

我們的研究是利用布朗運動模擬法，模擬 DNA 高分子鏈在電解質溶液中的運動過程，計算出帶電高分子的電泳運動的結果。其研究大至可分為：利用 DNA 在具有孔洞且加入鹽類離子水溶液的系統，在施加電場進行電泳時，DNA 在通過孔洞的過程中會阻礙鹽類離子的移動，藉由偵測阻礙電流的方式，來分析 DNA 的結構與長度；模擬帶電高分子在油滴底下窄通道內的運動行為，藉由模擬的方法來解釋實驗中所觀察到的現象；研究高分子穿越設計過的熵障礙，這些結構將能提供分離、區別不同的高分子。而分離機制是相當重要的研究議題。把高分子穿越熵障礙之構造的過程(系統示意圖如圖 1.1)，詳細的分析與探討是我們工作的主要目的。因此我們需要大量的計算資源，來模擬近似真實的溶液系統或高分子在熵障礙結構下的運動。

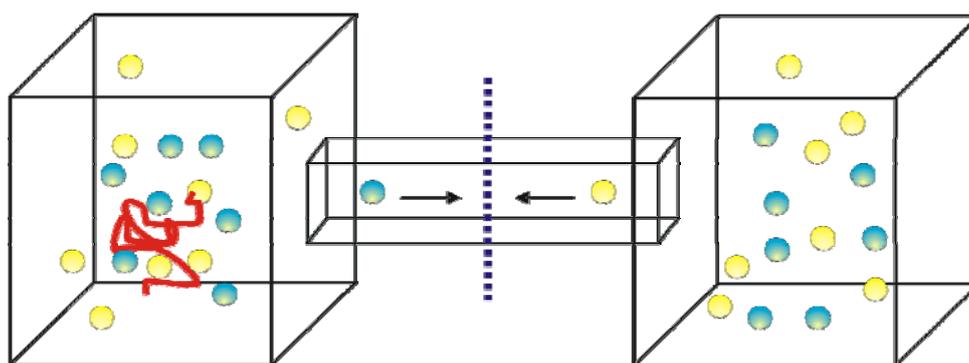


圖 1.1 模擬系統示意圖

我們首先設定系統的溫度維持一定，也就是採用定溫，定容為系統的條件。在本工作當中，我們以 ϵ 與 σ 將溫度與長度做無因次化。

溫度方面採用對比溫度： $T^* = k_B T / \epsilon$ (reduced temperature)

長度方面則採用對比長度： $R^* = R / \sigma$ (reduced length)

其中： k_B 為波茲曼常數， ϵ 為能量， σ 為粒子的直徑。分子模型方面我們則採用bead-spring chain model 圖1-3 為其示意圖，此種模型是一種屬於限制較少的分子鏈模型，其主要假設為：將高分子鏈視為一連串的beads，而在每一個bead 之間則是由spring連接起來，bead 會受到周圍介質流動的水利(hydrodynamic)阻力

及本身的空間阻礙，而spring 則不受上述的限制，只提供了這個鏈的elastic及deformational 性質而已。在分子鏈的結構中共分為兩個部份。第一個部份是彼此相接的粒子，另一部份則彼此沒有相接的粒子。在物理世界中最重要的概念就是作用力，粒子跟粒子之間會有作用力存在，而作用力的不同會影響到我們的研究性質，例如分子跟分子間的凡得瓦力、帶電粒子間的靜電力、偶極矩(dipole moment)等，因此粒子和粒子之間就會有複雜的能量關係，而用在分子模擬上的能量模型，就要視粒子間實際的作用情況而定了。一般常用在分子模擬的能量模型有hard-sphere potential、soft-sphere potential with repulsion、square-well potential及Lennard-Jones potential...等。在本次研究中我們所採取的非鍵結的potential energy為Lennard-Jones (LJ) potential，其數學表示式如下：

$$U(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (1-1)$$

上式中的r為bead間的距離； ε 與 σ 為勢能參數，因模擬的分子種類而異。故 σ 的大小可以反應出分子間的平衡距離，而 ε 的大小則是反映出位能曲線的深度。在Lennard-Jones potential中， r^{-12} 項為斥力項， r^{-6} 項為引力項，當r很大時Lennard-Jones potential趨近於0，這表示當分子間距離很遠時，彼此間已經沒有非鍵結作用力的存在。而對於兩種不同分子間的Lennard-Jones作用常數通常以式1-2、1-3估計

$$\sigma_{AB} = \frac{1}{2}(\sigma_A + \sigma_B) \quad (1-2)$$

$$\varepsilon_{AB} = \sqrt{\varepsilon_A \varepsilon_B} \quad (1-3)$$

式1-2中的A、B代表兩種不同的分子。而在計算有鍵結的作用時，我們採取一般形式的簡諧運動，即：

$$U_b = \frac{1}{2} \sum_i k_b (r_i - r_{eq})^2 \quad (1-4)$$

式中 1-4 的 k_b 為鍵結伸縮的彈性係數； r_i 及 r_{eq} 分別表示第 i 個鍵的鍵長以及平衡鍵長。彈性係數越大，鍵長越傾向於保持在 r_{eq} 值。

根據 Storm 和 Fologea 等人所作的實驗，可以發現當帶電高分子通過孔洞的時

候，會阻礙離子的移動，使電流減少故會產生阻礙電流的現象，經由分析儀器可以測得。其中定義電流受阻礙的時間為阻礙時間 t_d (duration time)，而阻礙電流 (blockage current) 的定義則是將帶電高分子通過孔洞時的電流減去電荷離子尚未受到阻礙時的電流，其公式 1-5 如下：

$$\Delta I_b = I_{translating} - I_{open_pore} \quad (1-5)$$

除了阻礙電流以及阻礙時間外，Fologea 等人還另外定義了 ecd(Event Charge Deficit)，其主要就是將阻礙電流對阻礙時間作積分如式 1-6，

$$ecd = \int_{event} \Delta I_b(t) dt \quad (1-6)$$

這塊積分面積區域所代表的物理意義即是帶電高分子所阻礙的總電荷數，而我們在這部份的模擬實驗就是針對阻礙電流、阻礙時間以及 ecd 這幾項做分析，研究不同長度以及不同結構的帶電高分子，是否可藉由穿越奈米孔洞來達到分離與分析的效果，並經由模擬過程來觀察帶電高分子進入孔洞的情形。

我們所要探討的是針對不同長度的線性帶電高分子，對於阻礙孔洞內正負離子移動的影響。我們設定系統內正負電荷離子濃度為 0.1M，帶電高分子長度從 10 到 70 顆 BD 粒子(希望可以達到更長的長度)，所得到的電流分析如圖 1-2 圖 1-3，其中 Y 軸的 ΔI_b 為阻礙電流，我們從圖中發現阻礙電流並不是呈現一個很水平的直線。為了進一步瞭解模擬結果，需要帶電高分子的運動軌跡一一描繪出來如圖 1-4。經由運動軌跡圖可以觀察到，當帶電高分子進入孔洞前，會聚集在孔洞的入口處，我們稱之為灘頭堡 (beachhead)。Han 等人認為灘頭堡的形成，是造成較長的 DNA 鏈段，在人工化的微孔道中有較快移動速度的主要原因。但在我們的模擬過程中，在灘頭堡形成這段的时间，其實就已經造成正負電荷離子的阻礙了，故形成第一階段阻礙電流。這段阻礙電流較小，而且隨著帶電高分子的長度增加，阻礙電流也跟著增加，主要是孔洞前所聚集灘頭堡的大小，會隨著帶電高分子的長度增加而變大。而第二階段的阻礙電流，由圖中可以觀察的出來

較第一階段的阻礙電流來的大，這段是整個帶電高分子進入孔洞中所造成的阻礙電流。然而可以發現在帶電高分子長度較短的時候，阻礙電流會隨著長度增加而增加。另外，不同形狀的高分子鏈所觀察到的性質也相當不同，如圖 1-6 所示。

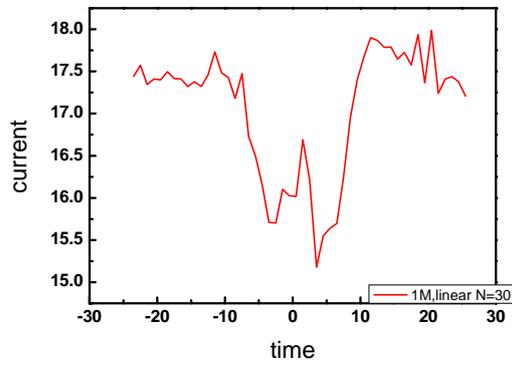


圖 1.2 單一次帶電高分子通過孔洞電流與時間關係圖

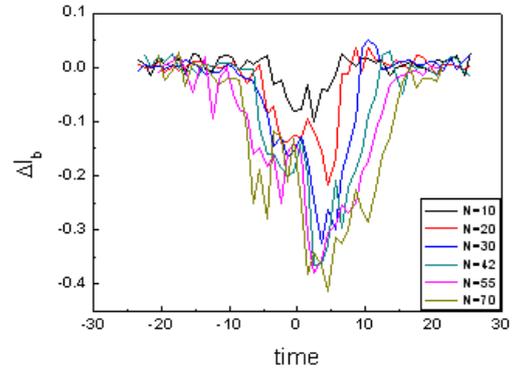


圖 1.3 阻礙電流、鏈長與時間關係圖

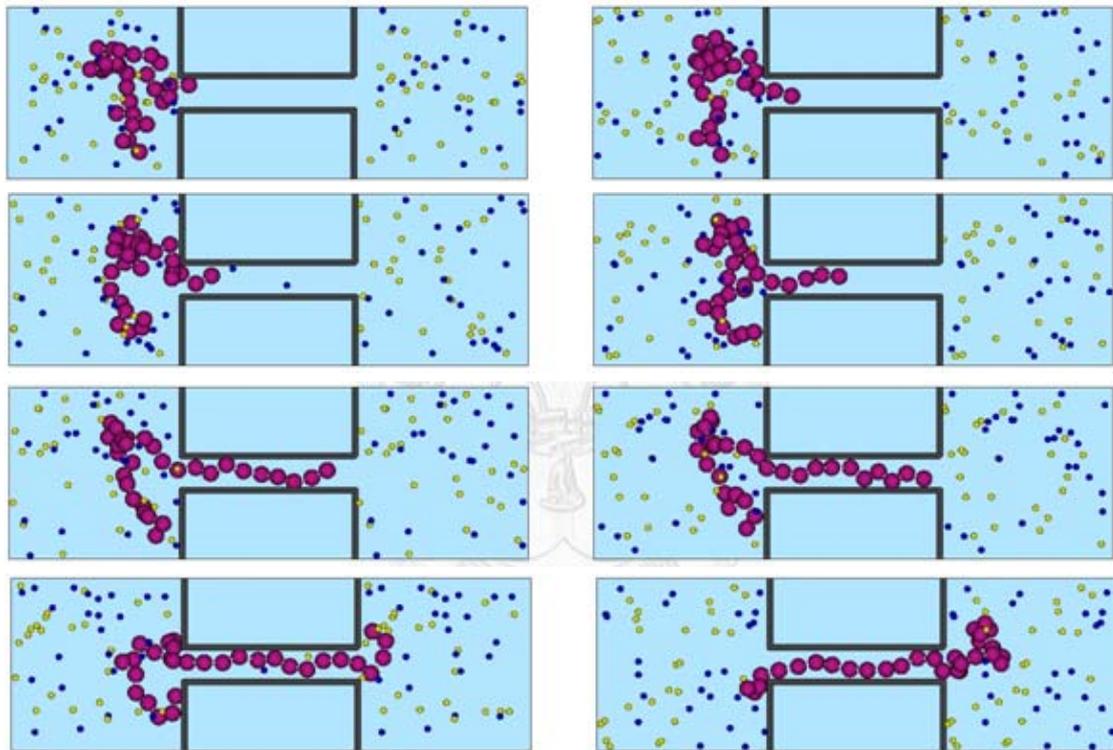


圖 1.4 線性帶電高分子（長度 N=30）通過孔洞的情形

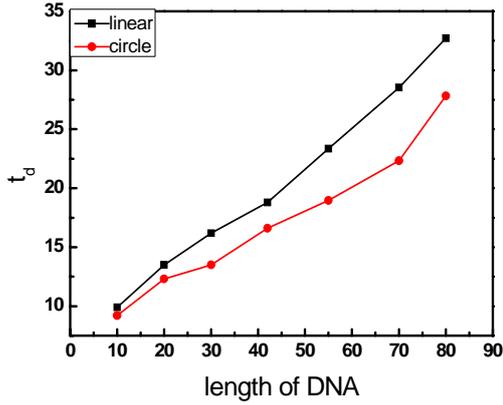


圖 1-6 阻礙時間、在不同的鏈型態對長度關係

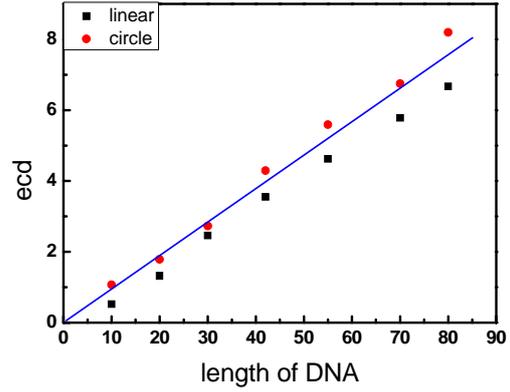


圖 1-7 ecd 在不同的鏈型態對長度關係

另一個部分探討的區域正是在油滴下方的窄通道內，DNA 分子電泳的情形。而在油滴下的通道其高度遠小與其寬度，所以我們在模擬過程中，將 DNA 所受的電場作用力設定為只與 y 方向位置有關，其關係式如下：

$$F^E = F^E_y = q \times E_y \quad (4-1)$$

其中 F^E 為電場作用力， q 為粒子帶電量， E_y 為 y 方向的電場強度。由於通道高度隨著 y 值而變化，所以 y 方向之電場強度應會隨之變化。故其表示式如下

$$E_y = 1 + a \times y \quad (4-2)$$

其中 a 代表薄膜內的電場梯度 (gradient)。此外我們觀察 DNA 分子的拉伸情形是計算其 DNA 的拉伸率來看，其計算方式如下：

$$\text{拉伸率} = \frac{\langle \overrightarrow{R}_y \rangle}{N-1} \quad (4-3)$$

其中 \overrightarrow{R}_y 為 DNA 分子在 y 方向的 end-to-end vector， $\langle \dots \rangle$ 代表多次平均， N 為 DNA 分子的總長度。拉伸率越大的話代表此 DNA 拉伸的程度也越大。

從圖 1-8 中我們發現當電場梯度大於 1 時，很明顯地可以得知無論 $N=20$ 、 50 、 100 ，DNA 分子都是被拉直的狀態，這是屬於在電場大的時候所產生的現象，然而隨著電場梯度變小，長度較短的 DNA 會漸漸無法拉伸而成為捲曲的情形，而較長的 DNA 分子會比較短的 DNA 分子容易被拉直，而造成這現象的主要原

因是當 DNA 分子的長度較長的時候，因拉伸所降低之電位能可以克服亂度的損失，所以只需要些微的電場梯度就能將 DNA 分子拉直。而相反地較短的 DNA 分子必須要有較大的電場梯度才能以降低之電位能來彌補亂度的損失。所以在高電場梯度的時候可以發現無論 $N=20$ 或 100 ，DNA 分子都是被拉直的狀態，而在電場梯度較小的地方（例如 $a=0.1\sim 0.01$ 時），較長的 DNA 是被拉直的，而較小的 DNA 則無此現象。除此之外，還可以發現當不同長度的電場梯度到達一定值後，DNA 的結構明顯會有拉伸現象，代表此時電場梯度所拉伸 DNA 鏈段而降低之電位能已能克服亂度的損失，此時稱之為臨界電場梯度。接著再觀察不同的電場梯度在各個 DNA 鏈段長度所造成的拉伸情形如圖 1-9，從圖中可以得到和上述相同的結果，越大的電場梯度所能夠拉伸的 DNA 鏈段越短，隨著電場梯度的減少，所能拉伸的 DNA 鏈段也就越長。

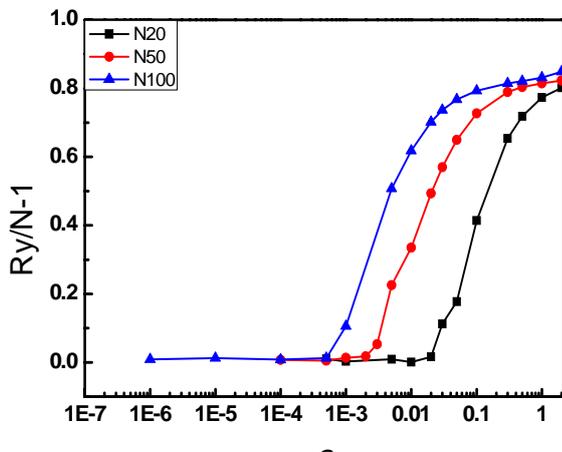


圖 1-8 分別固定長度 $N=20$ 、 50 、 100 ，比較電場梯度與拉伸率關係圖

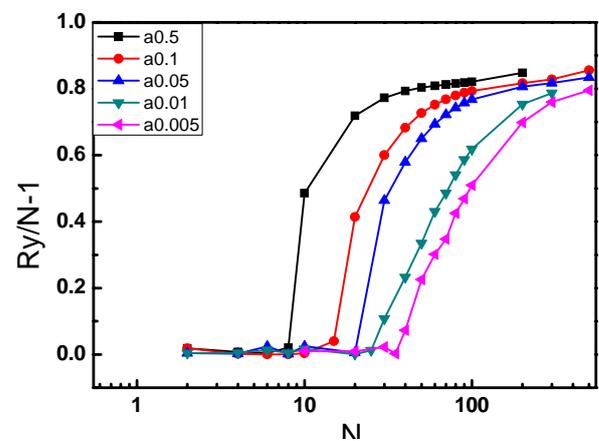


圖 1-9 分別固定 $a=0.005\sim 0.5$ 情況下，長度 N 和拉伸率關係圖

在我們的研究中，利用布朗動力學 (Brownian Dynamics) 法，可以確切的觀察帶電高分子的長度、形狀以及鹽類離子濃度對阻礙電流的影響，並藉由觀察帶電高分子實際運動的軌跡以及如何阻礙鹽類離子的移動，除了和實驗的文獻比對外並可以提出實驗所觀察不到的現象。而另一部分模擬帶電高分子在油滴底下

運動的情形，提出了電場梯度的概念，也能夠解釋實驗的結果。生物科技在近二十年來有爆炸性的發展，除了科學界在奈米科學理論有更深入的理解外，拜半導體工業的蓬勃發展所賜，實驗上常利用許多微奈米加工(Micro- or Nanofabrication)技術，藉由縮小空間尺寸，大幅提昇了像是 DNA，RNA 與蛋白質等生物高分子的反應速度，但是在奈米尺度系統的觀察與研究是有其困難之處，恰好電腦模擬可以來補足。現今的高效能計算的成本越來越低，讓電腦模擬系統的尺寸更大，粒子更多更複雜和時間尺度也越長，這樣的改變能更加接近真實的系統，但系統條件的範圍變成沒有限制，並且能仔細且反覆地研究其變動帶來的影響。透過觀察侷限於奈米尺度空間的帶電高分子移動的過程，經由猜想其物理意義與數學模型，以模擬的方式加以驗證猜想的正確性，提出能論證實驗的結果或補足實驗不足之處的結論。最後，提出一般化的物理性質來描述此類系統，並用數學模型來預測系統性質的改變，便是本研究想要達到的目的。可以想見，若能以電腦模擬法來輔助各研究團隊的實驗成果，兩者必能相輔相成，一同協助奈米孔洞定序技術的科學發展，並對個人醫療產業做出一些貢獻。