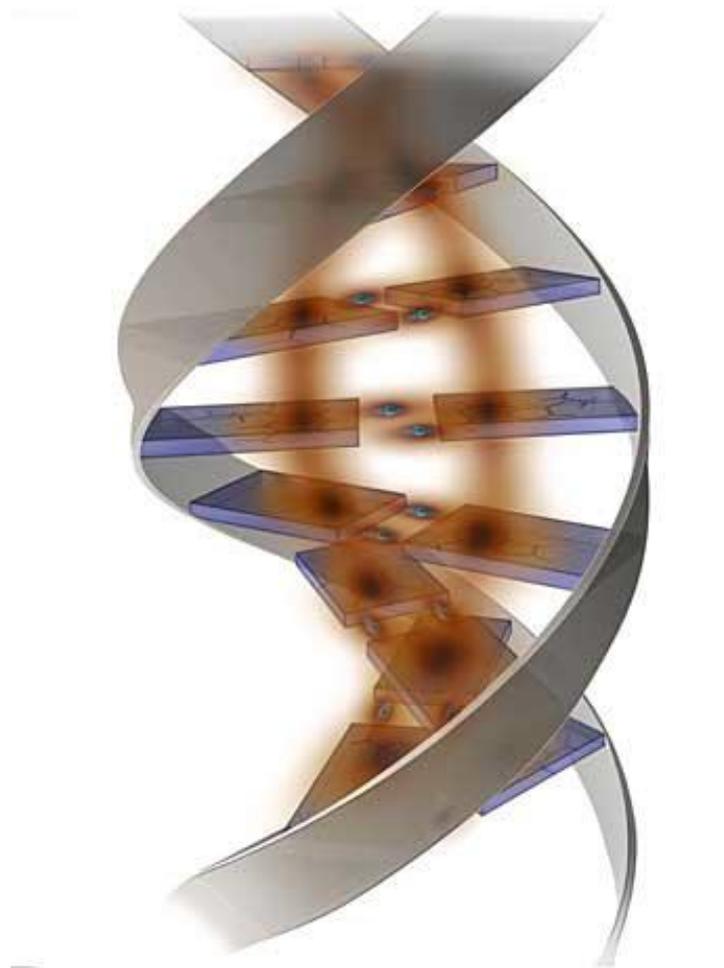


PROPIEDADES ELÉCTRICAS DEL ADN

Trabajo de investigación tutelada
Dep. Física de la Materia Condensada



Fernando Moreno Herrero
Madrid, 14 de septiembre de 2001

Introducción

En los últimos años hemos podido ver como líneas de investigación, antes totalmente independientes, convergían en una serie de estudios interdisciplinarios que han generado una nueva área de conocimiento denominada biofísica. Se ha producido un desembarco unidireccional importante de físicos en biología a diferentes niveles. Así tenemos desde el físico totalmente sumergido en el problema biológico, actuando como biólogo pero sin olvidar su preparación y forma de pensar de físico; hasta el grupo de físicos que aplican sus conocimientos al estudio de propiedades físicas de biomoléculas. Dentro de este marco nuestro grupo orientó sus trabajos al estudio de una de las propiedades físicas por antonomasia como es la conducción eléctrica y la aplicó a la molécula biológica de la vida: el ADN.

El tema de la conducción eléctrica del ADN es un campo reducido pero enormemente activo en los últimos dos o tres años. Las potenciales aplicaciones tecnológicas del problema hacen, si cabe, más atractivo este estudio.

En este trabajo relato cronológicamente parte del enorme esfuerzo realizado orientado a la caracterización eléctrica de la citada molécula. Este estudio surge como el fruto de un trabajo en equipo y no se debe en ningún momento asignar en exclusividad a nadie. En este sentido es justo reconocer el esfuerzo y trabajo de Pedro J. De Pablo y de Cristina Gomez-Navarro.

El trabajo se podría dividir en dos partes. Una primera parte que se corresponde con los experimentos de contacto y todos los estudios de ampliación de los experimentos básicos que fueron publicados en *Phys. Rev. Lett.* y una segunda parte en donde nuevos experimentos sin contacto son descritos. En esta última línea seguimos trabajando en la actualidad.

Motivación

El estudio de las propiedades eléctricas de moléculas largas como el ADN tiene interés no sólo desde el punto de vista fundamental sino también desde el punto de vista de aplicación tecnológica. Se ha especulado que la ley de “Moore” – que predijo, desde 1964, un incremento exponencial del número de transistores contenidos en un chip con el tiempo- va a ser violada a lo largo de esta década, debido a los límites actuales en las técnicas de miniaturización litográficas. El uso de moléculas de diámetro típico de pocos nanómetros, como parte esencial de los circuitos electrónicos podría solucionar este problema.

Hasta abril de 1999, la opinión general sobre la condición eléctrica del ADN era que era una molécula aislante. Sin embargo la publicación en Nature del controvertido artículo firmado por los investigadores H-W. Fink y C. Schonenberger (6), en el que defendían un comportamiento lineal de la corriente y resistividades para la molécula del ADN de $10^{-4} \Omega \text{ cm}$ o resistencias típicas de pocos $M\Omega$. Esta resistividad la convertía en un conductor excepcional capaz de transportar nA al aplicar pocos voltios.

La molécula de ADN

El ADN (ácido desoxiribonucleico) está formado por dos cadenas poliméricas (ver figura). Cada monómero está formado por un azúcar de 5 carbonos y se conecta con la siguiente mediante un enlace fosfodiéster y constituye el esqueleto de la molécula. El grupo fosfato aporta una carga negativa a la molécula a pH fisiológico. En el interior se encuentran las bases (Adenina, Guanina, Citosina y Timina) que definen la información genética.

En este trabajo vamos a emplear dos tipos de DNA. λ -DNA (de secuencia aleatoria) y poly(C)-poly(G) (de secuencia controlada)

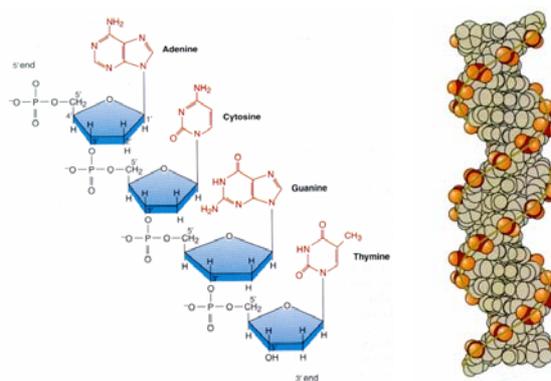


Figura 1. Composición química y modelo del ADN.

El experimento con contacto.

Con estos antecedentes decidimos comenzar a realizar experimentos en el laboratorio destinados a medir la conductividad del ADN. Por una parte poseíamos la tecnología para realizar contactos en moléculas largas como nanotubos de carbono (CNT), trabajo realizado principalmente por Pedro J. De Pablo. Yo, por otra parte, había realizado experimentos de interacción de ADN y proteínas y sabía preparar muestras con moléculas de ADN adsorbidas sobre sustratos.

El experimento ideado era muy sencillo y directo. Consistía en adsorber moléculas de ADN sobre un sustrato aislante como podía ser la mica¹; evaporar un electrodo de oro sobre una parte de las moléculas y realizar un contacto mecánico con una punta metálica a la vez que se le aplicaba un voltaje a dicha punta y medir la corriente que circulara por el circuito y que, necesariamente, debía pasar por la molécula.

¹ Ver Anexo para preparación de la muestra.

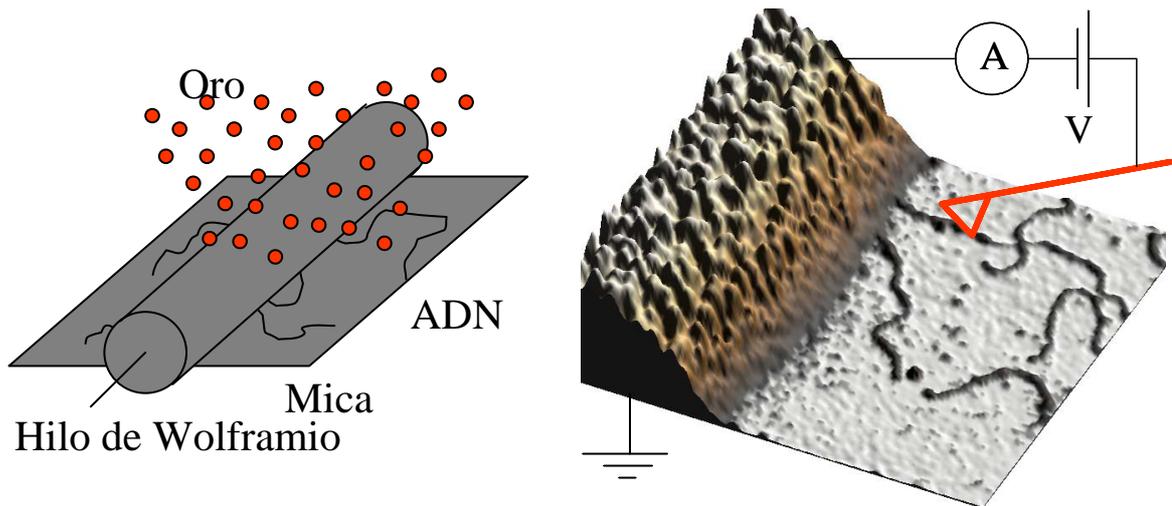


Figura 2. Izquierda. Esquema que explica el método de preparación de la muestra. Para detalles ver anexo. Derecha. Imagen de $1.2 \mu\text{m} \times 1.2 \mu\text{m}$ de SFM que representa el aspecto final de la muestra.

Sorprendentemente, medidas que eran directas y reproducibles con CNT, resultaron en una ausencia de corriente cuando se empleaban moléculas de ADN. Según (6) las citadas corrientes deberían ser fácilmente medibles con nuestro montaje experimental. Se aplicaron voltajes de hasta 12 voltios y se midieron corrientes con un nivel de ruido de 1 nA. No se detectó corriente alguna por encima del umbral de ruido. Nuestro resultado contrastaba con los resultados que se seguían publicando en revistas de alto prestigio como el artículo que apareció en Nature en febrero de 2000 (12). En este artículo estudiaban las propiedades eléctricas de moléculas cortas de ADN que tenían la peculiaridad de tener una secuencia definida por Citosinas y Guaninas. Sus experimentos presentaban al ADN como una molécula semiconductor con un gap de 2 V y resistencias de $3 \text{ G}\Omega$ a 4 V. Para moléculas de 10 nm de longitud la resistividad era de $10 \Omega \text{ cm}$.

Con el fin de aumentar la sensibilidad de nuestras medidas, realizamos nuevos experimentos con moléculas de ADN del bacteriofago lambda. El ADN empleado se caracterizaba por ser de gran longitud (44 kpb) o de unas 15 micras de longitud. Con estas moléculas conseguimos realizar redes de ADN conectadas por dos electrodos separados $4 \mu\text{m}$. En una longitud de pocos milímetros, era de esperar que decenas de miles de moléculas conectaran ambos electrodos. De esta forma aplicamos una diferencia de potencial entre ambos electrodos a la vez que mediamos la corriente, que debería pasar a través de las

moléculas de ADN que conectaban ambos electrodos. Lamentablemente este experimento confirmó nuestros resultados anteriores: ausencia de corriente en moléculas de ADN adsorbidas en mica. Nuestros experimentos nos dieron una resistividad para el ADN adsorbido de $10^5 \Omega \text{ cm}$ valor muy por encima de los resultados publicados.

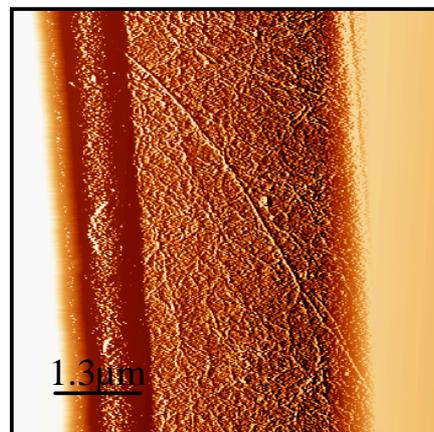


Figura 3. Imagen de SFM en la que se aprecian moléculas de ADN conectando dos electrodos de oro separados 4 micras.

Por otra parte cálculos teóricos, basados en la teoría del funcional de la densidad, realizados sobre pequeños fragmentos de ADN poly(C)-poly(G) predecían un comportamiento más aislante cuanto mayor desorden era introducido en la molécula. El desorden era introducido al meter una secuencia aleatoria de bases. Este es el caso del λ -ADN.

Experimentos en poly(C)-poly(G)

A raíz de los cálculos teóricos y del artículo (12) todo parecía indicar que si había alguna posibilidad de medir conducción en ADN ésta sería empleando moléculas de secuencia controlada. La mejor opción era emplear moléculas con Citosinas y Guaninas situadas a lo largo de cada una de las cadenas del ADN. Con esta idea decidimos adsorber moléculas de este tipo y reproducir los experimentos antes comentados. Lamentablemente este tipo de moléculas no están presentes en la naturaleza y los productos artificialmente elaborados sólo tienen decenas de nanómetros de longitud. Este hecho nos obligó a desarrollar nuevas técnicas de evaporación usando diferentes máscaras. De esta manera conseguimos realizar escalones de pocas decenas de nanómetros.

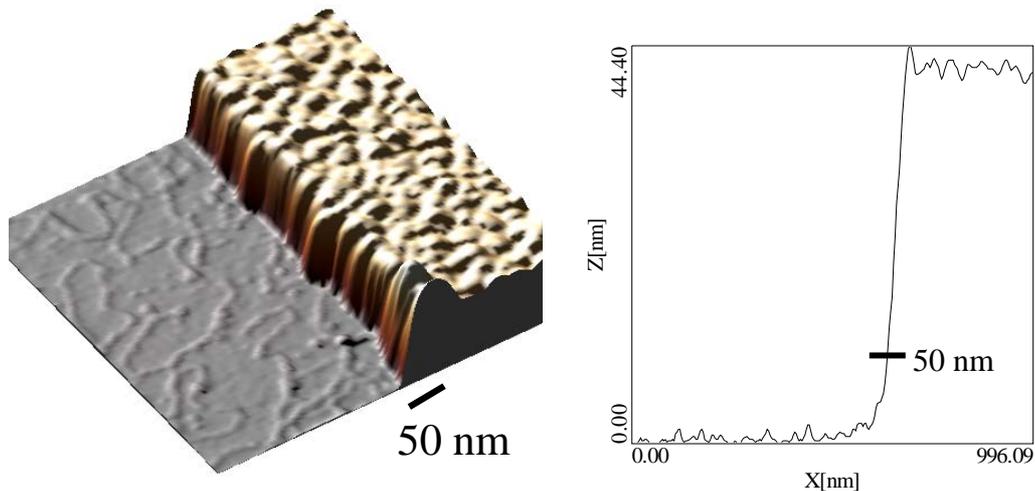


Figura 4. Imagen de SFM de moléculas de ADN de secuencia conocida poly(C)-poly(G). El escalón de oro obtenido en esta evaporación sólo tiene 50 nm como se puede observar en el perfil de la derecha.

Sin embargo los resultados anteriores fueron reproducidos una vez más. No se midió corriente por encima de 1 pA aplicando 10 V.

Paradójicamente en la literatura seguían apareciendo trabajos en perfecta contradicción con nuestros resultados. Por ejemplo el artículo publicado en APL por Cai et al (4). En este trabajo medían corriente en redes de cadenas de ADN poly(C)-poly(G) contactando las moléculas con una punta metalizada de AFM. O incluso el artículo publicado en enero de 2001 en Science (10), en el que describían un comportamiento superconductor de las cadenas de ADN. Otros artículos en los que afirmaban transporte de corriente por huecos y por túnel entre bases de Adenina han sido publicados recientemente (7). Llegados a este punto la molécula de ADN podría ser cualquier cosa desde un conductor relativamente bueno (6), un semiconductor (12) (4) (13), superconductor (10) o un buen aislante (8) (2) (5).

Otros factores: substratos y metales

A la vista de los resultados dispares, seguimos explorando otros factores que pudieran afectar a nuestras medidas. Algunas publicaciones (10) sugirieron la idea de que el contacto metal-ADN podría jugar un papel importante a la hora de estudiar sus propiedades eléctricas. Por este motivo diferentes metales con diferentes funciones de trabajo fueron utilizados. El

oro y la plata son metales de características similares. Ambos tienen funciones de trabajo parecidas, 4.25 eV y 4.30 eV respectivamente, así como bajas temperaturas de fusión (≈ 1300 K). Estos metales se pueden evaporar fácilmente por sublimación térmica. Simplemente se hace pasar una corriente por un hilo que rodea a un grano de oro o plata. También se intentó usar el metal estaño. El estaño se evapora, también, fácilmente y tiene una función de trabajo menor, 3.62 eV. Por último evaporamos carbono. Según (10) el contacto del ADN con carbono podría ser un factor determinante. El carbono tiene una función de trabajo de 4.39 eV y presenta muy altas temperaturas de fusión (por encima de los 3000 K). Por esta razón no se evapora fácilmente. Diversos métodos fueron empleados. Finalmente conseguimos evaporarlo por sublimación por arco eléctrico.

En la siguiente figura aparecen imágenes de las construcciones usando distintos metales.

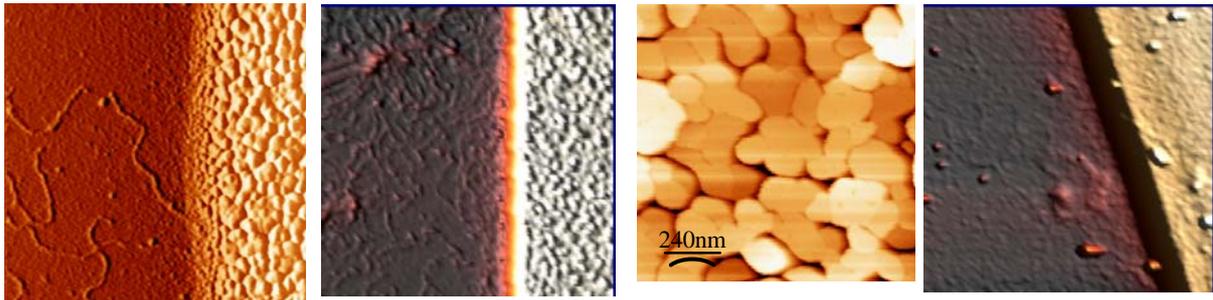


Figura 5. Imágenes de SFM de ADN adsorbido sobre mica en donde se han hecho contactos usando diferentes metales. De izquierda a derecha: Oro, plata, estaño y carbono. Todas las imágenes tienen el mismo tamaño que es $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$

El oro y la plata presentaron resultados similares. El estaño presenta un crecimiento columnar con lo cual el contacto entre el ADN y el electrodo no quedaba claro. Además al no formar una película continua (ver imagen) la conducción para películas delgadas era muy baja. Con el Carbono tuvimos muchos problemas. A la hora de evaporarlo en un principio y posteriormente debido a la alta difusión que presenta cuando toca la superficie. Por esta razón no fuimos capaces de conseguir unos buenos escalones, metal-ADN, incluso enfriando la muestra a bajas temperaturas (100 K). En la imagen de la derecha se intuyen cadenas de ADN cercanas al borde del escalón. La comparación con imágenes antiguas usando oro nos obligó a desechar el uso del carbono como electrodo.

Independientemente del electrodo empleado, se repitió el experimento básico descrito en secciones anteriores basado en el contacto mecánico. En todos los casos no se detectó corriente, incluso en experimentos en los que la muestra no presentaba un aspecto limpio.

Llegados a este punto, todo parecía indicar que, independientemente del metal utilizado como electrodo, al aplicar una tensión al ADN la carga suministrada se iba por el sustrato en lugar de por la molécula en si. Esto significaba que la resistividad de la molécula era similar a la del sustrato. En esta línea se exploraron otros sustratos como vidrio o zafiro de resistividades superiores a la de la mica. Sin embargo el uso de otros sustratos estaba bastante limitado debido principalmente a la corrugación de los mismos. Las moléculas de ADN poseen diámetros típicos de 2 nm, pero presentan alturas, una vez adsorbidas, de 8 \AA , debido principalmente a la deshidratación. Esto significaba que debíamos emplear sustratos extraordinariamente planos. Este hecho no dejaba muchas opciones a la hora de usar diferentes sustratos.

El empleo de otros sustratos, de diferentes resistividades, tampoco cambio nuestra conclusión principal: el ADN adsorbido es un aislante.

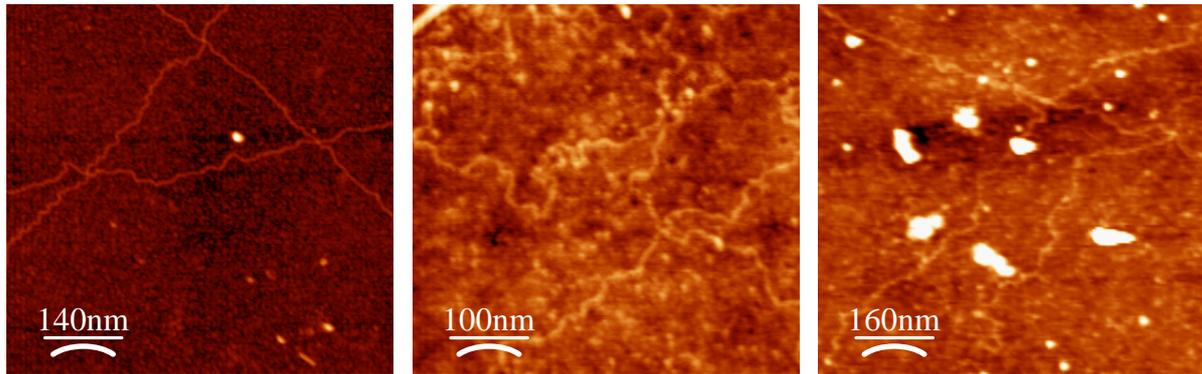


Figura 6. Imágenes de SFM de ADN adsorbido en distintos sustratos. Mica (izquierda), vidrio (centro) y zafiro (derecha). El contraste de las moléculas es claramente superior cuando se emplea como sustrato la mica.

El experimento sin contacto.

Medidas electrostáticas. La idea básica.

El método de medida utilizado consiste en hacer oscilar un cantilever metálico de frecuencia de resonancia ω_0 y constante de fuerza k a su frecuencia de resonancia mientras se registra la amplitud de la oscilación y la diferencia de fase entre la señal excitadora y la respuesta del cantilever. Si aplicamos una diferencia de potencial entre la punta y la superficie aparece una fuerza de origen electrostático. Esta fuerza es debida a la redistribución de cargas presentes en el material, es siempre atractiva y va con la diferencia de potencial punta-muestra al cuadrado. Si por ejemplo la superficie es metálica, las cargas son libres de moverse dentro del metal y se distribuyen de forma que en su interior el campo sea nulo. Si por el contrario tenemos un dieléctrico, las cargas no son libres de moverse y éste se polariza.

Como consecuencia de los cambios de la fuerza electrostática con la distancia, la frecuencia de resonancia del cantilever sufre un desplazamiento hacia valores menores.

$$\frac{\Delta\omega}{\omega} \approx \left(\frac{1}{2K} \right) \frac{dF_e}{dz}$$

Al sacar al cantilever de su frecuencia de resonancia natural se produce una disminución de la amplitud y puesto que el sistema de realimentación se hace sobre la amplitud de oscilación, el sistema reacciona retrayendo el piezoeléctrico y separando la punta de la muestra para recuperar el valor de amplitud de oscilación prefijado. Este fenómeno produce un efecto topográfico en las imágenes, en las que se ven como las moléculas conectadas al electrodo de oro parecen aumentar de tamaño, engordar o *brillar*.

El experimento control.

Este importante resultado fue aplicado por el Dr de Pablo en sus muestras de nanotubos de carbono (CNT) conectados a un electrodo. Los CNT tienen resistencias típicas de decenas de $K\Omega$ y son, básicamente, conductoras. Las siguientes imágenes nos demuestran que el método funciona y que puede ser aplicado a otras moléculas. Se ve claramente como los nanotubos conectados al electrodo *brillan* cuando se aplica una diferencia de tensión entre la punta y la muestra.

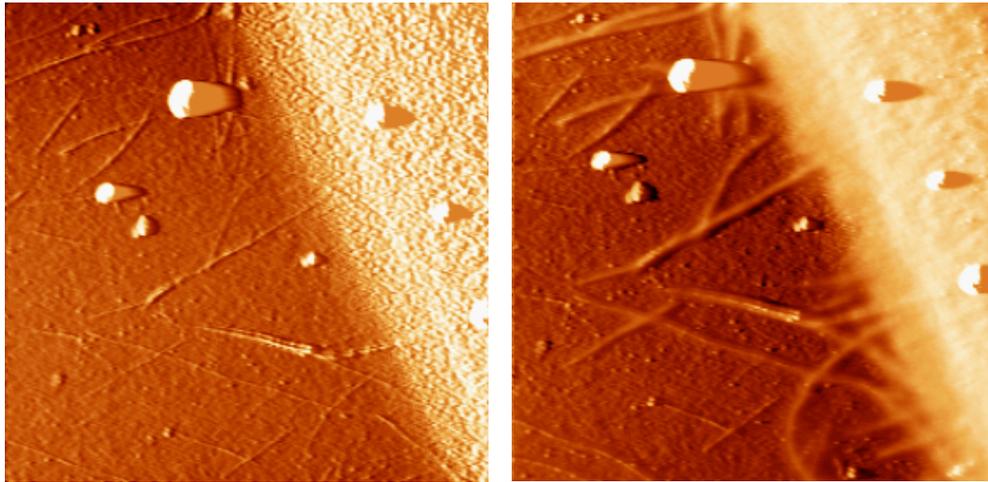


Figura 7. Imágenes de SFM de $2 \times 2 \mu\text{m}^2$ de Nanotubos de Carbono sobre oxido de silicio con un electrodo de oro evaporado en la parte derecha. La imagen de la izquierda se tomo sin aplicar tensión alguna entre punta y muestra. La imagen de la derecha se tomo al aplicar 3 V entre la punta y el electrodo de oro. El efecto de la fuerza electrostática es claramente visible en las imágenes topográficas como un aumento del tamaño de las moléculas eléctricamente conectadas.

El experimento electrostático sobre ADN

El siguiente paso fue repetir el experimento descrito sobre una muestra de moléculas de ADN. Empleamos λ -ADN y poly(C)-poly(G) ADN. En la siguiente figura se muestran dos imágenes de una cadena de ADN poly(C)-poly(G) saliendo de un electrodo de oro. Una se tomo sin voltaje y la otra aplicando 1.8 V entre punta y electrodo. El fenómeno descrito anteriormente en el que se veían las moléculas brillar no se produjo en este caso sugiriendo que las cargas fluyen del electrodo al volumen de la mica o al aire.

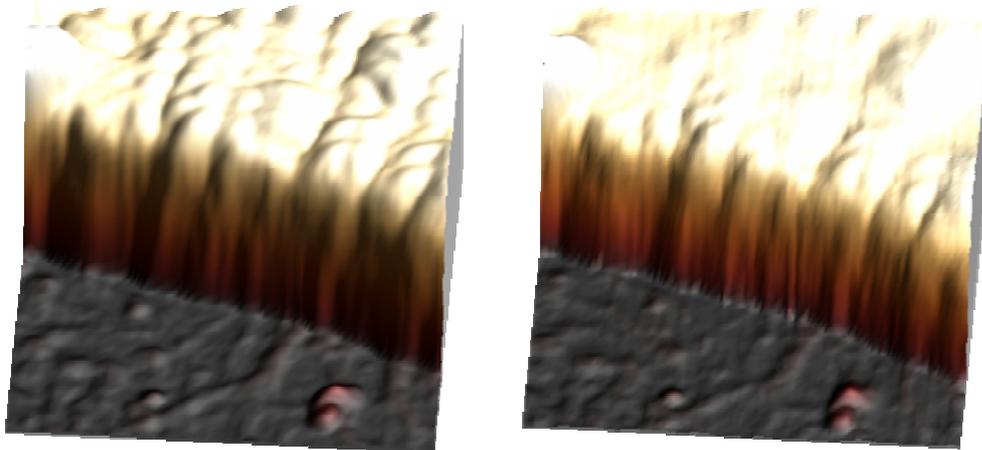


Figura 8. Imagen SFM de una molécula de ADN poly C-PolyG saliendo de un electrodo de oro. La imagen de la izquierda se tomo a 0 V y la de la izquierda a 1.8 V. El aspecto topográfico es exactamente el mismo.

Un paso más. El experimento electrostático sobre Nanotubos y ADN

Para aplicar el experimento anterior a nanotubos y ADN conjuntamente necesitábamos adsorber en el mismo sustrato ambas moléculas. El protocolo de preparación se describe en el anexo adjunto. Las moléculas fueron adsorbidas en diferentes sustratos: Mica, vidrio y zafiro principalmente, con el fin de usar las diferentes resistividades que poseen dichos sustratos.

En las imágenes de la figura 9 se observa claramente como nanotubos de carbono conectados con un electrodo de oro, aumentan de tamaño cuando se aplica una tensión entre punta y electrodo. Las moléculas de ADN permanecen intactas independientemente de que el contacto se realice directamente con el oro o que se realice con un nanotubo de carbono que está contactado con el oro. El experimento es importante porque somos capaces de comparar ambas moléculas en la misma muestra y en la misma imagen. Hasta la fecha no nos consta de ningún trabajo en el que adsorban ADN y nanotubos simultáneamente.

Conclusiones

Un gran esfuerzo se ha realizado con el fin de caracterizar las propiedades eléctricas del ADN. Diversos tipos de ADN y distintos sustratos fueron usados. Diferentes metales evaporados y dos métodos distintos de medida han sido mostrados en este trabajo. En la actualidad se siguen realizando experimentos encaminados a aumentar la sensibilidad de nuestras medidas.

A pesar de los citados trabajos en los que se afirmaban diversos comportamientos conductores del ADN, nosotros estamos convencidos de que las moléculas de ADN adsorbidas sobre un sustrato se comportan como moléculas aislantes. La resistividad de las moléculas es pues comparable a la que poseen los sustratos en los que fueron depositadas.

La idea de que el ADN es aislante no es nueva. Este era el pensamiento general de la comunidad científica antes de la aparición del artículo firmado por Fink et al. Previamente se había intentado hacer STM sobre ADN y se consiguió al aire usando la conducción que proporciona la capa de líquido presente en todos los sustratos (14) (8). En estos trabajos se puede ver como las moléculas de ADN creaban una barrera aislante entre las diferentes partes de la mica.

El experimento en el que ambas moléculas son co-adsorbidas no deja ninguna duda sobre las características eléctricas del ADN adsorbido sobre un sustrato. Si el ADN es conductor cuando se encuentra suspendido y no adsorbido es algo que desconocemos, pero lo que está claro es que cualquier aplicación tecnológica de esta molécula pasa por adsorberla en un sustrato. Estos resultados no dejan duda alguna sobre la cuestión de considerar a esta molécula como un conductor molecular. En contra de lo que se ha especulado recientemente: el ADN no se comporta como un conductor molecular.

Futuro próximo

En la actualidad estamos llevando a cabo experimentos en los cuales se prescinde de los contactos masivos entre moléculas y electrodos. Estos novedosos experimentos nos proporcionaran medidas de la permitividad eléctrica del ADN.

Por otra parte ya se han realizado experimentos orientados a convertir la molécula del ADN en conductora. Braun et al. en 1998 (2) ya usaron el ADN como molde para adsorber moléculas de plata y usarlo como un conductor molecular. En 1999 se consiguió modificar químicamente el ADN introduciendo un metal intercalante entre sus bases (1). Recientes trabajos usando esta molécula presentan resultados esperanzadores (13). El siguiente paso que vamos a realizar en el laboratorio será la construcción de este nuevo tipo de molécula (M-ADN) y repetir los experimentos descritos en este trabajo. Si el M-ADN presenta características conductoras cuando se adsorbe dejará de ser un misterio en los próximos meses.

Adsorción de moléculas de ADN en mica.

En la actualidad diversos protocolos de adsorción de moléculas de ADN en diferentes sustratos han sido desarrollados. En general la superficie del ADN, que se encuentra negativamente cargada a pH normal, necesita de una molécula positiva que haga de puente entre ADN y sustrato. Aminopropyltriethoxysilane (APTES) fue una de las primeras moléculas empleadas para pegar ADN a mica. (3) (11) y todavía en la actualidad se usa (15). APTES también se usa para adsorber moléculas de ADN en otros sustratos como puede ser vidrio. Otras moléculas como tioles (9) o otro tipo de monocapas autoensambladas (15) son también usadas. Actualmente, la mica es el sustrato más empleado para adsorber biomoléculas, principalmente porque es muy plana una vez exfoliada y porque su superficie está cargada negativamente. Por esta razón para adsorber moléculas cargadas negativamente como el ADN se usan iones divalentes como Zn^{2+} o Mg^{2+} .

El protocolo estándar consiste en una mezcla de 1-10 mM $MgCl_2$ y 10-100 ng de ADN diluido en Tris-EDTA depositado sobre un disco de mica recién exfoliado. Se deja un minuto para que las moléculas se adsorban y luego se aclara con abundante agua ultrapura y se seca con aire o con nitrógeno seco.

Siguiendo este protocolo se obtienen muestras de ADN adsorbido en mica como las que se muestran en las figuras 1-4.

Coadsorción de ADN y Nanotubos de Carbono

Hasta la fecha no ha aparecido ningún trabajo en el que se realicen medidas sobre ADN o CNT adsorbidos sobre la misma muestra. Por esta razón el protocolo de preparación se desarrolló como una modificación de los protocolos de adsorción de nanotubos sobre óxido de silicio.

La idea básica consiste en cargar la superficie positivamente usando una molécula que en este caso es la ya mencionada APTES. Esta molécula posee un grupo amino en un extremo que es positivo y un átomo de Si que interacciona con el óxido de silicio o con la mica. Los sustratos limpios se sumergen en una disolución de 0.1% en volumen de APTES puro durante 15 minutos. A continuación se aclaran con propanol y luego con agua y se secan. Los sustratos así preparados se encuentran cargados positivamente. Este procedimiento se puede emplear indistintamente sobre mica, vidrio u óxido de silicio. A continuación se realiza una mezcla entre moléculas de ADN (típicamente 0.25 μg) y nanotubos que han sido previamente tratados con SDS para cargarlos negativamente y se deposita sobre las superficies tratadas durante 1 hora. A continuación se aclaran con agua y se secan con nitrógeno seco.

Muestras así preparadas aparecen en las figuras 5-8.

1. **Aich, P., S. L. Labiuk, L. W. Tari, L. J. Delbaere, W. J. Roesler, K. J. Falk, R. P. Steer, and J. S. Lee** 1999. M-ADN: A complex between divalent metal ions and ADN which behaves as a molecular wire *J Mol Biol.* **294**:477-85.
2. **Braun, E., Y. Eichen, U. Sivan, and G. Ben-Yoseph** 1998. ADN-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire *Nature.* **391**:775-8.
3. **Bustamante, C., J. Vesenka, C. L. Tang, W. Rees, M. Guthold, and R. Keller** 1992. Circular ADN molecules imaged in air by scanning force microscopy *Biochemistry.* **31**:22-6.
4. **Cai, L., H. Tabata, and T. Kaway** 2000. Self-assembled ADN networks and their electrical conductivity *Applied Physics Letters.* **77**:3105-3106.
5. **de Pablo, P. J., F. Moreno-Herrero, J. Colchero, J. Gomez Herrero, P. Herrero, A. M. Baro, P. Ordejon, J. M. Soler, and E. Artacho** 2000. Absence of dc-conductivity in lambda-ADN *Phys Rev Lett.* **85**:4992-5.
6. **Fink, H. W., and C. Schonberger** 1999. Electrical conduction through ADN molecules *Nature.* **398**:407-10.
7. **Giese, B., J. Amaudrut, A. K. Kohler, M. Spormann, and S. Wessely** 2001. Direct observation of hole transfer through ADN by hopping between adenine bases and by tunnelling *Nature.* **412**:318-20.
8. **Guckenberger, R., M. Heim, G. Cevc, H. F. Knapp, W. Wiegrabe, and A. Hillebrand** 1994. Scanning tunneling microscopy of insulators and biological specimens based on lateral conductivity of ultrathin water films *Science.* **266**:1538-40.
9. **Hegner, M., P. Wagner, and G. Semenza** 1993. Immobilizing ADN on gold via thiol modification for atomic force microscopy imaging in buffer solutions *FEBS Lett.* **336**:452-6.
10. **Kasumov, A. Y., M. Kociak, S. Gueron, B. Reulet, V. T. Volkov, D. V. Klinov, and H. Bouchiat** 2001. Proximity-induced superconductivity in ADN *Science.* **291**:280-2.
11. **Lyubchenko, Y., L. Shlyakhtenko, R. Harrington, P. Oden, and S. Lindsay** 1993. Atomic force microscopy of long ADN: imaging in air and under water *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90**:2137-40.
12. **Porath, D., A. Bezryadin, S. de Vries, and C. Dekker** 2000. Direct measurement of electrical transport through ADN molecules *Nature.* **403**:635-8.
13. **Rakitin, A., P. Aich, C. Papadopoulos, Y. Kobzar, A. S. Vedenev, J. S. Lee, and J. M. Xu** 2001. Metallic conduction through engineered ADN: ADN nanoelectronic building blocks *Phys Rev Lett.* **86**:3670-3.
14. **Salmeron, M., T. Beebe, J. Odriozola, T. Wilson, D. F. Ogletree, and W. Siekhaus** 1990. Imaging of biomolecules with the scanning force microscope: problems and prospects *J. Vac. Sci. Technol. A.* **8**:635.
15. **Umemura, K., M. Ishikawa, and R. Kuroda** 2001. Controlled immobilization of ADN molecules using chemical modification of mica surfaces for atomic force microscopy: characterization in air *Anal Biochem.* **290**:232-7.