

# 基于单分子成像技术研究 $\lambda$ -DNA 分子穿越微米通道端口的电动力学特性\*

王琼<sup>1)2)</sup> 王凯歌<sup>1)†</sup> 孟康康<sup>1)</sup> 孙聃<sup>1)</sup> 韩仝雨<sup>1)</sup> 高爱华<sup>2)‡</sup>

1) (西北大学光子学与光子技术研究所, 国家级光电技术与纳米功能材料和应用国际研究中心, 省部共建国家

光电技术与功能材料重点实验室培育基地, 陕西省光电子技术重点实验室, 西安 710069)

2) (西北大学物理学院, 西安 710069)

(2020年1月12日收到; 2020年5月16日收到修改稿)

操控单个 DNA 分子, 将其有效引入、导出微纳通道是实现 DNA 生物芯片功能的前提条件. 本文利用单分子荧光显微成像技术系统地实时观察分析  $\lambda$ -DNA 单分子在电场力驱动下进入/穿出  $50\ \mu\text{m}$  通道端口处的电动力学特性及规律. 研究发现:  $\lambda$ -DNA 分子能够顺利进入 *trans* 端口并穿出 *cis* 端口, 外加电场强度存在最大 ( $E_{\text{max}}$ ) 和最小 ( $E_{\text{min}}$ ) 阈值, 只有场强  $E$  满足:  $E_{\text{min}} \leq E \leq E_{\text{max}}$  时,  $\lambda$ -DNA 分子才能进入 *trans* 端口并顺利穿出 *cis* 端口; 当电场强度小于最小阈值场强时, DNA 分子不能进入 *trans* 端口; 当电场强度大于最大阈值场强时,  $\lambda$ -DNA 分子虽可能从 *trans* 端口进入通道内部, 但不容易从 *cis* 端口穿出, 而是在迁移至通道内 *cis* 端口附近时, 运动方向反转、往复、甚至旋转等新现象, 并且易于粘附到管壁上; 随着场强增大, 反转位置距 *cis* 端口越大. 基于微流体电动力学理论, 对  $\lambda$ -DNA 分子在微通道端口的不同运动状态的物理机制进行了初步分析. 本研究结果对研制基于微纳通道系统的基因芯片实验室及 DNA 分子传感器具有一定的实际指导意义.

**关键词:** DNA 分子, 单分子荧光成像技术, 微流通道, 反转运动

**PACS:** 82.37.Rs, 87.15.H-, 87.15.Tt, 87.19.rh

**DOI:** 10.7498/aps.69.20200074

## 1 引言

微/纳流控、微/纳液滴等技术集合了物理、化学、生物、计算机及纳米等前沿技术, 用于生化分析与检测<sup>[1-3]</sup>、医疗诊断<sup>[4,5]</sup>和食品安全<sup>[6]</sup>等重要领域, 能够对微量样品特性进行精准检测分析. 将微纳技术与可视化技术相结合, 在仿生环境中, 可对单个 DNA 分子灵活操控、实时观测研究其动力学特性, 不但有助于揭示生命现象的基本规律, 而

且在分子相互作用、纳米孔基因测序、药物输运及靶向治疗等方面具有广泛的应用前景<sup>[7-9]</sup>.

操控单个 DNA 分子, 将其有效导入、引导其穿越微纳通道是实现 DNA 生物芯片众多功能的必备条件. 通常, 将 DNA 分子顺利导入微通道的方法有: 流体力学进样<sup>[10]</sup>(虹吸进样法、微通道端加压法、微通道末端抽真空法)、扩散进样<sup>[11]</sup>、电力进样以及电渗驱动的流体进样<sup>[12]</sup>等方法. 流体力学进样法对所用设备有严格要求、装置复杂、设备体积大、成本高, 同时不利于分析黏度较大

\* 国家自然科学基金 (批准号: 61378083, 61405159)、国家科学技术部中美合作基金项目 (批准号: 2011DFA12220)、国家自然科学基金重大基础研究计划培育项目 (批准号: 91123030) 和陕西省自然科学研究基础研究计划-重大基础研究项目 (批准号: 2016ZDJC-15, S2018-ZC-TD-0061) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: wangkg@nwu.edu.cn

‡ 通信作者. E-mail: gaohua@nwu.edu.cn

的样品; 扩散进样法引导样品进入通道内是被动的、且难以控制; 而电动力进样法相对容易控制, 附加设备少、成本低, 在毛细管电泳分析中普遍采用.

目前, 电动力进样法将 DNA 分子导入微纳通道仍存在尚未解决的关键问题. 例如, 随着外加电场强度的改变, DNA 分子在管口附近的动力学特性、速度分布以及 DNA 本身的构象变化等不明确<sup>[13,14]</sup>; 而且, 电场力引导 DNA 分子进入微纳通道时, 不断有新现象、新问题被发现.

Wang 等<sup>[15]</sup>曾利用可视化技术研究 DNA 分子在微米通道内的电动力学特性, 发现 DNA 分子从 *trans* 端口进入内径为 30  $\mu\text{m}$  通道时, 存在阈值电场强度. Yang 等<sup>[16]</sup>研究发现 DNA 分子在外电场力作用下穿越 5 和 10  $\mu\text{m}$  的通道时, 其运动方向会发生反转, 并且, 微米通道管径越小, DNA 分子运动方向发生反转时的阈值电场强度越大. 最近, Jones 等<sup>[17]</sup>发明了一种微管收缩分选 DNA 分子的装置, 采用电场力驱动 DNA 分子运动, 通过改变电压的大小与频率调控 DNA 分子在通道出口处的偏转方向, 成功实现了不同大小 DNA 分子的筛选; 但是, 实验发现一部分分离后的 DNA 分子吸附在通道的管壁上, 非常不利于芯片的持久运行.

本文利用单分子荧光成像可视化技术, 实时观察研究了  $\lambda$ -DNA 分子在外加电场力作用下进/出微米通道端口的电动力学特性, 并基于微流体电动力学理论, 对 DNA 分子在进入通道端口时的不同运动状态的物理机制进行了初步分析.

## 2 实验

### 2.1 实验装置

实验装置如图 1 所示, 主要包括: 倒置荧光显微镜 (IX-70, 奥林巴斯, 日本); EMCCD 相机 (iXon+885, Andor, 美国); 石英玻璃圆形微米通道 (邯郸市鑫诺光纤色谱有限公司), 长度为 5 mm, 直径为 50  $\mu\text{m}$ ; 铂丝电极 (上海捷显电子科技有限公司); 外接高压电源 (PS 8000 2U, EPS, 德国). 实验中, 电压调节范围为: 0—100 V. 图像数据采集、分析处理均用 Image 软件 (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). 整个实验在暗室中完成, 实验室温度控制为 25  $^{\circ}\text{C}$ .

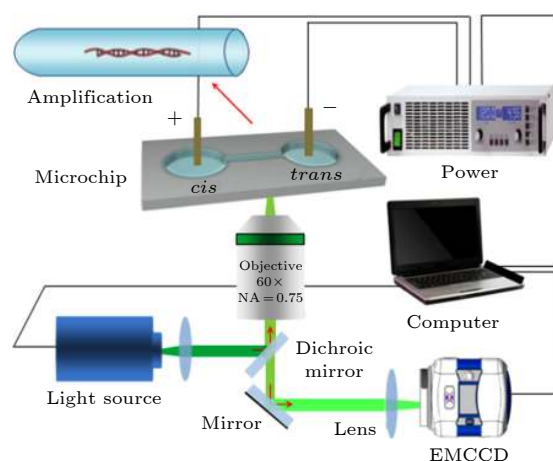


图 1 实验装置示意图

Fig. 1. Schematic diagram of experimental set-up.

图 1 所示为实验的装置示意图. 实验具体步骤: 1) 导入缓冲液, 在 *cis* 端口处滴入 10  $\mu\text{l}$  的缓冲液, 2 s 左右缓冲液将充满整个微米通道; 2) 导入 DNA 分子, 将 10  $\mu\text{l}$  浓度为 0.455 mg/L 的 DNA/YOYO-1 样品溶液滴在 *trans* 端口, 样品通过毛细力作用进入微通道内; 3) 待溶液处于稳定状态, 调整电压, 确定电场强度大小与方向.

实验中, EMCCD 实时记录 DNA 样品进入端口以及在微通道内运动情况, 其曝光时间设定为 100 ms, 拍摄间隔为 100 ms, 每次连续拍摄持续为 5 min; EMCCD 一次可以连续拍摄 1000 张照片.

### 2.2 样品液、微芯片的制备

实验使用的是  $\lambda$ -DNA 分子 (富酶泰斯生物技术公司, 深圳, 中国), 用染料 YOYO-1 分子进行标记. 为了保证最好的荧光效率, YOYO-1 染料分子插入  $\lambda$ -DNA 分子的配置比例为 DNA 碱基对: YOYO-1 分子 = 10 : 1.

样品溶液的制备过程如下所述: 1) 用移液枪移取 100  $\mu\text{l}$  的 Bis-tris (pH=8) 和 1000  $\mu\text{l}$  的 Tris-HCl (pH = 8), 分别滴入标记为 A 和 B 的牛角管中; 2) 取 0.411  $\mu\text{l}$  的 DNA 原液和 0.1  $\mu\text{l}$  的 YOYO-1 原液分别加入 A 和 B 中, 摇匀 A 和 B 中的两种溶液使其充分混合, 置于暗室孵育 30 min; 3) 从 B 中取 200  $\mu\text{l}$  的 YOYO-1 稀释液加入 A 中充分混合, 在暗室中孵育 30 min. 最终得到 DNA/YOYO-1 的混合溶液, DNA 浓度为 0.455 mg/L, 储藏在暗室中备用.

微通道芯片核心部分的制备, 简述如下: 1) 将经过 PLL(20)-g(3.6)-PEG 溶液改性后的实验用微米通道烘干; 2) 将聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 颗粒与氯仿溶液按照 1:1 进行充分混合, 制备 2 个样品池,  $10\text{ mm} \times 10\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ , 它们中间通过微米通道进行连接; 铂丝电极正对微通道端口处; 3) 将聚酰胺树脂与环氧树脂按 1:1 混合后均匀涂抹在样品池的外围, 以加固结构; 将芯片系统放入烤箱, 温度  $60\text{ }^\circ\text{C}$  下烘烤两小时. 实验研究中, 为了避免 DNA 分子被通道内壁表面吸附, 采用改性液 PLL(20)-PEG(2)-PEG(3.4) 对微米通道内壁进行改性处理. 本文所涉及的缓冲液 pH 值都大于 3, 当溶液与二氧化硅通道壁面接触时, 其表面的硅烷醇 (Si-OH) 基因因去质子化而产生负电荷, 带正电的 PLL(多聚赖氨酸) 通过静电作用与去质子化的硅烷醇基团相结合, 吸附在通道壁面; 不带电的亲水性聚合物 PEG(乙二醇), 有效阻止生物分子非特异性吸附到管道内壁上<sup>[18]</sup>, 从而可以有效减小管壁对 DNA 吸附. 实验所用改性混合液 PLL 与 PEG 的质量比 PLL:PEG = 1:3.6.

### 3 结果与分析

电场力驱动 DNA 分子进入并穿越微米通道, 影响 DNA 分子在端口附近电动力学特性的主要因素有: 电场强度的大小、DNA 分子大小、DNA 分子在微通道端口的位置、微米通道的性质、缓冲液的性质 (浓度/PH) 以及实验温度等条件. 本文主要研究电场强度对  $\lambda$ -DNA 分子在  $50\text{ }\mu\text{m}$  通道端口处的电动力学特性的影响.

#### 3.1 DNA 分子顺利穿越微米通道的电场强度阈值

微米通道两端施加电压, 实验发现: 当电场强度  $E < 1.875 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 距离 *trans* 端口大约为  $100\text{ }\mu\text{m}$  范围内的样品池内未捕捉到 DNA 分子, 表明 DNA 分子很难靠近 *trans* 端口; 当电场强度  $E = 1.875 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 样品池内的 DNA 分子开始缓慢靠近 *trans* 端口, 但未进入 *trans* 端口; 当电场强度增大到  $E = 2.5 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子开始进入 *trans* 端口; 随后, 逐渐增大电场强度, DNA 分子能够进入 *trans* 端口并顺利穿越通道, 并从 *cis* 端口顺利离开; 当  $E > 7.5 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 从 *trans* 端口进入通道的 DNA 分子

迁移至 *cis* 端口附近时, 部分 DNA 分子发生反转运动, 即, DNA 分子的运动方向发生逆转, 由 *cis* 端向 *trans* 端运动, 不能够从 *cis* 端口穿出. 可见, DNA 分子能够从 *trans* 端口进入并且顺利穿越微通道, 电场强度大小有合适范围, 存在阈值:  $E_{\min} = 2.5 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ,  $E_{\max} = 7.5 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ .

如图 2 所示, 当电场强度  $E = 3.75 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子从 *trans* 端口进入微米通道并在管内的迁移.

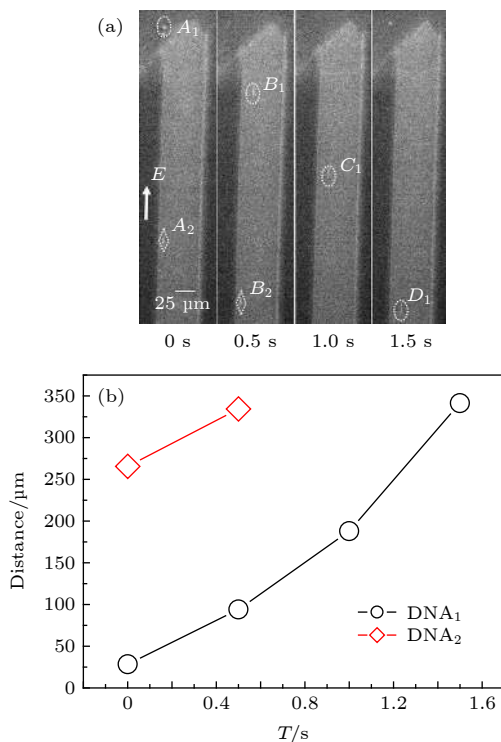


图 2 DNA 分子从 *trans* 端口进入微米通道并在内部迁移 ( $E = 3.75 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ) (a) 不同时间下的 CCD 照片; (b) DNA 分子位置随时间的变化曲线

Fig. 2. DNA molecules enter the microchannel from the *trans* port and migrate inside ( $E = 3.75 \times 10^3\text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ): (a) CCD photographs; (b) DNA molecular position.

由图 2(a) 可见, 当外加电场在阈值电场强度内, DNA 分子能够顺利进入 *trans* 端口, 其中有 2 个 DNA 分子进入观察视野范围内, 分别用虚线椭圆和虚线菱形标识;  $A_1 \sim D_1$  和  $A_2 \sim B_2$  分别对应 DNA<sub>1</sub> 和 DNA<sub>2</sub> 分子在不同时刻出现在微米通道内的位置, 可以发现: 1) DNA 分子在通道内运动时, DNA<sub>1</sub> 和 DNA<sub>2</sub> 分子到微米通道中心轴的距离  $L_1 < L_2$ , 其大小基本不变; 2) DNA<sub>1</sub> 分子在 *trans* 端口附近运动时 (从  $A_1$  位置到  $B_1$  位置), 进入 *trans* 端口之前是纠缠蜷缩的 ( $A_1$  位置), 进入



通道内, 渐渐被拉伸, 长度增大, 但在微米通道内拉伸长度变化不大; 3) 图 2(b) 是 DNA 分子在通道内迁移时位置的改变, DNA<sub>1</sub> 分子在 0—0.5 s 内移动距离为 65.5 μm, 0.5—1.0 s 内移动距离为 94.0 μm, 1.0—1.5 s 内移动距离为 153.0 μm, 其平均速度逐渐增大; 而 DNA<sub>2</sub> 分子在被捕捉时已经进入到了微通道内, 0—0.5 s 内移动距离为 70.0 μm, 与 DNA<sub>1</sub> 分子刚进入端口时运动的距离几乎相同.

实验中, 还观察到 DNA 分子进入 *trans* 端口后, 其速度会逐渐增大, 而 DNA 分子穿出 *cis* 端口时的速度逐渐减小等现象. 图 3 所示为 DNA 分子进入 *trans* 端口和穿出 *cis* 端口时的速度随时间的变化曲线.

图 3(a) 为 DNA 分子进入 *trans* 端口的速度随时间的变化. 其中 DNA<sub>1</sub>, DNA<sub>2</sub> 和 DNA<sub>3</sub> 分子分别表示距离中心轴线不等的三个 DNA 分子, 距中心轴线的距离为  $L_1 < L_2 < L_3$ , 速度关系为  $v_1 > v_2 > v_3$ . 可见, DNA 分子从样品池进入 *trans* 端口之前的速度较小, 一旦进入 *trans* 端口开始加速, 进入微米通道中部后速度比较平稳; 轴线附近的 DNA 分子速度大于管壁附近的 DNA 分子速度. 图 3(b) 为 DNA 分子流出 *cis* 端口时的速度随时间的变化特性, 实验数据是从 DNA 分子距离 *cis* 端口大约为 100 μm 的位置处开始记录的, DNA 分子距离中心轴线的距离为  $L_4 < L_5 < L_6 < L_7$ , 测量轴向的速度  $v_4 > v_5 > v_6 > v_7$ .

对比图 3(a) 和图 3(b), DNA 分子进入 *trans* 端口与 DNA 分子流出 *cis* 端口的速度变化几乎是两个反对称的过程. 在通道端口附近的同一横截面处, 中心轴线附近的 DNA 分子速度变化快, 而管壁附近的 DNA 分子速度变化慢. DNA 分子进入 *trans* 端口时, 速度逐渐增大, 最后保持不变; 穿出 *cis* 端口时, 速度逐渐减小, 最终进入样品池中的速度大小基本相同, 其主要原因是 DNA 分子在样品池中的运动主要受布朗运动的影响.

图 3(c) 为 DNA 分子在进入端口和离开口处的速度随着外加电场变化的曲线图, 规定 DNA 分子逆着电场方向的运动为正方向. 图 3(c) 所示是在不同的电场强度下, 分别对通道进/出端口随机捕捉的 30—50 个 DNA 分子的平均速度, DNA 分子距离中心轴线的范围为 0—14 μm. 其中, 黑色曲线为 DNA 分子刚好进入端口的平均速度随着外加电场强度的变化关系, 红色曲线为

DNA 分子刚好离开口处的平均速度随着外加电场强度的变化关系. 由图 3(c) 可知, 当电场强度  $2.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1} < E \leq 7 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 在入端口速度小于出端口速度; 当外加电场强为  $7 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1} < E \leq 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 在入端口的速度大于出端口速度.

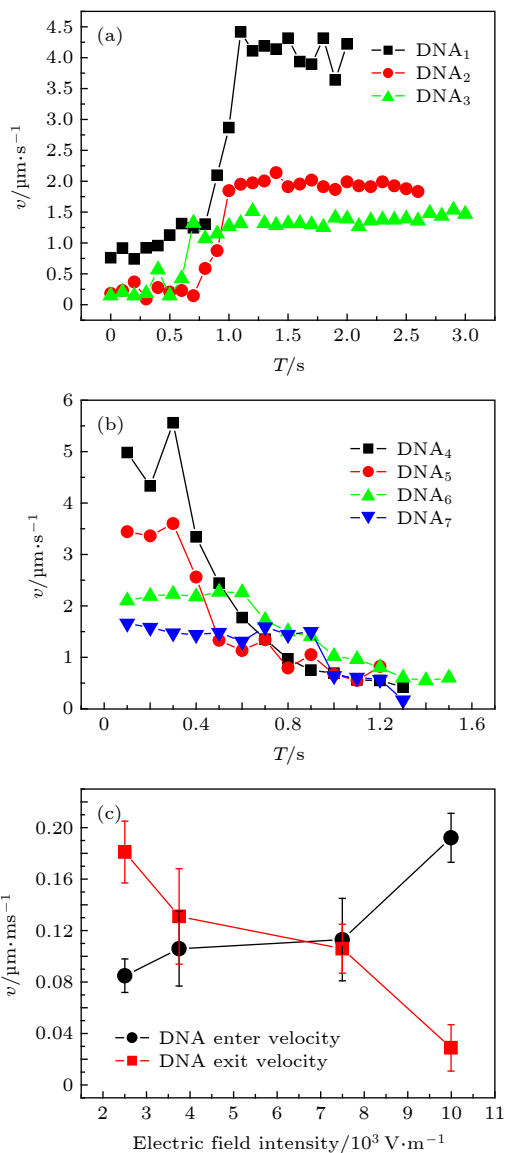


图 3 DNA 分子进出端口的速度随时间的变化 ( $E = 3.75 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ) (a) 进入 *trans* 端口; (b) 穿出 *cis* 端口; (c) 速度随外加电场强度的变化关系

Fig. 3. The velocity of DNA molecules entering and leaving the port ( $E = 3.75 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ): (a) Entering the *trans* port; (b) leaving the *cis* port; and (c) velocity versus electric intensity.

### 3.2 DNA 分子的反转运动

继续增大电场强度, 当电场强度  $E > 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 发现 DNA 分子从 *trans* 端口进入微

米通道内, 运动至 *cis* 端口附近时将出现部分 DNA 分子反转运动, 即, 运动方向发生改变, 如图 4 所示.

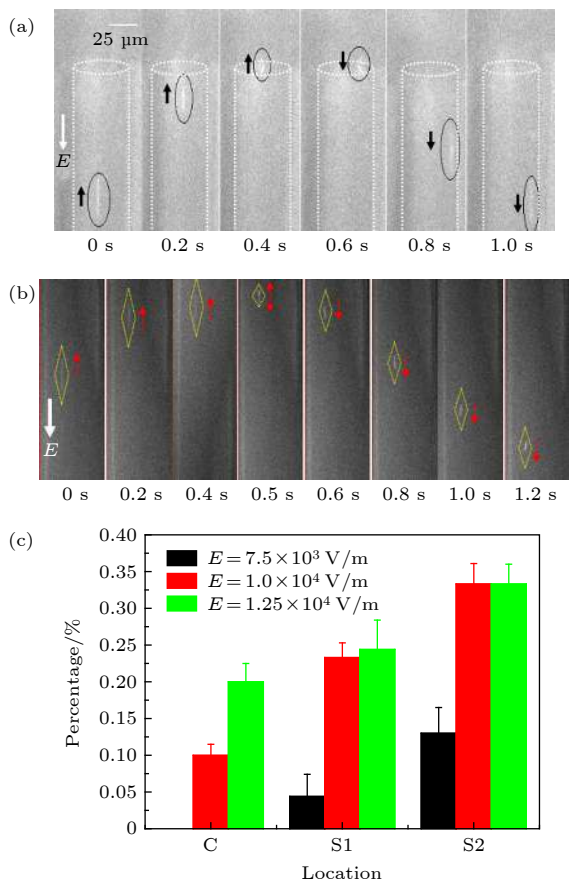


图 4 DNA 分子在微通道内的反转运动 (a)  $E = 8.125 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b)  $E = 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (c) 不同电场强度下, 在 *cis* 端口不同区域内的 DNA 分子反转数占总数的百分比

Fig. 4. Reversed motion of DNA molecules within micro channel under different electric intensity: (a)  $E = 8.125 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b)  $E = 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (c) percentage of DNA molecules with reversal motion direction in different regions of the *cis* port under different electric intensity.

图 4 所示为 DNA 分子在不同电场力作用下穿越微米通道时, 其运动方向发生反向的情况. 如图 4(a) 所示, 当外加电场强度  $E = 8.125 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子首先在通道内沿 *trans*→*cis* 方向运动 (0—0.4 s 内), 速度逐渐减小; 当 DNA 分子运动至 *cis* 端口处时, 将在径向上迁移, 而在轴向上近似静止 (0.4—0.6 s 内); 最后, DNA 分子运动方向发生反转, 沿 *cis*→*trans* 方向运动 (0.6—1.0 s 内), 速度逐渐增大. 如图 4(b) 所示, 当电场强度继续增大至  $E = 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ , DNA 分子未到

达 *cis* 端口的边界处就开始反转, 即, 在 0—0.5 s 内, DNA 分子沿 *trans*→*cis* 方向运动, 逆着电场方向运动; 0.5—1.2 s 内, DNA 分子沿 *cis*→*trans* 方向运动, 顺着电场方向运动.

为了详细研究在不同的电场强度下 DNA 分子的反转运动沿管径方向的变化, 对微通道进行了划分,  $r$  为距离中心轴线的距离, C 区域为  $0 \leq r_1 < 14 \mu\text{m}$ , S<sub>1</sub> 区域为  $14 \mu\text{m} \leq r_3 < 20 \mu\text{m}$ , S<sub>2</sub> 区域为  $20 \mu\text{m} \leq r_2 \leq 25 \mu\text{m}$ . 同一电场强度下, 当 DNA 分子运动稳定后统计 10 min. 在不同外加电场强度下重复实验, 发现每次实验捕捉到的各个分区域内 DNA 分子数目占 DNA 分子总数的百分比分布基本相同, 例如, 当电场强度为  $7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子分布在 C, S<sub>1</sub> 和 S<sub>2</sub> 各区域内的平均百分比分别约为 68%, 23% 和 9%. 图 4(c) 所示是随机的 3 次实验, 外加不同电场强度时, 发生在不同区域的反转 DNA 分子数占所捕捉的 DNA 分子总数的百分比. 由图 4(c) 可知, 在不同的外电场强度下, DNA 分子流出端口不同区域的反转数占流出总数的百分比不同. 随着电场强度的增大, DNA 分子反转的几率增大, 在相同的电场强度下, C 区域内 DNA 分子的反转概率最小, 其次是 S<sub>1</sub> 区域, S<sub>2</sub> 区域内 DNA 分子的反转概率最大.

随着电场强度的继续增大, DNA 分子运动方向发生反转的位置距离 *cis* 端口越来越远, 离 *trans* 端口越来越近; 当  $E = 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 通道 *trans* 端口附近的内壁上会吸附 DNA 分子; 当  $E > 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 部分 DNA 分子刚进入 *trans* 端口内就发生反转运动, 返回到 *trans* 端的样品池中, 或者被吸附到管壁上.

DNA 分子的反转运动方式可以分为基本的两种类型: 1) DNA 分子首先逆着电场的方向运动至 *cis* 端口; 然后, DNA 分子在反转点的位置径向迁移, 轴向上静止; 最后, DNA 分子开始反转, 朝向 *trans* 端口运动; 2) DNA 分子首先逆着电场的方向运动, 在未到达 *cis* 端口时收缩成一个紧凑的小球, 似乎停止在通道中; 最后, DNA 分子直接反转运动. 其中, 距离中心轴线较远的 DNA 分子容易发生第一种类型的反转运动; 而中心轴线附近、或者管壁附近的 DNA 分子, 或者当电场强度大于  $9.375 \times 10^3 \text{ V/m}$  时, DNA 分子容易发生第二种类型的反转运动.

### 3.3 DNA 分子的往复运动以及旋转运动

当电场强度增大至  $E > 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 在 *trans* 端口附近, 发现 DNA 分子具有周期性往复运动的现象.

如图 5(a) 所示, 当电场强度  $E > 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 在 *trans* 端口附近, 单个 DNA 分子在一个周期内的往复运动, 周期约为 3.0 s, 其中, 红色箭头表示 DNA 分子的运动方向.

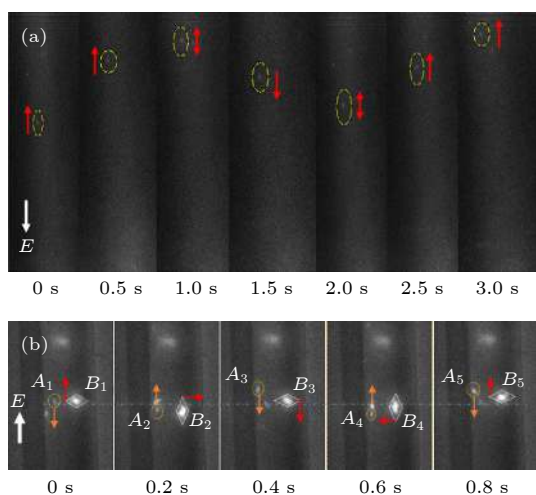


图 5 DNA 分子在 *trans* 端口附近沿轴向的运动 (a) 往复运动; (b) 旋转运动  
Fig. 5. The motion of DNA molecules near the *trans* port: (a) Reciprocating along the axis; (b) rotating.

如图 5(b) 所示, 当电场强度  $E = 1 \times 10^4 \text{ V}/\text{m}$  时, 捕捉到多个 DNA 分子的往复运动, 分别用圆形虚线、菱形虚线标记. 其中, 黄色箭头表示单个 DNA 分子 (圆形虚线标记) 在轴向上往复运动的方向,  $A_1$ — $A_5$  表示 DNA 分子在不同时刻的位置, 它在轴向上的运动距离较大, 自身无旋转; 红色箭头表示团聚在一起的多个 DNA 分子 (菱形虚线标记) 绕着自身旋转的方向, 其方向指向管壁 (顺时针旋转),  $B_1$ — $B_5$  表示 DNA 分子在不同时刻的位置, 团聚的 DNA 分子在轴向上往复运动的距离较小, 蓝色虚线表示 DNA 做往复运动时的平衡位置.

图 6 是图 5(b) 中团聚的 DNA 分子在 10 s 内往复运动的轨迹. 其中, 蓝色曲线为 DNA 分子运动的轨迹, 红色虚线为 DNA 分子在运动过程中平衡位置的拟合曲线, 图中两点之间的时间间隔为 0.1 s.

图 7 所示为通道 *trans* 端口附近的内壁上吸

附 DNA 分子的情形, 图 7(a) 和图 7(b) 的电场强度分别为  $7.5 \times 10^3$  和  $1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ , 由图 7 可知, 随着电场强度的增大, 吸附在内管壁上的 DNA 分子数量增多.

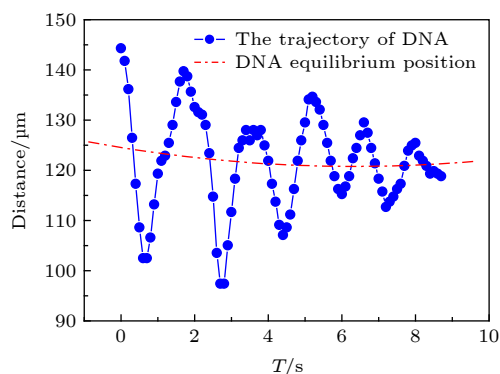


图 6 DNA 分子在 *trans* 端口附近的往复运动 ( $E = 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ )

Fig. 6. The track of DNA molecules reciprocating near the *trans* port ( $E = 9.375 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ).

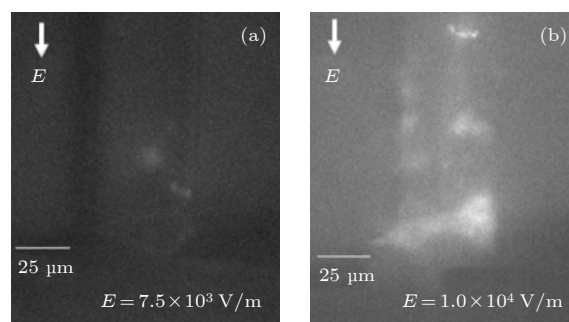


图 7 不同电场强度下的 *trans* 端口附近通道内壁团聚有 DNA 分子 (a)  $E = 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b)  $E = 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$   
Fig. 7. Aggregates of DNA molecules on the wall of microchannel near the *trans* port; (a)  $E = 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b)  $E = 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ .

### 3.4 DNA 分子进/出微通道端口机制

图 8 所示是流体在通道内的速度分布以及 DNA 分子的受力和运动示意图. 由于微米通道端口处存在反压差, 通道内流体速度是电渗流和反压差流的叠加, 流体的流速不再是理想的塞状分布<sup>[19]</sup>.

图 8 中, 灰色带箭头的线段表示流体的速度分布, 流体在通道 *trans/cis* 端口的速度是顺着电场方向的电渗流流速与逆着电场方向的泊肃叶 (Poiseuille) 抛物线流速的叠加. 流体在径向上存在速度梯度; 另外, 由于端口处存在明显的反压差作用以及可能存在的污染、管口不平整等因素, 缓冲液沿轴向也存在速度梯度.



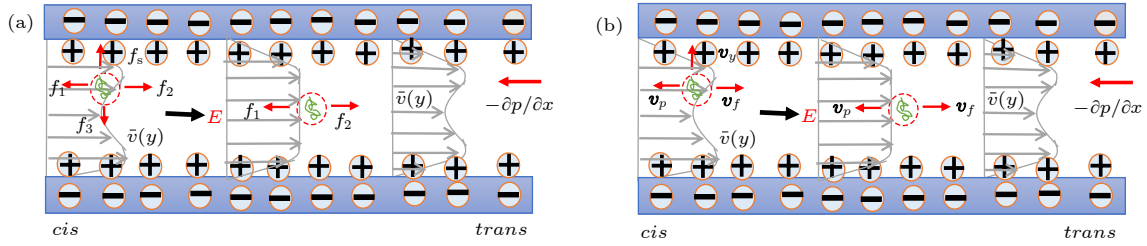


图 8 缓冲液在微米通道内的流速分布以及 DNA 受力和速度示意图 (a) 受力; (b) 速度

Fig. 8. Schematic diagram of buffer velocity distribution in microfluidic channel and the information of DNA: (a) Force; (b) velocity.

如图 8(a) 所示, DNA 分子在 *trans/cis* 端口处沿轴向的受力为

$$F_x = f_{\text{电泳力}} + f_{\text{压强梯度力}} + f_{\text{反压差力}} + f_{\text{电渗流阻力}} + f_{\text{轴向流体阻力}}, \quad (1)$$

沿径向的受力为

$$F_y = f_s + f_{\text{径向流体阻力}} + f_{\text{管壁静电力}}. \quad (2)$$

DNA 分子在微通道内部只受到沿轴向的作用力, 其大小为

$$F_x = f_{\text{电泳力}} + f_{\text{电渗流阻力}} + f_{\text{轴向流体阻力}}. \quad (3)$$

图 8 中,  $f_1 = f_{\text{电泳力}} = qE$ ;  $f_2, f_3$  分别为轴向流体阻力和径向流体阻力, 其大小为  $f_{\text{流体阻力}} = 6\pi a\mu(\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_p)$ , 其方向与速度矢量差的方向相同;  $f_{\text{压强梯度力}} = -\frac{4\pi a^3}{3} \times \frac{\partial p}{\partial x}$ , 反压差力也是由压强梯度引起的; 萨夫曼力的大小为  $f_s = K\mu(\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_p)a^2|G/v|^{1/2}$ . 式中,  $q$  为 DNA 分子的带电量,  $E$  为电场强度,  $a$  为 DNA 分子的半径,  $\mathbf{v}_f, \mathbf{v}_p$  分别为流体的速度和 DNA 分子的速度,  $\mu$  表示流体黏度,  $v$  为流体运动黏度,  $G$  为局部流体速度梯度,  $\partial p/\partial x$  为轴向的压强梯度.

当 DNA 分子与壁面之间的距离很近时存在静电作用, 其大小为<sup>[20]</sup>

$f_{\text{管壁静电力}} =$

$$\begin{cases} 64\pi\epsilon ak \left(\frac{k_B T}{e}\right)^2 \tanh\left(\frac{e\zeta_{\text{wall}}}{4k_B T}\right) \tanh\left(\frac{e\zeta_{\text{DNA}}}{4k_B T}\right) e^{-k y_1} \cdot q & (y_1 > k^{-1}), \quad (4) \\ -4\pi\epsilon a \frac{k_B T}{e} \frac{\zeta_{\text{wall}} - \zeta_{\text{DNA}}}{k y_1^2} \cdot q & (y_1 \ll k^{-1}). \quad (5) \end{cases}$$

其中  $k^{-1}$  为德拜长度;  $k_B$  玻尔兹曼常量;  $y_1$  为 DNA 分子到管壁的距离;  $\zeta_{\text{wall}}$  和  $\zeta_{\text{DNA}}$  分别为壁面 Zate 电势和 DNA 的表面电势, 与 DNA 的带电量 and 缓冲液的 PH 有关.

由 (1) 式和 (2) 式可知, DNA 分子所受合力的大小与外加电场强度、缓冲液速度、DNA 分子大小、DNA 电泳速度、管径大小等因素有关.

图 8(b) 是流体和 DNA 分子在通道中的运动示意图. 实验中使用的缓冲液  $\text{pH} > 3$ , 与管壁接触时管壁带负电; 当微米通道两端施加电场时, 微通道内的缓冲液将形成电渗流, 其移动方向为 *cis*→*trans*; 由于 DNA 分子显负电性, DNA 分子电泳的方向与电渗流方向相反, 为 *trans*→*cis*. 理想状态下, DNA 分子等带电粒子在微米通道中运动的速度是电泳<sup>[21,22]</sup>和电渗流<sup>[23,24]</sup>的叠加. 规定 DNA 分子电泳速度方向为正, 则 DNA 分子在微通道中运动的有效速度  $\mathbf{v}_{\text{eff}}$  为

$$\mathbf{v}_{\text{eff}} = \mathbf{v}_p - \mathbf{v}_f = \epsilon(\zeta_{\text{DNA}} - \zeta_{\text{wall}})E/4\pi\mu. \quad (6)$$

当微米通道长度为无限长的理想情况时, 流体在微通道中的速度可以用电渗流速度来表示, 即,  $\mathbf{v}_f = \epsilon\zeta_{\text{wall}}E/4\pi\mu$ . 然而, 实际的微米通道为有限长, 通道端口流体的速度是电渗流和反压差流动速度的叠加, 即<sup>[20,25]</sup>:

$$\mathbf{v}_f = \frac{\epsilon E}{4\pi\mu} [\zeta_{\text{wall}} - \psi(y_2)] - \frac{1}{2\mu} \frac{\partial p}{\partial x} (h^2 - y_2^2). \quad (7)$$

其中  $\epsilon$  是溶液的介电常数;  $\psi(y_2)$  为距离中心线为  $y_2$  处的电势;  $h$  为通道的半径.

实验中, 样品池的边长 ( $L = 10000 \mu\text{m}$ ) 相对于微通道的内径 ( $D = 50 \mu\text{m}$ ) 以及 DNA 分子的回转半径 ( $R_g = 0.7 \mu\text{m}$ ), 几乎是一个三维无限大的储液池. DNA 分子在样品池内将处于纠缠状态, 当其从 *trans* 端口进入通道, 是逆着流体流动的方向迁移, DNA 分子进入以及穿越微米通道的过程中始终受到一个逆向流体的作用力<sup>[26]</sup>.

研究发现<sup>[15]</sup>, 电场力驱动 DNA 分子从 *trans* 端进入并顺利穿越内径为  $30 \mu\text{m}$  的通道时, 最小阈值电场强度为  $E_{\text{min}} = 7 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ . 本研究发

现, DNA 分子从 *trans* 端口进入并顺利穿越内径为  $50\ \mu\text{m}$  通道时的最小阈值电场强度  $E_{\min} = 2.5 \times 10^3\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ . 即, 通道内径越小, 电场强度阈值越大. 这种现象符合电渗流压力同湿周长度  $C$  与通道截面积  $A$  的比值成正比的规律<sup>[27]</sup>.

由 (6) 式与 (7) 式可得, DNA 分子在微米通道内同一横截面上的有效速度:

$$v_{\text{eff}} = -\frac{1}{2\mu} \frac{\partial p}{\partial x} (y_2^2 - h^2) + \frac{\varepsilon E}{4\pi\mu} (\zeta_{\text{DNA}} - \zeta_{\text{wall}}). \quad (8)$$

(8) 式等号左侧的第二项为定值, 因此, DNA 分子的有效速度与径向距离  $y_2$  的关系是开口向下的抛物线, DNA 分子沿轴向的有效速度在中心轴线处将最大.

图 9 所示是 DNA 分子在流出端口同一截面不同位置处沿轴向速度的实测数值与理论计算值. 其中, 横坐标为 DNA 分子距离中心轴线的距离,  $dp/dx = 0.04\ \text{Pa}/\text{m}$ ,  $\mu = 1.011 \times 10^{-3}\ \text{Pa}\cdot\text{s}$ ,  $y_2 = 4.5, 13.5, 22.5\ \mu\text{m}$ ,  $\frac{\varepsilon E}{4\pi\mu} (\zeta_{\text{DNA}} - \zeta_{\text{wall}}) = 0.034\ \mu\text{m}/\text{s}$ . 蓝色曲线为理论 DNA 分子速度, 红色曲线为实测速度. 从图 9 可以明显看出, 随着 DNA 分子距离中心轴线越远, 其轴向有效速度越小; 理论与实验相吻合.

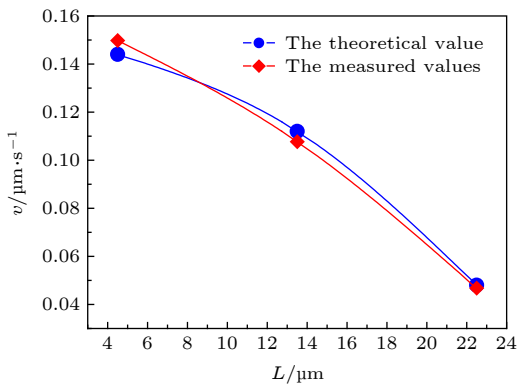


图 9 DNA 分子在端口同一截面不同位置的实测速度与理论速度  
Fig. 9. Measured and theoretical velocities of DNA molecules at different positions on the same cross section of near the microchannel port.

外加电场不同, DNA 分子在通道内出现不同的运动状态, DNA 的反转运动主要出现在 *cis* 端口, 往复运动和旋转运动出现在 *trans* 端口.

图 10 所示为 DNA 分子从 *trans* 端口进入微米通道, 并随着电场强度的改变, 在端口附近其反转运动发生位置点变化示意图. 图 10(a) 和图 10(b)

为 DNA 分子在不同电场强度下的反转运动过程. 其中, 图 10(a) 的电场强度范围为  $7.5 \times 10^3\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1} \leq E \leq 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ , 图 10(b) 的电场强度范围为  $E > 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ .

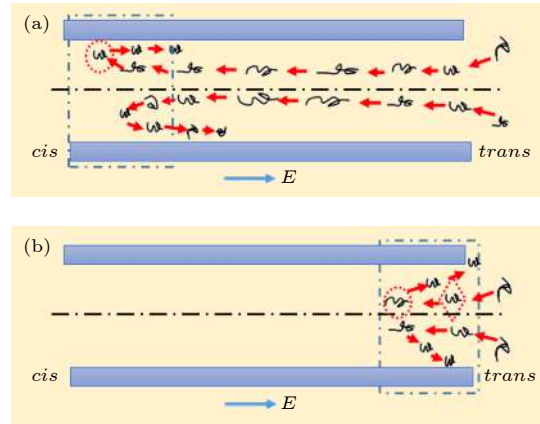


图 10 DNA 分子在微米通道内端口附近处的反转运动示意图 (a) DNA 分子在 *cis* 端口处反转, 反转后的 DNA 分子容易吸附在微米通道内管壁上,  $7.5 \times 10^3\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1} \leq E \leq 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b) DNA 分子在 *trans* 端口附近的反转运动,  $E > 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$

Fig. 10. Schematic diagram of DNA molecules moving near the port of microchannel: (a) reversing near the *cis* port, and the reversed DNA molecule is easy to be adsorbed onto the inner wall,  $7.5 \times 10^3\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1} \leq E \leq 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ ; (b) reversing near the *trans* port,  $E > 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ .

由图 10(a) 可知, DNA 分子是逆着流速靠近 *cis* 端口. DNA 靠近 *cis* 端口, 其电泳力和电渗流阻力几乎不变, 流体的阻力虽然逐渐减小, 但压强梯度力却逐渐增大, 导致 DNA 分子的运动速度逐渐减小. 图 10(a) 中用虚线圆标记了一个在 *cis* 端口将要反转的 DNA 分子所处的位置, 此时, 压强梯度力与 DNA 分子表面的电渗流阻力之和大于 DNA 分子所受电泳力, 使得 DNA 开始反转运动.

电场强度的大小能够影响 DNA 分子反转点的位置. 当外电场达到反转电场强度时, 电场强度越大, DNA 分子速度减小越快, 反转运动之前沿 *trans*→*cis* 方向运动的距离越小, 距离 *cis* 端口处越远. 如图 10(b) 所示, 外加电场强度  $E > 1 \times 10^4\ \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$ , 菱形标记的一个 DNA 分子靠近 *trans* 端口, 此时, DNA 分子受力满足条件:  $f_{\text{电泳力}} + f_{\text{压强梯度力}} + f_{\text{反压差力}} > f_{\text{轴向流体阻力}} + f_{\text{电渗流阻力}}$ , 因此它能够进入 *trans* 端口. 当 DNA 分子进入通道内部, 运动到圆虚线标记的位置时, 反压差力和压强梯度力很小, 甚至消失, 电泳力不足以主导 DNA 分子继续迁移, 此时 DNA 分子在电渗流阻



力的主导下反转运动, 沿 *cis*→*trans* 的方向运动. 需要说明的一点是, 外加电场的增大会产生焦耳热, 进而引起缓冲液的黏度减小; 而且, 在散热的过程中, 微米通道沿径向有温度梯度, 将影响微通道内部流体的速度分布, 对 DNA 分子的运动也会产生影响.

另外, 电场强度越大对 DNA 分子构象的影响较明显, 使其表面电荷分布发生改变. 如图 5(a) 所示, DNA 分子在构象上高度压缩, 其表面电荷密度将发生改变; 图 5(b) 所示, 电场强度超过  $1 \times 10^4 \text{ V/m}$ , DNA 分子收缩成一个相当紧凑的小球, 导致 DNA 分子表面电荷密度分布发生改变, 各向同性增强<sup>[28]</sup>, 表面电势 ( $\zeta_{\text{DNA}}$ ) 发生变化将导致 DNA 分子电泳力发生改变<sup>[29]</sup>. 图 5(a) 中, DNA 分子逆着流体的方向进入通道, 在 1.0 s 时刻, DNA 分子未到达 *cis* 端口, 但是其有效速度已减小为零. 由于在该电场强度下, DNA 分子的电渗流淌度大于电泳淌度, 使得 DNA 分子不能保持静止状态, 因此下一刻 DNA 分子的运动方向开始反转, 转向 *cis*→*trans* 运动. 当到达 *trans* 端口附近时, 有效速度再次减小为零 (2.0 s 时刻), 此时 DNA 分子的受力为  $f_{\text{电泳力}} + f_{\text{压强梯度力}} + f_{\text{反压差力}} > f_{\text{电渗流阻力}}$ , 导致 DNA 分子不能流出 *trans* 端口, 在此位置再一次进行反转, 转向 *trans*→*cis* 运动, 形成一次往复运动.

电场强度继续增大, 并不能促使 DNA 分子在电泳的主导下向着 *cis* 端管口迁移, 反而加快 DNA 分子往复运动的频率. DNA 分子在往复运动的过程中, 偏向管壁运动时速度减小. 由图 6 可以看出, DNA 分子在往复运动的过程中逐渐地靠近管壁, 同时 DNA 分子往复运动的轴向距离逐渐减小. 当电场强度  $E > 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子明显偏向管壁运动, 主要原因是在 *trans* 端口附近, 反压差的作用使得 DNA 分子周围的流体存在速度梯度, 受到萨夫曼力的作用<sup>[30]</sup>, 方向指向管壁. 关于 DNA 分子的旋转运动, 则主要是由于 DNA 分子周围的缓冲液在径向和轴向上都存在速度梯度. 当团聚的 DNA 分子质量较大时, 就有可能出现径向位置变化较小的旋转运动. 如图 5(b) 所示, 中心轴线右侧团聚的 DNA 分子周围的流体存在速度梯度, 距离中心轴线越近流体速度越小, 此时 DNA 分子向着管壁处旋转; 当 DNA 分子的旋转角速度矢量与运动的速度矢量不重合时, 在

旋转角速度矢量和平动速度矢量组成的平面相垂直的方向上将产生一个径向力, 即, 马格努斯力<sup>[31]</sup>. 萨夫曼力和马格努斯力之间存在互动性; DNA 分子将在以上多种力的共同作用下做复杂的旋转运动.

## 4 结 论

本论文利用单分子荧光显微成像方法比较系统地研究了  $\lambda$ -DNA 分子在外电场力作用下进入、穿越内径为 50  $\mu\text{m}$  的圆形通道的电动力学特性. 研究表明: DNA 分子能够进入微米通道 *trans* 端口并顺利穿越微通道存在最小阈值电场强度  $E_{\text{min}} = 2.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  和最大阈值电场强度  $E_{\text{max}} = 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$ . 只有当外电场强度满足  $2.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1} \leq E \leq 7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, 才能够引导 DNA 分子从 *trans* 端口进入通道, 并顺利从 *cis* 端口穿越. 当外电场小于  $E_{\text{min}}$  时, DNA 分子只能靠近 *trans* 端口, 但不能通过 *trans* 端口进入通道; 外加电场强度  $7.5 \times 10^3 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1} < E \leq 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子通过 *trans* 端口进入通道, 迁移至 *cis* 端口附近时会出现反转运动; 随着外加电场强度的增大, DNA 分子反转位点逐渐远离 *cis* 端口, 距离 *trans* 端口越小, 另外, DNA 分子可能呈现往复运动和旋转运动等新现象. 同时发现 DNA 分子在微通道端口附近的偏转角度随着电场强度的增大而增大; 当外加电场强度  $E > 1 \times 10^4 \text{ V}\cdot\text{m}^{-1}$  时, DNA 分子在样品池内很难靠近 *trans* 端口. 在外电场力作用下, DNA 分子从容积较大的样品池内进入微米通道, 在通道内沿轴向主要受电泳力、压强梯度力、反压差力、流体阻力以及电渗流阻力等的作用; 电场强度的改变, 将引起缓冲液的流速以及 DNA 分子受力情况的改变, 进一步影响其动力学特性. 本研究结果对研制基于微纳通道系统的 DNA 分子传感器和芯片实验室等具有一定的指导意义.

## 参考文献

- [1] Streets A M, Huang Y 2014 *Curr. Opin. Biotechnol.* **25** 69
- [2] Atalay Y T, Vermeir S, Witters D, Vergauwe N, Verbruggen B, Verboner P, Nicolai B M, Lammertyn J 2011 *Trends Food Sci. Technol.* **22** 386
- [3] Rivet C, Lee H, Hirsch A, Hamilton S, Lu H 2011 *Chem. Eng. Sci.* **66** 1490

- [4] David E, Mandal S, Yang A H J, Bernardoc C 2008 *Microfluid. Nanofluid.* **4** 33
- [5] Branton D, Deamer D W, Marziali A, Bayley H 2008 *Nat. Biotechnol.* **26** 1146
- [6] Wang K G, Yue S L, Wang L, Jin A, Chang Z G, Wang P Y, Feng Y C, Wang Y C, Niu H B 2006 *Microfluid. Nanofluid.* **2** 85
- [7] Rief M, Clausen-Schaumann H, Gaub H E 1999 *Nat. Struct. Biol.* **6** 346
- [8] Aksimentiev A, Schulten K 2005 *Biophys. J.* **88** 3745
- [9] Wells D B, Abramkina V, Aksimentiev A 2007 *J. Chem. Phys.* **127** 5101
- [10] Rose D J, Jorgenson J R, Jorgenson J W 1988 *J. Anal. Chem.* **60** 642
- [11] Chen Y, Zhu A 1991 *Chin. J. Chrom.* **6** 353 (in Chinese) [陈义, 竺安 1991 色谱 **6** 353]
- [12] Linhares M C, Kissinger P T 1991 *J. Anal. Chem.* **63** 2076
- [13] Lee C H, Hesish C C 2013 *Biomicrofluidics* **7** 044106
- [14] Renner C B, Patrick S D 2015 *Soft Matter* **11** 3105
- [15] Wang H Q, Wang K G, Ma H W 2016 *J. Nanosci. Nanotechnol.* **16** 6986
- [16] Yang F Y, Wang K G, Sun D, Zhao W, Wang H Q, He X, Wang G R, Bai J T 2016 *Chin. Phys. B* **25** 529
- [17] Jones P V, Salmon G L, Ros A 2017 *J. Anal. Chem.* **89** 1531
- [18] Marie R, Beech J P, Vörös J, Tegenfeldt J O 2006 *Langmuir* **22** 10103
- [19] Mitchell M J, Qiao R, Aluru N R 2000 *J. Microelectromech. Syst.* **9** 435
- [20] Li Z H 2012 *Fluid Flow in Microfluidic Chips* (Beijing: Science Press) p191 (in Chinese) [李战华 2012 微流控芯片中的流体流动 (北京: 科学出版社) 第191页]
- [21] Uehara S, Shintaku H, Kawano S 2011 *J. Fluids Eng.* **133** 121203
- [22] Firnkes M, Pedone D, Knezevic J, Dolinger M 2010 *Nano Lett.* **10** 2162
- [23] Schoch R B, Han J, Renaud P 2008 *Rev. Mod. Phys.* **80** 839
- [24] Perkins T T, Smith D, Chu S 1994 *Science* **264** 822
- [25] Gao F, Shi Z M, Feng X 2017 *Tansducer. Microsystem.* **11** 53 (in Chinese) [高峰, 石则满, 冯鑫 2017 传感器与微系统 **11** 53]
- [26] Chen L S, Zhou J H, Wang S K 1993 *J. Eng. Therm.* **3** 336 (in Chinese) [陈凌珊, 周建华, 仕康 1993 工程热物理学报 **3** 336]
- [27] Zhou H, Zhou Y T 2010 *J. Nat. Sci.* **32** 45 (in Chinese) [朱红, 周亚 2010 自然科学学报 **32** 45]
- [28] Sparreboom W, Van Den Berg A, Eijkel J C T 2009 *Nat. Nanotechnol.* **4** 713
- [29] Tang J, Du N, Doyle P S 2011 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108** 16153
- [30] Saffman P G 1965 *J. Fluid Mech.* **22** 385
- [31] Magnus G 1853 *Ann. Phys.* **164** 1

# Electrodynamic characteristics of $\lambda$ -DNA molecule translocating through the microfluidic channel port studied with single molecular fluorescence imaging technology\*

Wang Qiong<sup>1)2)</sup> Wang Kai-Ge<sup>1)†</sup> Meng Kang Kang<sup>1)</sup>  
Sun Dan<sup>1)</sup> Han Tong Yu<sup>1)</sup> Gao Ai-Hua<sup>2)‡</sup>

1) (National Center for International Research of Photoelectric Technology and Nano-Functional Materials and Application, State Key Laboratory of Cultivation Base for Photoelectric Technology and Functional Materials, Laboratory of Photoelectric Technology of Shaanxi Province, Institute of Photonics and Photon-Technology, Northwest University, Xi'an 710069, China)

2) (School of Physics, Northwestern University, Xi'an 710069, China)

( Received 12 January 2020; revised manuscript received 16 May 2020 )

## Abstract

Manipulating a single DNA molecule and effectively introducing it into and exporting micro-nano-fluidic channels are prerequisites for the functional DNA biochips. And it is the key to the precise separation and screening of different DNA molecules by the micro-/nanochannel system that accurately understanding the movement characteristics and dynamic mechanism of DNA molecules moving near the channel port. In this paper, the electrodynamic characteristics of  $\lambda$ -DNA molecule entering into/leaving off a 50  $\mu\text{m}$  channel port driven by the electric field force are systematically investigated and analyzed by the single molecule fluorescence microscopy. The experimental results indicated that there were the maximum ( $E_{\text{max}}$ ) and minimum ( $E_{\text{min}}$ ) thresholds of the applied electric field intensity, and only when the field intensity  $E$  meets  $E_{\text{min}} \leq E \leq E_{\text{max}}$ , the single  $\lambda$ -DNA molecule could successfully enter into the *trans* port and exit out of the *cis* port; when the electric field intensity was less than the minimum threshold,  $E \leq E_{\text{min}}$ ,  $\lambda$ -DNA molecules could not enter the *trans* port; when the electric field intensity was greater than the maximum threshold,  $E_{\text{max}} \leq E$ ,  $\lambda$ -DNA molecules could move into the microchannel through the *trans* port, but not exit out of the *cis* port. When  $\lambda$ -DNA molecule migrated toward the *cis* port along the channel, the movement state was changed, some new phenomena were observed, e.g. the translocation direction was reversed, reciprocated, or even rotated; moreover, the DNA molecules were easy to adhere to the channel wall. In addition, when the electric field intensity enhanced, the distance between the position where DNA molecular direction reversing and the *cis* port was increased. Based on the microfluidic electrodynamics, the physical mechanism of the velocities and translocation states of single  $\lambda$ -DNA molecule passing microchannel port was preliminarily analyzed. The results of this study have certain practical guiding significance for the development of gene chip laboratory and DNA molecular sensors based on the micro/nanochannel fluidic system.

**Keywords:**  $\lambda$ -DNA molecule, single molecule fluorescence imaging technology, micro/nanofluidic channel, reversal movement

**PACS:** 82.37.Rs, 87.15.H-, 87.15.Tt, 87.19.rh

**DOI:** 10.7498/aps.69.20200074

\* National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 61378083, 61405159), the International Cooperation Foundation of the National Science and Technology Ministry of China (Grant No. 2011DFA12220), the Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 91123030), and the Natural Science Basic Research Program of Shaanxi Province-Major Basic Research Project, China (Grant Nos. 2016ZDJC-15, S2018-ZC-TD-0061).

† Corresponding author. E-mail: wangkg@nwu.edu.cn

‡ Corresponding author. E-mail: gaohua@nwu.edu.cn