

2019-06-25

A Low Noise Temperature Control System for Nanopore-Based Single Molecule Analysis

Cheng-yu YANG

Zhen GU

Zheng-li HU

Yi-lun YING

1. *School of Chemistry & Molecular Engineering, East China University of Science and Technology*,,
yilunying@ecust.edu.cn

Yi-tao LONG

Recommended Citation

Cheng-yu YANG, Zhen GU, Zheng-li HU, Yi-lun YING, Yi-tao LONG. A Low Noise Temperature Control System for Nanopore-Based Single Molecule Analysis[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2019 , 25(3): 312-318.

DOI: 10.13208/j.electrochem.181056

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol25/iss3/3>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

DOI: 10.13208/j.electrochem.181056

Artical ID:1006-3471(2019)03-0312-07

Cite this: *J. Electrochem.* 2019, 25(3): 312-318

Http://electrochem.xmu.edu.cn

纳米孔道单分子电化学测量的 低噪音控温系统研究

杨铨宇¹, 顾震¹, 胡正利¹, 应佚伦^{1*}, 龙亿涛^{1,2}

(1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237;

2. 南京大学化学化工学院, 生命分析化学国家重点实验室, 江苏 南京 210023)

摘要: 纳米孔道检测技术是一种利用单个分子测量界面实现在单分子水平上测量 DNA、RNA、蛋白、多肽等生物分子的高灵敏的单分子检测技术. 由于单个分子与纳米孔道的相互作用受热力学控制, 亟需精准控制纳米孔道单分子分析的实验温度. 因此, 本文研制了一种低噪音控温系统用于具有皮安级电流分辨的纳米孔道单分子实验, 以实现精确调控测量时的环境温度. 该系统利用半导体制冷片的热电效应对检测池环境加热/制冷, 通过对高精度热敏电阻进行电磁屏蔽以实现在温度反馈的同时避免噪音的引入. 利用比例-积分-微分算法进行控制, 达到高精度快速控温的要求. 该系统控温精度为 $\pm 1^\circ\text{C}$, 无额外噪音引入至超灵敏纳米孔道单分子测量, 获得了 25°C 到 5°C 下 Poly(dA)_n 与单个气单胞菌溶素 (Aerolysin) 分子界面间作用产生信号的差异, 应用于研究单分子与纳米孔道相互作用的热力学行为.

关键词: 纳米孔道; 电化学; 单分子检测; 单分子界面; 控温系统; 低噪音电分析测量

中图分类号: O646

文献标识码: A

纳米孔道是一种具有高时间分辨和高空间分辨能力的单分子检测技术, 已被应用于 DNA、RNA、蛋白、多肽等生物分子的高灵敏检测中^[1-4]. 利用单个生物纳米通道蛋白可构建与单个待测物分子尺寸匹配的单分子传感界面. 进一步, 通过对纳米通道内部每一个氨基酸位点的改性, 可调控待测分子与界面间的相互作用, 从而实现构建测量灵敏度可控调谐的纳米通道电化学限域传感界面. 通过分析生物分子空间限域在纳米孔道单分子界面时产生的特征性阻断电流信号, 可实现对具有不同电性、序列、构象等的生物小分子的单分子水平高灵敏识别^[5-6]. 然而, 实际测量中由于单分子通过纳米孔道的速率过快, 限制了纳米孔道检测的分辨能力. 为此, 已经研究发现了多种减缓通过纳米孔道的 DNA 穿孔速率的方法. 一种是调节跨膜电压^[7]、电解质浓度、溶液粘度^[8]、pH 值^[9]和纳米孔道尺寸^[10-12]等参数. 另一种方法是通过用适当的抗衡离子 (例如 Li^{+} ^[13]和 Mg^{2+} ^[14-15]) 调节 DNA 表

面电荷来降低电泳力. 另外, 研究发现控制电解质温度也可以达到调控 DNA 穿孔速度的目的. 例如, Meller 等人^[16]报道, 对于含有超过 12 种单体的 DNA 聚合物, 通过 α -溶血素孔, DNA 穿孔速度在 2°C 时可达到 $0.015\text{ nm}\cdot\mu\text{s}^{-1}$. Fologea 等人^[17]用 3 kbp 的双链 DNA 通过氮化硅纳米孔道发现, 在将电解质温度从 22°C 降至 4°C 时, DNA 的穿孔时间由 $165\ \mu\text{s}$ 增加到 $280\ \mu\text{s}$. 其原因之一是温度的降低会引起流体粘度的增加^[17]. Wanunu 等^[18]进行了类似的变温实验, 发现通过将电解质从 30°C 冷却到 0°C , DNA 穿孔速度可以减慢大约 7 倍. 穿孔时间的增长除了可以归因于流体粘度的增加, 还与生物大分子和孔之间相互作用, 尤其是穿孔的自由能壁垒有关^[19]. 然而, 影响纳米孔道检测的温度效应机制尚未被完全发现. 目前, 除 Matysiak^[20]的模拟以及 Mahendran 等^[21]对多肽转运的研究外, 对于过程热力学的研究有限, 其主要困难在于难以实现低噪音的精准控温. 因此, 亟需针对纳米孔道超

收稿日期: 2019-01-02, 修订日期: 2019-03-20 * 通讯作者, Tel: (86-21)64253053, E-mail: yilunying@ecust.edu.cn

国家自然科学基金项目 (Nos. 21834001, 61871183)、上海市教育委员会科研创新计划 (No. 2017-01-07-00-02-E00023)、上海市启明星计划 (No. 19QA1402300)、上海市教育委员会和上海教育发展基金会支持的“晨光”项目 (No. 17CG27) 资助

低电流测量,开发高精度低噪音的控温系统。

纳米孔道实验的环境通常具有较小的体积,实验时需要对检测池内进行精确控温。然而现有的控温系统还存在较多的局限,如水浴控温的控温效率低、可控温度范围较小;压缩机控温具有较大的振动和噪音;半导体控温的方法具有较高的功率,容易引入电磁干扰等。为实现高效控温,并避免控温对测量系统的影响,本文研制了一种小型化控温系统,系统通过改进的半导体控温方法,通过设计屏蔽系统,有效避免了噪音的引入,同时其具有较高的控温精度和速度。系统实现了在不同温度下研究气单胞菌溶素(Aerolysin)生物纳米孔道与短链DNA分子Poly(dA)₅的相互作用,获得了在25℃到5℃下待测物通过纳米孔道产生的信号。实验结果显示,Poly(dA)₅分子在低温下的阻断时间与高温相比有显著的延长,证实了该系统可用于生物纳米孔道实验的精确温度控制。

1 实验

1.1 试剂与仪器

正癸烷(≥99%,美国Sigma-Aldrich公司);1,2-Diphytanoly-sn-glycero-3-phosphocholine(氯仿,≥99%,美国Avanti Polar Lipids公司)。检测池中的缓冲液由1 mol·L⁻¹ KCl、10 mmol·L⁻¹ Tris、1 mmol·L⁻¹ EDTA配制而成,pH为8.0。所有试剂均为分析纯。待测分子Poly(dA)₅由上海生工公司合成并通过高效液相色谱提纯。实验仪器为课题组自主研发的Cube-D0纳米孔道单分子检测仪^[22],实验时采样频率250 kHz,滤波频率5 kHz。

1.2 纳米孔道实验

根据作者课题组已有文献报道方法^[23],对Aerolysin蛋白孔道进行表达、纯化、活化等步骤之后,将1,2-Diphytanoly-sn-glycero-3-phosphocholine磷脂溶解于正癸烷,然后在直径约为50 μm的纳米孔道检测池(美国Warner Instruments公司)上预涂一层磷脂,加入缓冲液,并在孔上涂一层磷脂,通过提拉形成磷脂双分子层。检测池由cis和trans两个腔室组成,在检测池两端分别放入Ag/AgCl电极,与正极相连的电极放入trans腔室内,与负极相连的电极放入cis腔室内。将在两个检测池间的电压设为100 mV。注射入Aerolysin蛋白于cis端池内。当Aerolysin蛋白在磷脂双分子层上自组装形成单个纳米孔道后,在cis端注入待测物,待测分子通过Aerolysin纳米孔道时产生电流阻断信

号。使用Cube-D0仪器的前置电流放大器进行电流信号采集,由Cube-D0进行电流数据的检测,并通过USB数据线传输至电脑,电流曲线利用SmartNanopore软件进行显示并分析^[24-25]。

Cube-D系列仪器是由实验室自主研发的一套高度集成化的纳米孔道检测系统。该套系统在实现高性能信号放大采集的同时,采用集成化屏蔽系统,将微弱电流放大探头内置在专用的法拉第笼屏蔽系统内,可显著降低外界电磁噪音、仪器接地等干扰因素对纳米孔道检测微弱电流信号产生的影响^[22]。Cube-D系列单分子检测仪与SmartNanopore数据采集软件配套使用,SmartNanopore软件可实现高速数据采集、精准电压输出、数据可视化和数据存储功能。软件可选择不同的放大倍数,不同的滤波频率。数据显示模块可对采集的数据进行运算并在软件中展示电流信号大小的真实值,使用者可自行调整显示信号的时间尺度和电流大小尺度。得到的信号结果可利用数据存储模块将数据导出为Matlab文件,利用Matlab程序(下载地址<http://ytlong.ecust.edu.cn/9148/list.htm>)进行数据处理,也可在采集数据的同时直接进行数据预览和简单的数据处理,以满足实验需要^[24]。

1.3 温度控制实验

1) 控制系统测试

半导体制冷芯片基于热电效应,可在直流电流通过时分别在正反两面进行吸热和放热。通过控制直流电流的方向和大小可以控制加热或制冷的模式和输出功率,因此可将其运用于温度控制模块。利用高精度热敏电阻作为温度检测探头,温度控制模块采用可以根据温差大小自动调节输出功率,利用偏差的比例-积分-微分(proportion-integral-differential, PID)的算法进行控制。电路使用大功率500 W电源(苏州明纬科技有限公司),输出电压12 V。采用双制冷片设计,在控温系统软件内设定最大输出电压12 V、单个制冷片最大功率为54 W,提高控温速率,制冷片采用TEC1-12710型号,最大输出功率为120 W。由于在制冷片工作模式为制冷时,制冷片的背面会放出大量热量,影响制冷效率,因此需在制冷片的制热面安装水冷头,对制冷片进行散热,水冷头通过水管与外部的水循环系统相连,外部水循环系统由静音水泵和水冷排组成。水泵将水输送至水冷头内,水冷头内的水流出至水冷排,通过安装在冷排上的风扇对水

进行散热,使得水箱内进行恒温水循环,从而达到防止水过热影响散热效果和控温最高温差的目的. 设定 PID 算法的参数, PID 比例系数 0.4, 积分时间 40, 微分时间 0.1, PID 控制间隔为 10 ms. 利用 NTC 热敏电阻进行实时温度反馈检测, 温度检测结果可利用软件进行记录. 控温系统原理图如图 1.

为了证明该控温系统的稳定性, 在实验中将检测池放入屏蔽箱内. 在加入缓冲液后, 将温度探头放入屏蔽箱, 打开温控系统并设定目标温度至 35 °C, 开始升温, 温度升至 35 °C 之后, 待温度趋于稳定后, 设定温度为 5 °C, 此时制冷片的工作模式变为制冷模式, 半导体制冷片中的电流发生反向, 达到 5 °C 之后, 同样待温度趋于稳定后, 再次设定温度为 35 °C 升温. 重复该过程两次, 得到控温系统 3 次升温降温循环过程的温度-时间曲线.

另外, 为研究该控温系统对测量电路的噪音干扰, 在打开控温装置之前首先记录纳米孔在施加电压为 100 mV 的电流基线; 再打开控温装置, 设定温度为当前的室温, 记录控温中的电流基线, 并分别使用 MATLAB 软件处理得到控温前后的噪音功率谱密度 (power spectral density, PSD) 图.

2) 纳米孔道变温实验

完成 Aerolysin 纳米孔的自组装之后加入待测样品 DNA, 利用课题组自主研发的 Cube-D0 仪器采集信号^[22]. 控温系统首先设定温度为 25 °C. 当溶液温度达到设定温度后, 稳定 5 分钟至温度恒定. 记录 -80 mV 到 160 mV 电压下开孔电流的大小, 以绘制单个纳米孔道的 I-V 曲线. 然后将电压设定

为 100 mV, 记录 25 °C 下的信号数据, 完成记录后将设定温度调低至 20 °C 并重复以上步骤. 在记录完成之后再次重新设定温度, 最终记录得到 25 °C、20 °C、15 °C、10 °C 和 5 °C 五个不同温度下的信号.

2 结果与讨论

2.1 控温系统的稳定性测试以及噪音影响

1) 控温系统稳定性测试

为了研究控温系统的速度和稳定性, 将其在 35 °C 和 5 °C 这两个温度间进行循环降温-升温(图 2A). 利用该控温系统由 35 °C 降温至 5 °C 时间仅需约 30 分钟. 从实验中 3 次降温-升温循环过程中温度随时间变化的曲线可以看出, 3 次循环过程温度变化曲线基本一致. 由于实验环境温度高于 5 °C, 因此该系统制冷的时间比加热的时间长. 在接近设定温度时, 温控电路会自动按照 PID 算法, 减小加热或者制冷的功率. 当温度达到设定温度时, 温控系统输出的功率最低. 当温度超过设定温度时, 电路会自动切换电流的方向以切换输出模式, 输出的功率与温差相关, 经过一段时间后温度稳定在设定温度 ±1 °C 以内, 该结果可证明此控温系统可用于实际的控温实验中.

2) 控温系统的噪音影响

为分析控温系统对于纳米孔实验系统引入噪音的影响, 分别记录了打开控温系统前后的一段电流基线数据, 并对基线电流作噪音 PSD 图分析. 实验中打开控温系统后基线电流的噪音未出现明显的变化(图 2B), 峰峰值噪音 (p-p 噪音) 的大小由 5.8 pA 变为 6.3 pA, PSD 图中可以看出控温装

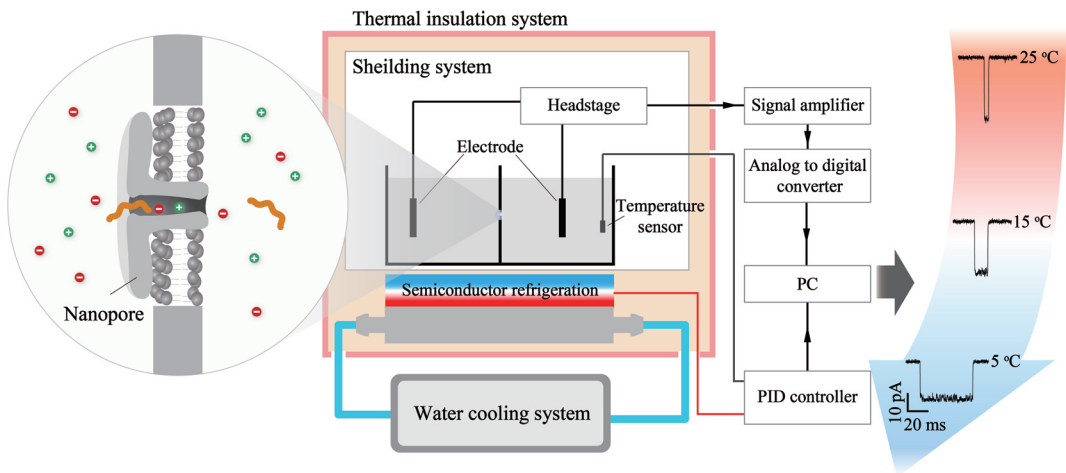


图 1 纳米孔道实验控温系统的原理图

Fig. 1 Schematic diagram of temperature control system for nanopore experiments

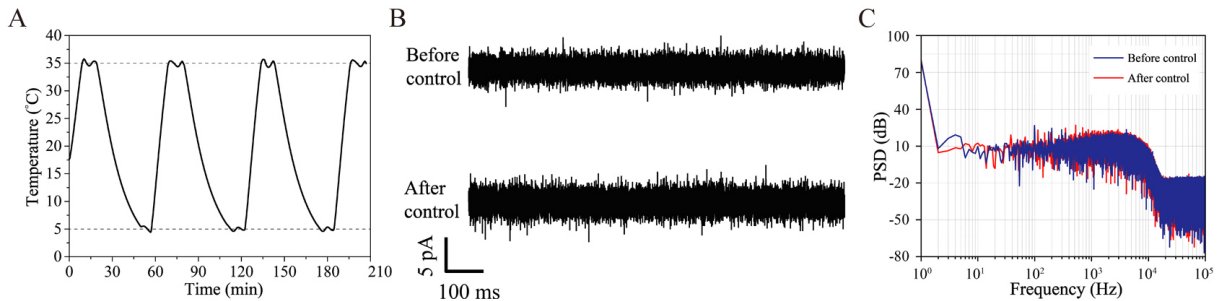


图2 (A) 三次循环的温度曲线;(B) 控温前后电流基线噪音差异;(C) 控温前后的噪音 PSD 图的差异

Fig. 2 (A) Temperature-time curves for three temperature control cycles; (B) Differences in baseline noise before and after temperature control; (C) Differences in PSD graph of noise before and after temperature control

置启动后噪音功率未发生显著变化(图2C). 以上结果说明此控温系统对于纳米孔道单分子检测实验的干扰极小,可用于纳米孔道 pA 级单分子信号的采集.

2.2 温度对信号差异研究

1) 温度变化对于 $I-V$ 曲线的影响

纳米孔道开孔电流受诸多因素影响,包括孔道自身结构和电性、孔道内的化学修饰^[26]、pH 值^[27]、施加电压大小、电解质种类和浓度以及温度^[19]等. 为表征纳米孔道的开孔电流,通常的做法是绘制其不同电压下的电流响应值曲线,即 $I-V$ 曲线. 由于纳米孔道结构和电性的不对称,其 $I-V$ 曲线在较高电压处存在着整流现象^[28]. 利用控温系统将检测池内的温度分别控制在 25 °C、20 °C、15 °C、10 °C 和 5 °C,可以看出随着温度的降低,基线电流的数值有明显的下降(图3).

2) 温度变化对于信号的影响

本文以 Poly(dA)₅ 为模型分子,研究温度对分

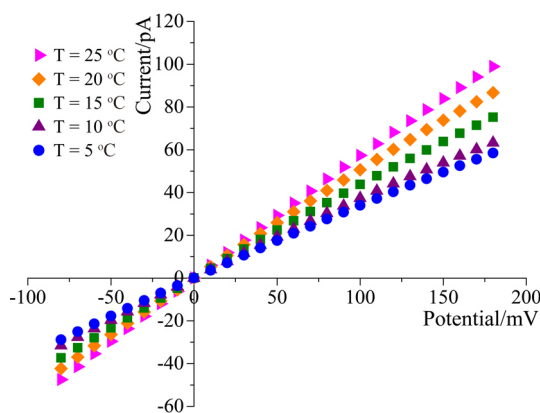


图3 不同温度(25 °C 至 5 °C)下的电流-电压曲线图

Fig. 3 $I-V$ curves at different temperatures (25 °C to 5 °C)

子与纳米孔道相互作用的影响,从而验证本系统的控温效果. 如图4A所示,随着温度的降低单个信号的阻断时间显著变长,相同时间内的信号量显著减少. 对同一温度下采集得到的信号进行统计,并将阻断时间和阻断间隔时间作对数运算后进行高斯拟合. 如图4B所示,从高斯拟合的峰值变化趋势可以看出,随着温度的降低,阻断时间的拟合结果呈现非线性增长的趋势,在 25 °C 时阻断时间的拟合高斯峰的结果为 4.3 ms, 而到 5 °C 时增长为 53.3 ms, 后者阻断时间是前者的 12.4 倍. 如图4C为对阻断间隔时间进行高斯拟合,并以温度和信号频率(即间隔时间高斯拟合的峰值的倒数)作图,得到的各个温度下的信号频率. 随着温度的降低,信号频率的拟合结果呈现非线性减小的趋势,在 25 °C 时信号频率的拟合结果为 43.8 Hz, 在 5 °C 时信号频率的拟合结果仅有 4.5 Hz. 从以上结果可以看出,温度对纳米孔道信号测量具有显著的影响. 因此,纳米孔道单分子测量过程中进行温度控制具有重要意义. 利用本系统不仅可用于研究不同温度下纳米孔道与单个分子间的相互作用,同时其控温的能力还有助于提高特定温度下信号测量的稳定性和重复性.

3 结论

本研究设计开发了一种用于高电流分辨纳米孔道单分子检测装置的温度控制系统,测试了其控温的速度,其具有的较好的稳定性. 通过设计屏蔽系统,避免了控温系统在纳米孔道测量中引入的噪音干扰. 实验结果显示,随着温度从 25 °C 降低到 5 °C,单个 Aerolysin 纳米孔道的开孔基线电流下降,单个 Poly(dA)₅ 产生的阻断电流信号阻断时间从 4.3 ms 增长到 53.3 ms, 信号频率从 43.8

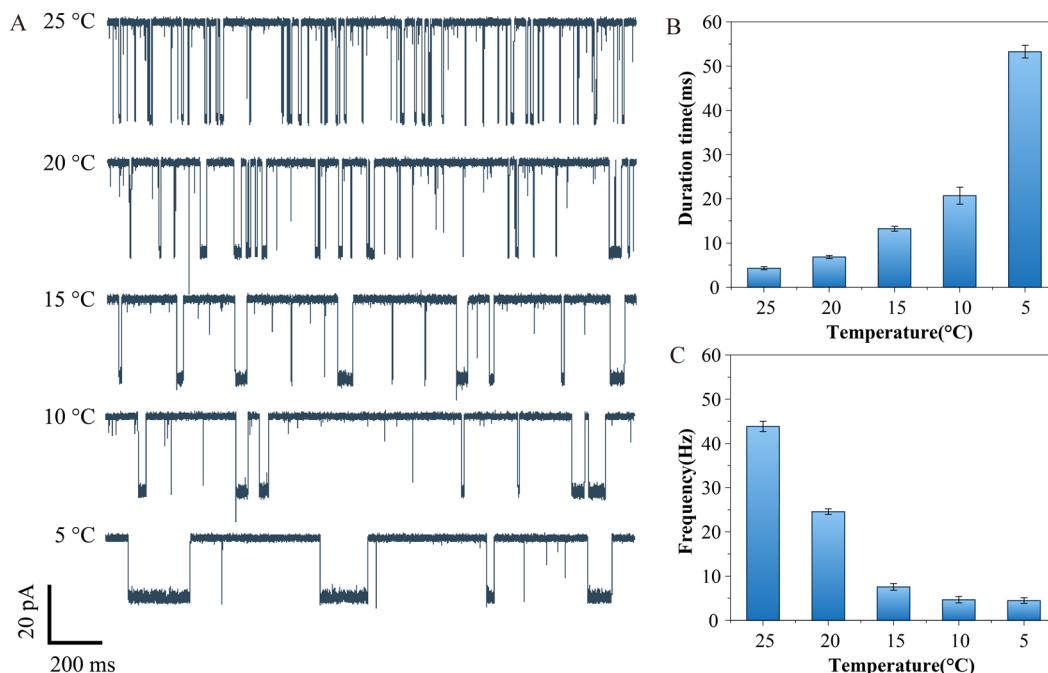


图 4 (A) 25 °C 至 5 °C 下短链 DNA 分子 Poly(dA)₅ 穿过 Aerolysin 孔的原始信号图;(B) 25 °C 至 5 °C 下短链 DNA 分子 Poly(dA)₅ 过孔信号阻断时间的变化趋势图;(C) 25 °C 至 5 °C 下的信号穿孔频率的变化趋势图

Fig. 4 (A) Raw current traces of Poly(dA)₅ traversing across Aerolysin; (B) Temperature-dependent duration time and (C) temperature-dependent event frequencies of Poly(dA)₅ signals at temperatures ranging from 25 °C to 5 °C

Hz 减缓到 4.5 Hz. 因此,该系统可对于不同温度下单个分子在生物纳米孔道内的相互作用行为进行进一步研究,尤其可以获得较低温度下生物分子的通过纳米孔孔的时间增长阻断离子流信号,有望应用于低温下生物分子在单个生物分子界面内的热力学过程的研究.

参考文献(References):

- [1] Kasianowicz J J, Brandin E, Branton D, et al. Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(24): 13770-13773.
- [2] Ying Y L(应佚伦), Zhang X(张星), Liu Y(刘钰), et al. Single molecule study of the weak biological interactions between p53 and DNA[J]. *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2013, 71(1): 44-50.
- [3] Yang J(杨洁), Li S(李爽), Wu X Y(武雪原), et al. Development of biological nanopore technique in non-gene sequencing application[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学)*, 2017, 45(12): 1766-1775.
- [4] Li Z P(李作鹏), Wen Y Q(温雅琼), Wu M X(武美霞), et al. Electrochemical behavior of ionic liquid confined into nanopores of silica gel matrix[J]. *Journal of Electrochemistry(电化学)*, 2014, 20(2): 121-127.
- [5] Lin Y(林瑶), Ying Y L(应佚伦), Gao R(高瑞), et al. Analysis of single-entity anisotropy with a solid-state nanopore[J]. *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2017, 75(7): 675-678.
- [6] Li Q(李巧), Lin Y(林瑶), Ying Y L(应佚伦), et al. Detection of single oligonucleotide with an electrochemical confined solid-state nanopore[J]. *Scientia Sinica Chimica(中国科学:化学)*, 2017, 47(12): 1445-1449.
- [7] Henrickson S E, Misakian M, Robertson B, et al. Driven DNA transport into an asymmetric nanometer-scale pore[J]. *Physical Review Letters*, 2000, 85(14): 3057-3060.
- [8] Fologea D, Uplinger J, Thomas B, et al. Slowing DNA translocation in a solid-state nanopore[J]. *Nano Letters*, 2005, 5(9): 1734-1737.
- [9] Zoysa R S S D, Krishantha D M M, Zhao Q T, et al. Translocation of single-stranded DNA through the α -hemolysin protein nanopore in acidic solutions[J]. *Electrophoresis*, 2011, 32(21): 3034-3041.
- [10] Mirsaidov U, Comer J, Dimitrov V, et al. Slowing the translocation of double-stranded DNA using a nanopore smaller than the double helix[J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(39): 395501-395510.
- [11] Si W, Sha J J, Liu L, et al. Detecting DNA using a single graphene pore by molecular dynamics simulations [M].

- Key Engineering Materials, 2012, 503: 423-426.
- [12] Si W, Sha J J, Liu L, et al. Effect of nanopore size on poly(dT)₃₀ translocation through silicon nitride membrane [J]. Science China Technological Sciences, 2013, 56(10): 2398-2402.
- [13] Kowalczyk S W, Wells D B, Aksimentiev A, et al. Slowing down DNA translocation through a nanopore in lithium chloride[J]. Nano Letters, 2012, 12(2): 1038-1044.
- [14] Uplinger J, Thomas B, Rollings R, et al. K⁺, Na⁺, and Mg²⁺ on DNA translocation in silicon nitride nanopores [J]. Electrophoresis, 2012, 33(23): 3448-3457.
- [15] Zhang Y, Liu L, Sha J J, et al. Nanopore detection of DNA molecules in magnesium chloride solutions [J]. Nanoscale Research Letters, 2013, 8(1): 1-8.
- [16] Meller A, Nivon L, Branton D. Voltage-driven DNA translocations through a nanopore[J]. Physical Review Letters, 2001, 86(15): 3435-3438.
- [17] Yeh L H, Zhang M K, Joo S W, et al. Slowing down DNA translocation through a nanopore by lowering fluid temperature[J]. Electrophoresis, 2012, 33(23): 3458-3465.
- [18] Wanunu M, Sutin J, McNally B, et al. DNA translocation governed by interactions with solid-state nanopores [J]. Biophysical Journal, 2008, 95(10): 4716-4725.
- [19] Payet L, Martinho M, Merstorf C, et al. Temperature effect on ionic current and ssDNA transport through nanopores [J]. Biophysical Journal, 2015, 109(8): 1600-1607.
- [20] Matysiak S, Montesi A, Pasquali M, et al. Dynamics of polymer translocation through nanopores: theory meets experiment[J]. Physical Review Letters, 2006, 96(11): 118103.
- [21] Mahendran K R, Lamichane U, Romero-Ruiz M, et al. Polypeptide translocation through the mitochondrial TOM channel: temperature-dependent rates at the single-molecule level[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2013, 4(1): 78-82.
- [22] Gu Z, Wang H F, Ying Y L, et al. Ultra-low noise measurements of nanopore-based single molecular detection [J]. Science Bulletin, 2017, 62(18): 1245-1250.
- [23] Wang Y Q, Li M Y, Qiu H, et al. Identification of essential sensitive regions of the aerolysin nanopore for single oligonucleotide analysis[J]. Analytical Chemistry, 2018, 90(13): 7790-7794.
- [24] Wang H F, Huang F, Gu Z, et al. Real-time event recognition and analysis system for nanopore study[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(6): 843-850.
- [25] Gu Z, Ying Y L, Long Y T. Nanopore sensing system for high-throughput single molecular analysis[J]. Science China Chemistry, 2018, 59(1): 1-2.
- [26] Li W W, Gong L Z, Bayley H. Single-molecule detection of 5-hydroxymethylcytosine in DNA through chemical modification and nanopore analysis[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 52(16): 4350-4355.
- [27] Yameen B, Ali M, Neumann R, et al. Single conical nanopores displaying pH-tunable rectifying characteristics. Manipulating ionic transport with zwitterionic polymer brushes[J]. Journal of the American Chemical Society 2009, 131(6): 2070-2071.
- [28] Cao C, Liao D F, Yu J, et al. Construction of an aerolysin nanopore in a lipid bilayer for single-oligonucleotide analysis[J]. Nature Protocols, 2017, 12(9): 1901-1911.

A Low Noise Temperature Control System for Nanopore-Based Single Molecule Analysis

YANG Cheng-yu¹, GU Zhen¹, HU Zheng-li¹, YING Yi-lun^{1*}, LONG Yi-tao^{1,2}

(1. School of Chemistry & Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. State Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, Jiangsu, China)

Abstract: Nanopore employs a single bio-molecule interface, which is a highly sensitive single-molecule detection technology for measuring single biomolecules such as DNA, RNA, protein, and peptide. The interaction between single molecule and nanopore is thermodynamically controlled. Therefore, it is urgent to precisely control the temperature of the nanopore system without introduction of any noise. In this paper, we have developed a low-noise temperature control system for single-molecule detection of nanopores to achieve precise regulation at the ambient temperature during measurements. The system utilizes the thermoelectric effect of the semiconductor refrigerating chip to heat or cool the detection chamber, while adopts electromagnetically shielded high-precision thermistor to achieve the temperature feedback which avoids the introduction of noise at the same time. The proportional-integral-differential algorithm is used to provide the high-precision and rapid temperature control. The system was further applied in measuring the interaction between Poly(dA)₅ and aerolysin nanopore at 25 °C to 5 °C. This system could be used to characterize the thermodynamic and kinetic information of the single molecules.

Key words: nanopore; electrochemistry; single bio-molecule detection; single bio-molecule interface; temperature control system; low noise measurement