有包含待鉴定分子的溶液的第一贮液池进入盛有包含已鉴定分子的溶液的第二贮液池;

使分子与碳纳米管表面在孔的分子入口处邻接孔周边的纳米管构造中耦合,然后使分子与构造成电子转运探针的第二碳纳米管的表面耦合;并且

监控各自邻接孔周边的两个电子转运探针间跨孔的电子转运变化,所述电子转运变化与分子穿过孔的移位相对应。

39. 权利要求 38 的方法,其中当分子移位穿过孔时分子与碳纳米管表面耦合。

40. 权利要求 38 的方法,其中与分子耦合的碳纳米管表面邻接孔周边。

41. 权利要求 38 的方法,其中与分子耦合的碳纳米管表面在与第一贮液池液体连接的孔的分子入口处邻接孔周边。

42. 权利要求 38 的方法,其中与分子耦合的碳纳米管的表面为碳纳米管末端。

43. 权利要求 38 的方法,其中与分子耦合的碳纳米管的表面为碳纳米管侧面。

44. 权利要求 38 的方法,还包含瞬时控制相对于溶液的碳纳米管的偏压以控制分子穿过孔的移位速度。

45. 权利要求 38 的方法,其中每个电子转运探针都包含碳纳米管。

46. 权利要求 38 的方法,其中分子包含 DNA 核苷碱基,并且 DNA 碱基与碳纳米管表面的耦合使碱基相对于碳纳米管表面被空间定位。

47. 权利要求 38 的方法,其中分子包含 RNA 核苷碱基,并且 RNA 碱基与碳纳米管表面的耦合使碱基相对于碳纳米管表面被空间定位。

48. 一种用来鉴定分子的方法,包含:

使分子与碳纳米管在溶液中耦合形成分子-纳米管复合物;

使耦合的分子-纳米管复合物移位穿过支撑结构中的孔,从盛有包含待鉴定的分子-纳米管复合物的溶液的第一贮液池进入盛有包含已鉴定的分子-纳米管复合物的溶液的第二贮液池;并且

通过监测被安置在支撑结构上且每个具有邻接孔周边的表面的两个电子转运探针间电子转运的变化,同时施加跨孔偏压,来检测分子-纳米管复合物穿过孔的移位。

49. 权利要求 48 的方法,其中检测分子-纳米管复合物的移位包括当分子-纳米管复合物移位穿过孔时对穿过孔的离子流阻滞的检测。

50. 权利要求 48 的方法,其中与碳纳米管耦合的分子包含选自蛋白质、多核酸、DNA 和 RNA 的聚合生物分子。

51. 一种用来鉴定分子的方法,包含:

使分子移位穿过支撑结构中的孔,从盛有包含待鉴定的分子的溶液的第一贮液池进入盛有包含已鉴定的分子的溶液的第二贮液池;

使分子与安置在孔处作为分子耦合表面且配置在电路中的碳纳米管侧面耦合,在电路中将电偏压施加在碳纳米管末端之间;并且

通过将通过碳纳米管的电流作为通过孔的分子转运加以检测,来监测与分子移位穿过孔时相对应的碳纳米管的电导变化。

52. 权利要求 51 的方法,其中对碳纳米管电导变化的监控包括测量穿过布置在 FET 配置中的碳纳米管的电流。

53. 权利要求 51 的方法,其中分子包含选自蛋白质、多核酸、DNA 和 RNA 的聚合生物分子。

54. 权利要求 51 的方法,其中碳纳米管包含半导体碳纳米管。

55. 权利要求 51 的方法,其中碳纳米管包含单壁纳米管。

56. 权利要求 51 的方法,其中分子包含可在移位通过孔时可与碳纳米管表面偶合的核苷碱基。

57. 权利要求 51 的方法,其中孔是延伸穿过支撑结构厚度并且直径小到一次只允许单个分子移位穿过的微孔。

58. 权利要求 51 的方法,其中孔用电子绝缘材料层包被。

59. 权利要求 51 的方法,其中支撑结构含有其中提供有孔的电子绝缘膜。

60. 一种用来鉴定分子的方法,包括:

使分子移位穿过支撑结构中的孔,从盛有包含待鉴定分子的溶液的第一贮液池进入盛有包含已鉴定分子的溶液的第二贮液池;

使分子与邻接孔周边的纳米管构造中构造成电子转运探针的碳纳米管表面偶合;并且

监测碳纳米管电子转运探针和邻接孔周边的第二电子转运探针间跨孔的电子转运变化,所述电子转运变化与分子穿过孔的移位相对应。

用碳纳米管控制的分子鉴定

[0001] 本申请要求 2005 年 4 月 6 日提交的美国临时申请第 60/668,632 号的权益,其全文通过引用结合到本文中。本申请还要求 2005 年 6 月 9 日提交的美国临时申请第 60/688,799 号的权益,其全文通过引用结合到本文中。本申请进一步要求 2005 年 10 月 18 日提交的美国临时申请第 60/727,603 号的权益,其全文通过引用结合到本文中。

[0002] 关于联邦资助的研究的声明

[0003] 本发明是在政府支持下用国家卫生研究院 (National Institute of Health) 的“纳米孔中的电子测序”R01HG003703 基金完成的。政府对此发明具有一定的权力。

[0004] 发明背景

[0005] 本发明总体上涉及分子的检测及鉴定,特别是涉及聚合物,包括生物高分子,如多核苷酸的鉴定和测序的分子分析技术。

[0006] 对分子,包括生物分子,例如多核苷酸,像生物高分子核酸分子 DNA、RNA 和肽核酸 (PNA) 及蛋白质和其它生物分子的检测、鉴定、鉴别和测序是一重要的、不断扩展的研究领域。现在非常急需一种可快速、可靠、廉价的测定聚合物分子杂化状态、构型、单体堆积 (monomer stacking)、排列顺序的方法。聚合物合成及制造的进展、生物学发展及药物的发展,尤其是基因治疗、新药开发、对患者调整适合的治疗方法等领域的发展,很大程度上的依赖于这种方法。

[0007] 在一种分子分析的方法中,已证明分子如核酸和蛋白质可被运送穿过天然或合成的纳米级孔,或纳米孔;并且能够在运送通过纳米孔时识别出分子的特性,包括其性质鉴定、杂化状态、与其它分子的相互作用、其序列即组成聚合物的单体的线形顺序。分子转运通过纳米孔可通过如电泳或其它运输机制实现。

[0008] 如果纳米孔尺寸的情况能够使伸展的核酸分子在移位过程中占据了其相当大部分的横截面积,则聚合物分子可以在转运通过纳米孔的过程中至少通过两种机制进行鉴定。其中第一种,移位分子瞬时减小或阻断了由接触纳米孔两端的分隔的含离子溶液间施加电压产生的离子电流。其中第二种,移位分子瞬时改变了电子流,包括通过对两个位于纳米孔周边上同侧位置上或位于非常短的纳米孔的对侧位置上的间隔纳米级缺口的近距离探针施加偏压产生的隧穿电子流。假设在其穿过纳米孔期间,聚合物中的每个核苷酸对离子电流或电子流产生特征性独特的调制作用,离子流或电流调制产生的顺序能够反应移位聚合物分子的特征。

[0009] 理论上讲,这些分子分析技术,和已经被提出的其它技术一样,应该能够用单个单体分析技术进行分子鉴定。各单体特征的明确分辨对于可靠的实际应用起关键作用,例如:生物分子测序的应用。但是实际操作中,通常因为分子检测及分析的几个方面而很难到达这种性能。

[0010] 首先,对于任何分子取向,分子鉴定的速度,如核苷酸测序的速度,可能影响有用的分子鉴定信号的产生。对从一个单体分子到下一个间的鉴定信号或其它指标的变化分辨能力可对核苷酸鉴定的速度非常敏感。例如,核苷酸运输通过纳米孔的速度可能会影响由该核苷酸引起的离子电流阻碍的程度或电子流调制的程度,或超过用以检测非常小的微

微安或毫微安电流（典型的是纳米孔中离子电流或隧穿电子流）的测量仪器的带宽。

[0011] 第二，当对指定的核苷酸进行鉴定时，其物理定向可能影响对该核苷酸特征的检测。当要判断 2 个间隔纳米级缺口的近距离探针之间的电子流调制时，这种困难尤其严重。众所周知，这种两个间隔相近的探针间的电子流调制，包括隧穿电子流的调制，对两个探针间原子级的变化或两个探针间分子精确定向尤其敏感。因而，举例而言，DNA 链中每个可选择的核苷酸定向都可产生不同的检测及鉴定信号或其它指标，而这些信号对于多个核苷酸或多个分子的特征而言可能是模糊的。例如当核苷酸穿过具有区域特异性限制粗糙度（specific limiting asperity）的纳米孔时，其取向可能会改变该核苷酸在粗糙区域引起的电流调制。不同的核苷酸和不同分子属性可能得到相似的，或不能区分的电子流调制，这取决于分子转运通过纳米孔时的取向。这些例子说明，通常，速度控制和纳米级空间定向的困难限制了获得精确，高分辨的分子鉴定的能力，如生物高聚物测序的能力。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明通过提供使分子单体定向移位通过纳米孔的鉴定装置和鉴定方法，从而克服了先前分子鉴定技术的速度控制和定向控制的困难。在本发明的一个实施例中，分子鉴定装置提供了两个贮液池，第一个盛有包含待鉴定分子的溶液，第二个盛有包含已鉴定分子的溶液。本发明还提供一固体支撑结构，它包括一个孔，该孔具有一个提供与第一贮液池流体连接的分子入口和一个提供与第二贮液池流体连接的分子出口。

[0014] 分子鉴定装置提供第一和第二电子运输探针。至少有一个探针包含有富勒烯结构，例如：一个碳纳米管，也可两个探针都为碳纳米管。每个探针安置在支撑结构上，并且其表面邻接孔周边。电压源连接在探针之间以施加穿纳米孔偏压。电流监控器连接在两个探针间，以监控与分子移位穿孔相对应的探针间电子运输的变化。

[0015] 此分子鉴定装置和鉴定技术能够快速、可靠、可重复并简单的鉴定广泛的、各式各样的分子及分子构型。本发明的其它特点及优势将在随后的描述、附图和权利要求中变得显而易见。

[0016] 附图描述

[0017] 图 1A 是本发明提供的连接有末端定向的碳纳米管探针的分子鉴定装置的第一实施例方案的横截面示意图。

[0018] 图 1B 是碳纳米管的侧面示意图，显示纳米管的末端和侧面。

[0019] 图 1C 是图 1A 中装置的横截面示意图，其中定向一个 ssDNA 分子作为被鉴定的分子。

[0020] 图 2A 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针和一个侧面定向的纳米管探针的分子鉴定装置的另一个实施例方案的横截面示意图。

[0021] 图 2B 是图 2A 中实施方案的平面示意图。

[0022] 图 2C 是图 2A 中实施方案的横截面示意图，其中定向一个 ssDNA 分子作为被鉴定的分子。

[0023] 图 3A 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针和一个侧面定向的移位控制碳纳米管的分子鉴定装置的进一步实施例方案的横截面示意图。

[0024] 图 3B 是图 3A 中实施方案的平面示意图。

[0025] 图 3C 是图 3A 中实施方案的横截面示意图，其中控制移位速度及定向一个 ssDNA

分子作为被鉴定的分子。

[0026] 图 4A 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针，一个侧面定向的纳米管探针及一个侧面定向的移位控制碳纳米管的分子鉴定装置的进一步实例实施方案的横截面示意图。

[0027] 图 4B 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针和一个侧面定向的延伸穿过纳米孔长度方向的纳米管探针的分子鉴定装置的进一步实例实施方案的横截面示意图。

[0028] 图 5A 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针，并专为穿过纳米孔的 DNA- 纳米管复合物的移位和鉴定而设计的分子鉴定装置的进一步实例实施方案的横截面示意图；

[0029] 图 5B 是本发明提供的连接有一个末端定向的碳纳米管探针，并专为穿过纳米孔的顶端安装有致动装置的 DNA- 纳米管复合物的移位而设计的装置的进一步实例实施方案的横截面示意图；

[0030] 图 5C 是本发明提供的配置有一个用来扫描 DNA 纳米管复合物的顶端安装有致动装置的碳纳米管探针的分子鉴定装置的进一步实例实施方案的横截面示意图；

[0031] 图 6 是本发明提供的在硅支撑结构上的氮化硅膜中配置有纳米孔的分子鉴定装置的横截面示意图；

[0032] 图 7 是本发明提供的预先组装好的，包括液体贮液池及通道的分子鉴定装置的示意图；

[0033] 图 8A 到 8F 是显示在一个实施例中生产一个分子鉴定装置的制作步骤的横截面示意图；

[0034] 图 9A 到 9L 是显示在进一步的实施例中生产一个分子鉴定装置的制作步骤的横截面示意图；

[0035] 图 10A 到 10L 是显示在进一步的的实施例中生产一个分子鉴定装置的制作步骤的横截面示意图；及

[0036] 图 11A 到 11M 是显示在进一步实施例中生产一个分子鉴定装置的制作步骤的横截面示意图。

[0037] 发明详述

[0038] 参见图 1A，图示了本发明提供的第一实施例的实施方案——分子鉴定装置 10。为了讨论的清晰，图 1 所示的装置特征未按比例显示。如图 1 所示，本装置支撑结构 14 提供了一纳米级孔或纳米孔 12。支撑结构的第一侧面上为第一液体隔室 16 或盛有包含待鉴定分子的溶液的贮液池。支撑结构的对面为第二液体隔室 18 或已鉴定分子通过移位穿纳米孔作用运输至的贮液池。孔的入口端的分子入口提供第一贮液池 16 与孔之间的液体交流，而孔的出口端的分子出口提供孔与第二贮液池 18 间的液体交流。

[0039] 本发明的分析装置使得分子鉴定包括广泛的分析范围，包括如：测序、杂交检测、分子相互作用检测分析、构型检测及其它分子鉴定。可被鉴定的分子包括，大体上所有的分子都可以，包括聚合物和生物分子如：蛋白质，核酸如：多核苷酸 DNA 和 RNA，糖聚合物及其它生物分子。在一项应用中，如图所示，待鉴定的分子为单链 DNA 分子 (ssDNA) 20，其核苷碱基 22 的序列待鉴定，例如，通过沿每条 ssDNA 主链测定碱基序列的特性。为了讨论的清晰，

本测序的实例将应用于随后的描述中,但这并不是本发明的分子鉴定装置的唯一应用。另外,下面描述的测序操作并不只局限于 DNA 的实例,多核苷酸 RNA 也可进行同样的鉴定。因此下面的讨论并非意欲局限于一具体实施,而是从一系列分子鉴定的实施方案中提供了一个实例的详细资料。

[0040] 在操作图 1A 中的分子鉴定装置时,在图中标有“-”和“+”的两个液体隔室 16、18 间施加偏压,使第一隔室 16 中的分子,如 ssDNA 分子,在电泳驱动下每次一个的进入并通过纳米孔 12 到达第二隔室 18,因为 DNA 主链在溶液中呈负电性。可用相应的用以控制各溶液电压的电压源 21、23 通过如分别浸在两个隔室 16、18 的溶液中的氯化银电极 17、19 来施加此偏压。如下面详述,采用 pH 值升高的或含有选择的变性剂的电解液,以在第一隔室 16 中使 DNA 链在运输穿过纳米孔前保持无特定结构的单链形态。

[0041] 在支撑结构 14 中纳米孔 12 的位置上,提供了电接触探针 (electrically-contacted probes) 24、26,可通过局部电子运输测量对移位 DNA 分子中的核苷直接进行电子鉴定。探针 24、26 为两个纳米级的电极,邻接纳米孔 12,位于纳米孔周边上的点上,如,纳米孔周边相对的点上。探针 24、26 连接在外部电路 28 上,附有可为两个探针间横穿纳米孔 12 提供偏压的电压源 30。假设含有分子的电解液从探针之间穿过纳米孔,比较优选的是,提供的支撑结构应为电子绝缘结构并且提供的电子绝缘层 15 或支撑结构区域应使除探针顶端或探针邻接纳米孔 12 周边的非常小的局部区域外的部分电子绝缘,如图 1A 所示。这种电子绝缘条件使得能够在两个探针间施加选择的偏压。

[0042] 假定纳米孔为纳米级间隙,在探针 24、26 间施加偏压引起电子运输穿过两个探针间的纳米孔,形成探针电路 (probe circuit) 28。当一个分子如 ssDNA 核苷碱基 32 位于探针 24、26 间的纳米孔 12 时,此碱基的原子结构影响穿过电子运输穿过纳米孔。电路 28 配有安培计 34 或其它电流测量装置以测量与核苷酸相关的电流。采用这种方式,可以对移位通过纳米级孔的分子进行鉴定。在该实施例中,沿 ssDNA 分子的每个核苷酸都可被清楚地鉴定,如鉴别。

[0043] 对于纳米级孔如纳米孔 12 而言,在很多实际应用中,电子运输穿过绝缘的 DNA 分子或其它分子和纳米孔中局部电解液的主要机制可被理解为量子力学的电子隧穿。词汇“隧穿 (tunneling)”在这里是指各种类型的电子运输穿过纳米孔,例如:从电子状态“跳跃 (hopping)”至电子状态及其它这样的运输,其可被纳米孔中存在的分子所调制。已知这样的电子运输对局部的原子结构非常敏感,因此非常适合确切的鉴定分子特征,如:鉴定核酸碱基。但是或除电子隧穿纳米孔之外,其它电子运输机制也可发生,并且能够用于进行分子鉴定,如 DNA 测序操作。例如,与诱导电荷效应 (induced charge effects) 相关的机制,非弹性电子运输,或沿一段 DNA 分子主链的运输可被应用并被认为能提供足够高的灵敏度以在核苷酸碱基运输穿过纳米孔时识别不同核苷酸原子结构。

[0044] 当 ssDNA 分子 20 移位穿过纳米孔 12 时,无论发生哪种电子运输机制,所导致的外部电路 28 感知的电流都受单个核苷碱基 22 调制。纳米孔的几何构型使核苷酸严格有序的按单列顺序穿过探针 24、26 间的纳米级孔,从而实现对单个核苷酸的鉴定。通过测量探针间电子流可鉴别核苷酸,这与根据扫描隧道显微镜探头与表面间的电子流可鉴别表面原子非常类似。因而,在探针间施加偏压使动态感知移位分子的横向电导率成为可能。

[0045] 根据本发明此横向电导率可通过上述的电子隧穿或其它电子运输机制而感知。本

发明并不局限于某一个特定的电子运输机制。在下面的讨论中,将考虑电子隧穿电子转运机制,但本发明并不局限于此。隧道显微镜的电流通常为毫微安培。该相对较大的电子流由连接探针的外部电路 28 产生,并伴随着相对大的信噪比。

[0046] 现在讨论探针 24、26 的细节,至少一个探针为富勒烯结构,如一个碳纳米管。术语“富勒烯结构”在这里是指任何由有序六边形和有序五边形碳原子群组成的笼状中空分子结构。其中一个探针也可作为金属导体,但是对多数应用而言,两个探针 24、26 都可优选富勒烯结构,如碳纳米管。碳纳米管为主要由六边形碳原子群形成的空心管。单壁碳纳米管(SWNT)为一维的管道,由具有晶体六边形富勒烯原子结构的单层卷起的石墨(single rolled-up sheet of graphite)组成。碳纳米管可以合成,直径为 7 Å,长度从亚微米到毫米。碳纳米管的特征是极高的机械及化学坚固性,可被选择展示石墨极好的电子转运特征或半导体的带隙(band-gapped)电子结构。这样,碳纳米管的晶体结构提供了一个明确的、预先确定的、规则并坚固的形态结构,能耐受纳米孔的含水环境及局部高电场条件。对多数应用实例而言,并不预期金属导体也相同如此。

[0047] 另外,因为碳纳米管的电特征对原子级的微扰非常敏感,优选纳米管作为纳米级探针以电子区分移位穿过纳米孔的四个不同 DNA 核苷碱基间的差异。具体而言,DNA 或 RNA 核苷与纳米管耦合的范德华相互作用,及 DNA 或 RNA 核苷的电性能可通过影响纳米管中自由电荷载体的浓度,电荷载体能级的定位及相应的导电率显著的影响纳米管的电学特性。这样,DNA 碱基-纳米管耦合杂交物的纳米管部分的电学特性在已分析 DNA 碱基和待测序分子间可测量的对比的测定中,在分子-纳米管杂交物附近局部环境的测定中,在通过对纳米管探针及 ssDNA 电解液施加电压而建立的电环境测量中起重要作用。

[0048] 在图 1A 所示的纳米管探针构造的实施例中,纳米孔在单个纳米管的切口端之间或两个纳米管末端之间提供一稳定的电子转运间隙,使得纳米管末端可作为电子转运横穿纳米孔的电子源和接收器。用这种布置,可直接对单个核苷碱基结构进行纳米级分析,并且其电特性使得多核苷酸很多方面的检测和鉴定成为可能,包括测序。有关合成纳米管及制造纳米孔探针设备的技术实例将在下面详细描述。

[0049] 纳米管探针可以为金属或半导体结构,但对多数实际应用而言,优选有小间隙的半导体纳米管探针使得在合理的探针偏压下能够产生可测量的电子转运流。也可优选单壁纳米管探针结构。本发明仔细考虑了一系列可作为纳米孔探针的富勒烯结构。例如埋植于导电介质中的巴基球(bucky ball)富勒烯球可用作纳米孔探针。半导体的纳米线结构也可用作纳米孔探针。下面的讨论中采用了纳米管的实例,但这并非意欲限制于此。

[0050] 依照本发明发现纳米管探针 24、26 可用以在碱基移位穿过纳米孔时使核苷碱基物理定向,同时产生指示移位碱基的直接电子信号,可用以鉴定移位碱基。依照本发明通过利用 DNA 链的亲合力使与碳纳米管表面紧密耦合实现分子的物理定向。当富勒烯结构如碳纳米管存在时,DNA 分子的每个核苷碱基趋向与富勒烯结构形成 π 堆积相互作用,参见例如 Zheng 等,Nature Materials(天然原料)2,338-342,2003 年 5 月。DNA 分子中糖-磷酸主链的键扭转被认为非常灵活,这种灵活性可适应核苷碱基与纳米管的耦合。在耦合过程中,在碱基平面平铺紧靠纳米管表面的情况下,DNA 分子的平面碱基可通过非共价吸附过程单独与纳米管平面连接或耦合。结果,在该构造中,DNA 核苷碱基被纳米管表面自然排成一行,方向与纳米管表面的方向相应。

[0051] DNA-纳米管的偶合现象应理解为由自由能因素,电荷状态,DNA 碱基和碳纳米管的互补的疏水/亲水性和 DNA 主链分别驱使的,也部分受核苷碱基与纳米管表面结构间的范德华相互作用驱使。不需要施加特别的条件可完成核苷碱基偶合到纳米管表面。实际上,已有迹象表明 DNA 或 RNA 会优选与纳米管表面偶合而不是自身聚集成团。

[0052] 依照本发明,在图 1A 所示的实例装置中,在沿纳米孔长度方向的位点提供了一个邻近的纳米管探针,这样当碱基移位穿过纳米孔时 DNA 碱基趋向于沿着纳米管的表面排列。图 1B 是纳米管 24 的示意图,确定了各种可用来与碱基偶合的表面及本文应用的描述表面的术语。纳米管 24 包括碱基可偶合的侧面 27 和碱基可偶合的末端 29 及 31。该末端可以是石墨的表面的连续延伸,如末端 29,或为切割面,如末端 31。

[0053] 图 1C 是图 1A 中分子鉴定装置的示意图,显示了当碱基 32 移位穿过纳米孔时纳米管探针 24 自然使核苷碱基排成一行。当 ssDNA20 移位穿过纳米孔 12 时,核苷碱基 32 与纳米管探针 24 的一端偶合。如上面所解释,平面核苷碱基 32 有平铺紧靠纳米管的倾向。此装置可使碱基在纳米孔中精确定向,以测定特异性代表碱基转运的电子流。图 1C 描述的碱基与纳米管末端的偶合仅为示意图,并不代表与纳米管 24 相关的碱基定向的特定细节。

[0054] 为了能够实现图 1C 所示的移位及偶合,控制穿过纳米孔的电泳力使核苷碱基 32 能沿纳米管末端滑动,而一段时间后有足够的电泳力使碱基从纳米管末端去偶合。这种电泳力的控制是通过控制电压源 21、23 来控制两个贮液池 16、18 间相对电压而实现的,分别见图 1A 及图 1C。

[0055] 据估算 ssDNA 与纳米管的结合能约为 -1.0eV/nm ,参见例如 Zheng 等,“DNA-assisted dispersion and separation of carbon nanotubes,”(“DNA 辅助的碳纳米管的分散及分离”)Nature Materials,2,338-342,2003。从未加偏压纳米管上去除核苷所需的相应压力约为 3pN 到 6pN 之间,这相当于施加在穿过具有 100mV-200mV 偏压纳米孔的 ssDNA 上的电泳力,参见例如 Sauer-Budge 等,“Unzipping kinetics of double-stranded DNA in a nanopore,”(“纳米空中双链 DNA 的解聚动力学”)Phys. Rev. Lett. 90,2381011-2381014,2003。因此在纳米孔间施加 200mV 的偏压,且纳米管探针上无偏压,可引起核苷如图 1C 所示滑过纳米管末端。因此发生在分子与碳纳米管间的偶合应理解为非共价的,非持久的,并具有当分子与纳米管表面偶合时,可使其沿着表面滑动的特征。

[0056] 如图 1C 所示,与碱基 32 偶合的纳米管 24 相对于第二纳米管 26 为正偏置的。如果纳米管 24 的电压导致纳米管相对于纳米孔中电解液为正偏压,那么带负电的核苷酸会被阻止滑过纳米管直到纳米管 26 上的正偏压减小或两个贮液池间穿纳米孔偏压升高到足够让核苷酸滑过纳米管。因此本发明使控制核苷酸的移位速度和核苷酸移位穿过纳米孔时的定向成为可能。

[0057] 在图 1A 和 1C 中的实例的装置中,显示纳米管探针 24、26 用邻接纳米孔周边的纳米管末端定位。已了解纳米管末端与纳米管侧面一样具有六边形碳表面结构,或者其它更为复杂详细的几何特征,因此也可施加与纳米管侧面所示范的相同的核苷酸定向影响。如果在一特定的实际应用或装置中,发现纳米管的末端并不提供充分的定向影响,则可通过下面描述的方式使纳米管末端功能化或进行其它处理,以提供一个具有必需的核苷酸定向特征的终端面。

[0058] 此实施例表明纳米管探针能够进行直接分子鉴定及分子定向控制,并且如下面所描述,还能控制分子移位的速度。因此,根据本发明的发现,纳米管探针不止是常规金属探针的简单替换物,而是能够用来进行分子鉴定的精确控制。

[0059] 图 2A 是本发明提供的另外一个实施方案,纳米管的侧面而不是末端被作为一个纳米管探针的分子定向表面。如图 2A 所示,第一纳米管探针 24 以上面所述方式提供,其一端安置于沿纳米孔 12 长度方向的一个位点上。另一个纳米管探针 50 与探针 24 成直角,以使探针 50 的侧面邻接纳米孔 12 的周边。

[0060] 图 2A 是装置剖面侧视图,为了清楚起见只显示支撑结构 14 中的纳米孔及纳米管探针,但应理解其还包括如图 1A 中的贮液池,延伸支撑结构及电连接。另外,如图 2A 所示,支撑结构及电绝缘区域 15 是用来绝缘两个纳米管的,纳米管连接在纳米孔周边上的区域除外。

[0061] 此装置的电连接如图 2B 所示,它是装置从上向下的平面示意图。所示支撑结构 14 中的纳米孔 12 具有一对成直角布置的纳米管探针 24、50,探针呈 T 形排列。为清晰起见,图 2B 中并未显示电绝缘支撑结构及位于纳米管探针上的包被材料,使纳米管探针的位置可以直观的看到。在图 2B 的布置中,按前面描述的方式参考图 1A-1B 的实施方案提供了第一外部电路 28,用以在纳米管探针 24、50 间施加选择的偏压。当 DNA 分子的核苷碱基以前述方式被运送穿过纳米孔时,此电偏压施加选择的穿纳米孔电压以刺激电子转运穿过纳米孔。

[0062] 同样参见图 2C,显示当 ssDNA20 移位穿过纳米孔时,核苷碱基 32 与纳米管探针 50 的侧面偶合的状况。此装置可使碱基在纳米孔中精确定向,以测定特异性代表碱基转运的电子流。碱基能够沿纳米管 50 的侧面滑动同时碱基的特征被鉴定。在图 2C 中也注意到,由于电压源 30 具有如图 2B 所示的极性,侧面定向的纳米管探针 50 相对于末端定向的纳米管探针 24 为正偏电压。如果此正偏压相对于电解液也是正的,结果当核苷碱基 32 被吸引穿过纳米孔 12 时,带负电的 DNA 主链会被侧面定向的探针 50 所吸引。核苷碱基 32 与探针 50 的侧面互相作用并偶合,并保持偶合直到偏压反向。

[0063] 由此,当碱基转运穿过纳米孔时,可进一步控制侧面定向纳米管探针 50 使控制核苷碱基移位速度成为可能。再次参看图 2B,为单独控制纵向纳米管探针 50 的电压,将侧面定向纳米管探针 50 的末端 58、60 连接到具有电压源 54 的第二外部电路 52 上。第二外部电路 52 可以包含电流表或其它电流控制及测量设备 56。

[0064] 如上面所解释, DNA 链与纳米管表面的偶合至少部分受 DNA 链和纳米管表面上电荷相对数目的控制。因为 DNA 主链在溶液中通常带负电,相对于溶液带正电的纳米管表面趋向于将 DNA 主链吸引到纳米管表面。相反地,带负电的纳米管表面趋向于排斥 DNA 主链离开纳米管表面。根据本发明,利用这些条件来控制核苷碱基与侧面定向纳米管探针间偶合的持续时间。

[0065] 再次参看图 2C,当侧面定向纳米管探针 50 相对于电解液为正偏电压时, DNA 主链倾向于被侧面定向纳米管探针 50 所吸引,并且核苷碱基 32 与侧面定向纳米管探针 50 偶合。在偶合过程中,纳米管探针间发生电子转运,跨越纳米孔,穿过 DNA 碱基,这可被测量用以鉴定碱基。

[0066] 一旦完成这种碱基鉴定测量,控制第二外部电路 52 以调节电压源 54 及侧面定向纳米管探针 50 的相应电偏压。现在选择偏压以使侧面定向纳米管探针 50 相对于电解液为

负偏压,由此 DNA 主链倾向于排斥侧面定向纳米管探针 50。随着由此引起的排斥力的启动,核苷碱基 32 从侧面定向纳米管探针 50 上去偶合,结果见图 2A 的装置,然后核苷碱基 32 在电泳力的作用下进一步被转运穿过纳米孔。下一个连续的待鉴定核苷碱基相应的被转运到纳米管探针的位置上进行下一轮碱基鉴定循环。

[0067] 在当核苷酸移位穿过纳米孔时,图 2A-2C 的实施方案可对 DNA 链移位速度及对链上核苷酸的物理定向进行控制,使碱基鉴定循环的实施成为可能。图 2A-2C 的实施范例尤其有利,因为侧面定向纳米管探针 50 提供了纳米管末端 58、60,距离纳米孔较远,可在其上面连接外部电路 52。但对一特定的操作而言,如果必须或需要,为使 DNA 核苷酸与末端定向纳米管探针 24 而不与侧面定向纳米管探针 50 发生偶合和去偶合,末端定向纳米管探针 24 可由第二外部电路 52 替代单独控制。

[0068] 如上面所解释,可以理解为 DNA 核苷酸具有与纳米管末端及侧面偶合的倾向。无论是采用纳米管末端或侧面与 DNA 偶合,本发明并不要求所有的核苷碱基的纳米管表面定向一致。相反,优选相同类型的核苷碱基的定向基本相似,即所有 T 碱基应的定向相似,所有 G 碱基应的定向相似等等。上述条件成立前提下,可以确定特定碱基类型的每个实例都会得到所期望的定向或有限类别的定向 (a limited class of orientations),因此将会有助于对比四种 DNA 碱基,并有利于精确测序。

[0069] 此外,本发明并不要求核苷碱基与纳米管表面的偶合有特定的方向。应理解在很多情况下如上面所解释,核苷碱基的平面倾向于平铺靠近纳米管的表面。但本发明并不要求全部如此。核苷碱基可以与纳米管表面成一定的角度,可以显著的脱离 (stick off) 表面,或者以任何恰当的能够电子测定其特征的方式定向。如上所解释,优选特定的碱基类型的每个实例都被相似的定向以提高碱基对比的精确度,但是并不要求特定的方向。

[0070] 在本发明提供的另一个实施方案中,可通过电子转运纳米管探针装置独立的实施分子移位的控制。图 3A 为这种装置实例的非按比例显示的横截面示意图。如上图的 2A 和 2C,应理解其如图 1A 一样包含贮液池及相关电压源,并对两个纳米管探针除与纳米孔邻接的末端外的其它部分进行了电子绝缘处理。

[0071] 在图 3A 中显示支撑结构 14 中有两个纳米管探针 24、26 以图 1A 的方式横穿纳米管 12。本实例中纳米管探针在纳米孔周边上以末端定向方式排列。在支撑结构表面 63 上, DNA 链 20 进入纳米孔 12,纳米孔 12 的周边上提供一侧面安置的纳米管探针 65。在图 2A-2C 中,按照侧面定向纳米管探针 50 的方式控制表面安置的纳米管 65 的电偏压,以控制 DNA 链转运穿过纳米孔 12 的移位速度以在纳米管探针 24、26 的位置进行碱基鉴定。

[0072] 图 3B 是图 3A 装置从上向下的平面示意图,包括装置的外部电路连接。在此视图中,纳米管探针 24、26 用虚线交叉阴影显示,它位于支撑结构 14 表面下,沿纳米孔 12 长度方向上的一个位点上。表面安置的纳米管 65 用实线交叉阴影显示,位于支撑结构 14 表面上,纳米管探针 24、26 上方的位置。和图 1A 一样,第一外部电路 28 为纳米管探针 24、26 而提供。按照前面解释的方式,电路 28 中的电压源 30 能够在纳米管探针 24、26 间施加可选择的偏压,以促使电子转运横穿纳米孔,并能够测量用来鉴定核苷碱基的电流。

[0073] 如图 2B,第二外部电路 52 用来给表面安置的纳米管 65 提供电偏压。表面安置的纳米管 65 的末端 66、68 连接在接有电压源 54 的第二外部电路 52 上,电压源 54 用来控制表面安置的纳米管 65 的电压,在第二外部电路 52 中也可包括电流表或其它电流控制及测

量设备 56。

[0074] 同样参看图 3C, 当表面安置的纳米管 65 相对于电解液为正偏电压时, DNA 主链倾向于被表面安置的纳米管 65 所吸引并且核苷碱基 32 与表面安置的纳米管 65 偶合。这种活动控制 DNA 链穿过纳米孔向前易位的速度。碱基 32 与表面安置的纳米管 65 的偶合也通过在纳米管表面上定向碱基而空间定向碱基。同时, 第一外部电路 28 在纳米管探针 24、26 之间施加电偏压。导致的发生于纳米管探针 24、26 间的电子转运跨越纳米孔, 穿过位于纳米管探针 24、26 的 DNA 碱基, 同时被测量用以鉴定在纳米管探针 24、26 位置的碱基。

[0075] 一旦完成碱基鉴定测量, 控制第二外部电路 52 以调节电压源 54 及相应的表面安置纳米管 65 的偏压。现在选择电偏压使表面安置的纳米管 65 相对于电解液为负偏压, 由此 DNA 主链倾向于排斥表面安置的纳米管 65。随着由此引起的排斥力的启动, 核苷碱基 32 从表面安置的纳米管探针 65 上去偶合, 结果见图 3A 的装置, 然后核苷碱基 32 在电泳力的作用下进一步被转运进入纳米孔。下一个连续的待鉴定核苷碱基相应的被转运到纳米管探针的位置上进行下一轮碱基鉴定循环。当核苷碱基进入纳米孔并接近纳米管探针时可能仍然保持其在表面安置纳米管 65 处产生的定向, 这取决于纳米孔的长度。当碱基沿纳米孔长度方向到达的探针处时, 碱基与其中一个纳米管探针的偶合可加强定向控制。

[0076] 在一备择实施方案中, 表面安置的纳米管 65 可在纳米孔 12 的周边上末端定向而不是侧面定向。这种表面安置的纳米管的末端定向以前述的末端定向的纳米管探针 24、26 的方式在纳米孔边缘安置了一个末端。然而, 这种实施方案可能并不优选, 因为这种实施方案没有在离开与纳米管形成接触的纳米孔周边的位置提供两个纳米管末端。但是如果一个特定的应用实例提供与表面安置的纳米管的正面定向的表面末端的接触, 那么这可以用在可用之处。

[0077] 在本发明的另一个实施方案中, 可用图 2B 及 3B 所示的第二外部电路 52 的方式控制图 1 和图 3 的实例实施中所示的第一外部电路 28, 以对末端定向的纳米管隧道探针 24、26 (图 1 和 3) 施加瞬时偏压。这种对纳米管探针施加的瞬时偏压只用一个电路就能够完成图 2B 所示的实施实例中由第二外部电路 52 所实施的移位控制。根据本发明知道, 如前所解释, 两个纳米管探针的电荷导致带负电的 DNA 主链被相对于电解液多数为正偏压的纳米孔探针所吸引。当纳米管探针间施加偏压时, DNA 主链被带正电的纳米管探针吸引, 核苷碱基在此位置与带正电的纳米管探针偶合。这种偶合动作减慢或中断了 DNA 链穿过纳米孔的过程。当偏压相对于电解液反转, DNA 主链被碱基偶合的纳米管所排斥, 然后 DNA 链能够继续穿过纳米孔。对 DNA 链移位的控制就是这样实现的。

[0078] 按照图 1 的实施方案, 采用这种瞬时纳米管探针方案使两个纳米管探针 24、26 能够进行空间分子定向控制及分子移位速度控制。在图 3 的实施方案中, 这种纳米管探针的瞬时偏压控制使通过由表面安置纳米管 66 和纳米管探针 24、26 施加的两种移位速度控制都成为可能。这两种移位控制可同时操作引起 DNA 链穿过纳米孔时的棘齿状移位。

[0079] 按照本发明, 可根据需要的挑选图 1-3 实例配置中的各种的特征和控制技术, 用于在各种各样的可替换布置中对给定分子进行鉴定。如图 4A 的横截面剖面图所示, 纳米管隧穿探针可以末端定向探针 24 和侧面定向纳米管探针 50 形式提供。表面安置的纳米管 65 被进一步提供用以加强额外的分子移位速度控制。所有的纳米管除邻接纳米孔的末端和侧面, 其他部分都绝缘。如图 4B 所示, 纳米管探针还可进一步以末端定向探针 24 和沿纳米

孔内长度方向水平延伸穿透支撑结构厚度的侧面定向纳米管探针 67 的形式提供。在这种布置中,核苷碱基能够沿着侧面定向纳米管 67 以良好的控制定向滑动穿过纳米孔。为达到这种条件,侧面定向探针暴露在纳米孔中的区域并不被绝缘,如下实施例中所解释。因为能够被确认,末端定向探针 24 也可以侧面定向探针形式提供,如同图 4A 所示的侧面定向探针 50。

[0080] 这些设备布置中的每一个都可被一个或多个精选的外部偏压电路所控制,用以加强时间依赖的定向和移位速度控制。例如,第一偏压电路如图 1A 中的外部电路 28 可应用于纳米管探针 24、50 之间,第二偏压电路如图 2B 中的外部电路可用于独立的控制纵向纳米管探针 50 的偏压。另一个控制电路如图 3B 中的外部电路 52 可进一步被用于控制表面定向纳米管 65 的偏压。

[0081] 前面讨论的装置配置实例的操作是通过测量电子在纳米管探针之间穿过纳米孔内的一个分子而实现的。但本发明并非将装置配置局限于此操作模式。已有公认,分子接近纳米管可改变纳米管沿着纳米管长度的电导率,这种改变是通过如前所述的通过诱导改变负责沿纳米管长度方向进行电子转移的纳米管电子载体浓度,和 / 或通过调节这种电子载体的电迁移率而实现的。因此,所有可提供分子与碳纳米管侧面相互作用的装置配置也可以在被称为“FET 模式”的模式下进行操作,这种配置的实例如图 2A-C (纳米管探针 50), 图 3A-3C (纳米管探针 65) 及图 4A (纳米管 50 和 65) 所示。

[0082] 在 FET 操作模式中,电偏压施加在具有分子接触及定向表面的纳米管的相对末端之间,如图 2-4 中的纳米管 50 和 65。可采用图 2B 与 3B 中连接在纳米管 50 和 65 上的电路 52 施加此偏压。这些纳米管的电导率对纳米孔中分子的接近和特性非常灵敏。这样在电路 52 中,当分子移位穿过纳米孔时,用一种基于侧面定向纳米管的鉴定装置测量穿过纳米管 50 和 65 的电流,提供了一种可选的分子特征电子鉴定技术。本发明并不局限于本发明中的分子鉴定装置的一种特定的操作方式。

[0083] 另外,在图 1-4 的所有实施中,如前所解释,可以时间依赖模式调节两个贮液池中每一溶液的电偏压以控制相对于分子 - 纳米管偶合力,驱动分子穿过纳米孔的电泳力。例如,可随时间推移,有选择的对分别位于第一贮液池 16 和第二贮液池 18 中的电极 17、19 (图 1A) 施加偏压,如与施加的纳米管探针偏压控制和移位速度偏压控制同步。这种液体偏压进一步提供了对纳米管探针相对于电解液的偏压的控制水平,这提高了分子移位控制的精确度。这种精确度对要达到与测量电子设备灵敏度和带宽相应的移位速度是令人向往的。例如以 10^4 碱基 / 秒的速度移位,连续碱基的不同的电子转运信号是可以被分辨的。这样,在选择纳米管和外部电路配置上施加电偏压控制,能够以适合不同核苷碱基间的直接电子鉴别方式来实现 DNA 移位率的控制和 DNA 核苷碱基的物理定向。[0079] 作为这些性能的结果,尽管纳米孔为单分子检测器,但本发明的分子分析装置是一高通量测序装置。用本发明的分子分析装置,几分钟内可测定几千个不同的分子或几千个相同的分子。因为纳米孔装置的操作方法是一个分子接一个分子的直接将移位分子的特有特征转化为电信号,并进行实时转导和识别。另外,长链 DNA 也能以实时方式测定。而有关于样品制备或特定应用的实践考虑可能会限制当链移位穿过纳米孔时可测量的 DNA 链长度,但是理论上对于待分析链的长度式没有限制的。

[0084] 现在转入本发明分子分析装置的另一个实施方案,参看图 5A。在本发明的另一分

子分析技术中, DNA 测序是通过偶合到自由纳米管的 DNA 链复合物移位穿过纳米管铰链的纳米孔实现的。本发明提供的实施此方法的装置如图 5A 所示, 第一贮液池 16 中的溶液中含有与纳米管 102 偶合的 ssDNA 分子 100, 其中至少一个 DNA 链 100 与单个的纳米管 102 偶合。可根据美国专利申请公布说明书第 2005/0009039 号, Jagota 等, “Dispersion of Carbon Nanotubes by Nucleic Acids,” (通过核酸的碳纳米管的分散作用) 传授的通过例如凝胶电泳制作形成这样的 DNA- 纳米管复合物溶液, 以提供需要的分子- 纳米管复合物, 美国专利申请公布说明书第 2005/0009039 号其全文通过引用方式结合到本文中。

[0085] 第一贮液池以前述方式与支撑结构 14 提供的纳米孔 12 连通。在沿纳米孔长度方向上的一个位点上设置了纳米管探针 24、26。纳米管探针可以为如图 5A 所示样式的末端定向探针, 或可以为如图 2A 所示样式的侧面定向探针。

[0086] 在图中标有“-”和“+”的两个液体隔室 16、18 间施加偏压, 使第一贮液池 16 中的 DNA- 纳米管复合物受电泳驱动一次一个进入并穿过纳米孔 12 进入到第二贮液池 18。可用相应的用于控制各溶液电压的电压源 21、23, 通过如分别浸在两个隔室 16、18 中的氯化银电极 17、19 来施加此偏压。

[0087] 通过具有可控电压源 30 的外部电路 28 在探针 24、26 间施加横穿纳米孔的偏压。当 DNA- 纳米管复合物 104 移位进入纳米孔并在纳米管探针 24、26 之间移位时, 纳米管探针 24、26 间的电子转运受到 DNA- 纳米管复合物 104 的影响。外部电路配有电流表 34 或其它电流测量装置用以监控发生的电流以鉴定 DNA- 纳米管复合物的碱基。假设 DNA- 纳米管复合物中 DNA 分子的每个核苷碱基都与纳米管的纵向侧壁偶合, 那么当 DNA- 纳米管复合物移位穿过纳米孔 12 时, 可根据探针间的电子转运变化, 分别的, 清楚的鉴定偶合 DNA 链的每个核苷碱基。应当认识到, DNA 分子与碳纳米管的偶合可导致分子相对于未偶合的 DNA 链穿过纳米孔转运的速度减慢, 这归因于纳米管的存在导致纳米孔附近液体粘性阻力的增加。但是 DNA 与纳米管的偶合降低了由于布朗运动引起的 DNA 链运动的波动, 这归因于纳米管较大的质量和较强的硬度。

[0088] 除了对 DNA- 纳米管复合物移位的电子分析, 可按前述方式监控从第一贮液池 16 穿过纳米孔流入第二贮液池 18 的溶液中离子流变化, 以确定移位的 DNA- 纳米管复合物的位置。假设纳米孔的尺寸与 DNA- 纳米管复合物的尺寸相当, 复合物在移位时占据了纳米孔横截面的大部分区域, 复合物瞬时减小或阻滞了由于如前述方式在第一和第二贮液池间施加电压而产生的离子流。结果, 对第一和第二贮液池间离子流的测量可被用于指示是否有 DNA- 纳米管复合物存在于纳米孔中。一旦确认 DNA- 纳米管复合物存在纳米孔中, 这种指示可与外部电路的控制保持同步, 以启动电子转运流测量。

[0089] DNA 碳纳米管杂合复合物的减缓及定向作用可被用来利于采用离子电流或电子电流分子鉴定装置进行分子鉴定。本发明仔细考虑了在前述的纳米管探针配置中用电子电流或离子电流测定技术进行 DNA- 纳米管复合物的鉴定。对第一与第二贮液池间离子电流的测定可被用于表明与纳米管络合的 DNA 分子的一系列特征。例如多核苷酸链中形成“发夹”环的单体互补碱基序列在纳米管上有截然不同的定向, 因此产生与非互补片断不同的离子电流调制。这样, 可以用适合的方式鉴定 DNA- 纳米管复合物特征, 例如监控离子电流, 不包括电子电流调制的测定。

[0090] 在图 5A 的实例实施方案中, 每个自由纳米管 102 提供了与纳米管偶合的 DNA 链

100 的核苷酸的物理定向。当 DNA- 纳米管复合物 104 移位穿过纳米孔 12, 可用前面所述的方式通过纳米管探针 24、26 进行额外的定向控制。例如, 可控制纳米管探针 24、26 间的偏压吸引带负电的 DNA 主链和与纳米管偶合纳米管至带正电的纳米管探针 24。这使 DNA- 纳米管复合物在纳米孔中纳米管探针间的空间定向控制成为可能。

[0091] 如果在特定的实际应用中需要, 图 1-4 的实例中各种纳米管配置可以用来控制当复合物移位穿过纳米孔时定向和 DNA- 纳米管复合物移位的速度。另外, 如前所解释, 可通过调节两个贮液池的偏压来控制两个贮液池间的电泳力并进一步控制 DNA- 纳米管复合物的移位速度。

[0092] 转入图 5B, 本发明的另一个实施方案中, DNA- 纳米管复合物穿过纳米孔的移位能够通过外部致动元件进行严格的控制。本发明提供的此布置中, 提供了一个安装在悬臂 112 的尖端 108 或其它能被控制装置 112 驱动的活动元件上待分析的 DNA- 纳米管复合物 104。在一个实例的实施方案中, 安装尖端 108 位于原子力显微镜 (AFM) 悬臂 110 的末端。任何适合的可驱动的, 活动的尖端结构都可用作安装尖端, 扫描隧道显微镜的探头, 微机电 (MEMS) 结构如可驱动的微机械悬臂横梁和桥及其它系统仪器或客制机械装置能够用来作为 DNA- 纳米管复合物的安装尖端。

[0093] 无论采用何种尖端配置, 安置在尖端的 DNA- 纳米管复合物移位穿过支撑结构 14 中的纳米孔 12, 在两个纳米管探针 24、26 之间移动。通过精确控制尖端 108 和悬臂 110, 安置在尖端的 DNA- 纳米管复合物可缓慢前进, 例如以约 1 核苷碱基 / 秒的速度移位, 穿纳米孔 12。在纳米管探针 24、26 的位置, 横跨纳米孔穿过 DNA- 纳米管复合物的电子转移受到 DNA- 纳米管复合物存在影响。按前面所述的方式, 可以采用外部电路测定电子转移以识别 DNA- 纳米管复合物中 DNA 分子的核苷碱基。对于那些外部电路测量带宽可能受限的实际应用, 此装置有利于以适应电路带宽的方式精确控制移位速度。

[0094] 需理解的是, 为讨论清晰起见没有在图 5B 中显示的图 5A 中的外部偏压及测量电路应 28 包含在 5B 的装置中, 以实现纳米管探针偏压和电子转运测定。另外, 对于很多实际应用, 在此装置中优选包含图 5A 中的贮液池 16、18, 以提供 DNA- 纳米管分子可顺利移位穿过纳米孔的介质, 并实现其它偏压控制。

[0095] 在另一个控制技术中, 也可提供一额外电压源 114 为 DNA- 纳米管复合物 104 穿过纳米孔施加电偏压。如同给常规的晶体管的栅或基极施加偏压一样, DNA- 纳米管复合物的偏压影响纳米管探针间的电子转运。施加在 DNA- 纳米管复合物上的电压改变了 DNA 与纳米管偶合的空间上的接近, 并相应的调整了用以在纳米管探针间电子转运的 DNA- 纳米管复合物的能级。可控制改变施加在 DNA- 纳米管复合物上的电压以调整和提高用以进行核苷碱基鉴定的电子转运测定的分辨率和对比度。按前面描述的方式, DNA- 纳米管复合物移位的溶液的静电势也可被调节, 以进一步调节电子转移。

[0096] 如果在 DNA- 纳米管复合物上施加电压, 复合物的纳米管本身也可以按纳米管探针 24、26 的方式被用作电子转移的探针。此方案中, 可取消纳米管探针 24、26 中的一个, 这样用于核苷酸分析的电子转移发生在一个纳米管探针如探针 24 与 DNA- 纳米管复合物 104 的纳米管之间。此例中, 用于电流测量的外部电路, 如图 5A 的电路 28, 连接在一个纳米管探针 24 与悬臂致动装置 112 间。

[0097] 本发明提供一个实验的配置, 通过图 5A-5B 中的装置分析 DNA- 纳米管复合物来确

定其本质和特征。此实验配置的一个实例实施方案如图 5C 所示。如图 5C 所示,提供了一个 DNA- 纳米管复合物 104 悬浮在两个电连接的电极 120,122 之间。电极 120,122 可以为任何适当的导体,如:金属电极或纳米管。电极 120,122 连接在具有电压源 124 的电路中以作为悬浮的 DNA- 纳米管复合物 104 施加偏压。

[0098] 提供一个电连接的探测纳米管 116,安装在悬臂 110 的尖端 108 上,如由原子力显微镜 112 提供。提供电压源 114 以给安装在尖端的探测纳米管 116 施加电偏压。用此配置,首先用传统原子力显微镜模式操作原子力显微镜使安装在尖端的探测纳米管 116 对悬浮的 DNA- 纳米管复合物 104 进行定位。然后用扫描隧道显微镜 (STM) 模式操作原子力显微镜以记录当探测纳米管 116 沿复合物 104 扫描时 DNA- 纳米管复合物的电子图像。得到的图像从几何学上显示了沿耦合 DNA 链主链上的每个碱基。

[0099] 如有需要,对悬浮 DNA- 纳米管复合物的扫描可以在复合物干态下进行。此例中,比较适宜的是,复合物应从含有挥发性盐,如乙酸铵,和含有一定量乙醇足以减小表面张力并在干燥过程中不破坏复合物结构的溶液中干燥获得。对于很多实际应用,可以优选模拟在图 5A-5B 的测序设置中应用的水溶液的液体环境中进行扫描。

[0100] 无论何种扫描环境,当扫描进行时,当沿 DNA 链到达每个核苷碱基时,可调节探测纳米管 16 的隧道偏压以研究该碱基的电子转运特性。依照本发明,此信息然后被用于优化施加在图 5A-5B 设置中的纳米管探针上的偏压以提高四种不同 DNA 碱基间的对比度。

[0101] 前面所述的实例分子鉴定装置通常设置在固体状态的支撑结构中,如微电子材料形成的结构,例如采用美国专利第 6,627,067 号 Branton 等,“Molecular and Atomic Scale Evaluation of Biopolymers,”(生物高分子的分子和原子级评价)所授的材料及设置,其全文通过引用结合到本文中。

[0102] 转到分子鉴定制备特征的特定方面,提供纳米孔的固态支撑结构通常由微电子材料制成,例如以硅为基础的材料,像单晶硅,氮化硅或聚硅。在一个尤其合适的设置中,提供纳米孔的的支撑结构由支撑结构上的一层膜形成,例如硅支撑框架上的氮化硅膜。此设置如图 6 所示。这里在硅支撑框架 162 上提供一层悬浮的用常规方法制成的氮化硅膜 160。氮化硅是特别适合的材料,因为其通常的绝缘特性和对广泛范围液体的抗降解特性。但也可以采用各种其它材料作为提供纳米孔的膜。膜的材料通常优选化学上惰性的和/或耐腐蚀的材料。典型的材料包括二氧化硅、氧化铝、塑料、聚合物、弹性体、玻璃或其它适合的材料。

[0103] 按前面描述的方式,在膜 160 上提供碳纳米管 24、26,在膜中间有一个纳米孔。除了纳米管邻接纳米孔周边的表面,本装置所有与含有分子的电解液接触的表面都绝缘。电绝缘的氮化硅膜固有的提供绝缘的纳米孔壁。纳米管 24、26 和硅支撑框架 162 优选涂敷了一层绝缘材料 15,例如氧化铝,二氧化钨或其它可选择的绝缘材料。

[0104] 下面的讨论提供了在膜和支撑结构中大小可被称为纳米孔的空的形成细节。通常纳米孔根据其与感兴趣分子的相互作用而确定其大小,即,纳米孔的直径与感兴趣分子的原子宽度相近。对于例如一个单链多核苷酸移位穿过纳米孔的实际应用,纳米孔的直径优选在 1nm 至 20nm 的范围内。除了一次只允许单个聚合物分子以舒展的构象,如没有二级结构,横穿过纳米孔外,对纳米孔的几何形状没有特别的限制。通常优选但并不要求圆形纳米孔几何形状,非圆形的纳米孔外形也可以采用。

[0105] 另外,对纳米孔的长度也没有特殊的要求。纳米孔的长度,例如约为 0.1nm 至 800nm,能够被采用并通过加工如氮化硅膜进行生产。如前面所解释,为了适应电子转运穿过纳米孔,纳米孔壁为电绝缘。如果膜自身为绝缘材料,则除了下面所讨论的问题外,不需要对纳米孔壁进行额外的加工。如果膜导电,纳米孔壁可以按下面描述的方式用一种选择的绝缘层涂敷。

[0106] 图 7 是安置 (housing) 装置 130 的实例示意图,用来包装如图 6 的显微制造的分子鉴定装置系统并用来将此连接至必要的电路。如图 7 所示,包装装置的实例包括在例如硅酮橡胶 (PDMS) 的芯片支撑座 (chip holder) 137 中的贮液池 132、134,连同液体通道 136、138 一起,可控制贮液池以使含有分子电解质液体被转运穿过纳米孔。提供了一个显微制造的结构如硅框架 140 用来支撑例如其中有纳米孔 142 的膜。提供了纳米管探针测试接触垫 150、152 用来建立外部偏压与测定电路 154 和纳米管探针间的电连接。最后,提供闭合的连接 156 使得应用外部电路 158 给两个贮液池施加电偏压而没有液体泄露出贮液池成为可能。

[0107] 关于这种设置,优选液体与支撑结构的顺 (cis) 即顶侧的接触区域应该越小越好,如小于 $1,000 \mu\text{m}^2$,以最小化系统的电容。用来将液体转运至纳米孔的顺侧的通道 136 优选设置用来在小于 $300 \mu\text{m}$ 的纳米孔以内的转运。为了最小化填满贮液池而没有气泡所需的样品量,通道直径优选小于 $200 \mu\text{m}$ 并与优选直径小于 $200 \mu\text{m}$ 的管道相连。

[0108] 现在转入制造本发明的分子鉴定装置的更具体的过程,可以用任何适合的方法在支撑结构中形成纳米孔。支撑结构为膜的时候,用常规方法形成膜,如:美国专利 U. S. No. 6,627,067 号所传授的方法,在此以引文的方式结合到本文中。然后在膜上形成最初的孔,其后对膜的处理产生一个最终的较小的纳米孔直径。根据本发明的一项技术,在膜中形成最初的孔是通过例如:离子束削磨、电子束蚀刻、等离子蚀刻、湿法蚀刻或其它可选择的技术形成穿过膜厚度的孔。然后通过可选择的方法减小最初孔的直径。在一项实例技术中,孔的直径通过美国专利公布说明书 NO. US2005/0006224, Golovchenko 等,“Pulsed Ion Beam Control of Solid State Features”(固态特征的脉冲离子束控制)所授的离子束刻蚀的方法缩小到纳米孔,其全文以引用的方式结合到本文中。

[0109] 在形成纳米孔的过程中,沿纳米孔长度方向的纳米孔表面可以被处理以最小化或抑制 DNA 移位穿过纳米孔时 ssDNA 在纳米孔表面上的吸附。已知各种生物分子,如 ssDNA,会趋向于通过带阴离子的主链粘合在亲水和阳离子表面,或会通过核苷酸趋向于粘合在疏水表面。由此在制造与纳米管接合的纳米孔的配置以提供支撑结构纳米孔在内形成的过程中,可优选提供对感兴趣分子如 ssDNA 呈惰性的材料,或用对相感兴趣分子呈惰性的材料层涂敷纳米孔和支撑结构。这样最好在纳米孔上提供一层绝缘表面,当与含有分子的电解液接触时它具有中性的表面电荷。如果含有分子的电解液 pH 值为 7 或大致为 7,氧化铝为理想的涂敷材料。如果含有分子的电解液 pH 值大于等于 9,二氧化铪反而为优选的,因为它可长期耐受高 pH 值环境而不会降解。

[0110] 当纳米孔需用选择的材料层涂敷时,优选原子层沉积 (ALD) 方法作为沉积技术。ALD 在与纳米孔制造的联合使用中非常有利,因为它能够改变电荷及表面的材料特征,同时产生对多种不同材料的高度正形的步骤覆盖 (highly conformal step coverage),具有精确的单-埃厚度控制,甚至是对高长宽比的结构。另外,如下面详细描述,ALD 方法可被用

来控制孔的尺寸,以使远离其分子感测区的纳米管电极绝缘。

[0111] 当选择氧化铝作为涂敷层材料时,可以通过能够进行单分子层沉积控制的方式如原子层沉积 (ALD) 方法进行沉积,如美国专利申请公布说明书 No. US2005/0241933, Branton 等, Material Deposition Techniques for Control of Solid State Aperture Surface Properties,”(用来控制固态孔表面特征的材料沉积技术)中所传授,其全文通过引用方式结合到本文中。

[0112] 在一用 ALD 方法在纳米孔上生成一层膜的实例方法中,处理第一步中,准备用于膜沉积的结构表面,与选择的一种或多种分子前体反应。对于很多实际应用,ALD 处理采用金属前体,如 ALD 的金属前体可以为 ML_n , 其中 M 为铝、镓、镁、钨、钽、锆或其它金属, $L = CH_3$ 、Cl、F、 C_4H_9 或其它产生挥发性分子的原子或分子配体。例如在纳米孔上沉积 Al_2O_3 层,在 ALD 沉积前,结构首先暴露于如 UV/ 臭氧中以产生对金属前体高活性的羟基化表面,以形成铝层。

[0113] 一旦在结构表面产生了羟基,前体,如用于沉积铝的金属前体三甲基铝 $[Al(CH_3)_3]$ (TMA), 可用来与在表面产生的羟基反应,即用含有 $Al(CH_3)_3$ 分子的气体前体与表面的 -OH 位点反应。此反应产生挥发性的 CH_4 气体分子并在初始的 -OH 位点形成 $Al(OH)_2$, (CH_3) 或 $Al(OH)(CH_3)_2$ 。对于这样的氧化铝形成方法,适合的反应温度区大约在 $200^\circ C$ 到 $300^\circ C$ 之间。

[0114] $Al(CH_3)_3$ 与羟基的反应可自动中止,因为在反应过程中,初始表面配体 -OH 被消耗,并且表面布满了 L 配基,不能与金属前体继续反应。这种自限性的反应过程可导致少于或多于一层材料在结构及孔上沉积。在 ALD 过程的下一步中,任何残留的未反应的 $Al(CH_3)_3$ 前体和产生的 CH_4 气体用如干燥的氮气或其它适合的载体气体冲出反应室。处理的下一步中,使水蒸气进入反应室引起沉积层的表面与选择的前体反应。在目前的氧化铝沉积实例中,提供的水蒸气与暴露的 CH_3 基团反应。水蒸气与存在的 CH_3 基团应生成 CH_4 气体并在每个 - CH_3 位点添加 -OH 基,生成新的羟基化表面。当所有的 - CH_3 位点都与水蒸气反应后,此羟基化过程自体中止。在此处理方法中,相邻的 $-Al(OH)_2$ 位点交联产生水分子和连接的 $Al-O-Al$ 网络。

[0115] 在下一步处理方法中,按照前面所述的方法用例如氮气冲洗的步骤排出任何残留的水蒸气和释放出的 CH_4 基团。这样就完成了一个 ALD 反应循环,在结构和孔的表面及侧壁上产生了一层氧化铝。然后沉积层可以与下一轮的水蒸气反应,随后使反 $Al(CH_3)_3$ 进入反应室反应。一个 ALD 反应循环中的每一处理步骤的持续时间都选择充足的反应时间,而不提供过量的前体或排气。例如在氧化铝沉积操作实例中,一个 ALD 循环可如下应用,使 1s 金属前体蒸气流进入反应室,其后用 5s 氮气冲洗,然后 1s 水蒸气流和随后的另外 5s 的氮气冲洗。此循环结束后形成的一层氧化铝可以为例如单分子层厚度的三分之一。

[0116] 在这种 ALD 氧化铝层的加工条件下,据实验测定每个反应循环的 Al_2O_3 沉积率为 $0.99 \pm 0.12 \text{ \AA}$, 与循环的总次数无关。沉积率经过 20-500 个循环的验证。这样,从一个直径 2nm 的纳米孔开始,纳米孔直径经过 5 个氧化铝沉积处理循环,可以缩小到 1nm,误差仅为 $\pm 1.2 \text{ \AA}$ 。

[0117] 在本发明提供的一项备择技术中,可在纳米孔表面及支撑结构上沉积聚四氟乙烯 (Teflon) 样层,如美国专利第 5,888,591 号, Gleason 等, “Chemical Vapor Deposition of Fluorocarbon Polymer Thin Films,”(氟烃聚合物薄膜的化学蒸气沉积)中所授,这里通

过引用结合到本文中。

[0118] 要连接固态纳米孔与纳米管探针,优选在选择的结构将纳米管和纳米孔整合为一体。在一项制造技术中,碳纳米管直接在感兴趣的支撑结构中合成,如美国专利申请公布说明书第 2005/0007002 号, Golovchenko 等,“Carbon Nanotube Device Fabrication,”(碳纳米管设备制造)所教授的,其全文通过引用方式结合到本文中。

[0119] 在本技术中,能够精确控制催化剂特性,及相应精确控制纳米管的生长,使得水平定向的与支撑表面平行单壁纳米管可被选择性合成以形成纳米管探针。这个过程中,催化剂层是固体催化剂材料采用溅射、分子束外延、溶胶凝胶成型、电子束蒸发、热蒸发或其它选择的方法在支撑结构上蒸气沉积形成的。无论选择哪种蒸气沉积方法,优选能够控制达到很低覆盖度的蒸气沉积膜,这样选择的催化剂材料在膜和支撑基底上的沉淀不超过几个单分子层。

[0120] 在一个蒸气沉积方法的实例中,Fe 热蒸发法使用了铁箔点焊的钨舟,可在真空条件下,如压力在 10^{-5} 或 10^{-6} 毫米汞柱下进行,产生选择厚度的 Fe 催化剂层。无论采用何种催化剂材料和蒸气沉积法,优选产生的催化剂层厚度小于 2nm,或考虑其它方法。优选催化剂层的特征是层的覆盖度为 8×10^{15} 原子/cm² 或者更小。可以理解当催化剂层厚度增加时,由催化剂层水平合成的纳米管的直径也会相应的增大,而且在催化剂层厚度的阈值之上,形成多壁而非单壁的水平纳米管。如 2nm 厚或更薄的催化剂层被认为适合可靠并可预测的形成单壁纳米管。

[0121] 在一个制作操作程序的实例中,首先用常规方式在选择的结构上形成接触垫,例如用钯层来形成与纳米管探针的欧姆接触。在纳米孔位置附近形成接触垫。在单层或多层金属接触垫顶部形成纳米管催化剂层。然后应用常规的剥离技术,移去成型的(patterned)光致抗蚀剂层,产生成型的催化剂/电极区域。这种技术尤其有利,因为它能够一步形成纳米管探针接触垫和催化剂层。对于实际应用,催化剂区域的范围与纳米管探针接触垫的范围重合是可以接受的,因此优选本方法。

[0122] 如果对于特定的实际应用,优选催化剂区域不完全包括接触垫,然后可以进行一个附加的复印和蚀刻程序来除去在接触垫部分的催化剂材料。在一个实例操作中,用例如成型的光致抗蚀剂层遮盖催化剂层,暴露区域的催化剂层将会被去除。采用干燥的蚀刻方法,如等离子蚀刻,粒子束蚀刻或其它技术来去除不需要的催化剂层区域。已有公认在金属电极材料打底基础上蚀刻催化剂材料时,很多催化剂层蚀刻方法可能并不具有显著的选择性。因此,可以优选定时方法或其它方法来控制催化剂蚀刻处理以保证金属接触垫材料完整保存。

[0123] 在一个备择方法中,催化剂层可按与制做纳米管探针接触垫层分开的步骤顺序成型并被蚀刻。例如,可通过如前描述的常规剥离技术使接触垫层成型,然后用第二单独的剥离程序来沉积和成型催化剂层。此方案中,在生成的接触垫上形成光致抗蚀剂层并成型以暴露接触垫预期用于提供纳米管催化剂层的区域。然后毡毯状沉积(blanket-deposited)催化剂层,优选通过前面所述的选择的蒸气沉积处理方法。然后实施剥离光致抗蚀剂层来去除催化剂层的部分,结果在接触垫上成型催化剂区。

[0124] 并不要求用剥离的方法来使催化剂层成型,相反催化剂层可以在接触垫上毡毯状沉积然后被蚀刻,如对覆盖在催化剂层顶部的光致抗蚀剂层复印成型,并将其成型以限定

独特的催化剂岛。然后按照常规方式通过光致抗蚀剂层模型暴露的催化剂区域进行蚀刻。此方法,像催化剂剥离方法,有利于精确形成并不需要延伸跨越整个电极接触垫的催化剂岛,因此更精准的限定了纳米管合成的位置。

[0125] 无论采用什么加工程序来生成接触垫和催化剂区域,按照本发明优选将接触垫和催化剂区域延伸跨越一个孔的预定位置,这样产生的孔穿过接触垫和催化剂层,使得接触垫和催化剂区域可根据孔的边缘自动调整。结果产生两个被孔分开的接触垫。催化剂层区域也可以邻接孔的边缘但并不延伸穿过接触垫的扩展部分。这种情况可以通过前面所述的各种催化剂层蚀刻方法产生。无论需要什么样的催化剂图形优选通过能够精确定义位置和催化剂区域范围的蚀刻方法制造。这种石印催化剂限定与催化剂薄层的蒸气沉积法相结合使纳米管精确合成成为可能。

[0126] 这种对催化剂区域的石印限定并不要求对催化剂层进行蚀刻。例如以前面描述的方式对催化剂层进行毡毯状沉积,然后沉积形成一覆盖层并被成型。覆盖层图形暴露出催化剂层上预期用于合成纳米管的区域,剩下的被覆盖的催化剂层可抑制纳米管的合成。采用本设置,催化剂层本身并不被蚀刻,而是通过蚀刻催化剂层暴露的精确位置以完成纳米管合成。

[0127] 一旦在接触垫上选定的位置形成了催化剂层区域,穿过将在其上提供纳米管的膜或其它支撑结构形成一个孔。在一个实例的方法中,按照前面描述的方式直接进行催化剂、接触垫和膜材料的聚焦离子束刻蚀,使得各层与孔自动排列成一行。生成的结构提供了含有接触垫和催化剂区域排列成一行的孔。或者,对每一需要蚀刻的层可以按照顺序进行蚀刻成图,通过提供特定的蚀刻配方尽可能一次蚀刻一层或多层。另外,大多数孔都能在特定的基质、膜或其它支撑结构中,用阵列(arrays)或其它适合特定实际应用的配置形成。

[0128] 一旦生成一个或多个选定的孔,就能在基质或膜上进行纳米管合成。进行纳米管合成特别产生一个或多个每孔交联的纳米孔,以与孔的边缘或接触垫连接。在一个合成方法的实例中,纳米管生成在适合的系统中进行,如熔炉系统。将所需在其上生成纳米管的基质装载入熔炉系统中,系统温度升高到预期的生成温度,例如约在 600°C -1500°C 之间,优选约为 900°C。在温度速变时,可以优选提供惰性气体流,如氩,来抑制接触垫材料、催化剂材料、膜和 / 或基质材料及其它本设置包含的材料的氧化。

[0129] 当达到预期的合成温度时,将气流转换为碳氢化合物气体,如甲烷气流。甲烷气流优选保持在约在 100sccm 到 400sccm 之间,优选流量约为 200sccm。依据本发明发现用此相对较低的气流,基本抑制了无定形碳在合成的纳米管上面和周围及基质区域的形成。作为依据本发明的结果,为了抑制无定形碳的形成除了甲烷外不需要包含氢或其它气流。依据本发明需要理解的是,当纳米管合成时气流方向对纳米管的定向的影响可忽略不计,因此并未对基质相对于气流的特定方向做出要求。

[0130] 根据特定的实际应用需要,催化剂材料在甲烷气流中的暴露可持续进行任何时间,以生产直径和数量选定的纳米管。对于很多实际应用,可以优选进行 10 分钟或更短时间的甲烷气流暴露以重复合成单壁纳米管。如果这不是必要条件,根据预期的纳米管壁厚度可持续通气任何选定时间。但是发现,缩短纳米管的合成时间更为适合,这归因于减少了纳米管和周围结构上的无定形碳的产生。

[0131] 用这种方法,可按照下面描述的方式在支撑结构表面在或将要形成纳米孔的孔的

位置附近选择性合成纳米管。已有公认,优选合成的纳米管的电特征以保证选择的纳米管具有发挥探针作用所必须的电特性。在预期有纳米管的纳米孔附近位置上合成的具有预期直径和电特性的纳米管,可被用如原子力显微镜悬臂的尖端手动推入位置。

[0132] 一个实际应用中,要将纳米管安装在致动结构的尖端,如:AFM 悬臂杆的尖端,以使安装在尖端的 DNA- 纳米孔复合物移位穿过纳米孔。本发明提供一种制造安装在尖端上的选定长度的纳米管的技术,如公开号为 W02007/044035 的 USSN11/008,402,Golovchenko 等,“Patterning by Energetically-Stimulated Local Removal of Solid-Condensed-Gas Layers and Solid State Chemical Reactions Produced With Such Layers(通过能量驱动局部去除固态冷凝气体层得到的图案和与该层发生的固态化学反应)”所授,其全文通过引用结合到本文中。此技术也能可用来生成所需长度的纳米管作为纳米管探针或者用于 DNA- 纳米管杂化复合物中。

[0133] 在这种处理顺序的第一步中,纳米管支架上提供一个纳米管,该纳米支架可以在结构支撑台上提供以实现热及电的连接,便于控制结构的电和热状态。优选纳米管支架能够与结构支撑台相配合,这样能够实现热和电与纳米管连接。纳米管支架可以如下形式提供,例如:AFM 的尖端或其它适合的机械上稳固的结构,如悬臂结构,纳米管可以在其上安装并被致动以控制移位穿过纳米孔,如果这是有待于从事的应用。

[0134] 纳米管可以用多种方式安置在纳米管支架上。对于很多实际应用,可优选按照前面描述的技术在支架上原位生长纳米管。但是当纳米管在生成时任何适合的碳纳米管合成技术都可以用于在纳米管支架上定位碳纳米管。或者,碳纳米管能够在除纳米管支架以外的位置合成然后被转运或安置于支架上。或者,纳米管可以用常规的方式从基质中垂直生成,然后通过沿纳米管长度上的一点使支架与纳米管接触将其直接拔出到支架上。纳米管稳固附着在支架上能够通过如下实现,例如:用电子束指向支架建立一个碳残基,它能够在支架和纳米管之间起到粘合作用。公认这种附着技术是具有挑战性的,因此优选直接在感兴趣的支架上原位生成纳米管。

[0135] 一旦纳米管被安置于纳米管支架上,纳米管和支架都置于在处理室中的结构支撑台上。然后通过将纳米管暴露于在纳米管温度低于约 130K,局部压力小于约 10^{-4} T 的水蒸气中,在纳米管上形成一层固体冰凝结层。在这些条件下,能够控制具有 1 μ m 厚度的固体冰凝结覆盖层沉积在纳米管上。发现固体冰凝结覆盖层在三维结构,如纳米管的形成具有相当方向性,因此最好考虑蒸汽喷射器在处理室上的位置与纳米管支架位置间的距离。覆盖层的形成可通过如:当蒸汽冷凝过程进行时的纳米管电镜成像,进行原位监控。

[0136] 一旦在纳米管上形成覆盖层,用能量束指向覆盖层上与沿纳米管将要被切割缩短的位点相对应的的位置。可以采用电镜或其它成像系统和技术进行纳米管成像以测定其初始长度并确定为缩短管的长度要被切开的位点。然后使能量束,如:3KeV,50pA 的电子束,或离子束,指向那个纳米管预期切割的位置以局部去除固体凝结覆盖层。

[0137] 一旦完成局部去除固体凝结覆盖层,因此暴露出下面纳米管的一个位置,然后纳米管本身被切断。用能量束指向纳米管上通过局部去除固体凝结覆盖层而暴露出的部分,然后将纳米管切割至预期长度。用来切割纳米管的能量束可与用来局部去除固体凝结覆盖层的能量束一样或完全不同。无论采用何种纳米管切割束,固体凝结覆盖层起到保护纳米管的作用并防止它弯曲或当切割束指向暴露的纳米管部分并聚焦在暴露的部分时离开能

量束。当纳米管在暴露部分被切割时,固体凝结覆盖层进一步起到保护和保持纳米管稳定的作用。因此,不需要高度聚焦的切割束,局部去除固体凝结覆盖层的线宽可被用于设置纳米管切割方法的分辨率。

[0138] 这种方案的一个实例中,电子束可被用于在纳米管上局部去除固体冰凝结覆盖层的一个区域,如:前面描述的3KeV,50pA的束可被用于局部去除在温度为128K,压力为 10^{-4} T时在纳米管上形成的冰覆盖层。然后可采用离子束在纳米管上冰覆盖层被局部去除的位置切割纳米管。例如能量为30KeV,电流为10pA的 Ga^+ 离子束可用于切割纳米管。这里,较低聚焦的离子束被用于切割具有固体冰凝结覆盖层保护的纳米管。

[0139] 一旦纳米管被切割,固体凝结覆盖层可以被移除。对于很多实际应用,可以优选通过使其从固体相转化回蒸汽相以去除覆盖层。这种汽化可最小化残渣在纳米管上的形成和可能对纳米管造成的损伤。在一个实例的方法中冰凝结覆盖层是通过升高纳米管的温度达到足以在感兴趣的压力下升华的温度而实现升华。例如:在约 10^{-4} T的压力下,温度至少约为180K下可使冰凝结层升华。发现这可以导致冰凝结层变成汽相完全被去除,基本上无残渣或对易弯曲或易受损的纳米管无害。如前面所解释可以用任何合适的方式去除凝结覆盖层,包括湿态化学法和等离子或其它蒸汽方法。伴随去除这一步骤,制造了选定长度的纳米管。

[0140] 可根据需要采用所描述的各种制造方法来生产选择的分子装置设置。下面的实施例演示了生产一系列装置设置的制造技术。

[0141] 实施例 I

[0142] 参见图8A-8B,依据本发明在第一个生产电子分子分析装置的实施例的制造程序中,用常规方式提供了支撑结构200,如:约为200纳米厚的氮化硅膜,如同美国专利申请公布说明书US2005/0006224, Golovchenko等,“Pulsed Ion Beam Control of Solid State Features(固态特征的脉冲离子束控制)”所授。如从上向下的平面视图的图8A所示,提供了膜,膜上具有通过电子束蚀刻、离子束磨削、湿法蚀刻、等离子蚀刻、离子束雕刻等方法或其它适合的方法生成的初始孔205。

[0143] 在一个例子中,初始的孔通常为圆形,直径约在如:50nm到100nm之间。如图8A的平面视图和图8B的侧视图所示,支撑结构200具有位于结构上表面的一个上槽或沟208和位于结构的下表面的一个下槽210。上下槽208,210互相成直角,孔205形成于两个槽的交叉点。如下面所解释,这种方位使纳米管探针定位的自动排列成为可能。

[0144] 上下槽可以通过使用聚焦离子束方法或通过用标准模式掩蔽和蚀刻法生产。对于很多实际应用,可以形成宽度小于100nm并且深度约为支撑结构膜厚度二分之一的槽。用特定方法生产的槽的准确深度可以通过测试一系列深度逐步增加的槽进行确定,例如:对于200nm厚的膜,深度为50nm、70nm、90nm、110nm等的槽,用来校准一批特定的氮化硅膜的程序。生成预期直径的初始纳米管的槽的深度,例如大约在50nm到100nm之间,通常能够以开回路模式使用以进行随后的制造。

[0145] 完成这种支撑结构的设置后,在上槽208中提供纳米管212,穿过孔205。纳米管212可以通过在孔处原位合成纳米管或者在孔处安置一个自由纳米管使纳米管212被安置在槽中孔的位置。可以按照前面描述的方式来进行纳米管的原位合成,例如,在上槽内用催化剂沉积并成型,然后合成CVD纳米管。或者,在非水溶液中提供的预先合成的纳米管可被

分配到支撑结构的表面上,然后选定的纳米管被机械转运到槽中。

[0146] 这种选定纳米管的机械转运经实验验证可使其精确运动和定位到预先指定的位置。在一项这种运动和定位的技术中,采用 AFM 的尖端使纳米管滚动穿过表面,向下进入槽到达孔的位置。为了清楚起见,图 8 不是按比例显示。纳米管的直径比槽的深度和宽度明显小很多倍。另外,表面吸引作用,如范德华力,使纳米管倾向于留在表面上的位置。结果表明,纳米管可被 AFM 尖端很好的控制并滚动穿过表面掉下槽壁进入孔位置的所期望位点。

[0147] 如前所述,‘选择的纳米管可通过合成前形成的接触垫电接触,或者随后通过形成,例如按次序用常规方法,如:像 Javey, A., 等 Nature 424 :654 (2003) and Javey, A. 等 Nano Letters 4 :447 (2004) 中一样与更大的与芯片外 (off-chip) 电路连接的金接触垫连接的钼接触垫电接触。在这种方法中,钼通过遮蔽气化到纳米管上接近孔周边的所需位置上。

[0148] 参见图 8C-8D,在下一处理步骤中,选择的涂层沉积在纳米管-支撑结构组件上。尤其适合的沉积技术是前面描述的原子层沉积法 (ALD)。ALD 法尤其适合是因为材料的沉积严格依赖于气相分子与羟基或将要沉积涂料的材料表面上可接触的其它功能性基团之间的化学作用。缺少这种功能性基团,则气相分子不会发生沉积。合成的碳纳米管通常没有提供必需的使气相原料沉积的羟基或其它功能性基团的功能性表面。这样,如果绝缘材料,如氧化铝或二氧化钪通过 ALD 沉积在一个包含硅、氮化硅和纳米管的装置设置上,氧化铝或二氧化钪将会在所有这些结构的表面上通过化学反应均匀的生成,包括新形成的氧化铝或二氧化钪表面,但是不会从表面上没有功能性基团如羟基的纳米管表面上生长。这种情况可用来实现这种材料在支撑结构上的定点沉积,但是不能直接在没有支撑的纳米管上,或上方 (on, from, or over) 进行,例如:不能在悬浮在孔上方的纳米管的上面或上方区域进行。即使在纳米管上没有材料沉积发生,也可以采用下面的制造顺序。

[0149] 在一个这样方案中,用前面所述的方式进行选定数量的 ALD 循环,在支撑结构 200 所有的表面上包括孔壁及槽 210 沉积材料。选定材料的沉积延伸并可覆盖支撑有或接近于任何氮化硅或新生成的 ALD 材料的纳米管区域,但是这种沉积不会自行从纳米管表面生成。当材料沉积继续进行,沉积材料在孔上的堆积减小了孔的范围。相应地,沉积处理继续进行直到达到选定的最终纳米孔直径,例如:约在 2nm 到 10nm 的直径。由于 ALD 方法非常精确的特性,对于特定的支撑结构及纳米管布置和尺寸,每个 ALD 循环生成的材料的厚度可被精确的鉴定,并可精确调控获得选定的最终纳米孔直径,并使纳米管上表面被覆盖。例如:初始的孔为 50nm,220 个 ALD 循环,每循环增加一层 1 埃的厚度,最终产生直径为 6 纳米的孔。

[0150] 一旦通过 ALD 方法获得最终纳米孔的直径,在纳米孔周边上进行纳米管探针的设置。参见图 8E-8F,此设置是通过切开暴露安置的横穿最终纳米孔的纳米管产生两个邻接在纳米孔周边上的纳米管末端 216、218 而获得的。在一个切割纳米管技术的实例中,能量束 220,例如高能电子束或优选的粒子束直接从支撑结构的底部或顶部穿过纳米孔。能量束从纳米孔移除暴露的未受保护的纳米管,同时氧化铝或其它 ALD 覆盖层保护 ALD 覆盖的纳米管和支撑结构的区域不受能量束的破坏。这样纳米孔作为蚀刻的遮蔽物,暴露出有待从穿过纳米孔被移除的裸露的纳米管,同时剩下的结构被在最终的纳米孔直径内缺失的 ALD 覆盖层所保护。一旦裸露的纳米管被从纳米孔移除,如图 1A 所示的功能性分子鉴定装置就制

成了,其具有邻接在纳米孔周边上的纳米管探针末端。

[0151] 实施例 II

[0152] 参见图 9A-9C,在另一个制造电子分子分析装置的制造程序中,按照实施例 I 的方式提供具有孔 205 的支撑结构 200 如氮化硅膜。如实施例 I,分别在支撑结构表面的顶部和底部提供相互成直角的槽 208、210,孔位于槽的交叉点。

[0153] 这种设置到位后,按照实施例 I 的方式在下槽 225 (210) 中设置纳米管 225。图 9A 显示了结构的上面,显示纳米管穿过孔,同时 9C 描述了结构的底部平面图,显示在下槽中的纳米管穿过孔。

[0154] 如图 9B 的末端视图所示,在下一加工步骤中,在制作程序末期,使能量束 226,如离子束从膜的上面以一个选定的角度穿过孔,在一个位点上切割纳米管,使其邻接最终的纳米孔周边,例如:以 64 度的角度,尤其是为了显示的特定的几何外形。对于特定的几何外形,需要确定相应的角度。此有角度的能量束冲击并移除在能量束的路径上的孔中纳米管部分。制成的结构如图 9D-F 所示。纳米管 225 在孔中的部分 228 由于其不在离子束的路径上而保留下来并伸入到纳米孔中。

[0155] 参见图 9G-I,在下一个加工步骤中,在上槽 208 中提供第二纳米管 230,使其偏离中心延伸穿过孔。第二纳米管 230 可以在槽的位置原位合成,或如果需要可用机械安置在槽中偏离中心穿过孔,如前实施例 I。在任一个例子中,如果需要,第二纳米管 230 不是安置在孔的中心而是如图 9G-I 所示槽的位置,从而使它的侧面会正好邻接在最终纳米孔周边上。

[0156] 第二纳米管安置好后,然后如图 9J-L 所示,选定的材料沉积在支撑结构上,例如按前面所述的方式通过 ALD 法。如实施例 I,材料沉积在所有的表面上,除了无支撑的纳米管外都形成一层 232,产生如图 9J 所示的结构。

[0157] 如图 9K 所示,当材料沉积时,孔的直径因为沉积材料而减小。沉积材料的形成也逐渐覆盖第一纳米管 225 的伸出部分 228 和第二纳米管 230 的上表面。材料沉积继续进行直到达到选定的纳米孔直径,伸出的纳米管部分 228 和第二纳米管 230 的边缘定位于最终纳米孔周边上。为了实现这种情况,调整选择的沉积方法如 ALD 使其特别适用于指定的支撑和纳米管排列,,以保证在沉积过程中的某一点获得所需的纳米孔直径,在这一点上突出的纳米管部分 228 和第二纳米管 230 除了刚好在纳米孔周边上的区域,其余都被材料覆盖如图 9L 所示。

[0158] 沉积完成后,一个全功能的具有图 2A-2C 布置的分子鉴定装置就制成了。参见图 9I,与突出的纳米管部分 228 相对的第一纳米管 225 的部分 234 没有电连接,没有形成图 2B 所示的电路 28、52 的部分。突出的纳米管部分 228 和第二纳米管 230 形成两个纳米管探针,一个末端定向,一个侧面定向,分别连在两个电路中以控制和分析移位穿过纳米孔的 DNA。

[0159] 实施例 III

[0160] 实施例 II 的制作程序可被扩展用来制作前面描述的图 3A-C 和图 4A 的分子分析装置。参见图 10A-C,在此扩展的方法中,在具有在底部槽 210 与上部槽 208 交叉点上的孔 205 的支撑膜 200 的底部槽 210 中提供纳米管 225,如图 9A-C。像实施例 II 和图 9B 一样,采用能量束来移除纳米管 225 的一部分,导致在孔中突出的纳米管 228,如图 10A-C。如果需要,然后在支撑结构上槽 208 中孔的边界上安置第二纳米管 230,如图 9G-I 和 10D-F。

[0161] 参见图 10G-I, 第三纳米管 234 安置在支撑结构 200 的上表面上, 与在上槽 208 中的和孔周边位置上的第二纳米管 230 成直角。第三纳米管 234 可在原位合成或人工安置在选定的位置, 都如前所述。

[0162] 在最后的加工步骤中, 参见图 10J-L, 选择的材料通过 ALD 等方法以上述方式沉积在支撑结构上。沉积材料在支撑结构和上槽的上表面成一层 236, 但不在第二纳米管 230 上发生, 如图 9J 所示。第三纳米管 234 在孔的区域保持未覆盖, 归因于未功能化的纳米管表面和在孔内第三纳米管周围缺少膜材料。因此, 第三纳米管在孔周边上保持暴露。

[0163] 沉积材料层 232 也覆盖支撑结构的底面, 如图 10L 所示。如图 10K 所示, 当材料沉积进行时, 孔的直径因为沉积材料而减小。沉积材料的形成也逐渐覆盖第一纳米管 225 的伸出部分 228 和第二纳米管 230 的上表面。材料沉积继续进行直到达到选定的纳米孔直径, 伸出的纳米管部分 228 和第二纳米管 230 的边缘定位在最终纳米孔周边上。为了实现这种情况, 调整选择的沉积方法如 ALD 使其特别适用于指定的支撑和纳米管布置, 以保证在沉积过程中的某一点获得所需的纳米孔直径, 在这一点上突出的纳米管部分 228 和第二纳米管 230 除了刚好在纳米孔周边上的区域, 其余都被材料覆盖, 如图 10L 所示。

[0164] 沉积完成后, 提供具有侧面定向移位控制纳米管 234, 一个末端定向的纳米管探针 228 及一个侧面定向的纳米管探针 230 的纳米孔。此实例的制造程序产生一个与侧面定向纳米管探针 230 成直角的移位控制纳米管 234。在图 4A 显示的装置的排列中, 移位控制纳米管 65 与侧面定向纳米管探针 50 平行。依据本发明两种排列都可采用, 此实施例说明可以通过选择的制造程序获得一系列设置。

[0165] 如果需要采用两个末端定向的纳米管探针和一个移位控制纳米管, 如图 3A-3C 的布置, 则可组合实施例 I 和 III 的制造程序。在图 8C-8F 的沉积和移除纳米管步骤前, 可以在支撑结构的上表面提供图 10G-I 的第三纳米管 234; 然后可以进行沉积和蚀刻步骤以产生图 3A-3C 的结构。

[0166] 实施例 IV

[0167] 依据本发明在另一个用来制造分子分析装置的制造程序中, 提供一个末端定向的纳米管探针和一个沿纳米孔长度方向安置的侧面定向的纳米管探针, 如图 4B 中的布置。参见图 11A-B, 在制造程序的第一步, 提供相对较厚的支撑结构, 如: 厚的氮化硅膜。例如, 可以采用厚度约为如 800nm 的氮化物膜。用前面所述的方式在膜内提供一系列的孔。图 11A 是其中提供两个孔 242、244 的较厚的膜 240 从上向下的平面示意图。图 11B 是图 11A 的膜结构的侧端视图。

[0168] 在下一步加工步骤中, 如图 11C-D 所示, 采用能量束 246, 如离子束, 或标准石印方法移除膜上例如约三分之一的膜材料, 使得与原来膜的表面成直角的新的膜表面横穿原来膜的孔径。然后在膜的底部重复这个程序来移除例如约三分之一的膜的材料, 再次生成一个与原来膜的表面成直角的新的膜表面, 其横穿原来膜的孔径。结果, 原来膜的一部分现在就只有原来厚度的三分之一而原来膜的其它部分还保持原来的厚度。因为从顶部和底部的表面除去的膜的部分的边缘延伸穿过原来的孔径, 纵向的槽 248、250 沿着新产生的与原来膜表面成直角的膜的长度方向暴露。这些槽延伸作为孔穿过剩余膜的厚度, 剩余膜的表面与原来膜的表面平行。

[0169] 在下一处理步骤中, 参见图 11E-F, 按照前面描述的方式在膜结构上原位合成纳米

管。催化剂材料在槽的附近和内部邻近孔的几个位置沉积并成型,其沉积和成型的地点在一个新生成的成直角的膜的表面和其表面与原来的膜表面平行的剩余膜上。然后在膜结构上合成纳米管。图 11E-F 描述了若干在膜支持结构上合成的纳米管,如 252、254、256、258。假设在膜结构上提供若干纳米管,认为至少有一个合成的纳米管预期沿着槽生成并穿过孔贯穿其表面与原来膜表面平行的剩余膜的厚度膜,如图 11E 中膜上孔 242 中的纳米管 256。

[0170] 确认穿过孔 242 的纳米管 256 被合成后,在如图 11G-H 所示下一步加工步骤中,人工安置与孔 242 相对的选择的第二纳米管 260,使得第二纳米管 260 的末端 262 恰好伸入孔 242。或者,可安置第二纳米管使得纳米管长的一侧偏离中心穿过孔,如前实施例 I。在这种情况下,第二纳米管没有安置在孔的中心而是在膜的表面上一个位置,这样它的侧面会刚好邻接在最终纳米孔周边上,如实施例 II 中侧面接触的纳米管所示。参看图 11I-J,在下一加工步骤中,一层材料 265 被沉积,如通过 ALD,以覆盖所有暴露的膜结构并减小孔到最终所预期的直径大小,如约在 2 纳米到 10nm 之间的纳米孔。

[0171] 因为很难人工安置纳米管 260 的末端使它的末端精确的邻接最终纳米孔周边,所以可能优选一开始就安置第二纳米管 260 使得其末端恰好伸入并穿过孔 242 的直径。因为突出的纳米管末端 262 仍保持未受 ALD 新沉积材料保护的状态,所以当最终纳米孔的直径通过 ALD 产生时,它可用从支持结构底部或顶部直接穿过纳米孔的电子束、离子束或任何其它能量束移除。如在实施例 I 中,能量束从纳米孔移除暴露的未受保护的纳米管材料,而氧化铝或其它 ALD 覆盖层保护 ALD 覆盖的纳米管和支持结构区域不受能量束破坏。

[0172] 同样参看图 11M,显示膜结构左侧端视图,可在图 11I-11L 所示的材料沉积前,优选在纳米孔 242 中垂直的纳米管 256 的末端提供金属接触垫。这种金属接触区域保护垂直的纳米管 256 的末端不被沉积材料覆盖同时也使金属连接到位。完成原料沉积后,就制成了如图 4B 所示的分子鉴定装置,具有第一垂直定向沿长度方向穿过纳米孔的纳米管探针和第二末端导向的纳米管探针。

[0173] 这些制作的实施例演示了很广泛的加工方法,可用来生产许多备择分子鉴定装置设置。本发明并不要求一个特定的制作过程,但是任何适合制作所预期的分子鉴定装置设置的生产过程都可以采用。

[0174] 通过讨论,显示本发明的基于纳米孔的分子鉴定仪器可用在一定范围的分子鉴定的实际应用中。本分子鉴定装置可满足 \$1,000/ 哺乳动物基因组的分析要求,因为仪器可基于它们的独特物理和电学特征,直接将 DNA 碱基序列转换为电信号;也因为仪器使单分子分析技术成为可能,这可获得大约 7.7 倍的测序覆盖率,或者在 Q20 bases 里大约 6.5 倍的覆盖率,在从 $< 10^6$ 的靶基因组中取样 DNA。这约对应于 2 纳克人类基因组原料,可直接获得而不需要用标准取样方法扩增。如果在碱基测序中,当碱基以 10^4 碱基/秒的速度通过纳米孔时,每个 DNA 核苷碱基都被确认,那么具有一组 100 个纳米孔的仪器可在大约 20 个小时内产生一个哺乳动物基因组的高品质的测序草图。

[0175] 于是,纳米孔设置赋予的高通量和空间限制与纳米管探针设置赋予的直接的电子分析、分子定向控制和分子移位速度控制相结合,提供了高带宽的分子鉴定方法,获得了快速、可靠、廉价的生物和医药领域实际应用都广泛需要的分子分析和鉴定。应当认为本领域技术人员能对前面所述的实施方案进行各种各样的修改和添加,但没有偏离本发明对现有技术所作贡献的精神和范围。因此,可以理解这里寻求获得的保护应该认为延伸到主题权

利要求书和所有在本发明范围内的同等物。

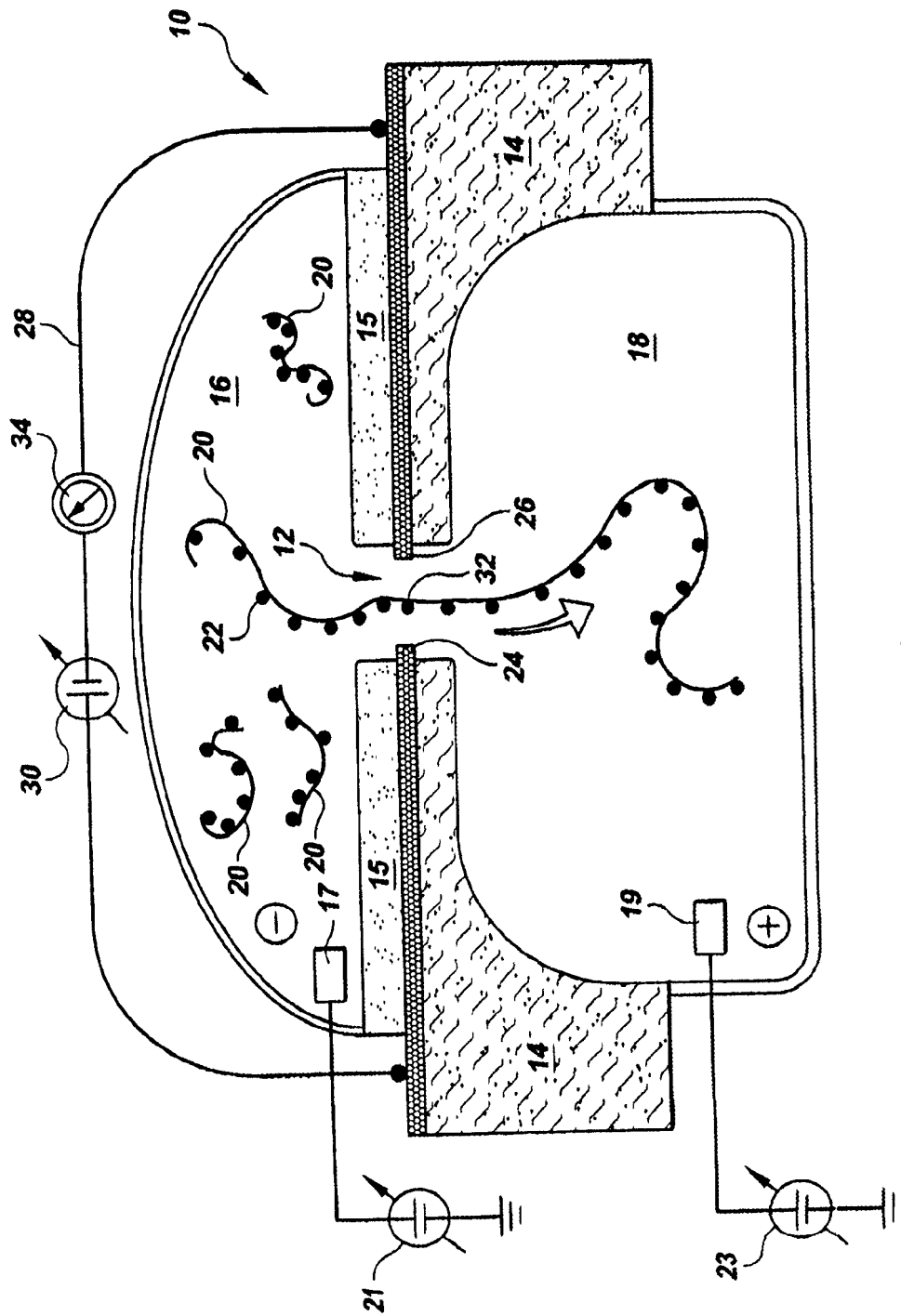


图 1A

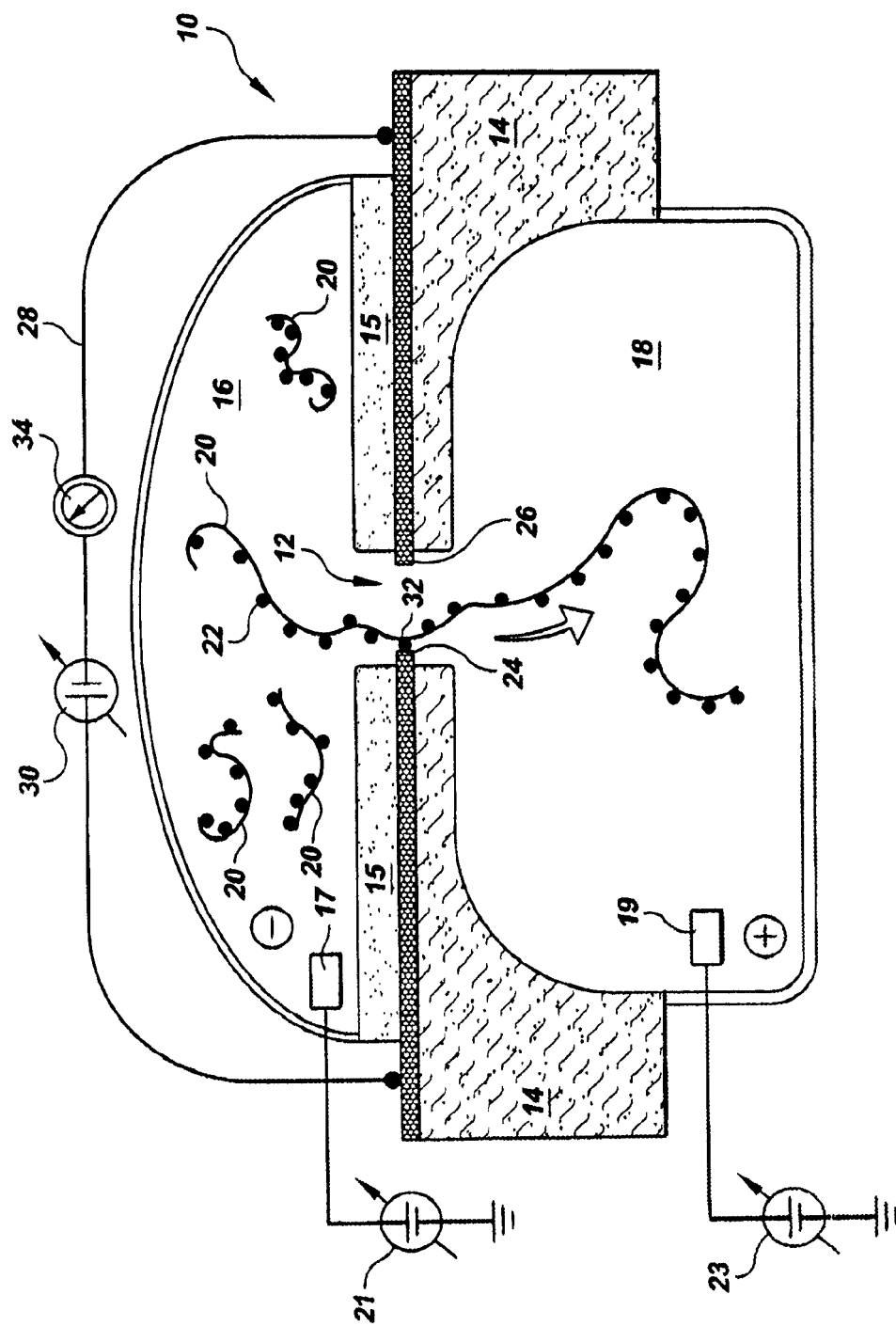


图 1C

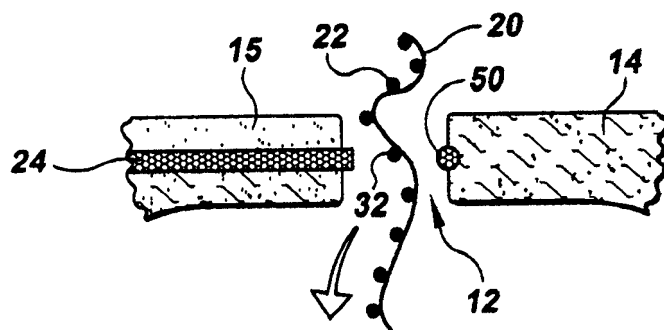


图 2A

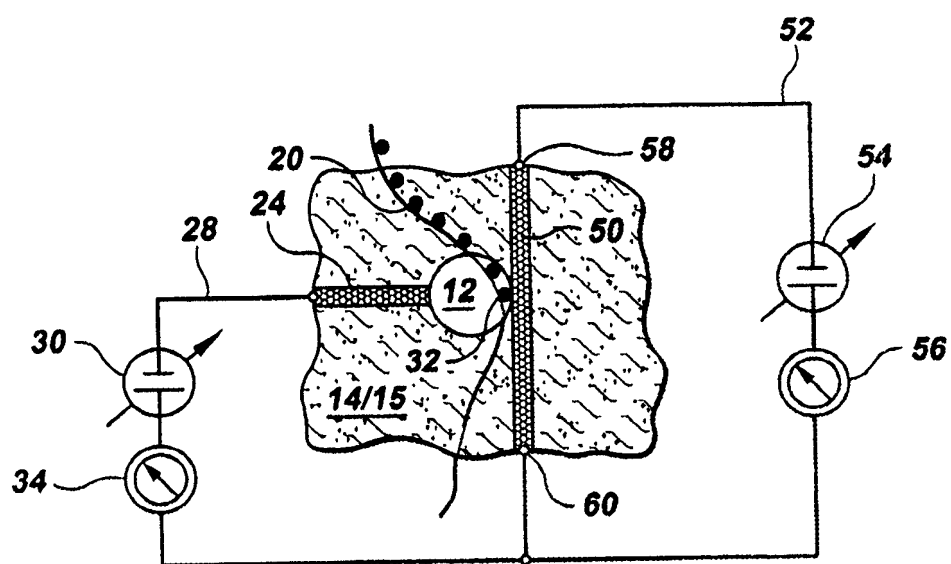


图 2B

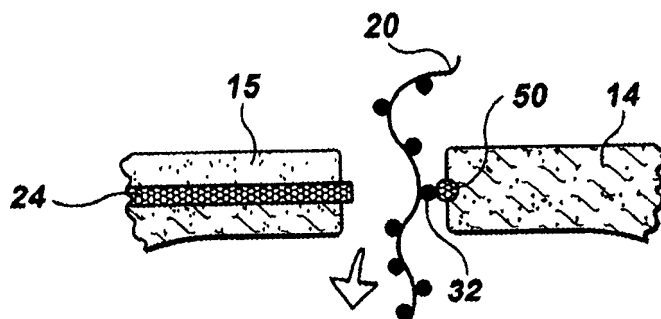


图 2C

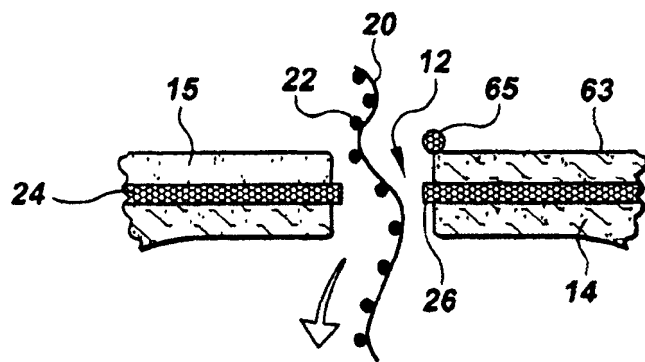


图 3A

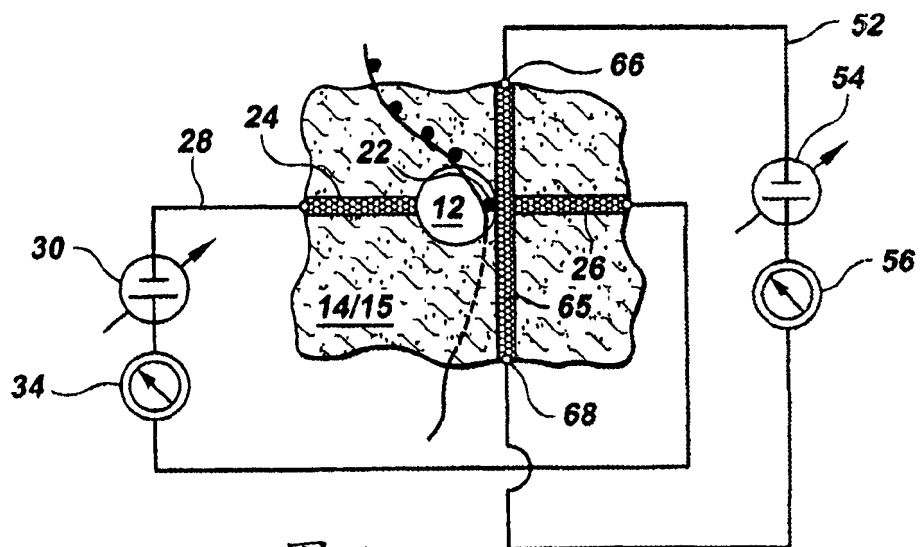


图 3B

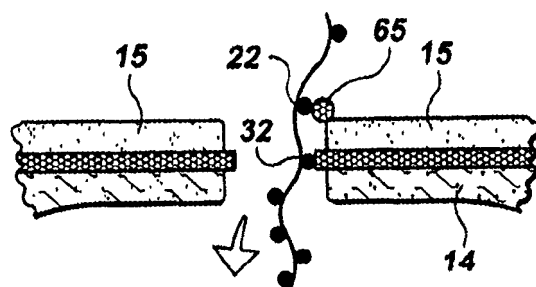


图 3C

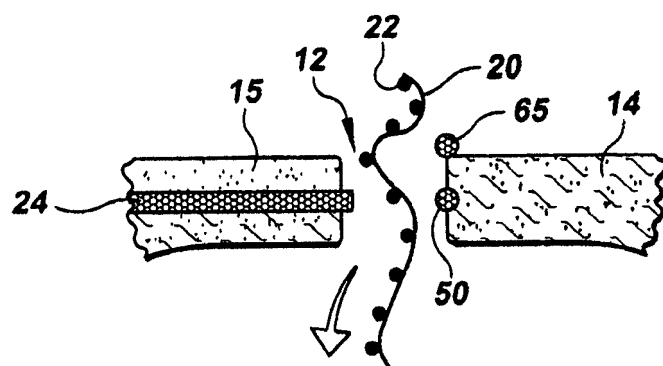


图 4A

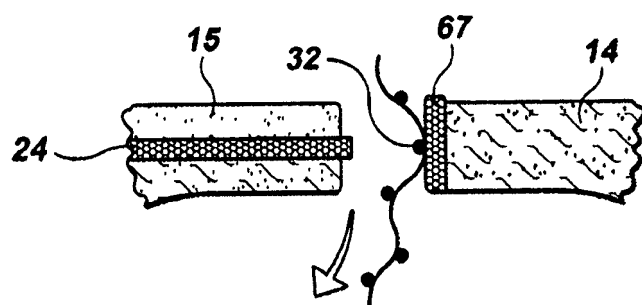


图 4B

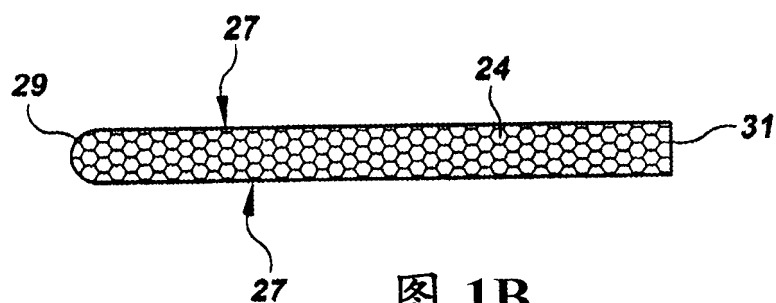


图 1B

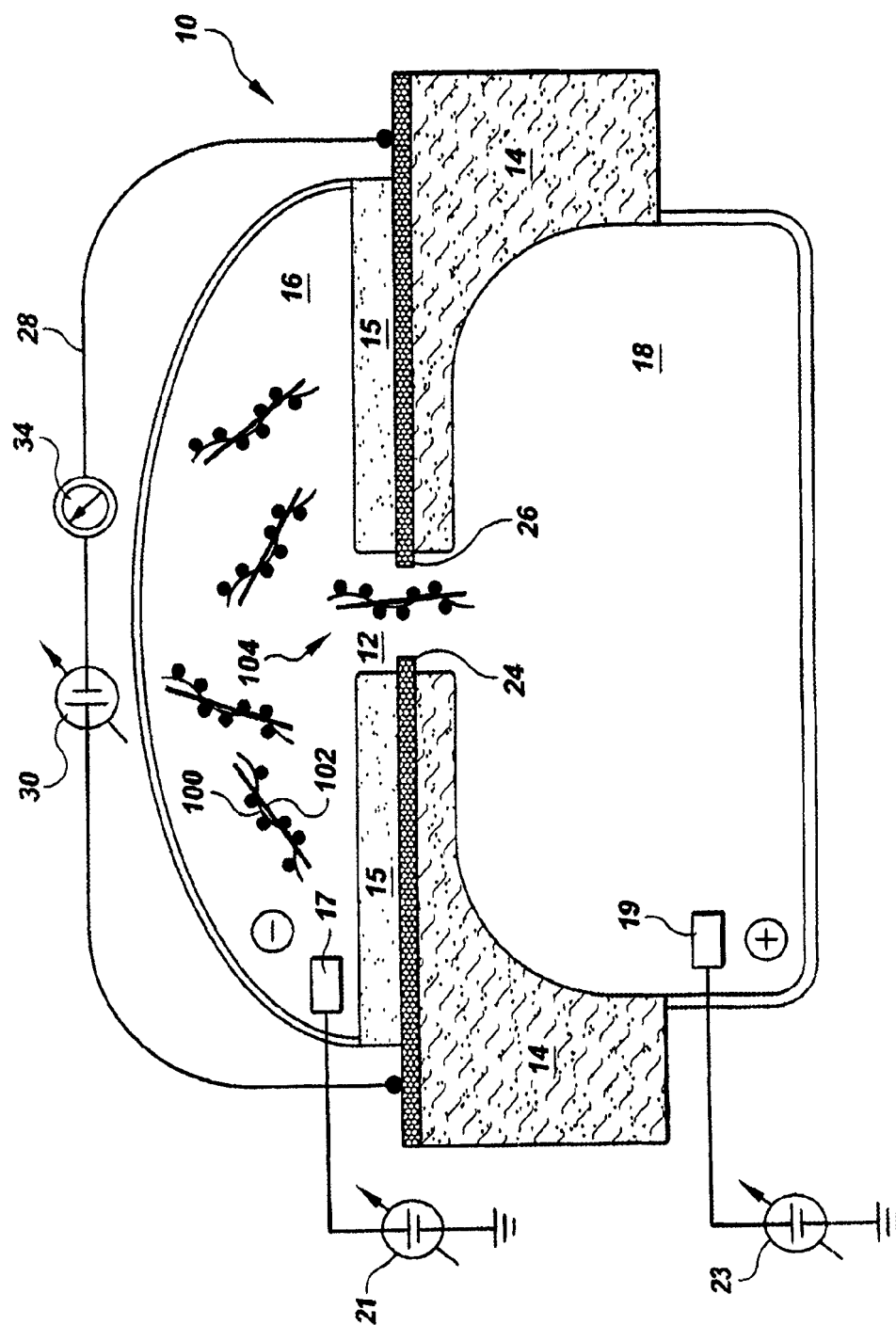


图 5A

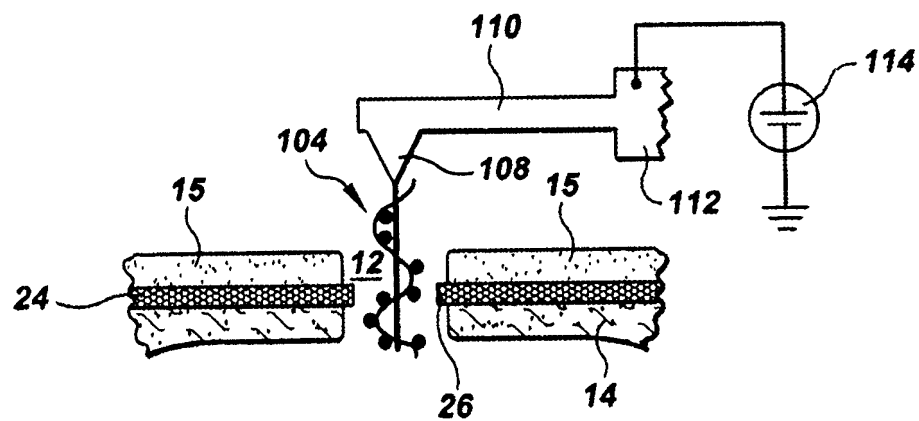


图 5B

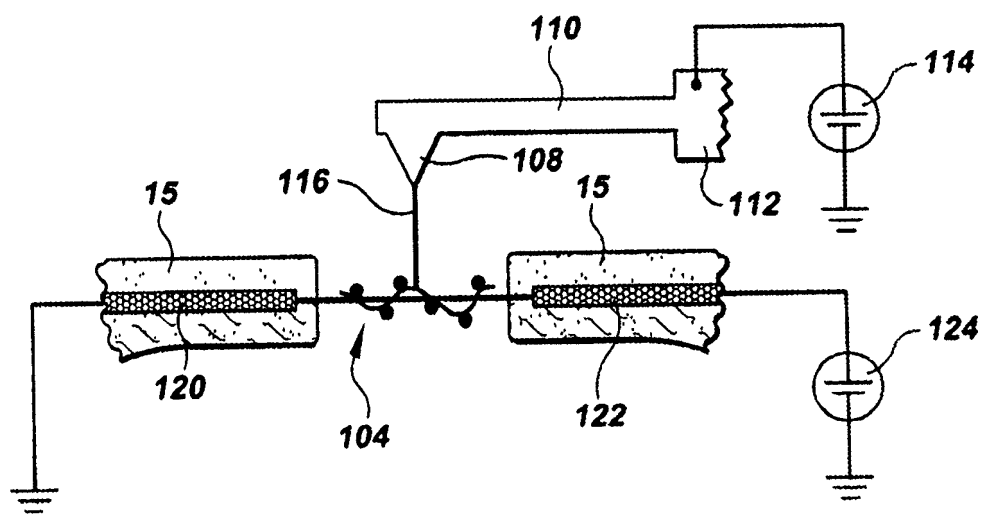


图 5C

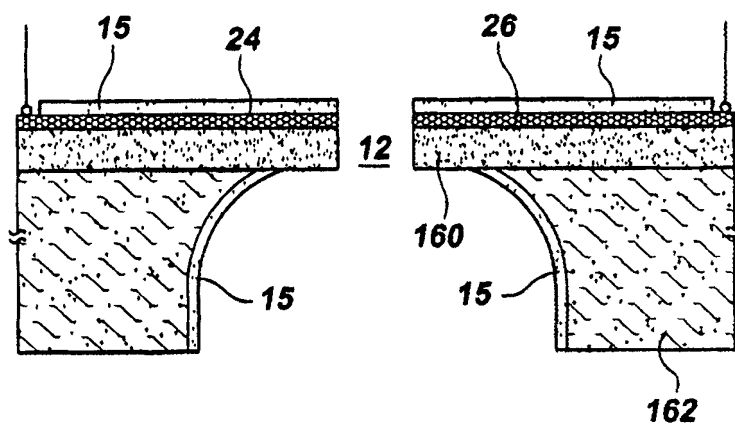


图 6

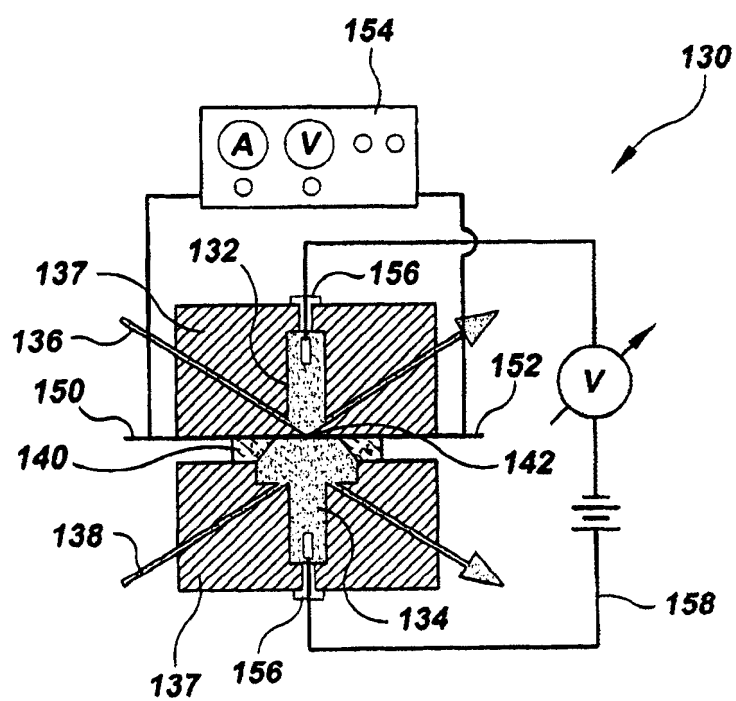


图 7

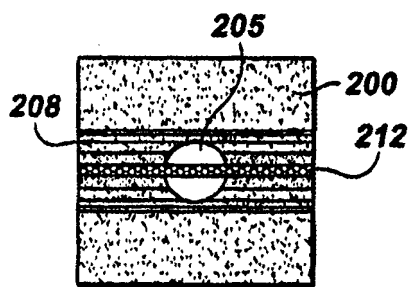


图 8A

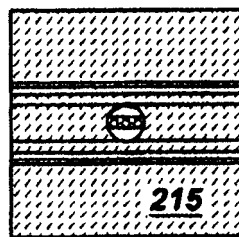


图 8C

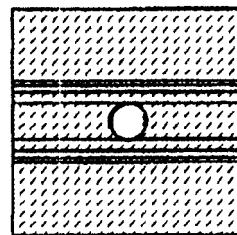


图 8E

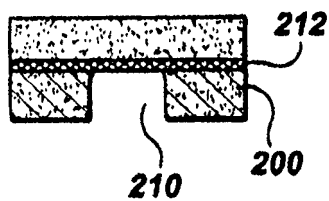


图 8B

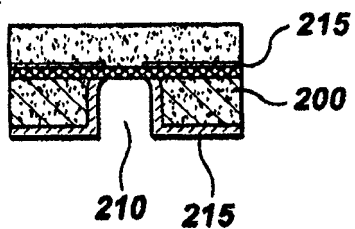


图 8D

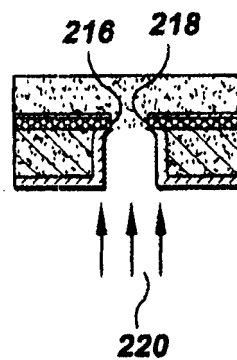
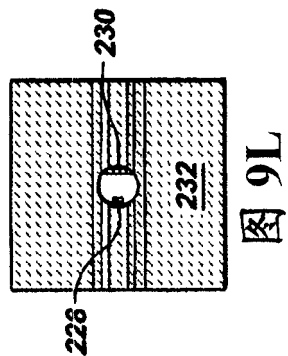
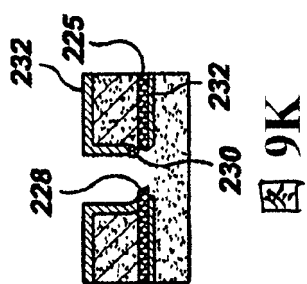
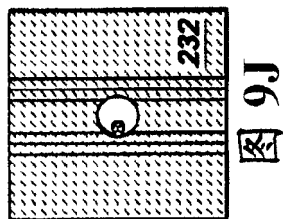
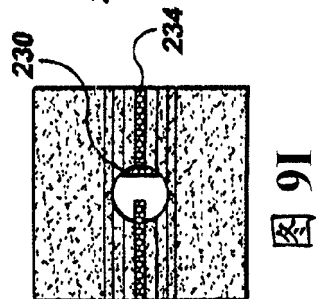
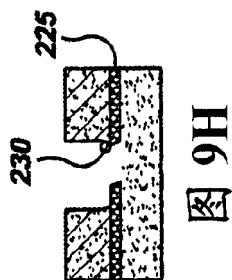
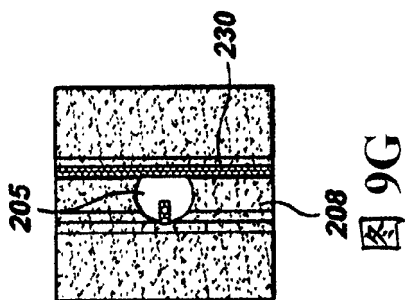
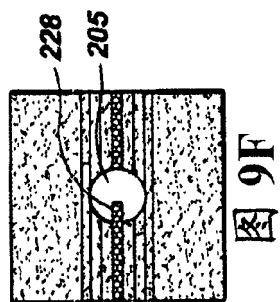
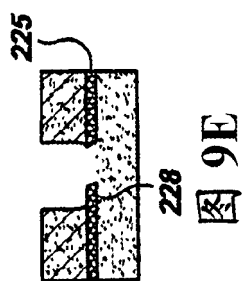
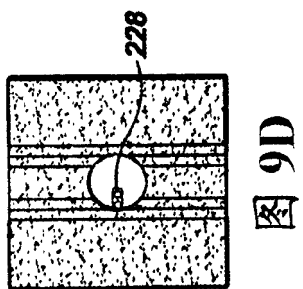
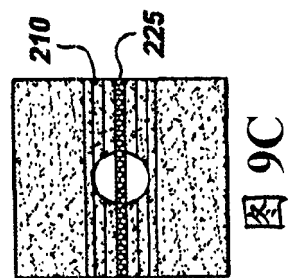
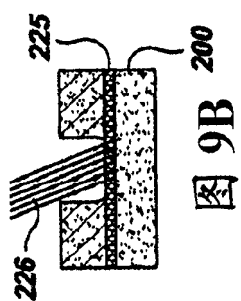
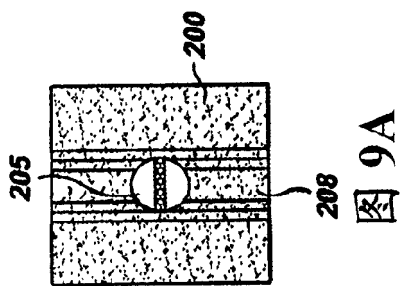
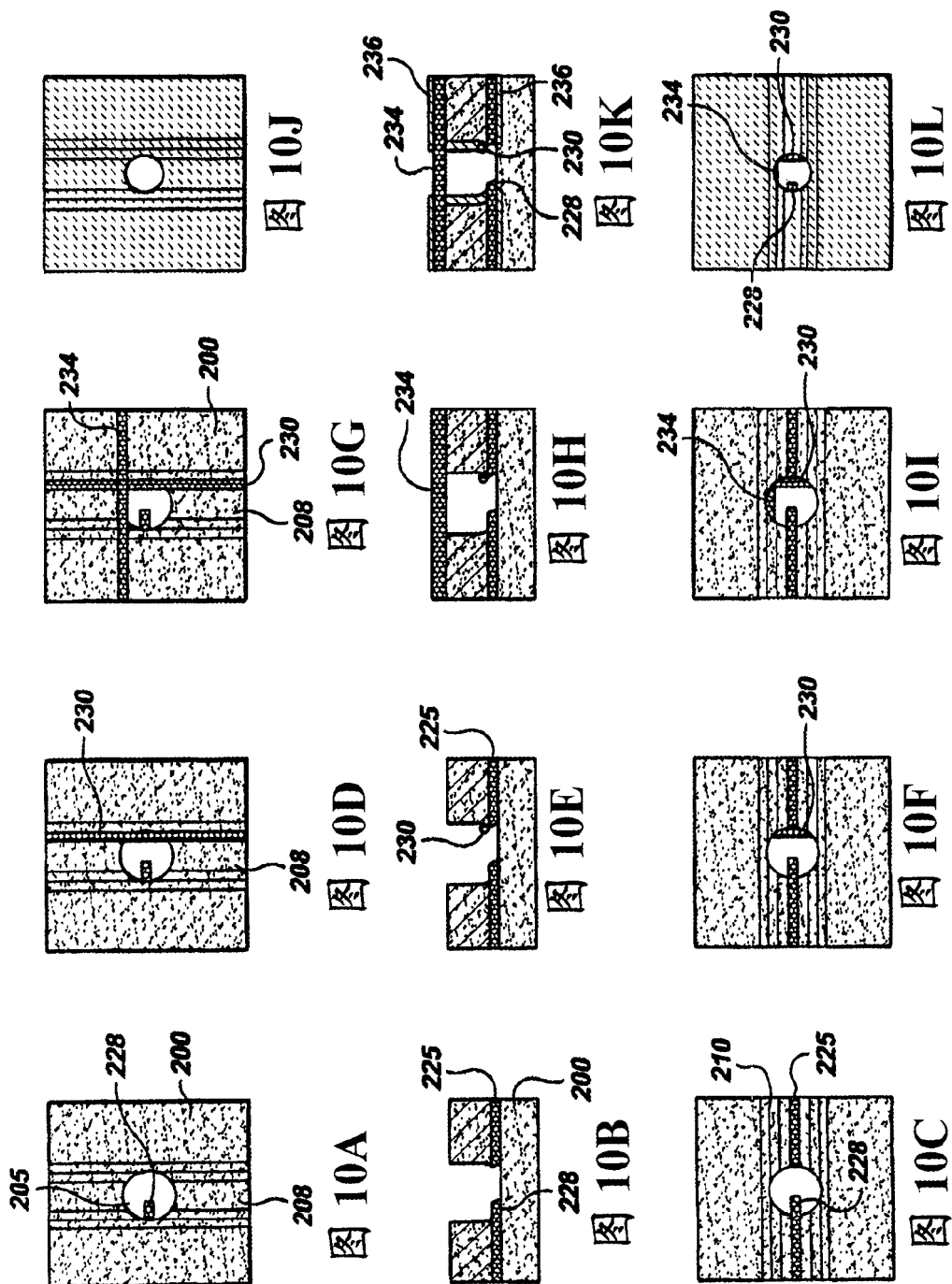


图 8F





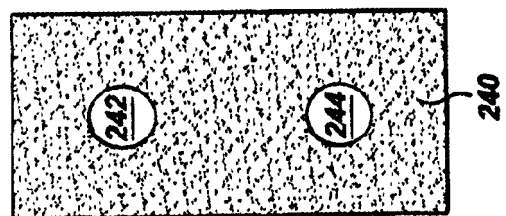


图 11A

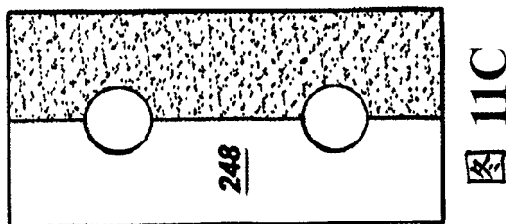


图 11C

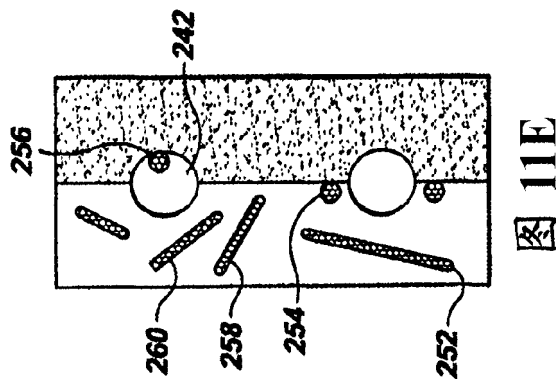


图 11E

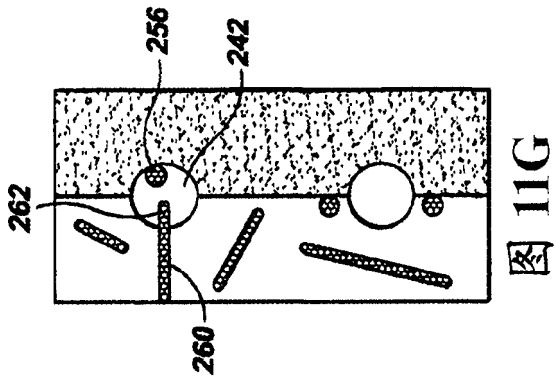


图 11G

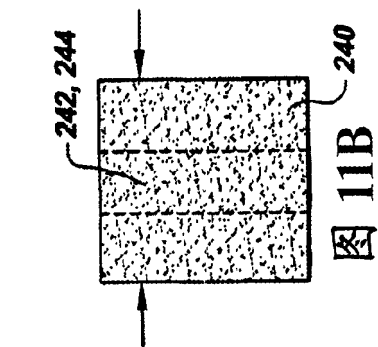


图 11B

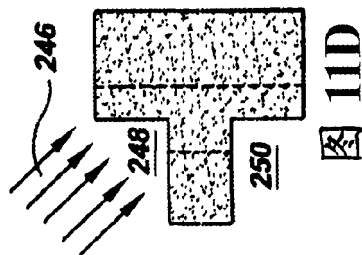


图 11D

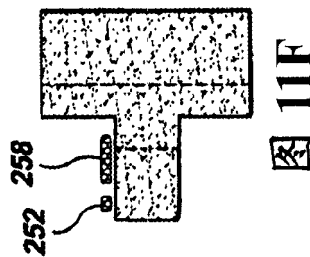


图 11F

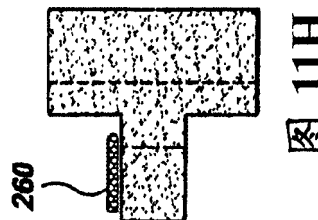


图 11H

