

固体纳米孔分析技术的研究进展

李 志^{1,2} 刘丽萍¹ 房 真¹ 郝冬梅^{*1}

¹(临沂大学化学化工学院, 山东省肿瘤标志物检测技术重点实验室, 临沂 276005)

²(山东农业大学, 化学与材料科学学院, 泰安 271018)

摘 要 纳米孔分析技术是一种低成本、无需荧光标记和扩增的单分子检测技术,其中基于固体材料的纳米孔由于稳定性高、耐受性好、尺寸可控、易于修饰等优点,在化学和生命科学等领域得到广泛应用。固体纳米孔主要由薄膜和管材料两种类型材料制备,其中常见的薄膜纳米孔包括氮化硅、二维材料、氧化铝以及聚合物薄膜,管材料主要包括玻璃毛细管和碳纳米管。本文总结了固体纳米孔分析技术的研究进展,展望了发展前景。

关键词 固体纳米孔; 单分子分析; DNA 测序; 评述

1 引言

纳米孔分析技术是从 20 世纪 90 年代中期开始发展起来的单分子分析手段。1996 年,研究人员首次利用 α -溶血素天然生物通道蛋白获得寡核苷酸的阻断电流信号^[1],开启了纳米孔研究的热潮。该技术凭借其快速、低成本、无需荧光标记等优势,在化学和生物等研究领域广泛应用。目前纳米孔分析技术不仅用于 DNA 测序,在单分子传感分析领域也取得了令人瞩目的成绩。根据分子穿过纳米孔时产生的特征性阻断电流信号,可实时获取待测物的结构、组成、尺寸、电荷、构象以及与其它分子相互作用的动力学信息。多种生物膜蛋白,包括气单胞菌溶素(Aerolysin)^[2,3]、耻垢分支杆菌(MspA)^[4]、大肠杆菌细胞溶素 A(ClyA)^[5]、铁异羟肟酸提取组分 A(FhuA)^[6]、噬菌体 phi29 DNA-装配马达^[7]和超稳定蛋白 1(SPI)^[8]等都被用于构建生物纳米孔道,极大地拓宽了生物纳米孔传感技术的应用范围,已有相关文献对其进行了综述介绍^[9-11]。

随着微加工技术的迅速发展,研究人员分别以氮化硅^[12,13]、石墨烯^[14,15]、氧化铝^[16]、聚合物薄膜^[17]、玻璃毛细管^[18]、碳纳米管^[19]等为材料,成功制造了固体纳米孔。由于材料不同,制备固体纳米孔的方法也不同,常用的主要有离子束雕刻^[20]、电子束钻孔法^[21]、原子层沉积法^[22]和径迹刻蚀法^[23]等,对此 Dekker^[24]、Matile^[25]和 Li^[26]等都做过较为全面的文献综述。本文主要总结了近年来常用的固体纳米孔的种类及在 DNA 测序和生物传感中的应用研究进展。

2 固体纳米孔的种类及应用研究进展

固体纳米孔因其稳定性高、耐受性好、尺寸可控、易于修饰等优点,被广泛用于 DNA 测序研究以及核酸、蛋白质、小分子等的单分子检测。目前,固体孔主要由薄膜和管型两种不同类型的材料制备而成。

2.1 薄膜纳米孔

薄膜材料由于具有特殊的界面结构,成为制备固体纳米孔的优良材质,常用的薄膜材料包括氮化硅、二维材料、氧化铝以及聚合物薄膜等。

2.1.1 氮化硅 2001 年, Golovchenko 课题组首次使用离子束在氮化硅(Si_3N_4)薄膜上制备出固体纳米孔^[20],并应用于 DNA 分子检测,打开了固体纳米孔检测技术的大门。他们首先在自支撑的氮化硅薄膜反面通过反应离子刻蚀制造一个碗型的凹槽,再使用带反馈控制的 Ar^+ 离子束从正面减薄凹槽区域,直到薄膜击穿形成纳米孔,孔径约为 60 nm,进一步利用氩离子束辐射能够将孔径收缩至 1.8 nm。

氮化硅纳米孔因具有结构致密、疏水性、化学稳定性好、介电常数大等优良特性,已被广泛用于

DNA^[27] 和 microRNA 识别^[28,29]、修饰碱基区分^[30]、DNA-蛋白质复合物过孔动力学研究^[31]、蛋白质过孔行为分析^[32]以及核小体亚结构检测研究^[33]。2010年, Wanunu 等^[21]使用电子束曝光和 SF₆ 等离子干法刻蚀的方法制造出厚度仅为 6 nm 左右的 SiN 薄膜, 其上包含一个直径为 3 nm 的纳米孔, 成功实现了对 microRNA 的特异性识别。随后该课题组进一步制造出厚度 5~8 nm 的 SiN_x 薄膜, 纳米孔的直径介于 0.8~2.0 nm 之间, 实现了 poly(dA)₃₀、poly(dC)₃₀ 和 poly(dT)₃₀ 的有效区分^[34]。最近, Long 课题组可控制备了直径 < 2 nm 的 SiN_x 纳米孔道, 并获得了单个 DNA 发夹结构的纳米孔道特征解链信号^[35], 证明所制备的 SiN_x 纳米孔检测灵敏度与 α -溶血素生物纳米孔相当。Plesa 等^[13]利用 SiN 纳米孔道实现了单链 DNA 和打结的单链 DNA、环状 DNA 和打结的环状 DNA 的高灵敏分辨, 根据 DNA 穿越纳米孔时的特征电流信号, 能够识别任意长度的线性或环状 DNA 内部的节点(图 1), 为研究长链 DNA 的拓扑结构开拓了新思路。

2.1.2 二维材料 二维材料得益于其原子级厚度的优势, 成为制造纳米孔的理想材料。典型的二维材料主要包括石墨烯、氮化硼、二硫化钼等。石墨烯薄膜是一种具有独特电子和机械性能的单层碳原子层^[36,37], 厚度与 DNA 分子链中相邻碱基之间的距离(约 0.34 nm)相当, 因此成为纳米孔测序技术中的首选材料。2010年, Golovchenko^[38]、Dekker^[39] 和 Drndic^[40] 3 个课题组开始了利用石墨烯纳米孔检测双链 DNA 的工作, 发现通过石墨烯纳米孔的离子电流基底噪声较大, 使用原子层沉积技术在石墨烯纳米孔表面沉积氧化钛能够有效提高石墨烯纳米孔检测的信噪比。进一步, Schneider 等^[41]通过在石墨烯表面自组装亲水物质从而阻止石墨烯对单链 DNA 的吸附, 实现了单链 DNA 的检测。但是, 目前纳米孔用于 DNA 测序存在巨大的挑战, 一方面 DNA 分子在纳米孔内的迁移速度太快, 高达 0.01~1.00 μ s/碱基^[15]; 另一方面, 石墨烯纳米孔表现出很高的 1/f 噪音^[42], 无法实现单个碱基的精确分辨。

为了解决上述问题, 很多研究者寻找纳米孔测序的新途径。最近, Dekker 课题组制备了短而窄的石墨烯纳米带(30 nm $\times$ 30 nm), 其上包含一个 5 nm 的纳米孔, 通过分析石墨烯纳米孔的平面电流信号(非传统的离子电流信号), 研究了 DNA 分子穿过纳米孔的行为(图 2)^[43], 这种方法能够获得较大范围的电流信号, 促进高带宽检测, 从而克服传统方法由于带宽过低而难以捕捉到快速过孔的电流信号的问题。此外, 氮化硼和二硫化钼等新兴二维材料相继被开发。Liu 等^[44]首先在氮化硼薄膜上使用聚焦电子束制备出直径 5 nm 的纳米孔, 用于双链 DNA 分子的检测, 灵敏度比 SiN 纳米孔更高, 空间分辨率与石墨烯纳米孔相当。Liu 等在二硫化钼薄膜上制造出直径 5 nm 的纳米孔, 分析了具有丰富二级结构的 λ -DNA 分子的过孔行为, 表现出比传统 SiN_x 更高的灵敏度^[45]。Feng 等^[46]进一步在单层二硫化钼上制备出直径 2.8 nm 的纳米孔, 通过控制液体的粘度梯度降低 DNA 穿越纳米孔的速度, 从而实现了对 poly(dA)₃₀、poly(dC)₃₀、poly(dG)₃₀ 和 poly(dT)₃₀ 4 种不同核苷酸的分辨。这些二维材料在生物分子识别方面表现出相当高的检测精度, 但如用于 DNA 测序, 仍需进一步研究探索。

2.1.3 氧化铝 多孔氧化铝是一类应用广泛的无机阵列纳米通道, 一般通过阳极氧化法制备, 即将铝片置于酸性电解液中, 控制一定的电压、电流条件使其电解形成阳极氧化铝薄膜。通过调节电解液的种

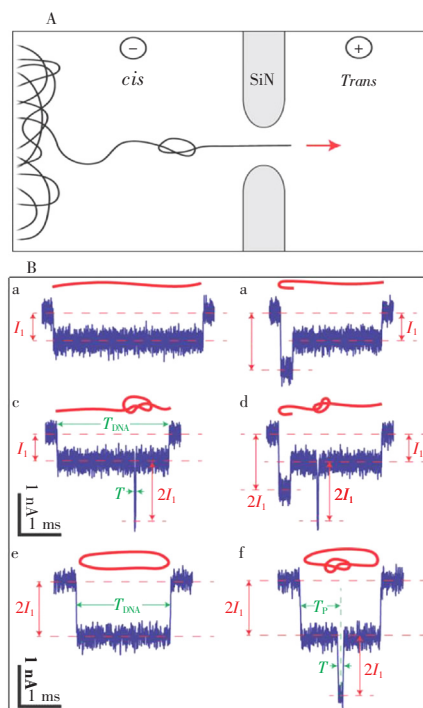


图1 (A) 固体孔检测带结点的 DNA 分子的原理图; (B) 6 种结构的 λ -DNA 穿过 10 nm 固体孔的阻断电流信号^[13]

Fig.1 (A) Schematic illustration of a DNA molecule with a knot translocating through a solid-state nanopore; (B) Six example events for λ -DNA translocating through a 10-nm pore^[13]

类及浓度、温度、氧化时间及氧化电压,可调节多孔氧化铝通道的孔径。它不仅能够作为模板合成多种纳米孔道阵列,也可通过修饰功能分子模拟生物体系,用于生物小分子、有机大分子、DNA 和蛋白质的检测研究^[16,47,48]。Gao 等^[49]以阳极氧化铝(AAO)为模板,在限域纳米孔道内修饰了分散的金纳米颗粒,产生“双面神”结构环,利用该结构环可识别链状 DNA 分子的单碱基错配。最近,Xia 的课题组利用阳极氧化铝纳米孔,通过可控的电子束蒸发技术喷镀金和钛,形成不同金属修饰界面,用于区域化(孔道表面、孔道内壁、孔道表面 & 孔道内壁)组装 DNA 功能分子,构建了一类 ATP 分子响应性纳米孔道,通过测量跨膜离子电流和电解电流信号,系统研究了不同区域功能分子对离子门控的贡献程度(图 3)^[50],为利用纳米孔道开展跨膜离子传输、限阈空间电化学、生物逻辑门以及纳米生物传感器件研究提供了新思路。

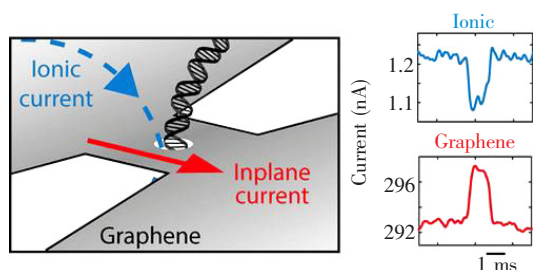


图 2 基于石墨烯纳米孔的平面电流信号研究 DNA 的过孔行为^[43]

Fig.2 Probing DNA translocations with inplane current signals in a graphene nanoribbon with a nanopore^[43]

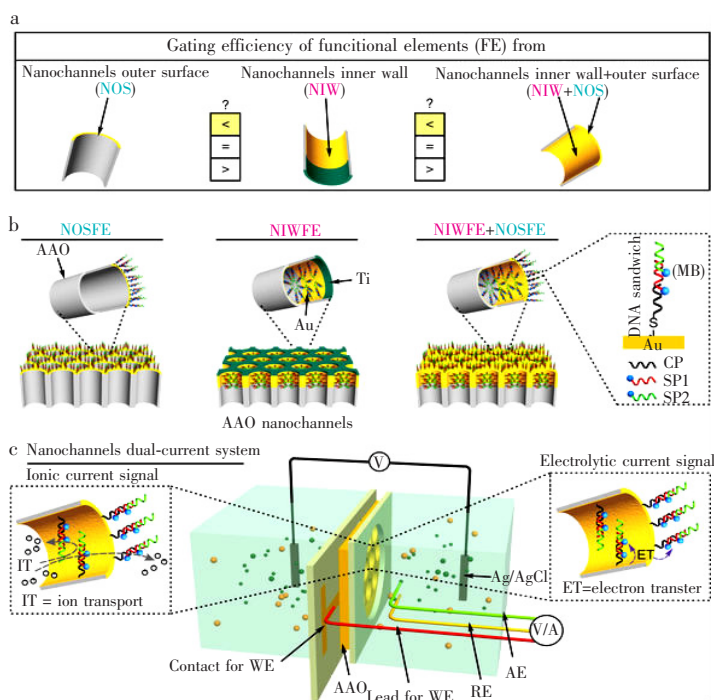


图 3 纳米孔道离子门控效应研究示意图:(A)与离子门控效率相关的纳米孔道功能区域图解;(B)DNA 功能化元件组装于 AAO 纳米孔道的不同区域;(C)纳米孔道的双电流检测^[50]

Fig.3 Design principle and experimental setup of ion-gating effect of nanochannel: (A) Graphical illustration of nanochannels functional regions associated with ion-gating efficiency to be investigated; (B) Cartoon presentation of DNA-based functional elements regionally assembled at different regions of metal decorated AAO nanochannels; (C) Schematic diagram of the nanochannels' dual-current setup^[50]

2.1.4 聚合物薄膜 聚合物纳米孔具有良好的生物兼容性,而且孔内表面的活性有机基团能够作为多种分子的结合位点,极大地促进了对纳米孔道功能化修饰的研究。常用的聚合物材料有聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚碳酸酯(PC)和聚酰亚胺(PI)。径迹刻蚀技术适于多种聚合物材质,首先利用高能重离子辐照穿透聚合物膜产生潜在径迹,继而采用化学刻蚀该区域得到纳米孔,纳米孔的几何形貌受刻蚀条件的控制,通过改变实验条件,可得到圆柱形、锥形和双锥形等不同形状的纳米孔^[51]。

Jiang 的研究组通过调整离子轰击强度、腐蚀液与阻蚀液的比例以及引导电流和刻蚀时间、刻蚀温

度等条件,在 PET 和 PI 等高分子材料薄膜上制备出了多种不同形貌的纳米孔道^[52],并进行功能化修饰,建立了 K^{+} ^[53]、 Zn^{2+} ^[54]、 Hg^{2+} ^[55] 等不同金属离子驱动的仿生人工纳米通道平台。Ali 课题组将铁-三联吡啶配合物共价修饰到 PET 纳米孔道的内表面,基于乳清蛋白和金属离子之间的特异性作用,实现了乳铁蛋白的高灵敏、高特异性检测(图4)^[56],建立了一种基于金属离子亲和性的生物分子识别新方法。Liu 等^[57]制备了 DNA 超级三明治结构,并将其修饰在 PET 纳米孔道内部,构筑了可以同时检测目标核酸和小分子的双检测平台,DNA 分子的检测限达 10 fmol/L,小分子(ATP)的检出限达 1 nmol/L(图5),能够满足复杂生物样本的检测需求。

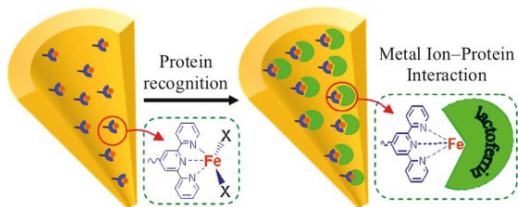


图4 聚合物纳米孔内修饰铁-三联吡啶配合物用于生物分子的检测示意图^[56]

Fig.4 Biomolecular recognition and conjugation inside synthetic polymer nanopores modified with iron-terpyridine complexes^[56]

2.2 管材料纳米孔 近年来,利用管材料制备纳米孔的研究发展迅速,其中玻璃毛细管凭借其化学稳定性高、加工成本低、表面容易改性等优点,备受研究者的青睐。此外,文献也报道了一些基于碳纳米管的纳米孔的研究。

2.2.1 玻璃毛细管 使用激光加热拉伸技术,可以利用玻璃毛细管加工出直径介于几纳米到几百纳米的纳米通道,通过改变加热温度、时间、拉力等参数能够调控其直径。2010 年,Steinbock 等^[58]制备出 45 nm 的玻璃毛细管并首次用于检测双链 DNA 的折叠状态。Chen 等^[59]在长链 DNA 内部的特定位置修饰链霉亲和素,DNA 分子穿过玻璃纳米孔时产生特征性的电流信号,以此确定 DNA 内部的特定序列元件的位置。Tiwari 等^[60]在玻璃纳米孔内壁修饰带负电的神经球蛋白(hNgb),hNgb 与带正电的细胞色素 c 反应引起电流改变,从而研究蛋白质间的相互作用。Sze 等^[61]制备了直径约 16 nm 的玻璃纳米孔,基于 λ -DNA 的特殊结构引入适配体形成 DNA 载体探针,同时检测人血清中 3 种蛋白质。

最近,Long 课题组突破纳米孔道的传统概念,利用锥形玻璃纳米孔进行了一系列开创性研究。将“界面动态电荷传递过程”限域在单独一个纳米孔道内,构建了单个“双极电活性纳米孔道界面”^[62]。以纳米孔道尖端限域空间为模板,将“电化学过程”限域在单个纳米孔道内,通过“化学-电化学”制备的策略,构建了含有电活性尖端的无线限域纳孔电极(图6)^[63],单个无线限域纳孔电极具有孔尖电荷极化增强效应,显著提升了分析物与纳米电极间的动态相互作用能力。进一步将电活性基团引入纳米孔电极的尖端,有效调控电极界面极化电场,建立了纳米孔电极孔尖离子流增强机制,将细胞内重要氧化还原分子的微弱法拉第电流转化为纳米孔道孔尖电荷密度的实时变化过程,获得了极易分辨的离子流增强时序信号,从而实现了单个活细胞内电子传递载体还原型辅酶I(NADH)的高选择性、高灵敏度测量(图7)^[64],为在单细胞水平揭示单个氧化还原代谢分子及信号分子作用机制提供了新的测量方法。

2.2.2 碳纳米管 碳纳米管是管状的纳米级石墨

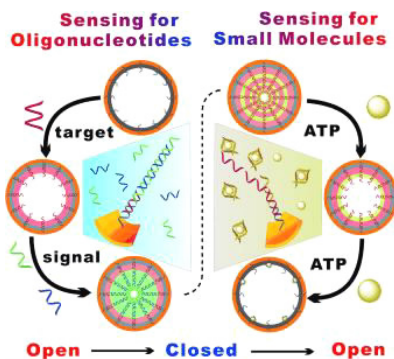


图5 DNA 超级三明治结构组装于固体纳米孔内进行 DNA 和 ATP 的同时检测^[57]

Fig.5 Solid nanopore sensor based on supersandwich structure for DNA and ATP detection^[57]

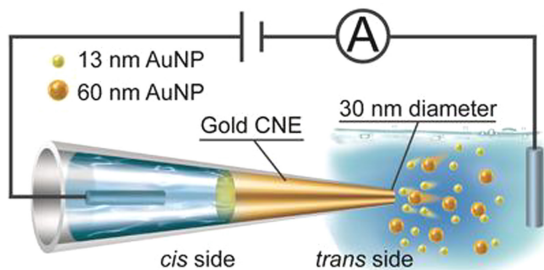


图6 基于锥形固体孔构建无线限域纳米孔电极^[63]

Fig.6 Confined nanopore electrode based on conical nanopore^[63]

晶体,由单层或多层石墨片围绕中心轴按一定的螺旋角卷曲而成。基于碳纳米管的天然管道结构,Wu 课题组^[19,65]将直径 1~2 nm、长度 5~10 nm 的超短单壁碳纳米管稳定地插入到磷脂双层膜中,构建了一种基于超短碳纳米管的新型纳米孔传感器(图 8),该传感器具备碳纳米管的独特的物理性质,如亚原子级的平滑内表面、大 π 共轭体系和超疏水的内部环境等。研究人员进一步在 DNA 链上羟甲基化胞嘧啶位点修饰了一个刚性分子,利用超短碳纳米管纳米孔传感器实现了对随机序列的 DNA 中羟甲基化胞嘧啶位点的特异性识别。这种新型纳米孔平台集成了碳纳米管的多种独特性质,可用于单分子检测、DNA 损伤检测、纳米孔 DNA 测序等领域。

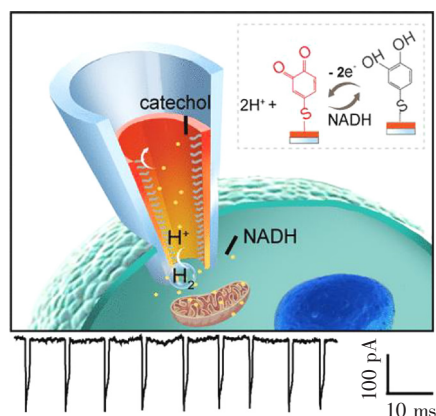


图 7 不对称纳米孔电极监测活细胞内的电荷传递过程^[64]

Fig. 7 Asymmetric nanopore electrode for monitoring electron transfer dynamics in live cells^[64]

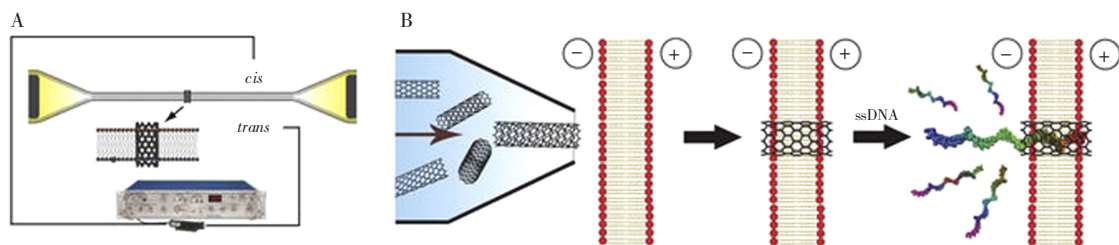


图 8 (A) 采用膜片钳放大器检测单壁碳纳米管纳米孔的电流; (B) 单壁碳纳米管插入磷脂双层膜并进行单链 DNA 过孔的研究示意图^[19]

Fig. 8 (A) A patch-clamp amplifier was adopted to measure the currents through SWCNT nanopores; (B) Illustration of the insertion of a SWCNT into lipid bilayer with a micro-injection probe and ssDNA translocation through the inserted SWCNT^[19]

3 展望

固体纳米孔分析技术已广泛应用于 DNA 测序和生物传感分析,应用领域不断拓宽。然而,目前纳米孔技术仍然主要用于体外检测,将其用于细胞内分析的研究刚刚开始。随着孔道材料的迅速发展以及相关仪器的不断改进,固体纳米孔将在细胞分析甚至活体检测领域发挥重要的作用,不仅能够推动基础研究的发展,还可望用于重大疾病诊断及个性化医疗等领域。

此外,将纳米孔电化学技术与非电流的传感技术如光谱法相结合,可同时获得电化学和光谱信号,纳米孔能够实时提供分析物的结构信息,光学信号可以揭示待测物的化学性质,为纳米孔检测提供强有力的信息支持。目前已有研究者开展了固体纳米孔结合暗场显微成像的研究工作,相信在未来的研究中,更多的光谱技术会进入该领域,以构建更加完整的单分子光电检测平台,获得多重单分子行为信息,从而实现待测物的实时、动态、原位分析研究。

References

- Kasianowicz J J, Brandin E, Branton D, Deamer D W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93(24): 13770–13773
- Cao C, Ying Y L, Hu Z L, Liao D F, Tian H Long Y T. *Nat. Nanotechnol.*, **2016**, 11(8): 713–718
- Xi D M, Li Z, Liu L P, Ai S Y, Zhang S S. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(1): 1029–1034
- Laszlo A H, Derrington I M, Brinkerhoff H, Langford K W, Nova I C, Samson J M, Bartlett J J, Pavlenok M, Gundlach J H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2013**, 110(47): 18904–18909

- 5 Soskine M, Biesemans A, Moeyaert B, Cheley S, Bayley H, Maglia G. *Nano Lett.*, **2012**, 12(9): 4895–4900
- 6 Niedzwiecki D J, Mohammad M M, Movileanu L. *Biophys. J.*, **2012**, 103(10): 2115–2124
- 7 Wendell D, Jing P, Geng J, Subramaniam V, Lee T J, Montemagno C, Guo P X. *Nat. Nanotechnol.*, **2009**, 4: 765–772
- 8 Dgany O, Gonzalez A, Sofer O, Wang W, Zolotnitsky G, Wolf A, Shoham Y, Altman A, Wolf S G, Shoseyov O, Almog O. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279: 51516–51523
- 9 Cao C, Long Y T. *Accounts Chem. Res.*, **2018**, 51(2): 331–341
- 10 Ying Y L, Zhang J, Gao R, Long Y T. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2013**, 52(50): 13154–13161
- 11 Liu L, Wu H C. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2016**, 55(49): 15216–15222
- 12 Vlassiounk I, Apel P Y, Dmitriev S N, Healy K, Siwy Z S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, 106(50): 21039–21044
- 13 Plesa C, Verschueren D, Pud S, van der Torre J, Ruitenbergh J W, Witteveen M J, Jonsson M P, Grosberg A Y, Rabin Y, Dekker C. *Nat. Nanotechnol.*, **2016**, 11: 1093–1097
- 14 Traversi F, Raillon C, Benameur S M, Liu K, Khlybov S, Tosun M, Krasnozhan D, Kis A, Radenovic A. *Nat. Nanotechnol.*, **2013**, 8: 939–945
- 15 Heerema S J, Dekker C. *Nat. Nanotechnol.*, **2016**, 11: 127–136
- 16 Venkatesan B M, Dorvel B, Yemencioğlu S, Watkins N, Petrov I, Bashir R. *Adv. Mater.*, **2009**, 21(27): 2771–2776
- 17 Xia F, Guo W, Mao Y, Hou X, Xue J, Xia H, Wang L, Song Y, Ji H, Ouyang Q, Wang Y, Jiang L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130(26): 8345–8350
- 18 Gao R, Ying Y L, Hu Y X, Li Y J, Long Y T. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(14): 7382–7387
- 19 Liu L, Yang C, Zhao K, Li J, Wu H C. *Nat. Commun.*, **2013**, 4: 2989
- 20 Li J, Stein D, McMullan C, Branton D, Aziz M J, Golovchenko J A. *Nature*, **2001**, 412: 166–169
- 21 Wanunu M, Dadosh T, Ray V, Jin J, McReynolds L, Drndic M. *Nat. Nanotechnol.*, **2010**, 5: 807–814
- 22 Chen P, Mitsui T, Farmer D B, Golovchenko J, Gordon R G, Branton D. *Nano Lett.*, **2004**, 4(7): 1333–1337
- 23 Ali M, Ramirez P, Tahir M N, Mafe S, Siwy Z, Neumann R, Tremel W, Ensinger W. *Nanoscale*, **2011**, 3: 1894–1903
- 24 Dekker C. *Nat. Nanotechnol.*, **2007**, 2: 209–215
- 25 Sisson A L, Shah M R, Bhosale S, Matile, S. *Chem. Soc. Rev.*, **2006**, 35(12): 1269–1286
- 26 Yuan Z, Wang C, Yi X; Ni Z, Chen Y, Li T. *Nanoscale Res. Lett.*, **2018**, 13: 56
- 27 Hyun C, Kaur H, Rollings R, Xiao M, Li J. *ACS Nano*, **2013**, 7(7): 5892–5900
- 28 Li J, Gershow M, Stein D, Brandin E, Golovchenko J A. *Nat. Mater.*, **2003**, 2: 611–615
- 29 Zahid O K, Wang F, Ruzicka J A, Taylor E W, Hall A R. *Nano Lett.*, **2016**, 16(3): 2033–2039
- 30 Wang F, Zahid O K, Swain B E, Parsonage D, Hollis T, Harvey S, Perrino F W, Kohli R M, Taylor E. W, Hall A R. *Nano Lett.*, **2017**, 17(11): 7110–7116
- 31 Spiering A, Getfert S, Sischka A, Reimann P, Anselmetti D. *Nano Lett.*, **2011**, 11(7): 2978–2982
- 32 Plesa C, Kowalczyk S W, Zinsmeister R, Grosberg A Y, Rabin Y, Dekker C. *Nano Lett.*, **2013**, 13(2): 658–663
- 33 Soni G V, Dekker C. *Nano Lett.*, **2012**, 12(6): 3180–3186
- 34 Venta K, Shemer G, Puster M, Rodriguez–Manzo J A, Balan A, Rosenstein J K, Shepard K, Drndic M. *ACS Nano*, **2013**, 7(5): 4629–4636
- 35 Lin Y, Shi X, Liu S C, Ying Y L, Li Q, Gao R, Fathi F, Long Y T, Tian H. *Chem. Commun.*, **2017**, 53: 3539–3542
- 36 Novoselov K S, Geim A K, Morozov S V, Jiang D, Zhang Y, Dubonos S V, Grigorieva I V, Firsov A A. *Science*, **2004**, 306(5696): 666–669
- 37 Novoselov K S, Jiang D, Schedin F, Booth T J, Khotkevich V V, Morozov S V, Geim K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2005**, 102(30): 10451–10453
- 38 Garaj S, Hubbard W, Reina A, Kong J, Branton D, Golovchenko J A. *Nature*, **2010**, 467: 190–193
- 39 Schneider G F, Kowalczyk S W, Calado V E, Pandraud G, Zandbergen H W, Vandersypen L M, Dekker C. *Nano Lett.*, **2010**, 10(8): 3163–3167
- 40 Merchant C A, Healy K, Wanunu M, Ray V, Peterman N, Bartel J, Fischbein M D, Venta K, Luo Z, Johnson A T, Drndic M. *Nano. Lett.*, **2010**, 10(8): 2915–2921
- 41 Schneider G F, Xu Q, Hage S, Luik S, Spoor J N H, Malladi S, Zandbergen H, Dekker C. *Nat. Commun.*, **2013**, 4: 2619

- 42 Heerema S J, Schneider G F, Rozemuller M, Vicarelli L, Zandbergen H W, Dekker C. *Nanotechnology*, **2015**, 26: 074001
- 43 Heerema S J, Vicarelli L, Pud S, Schouten R N, Zandbergen H W, Dekker C. *ACS Nano*, **2018**, 12(3): 2623–2633
- 44 Liu S, Lu B, Zhao Q, Li J, Gao T, Chen Y, Zhang Y, Liu Z, Fan Z, Yang F, You L, Yu D. *Adv. Mater.*, **2013**, 25(33): 4549–4554
- 45 Liu K, Feng J, Kis A, Radenovic A. *ACS Nano*, **2014**, 8(3): 2504–2511
- 46 Feng J, Liu K, Bulushev R D, Khlybov S, Dumcenco D, Kis A, Radenovic A. *Nat. Nanotechnol.*, **2015**, 10: 1070–1076
- 47 Espinoza-Castaneda M, de la Escosura-Muniz A, Chamorro A, de Torres C, Merkoci A. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 67(15): 107–114
- 48 Venkatesan B M, Shah A B, Zuo J M, Bashir R. *Adv. Funct. Mater.*, **2010**, 20(8): 1266–1275
- 49 Gao P, Hu L, Liu N, Yang Z, Lou X, Zhai T, Li H, Xia F. *Adv. Mater.*, **2016**, 28(3): 460–465
- 50 Li X, Zhai T, Gao P, Cheng H, Hou R, Lou X, Xia F. *Nat. Commun.*, **2018**, 9: 40
- 51 Long Z, Zhan S, Gao P, Wang Y, Lou X, Xia F. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(1): 577–588
- 52 Hou X, Zhang H, Jiang L. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2012**, 51(22): 5296–5307
- 53 Hou X, Guo W, Xia F, Nie F Q, Dong H, Tian Y, Wen L, Wang L, Cao L, Yang Y, Xue J, Song Y, Wang Y, Liu D, Jiang L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131(22): 7800–7805
- 54 Tian Y, Hou X, Wen L, Guo W, Song Y, Sun H, Wang Y, Jiang L, Zhu D. *Chem. Commun.*, **2010**, 46: 1682–1684
- 55 Tian Y, Zhang Z, Wen L, Ma J, Zhang Y, Liu W, Zhai J, Jiang L. *Chem. Commun.*, **2013**, 49: 10679–10681
- 56 Ali M, Nasir S, Nguyen Q H, Sahoo J K, Tahir M N, Tremel W, Ensinger W. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133(43): 17307–17314
- 57 Liu N, Jiang Y, Zhou Y, Xia F, Guo W, Jiang L. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2013**, 52(7): 2007–2011
- 58 Steinbock L J, Otto O, Chimere C, Gornall J, Keyser U F. *Nano Lett.*, **2010**, 10(7): 2493–2497
- 59 Chen K, Juhasz M, Gularek F, Weinhold E, Tian Y, Keyser U F, Bell N A W. *Nano Lett.*, **2017**, 17(9): 5199–5205
- 60 Tiwari P B, Astudillo L, Miksovska J, Wang X, Li W, Darici Y, He J. *Nanoscale*, **2014**, 6: 10255–10263
- 61 Sze J Y, Ivanov A P, Cass A E G, Edel J B. *Nat. Commun.*, **2017**, 8: 1552
- 62 Gao R, Lin Y, Ying Y L, Liu X Y, Shi X, Hu Y X, Long Y T, Tian H. *Small*, **2017**, 13(25): 1700234
- 63 Gao R, Ying Y L, Li Y J, Hu Y X, Yu R J, Lin Y, Long Y T. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2017**, 57(4): 1011–1015
- 64 Ying Y L, Hu Y X, Gao R, Yu R J, Gu Z, Lee L P, Long Y T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(16): 5385–5392
- 65 Liu L, Xie J, Li T, Wu H C. *Nat. Protoc.*, **2015**, 10: 1670–1678

Progress in Solid-state Nanopore-based Analysis Technology

LI Zhi^{1,2}, LIU Li-Ping¹, FANG Zhen¹, XI Dong-Mei^{*1}

¹(Shandong Provincial Key Laboratory of Detection Technology for Tumor Markers,
College of Chemistry and Chemical Engineering, Linyi University, Linyi 276005, China)

²(College of Chemistry and Material Science, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract Nanopore technique is a low-cost tool for single-molecule level analysis without the need of label or amplification. The solid nanopores have been widely used in many fields such as chemistry and life sciences due to their advantages such as high stability, good tolerability, controllable size, and easy for modification. The solid nanopores commonly used in recent years are fabricated using two types of materials: membrane and tube. The membrane materials include silicon nitride, two-dimensional materials, aluminium oxide, and polymer membranes. The tube materials mainly include glass capillary and carbon nanotube. This review summarizes and prospects the research progress of different solid nanopores.

Keywords Solid nanopore; Single-molecule analysis; DNA sequencing; Review

(Received 31 March 2018; accepted 14 May 2018)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21405073, 21535002).