

使用原子力显微镜观察 DNA 与 PEI 的层层自组装过程*

田艳芝 李艳丽 姜 勇**

(东南大学化学化工学院 南京 211189)

摘 要 选择了 DNA 与聚乙烯亚胺(PEI)进行相互作用,使用 AFM 直观地观察 DNA 与 PEI 层层自组装时其分子形貌的变化过程,总结了自组装过程中薄膜表面粗糙度的变化规律.同时详细地分析了离子浓度、DNA 浓度、基底和固定方法对层层自组装膜的影响,以此来探讨 DNA 与 PEI 之间的相互作用机理.研究结果表明上述因素都会对膜的形貌产生影响,其中以云母作为基底,PEI 处理基底表面后,再进行交替组装时,膜的表面粗糙度变化呈现出锯齿状的增长趋势,而用其他方法会影响膜的形貌以及粗糙度的变化规律.

关键词 脱氧核糖核酸(DNA), 聚乙烯亚胺(PEI), 层层自组装, 原子力显微镜(AFM)

层层自组装(layer-by-layer self-assembly, LBL)是 20 世纪 90 年代发展起来的一种简易且多功能的表面修饰方法.该技术依靠逐层交替沉积的方法,借助各层分子间的相互作用,如静电引力、氢键、配位键等,逐层进行自组装,最终形成具有特殊性能的分子聚集体或者超分子结构,可形成膜、微胶囊等^[1~3].尤其是生物大分子自组装的制备,从单组分到多组分组装,从单层到多层交替组装,从蛋白质到 DNA 组装都有研究,有些研究成果已应用到实践中^[4~6].DNA 是带负电荷的高分子,一直是研究的热点,如生物芯片^[7],除此之外与带正电荷的高分子,依靠静电相互作用力可以形成各种复合物^[8,9],例如膜^[10]、微胶囊^[11,12]或者纳米粒子^[13]等等.在复合物方面,聚乙烯亚胺(PEI)是一种带正电荷的聚电解质,具有较高的电荷密度,对 DNA 有较强的压缩能力,控制好 PEI 与 DNA 的比例可以形成不同大小的纳米级的小球^[14],既有助于 DNA 进入细胞,也可以对 DNA 进行保护,但其毒性在一定程度上限制了它的应用.

原子力显微镜(AFM)的出现为纳米领域的科学研究带来了很多便利^[15],其具有较高的分辨率和灵敏度,样品制备较为简单,且可以直接在液体中对样品进行观察等等优势使得 AFM 得到了迅速与广泛的应用.AFM 除了观察高分子组装膜或

晶体形貌外^[16,17],也是一种研究分子间相互作用力的重要工具^[18,19].在生物领域中的应用更为广泛,不仅可以研究生物大分子的高级结构,还能从三维的立体结构更进一步的研究生物大分子^[19~23].从最早利用 AFM 观察 DNA 的形貌,到在不同的基底^[24],不同带正电荷的离子^[25],不同的缓冲溶液等等 DNA 形貌的变化^[26,27],再到目前 DNA 与带相反电荷的高分子组装成膜的形貌或者膜释放之后的形貌^[28~31].AFM 的应用不仅仅局限于形貌的检测,也可以对表面粗糙度、厚度或者颗粒大小进行分析等等.Li 等^[32]选用蛋白质与 ssDNA 作为膜的组装材料,以甲醛作为交联剂,在不同基底上进行层层自组装,并使用 AFM 观察了膜的表面形貌以及粗糙度的变化规律.该方法制备的膜稳定性较好,并且具有可控性,可以控制药物装载的量以及释放的速率等等,有很大的灵活性,为制备用于基因载体的纳米颗粒提供了新的思路.

在本文中,我们利用天然生物大分子 DNA 和 PEI 在不同的基底表面进行层层自组装.利用双链 DNA 的分子尺寸较大,其单分子形貌可被原子力显微镜(AFM)直接观察到的特点,直观地观察了 DNA 与 PEI 自组装时表面形貌的变化,并总结了表面粗糙度的变化规律.同时逐一观察了离子浓度、DNA 浓度、基底和不同的处理方法固定第

* 2013-08-23 收稿,2013-11-20 修稿;国家自然科学基金(基金号 21174029)和教育部留学回国人员科研启动基金资助项目.

** 通讯联系人,E-mail:yj@seu.edu.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2014.13312

一层 DNA 时对层层自组装膜的影响,并详细对比了硅片和云母等不同材料作为基底,以及不同的处理方法对基底改性后,对 DNA 和 PEI 自组装形貌及粗糙度的影响,以此来探讨层层自组装时 DNA 与 PEI 相互作用的分子机理。

1 实验部分

1.1 实验原料

pUC19 DNA 载体购买于上海生工,聚乙烯亚胺(PEI,70000,50%的水溶液)购买于阿拉丁,3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)购买于 Sigma-Aldrich。

1.2 样品制备

1.2.1 云母或者硅片基底表面的处理

本实验共采用 3 种云母基底来固定 DNA,一种是刚刚剥离的空白云母,不做任何处理。配制最终浓度含有 10 mmol/L Mg^{2+} 的 DNA 溶液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),滴 200 μL 上述 DNA 溶液在云母表面,静置 3 min 之后,用蒸馏水冲洗云母表面,空气吹干表面。获得第一层之后,再接着进行组装。

第二种方法是用 200 μL PEI 溶液(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$)处理云母表面 15 min,蒸馏水冲洗,空气吹干表面,紧接着用于层层自组装。

第三种方法是用稀释了 300 倍的 APTES 溶液处理基底 30 min 之后,蒸馏水冲洗,空气吹干表面,紧接着用于层层自组装。

1.2.2 DNA/PEI 层层自组装

第一种方法,DNA 通过镁离子作为桥梁固定在基底(空白云母)上,吹干之后,再滴入 200 μL PEI 溶液(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),静置 15 min,蒸馏水冲洗后吹干,如此重复操作,直至获得所要的样品。

第二种方法,被 PEI 处理的基底(云母)上,滴入 200 μL pUC19 溶液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),处理 15 min,蒸馏水冲洗后吹干,再滴入等体积的 PEI 溶液(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),静置 15 min,蒸馏水冲洗后吹干,如此重复操作,直至获得所需的样品。

第三种方法中,被 APTES 处理的基底(云母或者硅片),滴入 200 μL pUC19 溶液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),静置 15

min,蒸馏水冲洗后吹干,再滴入等体积的 PEI 溶液(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, $\text{pH} = 7.2$),静置 15 min,蒸馏水冲洗后吹干,如此重复操作,直至获得所要的样品。

1.3 表征

原子力显微镜(AFM)的型号为 Nanoscope V Controller (Bruker Instruments),采用轻敲模式在空气中进行扫描。探针型号为 RTESP,悬臂的共振频率为 275 ~ 316 kHz,弹性常数为 20 ~ 80 N/m。扫描速率控制在 2.0 ~ 3.0 Hz 范围,扫描尺寸为 2000 ~ 4000 μm ,扫描线为 512 $\times$ 512 像素点。粗糙度(RMS)是利用 NanoScope Analysis 软件在一张 2 $\mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ 的图片上,获取 3 ~ 4 处 800 nm $\times$ 800 nm 大小的粗糙度值,计算其平均值和标准差。

2 结果与讨论

2.1 用 PEI 处理的云母为基底进行 DNA 组装自组装

云母表面带有负电荷,而 DNA 为带负电荷的高分子,导致 DNA 难以直接地吸附在云母的表面。因此我们首先尝试将聚阳离子 PEI 沉积在云母表面使其表面带正电荷,然后将 DNA 固定在 PEI 处理的云母表面上如图 1(a)所示。接着又在 DNA 表面自组装了一层 PEI(图 1(b)),如此重复分别得到图 1 中的(c),(d),(e),(f)图。第一层为 DNA 时,其形貌图不是很清晰,但是接着组装 PEI 之后,DNA 变得清晰可见,并且均匀紧密地沉积在云母表面上。说明 DNA 被重新排列在云母表面上,而且表面粗糙度也在增大,从第 3 层往后表面粗糙度出现重复升高降低现象,如图 2 所示。当最外层皆为 DNA 或者 PEI 时,粗糙度都随着层数的增加而增大,而最外层为 DNA 时的表面粗糙度比临近的两个 PEI 层的表面粗糙度要大,导致粗糙度的增长呈现锯齿状的变化规律。

2.2 离子浓度、DNA 浓度和云母表面处理方法的影响

为了探究 DNA 与 PEI 自组装时受到哪些因素的影响,分别观察了离子浓度、DNA 浓度、不同的基底以及基底的不同表面处理方法对层层自组装的影响。

首先观察离子浓度的影响,如图 3 所示。图 3(a)为镁离子固定的 DNA,图 3(c)图为 PEI 固定的 DNA。可以明显看出用镁离子和 PEI 来固定

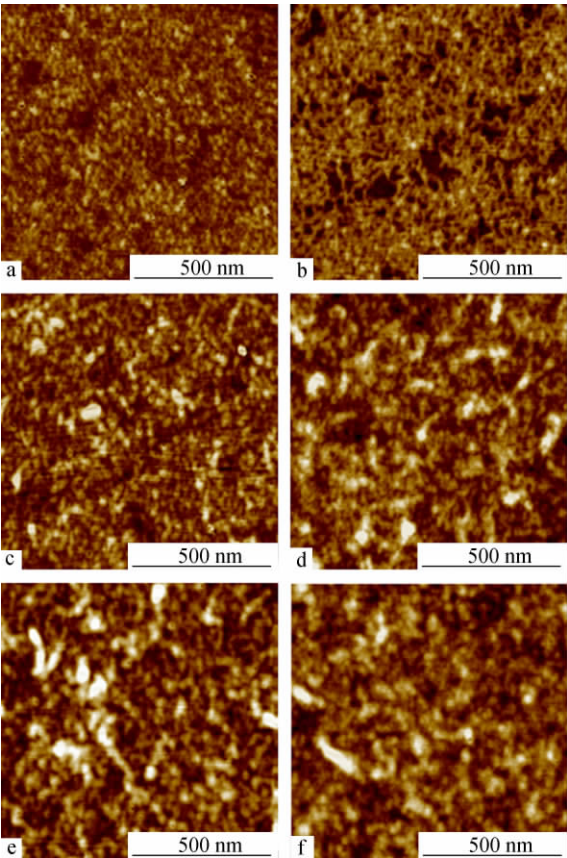


Fig. 1 AFM images of layer-by-layer self-assembly films of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$) and PEI (5 $\mu\text{g/mL}$) deposited on the surface of fresh mica with different numbers of layers: (a) PEI/DNA, (b) PEI/DNA/PEI, (c) (PEI/DNA)₂, (d) (PEI/DNA)₂/PEI, (e) (PEI/DNA)₃ and (f) (PEI/DNA)₃/PEI

The first layer deposited on the mica surface is polycation PEI because mica surface is negatively charged.

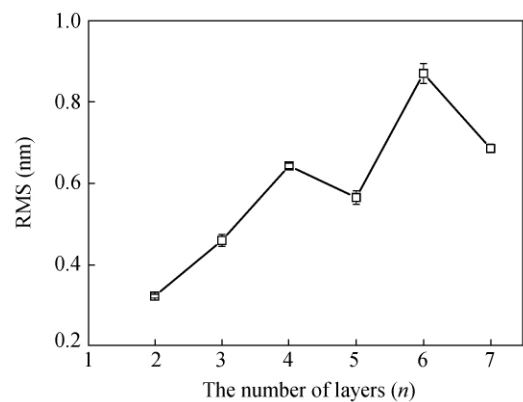


Fig. 2 The statistical curve showing the surface roughness (RMS) values of the AFM images in Fig. 1 as the function of the numbers of layers (n)

The first RMS value was measured on the (PEI/DNA) layer.

DNA,薄膜的表面形貌是不相同的,说明 DNA 的

结构也受到了影响.0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 DNA 原本的形貌在缓冲溶液 (10 mmol/L tris HCl, 1 mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaCl and 10 mmol/L MgCl_2) 中可以很好地得到展示,云母为基底如图 3(e). 由图 3(a)可以看出镁离子可以将 DNA 平整均匀地固定在云母表面,DNA 显得较为硬.而图 3(c)用 PEI 处理的云母表面固定的 DNA 容易堆积在一处,显得比较柔韧.之后组装 PEI 后得到图 3(b),DNA 发生了细微的变化,图 3(a)中用镁离子固定的 DNA 较为紧密显得较硬,再与 PEI 作用之后

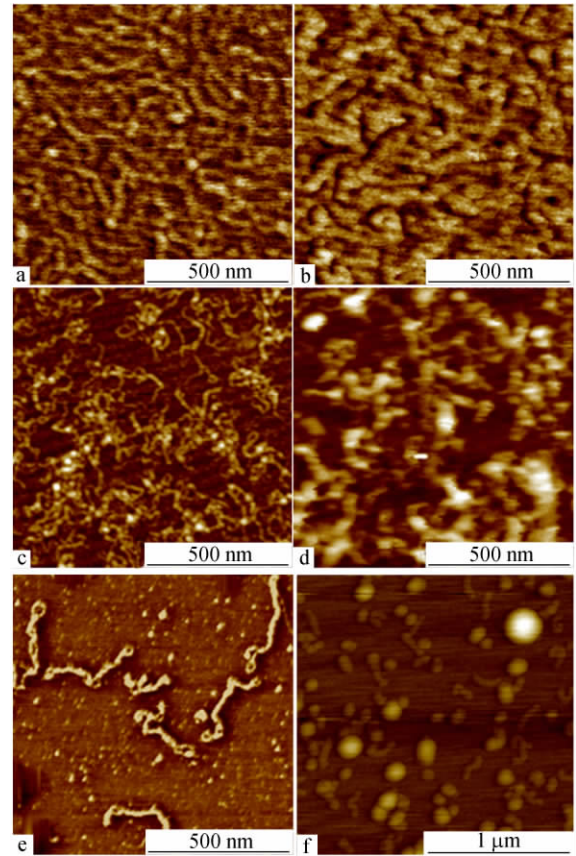


Fig. 3 AFM images of layer-by-layer self-assembly films of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$) and PEI (5 $\mu\text{g/mL}$) adsorbed on the surface of mica modified by different methods: (a) DNA layer on fresh mica in the presence of 10 mmol/L Mg^{2+} , $\text{RMS} = (0.373 \pm 0.006) \text{ nm}$, (b) DNA layer in Fig. 3 (a) after being treated with PEI (5 $\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.591 \pm 0.012) \text{ nm}$, (c) DNA layer on the mica modified by PEI (5 $\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.570 \pm 0.012) \text{ nm}$, (d) DNA layer in Fig. 3 (c) after being treated with PEI (5 $\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.752 \pm 0.021) \text{ nm}$, (e) AFM image of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$, 10 mmol/L tris HCl, 1 mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaCl and 10 mmol/L MgCl_2) adsorbed on the surface of mica and (f) AFM image of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$) adsorbed on the surface of mica modified by PEI (0.5 mg/mL)

DNA 变粗(图 3(b)),但依然平整地沉积在云母表面,而表面粗糙度发生了明显的变化,由 (0.373 ± 0.006) nm 增至 (0.591 ± 0.012) nm,表面变得更粗糙,间接说明 PEI 与 DNA 发生了相互作用. PEI 处理的云母吸附的 DNA 表面不够平整而且有累积现象,但 DNA 的形貌较为松弛(图 3(b)),进而组装 PEI 之后 DNA 变得更粗(图 3(d)),表面粗糙度也由 (0.570 ± 0.012) nm 增至 (0.752 ± 0.021) nm.

图 4(a)、4(c)皆为 APTES 处理的云母表面,不同的是变换了 DNA 的浓度. 图 4(a)中, DNA 的浓度为 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$,图 4(c) DNA 浓度为 $10\text{ }\mu\text{g/mL}$,

分别组装 PEI 之后 DNA 的形貌也发生了截然不同的变化(图 4(b)和 4(d)). 图 4(b)中 DNA 脱离了云母与 PEI 之间形成了复合物,有的甚至形成了小球,没有平整地沉积在云母表面. 表面粗糙度也由 (0.250 ± 0.014) nm 增至 (0.606 ± 0.077) nm. 而图 4(d)在组装 PEI 之后并没有明显的变化,依然平整地沉积在云母表面上,再组装同浓度的 DNA 之后(图 4(e)),云母表面也没有明显的变化,说明 DNA 浓度足够大时,已经能够形成连续的膜. 3 层的粗糙度变化规律如图 5 所示,呈逐渐增大的趋势.

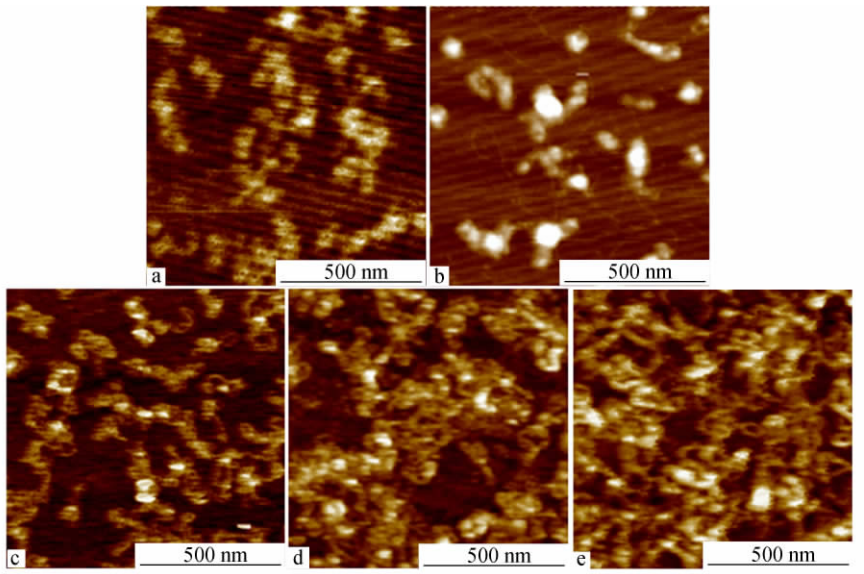


Fig. 4 AFM images of layer-by-layer self-assembly films of pUC19 DNA and PEI ($5\text{ }\mu\text{g/mL}$) adsorbed on the surface of mica modified by APTES: (a) DNA ($5\text{ }\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.250 \pm 0.014)\text{ nm}$, (b) DNA/PEI (DNA, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.606 \pm 0.077)\text{ nm}$, (c) DNA ($10\text{ }\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.385 \pm 0.013)\text{ nm}$, (d) DNA/PEI (DNA, $10\text{ }\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.559 \pm 0.030)\text{ nm}$ and (e) DNA/PEI/DNA (DNA, $10\text{ }\mu\text{g/mL}$), $\text{RMS} = (0.791 \pm 0.071)\text{ nm}$

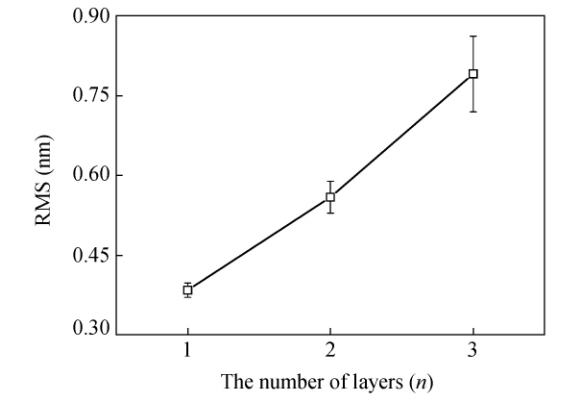


Fig. 5 The statistical curve showing the RMS values of AFM images in Figs. 4(c) ~ 4(e) as a function of the numbers of layers (n)
The first layer measured was a DNA layer.

2.3 不同基底对 DNA 自组装的影响

硅片作为基底时,分别用 APTES 或者 PEI 处理基底,再组装 DNA,形貌也不相同,分别如图 6、7 和图 8、9. APTES 处理的硅片固定 DNA 效果较佳,形貌较为清晰(图 6(a)). 接着在表面交替组装 PEI 与 DNA(图 6(b)、6(c)、6(d)),DNA 被平整沉积在硅片表面,表面粗糙度迅速下降,其后才逐渐增加,图 6(d)可以看出明显的凸起. 表面粗糙度的变化规律如图 7 所示.

用 PEI 处理硅片表面,固定的 DNA 形貌不清晰,如图 8(a),其后用 PEI 处理之后(图 8(b)),表面出现很多凸起,整个图 8 中,每层的表面粗糙度呈增大趋势,如图 9,只是第二层,第三层之间

表面粗糙度变化不大,但到第四层增大的幅度变大.从图 4 中也可以看出 b,c 之间相差不大,但图 4(d)表面凸起部分增多.

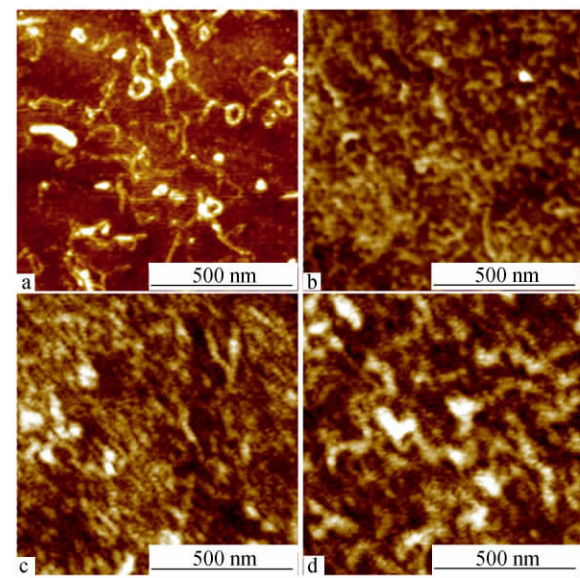


Fig. 6 AFM images of layer-by-layer self-assembly films of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$) and PEI (5 $\mu\text{g/mL}$) adsorbed on the surface of silicon wafer modified by APTES: (a) DNA, (b) DNA/PEI, (c) DNA/PEI/DNA and (d) DNA/PEI/DNA/PEI

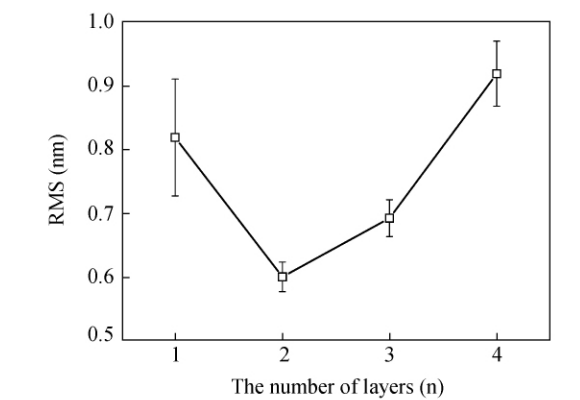


Fig. 7 The statistical curve showing the RMS values of the AFM images in Fig. 6 as a function of the numbers of layers (n)
The first layer measured was a DNA layer.

以往文献报道的 DNA 与聚阳离子制备的膜,例如 DNA/PLL^[30,31],DNA/PDL 与 DNA/PAH^[33]等体系,其表明粗糙度多随着层数的增加而增加.与之不同的是 PEI 与 DNA 在合适浓度下形成的膜,其表面粗糙度则随着层数的增加出现锯齿状的规律变化,与 Li 等^[32]选用 ssDNA 与蛋白质制备的膜,其表面粗糙度的变化规律类似.出现这种现象,可能有以下两种原因,一是 pUC19 为超螺

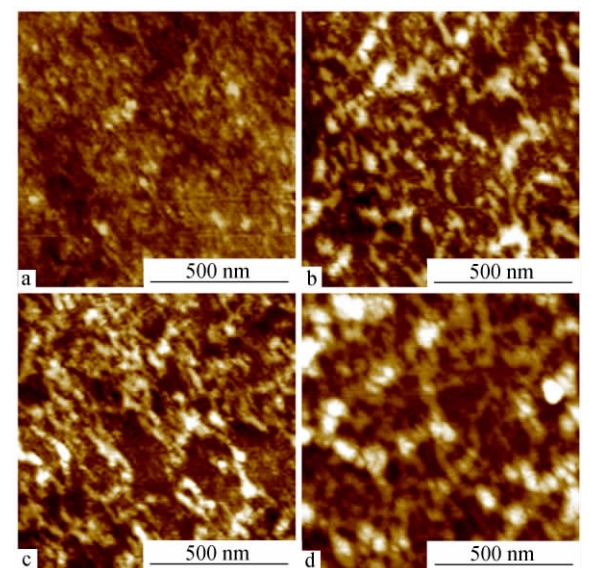


Fig. 8 AFM images of layer-by-layer self-assembly films of pUC19 DNA (10 $\mu\text{g/mL}$) and PEI (5 $\mu\text{g/mL}$) adsorbed on the surface of fresh silicon: (a) PEI/DNA, (b) PEI/DNA/PEI, (c) $(\text{PEI/DNA})_2$ and (d) $(\text{PEI/DNA})_2/\text{PEI}$
The first layer deposited on the mica surface is polycation PEI because mica surface is negatively charged.

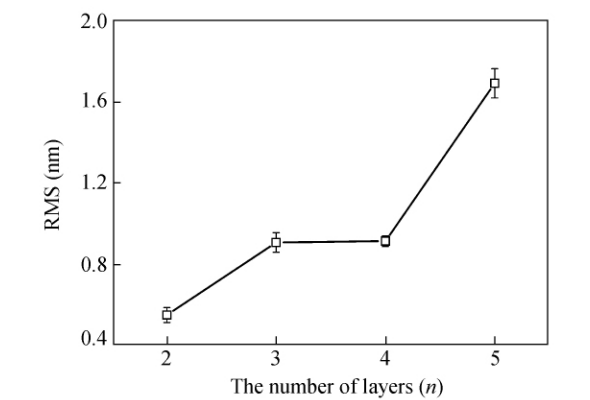


Fig. 9 The statistical curve showing the RMS values of the AFM images in Fig. 8 as a function of the numbers of layers (n)
The first RMS value was measured on the (PEI/DNA) layer.

旋的环形 DNA,根据 Rivetti 等的研究结果^[34],DNA 分子由溶液向基底表面转移时形貌由扩散控制,统计结果显示 DNA 的可持续长度为 53 nm,远远大于相对柔软的 PEI,简言之即是链段很硬.另外 DNA 可以由 AFM 直接观察到其形貌,PEI 不能被直接观察,所以和 PEI 相比,DNA 链段直径比较大.因此,DNA 组装在最外层时,在表面容易形成一些孔洞,使得表面粗糙,当组装 PEI 时,PEI 可以嵌在 DNA 空隙中或者 DNA 内部,填补

表面的一些空洞,使得表面平滑,表面粗糙度变小,如此重复组装,粗糙度的大小也随之交替变化.第二种原因可能是 DNA 与 PEI 可以形成复合物,在组装膜的过程中就有复合物形成,且 PEI 对 DNA 有很强的压缩能力,二者比例合适时,可直接形成球状颗粒的复合物,如图 3(f). 有相关文献^[35,36]指出即使 PEI 相对过量,也不能使所有 DNA 完全凝聚,且在形成复合物时,DNA 过量反而会形成较大的复合物,即 PEI 较多时,复合物的颗粒越小,游离的 PEI 也较多.因此在组装膜的过程中,当 DNA 被固定在云母上时,组装 PEI 时,PEI 是过量的,这时形成的复合物较小,而当 PEI 被固定时,组装 DNA,DNA 是过量的,这时形成的复合物较大,所以 DNA 为外层时,膜的表面粗糙度相对较大,PEI 为外层时,膜的表面粗糙度相对较小.以上是造成粗糙度呈现锯齿状的变化规律的两个因素,而 DNA,PEI 的浓度,基底等原因会影响到该规律.下面我们就一一探讨这些因素对组装膜的影响.

首先,同为云母基底时,采用了不同方法对云母进行修饰,发现 DNA 的形貌和在云母表面的沉积状态都受到影响.同为云母基底且 DNA 浓度都相同时,用镁离子可以将 DNA 很好的固定在云母表面上,而且较为平整,与 PEI 作用之后也不会有凸起现象.但是选用 APTES 或者 PEI 时处理云母基底时,DNA 不能平整地沉积在基底上,会有累积现象,而且再次组装 PEI 之后会有凸起出现.这可能与作用力的大小有关. Dietler 等^[37]指出用镁离子固定 DNA 的原理是镁离子在 DNA 与云母表面之间形成一个桥梁,依靠微弱的吸附力将 DNA 固定在云母表面上,而用 APTES 处理之后再与 DNA 作用,此时的吸附力较强.对比图 3 和图 4,可以发现,图 3(a)、3(b)中镁离子固定的 DNA 组装 PEI 后,PEI 与 DNA 之间的空隙会变小,显得拥挤也较粗,图 4(c)、4(d)和 4(e)中用 APTES 处理之后用 PEI 处理之后,表面没有明显的变化.用镁离子固定 DNA,可以将 DNA 很好的沉积在云母表面,再组装 PEI 时,也能平整地沉积在云母表面上,而不会像 PEI 或者 APTES 处理的云母表面,每次组装都出现明显的空洞.

选用 DNA 与 PEI 进行层层自组装时,选用合适的浓度也较为关键,这主要是因为 PEI 对 DNA 的压缩能力较强.实验发现 DNA 的浓度为 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$,PEI 浓度为 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,DNA 会被压缩,不能

均匀地沉积在基底上,如图 4(b),不是球形颗粒状,而浓度为 0.5 mg/mL 的 PEI 处理云母表面之后再滴加 DNA ($10\text{ }\mu\text{g/mL}$) 时,DNA 会被压缩形成小球,如图 3(f),从图上可以明显地看到一些不同大小颗粒的小球,这与文献报道的 DNA 与 PEI 之间适当的比例可以形成不同大小的纳米粒子相符合^[35]. DNA 的浓度为 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,PEI 为 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,如图 4(a)、4(b)所示.图 4(b)图中的 DNA 被压缩,不能平整地沉积在云母表面,这将导致后面的膜很难组装.实验发现当 DNA 与 PEI 的浓度分别为 $10,5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 时,层层组装可以形成较好的膜.

综上所述,云母为基底时,离子浓度、DNA 浓度和不同方法固定 DNA 对层层自组装膜的都会产生影响,含有镁离子固定的 DNA 可以平整地沉积在云母表面,形成一层均匀的膜,进而组装 PEI 后,表面无明显凸起.而低浓度和高浓度的 PEI 以及 APTES 处理的云母表面均不能形成均匀的膜,其后进行自组装时,膜的表面会有明显的凸起.

硅片作为基底时,表面用 APTES 或者 PEI 处理后,层层自组装 DNA 与 PEI,膜的形貌变化和表面粗糙度的变化各不相同.选用 APTES 处理硅片基底时,DNA 的形貌较为清晰,如图 6(a),而 APTES 处理云母基底时,固定的 DNA,形貌较为模糊,如图 4(c),但显得较为柔软.这可能是由于 APTES 分别与不同基底反应的程度不同,导致表面带的电荷量不同,进而影响层层自组装的过程和表面粗糙度的变化.硅片上第一层 DNA 沉积的不平整,表面粗糙度较大,而组装 PEI 之后,被重新沉积,变得较为平坦,表面粗糙度迅速下滑,随着组装层数增加,表面凸起也增多.表面粗糙度的变化趋势是先下降,继而逐层增大,如图 7.而云母为基底时,表面粗糙度逐渐增大,如图 5,没有出现先下降后增大的现象.

选用 PEI 处理硅片基底固定第一层 DNA 后,再组装 PEI,硅片基底上会出现大量的凸起,如图 8(b),再次沉积 DNA 时,形貌相差不大,图 8(c),表面粗糙度也相差不大,而总体趋势上表面粗糙度是逐渐增大的,如图 9.可以发现,PEI 处理的硅片为基底时,表面粗糙度增大的较为迅速.

综上所述,APTES 处理的硅片基底,固定的 DNA 凸起较多,不够平整,但组装第 2 层时凸起减少,随后粗糙度逐层增大.而 PEI 处理的硅片基底,层层组装的膜,膜的表面粗糙度较大且增大的

幅度也相对较大。

3 结论

本文详细地探究了 DNA 与 PEI 在不同的基底上进行层层自组装成膜的过程。首先选择云母作为基底层层自组装膜,发现该方法可以形成致密的膜,膜的表面粗糙度值呈现锯齿状的变化规

律,膜的表面凸起现象也较为缓和。其后探究了离子浓度、DNA 浓度、基底以及不同方法固定 DNA 对层层自组装膜的影响,发现上述因素都会对膜的致密性以及表面粗糙度的变化规律产生影响。如选用 PEI 处理硅片基底时,层层组装的膜,膜的表面粗糙度较大且增大的幅度也相对较大。

REFERENCES

1 Liang Zhenpeng(梁振鹏),Wang Zhaoyang(王朝阳),Sun Qilong(孙启龙),Tong Zhen(童真). Progress in Chemistry(化学进展),2004,(04):485~491

2 Lin Shule(林书乐),Wang Kun(王坤),Cheng Jiang(程江),Yang Zhuoru(杨卓如). Polymer Materials Science & Engineering(高分子材料科学与工程),2012,(5):179~182

3 Ariga K,Lvov Y M,Kawakami K, Ji Q,Hill J P. Adv Drug Deliv Rev,2011,63(9):762~771

4 Guan Ying(关英),Zhang Yongjun(张拥军),Zhang Wenjing(张文静),Zhang Xi(张曦),Ding Zhibo(丁智博),Zhu Xiaoxia(朱晓夏). Polymer Bulletin(高分子通报),2013,(01):40~52

5 Lin Quankui(林全愧),Ji Jian(计剑),Tan Qinggang(谭庆刚),Ren Kefeng(任科峰),Shen Jiacong(沈家骢). Polymer Bulletin(高分子通报),2006,(8):58~63

6 Yan S,Zhu J,Wang Z,Yin J,Zheng Y,Chen X. Eur J Pharm Biopharm,2011,78(3):336~345

7 Zhang Zhihong(张治红),Feng Xiaozhong(冯孝中),Yan Fufeng(闫福丰),Wang Lizhen(王力臻),Zhang Zhonghou(张忠厚),Ma Zhi(马志). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2011,(4):377~383

8 Liao Z X,Peng S F,Ho Y C,Mi F L,Maiti B,Sung H W. Biomaterials,2012,33(11):3306~3315

9 Chen Lei(陈磊),Tian Huayu(田华雨),Chen Xuesi(陈学思),Piao Taikuan(朴泰宽),Wan Shanhou(丸山厚),Jing Xiabin(景遐斌). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2009,(6):499~505

10 Neumann T,Gajria S,Tirrell M,Jaeger L. J Am Chem Soc,2009,131(10):3440~3441

11 Ma Y,Dong W F,Hempenius M A,Mohwald H,Vancso G J. Angew Chem Int Ed Engl,2007,46(10):1702~1705

12 Fujii A,Murayama T,Ohmukai Y,Kamio E,Sotani T,Matsuyama H. Colloids and Surfaces A:Physicochem. Eng. Aspects,2010,356(1-3):126~133

13 Elfinger M,Pfeifer C,Uezguen S,Golas M M,Sander B,Maucksch C,Stark H,Aneja M K,Rudolph C. Biomacromolecules,2009,10(10):2912~2920

14 Ahn H H,Lee M S,Cho M H,Shin Y N,Lee J H,Kim K S,Kim M S,Khang G,Hwang K C,Lee I W,Diamond S L,Lee H B. Colloids and Surfaces A:Physicochem Eng Aspects,2008,313-314:116~120

15 Ma Mengjian(马梦佳),Chen Yuyun(陈玉云),Yan Zhiqiang(闫志强),Ding Jian(丁剑),He Dannong(何丹农),Zhong Jian(钟建). Progress in Chemistry(化学进展),2013,25(1):135~144

16 Chai Liguo(柴利国),Li Lin(李林),Liao Qi(廖琦),Yan Shouke(闫寿科). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2012,(11):1342~1348

17 Jiang Y,Yan D D,Gao X,Han C C,Jin X G,Li L,Wang Y,Chan C M. Macromolecules,2003,36(10):3652~3655

18 Zhang Yiheng(张义恒). Wang Zhiqiang(王治强),Zhang Xi(张希). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2009,(10):973~979

19 Lee G,Abdi K,Jiang Y,Michaely P,Bennett V,Marszalek P E. Nature,2006,440(7081):246~249

20 Wu Aiguo(吴爱国),Wei Gang(魏刚),Li Zhuang(李壮). Analytical Chemistry(分析化学),2004,(11):1538~1543

21 Xu Yongchun(徐永春),Shi Xiaoli(师晓丽),Fang Xiaohong(方晓红). Chinese Bulletin of Life Sciences(生命科学),2008,20(1):39~45

22 Zhang Wenke(张文科). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2011,(9):913~922

23 Jiang Y,Ke C H,Mieczkowski P A,Marszalek P E. Biophys J,2007,93(5):1758~1767

24 Bezanilla M,Manne S,Laney D E,Lyubchenko Y L,Hansma H G. Langmuir,1995,11(2):655~659

25 Thomson N,Kasas S,Smith B,Hansma H,Hansma P. Langmuir,1996,12(24):5905~5908

26 Song Y,Guo C,Sun L,Wei G,Peng C,Wang L,Sun Y,Li Z. J Phys Chem,2007,111(2):461~468

27 Pastré D,Hamon L,Landousy F,Sorel I,David M O,Zozime A,Le C E,Piétrement O. Langmuir,2006,22(15):6651~6660

28 Svintradze D V, Mrevlishvili G M, Metreveli N, Jariashvili K, Namicheishvili L, Skopinska J, Sionkowska A. *Biomacromolecules*, 2008, 9 (1) : 21 ~ 28

29 Blacklock J, Mao G, Oupicky D, Mohwald H. *Langmuir*, 2010, 26 (11) : 8597 ~ 8605

30 Ren K, Ji J, Shen J. *Biomaterials*, 2006, 27 (7) : 1152 ~ 1159

31 Ren K, Ji J, Shen J. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17 (1) : 77 ~ 83

32 Lu Z, Li C M, Zhou Q, Bao Q L, Cui X. *J Colloid Interface Sci*, 2007, 314 (1) : 80 ~ 88

33 van den Beucken J J, Vos M R, Thune P C, Hayakawa T, Fukushima T, Okahata Y, Walboomers X F, Sommerdijk N A, Nolte R J, Jansen J A. *Biomaterials*, 2006, 27 (5) : 691 ~ 701

34 Rivetti C, Guthold M, Bustamante C. *J Mol Biol*, 1996, 264 (5) : 919 ~ 932

35 Perevyazko I Y, Bauer M, Pavlov G M, Hoepfener S, Schubert S, Fischer D, Schubert U S. *Langmuir*, 2012, 28 (46) : 16167 ~ 16176

36 Sun C, Tang T, Uludag H. *Biomacromolecules*, 2011, 12 (10) : 3698 ~ 3707

37 Adamcik J, Klinov D V, Witz G, Sekatskii S K, Dietler G. *FEBS Lett*, 2006, 580 (24) : 5671 ~ 5675

AFM Observation of the Change of Surface Morphology during
Layer-by-layer Self-assembly of DNA and PEI

Yan-zhi Tian, Yan-li Li, Yong Jiang *

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, Nanjing 211189)

Abstract Negatively-charged DNA and positively-charged polyethylenimine (PEI) were selected to form layer-by-layer self-assembly films on different substrates. The changes of film morphologies and surface roughness during the assembly processes were observed and measured in detail by AFM at a molecule level. The influences of DNA concentration, ion concentration, substrate and modification method on the self-assembly films were analyzed in detail in order to understand the interaction between DNA and PEI. The results show that all the above factors affect the surface morphologies and roughness of the DNA/PEI films. It was found when the DNA/PEI film was self-assembled on mica surface modified by PEI, the increase of surface roughness followed a zigzag pattern with increasing the number of layers. The study may help us understand the molecular mechanism of layer-by-layer self-assembly.

Keywords Deoxyribose nucleic acid (DNA), Polyethylenimine (PEI), Layer-by-layer self-assembly, Atomic force microscope (AFM)

* Corresponding author: Yong Jiang, E-mail: yj@seu.edu.cn