



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106461584 B

(45)授权公告日 2019.08.30

(21)申请号 201580025586.X

(22)申请日 2015.06.24

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106461584 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(30)优先权数据

62/017,504 2014.06.26 US

14/454,704 2014.08.07 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.17

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2015/054739 2015.06.24

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/198242 EN 2015.12.30

(73)专利权人 国际商业机器公司

地址 美国纽约阿芒克

(72)发明人 S·K·坎纳姆 J·M·瓦格纳

S·哈勒 C·希伯

J·S·巴尔道夫 M·唐顿

N·J·古恩

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 鄢迅 董典红

(51)Int.Cl.

G01N 27/00(2006.01)

(56)对比文件

US 2012193237 A1, 2012.08.02,

US 2013256139 A1, 2013.10.03,

WO 2013016486 A1, 2013.01.31,

JP 2013090576 A, 2013.05.16,

审查员 胡徐兵

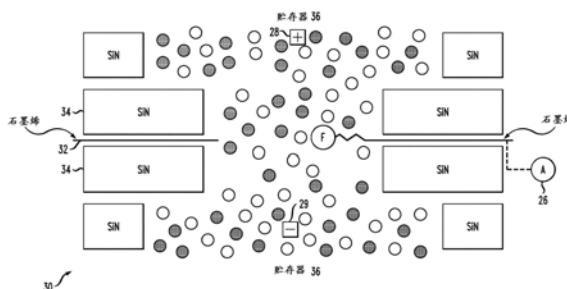
权利要求书2页 说明书14页 附图13页

(54)发明名称

使用基于石墨烯的纳米孔组件的移位事件的检测方法及其系统

(57)摘要

使用包括在石墨烯片中形成的纳米孔的复合纳米孔组件来感测移位事件。使用这样的组件提供单分子检测和表征以及多分子表征和识别。与纳米流体传感器相关联的多个电极促进通过纳米孔的离子电流以及隧穿电流的检测。从通过纳米孔的离子电流信号和在纳米孔内的特定位置处获得的隧穿电流信号的组合来估计个体分子的电流信号。



1. 一种用于在避免关于第一靶分子的多个结合事件的同时检测与所述第一靶分子相关联的移位事件的方法,包括:

获得组件,所述组件包括由第一固态膜和第二固态膜界定的第一石墨烯片和延伸穿过所述石墨烯片和每个所述固态膜的纳米孔,所述纳米孔具有轴,所述石墨烯片相对于所述纳米孔的轴被定位在选定位置处;

将对所述第一靶分子具有选择性的一个或多个受体仅结合到所述第一石墨烯片;

将电解质溶液引入所述纳米孔;

跨所述纳米孔施加电势,和

检测通过所述纳米孔的离子电流。

2. 根据权利要求1所述的方法,还包括检测所述石墨烯片内的隧穿电流的步骤。

3. 根据权利要求1所述的方法,还包括将对所述第一靶分子具有选择性的多个受体结合到所述石墨烯片的步骤。

4. 根据前述权利要求1-3中任一项所述的方法,其中,只有所述石墨烯片的边缘被暴露给所述纳米孔,所述方法还包括在结合所述一个或多个受体之前氧化所述石墨烯片的边缘的步骤。

5. 根据前述权利要求1-3中任一项所述的方法,其中,所述石墨烯片包括突出到所述纳米孔中的部分。

6. 一种用于同时测量通过纳米孔的离子电流和多个隧穿电流的方法,包括:

获得组件,所述组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯片和延伸穿过所述石墨烯片和固态膜的纳米孔;

将电解质溶液引入所述纳米孔;

跨所述纳米孔施加电势;

检测通过所述纳米孔的离子电流,以及

在检测通过所述纳米孔的离子电流的步骤的同时检测所述石墨烯片内的多个隧穿电流。

7. 根据权利要求6所述的方法,还包括从所检测到的通过所述纳米孔的离子电流和所检测到的多个隧穿电流的组合估计个体分子的个体电流信号的步骤。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中,估计个体分子的个体电流信号的步骤还包括从所检测到的多个隧穿电流获得隧穿电流事件并分析所述隧穿电流事件以获得与所检测到的通过所述纳米孔的离子电流和所述隧穿电流事件二者一致的分子移位电流。

9. 根据权利要求8所述的方法,还包括基于至少一个标准的最小可变性来选择分子移位电流的单个集合的步骤。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中,所述至少一个标准包括通过所述纳米孔的分子速度、所述隧穿电流的大小或所述隧穿电流的形状。

11. 根据权利要求6至10中任一项所述的方法,还包括通过监测作为时间的函数的所述隧穿电流来确定所述纳米孔内的分子速度的步骤。

12. 根据权利要求6至10中任一项所述的方法,还包括向所述石墨烯层中的至少一个施加电势的步骤。

13. 根据权利要求6至10中任一项所述的方法,还包括以下步骤:检测所述隧穿电流中

的变化,以及使用所检测到的隧穿电流的变化来区分所述纳米孔内的分子构象或分子取向中的至少一个。

14. 根据权利要求6至10中任一项所述的方法,其中所述石墨烯片中的一个或多个由多个离散的石墨烯带组成,所述离散的石墨烯带中的每一个包括延伸穿过其中的至少一个纳米孔,所述石墨烯片和固态膜中的每一个都包括多个纳米孔,所述方法还包括以下步骤:将所述电解质溶液引入所述多个纳米孔;检测通过所述多个纳米孔的离子电流;以及在检测通过所述多个纳米孔的离子电流的步骤同时检测在所述离散的石墨烯带内的多个隧穿电流。

15. 一种系统,包括:

组件,所述组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯层和延伸穿过所述石墨烯层和所述固态膜的多个纳米孔,以及

多个电连接到一个或多个检测器的所述石墨烯层,所述检测器被配置为检测与所述纳米孔内的带电分子相关联的所述石墨烯层内的隧穿电流。

16. 根据权利要求15所述的系统,其中,每个石墨烯层包括多个离散的石墨烯带,所述离散的石墨烯带中的每一个包括延伸穿过其中的多个所述纳米孔,多个所述石墨烯带电连接到所述一个或多个检测器。

17. 根据权利要求16所述的系统,其中,包括所述石墨烯层中的第一层的所述石墨烯带具有在第一方向上延伸的纵向轴,并且包括所述石墨烯层中的第二层的所述石墨烯带具有在与所述第一方向相交的第二方向上延伸的纵向轴,包括所述第一石墨烯层的所述石墨烯带中的一个或多个与包括所述第二石墨烯层的所述石墨烯带中的一个或多个重叠。

18. 根据权利要求16所述的系统,其中,包括所述石墨烯层中的第一层的所述石墨烯带中的一个或多个与包括所述石墨烯层中的第二层的所述石墨烯带中的至少两个重叠。

19. 根据权利要求16至18中任一项所述的系统,还包括在所述纳米孔内的电解质和用于检测通过所述纳米孔的离子电流的装置。

使用基于石墨烯的纳米孔组件的移位事件的检测方法及其系统

技术领域

[0001] 本公开一般涉及基于石墨烯的纳米孔器件、这种纳米孔器件的制造、以及使用基于石墨烯的纳米孔器件检测移位(translocation)事件的方法。

背景技术

[0002] 纳米级流体设备包括在所选衬底中形成的孔和/或通路。可以通过穿过所选衬底的TEM(透射电子显微镜)钻孔来制造固态(非生物)纳米孔。固态纳米孔可用于分析生物蛋白质。可以通过串行电子束光刻来制造纳米流体通路,以便达到所需的尺寸。还可以使用光刻、纳米压印光刻和纳米传输光刻来制造通路。

[0003] 纳米孔已经被用作用于诸如DNA之类的分子的传感器。可以布置小通道以分离两个充满电解液的贮存器,其中至少一个贮存器含有靶分子。靶分子可以通过通道被抽取,并且它们的存在被检测为通过通道的电流的下降。该孔用作电阻器,其中电阻与横截面积上的长度成比例。当软的且有点盘绕的单链DNA与其互补链杂交时,可能发生孔横截面积的变化。双链DNA可以是相当刚性的且为棒状。孔径因此减小,基本上导致通过孔的离子电流的物理阻塞。电流的变化可以被检测到。

[0004] 固态纳米孔已被证明非常适合作为单分子传感器,并且因此在包括药物发现在内的广泛领域中有着显著的应用。与它们的生物对应物相比更稳定且可调的合成纳米孔在分离包含电解质和分析物的两个水性贮存器的薄膜(例如氮化硅)内包含纳米级通路或孔(<100nm)。通过经由在该膜上的电极施加电势,带电分子被驱动(“移位”)通过孔,允许纳米孔被用作单分子检测器。检测原理是基于:当跨该膜施加电势时监测通过纳米孔的离子电流。当纳米孔具有分子尺寸时,分子(例如蛋白质或DNA)的通过引起“开放”电流水平的中断,导致“移位事件”信号。产生电指纹,其可以提供诸如分子的尺寸和形状的信息。纳米孔可以被嵌入在纳米流体传感器器件中并用于药物发现。包含电解质的纳米孔器件的示意性表示在US 2013/0264219 A1中示出,其通过引用并入本文。图1示出了在两个移位事件(中间和底部)期间的电流和开孔电流(上部)的测量,其中电流轨迹在左侧,纳米孔和分子的图示在右侧。电解质溶液(例如KCl)中的靶分子20被示出在膜22中形成的纳米孔的外部。电压源24和电流表26被电连接在位于纳米孔的相对侧上的电极28、29之间。在图1所示的中间移位事件中,靶分子20(或非靶向分子)穿过纳米孔而不与受体结合。在底部移位事件中,分子20已经结合到受体21,产生不同于中间移位事件的电流轨迹。

[0005] 通常期望用特定分子对纳米孔内表面进行官能化。纳米孔的内表面可以包括功能层,其是用于官能化纳米孔的涂层(即,考虑到特定目的而选择的纳米孔的涂层)。可以选择或配置功能层以在移位期间与预定分子相互作用。通常,作为纳米器件制造工艺中的一个步骤,官能化层被直接附接到纳米孔表面。纳米孔的这种官能化允许单分子检测。单分子的移位导致通过孔的电流的变化。这种移位数据可以揭示在单分子级别上通过孔的分子的性质。间接测量技术,如孔内的结合事件,提供了一种有前途的方法来确定单分子的非常具体

的性质。然而,仅将一个单个结合位点并入固态纳米孔中是一个挑战。存在利用单个受体修饰的固态纳米孔来实现随机感测的之前的解决方案,包括在金涂覆的纳米孔上使用混合单层组件,其中孔内的受体数目通过具有不同末端官能团(一个活性,另一个惰性)的两种不同的表面活性剂的共同吸收来控制。

[0006] 与金刚石、石墨、碳纳米管和富勒烯并列,石墨烯是碳的几种结晶形式之一。在该材料中,碳原子以正六边形图案排列。石墨烯可以被描述为层状矿物石墨的单原子厚层。高品质石墨烯非常坚固、轻便、几乎透明且是一种优良的热电导体。它与光以及与其他材料的相互作用,及其固有的二维性质,产生石墨烯独有的性质。石墨烯也可以被用来创建石墨烯纳米孔,即在石墨烯片内的纳米级通路或孔。这通常通过用聚焦离子束轰击石墨烯单层来完成。也可以以石墨烯和固态膜的堆叠来形成纳米孔。使用TEM的STEM(扫描透射电子显微镜)模式,最近已经可以将石墨烯晶格保持到纳米孔的边缘,从而保持导电性。重要的是,通过共价和非共价官能化,可以利用官能团(考虑到特定目的选择的分子)修饰石墨烯,以在移位期间与预定分子相互作用。例如,可以通过在原始石墨烯的C=C键与自由基或亲二烯体之间的共价键形成或通过 π - π (π - π) 堆叠非共价地对石墨烯进行官能化。可以调整用作DNA移位的纳米孔的石墨烯的疏水性。可以将氧化石墨烯(GO)表征为具有随机分布的芳香族区域和含有羟基、外消旋、羰基和羧基官能团的氧化脂族区域的单个石墨单层,其可以使用本领域已知的各种化学物质来进行官能化。

发明内容

[0007] 本发明的原理提供了用于检测纳米孔内的移位事件的技术。提供了用于在避免关于第一靶分子的多个结合事件的同时检测与所述第一靶分子相关联的移位事件的方法。所述方法包括获得组件,所述组件包括由第一固态膜和第二固态膜界定的第一石墨烯片和延伸穿过所述石墨烯片和每个所述固态膜的纳米孔,所述纳米孔具有轴,所述石墨烯片相对于纳米孔轴被定位在选定位置处。将对第一靶分子具有选择性的一个或多个受体仅结合到第一石墨烯片。将电解质溶液引入纳米孔。跨纳米孔施加电势,并检测通过纳米孔的离子电流。

[0008] 在另一方面中,提供了另一种示例性方法,用于同时测量通过纳米孔的离子电流和多个隧穿电流。该方法包括获得组件,所述组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯片和延伸穿过石墨烯片和固态膜的纳米孔。将电解质溶液引入纳米孔。跨纳米孔施加电势,并检测通过纳米孔的离子电流。该方法还包括与检测通过纳米孔的离子电流的步骤同时地检测石墨烯片内的多个隧穿电流。

[0009] 示例性系统包括组件,该组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯层、延伸穿过石墨烯层和固态膜的一个或多个纳米孔、电连接到一个或多个检测器的多个石墨烯层,所述检测器被配置用于检测与所述纳米孔内的带电分子相关联的隧穿电流。

[0010] 如本文所使用的,“促进”动作包括执行动作、使动作更容易、帮助执行动作或使动作被执行。因此,作为示例而非限制,在一个处理器上执行的指令可以促进由在远程处理器上执行的指令执行的动作,通过发送适当的数据或命令以引起或帮助动作被执行。为了避免疑问,当动作者通过除了执行动作之外的动作来促进动作时,该动作仍然由一些实体或实体的组合来执行。

[0011] 本发明的一个或多个实施例或其元件可以以计算机程序产品的形式来实现,该计算机程序产品包括计算机可读存储介质,该计算机可读存储介质具有用于执行所指出的方法步骤的计算机可用程序代码。此外,本发明的一个或多个实施例或其元件可以以包括存储器和至少一个处理器的系统(或装置)的形式来实现,该处理器耦合到存储器并且可操作用于执行示例性方法步骤。另外,在另一方面中,本发明的一个或多个实施例或其元件可以以用于执行本文所述的一个或多个方法步骤的装置的形式来实现;该装置可以包括(i)硬件模块,(ii)存储在计算机可读存储介质(或多个这样的介质)中并且在硬件处理器上实现的软件模块,或者(iii)(i)和(ii)的组合;(i)-(iii)中的任一个实现本文所阐述的特定技术。

[0012] 本发明的技术可以提供实质上有益的技术效果。例如,一个或多个实施例可以提供以下优点中的一个或多个:

- [0013] • 在对孔表面进行官能化中允许精确的控制和变化性;
- [0014] • 允许在结合位点的位置上的控制;
- [0015] • 促进测量单个结合事件;
- [0016] • 促进避免纳米孔内的多个结合事件;
- [0017] • 利用仅仅单个结合事件,允许多个受体官能化;
- [0018] • 增强单个结合事件的结合概率;
- [0019] • 促进控制靶分子通过纳米孔的运动;
- [0020] • 提高捕获率,从而提高事件率;
- [0021] • 在多个纳米孔中个体地在空间上跟踪靶分子的运动;
- [0022] • 允许在单个设备中对不同纳米孔进行官能化,以用于靶向不同的靶分子;
- [0023] • 促进从复合离子信号和隧穿电流信号的组合估计个体分子的个体电流信号;
- [0024] • 允许使用不同的隧穿电流特征来区分纳米孔内的不同靶分子类型,以及相对于相同分子的纳米孔的不同构象或方向。

[0025] 本发明的这些和其它特征和优点将从以下结合附图阅读的对其说明性实施例的详细描述中变得显而易见。

附图说明

[0026] 现在将参照附图仅以示例的方式描述本发明的实施例,其中:

[0027] 图1是现有技术的生物分子感测器件和两个移位事件的电流轨迹的示意图;

[0028] 图2是示出复合纳米孔的示例性实施例的示意图;

[0029] 图3是具有官能化石墨烯和氮化硅孔表面的第二示例性复合纳米孔的示意图;

[0030] 图4是示出用不同位置处的两种不同受体官能化的复合纳米孔和其中的移位事件的电流轨迹的示意图;

[0031] 图5是交替的石墨烯片和固态膜的分解透视图;

[0032] 图6是由图5中所示的交替的石墨烯片和固态膜形成的复合纳米孔的示意图;

[0033] 图7A是示出了移位多电极纳米流体传感器器件的三电极示例的纳米孔的六个分子的理想化电流轨迹与时间的图;

[0034] 图7B是示出用于选择分子移位电流的集合的示例性步骤的流程图;

- [0035] 图8是包括三层固态膜和两层石墨烯带的复合纳米孔组件的分解透视图；
- [0036] 图9是包括三层固态膜和四层石墨烯带的复合纳米孔组件的分解透视图；
- [0037] 图10是示出复合纳米孔阵列的示意图，其中每个电极和每个复合纳米孔均被标记；
- [0038] 图11是示出对应于图10中所示的复合纳米孔阵列内的移位事件的电流轨迹的图；和
- [0039] 图12描绘了可用于实现所公开的实施例的一个或多个方面和/或元件的计算机系统。

具体实施方式

[0040] 诸如蛋白质、DNA和酶之类的生物分子的检测可用于诊断领域。本公开提供了使用诸如纳米流体孔之类的通道来检测这样的分子的技术。另外还提供能够使用这种技术用于检测靶分子的感测器件。

[0041] 提供了一种用于在纳米孔内精确定位的官能化以实现用单个受体修饰的固态纳米孔进行随机感测的方法。该方法使用“夹在”固态膜之间的石墨烯纳米孔，然后它们“夹在一起”以形成如图2和图3所示的单个复合固态膜。此复合膜形成用于纳米孔的后续官能化的衬底，其通过官能化固态纳米孔内部的石墨烯纳米孔的边缘来实现，如图2所示。在另一个实施例中，多个石墨烯纳米孔夹在多层固态纳米孔之间，产生用于官能化的多个石墨烯纳米孔边缘。在一些实施例中，固态纳米孔的表面本身被官能化。纳米孔可以在孔对齐的情况下层叠石墨烯片和个体膜之前在石墨烯片和个体膜中形成；在这种情况下，石墨烯纳米孔和固态（例如 Si_xN_y ， SiO 等）纳米孔可以具有不同的尺寸，如图3所描绘的那样。在此方法中，可以在制造复合纳米孔之前或之后将石墨烯官能化。可替代地，可以首先将石墨烯和固态膜夹在一起，然后在复合膜中制造（钻取）纳米孔，随后官能化。在纳米孔制造之后通过将官能化分子结合（共价地或以其它方式）至石墨烯和可选地结合至固态（ Si_xN_y ， SiO 等）膜来进行官能化。复合纳米孔可以被构造成仅石墨烯边缘被暴露在纳米孔内部，或者部分石墨烯片突出到纳米孔中，暴露石墨烯片的表面的一部分。当仅暴露边缘时，官能化仅限于边缘，但当暴露石墨烯顶部表面和底部表面的部分时，顶部表面和底部表面然后可用于通过 π - π 堆叠进行官能化。当对边缘进行官能化时，石墨烯边缘可以首先被氧化，产生官能化位点，其然后可以用特定的官能化分子（例如受体，配体等）进行官能化。

[0042] 如图2所示，示例性纳米孔结构30包括单个石墨烯层32，该石墨烯层具有用受体F官能化的纳米孔。该石墨烯层位于 Si_xN_y （例如 Si_3N_4 ）膜34之间。在此示例性实施例中，在膜34内形成的纳米孔大于在石墨烯层32中形成的纳米孔。纳米孔由包含电解质溶液的贮存器36来界定。如上所述，电极28、29被提供在贮存器内由固态膜34和石墨烯层32形成的复合膜的每侧上，使得能够通过纳米孔移位。

[0043] 图3示出了复合纳米孔结构40，其具有在包含纳米孔的固态电介质膜34之间分层的三个石墨烯纳米孔。（在图2中使用的相同的附图标记用于表示类似的元件。）在该实施例中，石墨烯层32中的两个以及固态膜34中的一个被官能化。受体分子F可以相同或者可以不同。应当注意，在该实施例中在由复合膜形成的纳米孔内的特定位置处存在多个用于官能化的位置。

[0044] 在图4中示意性地示出了复合纳米孔器件50,其在由石墨烯层32的位置所确定的精确控制的位置处用两个不同的受体52、54被官能化。在该示例性器件中,石墨烯层32限定多个纳米孔。结合位点在由石墨烯层32和邻接的固态膜34形成的复合膜所限定的纳米孔内的已知位置处。因此,取决于诸如纳米孔内靶分子(或其他大分子)的存在或不存在、靶分子与第一类型受体的结合、或靶分子与第二类型受体的结合之类的因素,获得不同的电流轨迹。如图4的顶部所示,靶分子已经通过器件50,而未与其中的任何受体52、54结合。这样的移位事件导致使用如上关于图1所述的检测系统获得的在左上方示出的电流轨迹。当分子56与受体54结合时,获得不同的电流轨迹,如图4中所描绘的中间移位事件所示。通过图4所示的其中分子56与受体52结合的底部移位事件获得第三种类型的电流轨迹。

[0045] 在一个或多个实施例中,将电压施加到所选的石墨烯层以促进结合事件。因此,石墨烯层可以起到石墨烯纳米孔电极的作用,其用于控制纳米孔内的分子在所需(官能化)区域处的运动。下文进一步解释的这种技术增加了靶分子结合的可能性并允许更长时间地研究分子与靶受体的相互作用。

[0046] 比如如图2所示的仅包括单个受体的复合纳米孔器件促进单分子的精确检测。这样的器件避免沿着纳米孔轴的多个不可控受体,从而避免随后的多个结合事件。从这样的器件产生的电流对于分析而言是简单又直接的,并提供了一种方法来研究靶生物分子与受体的关联和解除关联动力学。仅具有两种不同移位情况的机会——其中一种是分子结合到纳米孔内部的结合位点,而另一种是不发生这种结合——允许可靠且快速地解译移位数据。相比之下,现有技术器件的移位数据的解译可能是非常耗时、复杂和不确定的,因为在纳米孔内具有多个结合位点导致多个结合事件的可能性。

[0047] 在一个或多个实施例中,复合纳米孔结构在选定位置的圆周上(即石墨烯纳米孔)沿着纳米孔轴被官能化。这样的结构,虽然包括多个受体官能化,但是仅允许单个结合事件。如果石墨烯纳米孔仅包括单个结合位点,则由于受体和靶分子的取向的可变性,可能错过生物分子与受体的结合。通过沿着特定位置的圆周用多个受体官能化纳米孔,结合的概率通过在仅允许单个结合事件的同时避免由取向引起的问题而被增强。纳米孔的内表面可以包括功能层,该功能层是用于对纳米孔进行官能化的涂层(即,考虑到特定目的而选择的纳米孔的涂层),并且功能层可以被选择或配置为在移位期间与预定的分子相互作用。通常,官能化层作为纳米器件制造工艺中的一个步骤而被直接附接到纳米孔表面。这通过使用合适的溶剂(例如水)中的官能化分子填充贮存器来实现。官能化分子通常由三个组分组成:结合基团结合到链接体,其继而结合到官能团。当官能化分子在孔润湿期间扩散到纳米孔中时,结合基团通过定向自组装过程将官能化分子共价结合到纳米孔表面。链接体和官能团然后朝向孔中心延伸到孔中并形成功能层。在操作中,在与受体解除结合后,靶向分子将只是通过纳米孔而不是与另一受体结合。以这种方式使用多个受体增加了结合概率而不引起多于单个结合事件。

[0048] 应当理解,上述器件和制造它们的方式促进了纳米孔内的结合位点的精确定位。邻接石墨烯纳米孔的可用结合位点非常有限。如所述的包括位于复合固态结构内的纳米孔的石墨烯片在通过在石墨烯层之间沉积选定厚度的电绝缘层来控制的位置处提供隔离的结合位点。具有纳米孔内结合位点的确切位置的完全知识促进了有效的分子检测和研究。

[0049] 具有优良的电子传输性能的石墨烯可以进一步用作经由隧穿电流的分子检测器。

当带电分子通过石墨烯纳米孔时,分子上的电荷吸引或排斥石墨烯片中的附近电子,导致整个石墨烯片内的电子的整体重排或移动。隧穿电流允许将石墨烯纳米孔视为测量带电分子通过石墨烯纳米孔的电极。此外,当多种分子类型(例如多个蛋白质和/或配体)通过石墨烯纳米孔移位时,它们通常将表现出不同的隧穿电流。类似地,相同分子(例如蛋白质)将基于例如其构象或其相对于纳米孔的取向而表现出不同的隧穿电流。

[0050] 现在参考图5和图6,以石墨烯和固态膜的堆叠形成纳米孔。如图5所示,示例性复合纳米孔结构由堆叠在一起的交替的石墨烯片62和固态膜64来形成。在示例性方法中,纳米孔在组装之前在石墨烯片和固态膜中形成并且在组装期间进行对准。图6示意性地示出了具有相关联的贮存器66、67、支撑块68和电解质溶液的所得复合纳米孔结构60。在该实施例中,与石墨烯片相关联的受体的使用是可选的,因为石墨烯片62可以被用作电极传感器。电流表26电连接到石墨烯片62以检测复合纳米孔的石墨烯部分内的隧穿电流的变化。然后将电极28、29插入复合纳米孔任一侧的贮存器66、67中,以建立跨复合膜的电势,使得带电靶分子移动通过纳米孔。使用电连接到电极的适当仪器测量通过纳米孔的离子电流。在一些实施例中,金属电极电连接到石墨烯片以便于连接到检测装置,用于当带电的靶分子移动通过纳米孔的内部中的特定位置时检测隧穿电流。电压源可选地电连接到石墨烯层以使得能够捕获带电分子。

[0051] 多电极固态纳米孔分析方法使用一个或多个所公开的器件是可能的,该方法允许同时测量通过纳米孔的离子电流和指示多个分子同时通过纳米孔的进程的多个隧穿电流。如图5和图6所示,示例性器件60包括沉积到N-1个固态膜上的N个石墨烯片,然后其被堆叠以形成单个复合固态膜。在一些实施例中,该复合膜形成用于随后制造纳米孔的衬底,导致具有N层石墨烯-纳米孔电极的纳米孔。在其他实施例中,纳米孔在组装之前在石墨烯片和膜中形成。

[0052] 当分子通过此多电极纳米传感器时,复合离子电流信号测量纳米孔中的分子的总数——或者至少测量在纳米孔中的分子的存在——并且石墨烯电极在空间上跟踪纳米孔中的个体分子的进程,如图7所示。图7示出了移位多电极纳米流体传感器器件的三电极(包括石墨烯片62的三个石墨烯电极)示例的纳米孔的六个靶分子的理想化的电流轨迹与时间,包括使用定位于刚好在纳米孔外部的贮存器区域中的电极通过纳米孔(复合)的复合电流,来自石墨烯电极(电极1至电极3)的三个隧穿电流和归因于六个分子的六个计算出的离子电流。六个隧穿电流事件被识别(a-f)。当分析物的浓度或孔的厚度大时,或者孔径宽时,孔可以同时被多个分子占据,或者可以发生靶分子的同时进入/离开,导致非常复杂的离子电流特征。通过孔的离子电流不与纳米孔内部的分子数成比例。因此,使用常规纳米孔离子电流不可能识别这样的事件以从复合信号中辨别个体移位事件。使用多电极纳米流体器件的本文所公开的方法可以通过分析在各个电极处的复合离子电流和隧穿电流来准确地计算孔内的分子的进入/离开、分子数量及其在纳米孔内的位置和速度。

[0053] 本文提供了一种用于从复合离子信号和隧穿电流信号的组合估计个体分子的个体电流信号的方法。当通过纳米孔的相对侧上的贮存器中的电极检测到的通过纳米孔的复合离子电流由于纳米孔中分子的存在而减少时,监测和分析来自石墨烯电极的隧穿电流以跟踪进入、穿过和离开纳米孔的移动;隧穿电流事件对应于在图7A中的电极电流轨迹中看到的“闪烁”。复合离子电流将隧穿电流事件进行归组,然后在组中进行分析以确定与复合

离子电流和隧穿电流事件一致的分子移位电流。为此,在每个组内,受到没有路径会对应于时间上向后移动的分子并且所有事件必须发生在一条且仅一条路径的约束,在所有经过移位事件的进入事件和离开事件之间绘制所有可能的路径。然后基于一些良好度量来选择分子移位电流的单个集合,例如对应于在穿过纳米孔时分子速度的最小可变性或者隧穿电流的幅度和形状的最小可变性的那个分子移位电流集合。例如,在一个实施例中,必须找到通过图7A中的第三组中的隧穿电流事件(a-f)的两个移位路径。在a和b处进入,经过c和d,并在e和f处离开。通过分子不能在时间上向后移动的约束,可以消除两个可能性(a-d-e和b-d-e),这意味着一个路径必须通过c和e,另一个必须经过d和f。这留下两种可能的组合:a-c-e和b-d-f,或a-d-f和b-c-e。路径a-c-e和b-d-f对应于恒定速度的路径(尽管它们的恒定速度不同),而路径a-d-f和b-c-e在它们移位通过纳米孔时具有相当大的可变性。因此,在该示例性实施例中选择a-c-e和b-d-f。图7B中提供的流程图示出了在获得和处理图7A中所示的数据中的示例性步骤。

[0054] 该方法的一些实施例还包括使用不同的隧穿电流签名来在纳米孔内的不同分子类型之间进行区分,以及在相对于同一分子的纳米孔的不同构象或取向之间进行区分。隧穿电流具有指向特定生物分子的特征形式。这种感测技术在本领域中称为“识别隧穿”。在本领域中已经描述了使用官能化电极来询问单分子。

[0055] 当例如蛋白质之类的生物分子通过纳米孔时,可发生构象变化(例如作为其与另一化合物或配体的相互作用的结果)或取向。如果这些变化小,则不能使用常规的SiN纳米孔离子电流检测这些变化。这样的构象变化可以对它们的结合位点及其与配体(可能的药物)的相互作用具有深远的影响。因此,识别这样的构象变化会是非常重要的,并且是生物传感应用中的主要挑战。本文公开的多电极器件和方法可以检测纳米孔内部的蛋白质/分子中的这种构象变化。当蛋白质分子经过孔时,沿着孔的石墨烯纳米孔电极被用来测量由蛋白质调节的隧穿电流。由于这些电流非常敏感,它们可以检测纳米孔内部的分子中的任何构象变化。隧穿电流中的这些变化反映在电极内的隧穿电流的大小和形状中。最近已经发现,由于其有限的灵敏度,常规的SiN纳米孔离子电流在检测小蛋白质分子方面效率低。因为隧穿电流非常敏感,所以石墨烯纳米孔(电极)可以检测这样的小分子。因此,多电极器件和相应的分析方法允许同时检测纳米孔内的小蛋白质。

[0056] 随着纳米孔内部的电场沿着孔轴变化,经过孔的分子可以在沿着孔的不同位置处具有不同的速度。了解孔内部的蛋白质运动/速度在一些生物传感应用中也非常重要。通过监测作为时间的函数的纳米孔内部各个位置处的隧穿电流,并计算纳米孔内个体分子的轨迹,在一个或多个实施例中执行沿着孔的不同位置处的分子速度的计算。如上所述,石墨烯电极进一步被用于控制分子在纳米孔内的位置,类似于美国专利第8,003,319号中的金属电极的使用,该专利通过引用并入本文。在一些实施例中,控制纳米孔内部的分子的运动对于研究其与孔内部的其它分子的相互作用是非常重要的。在纳米孔表面上没有任何官能化的纳米孔对孔内部的分子运动提供有限的控制。通过控制通过向石墨烯施加电势所产生的电场,也可以控制分子通过纳米孔的进程,例如减慢/加速或者甚至在沿着孔的期望区域中捕获分子。在特定区域中捕获分子具有允许分子与纳米孔内部的其它分子相互作用和更长时间观察的额外优点。如图6所示,两个石墨烯片62可选地连接到电压源,而中间石墨烯片连接到地。中间石墨烯层可以被官能化或可以不被官能化。在操作中,产生阱,该阱捕获

上部和下部石墨烯片62之间的带电分子(例如蛋白质分子)。

[0057] 在使用纳米孔的蛋白质表征中的主要障碍之一是在给定时间内的低事件率。通常,在膜中钻出单个纳米孔,并且当分子经过孔时分子被离子电流表征,例如上文关于图1所描述的那样。因为仅有一个纳米孔,所以分子移位是相当罕见的事件。克服该低速率的一种方法是在膜中利用多个孔。例如,下面在图8-图10中示出的9个纳米孔可以使移位速率增加大约九倍。在不存在石墨烯片的情况下,器件/方法将具有显著的缺点,因为它们将仅测量通过孔的总离子电流,使得非常难以(如果不是不可能的话)计数移位孔或者内部的分子数目及其表征。由于分子同时进入、移位并离开不同的孔,总离子电流的特征是连续的,而不是足够阶梯式地检测事件并表征分子。

[0058] 如下所示和描述的用于检测多孔纳米孔阵列中的单分子移位事件的基于石墨烯的系统和方法促进了诸如蛋白质表征之类的过程。如图8所示,示例性器件80包括固态膜84和细长石墨烯带82的交替层,每个包含多个纳米孔85、83,当膜84和带82彼此堆叠时,所述多个纳米孔85、83基本上同轴并且形成复合纳米孔,该复合纳米孔穿过固态膜和石墨烯带的交替层。在一些实施例中,包括每个石墨烯层的离散石墨烯带是矩形并且平行的。相邻层中的石墨烯带在方向上交替,垂直于上方和/或下方中石墨烯层的带进行延伸。每个石墨烯带相应地覆盖在邻接的石墨烯层中的多个石墨烯带之上。石墨烯层通过电介质固态膜84被电隔离。图8示出了一个实施例,包含两层(两层一对)石墨烯带的构造。图9示出了具有多对石墨烯层的另一示例性器件90。所装配的器件80、90包括复合纳米孔阵列;膜和石墨烯的交替层包括复合膜;纳米孔85、83包括复合纳米孔。石墨烯带82的布置促进电连接到带82的金属电极(未示出)或布线的形成和可达性。器件的整个圆周可用于形成必要的电极。相反,如果包括每个石墨烯层的带都在相同的方向上延伸,则电连接将仅在两个端部处是可能的。

[0059] 每个石墨烯带82用作能够检测带电分子通过穿过带的任何纳米孔的移位的电极。因为石墨烯带在层到层的方向上交替,所以将通过在方向上交替的带检测移位复合纳米孔的整个长度的带电分子。图10示出了对应于图8的复合纳米孔阵列,其中为了解释目的标记了每个电极(石墨烯层)和每个复合纳米孔。在该示例性图中,通过例如标记为A2的纳米孔从顶部向底部移位的任何带电分子将首先被电极A检测,然后被电极2检测。通过例如标记为C3的纳米孔从顶部到底部移位的另一个带电分子将首先被电极C检测,然后被电极3检测。

[0060] 然后将电极插入器件80、90的任一侧上的贮存器中,以建立跨复合膜的电势,其使得带电分子通过器件的纳米孔。每个贮存器与图8和图9中所示的示例性复合纳米孔器件80、90的所有九个复合纳米孔连通。贮存器电极和相关联的检测器测量通过纳米孔的组合的离子电流。附加(例如金属)电极被附接到石墨烯带以促进将石墨烯带连接到检测器26,检测器26在带电分子移动通过复合纳米孔的内部时检测隧穿电流。(虽然示出了多个检测器26,但是应当理解,在一些实施例中,可以采用单个检测器来接收来自多个石墨烯带的多路复用数据。)当分子通过该多电极纳米传感器器件80或90时,复合离子电流信号测量复合纳米孔中分子的总数,并且石墨烯电极在空间上跟踪每个复合纳米孔内的个体分子的进程。这些信号的组合使得能够检测通过复合纳米孔阵列的分子的数量。可以在器件制造期间调节固态膜84的厚度,以便保持这些复合纳米孔器件的尺寸和形状表征能力。例如,具体应用可能需要长度为至少50纳米的纳米孔以提供足够的移位时间并且包括至少三层石墨

烯。可以选择固态膜的厚度,使得实现所需的纳米孔长度和石墨烯层间隔。在一个或多个实施例中,石墨烯片彼此分离5至10纳米。

[0061] 图11示出了参考所标记的电极和纳米孔的、通过图10所示的组件的分子的理想化电流轨迹。“复合”轨迹表示由邻近组件的顶表面和底表面的贮存器中的电极所检测的离子电流。隧穿电流事件由包括石墨烯层的电极所指定的轨迹来指示。针对个体纳米孔识别与由传感器所检测的六个分子相对应的计算出的离子电流。

[0062] 本文参考图8-图11公开的基于石墨烯的多电极和多孔复合器件促进了单分子检测和表征。每个器件包含N个孔,这与常规单纳米孔膜相比使捕获率并且因此使事件率增加了大约N倍。除了检测分子的进入和离开,器件在空间上跟踪分子在每个孔中个体的运动。因此,该器件可以同时利用多个孔提供分子检测和表征的几个范例。改变复合纳米孔内的固态纳米孔的厚度可以增加器件在表征经过器件结构的多个层的分子中的通用性。在一个或多个实施例中,识别由多孔复合膜中的分子占据的纳米孔的步骤被执行。多孔器件可以进一步被用来在单个实验中通过不同地对纳米孔进行官能化来研究靶分子与不同受体的相互作用。不同受体的使用进一步同时实现了测试分子在单个器件中的表征。隧穿电流促进识别被分子占据的每个孔。

[0063] 如上文参考示例性实施例所讨论的,存在许多方法来制造石墨烯以形成石墨烯片或带,包括:1)机械剥离,其中使用胶带个体地提取石墨烯薄片;这个过程是不可扩展的,所以它对于商业制造目的而言被认为是不切实际的;2)液相剥离涉及将具有高表面张力的液体中的载碳材料(如石墨)悬浮,然后用声音轰击该悬浮液以提取石墨烯薄片;3)化学气相沉积(CVD)将包含碳的挥发性物质冷凝在铜表面上。然后将形成的石墨烯层剥离到另一衬底上;4)通过经由升华(蒸发固体)选择性地提取顶层中的硅原子,直接将石墨烯生长在碳化硅晶片上。在示例性结构中分离相邻石墨烯片的固态电介质膜也可以可选地由多个层本身组成。如下面更详细描述的那样,由于可应用的膜和石墨烯制造技术,这种多层膜的形成可能是必要的。

[0064] 选择的石墨烯制造工艺可以取决于针对复合结构的固态膜选择的电介质层。需要极高的温度(即超过600°C)以形成一些电介质层。这种高温可能破坏堆叠中先前沉积的石墨烯片,因此当形成多个绝缘电介质层时应当避免这种高温。例如,可以使用第一石墨烯制造技术将第一石墨烯电极(片或带)沉积到第一膜衬底上。因此,形成第一膜衬底所需的温度是不重要的,因为其在石墨烯沉积之前形成。然后使用低温沉积方法将第二电介质膜层沉积到第一石墨烯电极上,限制该第二电介质层的材料选择。取决于用于形成第二电介质层的材料的类型,然后使用第二石墨烯制造技术将第二石墨烯电极沉积到第二膜上等等。以下多膜制造方案描绘了结合两种不同石墨烯制造技术和低温电介质层沉积技术的多膜堆叠的示例性制造流程:1)使用化学气相沉积(CVD)将石墨烯片1沉积到SiN膜上;2)使用低原子层沉积(ALD)将氧化铝或氧化锆电介质层沉积在石墨烯片1上;3)使用机械剥离将石墨烯片2沉积到电介质层上。可替代地,膜制造工艺可能需要将膜层组成为包括两个或更多个子层。如果选择的电介质沉积方法不直接与石墨烯表面兼容,则这可能是必要的,或者如果所选择的石墨烯沉积方法不直接与电介质层表面兼容,则这也可能是必要的,或者二者兼而有之。在这种情况下,在沉积体电介质之前将中间电介质层沉积到石墨烯层上,或者在沉积随后的石墨烯层之前将中间电介质层沉积到体电介质层上。在这种情况下,一个单膜层

可以由体电介质层和至少一个中间电介质层组成。使用常规技术将金属电极沉积在石墨烯片上；沉积技术的选择应考虑上面讨论的温度限制。已知用于制造在石墨烯和电介质材料中达至少一百纳米直径的纳米孔的各种方法，包括TEM和He离子显微镜。

[0065] 为了实现器件功能，电介质层中的纳米孔位置需要与堆叠中的相应石墨烯片或带的位置对准。石墨烯片的每个子层包括需要与复合膜的其它层中的所有其他石墨烯片图案对准的特定横向平面内图案。换句话说，石墨烯片的光刻图案化可能是必要的，以使得各种片与上方或下方的其它石墨烯片具有选择的重叠。在一些实施例中，可以假定特定的石墨烯片与上方的相邻层重叠，但不与下方的相邻石墨烯片重叠。固态膜本身不显示平面内图案，并且因此不需要与其它器件特征或部件对准。在一个示例性实施例中，每个石墨烯片在特定石墨烯层中的位置借助于在该石墨烯片层中与单个石墨烯片一起生成的至少一个对准标记来限定和登记。随后的固态膜的沉积以如下这样的方式发生，使得来自石墨烯片的对准标记被携带在沉积的固态膜层上并且还在沉积的固态膜层中被重新创建。然后将另一随后的石墨烯片集合以相对于对准标记对准的方式沉积在该固态膜上。对所有后续的固态膜和石墨烯片层进行该过程以形成完全复合膜。然后，取决于选择要沉积的最后一个覆盖层，使用顶部固态膜或石墨烯片层上的对准标记来穿过整个复合膜钻出纳米孔。

[0066] 给定到目前为止的讨论并参考附图和所附的公开内容，提供了根据一个或多个实施例的用于在避免关于第一靶分子的多个结合事件的同时检测与第一靶分子相关联的移位事件的示例性方法。该方法包括：获得组件，所述组件包括由第一和第二固态膜34界定的第一石墨烯片32（例如，如图2所示的结构30或如图3所示的结构40）和延伸穿过石墨烯片和所述固态膜的每一个的纳米孔，所述纳米孔具有轴，所述石墨烯片相对于所述纳米孔轴定位在选定位置处。对第一靶分子具有选择性的一种或多种受体（例如受体F）仅与第一石墨烯片结合。这种布置在图2中示出。如果采用图3的实施例，其中在沿着纳米孔轴的不同位置处采用多种受体F，则所示的受体中只有一个对第一靶分子具有选择性。将电解质溶液引入纳米孔。跨纳米孔施加电势。诸如图2中示意性地示出的电极28、29被用于跨纳米孔施加电势。在示例性结构30、40之一中使用例如如图1所示的电流表26来检测通过纳米孔的离子电流。在其中靶分子在纳米孔内的特定位置处进行结合或者不发生结合的方法允许对获得的数据的可靠且快速的解译。在与受体解除结合后，靶分子将只是通过纳米孔的其余部分而没有进一步的结合事件。在一些实施例中，该方法还包括使用石墨烯片作为检测电极来检测第一石墨烯片内的隧穿电流的步骤。在一些实施例中，多个受体与石墨烯片结合。如上面所讨论的，通过对石墨烯片的内部圆周进行官能化以适应全部对靶分子具有选择性的多个受体，纳米孔的石墨烯部分仍然仅允许纳米孔内的单个结合事件，同时增强了靶分子的结合概率。在一些实施例中，仅石墨烯片的边缘被暴露给纳米孔。该方法然后可以进一步包括在结合一个或多个受体之前氧化石墨烯片的边缘的步骤。在一些实施例中，石墨烯片包括突出到纳米孔中的部分，如图2和图3所示，在这种情况下，暴露的石墨烯表面可以经由 π - π 堆叠而被官能化。

[0067] 还提供了用于同时测量通过纳米孔的离子电流和多个隧穿电流的示例性方法。该方法包括组件的使用，所述组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯片和延伸穿过石墨烯片和固态膜的纳米孔。包括这种石墨烯片62和固态膜64的示例性组件在图6中示出。将电解质溶液引入纳米孔中，并跨纳米孔施加电势。当使用例如位于纳米孔任一端的

贮存器中的电极28、29施加电势时,检测通过由纳米孔限定的流体通道的离子电流。此外,该方法包括与检测通过流体通道的离子电流的步骤同时地检测石墨烯片62内的多个隧穿电流。该方法还可以包括从检测到的通过纳米孔的离子电导和检测到的多个隧穿电流的组合中估计个体分子的个体电流信号的步骤。这种估计可以包括从检测到的多个隧穿电流获得隧穿电流事件并分析隧穿电流事件以获得与检测到的通过流体通道的离子电导和隧穿电流事件两者一致的分子移位电流。以上参考图6和图7讨论了示例性估计技术。例如,可以通过基于诸如通过纳米孔的分子速度、隧穿电流的大小或隧穿电流的形状之类的至少一个标准的最小可变性来选择分子移位电流的单个集合从而促进估计。该方法的一些实施例还包括通过监测作为时间的函数的隧穿电流来确定纳米孔内的分子速度的步骤。

[0068] 示例性系统包括组件,所述组件包括与多个固态膜处于交替顺序中的多个石墨烯层。一个或多个纳米孔延伸穿过石墨烯层和固态膜。图5所示的示例性结构示出了延伸穿过多个石墨烯层62和多个固态膜64的一个纳米孔,而图8和图9所示的示例性结构80、90包括分别延伸穿过石墨烯带82和固态膜84的多个纳米孔83、85。多个石墨烯层电连接到一个或多个检测器26,所述检测器26被配置用于检测在纳米孔内的特定位置处与带电分子相关联的石墨烯层62内的隧穿电流。系统的一些实施例还包括延伸穿过石墨烯层和固态膜的多个纳米孔,比如图8和图9所示。在一些实施例中,每个石墨烯层包括多个离散的石墨烯带82,每个离散的石墨烯带包括延伸贯穿其中的多个纳米孔83。多个石墨烯带电连接到一个或多个检测器,所述检测器用于检测石墨烯带内的隧穿电流。在一些实施例中,包括第一石墨烯层的石墨烯带82具有在第一方向上延伸的纵向轴,并且包括第二石墨烯层的石墨烯带具有在与第一方向相交且可能垂直于第一方向的第二方向上延伸的纵向轴。图8-图10示出了从层到层沿不同方向延伸的石墨烯带的示例性实施例。该系统还可以包括纳米孔内的电解质溶液和用于检测通过纳米孔的离子电流的装置(例如连接到电流表或其他检测器的电极,该其它检测器检测离子电流或可转换为离子电流的电参数)。在一个或多个实施例中,每个石墨烯层之间的间隔小于10纳米。

[0069] 示例性结构包括与多个电介质固态膜84处于交替顺序中并且与之相邻的多个石墨烯层,每个石墨烯层包括多个离散的石墨烯带82。多个纳米孔83、85延伸穿过石墨烯层和电介质固态膜。在该结构的示例性实施例中,如图8和图9所示,包括第一石墨烯层的石墨烯带82具有在第一方向上延伸的纵向轴,并且包括第二石墨烯层的石墨烯带具有在垂直于第一方向的第二方向上延伸的纵向轴。每个石墨烯带82可以包括与电介质固态膜中的纳米孔85对准的多个纳米孔83。

[0070] 示例系统和制造品详情

[0071] 本发明的各方面可以采取完全硬件实施例、完全软件实施例(包括固件、驻留软件、微代码等)或者组合软件和硬件方面的实施例的形式,其可以全部在本文中被统称为“电路”、“模块”或“系统”。此外,本发明的各方面可以采取体现在一个或多个计算机可读介质中的计算机程序产品的形式,该计算机可读介质中嵌入有计算机可读程序代码。

[0072] 本发明的一个或多个实施例或其元件可以以装置的形式来实现,该装置包括存储器和至少一个处理器,该处理器耦合到存储器并且可操作于执行示例性方法步骤,示例性方法步骤例如测量离子电流(复合和隧道),在受体分层通道上产生电势,向石墨烯电极施加电压以控制纳米孔内分子的运动,控制电解质溶液和含有潜在分析物的样品的混合,

显示感兴趣的电参数,并且存储与通道内的电导率和通道的选定部分(纳米孔)有关的数据。可以使用处理器和存储器来促进使用同一器件上的阵列的多个材料的复用检测。也可以通过这种装置来控制用于制造能够执行本文所公开的技术的系统的制造步骤。

[0073] 一个或多个实施例可以利用在通用计算机或工作站上运行的软件。参考图12,这样的实现可以采用例如处理器1202、存储器1204以及例如由显示器1206和键盘1208形成的输入/输出接口。本文中所使用的术语“处理器”旨在包括任何处理设备,比如例如包括CPU(中央处理单元)和/或其他形式的处理电路的处理设备。此外,术语“处理器”可以指多于一个的个体处理器。术语“存储器”旨在包括与处理器或CPU相关联的存储器。此外,本文中所使用的短语“输入/输出接口”旨在包括例如用于将数据输入到处理单元的一个或多个机构(例如,鼠标),以及用于提供与处理单元相关联的结果的一个或多个机构(例如,打印机)。处理器1202、存储器1204和诸如显示器1206和键盘1208的输入/输出接口可以例如经由作为数据处理单元1212一部分的总线1210而进行互连。例如经由总线1210的适当的互连也可以被提供给网络接口1214比如网卡以及被提供给媒体接口1216比如磁盘或CD-ROM驱动器,网络接口可以被提供以与计算机网络进行接口连接,媒体接口可以被提供以与媒体1218进行接口连接。可以通过网络或其它合适的接口、模数转换器等提供到微电流表、控制电解质溶液和样品混合或流动的阀(未示出)、和/或电流源等的接口。

[0074] 因此,如本文所述的包括用于执行本发明的方法的指令或代码的计算机软件可以被存储在一个或多个相关联的存储器设备(例如,ROM、固定或可移动存储器)中,并且当准备就绪时被使用,部分或全部被加载(例如,到RAM中)并且由CPU实现。这样的软件可以包括但不限于固件、常驻软件、微代码等。

[0075] 适合于存储和/或执行程序代码的数据处理系统将包括通过系统总线1210直接或间接耦合到存储器元件1204的至少一个处理器1202。存储器元件可以包括在程序代码的实际执行期间采用的本地存储器、大容量存储器以及高速缓冲存储器,高速缓存存储器提供至少一些程序代码的临时存储以便减少在实现期间必须从大容量存储器获取代码的次数。

[0076] 输入/输出或I/O设备(包括但不限于键盘1208、显示器1206、指向设备等)可以直接(例如经由总线1210)或通过中间I/O控制器(为清楚起见省略)被耦合到系统。

[0077] 诸如网络接口1214之类的网络适配器也可以被耦合到系统,以使数据处理系统能够通过中间私有或公共网络而变得被耦合到其他数据处理系统或远程打印机或存储设备。调制解调器、电缆调制解调器和以太网卡只是当前可用类型的网络适配器中的一些。

[0078] 如本文中包括权利要求书所使用的,“服务器”包括运行服务器程序的物理数据处理系统(例如,如图12所示的系统1212)。应当理解,这种物理服务器可以包括或可以不包括显示器和键盘。

[0079] 本发明可以是系统、方法和/或计算机程序产品。计算机程序产品可以包括在其上具有用于使处理器执行本发明各方面的计算机可读程序指令的计算机可读存储介质(或媒体)。

[0080] 计算机可读存储介质可以是保持和存储由指令执行设备使用的指令的有形设备。计算机可读存储介质例如可以是一——但不限于——电存储设备、磁存储设备、光存储设备、电磁存储设备、半导体存储设备或者上述的任意合适的组合。计算机可读存储介质的更具体的例子(非穷举的列表)包括如下:便携式计算机盘、硬盘、随机存取存储器(RAM)、只

读存储器 (ROM)、可擦式可编程只读存储器 (EPROM或闪存)、静态随机存取存储器 (SRAM)、便携式压缩盘只读存储器 (CD-ROM)、数字多功能盘 (DVD)、记忆棒、软盘、机械编码设备、例如其上存储有指令的打孔卡或凹槽内凸起结构、以及上述的任意合适的组合。这里所使用的计算机可读存储介质不被解释为瞬时信号本身,诸如无线电波或者其他自由传播的电磁波、通过波导或其他传输媒介传播的电磁波 (例如,通过光纤电缆的光脉冲)、或者通过电线传输的电信号。

[0081] 这里所描述的计算机可读程序指令可以从计算机可读存储介质下载到各个计算/处理设备,或者通过网络、例如因特网、局域网、广域网和/或无线网下载到外部计算机或外部存储设备。网络可以包括铜传输电缆、光纤传输、无线传输、路由器、防火墙、交换机、网关计算机和/或边缘服务器。每个计算/处理设备中的网络适配卡或者网络接口从网络接收计算机可读程序指令,并转发该计算机可读程序指令,以供存储在各个计算/处理设备中的计算机可读存储介质中。

[0082] 用于执行本发明操作的计算机程序指令可以是汇编指令、指令集架构 (ISA) 指令、机器指令、机器相关指令、微代码、固件指令、状态设置数据、或者以一种或多种编程语言的任意组合编写的源代码或目标代码,所述编程语言包括面向对象的编程语言—诸如 Smalltalk、C++等,以及常规的过程式编程语言—诸如“C”编程语言或类似的编程语言。计算机可读程序指令可以完全地在用户计算机上执行、部分地在用户计算机上执行、作为一个独立的软件包执行、部分在用户计算机上部分在远程计算机上执行、或者完全在远程计算机或服务器上执行。在涉及远程计算机的情形中,远程计算机可以通过任意种类的网络—包括局域网 (LAN) 或广域网 (WAN) —连接到用户计算机,或者,可以连接到外部计算机 (例如利用因特网服务提供商来通过因特网连接)。在一些实施例中,通过利用计算机可读程序指令的状态信息来个性化定制电子电路,例如可编程逻辑电路、现场可编程门阵列 (FPGA) 或可编程逻辑阵列 (PLA),该电子电路可以执行计算机可读程序指令,从而实现本发明的各个方面。

[0083] 这里参照根据本发明实施例的方法、装置 (系统) 和计算机程序产品的流程图和/或框图描述了本发明的各个方面。应当理解,流程图和/或框图的每个方框以及流程图和/或框图中各方框的组合,都可以由计算机可读程序指令实现。

[0084] 这些计算机可读程序指令可以提供给通用计算机、专用计算机或其它可编程数据处理装置的处理器,从而生产出一种机器,使得这些指令在通过计算机或其它可编程数据处理装置的处理器执行时,产生了实现流程图和/或框图中的一个或多个方框中规定的功能/动作的装置。也可以把这些计算机可读程序指令存储在计算机可读存储介质中,这些指令使得计算机、可编程数据处理装置和/或其他设备以特定方式工作,从而存储有指令的计算机可读介质则包括一个制造品,其包括实现流程图和/或框图中的一个或多个方框中规定的功能/动作的各个方面的指令。

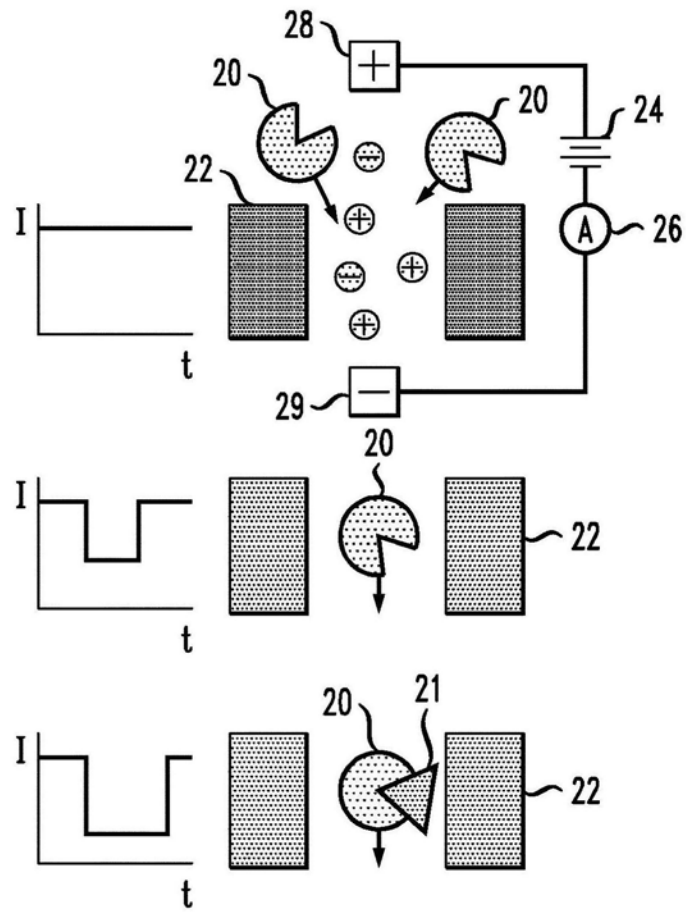
[0085] 也可以把计算机可读程序指令加载到计算机、其它可编程数据处理装置或其它设备上,使得在计算机、其它可编程数据处理装置或其它设备上执行一系列操作步骤,以产生计算机实现的过程,从而使得在计算机、其它可编程数据处理装置、或其它设备上执行的指令实现流程图和/或框图中的一个或多个方框中规定的功能/动作。

[0086] 附图中的流程图和框图示出了根据本发明的多个实施例的系统、方法和计算机程

序产品的可能实现的体系架构、功能和操作。在这点上,流程图或框图中的每个方框可以代表一个模块、程序段或指令的一部分,所述模块、程序段或指令的一部分包含一个或多个用于实现规定的逻辑功能的可执行指令。在有些作为替换的实现中,方框中所标注的功能也可以以不同于附图中所标注的顺序发生。例如,两个连续的方框实际上可以基本并行地执行,它们有时也可以按相反的顺序执行,这依所涉及的功能而定。也要注意的,框图和/或流程图中的每个方框、以及框图和/或流程图中的方框的组合,可以用执行规定的功能或动作的专用的基于硬件的系统来实现,或者可以用专用硬件与计算机指令的组合来实现。

[0087] 本文所使用的术语仅是为了描述特定实施例的目的,并不意在限制本发明。如本文所使用的,除非上下文另有明确说明,否则单数形式“一”,“一个”和“该”也旨在包括复数形式。还应当理解,当在本说明书中使用时,术语“包括”和/或“包含”指定所述特征、整体、步骤、操作、元件和/或部件的存在,但不排除一个或多个其它特征、整体、步骤、操作、元件、组件和/或其组合的存在或添加。

[0088] 在下面的权利要求中的所有装置或步骤加功能元件的对应结构、材料、动作和等同物旨在包括用于与具体要求保护的其他要求保护的元件组合地执行功能的任何结构、材料或动作。已经出于说明和描述的目的给出了本发明的说明书,但是其并不旨在穷举或者以所公开的形式限制本发明。在不脱离本发明的范围的情况下,许多修改和变化对于本领域的普通技术人员将是显而易见的。选择和描述实施例是为了最好地解释本发明的原理和实际应用,并且使得本领域的其他普通技术人员能够理解本发明的各种实施例,其具有适合于预期的特定用途的各种修改。



现有技术

图1

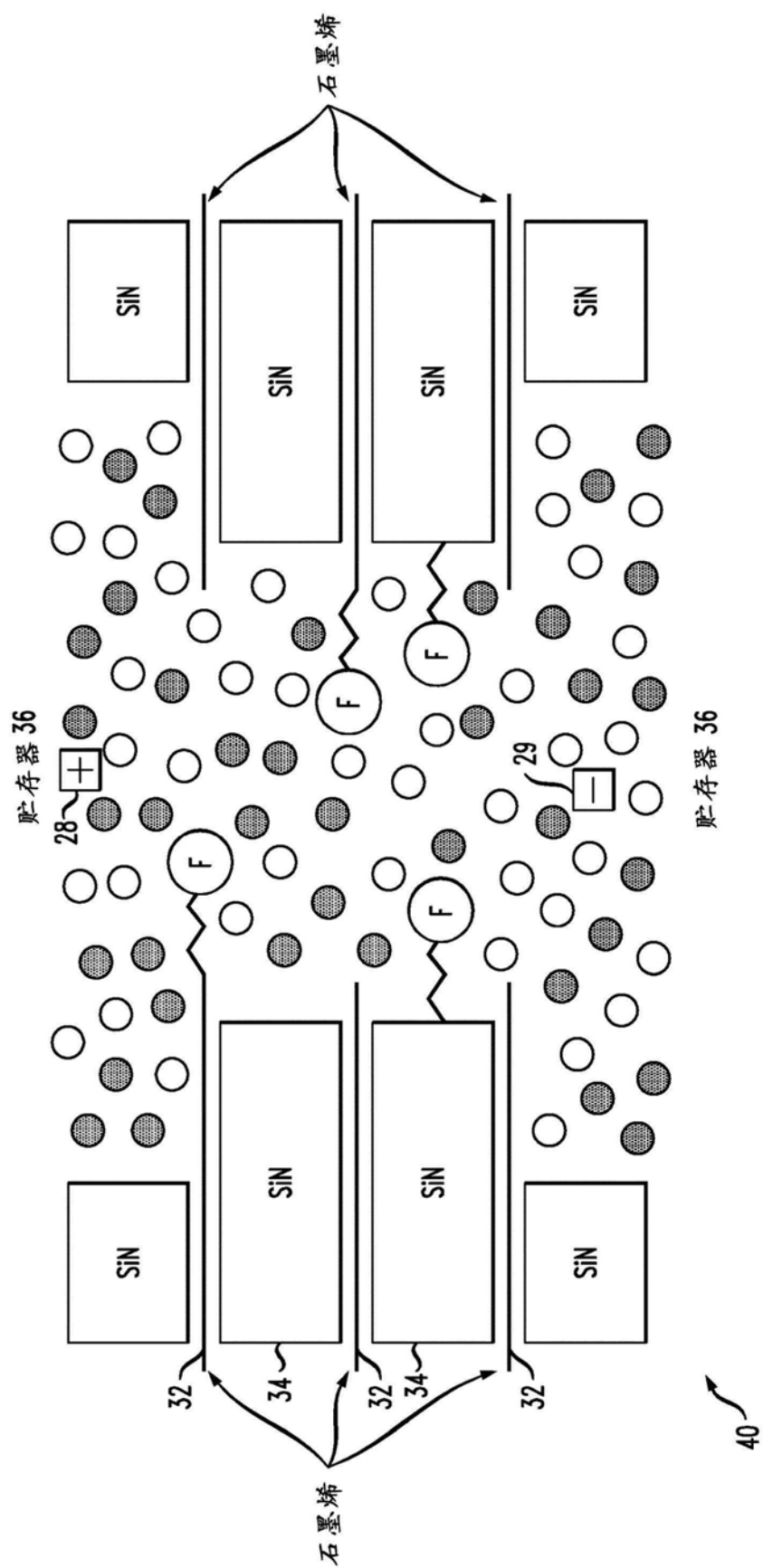


图3

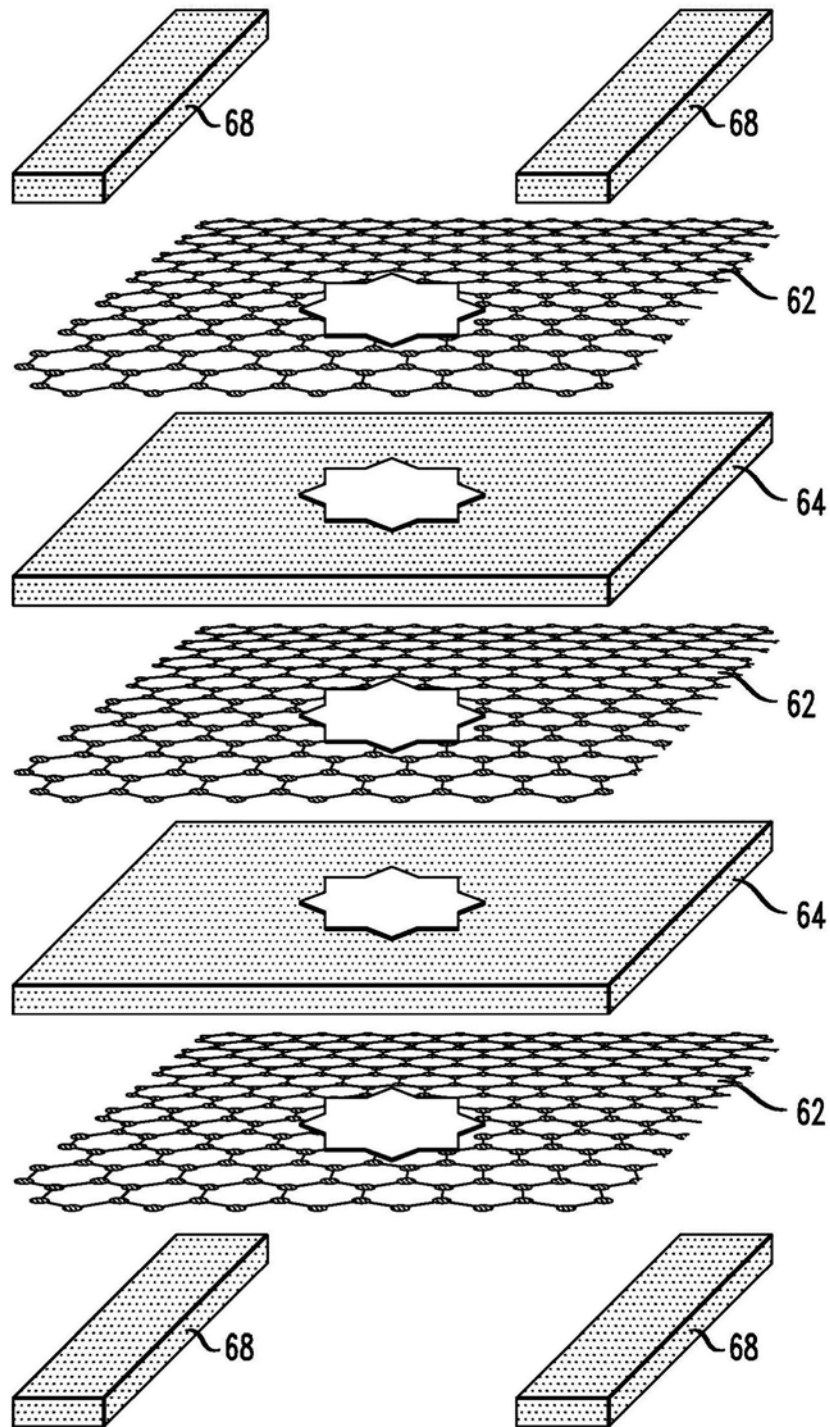


图5

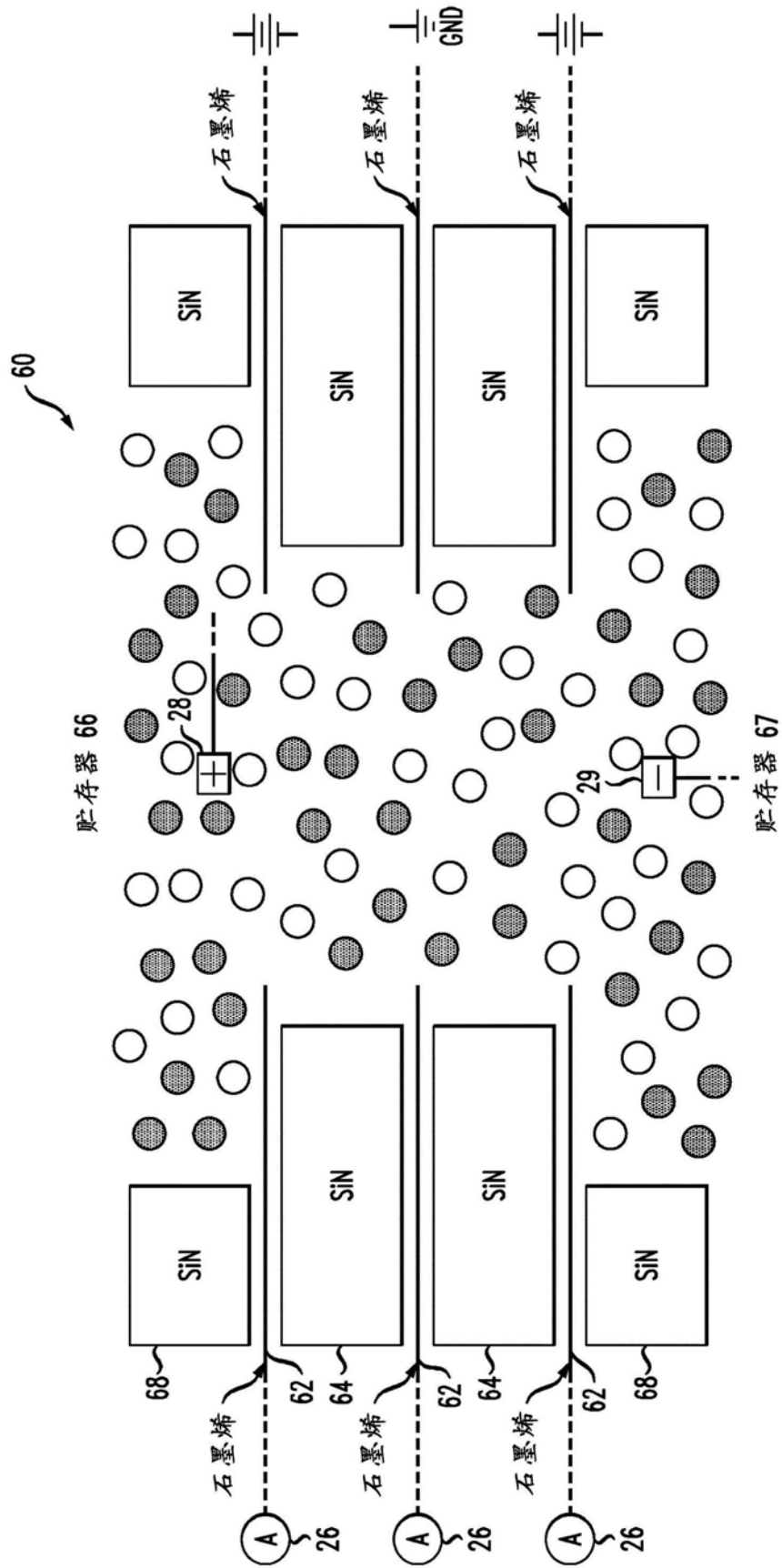


图6

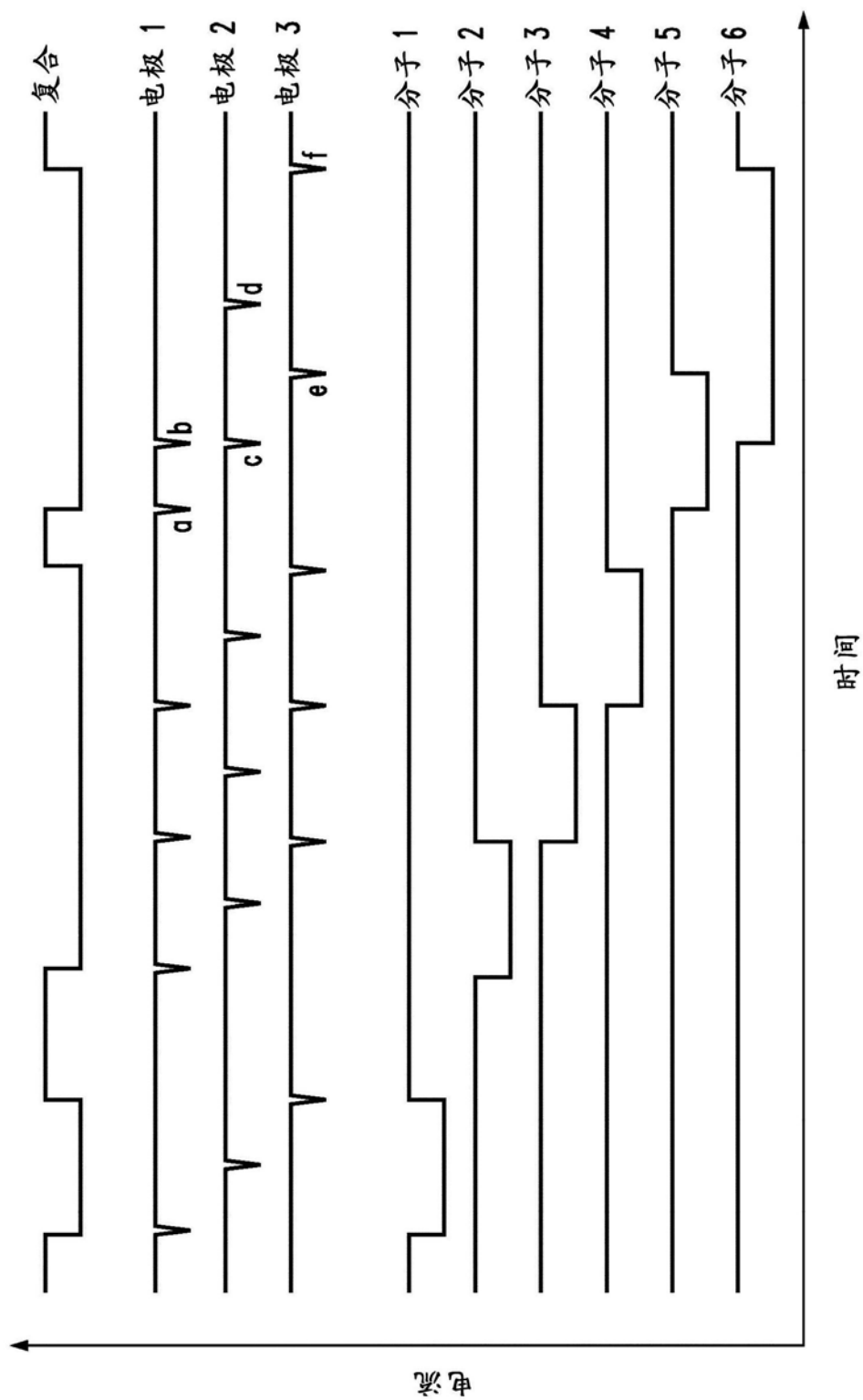


图7A

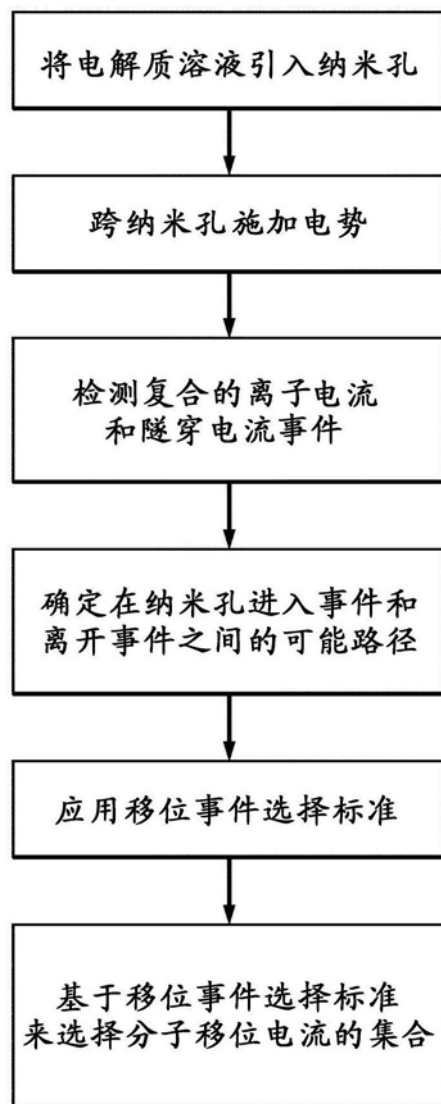


图7B

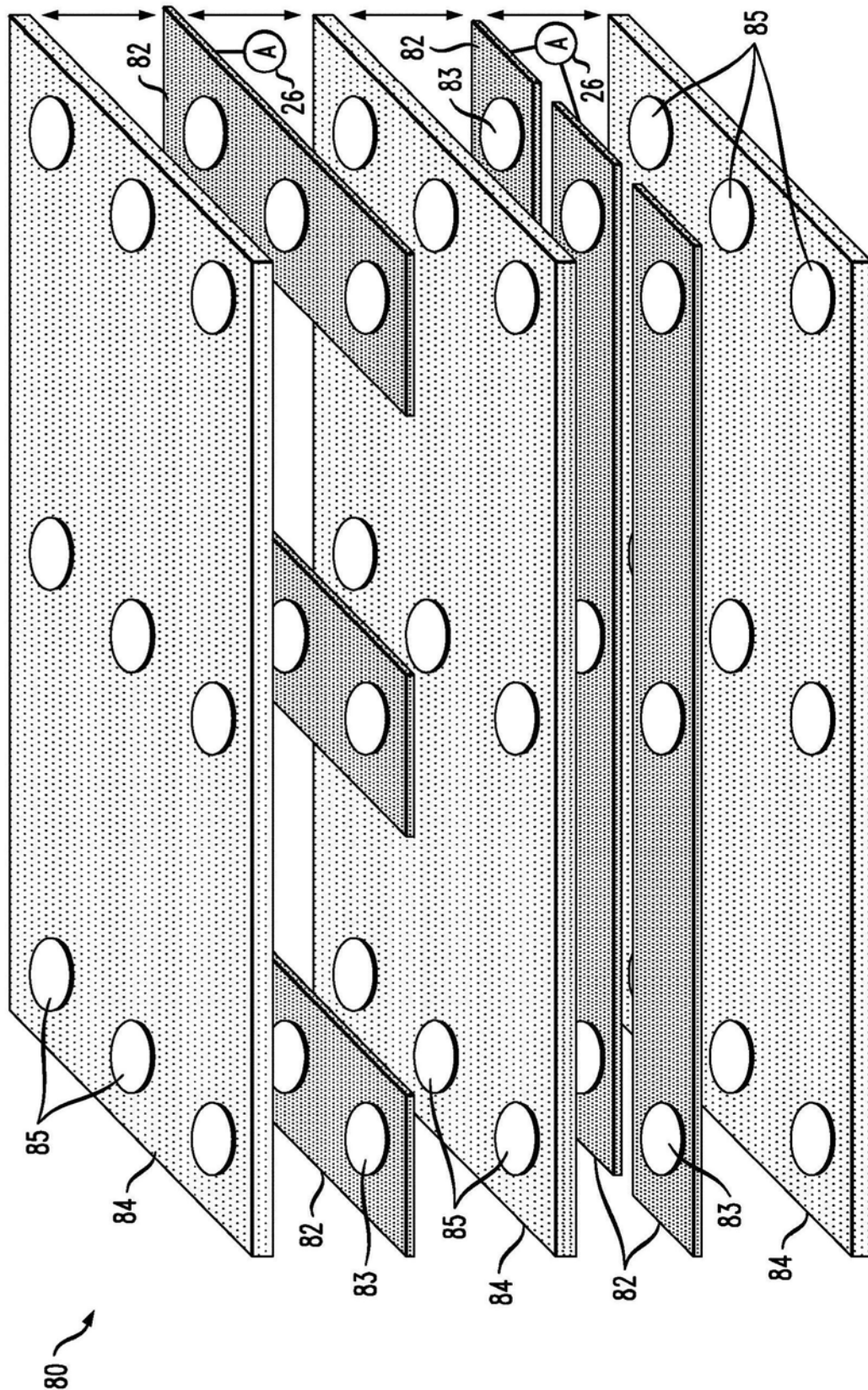


图8

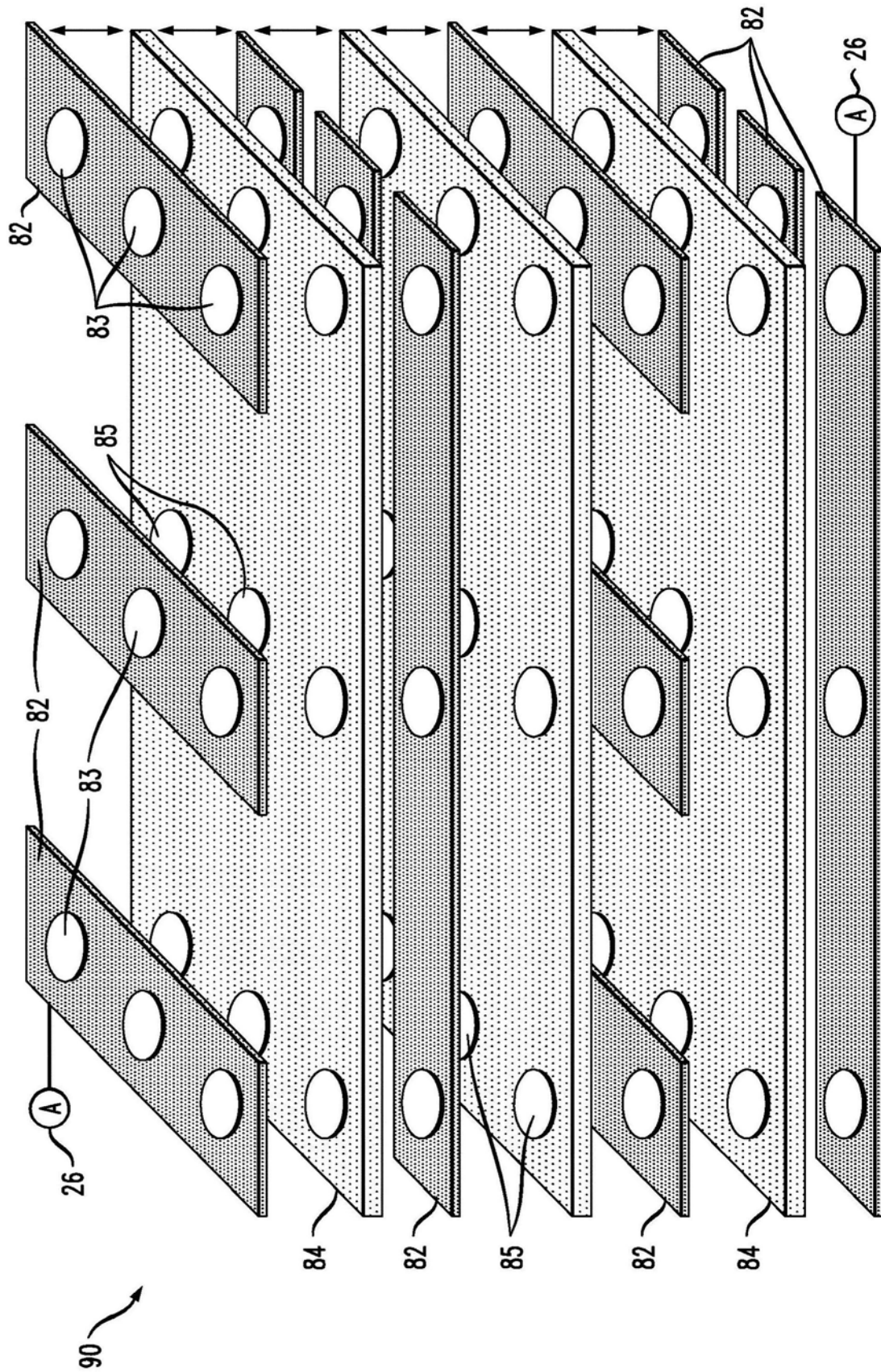


图9

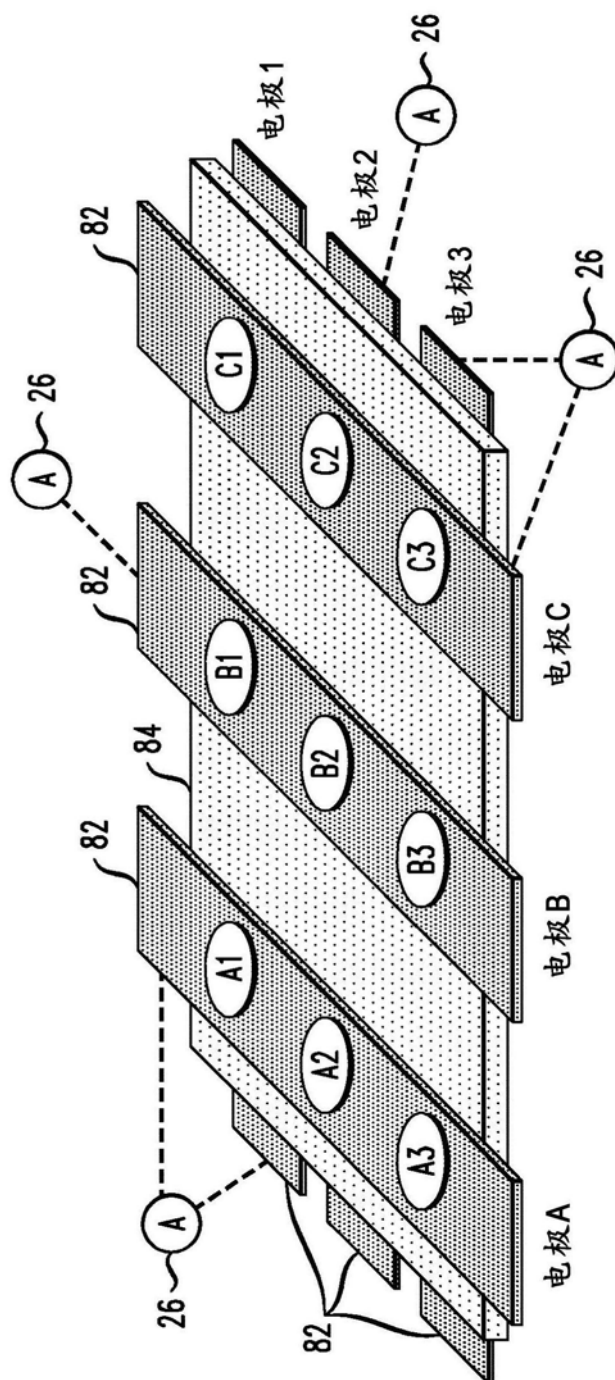


图10

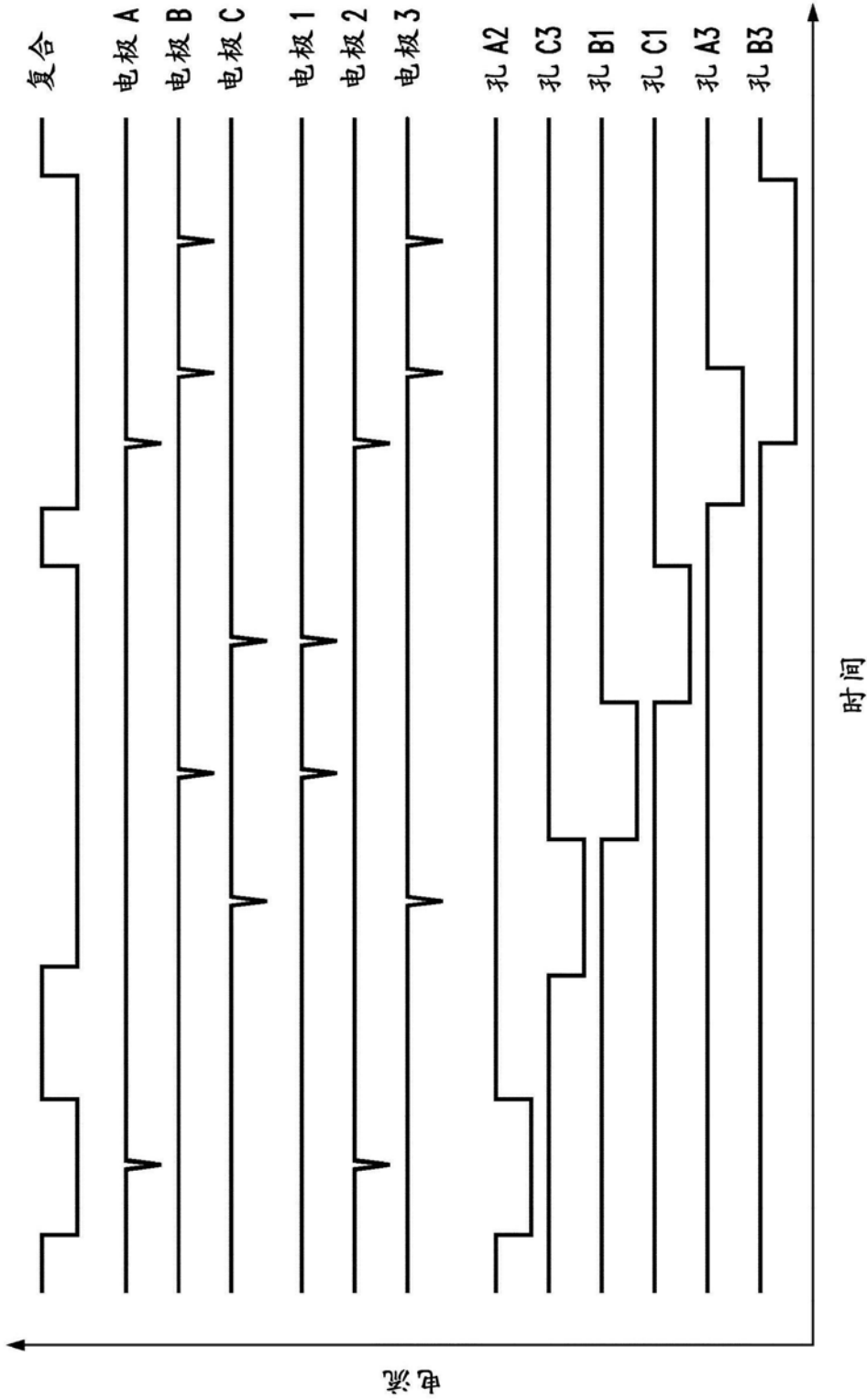


图11

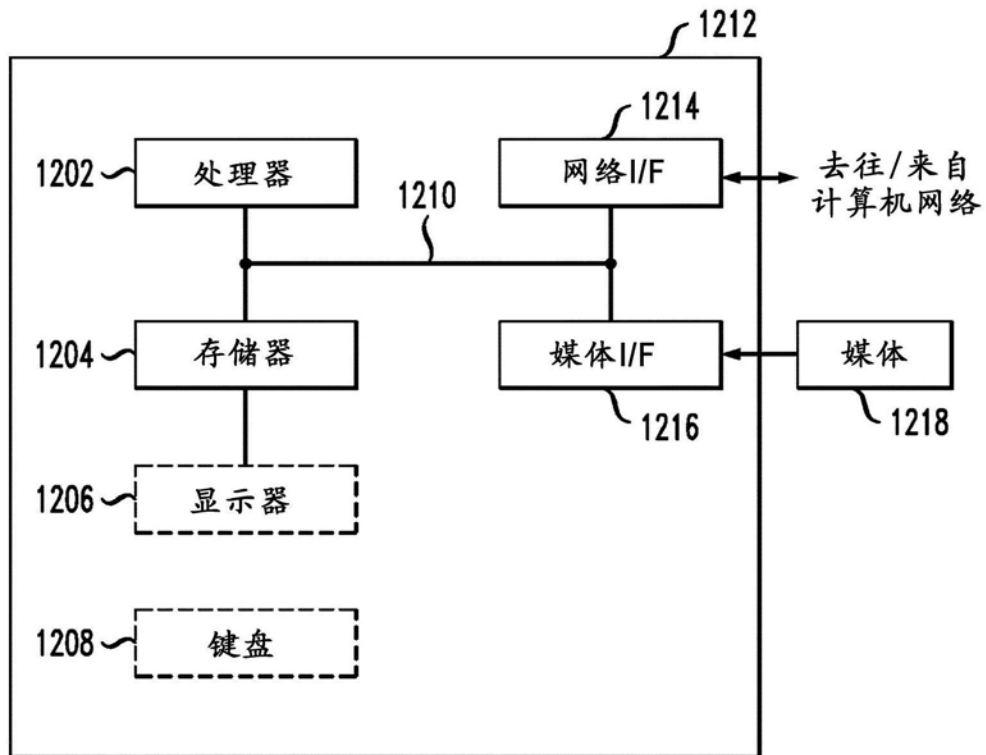


图12