Диэлектрические свойства олигонуклеотидов ДНК на поверхности кремниевых наноструктур

© Н.Т. Баграев^{+*}, А.Л. Чернев[‡], Л.Е. Клячкин^{+*}, А.М. Маляренко^{*}, А.К. Емельянов[‡], М.В. Дубина[‡]

⁺ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

194021 Санкт-Петербург, Россия

E-mail: bagraev@mail.ioffe.ru

(Получена 28 марта 2016 г. Принята к печати 4 апреля 2016 г.)

Планарные кремниевые наноструктуры, представляющие собой сверхузкую кремниевую квантовую яму, ограниченную δ -барьерами, сильно легированными бором, используются для изучения диэлектрических свойств олигонуклеотидов ДНК, нанесенных на их поверхность. Регистрация емкостных характеристик кремниевых наноструктур с нанесенными на их поверхность олигонуклеотидами проводилась с помощью измерений локальных туннельных вольт-амперных характеристик в рамках методики сканирующей туннельной микроскопии. Полученные результаты показывают возможность идентификации локальных диэлектрических свойств участков олигонуклеотида ДНК, состоящих из повторяющихся пар G–C, которые, по-видимому, позволяют соотнести их с полимерными молекулами, проявляющими свойства мультиферроиков.

1. Введение

Поиск новых методов детектирования и идентификации олигонуклеотидов ДНК является актуальной задачей физики и техники полупроводников [1]. Новые подходы к этой проблеме позволили усовершенствовать существующие биотехнологические методики [2] и создать целый ряд новых [1,3]. В данной связи особый интерес представляют исследования, направленные на поиск новых подходов к секвенированию ДНК, которое заключается в определении первичной структуры данных полимерных биомолекул [4]. Важность усовершенствования именно этого направления связана с тем, что достижение технологического уровня, позволяющего общедоступно проводить процедуру секвенирования генома человека, фактически позволит приступить к реализации концепции персональной медицины. Большинство существующих на сегодняшний день технологий секвенирования основаны на применении флюоресцентных красителей и маркеров, модифицирующих олигонуклеотиды ДНК в процессе проведения данной процедуры [1,4]. Как следствие, снятие экспериментальных данных, на которых основан метод, осуществляется не напрямую с самих олигонуклеотидов, а опосредованно с флюоресцентных модификаторов. Это приводит к общей для подобных методов проблеме затрудненного анализа данных в ряде олигонуклеотидных последовательностей и, как следствие, к повышению погрешности исследования [4].

Разработка новых подходов к решению вышеупомянутой проблемы связана с поиском принципиально новых механизмов детектирования и идентификации олигонуклеотидов ДНК по их уникальным свойствам. В последнее время были продемонстрированы системы секвенирования, основанные на детектировании локального изменения pH при встраивании нуклеотида в олигонуклеотидную последовательность [2,3], а также на изучении ионной проводимости мембран с нанопорой, которая меняется при прохождении олигонуклеотидов ДНК через нанопору (схема счетчика Коултера) [5]. Эти разработки в ряде случаев позволили уйти от флюоресцентного детектирования ДНК, однако имеют набор ограничений, который на сегодняшний день не позволяет применять их в качестве основных методов секвенирования [5].

По этой причине высокий интерес представляют исследования диэлектрических и магнитных свойств олигонуклеотидов ДНК. В частности, существует ряд работ, рассматривающих их уникальность, которая связана с дипольным упорядочением, что в свою очередь позволяет провести аналогию между диэлектрическими и магнитными свойствами олигонуклеотидов как полимерных молекул с мультиферроиками [6].

В работе [7] была исследована проводимость короткого (10 нм) двуцепочного олигонуклеотида ДНК, который был прецизионно высажен на Si-подложку между сформированными на ее поверхности Pt-контактами методом электростатической ловушки [8]. В представленных туннельных спектрах проявляется режим кулоновской блокады при туннельном транспорте через олигонуклеотид, что позволяет оценить величину его емкости. В свою очередь величина диэлектрической проницаемости исследованного олигонуклеотида, вычисленная исходя из значения его емкости, соответствует $\xi \sim 10^3$. Кроме того, значение емкости одиночного олигонуклеотида, нанесенного на поверхность металлической или полупроводниковой структуры, может быть определено путем регистрации локальных туннельных вольт-амперных харак-

¹⁹⁵²⁵¹ Санкт-Петербург, Россия

^{*} Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук,

¹⁹⁴⁰²¹ Санкт-Петербург, Россия

[‡] Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет

Российской академии наук,

теристик (ВАХ) в условиях метода сканирующей туннельной микроскопии [9]. Так, например, было показано частичное секвенирование одноцепочного олигонуклеотида фаговой ДНК методом сканирующей туннельной микроскопии по гуаниновым основаниям, входящим в состав данного олигонуклеотида [9]. Для достижения достаточно высокого соотношения сигнал—шум было произведено снятие локальных туннельных спектров в каждой точке.

В данной работе локальная туннельная спектроскопия была использована для исследования двушепочных олигонуклеотидов длиной 79 пар оснований (27 нм), высаженных методом лиофильной сушки на поверхность кремниевых наносандвичей (КНС), которые характеризуются процессами дипольного примесного упорядочения во внешних электрическом и магнитном полях [10,11]. Особенно эффект дипольного упорядочения проявляется в краевых каналах проводимости КНС, которые представляют собой последовательности емкостей и индуктивностей и, таким образом, ассоциируются с осажденными биомолекулами. Нанесенные на поверхность КНС олигонуклеотиды, в свою очередь, вносят вклад в величину полной емкости и индуктивности, что позволяет рассчитывать на идентификацию и определение их диэлектрических констант при изучении ВАХ. При этом могут быть изучены и частотные свойства олигонуклеотидов, которые проявляются в процессах перезарядки КНС [11,12].

2. Материалы и методы

КНС представляет собой сверхузкую кремниевую квантовую яму *p*-типа проводимости (*p*-Si-QW), ограниченную б-барьерами, сильно легированными бором $(5 \cdot 10^{21} \text{ см}^{-3})$, на поверхности *n*-Si (100), в которой достигается высокая подвижность носителей (рис. 1) [13,14]. Данные p-Si-QW формируются на подложках n-Si (100) в процессе предварительного окисления и последующей кратковременной диффузии бора из газовой фазы [13,15-17]. Было показано, что атомы бора в δ-барьерах образуют тригональные дипольные центры с отрицательной корреляционной энергией (В+-В-) вследствие реакции $2B^0 \rightarrow B^+ + B^-$ [15,18,19]. Как оказалось, кристаллографически ориентированные последовательности дипольных центров ограничивают краевые каналы КНС, тем самым повышая подвижность носителей в p-Si-QW [18]. Носители участвуют также в процессах упорядочения дипольных центров в б-барьерах вследствие обменного взаимодействия, что приводит к подавлению электрон-электронного взаимодействия в краевых каналах и соответствующей самоорганизации в них систем заряженных квантовых точек и проволок, которые, в свою очередь, формируют последовательности емкостей и индуктивностей, и в результате образуются 4 параллельных слоя, определяющих величину емкости и индуктивности КНС: олигонуклеотиды, δ-барьер, *p*-Si-QW, δ -барьер (рис. 1).



Рис. 1. *а* — схематическое изображение КНС с характерными размерами и электрической схемой при исследовании лиофилизированных олигонуклеотидов ДНК на поверхности КНС методом СТМ. *b* — схема распределения туннельного тока *I*_{tunn} при проведении методом СТМ локальной туннельной спектроскопии КНС с лиофилизированными олигонуклеотидами ДНК на поверхности.

На рис. 2 приведено полученное с помощью сканирующей туннельной микроскопии (СТМ) топографическое изображение олигонуклеотида, высаженного на поверхность краевых каналов КНС. Исследование СТМ-изображения проводилось при значениях туннельного тока I_{tunn} = 0.1 нА в условиях приложенного напряжения $U_{\text{tunn}} = 0.5 \text{ B}$, при атмосферном давлении и комнатной температуре. Характерные максимумы на данном изображении соответствуют парам оснований гуанин-цитозин (G-C), поскольку, согласно работам, посвященным исследованиям механизмов проводимости в олигонуклеотидах ДНК [6], наибольшая плотность состояний сосредоточена именно в них. Это подтверждается ранее проведенными исследованиями олигонуклеотидов методом СТМ [9], в которых была показана принципиальная возможность частичного секвенирования одноцепочных олигонуклеотидов по гуаниновым основаниям. Примечательно, что полученное значение частоты резонансного отклика олигонуклеотидов, высаженных на поверхность КНС, $f_{res} = 2.8 \text{ TГц}$, который проявляется в изменении ее проводимости [11,12], также коррелирует со значением резонансной частоты гуанина, полученного из исследований методом терагерцевой время-разрешенной спектроскопии [20].

Таким образом, при туннелировании дырок через олигонуклеотид, вероятно, осуществляется перезарядка пар оснований гуанин-цитозин (см. схему, на которой



Рис. 2. a — СТМ-изображение олигонуклеотида длиной 79 пар оснований на поверхности КНС; изображение получено при параметрах: $I_{tunn} = 0.1$ нА, $U_{tunn} = 0.5$ В. b — профиль СТМ-изображения вдоль оси олигонуклеотда ДНК, нанесенного на поверхность КНС, со схемой участков, состоящих из повторяющихся пар G—C.

изображены участки олигонуклеотида, состоящие из пар G-C, приведенную на рис. 1), которая стимулируется терагерцевым излучением, 2.8 ТГц, из δ-барьеров КНС и сопровождается соответствующим резонансным откликом в изменении проводимости [11,12]. Для селективного усиления терагерцовой части спектра в краевые каналы были встроены микрорезонаторы, размеры которых составляют 16.6 мкм, соответствующие частоте 2.8 ТГц, и которые содержали одиночные дырки, количество которых было получено в результате исследований эффекта Холла в КНС. Принимая во внимание величину зазоров между максимумами в СТМ-изображениях, можно оценить не только величину полной емкости олигонуклеотида, но и, вероятно, рассмотреть локальные диэлектрические свойства входящих в его состав пар гуанин-цитозин.

Ранее было показано, что краевые каналы *p*-Si-QW являются в условиях продольного тока эффективными источниками как терагерцового (ГГц), так и гигагерцового (ГГц) излучения, обусловленного наличием дипольных центров бора с отрицательной корреляционной энергией в δ -барьерах (рис. 1, *a*) [18]. В сантиметровом диапазоне наиболее ярко проявляется частота $f_0 = 9.3$ ГГц вследствие того, что структура *p*-Si-QW, ограниченная сильно легированными бором δ -барьерами, выполнена в форме микрорезонатора с характерной длиной, соответствующей величине $d = \lambda/2n = 4.72$ мм, где n — коэффициент преломления, для кремния n = 3.4, ($f_0 = c/\lambda = 9.3$ ГГц). Наличие излучения 9.3 ГГц из КНС было подтверждено с помощью различных экс-

Физика и техника полупроводников, 2016, том 50, вып. 10

периментальных методик: указанная частота проявляется в модуляции спектров инфракрасной (ИК) фотои электролюминесценции, зарегистрированных методом ИК фурье-спектроскопии [10,14,21]. Следует отметить, что генерация излучения 9.3 ГГц в режиме продольного тока исток-сток (см. рис. 1, а) позволяет регистрировать спектры электрически- и оптически-детектируемого электронного парамагнитного резонанса различных точечных центров в КНС путем измерения магнетосопротивления в отсутствие внешних микрорезонаторов, СВЧ источника и приемника [18]. Непосредственно источником ГГц и ТГц генерации являются последовательности туннельных переходов, образованных дипольными центрами бора на границе p-Si-QW и δ -барьерами, проявляющими свойства высокотемпературных сверхпроводников [10]. Как показано на схеме рис. 1, при туннелировании из иглы СТМ в КНС носитель заряда проходит через последовательность туннельных переходов и попадает в краевой канал КНС, который представляет собой набор последовательных и параллельных емкостей, образуемых высаженными олигонуклеотидами, а также кремниевой квантовой ямой и ограничивающими ее δ -барьерами.

3. Результаты и обсуждения

Локальные туннельные спектры (ЛТС) $I_{tunn}(U_{tunn})$ регистрировались в процессе изучения топологии КНС методом СТМ (приведены на рис. 3 и 4) и характеризуются наличием гистерезиса, объясняющегося тем, что при подводе зонда СТМ и разворачивании напряжения начинается процесс зарядки полной емкости краевого канала с нанесенными олигонуклеотидами, сопровождающийся падением туннельного тока, когда полная емкость заряжена, которое сменяется увеличением тока в процессе последующей разрядки емкости *C* в индуктивность *L* (рис. 3, 4). Анализ полученных экспериментальных зависимостей мы провели исходя из закона сохранения энергии:

$$E = \frac{CV^2}{2} = \frac{LI^2}{2} \rightarrow \frac{L}{C} = \frac{V^2}{I^2},$$

где V — развертка напряжения, I — соответствующее изменение тока в процессе перезарядки емкости. С учетом того, что в КНС осуществляется генерация на частоте 9.3 ГГц, в соответствии с величиной этой частоты внутри краевого канала, по-видимому, формируется резонансный колебательный контур, перезарядка которого наблюдается при V = 0.46 В, что позволяет в дополнение к сказанному выше определить величину *LC* (см. рис. 3):

$$f_{\rm res} = 1/2\pi (LC)^{1/2} \rightarrow LC = 1/(2\pi f_{\rm res})^2$$

Таким образом, принимая во внимание значение частоты генерации в КНС, $f_{\rm res} = 9.3$ ГГц, и измеренные с помощью ВАХ ЛТС отношение и произведение емкости и индуктивности колебательного контура, можно



Рис. 3. Локальный туннельный спектр, полученный для КНС с олигонуклеотидами ДНК на поверхности с применением метода СТМ. Резонансный пик на -0.46 В соответствует резонансу колебательного контура на частоте 9.3 ГГц.



Рис. 4. Локальный туннельный спектр, полученный для КНС без олигонуклеотидов ДНК на поверхности с применением метода СТМ.

определить их значения до и после нанесения олигонуклеотидов на поверхность краевых каналов.

Полученные из данных ЛТС для КНС с нанесенными олигонуклеотидами (рис. 3) значения емкости и индуктивности соответствуют суммарной параллельной емкости краевого канала КНС и олигонуклеотидов ДНК и составляют $C_{\text{full}} = 2 \cdot 10^{-19} \, \Phi$, $L_{\text{full}} = 1.4 \cdot 10^{-3} \, \Gamma$ н. В отсутствие олигонуклеотидов на поверхности КНС (рис. 4) соответствующие значения емкости и индуктивности колебательного контура оказались равными $C_{\text{chann}} = 1.33 \cdot 10^{-19} \, \Phi$, $L_{\text{chann}} = 2.1 \cdot 10^{-3} \, \Gamma$ н. С учетом того, что олигонуклеотиды включаются в контур параллельно, значение емкости олигонуклеотидов составляет $C_{\text{olig}} = 6.7 \cdot 10^{-20} \, \Phi$. Исходя из значения емкости можно оценить диэлектрическую проницаемость оли-

гонуклеотидов ДНК. С учетом того, что концентрация олигонуклеотидов была подобрана таким образом, чтобы на каждый микрорезонатор приходился один олигонуклеотид, а также что всего задействовано было 124 микрорезонатора, содержащих одиночные носители, данная оценка приводит к значению диэлектрической проницаемости олигонуклеотида $\xi_{\text{olig}} \approx 6.2 \cdot 10^3$. С другой стороны, полученное значение емкости олигонуклеотида может быть рассмотрено как сумма последовательных емкостей участков, состоящих из пар G-C (длина ~ 1 нм), входящих в его состав. Тогда емкость каждого такого участка составляет $C_{\rm GC} = 5.8 \cdot 10^{-17} \, \Phi$, а соответствующее значение диэлектрической проницаемости — $\xi_{\rm GC} \approx 1.6 \cdot 10^3$. Следует отметить, что значение подобной локальной диэлектрической проницаемости участка олигонуклеотида, состоящего из пар G-C, значительно отличается от ее величины, полученной из значения его полной емкости (см. также [6,22,23]). По всей видимости, это различие является следствием не только разницы в первичной и вторичной структурах, но обусловлено эффектами дипольного упорядочения пар G-C, которые могут привести к гигантским значениям дилектрической проницаемости, характерным для полимерных молекул — мультиферроиков [24].

В свою очередь, значение диэлектрической проницаемости краевого канала КНС, определенное из значения емкости в отсутствие нанесенных олигонуклеотидов, $C_{chann} = 1.33 \cdot 10^{-19} \, \Phi$, с учетом размеров последовательно соединенных микрорезонаторов, встроенных в краевые каналы и содержащих одиночные дырки, 16.5 мкм × 2 нм, составило 7.45 · 10⁵. Однако, если учесть количество дипольных центров с отрицательной корреляционной энергией внутри микрорезонатора N = L/d, где L — длина микрорезонатора, L = 16.6 мкм, d — среднее расстояние между дипольными центрами, d = 2 нм, то значение локальной диэлектрической проницаемости в условиях упорядочения дипольных центров в электрическом поле возрастает в несколько раз и достигает величины, равной 7.7 · 10⁶.

Стоит отметить, что индуктивность олигонуклеотидов также может быть проанализирована. Так, из значения полученной индуктивности может быть дополнительно проанализирован вклад в диэлектрические свойства олигонуклеотидов участков, состоящих из повторяющихся пар G–C.

4. Заключение

Таким образом, КНС, которые проявляют свойства мультиферроиков вследствие упорядочения дипольных центров с отрицательной корреляционной энергией внутри δ -барьеров, ограничивающих кремниевую квантовую яму, могут быть эффективно использованы для изучения диэлектрических свойств олигонуклеотидов ДНК, нанесенных на их поверхность. Это становится возможным благодаря тому, что вследствие дипольного упорядочения в электрическом поле олигонуклеотиды

встраиваются в колебательный контур, формирующийся в результате туннелирования одиночных дырок в краевых каналах, что позволяет измерять их емкостные характеристики с помощью регистрации локальных туннельных ВАХ в рамках методики сканирующей туннельной микроскопии. Показана возможность идентификации локальных диэлектрических свойств участков олигонуклеотида ДНК, состоящих из повторяющихся пар G-C, которые, по-видимому, позволяют соотнести их с полимерными молекулами, проявляющими свойства мультиферроиков.

Авторы Н.Т. Баграев и Л.Е. Клячкин благодарят за финансовую поддержку данной работы СПбПУ Петра Великого: программа "5-100-2020", проект 6.1.1. (2014) и проект 1963 (2014). Н.Т. Баграев, Л.Е. Клячкин и А.М. Маляренко благодарят программу Президиума РАН "Актуальные проблемы физики низких температур" (грант 10.4, проект 10.17), а также ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН.

А.Л. Чернев, А.К. Емельянов и М.В. Дубина благодарят за финансовую поддержку Фонд "Сколково" (Соглашение о предоставлении гранта российской образовательной и научной организации от 30 декабря 2015 года № 6), Российский фонд фундаментальных исследований (грант № 16-32-00577), Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере и Комитет по науке и высшей школе Санкт-Петербурга.

Работа выполнена частично за счет бюджетного финансирования ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН и СПбАУ РАН.

Список литературы

- [1] E.R. Mardis. Ann. Rev. Analyt. Chem., 6, 287 (2013).
- [2] C. Toumazou, L.M. Shepherd, S.C. Reed. Nature Methods, 10, 641 (2013).
- [3] J.M. Rothberg, W. Hinz, T.M. Rearick. Nature, **475**, 348 (2011).
- [4] C.W. Fuller, L.R. Middendorf, S.A. Benner, G.M. Church, T. Harris, X. Huang, S.B. Jovanovich, J.R. Nelson, J.A. Schloss, D.C. Schwartz, D.V. Vezenov. Nature Biotechnology, 27 (11), 1013 (2009).
- [5] M. Muthukumar, C. Plesa, C. Dekker. Physics Today, 68 (8), 40 (2015).
- [6] C. Dekker, M. Ratner. Physics World, 8, 29 (2001).
- [7] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries, C. Dekker. Nature, 403, 635 (2000).
- [8] A. Bezryadin, C. Dekker, G. Schmid. Appl. Phys. Lett., 71, 1273 (1997).
- [9] H. Tanaka, T. Kawai. Nature Nanotechnology, 4, 518 (2009).
- [10] N.T. Bagraev, L.E. Klyachkin, A.A. Kudryavtsev, A.M. Malyarenko, V.V. Romanov. In: *Superconductor*, ed. by A. Luiz (Sciyo, 2010) p. 69.
- [11] Н.Т. Баграев, А.Л. Чернев, Л.Е. Клячкин, А.М. Маляренко, А.К. Емельянов, М.В. Дубина. ФТП, 50, в печати (2016).
- [12] A.L. Chernev, N.T. Bagraev, L.E. Klyachkin, A.K. Emelyanov, M.V. Dubina. ΦΤΠ, **49**, 966 (2015).
- [13] N.T. Bagraev, A. Bouravleuv, W. Gehlhoff, L. Klyachkin, A. Malyarenko, S. Rykov. Def. Dif. Forum, **194**, 673 (2001).

- [14] N.T. Bagraev, N.G. Galkin, W. Gehlhoff, L.E. Klyachkin, A.M. Malyarenko. J. Phys.: Condens. Matter, 20, 164202 (2008).
- [15] Н.Т. Баграев, А.Д. Буравлев, Л.Е. Клячкин, А.М. Маляренко, В. Гельхофф, В.К. Иванов, И.А. Шелых. ФТП, 36, 462 (2002).
- [16] Н.Т. Баграев, А.Д. Буравлев, Л.Е. Клячкин, А.М. Маляренко, В. Гельхофф, Ю.И. Романов, С.А. Рыков. ФТП, **39**, 716 (2005).
- [17] N.T. Bagraev, W. Gehlhoff, L.E. Klyachkin, A.A. Kudryavtsev, A.M. Malyarenko, G.A. Oganesyan, D.S. Poloskin, V.V. Romanov. Physica C, 219, 437 (2006).
- [18] N.T. Bagraev, V.A. Mashkov, E.Yu. Danilovsky, W. Gehlhoff, D.S. Gets, L.E. Klyachkin, A.A. Kudryavtsev, R.V. Kuzmin, A.M. Malyarenko, V.V. Romanov. Appl. Magn. Reson., 39, 113 (2010).
- [19] Н.Т. Баграев, Э.Ю. Даниловский, Л.Е. Клячкин, А.М. Маляренко, В.А. Машков. ФТП, 46, 77 (2012).
- [20] B.M. Fischer, M. Walther, P. Jepsen. Phys. Med. Biol., 47, 3807 (2002).
- [21] N.T. Bagraev, V.Yu. Grigoryev, L.E. Klyachkin, A.M. Malyarenko, V.A. Mashkov, V.V. Romanov. ΦΤΠ, 50 (8), 1047 (2016).
- [22] G. Gruner. AIP Conf. Proc., 544, 462 (2000).
- [23] L. Fumagalli, D. Esteban, A. Cuervo, J.L. Carrascosa, G. Gomila. Nature Mater, 11, 808 (2012).
- [24] А.П. Пятаков, А.К. Звездин. УФН, 182, 593 (2012).

Редактор Л.В. Шаронова

Dielectric properties of DNA oligonucleotides deposited on a surface of silicon nanostructures

N.T. Bagraev^{+*}, A.L. Chernev[‡], L.E. Klyachkin^{+*}, A.M. Malyarenko^{*}, A.K. Emel'yanov[‡], M.V. Dubina[‡]

 ⁺ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, 195251 St. Petersburg, Russia

* loffe Institute,

194021 St. Petersburg, Russia

[‡] St. Petersburg Academic University —

Nanotechnology Research and Education Centre,

Russian Academy of Sciences,

194021 St. Petersburg, Russia

Abstract The silicon planar nanostructures which represent the ultra-narrow silicon quantum well confined by δ -barriers heavily doped with boron are used to study the dielectric properties of DNA oligonucleotides deposited on their surface. Registration of capacitor characteristics of silicon nanostructures with deposited oligonucleotides was carried out by measuring the local tunnel current–voltage characteristics within the scanning tunnel microscopy technique. The results obtained show a possibility of identification of local dielectric properties of sites of an oligonucleotide of DNA consisting of the repeating G–C couples which, apparently, allow the correlation with the polymeric molecules that reveal the properties of multiferroics.