

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕРЕХОДОВ МЕТАЛЛ–ДНК–МЕТАЛЛ ДЛЯ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

Л.Ф. ГАСПАРЯН^{1,2}, И.А. МАЗО³, В.В. СИМОНЯН², Ф.В. ГАСПАРЯН^{1*}

¹Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

²DNA-HIVE LLC 15313 Diamond Cove Terrace, Rockville, MD 20850, U.S.A.

³Argentys Informatics, LLC, 12 South Summit Avenue, Gaithersburg, MD 20877, USA

*e-mail: fgaspar@ysu.am

(Поступила в редакцию 14 мая 2019 г.)

Рассмотрен процесс секвенирования ДНК в твердотельных нанопорах. Проведено теоретическое моделирование ионного, термоионного и туннельных токов для нанопор с золотыми электродами, находящихся в водном растворе. Показано, что как ионный, так и термоионный токи на несколько порядков слабее, чем прямой туннельный ток, который достигает нескольких сотен нА. Различия между значениями прямых туннельных токов для четырех нуклеотидов ДНК, а также для пар нуклеотидов GC и TA, являются значительными, что позволяет легко идентифицировать каждый нуклеотид ДНК. Анализируется также поведение дифференциальной квантовой проводимости соответствующих молекулярных переходов. Построены гистограммы для туннельных токов и проводимостей для четырех нуклеотидов ДНК и пар нуклеотидов GC и TA.

1. Введение

Со времени открытия структуры двойной спирали дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [1] исследования в области ДНК сенсоров значительно расширились. Биосенсоры, особенно ДНК-биосенсоры, используются для изучения явлений, связанных с ДНК. Процесс секвенирования ДНК представляет собой точное определение количества и распределения нуклеотидов (А-аденин, Т-тимин, С-цитозин и G-гуанин) в молекулах ДНК. Улучшение скорости секвенирования ДНК оказывает сильное влияние на комплексные исследования генома. Геномная информация имеет множество применений: безопасность (идентификация ДНК, обнаружение патогенов), страхование (индивидуальная политика, оценка риска), биотехнология (микробиологическая инженерия, ГМО, животноводство, сельское хозяйство), здравоохранение (диагностика, профилактика заболеваний, генная терапия, вакцины), защита и эволюционная биология. Эволюция платформ секвенирования ДНК первого, второго, третьего и четвертого поколений и вопросы их применения подробно описаны в [2–6].

Известны следующие методы секвенирования ДНК: базовое секвениро-

вание ДНК (метод Сангера – обрыв цепи [7]; метод Максама-Гилберта – химическое обрывание [8]); Передовой метод секвенирования методом дробовика [9]; Секвенирование следующего поколения (метод секвенирования ‘Illumina’ [10]; метод пиросеквенирования [11]); Секвенирование твердотельными (и биологическими) нанопорами [12].

В соответствии с различными типами сигналов методы обнаружения ДНК бывают электрического обнаружения и оптического считывания. Методы электрического обнаружения для секвенирования ДНК на основе нанопор следующие: метод на основе блокады ионного тока [7,13,14]; метод на основе туннельного тока [15–17]; метод, основанный на изменении емкости [18,19]; метод, основанный на изменении электрического потенциала [20,21].

В дальнейшем наше внимание будет сосредоточено на последнем твердотельном методе секвенирования твердотельными нанопорами на основе туннельного тока.

Толщина твердотельной нанопоры ограничивает разрешение измерений тока, проходящего через пору. Разрешение может быть улучшено за счет обнаружения ДНК оснований (нуклеотидов) в поперечном направлении и, в частности, путем измерения тока туннелирования электронов через молекулу ДНК с использованием электродов, которые разделены небольшим зазором. Эта идея была впервые предложена в 2005 году [22,23]. Развивались различные механизмы обнаружения с использованием поперечных электродов. Нанозлектроды из золота толщиной менее 2 нм, изготовленные методом механически управляемых разрывных переходов (МСВJ), впервые использовались для обнаружения отдельных нуклеотидов в дистиллированной воде [24]. Показано, что транспорт электронов происходит путем туннелирования через нуклеотиды, когда отдельные основания ДНК захватываются концами нанопор. Регистрировались характерные импульсы тока. Авторы обнаружили значительные различия между проводимостями нуклеотидов ДНК. Это открыло путь к дифференциации отдельных нуклеотидов с изменением тока порядка 10 пА. В [25,26] сообщалось о секвенировании нескольких олигомеров ДНК и микро-РНК (рибонуклеиновые кислоты) методом туннельных токов. Для считывания нуклеотидов в [27] применяется слоистый туннельный переход. В [28,29] методом МСВJ исследованы профили проводимость-время ДНК/РНК-олигомеров. Основываясь на разнице в профилях проводимости и времени, авторы определили последовательность базовых типов в олигонуклеотиде. В [29] была разработана новая nanoархитектура для контроля скорости перемещения отдельных молекул ДНК с помощью электроосмотического потока. В предлагаемом устройстве электрофоретические эффекты притягивают отрицательно заряженные молекулы ДНК вниз через нанопоры. Когда нуклеотидные молекулы проходят между нанозлектродами, туннельный ток через молекулы увеличивается по сравнению с током в случае

отсутствия молекулы.

Для исследования электронных свойств отдельных нуклеотидов и цепей ДНК для электродов используются такие материалы, как Au [24], Pt [30] и углерод [31].

Анализируя литературу, можно отметить, что экспериментальные данные подтверждают осуществимость метода обнаружения ДНК молекулы на основе туннельного тока. Для реального применения метода туннельного тока необходимо преодолеть следующие проблемы: молекула ДНК должна быть специально расположена и ориентирована; скорость перемещения молекулы ДНК должна быть достаточно медленной; необходимы более экономичные и эффективные методы изготовления нанопор. В целом, необходимы корректные теоретические и экспериментальные исследования, включающие факторы, которые влияют на туннельный ток и методы контроля.

В данной статье представлены результаты теоретического моделирования механизма переноса электронов в молекулярных переходах металл–нуклеотид ДНК–металл. Проанализированы все случаи ДНК четырех оснований (А, Т, С и G) и двух пар оснований GC и TA. Представлен анализ термоионного и туннельного токов и дифференциальной квантовой проводимости соответствующих молекулярных переходов. Расчеты проводятся с целью создания теоретической платформы для идентификации каждого ДНК-нуклеотида и базовых групп и секвенирования ДНК молекул.

2. Ионный, термоионный и туннельные токи

Напомним, что секвенирование ДНК проводится в водном растворе (электролите), содержащей молекулы ДНК. В отличие от других известных методов, ниже в роли информационного сигнала рассматривается туннельный ток. Основная идея предложенного метода секвенирования заключается в предположении, что изменение в величинах туннельных токов молекулярных переходов сильно коррелируется с химической природой, архитектурой и ориентацией нуклеотида, находящегося в нанопоре. Туннелирование имеет значительные преимущества перед тока миионной блокады. Заметим, что в режиме работы ИВС размеры (диаметр) нанопор уменьшаются из-за связывания некоторых ионов (H^+ , OH^- и других) со свободными связями электродного материала (в нашем случае золота) и осаждения нейтральных атомов на поверхности электрода. Поры будут сужаться. Изменение (флуктуация) диаметра пор может играть существенную роль в формировании токовых шумов. Тогда следующие молекулы ДНК не имеют возможности пройти через поры. Для режима туннельного тока такая проблема отсутствует. Следовательно, постоянное значение размеров пор при туннельном механизме токопрохождения может привести к снижению уровня шума и

увеличению отношения сигнал/шум.

Импульсное напряжение смещения, приложенное к металлическим электродам нанопоры, находящейся в измерительной ячейке, индуцирует импульсный туннельный ток через пору. Частота приложенного напряжения

$$f = [2\pi(t_r + d_0 / v)]^{-1},$$

где t_r – время прохождения нуклеотида через пору, d_0 – расстояние между нуклеотидами в ДНК, v – скорость вертикального движения ДНК молекулы.

Движущиеся к поре заряженные молекулы ДНК под электрофоретической силой будут входить в пору и поочередности каждый нуклеотид будет формировать молекулярный переход с электродами. В зависимости от типа нуклеотида туннельный ток будет разным. Величина тока и очередность его колебаний предоставит соответствующую информацию о последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК, т.е о ее архитектуре. Сигналы туннельных токов специфичны из-за различных химических и электронных структур четырех различных оснований ДНК. Проходящие через пору нуклеотиды модулируют потенциальный барьер между двумя электродами, что приводит к туннельному току.

Механизм туннелирования очень чувствителен к ориентации атомов и их

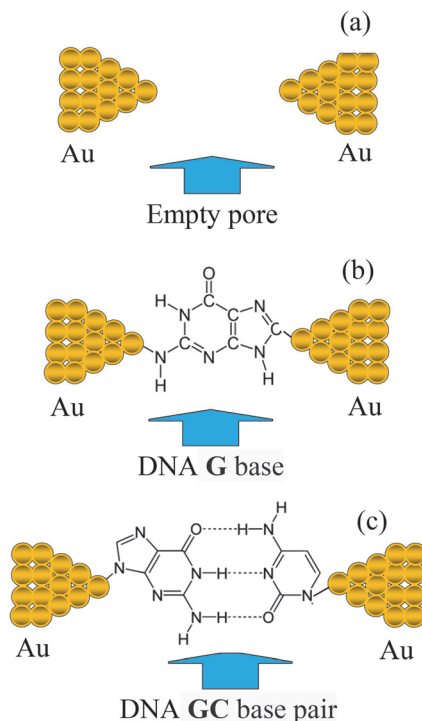


Рис.1. Пустая пора (a), молекулярные переходы Au–G ДНК–Au (b) и Au–GC ДНК–Au (c).

Ниже представлены результаты теоретического анализа ионного, термоионного и туннельных токов, проходящих через наноразмерные золотые электроды, изготовленные методом МСВJ. Для иллюстрации на рис.1 показаны пустые поры (а) и занятые поры: молекулярные переходы Au – G ДНК – Au (b) и Au – GСДНК – Au (c). На рис.2 приведена схема энергетической зонной диаграммы перехода Au – нуклеотид – Au.

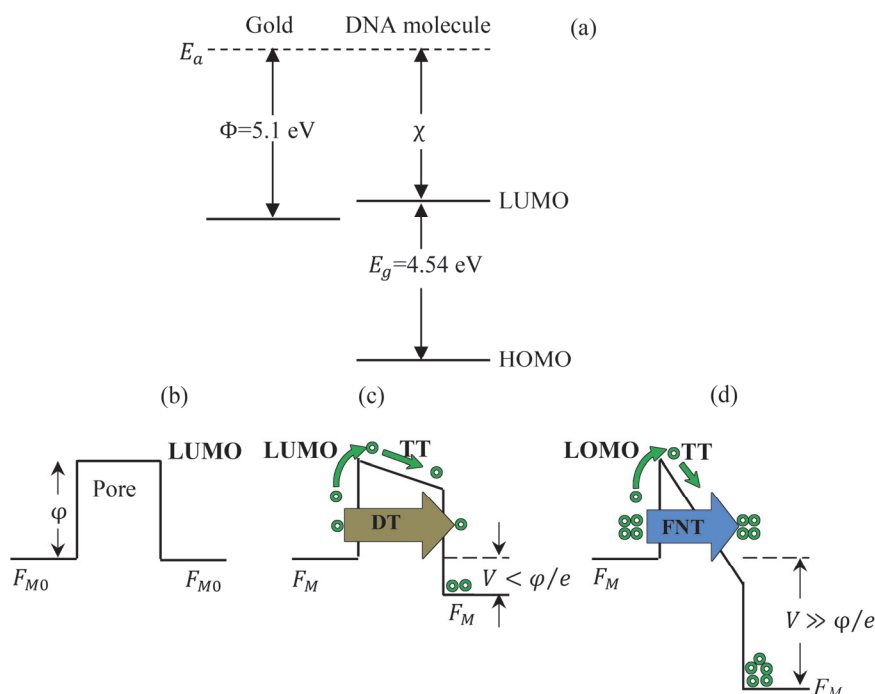


Рис.2. Энергетическая зонная диаграмма перехода Au–ДНК–Au: (a) Энергетические уровни вакуума, золота и ДНК, (b) Пора пуста, приложенное напряжение отсутствует ($V = 0$); (c) Пора занята нуклеотидом, приложено низкое напряжение ($V < \phi/e$); (d) Между электродами приложено сильное напряжение ($V \gg \phi/e$). На рисунках E_a – энергетический уровень вакуума, χ – энергия сродства ДНК к электрону, Φ – работа выхода золота, ϕ – высота энергетического барьера между золотом и ДНК, E_g – запрещенная энергетическая зона ДНК. F_{M0} и F_M – равновесный и неравновесный уровни Ферми металлических (золотых) электродов. Аббревиатуры означают: LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) – низшая незанятая молекулярная орбиталь, HOMO (high occupied molecular orbital) – высоко занятая молекулярная орбиталь, DT – прямое туннелирование, FNT – Фаулер-Нордхайм туннелирование, TT – термоионный транспорт. Кружками обозначены электроны.

2.1. Ионный ток электролита

Когда ДНК находится далеко от уровня электродов и поры пусты, при приложении напряжения к электродам в цепи металлических электродов протекает слабый ионный ток электролита I_i . С хорошим приближением можно предположить, что распределение ионов в электролите равномерно. Тогда ионный ток будет иметь дрейфовую природу и равен:

$$I_i = q\mu_i n_i A \frac{V}{d} = q\mu_i \frac{N_i}{\Omega} A \frac{V}{d} = \frac{q\mu_i N_i V}{d^2}. \quad (1)$$

Здесь μ_i – подвижность ионов в электролите (в чистой воде, когда присутствует электрическое поле, подвижность протона составляет 3.6×10^{-3} см²/Вс [32,33]), V – приложенное к электродам напряжение, $A \approx \pi r^2$ – площадь поперечного сечения потока ионов в электролите между электродами, $2r = d$ – диаметр нанопроволочного электрода (это может быть максимальная величина поперечных размеров нуклеотидов А, Т, С и G, $h_{\max} = h_{\text{Cytosine}} = 0.583$ нм [6,34]), n_i – концентрация ионов, N_i – число ионов, $\Omega = \pi r^2 d$ – объем межэлектродной среды (в поре). Известно, что

$$pH = -\lg[H^+],$$

где $[H^+]$ обозначает концентрацию ионов H^+ , измеренную в молях на литр (также известную как молярность). Следовательно

$$n_i = [H^+] \times N_A = 6.02 \times 10^{20-pH} \text{ см}^{-3},$$

где $N_A = 6.02 \times 10^{23}$ моль⁻¹ – число Авогадро. Используя выражение (1), подставляя $q = e = 1.6 \times 10^{-19}$ Кл, $\mu_i = 3.6 \times 10^{-3}$ см²/Вс [32,33], $pH \approx 6$, $n_i = 6.02 \times 10^{14}$ см⁻³, $A \approx 2 \times 10^{-18}$ м² и $r = 1$ нм, получим:

$$I_i = q\mu_i n_i A \frac{V}{d} = 1.1 \times 10^{-20} \times \frac{V}{d} \text{ А}, \quad (2)$$

где d измеряется в см, V – в вольтах. Для случая $V = 1$ В, $d = 1$ нм, имеем $I_i = 0.11$ пА. Этот ток очень слабый и может быть проигнорирован в дальнейшем. Измеренные значения тока ионной блокады для различных случаев составляли несколько десятков пА (см., например, [35–37]).

2.2. Термоионный ток

В модели последовательного туннелирования молекула рассматривается как квантовая точка с дискретными энергетическими уровнями НОМО и LUMO, слабо связанными с обоими электродами через туннельные переходы (рис.2). Молекула последовательно заряжается и разряжается. На обоих концах

молекулы имеются туннельные барьеры. Адсорбированные на золотых электродах атомы азота и углерода (имеющиеся в нуклеотидах), вносят вклад в НОМО и LUMO.

Теория термоионной эмиссии предполагает, что электроны с энергией, превышающей высоту барьера ϕ , преодолеют барьер при условии, что они движутся к барьеру. Фактическая форма барьера при этом игнорируется. Плотность термоионного тока J_{th} можно выразить как [38]:

$$J_{th} = \frac{4\pi 2mk^2 T^2}{h^3} \times \exp\left(-\frac{\phi}{kT}\right) \left[\exp\left(\frac{eV}{kT}\right) - 1 \right]. \quad (3)$$

Здесь h – постоянная Планка, k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура и m – масса свободного электрона. Этот ток зависит от высоты барьера ϕ и не зависит от размера поры (значит и находящейся в нем молекулы). Это весьма слабый фоновый ток, а не информационный сигнал.

2.3. Туннельный ток

Для системы металл – изолятор – металл хорошо известна формула Симонса для туннельного тока [39]. Поскольку молекула имеет гораздо более высокое электрическое сопротивление, чем металл, мы можем использовать формулу Симонса для нашего случая. Предполагая, что поправочный коэффициент $\beta = 1$ [40] для полной плотности туннельного тока, имеем:

$$J = \frac{e}{4\pi^2 \hbar d^2} \left\{ \phi \exp\left(-\frac{2d\sqrt{2m\phi}}{\hbar}\right) - (\phi + eV) \exp\left[-\frac{2d\sqrt{2m(\phi + eV)}}{\hbar}\right] \right\}, \quad (4)$$

где $\hbar = h/2\pi$, d – ширина барьера (в нашем случае это длина зазора между электродами или длины ДНК нуклеотидов, создающих молекулярные переходы).

При низком уровне приложенного напряжения, когда $eV < \phi$, выражение (4) упрощается. Получим выражение для тока прямого туннельного J_{DT}

$$J_{DT} = \frac{e^2 V \sqrt{2m\phi}}{4\pi^2 \hbar^2 d} \times \exp\left(-\frac{2d\sqrt{2m\phi}}{\hbar}\right). \quad (5)$$

В режиме эмиссии высокого напряженного поля, когда $eV \gg \phi$, выражение (4) преобразуется в формулу Фаулера – Нордхайма

$$J_{FN} = \frac{e^3 V^2}{8\pi^2 \hbar d^2 \phi} \times \left\{ \exp\left(-\frac{2d\phi\sqrt{2m\phi}}{eV\hbar}\right) - \left(1 + \frac{2eV}{\phi}\right) \times \exp\left(-\frac{2d\phi\sqrt{2m\phi}}{eV\hbar} \times \sqrt{1 + \frac{2eV}{\phi}}\right) \right\}. \quad (6)$$

Здесь J_{FN} – плотность туннельного тока Фаулера – Нордхайма.

Высота барьера Шоттки перехода Au–ДНК оценивается в 0.56 эВ, значение работы выхода Au $\Phi = 5.10$ эВ [40] (рис.2а). Согласно данным [41], величина потенциального барьера между ДНК и золотом, рассчитанная из вольт-амперной характеристики Шеттки барьера, составляет 0.878 эВ.

Для использования выражения Фаулера – Нордхайма применим напряжение

$$V \gg \frac{\Phi}{e} = 0.56 \text{ (или 0.878) В.}$$

В этом случае напряженность электрического поля в поре диаметром ~ 2 нм достигнет $(3\div 5) \times 10^6$ В/см и более. Такие поля опасны с точки зрения разрушения конструкции молекулы, поэтому необходимо использовать сравнительно низкие поля, соответствующие режиму прямого туннелирования.

Заметим также, что туннельный ток очень чувствителен к расстоянию между электродами и ориентациями нуклеотидов и экспоненциально зависит от расстояния между нуклеотидами и электродами [23].

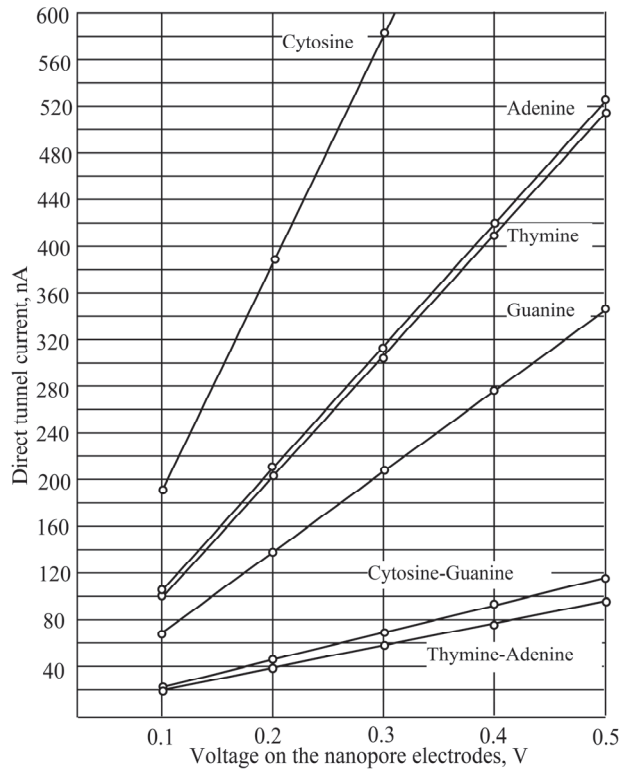


Рис.3. Рассчитанные по формуле (5) Зависимости прямых туннельных токов нуклеотидов аденина, цитозина, гуанина, тимина и блоков цитозин-гуанин, тимин-аденин от напряжения, приложенного к электродам нанопоры. $T = 300$ К, потенциальный барьер Au–ДНК $\phi = 0.56$ эВ [40].

Проанализируем режим слабого поля, используя выражение для прямого туннельного тока (5). На рис.3 показаны рассчитанные согласно (5) зависимости прямых туннельных токов нуклеотидов ДНК аденина, цитозина, гуанина, тимина и блоков цитозин-гуанин, тимин-аденин от напряжения, приложенного к электродам нанопоры. Численные расчеты (5) проведены при $T = 300$ К, $\phi = 0.56$ эВ [40], для площади захвата электродов $\sim 2 \times 10^{-18}$ м², а вместо d использованы длины нуклеотидов [6,34]: аденина ($l_A = 0.651$ нм), цитозина ($l_C = 0.449$ нм), тимина ($l_T = 0.656$ нм), гуанина ($l_G = 0.784$ нм), блоков CG ($l_{CG} = 1.328$ нм) и AT ($l_{AT} = 1.402$ нм).

Схематическое распределение потенциалов, приложенных к металлическим электродам и гистограммы ионного, туннельных токов и квантовой проводимости представлено на рис.4.

Поскольку туннельный ток обратно пропорционален длине молекулы (ширине потенциального барьера d), идентификация базиса ДНК может быть выполнена точно по значению туннельного тока. Заметим, что порядок соответствующих токов, представленных на рис.4, является случайным.

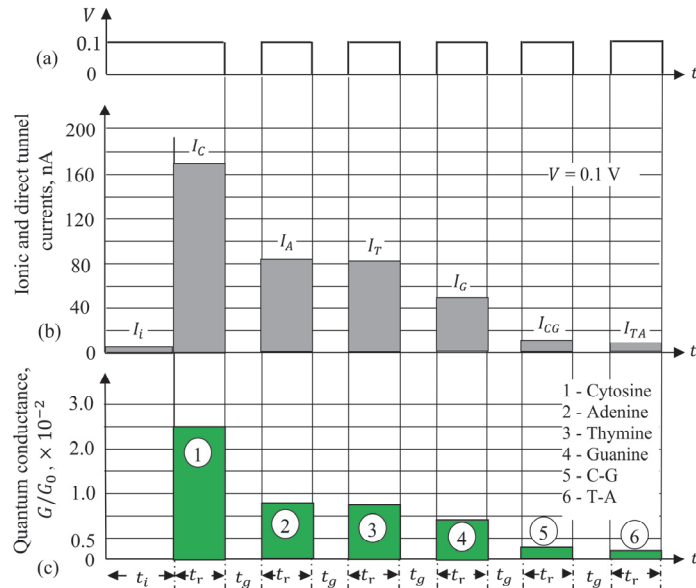


Рис.4. Схематическое распределение потенциалов, приложенных к металлическим электродам (а), гистограммы ионного и туннельных токов (б) и гистограммы квантовой проводимости (с). Здесь t_i – время прохождения ионного тока, t_r – время прохождения нуклеозидов, t_g – время прохождения межнуклеотидного зазора, I_i – остаточный ионный ток, I_C , I_A , I_T , I_G , I_{CG} и I_{TA} – туннельные токи, соответствующие прохождению цитозина, аденина, тимина, гуанина и блоков цитозин-гуанин и тимин-аденин. Термоионный ток, рассчитанный по формуле (3) очень низкий и не показан. На рис.4с через G и $G_0 = 2e^2/h$ обозначены дифференциальная проводимость и квант проводимости, соответственно.

Обратим внимание на то, что туннельный ток зависит от относительной ориентации нуклеотида по отношению к электродам, поскольку каждой ориентации соответствует определенная высота энергетического барьера между электродами.

Как видно из рис.4, значения электропроводностей (токов) нуклеотидов значительно различаются, что открывает эффективный способ дифференциации и идентификации отдельных нуклеотидов. Сравнивая экспериментальные данные с расчетными значениями для токов, мы можем определить также порядок распределения нуклеотидов в ДНК. Последовательность туннельных токов является результатом теоретических расчетов и однозначно связана с размерами нуклеотидов ($l_G > l_T > l_A > l_C$) [34]).

Сопоставляя полученные нами результаты с результатами, представленными в [42], можно отметить, что в [42] скорость измерения туннельных токов ограничена частотой 250 кГц, а как показано нами в [34], частота импульсов, подаваемых на металлические электроды, может быть ниже кГц. Скорость перемещения молекулы ДНК должна быть достаточно медленной (< 0.1 мс/нуклеотид), чтобы удовлетворить требования приборов считывания тока с высокой пропускной способностью и минимизировать неизбежно возникающий шум.

На рис.5 приведена картина экспериментально полученных в [28] кривых туннельных токов. Видно, что $I_G > I_A > I_C > I_T$. В [28, 29] отмечается, что отдельные молекулы ДНК имели следующий порядок: тимин < цитозин < аденин < гуанин. В нашем случае порядок отличается $I_C > I_A > I_T > I_G$ (см. рис.3 и 4). Эта разница, вероятно, обусловлена различием между размерами нуклеотидов.

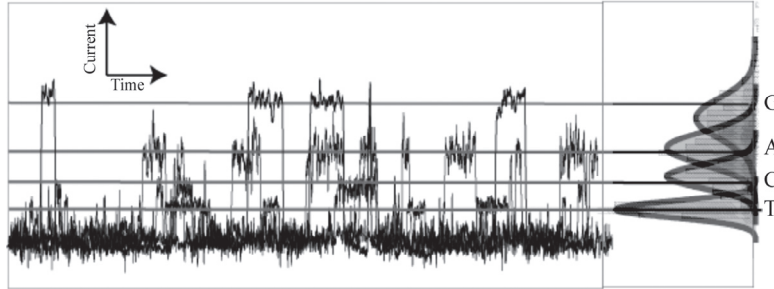


Рис.5. Экспериментальная картина туннельного тока одной ДНК молекулы с использованием MCBJ [28].

3. Дифференциальная проводимость

Из формулы (5) для дифференциальной проводимости имеем

$$G = \frac{\partial I_{DT}}{\partial V} = A \frac{\partial J_{DT}}{\partial V} = \frac{e^2 A \sqrt{2m\phi}}{4\pi^2 \hbar^2 d} \times \exp\left(-\frac{2d\sqrt{2m\phi}}{\hbar}\right). \quad (7)$$

Ее можно выразить с помощью кванта проводимости G_0 следующим образом:

$$\frac{G}{G_0} = \frac{A\sqrt{2m\phi}}{2\hbar d} \times \exp\left(-\frac{2d\sqrt{2m\phi}}{\hbar}\right),$$

где $G_0 = 2e^2/h = 7.748 \times 10^{-5}$ См.

Рассчитанные значения дифференциальной проводимости для прямого туннелирования и различных случаев нуклеотидов ДНК представлены на рис.4с.

Приложением напряжения к молекуле ДНК, находящейся в электрохимическом зазоре, авторы [43] переключают окислительно-восстановительную группу между окисленным и восстановленным состояниями, что приводит к обратимому переключению проводимости ДНК между двумя дискретными уровнями. Расчеты показывают, что переключение происходит из-за изменения выравнивания уровня энергии окислительно-восстановительных состояний относительно уровня Ферми электродов. Исследования молекулярных соединений Au–AqDNA–Au и Au–uDNA–Au в [43] показывают, что значения дифференциальной проводимости равны $(4.0 \pm 0.2) \times 10^{-4} G_0$ и $(14 \pm 1) \times 10^{-4} G_0$, соответственно («Aq» означает антрахинон, а «uDNA» означает ДНК без остатка антрахинона). Эти значения меньше, чем наши результаты на 1.5–2 порядок. Это может быть связано с химическим составом и конструкцией исследуемых молекул.

4. Заключение

Рассмотрен процесс секвенирования ДНК в твердотельных нанопорах. Теоретически моделирован ионный, термоионный и туннельные токи для нанопор с золотыми электродами находящимися в электролите. Показано, что ионная и термоионная составляющие тока обычно на несколько порядков меньше, чем прямой туннельный ток (сотые нА). Сравнительно высокие значения прямых туннельных токов по сравнению с ионным током электролита дают возможность более точно измерять информационный сигнал. Заметим, что из-за относительно высоких значений туннельного тока они не очень чувствительны к любым флуктуациям, особенно колебаниям, происходящим в электролите. Это означает, что уровень электронного шума будет низким. Различия между значениями прямых туннельных токов для четырех нуклеотидов ДНК, а также для пар оснований GC и TA значительны, что позволяет легко идентифицировать каждый нуклеотид. Анализируется также дифференциальная квантовая проводимость соответствующих молекулярных переходов. Поведение проводимости соответствует литературным данным. Построены гистограммы для туннельных токов и проводимостей.

ЛИТЕРАТУРА

1. **J.D. Watson, F.H.C. Crick.** *Nature*, **171**, 737 (1953).
2. **A. Fanget.** Towards Tunneling Electrodes for Nanopore-based DNA Sequencing. Thèse No 5700. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, 2013.
3. **S. Raza, A. Ameen.** *Int. Journal of Advances in Sci. Research.*, **3**, 90 (2017).
4. **S. Pillai, V. Gopalan, A.K.-Y. Lam.** *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **116**, 58 (2017).
5. **W.J. Ansorge.** *Next Generat. Sequenc. &Applic.*, **S1**, 005 (2016).
6. **L. Gasparyan, I. Mazo, V. Simonyan, F. Gasparyan.** *Open Journal of Biophysics*, **9**, 169 (2019).
7. **F. Sanger, S. Nicklen, A.R. Coulson.** *Proc. of the Nat. Acad. of Sci. of the U.S.A.*, **74**(12), 5463 (1977).
8. **A.M. Maxam, W. Gilbert.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**(2), 560 (1977).
9. **S. Anderson.** *Nucleic Acids Research*, **9**(13), 3015 (1981).
10. **B. Canard, R.S. Sarfati.** *Gene*, **148**(1), 1 (1994).
11. **P. Nyren, B. Petersson, M. Uhlen.** *Analytical Biochemistry*, **208**(1), 171 (1993).
12. **S. Hultman, E. Hornes, M. Uhlén.** *Nucleic Acids Res.*, **17**(13), 4937 (1989).
13. **K. Chen, M. Juhasz, F. Gularek, et al.** *Nano Lett.*, **17**(9), 5199 (2017).
14. **S. Howorka, S. Cheley, H. Bayley.** *Nature Biotechnology*, **19**(7), 636 (2001).
15. **J. He, L. Lin, P. Zhang, S. Lindsay.** *Nano Lett.*, **7**(12), 3854 (2007).
16. **M. Zwolak, M. Di Ventra.** *Reviews of Modern Physics*, **80**(1), 141 (2008).
17. **M. Xu, R.G. Endres, Y. Arakawa.** *Small*, **3**(9), 1539 (2007).
18. **M.E. Gracheva, A.L. Xiong, A. Aksimentiev, et al.** *Nanotechnology*, **17** (3), 622 (2006).
19. **M.E. Gracheva, A. Aksimentiev, J.-P. Leburton.** *Nanotechnology*, **17**, 3160 (2006).
20. **M.J. Milgrew, D.R.S. Cumming.** *IEEE Trans. Electron Devices*, **55**, 1074 (2008).
21. **Y. Maruyama, S. Terao, K. Sawada.** *Bios. Bioelectron.*, **24**, 3108 (2009).
22. **J.W. Lee, T. Thundat.** DNA and RNA sequencing by nanoscale reading through programmable electrophoresis and nanoelectrode-gated tunneling and dielectric detection. US patent 6,905,586 (2005).
23. **M. Zwolak, M. Di Ventra.** *Nano Lett.*, **5**, 421 (2005).
24. **M. Tsutsui, M. Taniguchi, et al.** *Nature Nanotechnology*, **5**(4), 286 (2010).
25. **T. Ohshiro, K. Matsubara, M. Tsutsui, M. Furuhashi, et al.** *Sci. Rep.*, **2**, 501 (2012).
26. **M.D. Ventra.** *Nanotechnology*, **24**, 342501 (2013).
27. **P. Pang, B.A. Ashcroft, W. Song, P. Zhang, et al.** *ArsNano*, **30**, 1 (2014).
28. **T. Ohshiro, M. Tsutsui, K. Matsubara, M. Furuhashi, M. Taniguchi, T. Kawai.** 16th Int. Conf. on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences. October 28 – November 1, 2012, Okinawa, Japan, pp.204-206.
29. **M. Taniguchi.** 18th Int. Conf. on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, October 26-30, 2014, San Antonio, Texas, USA, pp.199-204.
30. **A.P. Ivanov, E. Instuli, C.M. McGilvery et al.** *Nano Letters*, **11**(1), 279 (2011).
31. **P.S. Spinney, S.D. Collins, et al.** *Nanotechnology*, **23**(13), Article ID 135501 (2012).
32. *The Physics and Physical Chemistry of Water.* vol. 1, **F. Franks** (ed.), Springer, Boston, MA. 1972nd Edition, 2012.
33. **M.J. Ryding, P.U. Andersson, A.S. Zatula, E. Uggerud.** *European J. of Mass Spectrometry*, **18**(2), 215 (2012).
34. **L. Gasparyan, I. Mazo, F. Gasparyan, V. Simonyan.** *Open Journal of Biophysics*, **9**, 239 (2019).

35. **J. Clarke, H.-C. Wu, L. Jayasinghe, A. Patel, S. Reid, H. Bayley.** Nat. Nanotechnol., **4**(4), 265 (2009).
36. **A. Meller, D. Branton.** Electrophoresis, **23**(16), 2583 (2002).
37. **T.Z. Butler, J.H. Gundlach, M. Troll.** Biophys J., **93**(9), 3229 (2007).
38. **M.S. Sze.** The Physics of Semiconductor Devices. New York, Wiley, 1981.
39. **J.G. Simmons.** J. Appl. Phys., **34**, 1793 (1963).
40. **M. Yoon, S.-W. Min, S.R. Dugasani, Y.U. Lee, M.S. Oh, et al.** Small, **3**(48), 1703006 (2017).
41. **N.M. Khatir, S.M. Banihashemian, V. Periasamy, et al.** Sensors, **12**, 3578 (2012).
42. **D. Branton, D.W. Deamer, A. Marziali, et al.** Nature Biotechnology, **26**(10), 1146 (2008).
43. **L. Xiang, J.L. Palma, Y. Li, V. Mujica, M.A. Ratner, N. Tao.** Nature Communications, **8**, 14471 (2017).

**ՄԵՏԱՂ-ԴՆԹ-ՄԵՏԱՂ ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԱՆՑՄԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԴՆԹ-Ի ՀԱԶՈՐԴԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՄԱՆ ՀԱՄԱՐ**

Լ.Ֆ. ԳԱՍՊՅԱՆ, Ի.Ա. ՄԱԶՈ, Վ.Վ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ֆ.Վ. ԳԱՍՊՅԱՆ

Քննարկվել է պինդամրանային նանոճեղքերով կատարվող ԴՆԹ-ի հաջորդականության որոշման գործընթացը: Մոդելավորվել են իոնային, ջերմաիոնային և թունելային հոսանքները կենսահեղուկներում տեղակայված ոսկու էլեկտրոդներով նանոճեղքերի համար: Ցույց է տրվել, որ ինչպես իոնային, այնպես էլ ջերմաիոնային հոսանքները մի քանի կարգով թույլ են, քան ուղղակի թունելային հոսանքը, որը հասնում է մի քանի հարյուր նԱ. Ուղիղ թունելային հոսանքների արժեքների տարբերությունները ԴՆԹ-ի չորս նուկլեոտիդների, ինչպես նաև GC և TA զույգ նուկլեոտիդների համար զգալի են, ինչը հեշտացնում է յուրաքանչյուր նուկլեոտիդի նույնականացումը: Վերլուծվել է նաև համապատասխան մոլեկուլային անցումների դիֆերենցիալ քվանտային հաղորդականության վարքագիծը: Կառուցվել են ԴՆԹ-ի չորս նուկլեոտիդների, GC և TA խմբերի թունելային հոսանքների և հաղորդականության հիստոգրամները:

**STUDY OF MOLECULAR JUNCTIONS METAL–DNA–METAL
FOR DNA SEQUENCING**

L.F. GASPARYAN, I.A. MAZO, V.V. SIMONYAN, F.V. GASPARYAN

The process of DNA sequencing in solid-state nanopores is considered. Theoretical modeling of ionic, thermionic, and tunnel currents for nanopores with gold electrodes located in bio-liquids has been carried out. It is shown that both ionic and thermionic currents are several orders of magnitude weaker than the direct tunneling current, which reaches several hundred nA. The differences between the values of direct tunnel currents for four DNA nucleotides, as well as for GC and TA nucleotide pairs are significant, which makes it easy to identify each DNA nucleotide. The behavior of the differential quantum conductance of the corresponding molecular junctions is also analyzed. Histograms for tunnel currents and conductance for four DNA nucleotides and GC and TA nucleotides are plotted.