



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1869650 B

(45) 授权公告日 2010. 09. 08

(21) 申请号 200610081295. 5

(22) 申请日 2006. 05. 29

(73) 专利权人 中国科学院物理研究所
地址 100080 北京市海淀区中关村南三街 8 号

(72) 发明人 李明 孙博 吴兰生 翟永亮

(74) 专利代理机构 北京中创阳光知识产权代理有限公司 11003
代理人 尹振启

(51) Int. Cl.
G01N 21/00 (2006. 01)

(56) 对比文件
CN 2911668 Y, 2007. 06. 13, 权利要求 1-4.
Terence R. Strick et al.. Tracking enzymatic steps of DNAtopoisomerases using single-molecule micromanipulation.

C. R. Physique3. 2002, 3595-618.
Steven B. Smith et al.. Direct Mechanical Measurements of the Elasticity ofSingleDNA Molecules by Using Magnetic Beads.. Science258 5085. 1992, 258 (5085), 1122-1126.

审查员 周永恒

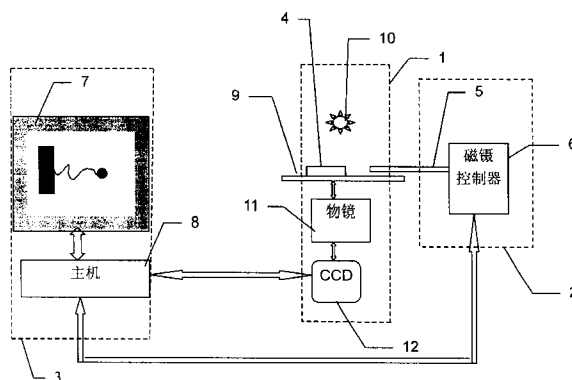
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 4 页

(54) 发明名称

单分子操纵横向磁镊装置

(57) 摘要

本发明公开了一种单分子操纵横向磁镊装置,包括:显微成像装置、磁镊装置、样品槽和中央监控器,磁镊装置包括磁镊和磁镊控制器,磁镊水平设置在样品槽的侧面,并由磁镊控制器控制;样品槽为一透明的密闭容器,两端有供溶液进出的开口,生物单分子的一端连接在该透明容器内远离磁镊的侧壁上,另一端连接一顺磁性磁球,该磁球通过磁镊控制;显微成像装置设置在样品槽的上部或下部,显微成像装置与样品槽可在水平方向做相对平移;显微成像装置将获取的图像信息传输给中央监控器进行数据处理。本发明的有益效果是:可对生物单分子进行研究分析,包括生物分子相关的酶及蛋白等,并可直接给出单分子的长度信息,并可对生物单分子进行旋转操作。



1. 一种单分子操纵横向磁镊装置,其特征在于,包括:显微成像装置、磁镊装置、样品槽和中央监控器,所述磁镊装置包括磁镊和磁镊控制器,磁镊水平设置在所述样品槽的侧面,并由所述磁镊控制器控制;所述样品槽为一透明的密闭容器,两端有供溶液进出的开口,单个生物单分子的一端连接在该透明容器内远离所述磁镊的侧壁上,另一端连接一顺磁性磁球,该磁球通过所述磁镊控制;所述显微成像装置设置在样品槽的上部或下部,显微成像装置与样品槽可在水平方向做相对平移,以寻找生物单分子并获取生物单分子长度方向的图像;所述显微成像装置将获取的图像信息传输给所述中央监控器进行数据处理。

2. 根据权利要求1所述的一种单分子操纵横向磁镊装置,其特征在于,所述显微成像装置包括光源、物镜和 CCD,光源照明所述样品槽并通过物镜和 CCD 在所述中央监控器显示并记录,所述物镜与所述样品槽可沿水平方向相对平移。

3. 根据权利要求1或2所述的一种单分子操纵横向磁镊装置,其特征在于,所述磁镊是端部为锥状的圆柱形磁性材料,或是被非磁性薄片隔开的两块长条状磁性材料,或是 U 形磁铁。

4. 根据权利要求3所述的一种单分子操纵横向磁镊装置,其特征在于,所述磁性材料为永磁铁或电磁铁。

单分子操纵横向磁镊装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种单分子操纵磁镊装置,属于单分子操纵与检测领域。

背景技术

[0002] 过去十年中出现了许多研究单分子的工具和技术,例如,光镊,磁镊,原子力显微镜,玻璃微管等等。微小力测量技术的发展,使得在单分子水平上研究核酸分子的弹性特性以及外力引起的结构变化成为可能。目前,这些技术被越来越多地应用于研究与 DNA 相互作用的酶以及蛋白,例如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、拓扑异构酶等。同时,该技术还可用于研究一系列作用于 DNA 的分子马达。

[0003] 在所有这些设备中, DNA 分子或其它大分子一端连于表面,另一端连接一力传感器。此力传感器往往是微米量级的小球或者悬臂。小球或者悬臂的位移可用来计算单分子受力的大小。不同的实验设备提供不同的测力范围和测量的时间尺度。另外,除拉伸分子外,通过旋转磁场方向或者控制玻璃微管的旋转可达到控制磁球旋转的目的,从而旋转大分子。

[0004] 1992 年, Smith 等人通过水流力冲刷及磁力吸引顺磁性小球来控制单个生物大分子,并研究其性质。此方法虽然能够观察单分子的荧光,但是对单根分子长度的测量极其复杂,而且误差也很大。1996 年, Strick 等人发明了垂直磁镊操纵装置,通过光学传感器测量单分子的长度,但是由于单分子的伸长方向平行于显微镜物镜的光轴,无法用荧光方法观察单分子。如图 1 所示。

发明内容

[0005] 针对上述存在的问题,本发明的目的在于提供一种单分子操纵横向磁镊装置,使得被操纵的分子在显微镜物镜的焦平面内运动,能够简化单分子长度的测量问题,并可同时应用荧光方法观察单分子。

[0006] 为实现上述目的,本发明一种单分子操纵横向磁镊装置包括:显微成像装置、磁镊装置、样品槽和中央监控器,所述磁镊装置包括磁镊和磁镊控制器,磁镊被水平放置在所述样品槽的侧面,并由所述磁镊控制器控制;所述样品槽为一透明的密闭容器,两端有供溶液进出的开口,单个生物分子的一端连接在该透明容器内远离所述磁镊的侧壁上,另一端连接一顺磁性磁球,该磁球通过所述磁镊控制;所述显微成像装置设置在样品槽的上部或下部,显微成像装置与样品槽可沿水平方向相对平移,以寻找生物单分子并获取生物单分子长度方向的图像;所述显微成像装置将获取的图像信息传输给所述中央监控器进行数据处理。

[0007] 进一步,所述成像装置包括光源、物镜和 CCD(电荷耦合器件),光源照明所述样品槽并通过物镜和 CCD 在所述中央监控器显示并记录,所述物镜与所述样品槽可在水平方向相对平移。

[0008] 进一步,所述磁镊是端部为锥状的圆柱形磁性材料,或是被非磁性薄片隔开的两

块长条状磁性材料,或是 U 形磁铁。

[0009] 进一步,所述磁性材料为永磁铁或电磁铁。

[0010] 本发明的有益效果是:

[0011] (1) 可以对生物单分子进行研究分析,包括生物分子相关的酶及蛋白质等;

[0012] (2) 可直接操纵并测量单分子的伸长及旋转;

[0013] (3) 可对单分子进行荧光分析。

附图说明

[0014] 图 1 是现有技术示意图;

[0015] 图 2 是本发明单分子操纵横向磁镊装置示意图;

[0016] 图 3 是本发明局部结构示意图(包含样品槽);

[0017] 图 4 是 (a) 和 (b) 分别是 U 型磁镊和圆柱形磁镊的结构示意图。

[0018] 图 5 是单根 DNA 的拉伸照片;

[0019] 图 6 是单根 DNA 的拉伸曲线;

[0020] 图 7 是单根 DNA 的长度随 DNA 旋转变化的曲线。

具体实施方式

[0021] 如图 2 所示,显微成像装置 1、磁镊装置 2、中央监控器 3 和样品槽 4,显微磁镊装置 2 包括磁镊 5 和磁镊控制器 6,磁镊 5 水平设置在样品槽 4 的侧面,并由磁镊控制器 6 控制。磁镊控制器 6 可以为步进电机,也可以是其它能够驱动磁镊 5 在 X、Y、Z 方向移动及旋转的机构;如图 3 所示,样品槽 4 为一透明的密闭容器,两端有供溶液进出的开口 15、16。该样品槽 4 放置在一样品台 9 上。单个生物大分子的一端连接在该透明容器内远离磁镊 5 的侧壁上,另一端连接一顺磁性磁球,该磁球通过磁镊 5 控制;显微成像装置 1 设置在样品槽 4 的上部或下部,样品槽 4 与成像装置 1 可在水平方向相对运动,以寻找生物大分子并获取其长度方向的图像信息;成像装置 1 将获取的图像信息传输给中央监控器 3 进行数据处理,该中央监控器 3 包括一显示器 7 和主机 8,主机 8 对图像进行处理后,由显示器 7 显示,并可对磁镊控制器 6 进行控制。其中,成像装置 1 包括光源 10、物镜 11 和 CCD 12,光源 11 照明样品槽 4 并通过物镜 11 和 CCD 12 在中央监控器 3 显示并记录,物镜 11 与样品槽 4 可在水平方向相对平移;磁镊 5 是端部为椎状的圆柱形磁性材料(也可以是如图 4 所示的,被非磁性薄片隔开的两块长条状磁性材料或是 U 形磁铁。该设计的目的是限制磁球的旋转自由度,从而可以旋转磁球)。磁镊 5 设计成端部为椎状的圆柱形磁性材料,可对单分子进行拉伸,设计为如图 4 所示的形状就可对单分子进行旋转及拉伸实验。磁球受力大小与磁场梯度以及磁铁与小球距离有关。为了获得足够大的力施加于磁球,要保证磁铁前端梯度足够大,磁铁前端要做成锥状,同时要保证磁场梯度在磁球的位置近似于只有一个方向,从而使得生物大分子只在单一方向上受力。磁球受力由以下公式给出:

$$[0022] \quad F \approx m \frac{dB_x}{dx} \hat{x}$$

[0023] 式中, m 为磁矩,

[0024] B 为磁场强度。

[0025] 但是上述测量方式并不容易和准确,一般来说单分子受力的测量是由磁球的布朗运动给出,公式如下:

$$[0026] \quad F = \frac{k_B T \langle z \rangle}{\langle (\delta x)^2 \rangle}$$

[0027] 式中, k_B 为波尔兹曼常数,

[0028] T 为绝对温度,

[0029] $\langle z \rangle$ 为单分子的平均长度,

[0030] $\langle (\delta x)^2 \rangle$ 为磁球 x 方向的方差。

[0031] 在我们的设备中, $\langle z \rangle$ 和 $\langle (\delta x)^2 \rangle$ 可以通过图像直接测量。

[0032] 本装置能够实现现在成像装置物镜焦平面内观察单分子的伸长,能够更加准确快速地测量生物大分子例如 DNA 长度的变化,同时由于有多个单分子连接到样品槽侧沿,每次可以同时进行多个单分子的测量,提高了实验效率。利用本装置,进行 DNA 单分子的拉伸曲线,如图 5、6 所示,实验值与理论曲线 (worm-like-chain 模型) 有很好的符合。同时,利用本装置对 DNA 进行了旋转操作,由于 DNA 的双螺旋结构,发现随着 DNA 被绕自身轴旋转圈数的增加, DNA 的长度在逐渐缩短,如图 7 所示。

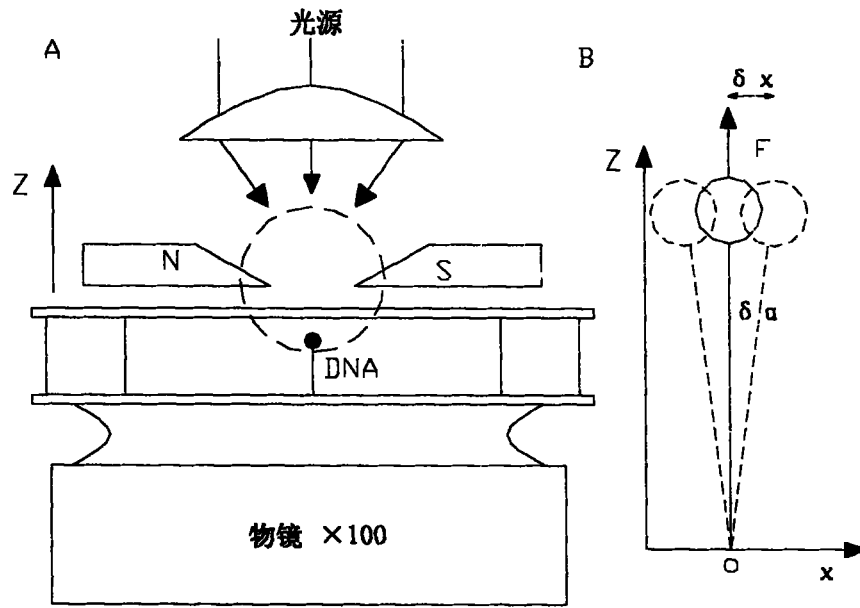


图 1

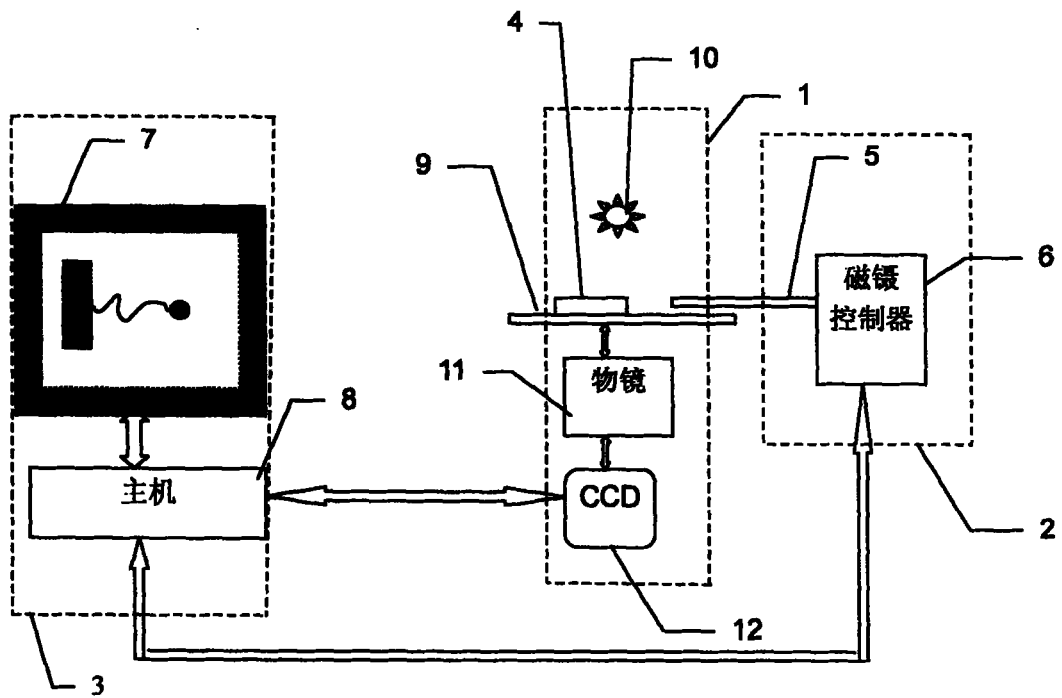


图2

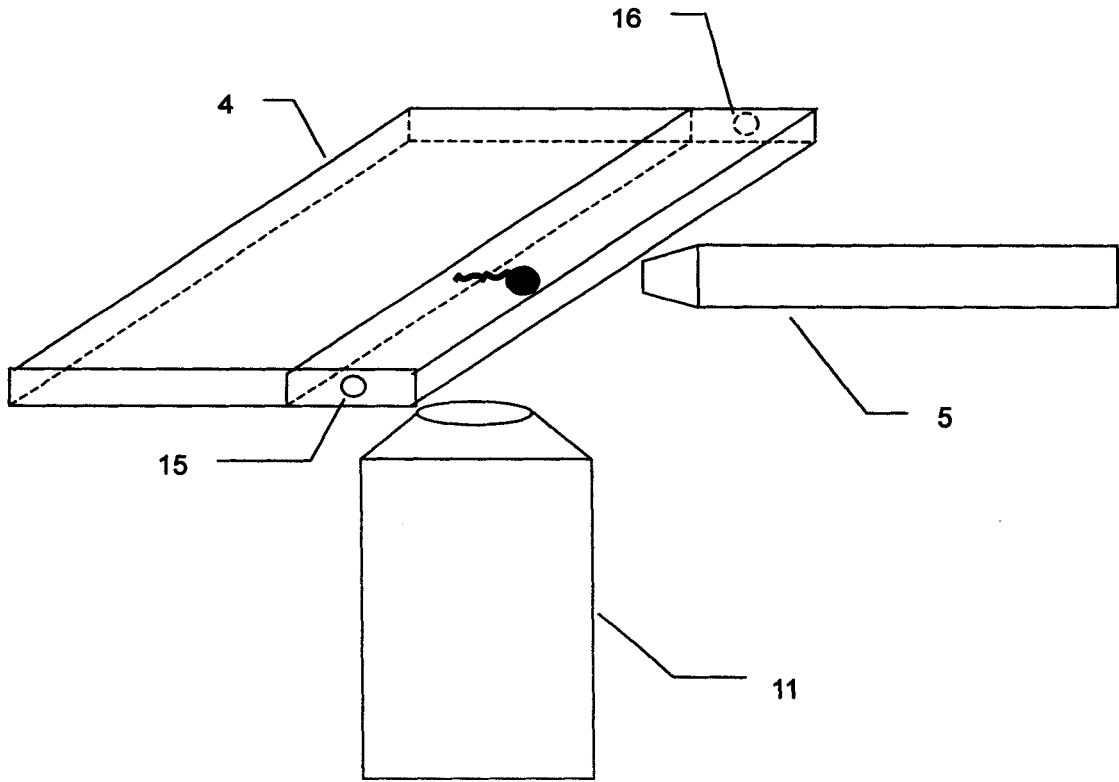
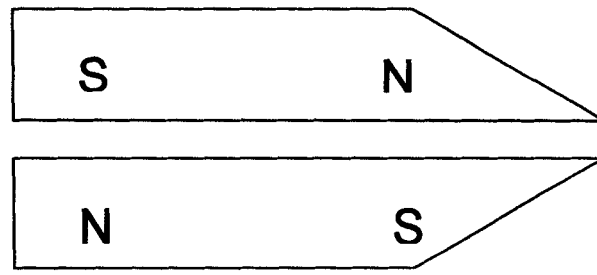
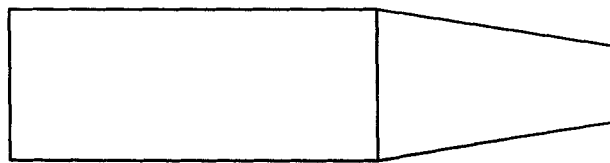


图 3



(a)



(b)

图 4

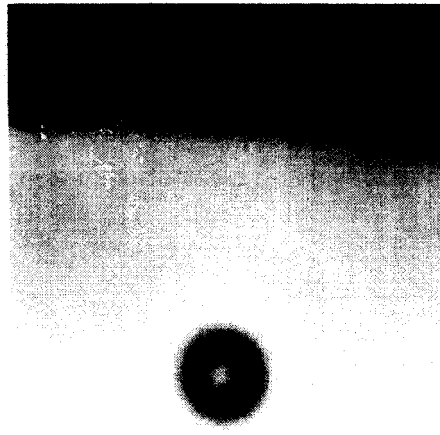


图 5

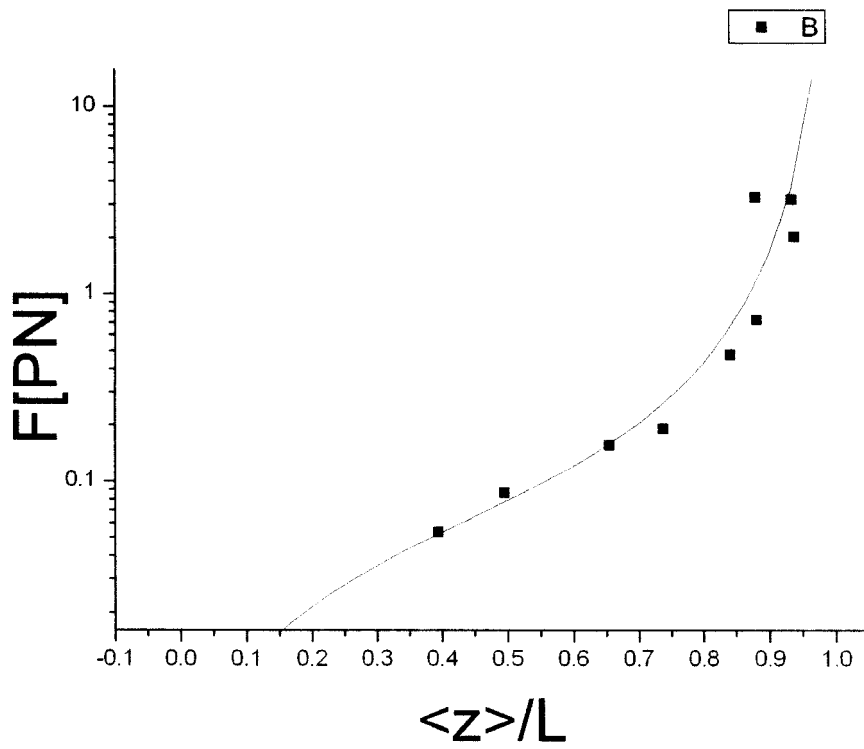


图 6

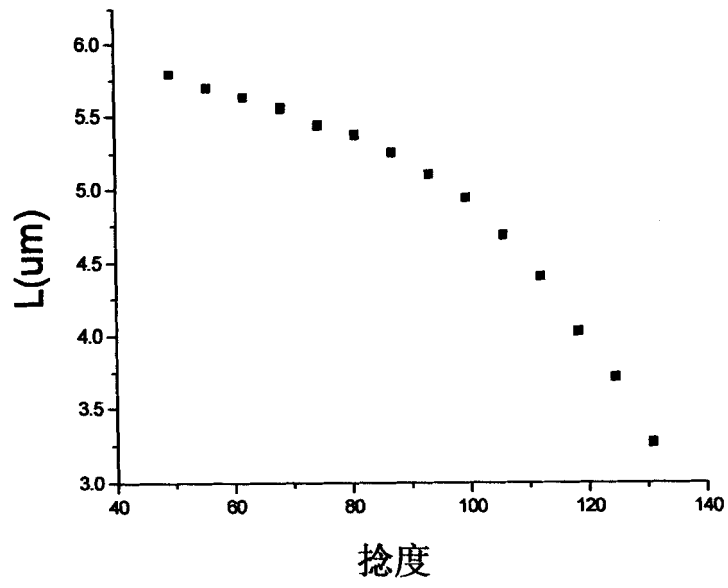


图 7