



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103134843 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 12

(21) 申请号 201210450797. 6

审查员 卫立现

(22) 申请日 2008. 08. 26

(30) 优先权数据

60/935, 698 2007. 08. 27 US

61/039, 257 2008. 03. 25 US

(62) 分案原申请数据

200880114690. 6 2008. 08. 26

(73) 专利权人 技术研究及发展基金有限公司

地址 以色列海法

(72) 发明人 U. 西万 E. 布罗德

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 杜娟娟 卢江

(51) Int. Cl.

G01N 27/447(2006. 01)

C07K 1/28(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1462368 A, 2003. 12. 17, 说明书全文.

CN 1549924 A, 2004. 11. 24, 说明书全文.

CN 1558460 A, 2004. 12. 29, 说明书全文.

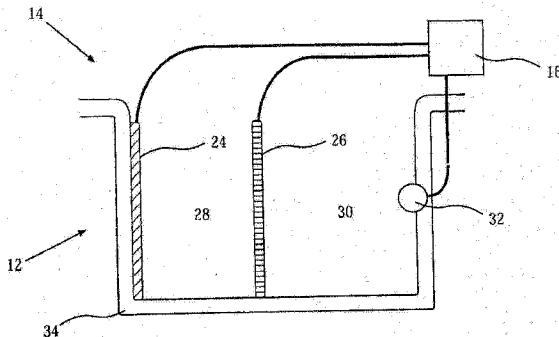
权利要求书2页 说明书20页 附图20页

(54) 发明名称

通过电解控制 PH 梯度以及它们在等电聚焦中的用途

(57) 摘要

在体积 (30) 中的指定质子浓度由使可控电泳电流通过工作电极 (26) 和对电极 (24) 之间的邻近电泳体积 (28) 而产生。这样的具有指定质子浓度的体积的阵列用于提供等电聚焦的 PH 梯度。



1. 一种用于在包含电解质的环境中产生质子浓度形貌的装置,包括:
 - a) 多个独立可控单元,每个单元配置成基本上独立于其他所述独立可控单元在包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度;以及
 - b) 功能上与所述多个单元关联的容器,所述容器配置成容纳包含电解质的环境并且配置成允许由所述独立可控单元在容纳在所述容器中的所述环境的关联体积中产生所述指定的质子浓度。
2. 如权利要求 1 所述的装置,其中设置所述多个独立可控单元使得保持在所述容器中的环境被分为多个离散的相邻体积,每个所述离散体积是与所述独立可控单元关联的所述体积。
3. 如权利要求 2 所述的装置,配置成使得离子在两个所述相邻体积之间的移动未被抑制。
4. 如权利要求 2 所述的装置,其中每个所述独立可控单元配置成改变在所述关联的体积中的所述指定质子浓度。
5. 如权利要求 2 至 4 中任一项所述的装置,配置成当包含电解质的所述环境填充所述容器时,允许通过所述独立可控单元中的每个的单独可控的电流通过。
6. 如权利要求 5 所述的装置,还包括配置成允许通过所述独立可控单元中的每个的电流的大小的独立变化的控制器。
7. 如权利要求 6 所述的装置,还包括在功能上与所述独立可控单元中的每个关联的质子浓度传感器,所述质子浓度传感器配置成确定在与所述独立可控单元关联的所述体积中的质子浓度的值,并且向所述控制器报告确定的值;并且所述控制器配置成响应于所述报告的值改变通过所述独立可控单元的所述电流的大小。
8. 如权利要求 6 至 7 中任一项所述的装置,还包括在功能上与所述控制器关联的控制器输入部件,其配置成允许用户输入所述独立可控单元中每个的期望值,所述期望值影响通过所述独立可控单元的所述电流的所述大小。
9. 一种在包含电解质的环境中产生指定质子浓度形貌的方法,包括:
 - a) 提供多个独立可控单元,每个单元配置成在包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度;
 - b) 使包含电解质的环境与所述多个独立可控单元接触以便将所述环境分为多个相邻的离散体积,每个所述体积与所述独立可控单元关联;
 - c) 指定期望的质子浓度形貌;以及
 - d) 激活所述多个独立可控单元中的每个所述独立可控单元,以便在所述环境的每个所述关联的体积中产生指定的质子浓度,其中在每个所述体积中产生的所述指定的质子浓度共同构成指定的质子浓度形貌。
10. 如权利要求 9 所述的方法,还包括:
 - e) 在 d 之后,指定与之前限定的质子浓度形貌不同的期望的质子浓度形貌;以及
 - f) 在必要的情况下,激活所述多个独立可控单元中的所述独立可控单元,以在所述环境的所述关联体积中产生不同的质子浓度,由此改变所述质子浓度形貌成为新近指定的质子浓度形貌。
11. 如权利要求 9 所述的方法,还包括:

作为时间的函数改变在至少一个所述关联体积中的质子浓度,由此作为时间的函数改变所述质子浓度形貌。

12. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中离子在两个所述相邻体积之间的移动被抑制。

13. 如权利要求 9 至 11 中任一项所述的方法,其中离子在两个所述相邻体积之间的移动未被抑制。

通过电解控制 PH 梯度以及它们在等电聚焦中的用途

[0001] 相关申请

[0002] 该申请要求 2007 年 8 月 27 日提交的美国临时专利申请 60/935,698 和 2008 年 3 月 25 日提交的美国临时专利申请 61/039,257 的权益,它们的内容通过引用结合于本文就像在本文中完全阐述那样。

技术领域

[0003] 在一些实施例中本发明涉及分子间相互作用的领域,并且特别地涉及在包含电解质的环境(例如,溶液、凝胶或其类似物)中产生质子的局部浓度、质子浓度梯度和期望的质子浓度形貌中有用的方法和装置。本发明的一些实施例还涉及分析物分离和等电聚焦(isoelectric focusing)的领域。本发明的一些实施例还涉及数据显示的领域。

背景技术

[0004] 等电聚焦是用于通过利用分子的不同离子性质在分析物样品中分离分子的分析技术。

[0005] 等电聚焦在具有固定化质子浓度梯度(一般质子浓度梯度在给定方向上从较高 PH 变化到较低 pH)的凝胶(通常例如 polyarylamide、聚丙烯酰胺、淀粉或琼脂糖等材料的凝胶)中进行。

[0006] 分析物装载到凝胶上的某个位置上。每个不同的分子的电荷根据分子的各种官能团的酸度(pKa)响应于周围的质子浓度而变化。

[0007] 平行于质子浓度梯度在等电聚焦阳极和等电聚焦阴极之间施加电势。具有净正电荷的分子通过凝胶朝阳极迁移同时具有净负电荷的分子通过凝胶朝阴极迁移。相反的,带正电的离子(阳离子)朝阴极迁移而带负电的离子(阴离子)朝阳极迁移。

[0008] 当分子迁移时,周围的 pH 变化以减小分子上的净电荷直到分子达到等电点(pI),其中由于周围的 pH,分子上的净电荷是零使得分子停止由于电势引起的迁移。如果分子“越过”等电点,则分子倒转方向。

[0009] 以这样的方式,等电聚焦将具有相同 pI 的分子聚焦至凝胶的非常窄的明确限定的体积内。

[0010] 等电聚焦对于蛋白质的分析是格外有用的,因为蛋白质特征在于具有许多不同酸度的官能团。

[0011] 等电聚焦面临许多缺点。为了具有足够的溶解,使许多不同的凝胶具有跨越质子浓度梯度的不同范围的不同的质子浓度梯度常常是必要的,这增加成本并且产生逻辑问题。脆弱的凝胶的自动化操作难于实施。具有固定化质子浓度梯度的凝胶一般是昂贵的并且可能面临批次间可重现性。一些分析物的分析可能面临筛孔效应,因为大蛋白质迁移通过凝胶中的孔隙可能有困难。由于分析物分子的缓慢迁移,等电聚焦可能是缓慢的。

[0012] 能够进行等电聚焦而具有较少现有技术中已知方法的缺点将是有利的。

发明内容

[0013] 在一些实施例中本发明涉及分子间相互作用的领域,并且特别地涉及质子浓度形貌、在包含电解质的环境中产生指定的质子局部浓度和指定的质子浓度形貌中有用的方法和装置,这些指定的质子局部浓度和指定的质子浓度形貌在一些实施例中是易变的并且可如期望的那样变化或它们是暂时可变的。

[0014] 本发明的一些实施例提供等电聚焦,其没有本领域内已知的方法的缺点中的至少一些。

[0015] 本发明的一些实施例提供用于数据显示。

[0016] 在一些实施例中,本发明提供包括多个独立可控单元(例如采用一维或二维阵列设置)的装置和包含电解质的环境。每个单元配置成在环境的关联体积中独立地产生指定的质子浓度。当装置激活时,用户可以使用这些单元以在环境中产生期望的一维或二维质子浓度形貌,其中环境的每个体积具有指定的质子浓度,其基本上不依赖于在相邻体积中的质子浓度。

[0017] 在一些实施例中,质子浓度形貌是易变的。在一些这样的实施例中,用户可通过控制这些单元而选择改变这些体积的一些或所有中的质子浓度,并且因此改变质子浓度形貌。在一些实施例中,用户可选择作为时间的函数改变这些体积的一些或所有中的质子浓度,并且因此作为时间的函数改变质子浓度形貌。

[0018] 从而,根据本发明的一些实施例的方面,提供有质子浓度形貌,包括:a) 包含电解质的环境,该环境分为多个相邻的离散体积;b) 在任意两个相邻体积之间的界面体积;和c) 具有指定质子浓度的每个体积。

[0019] 依赖于实施例,这些体积设置在一个维度上,例如构成一维体积阵列,设置在两个维度上,例如构成二维体积阵列,或设置在三个维度上,构成三维阵列。

[0020] 根据一些实施例,在通过环境的给定方向上,相邻体积之间的质子浓度的变化率是基本上单调的。

[0021] 根据一些实施例,在通过环境的给定方向上,相邻体积之间的质子浓度的变化率变化。

[0022] 根据一些实施例,质子浓度形貌是可控易变的。根据一些实施例,质子浓度形貌是作为时间的函数可控易变的。

[0023] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有在包含电解质的环境中产生指定质子浓度形貌的方法,包括:

[0024] a) 提供多个独立可控的单元,每个单元配置成在包含电解质的环境的关联体积中例如通过环境成分的电解而产生指定的质子浓度;

[0025] b) 使包含电解质的环境与多个单元接触以便将环境分为多个相邻的离散体积,每个体积与单元关联;

[0026] c) 指定期望的质子浓度形貌;以及

[0027] d) 激活该多个单元中的每个单元,以便在环境中与单元关联的每个体积中产生指定的质子浓度,

[0028] 其中在每个体积中产生的指定的质子浓度共同构成指定的质子浓度形貌。

[0029] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有用于在包含电解质的环境中产生质子浓

度形貌的装置,包括:

[0030] a) 多个独立可控的单元,每个单元配置成基本上独立于其他单元而在包含电解质的环境的关联体积中例如通过环境成分的电解而产生指定的质子浓度;和

[0031] b) 功能上与多个单元关联的容器,其配置成容纳包含电解质的环境,该容器配置成允许由单元在容纳在容器中的环境的关联体积中产生指定的质子浓度。

[0032] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有用于在包含电解质的环境中产生指定质子浓度的方法,包括:

[0033] a) 提供包含电解质的环境;

[0034] b) 使工作电极和对电极与环境接触使得:

[0035] 工作电极的第一侧面向对电极以限定工作电极和对电极之间的环境的电解体积,以及

[0036] 工作电极的第二侧面向环境的第二体积;

[0037] c) 指定期望的质子浓度;

[0038] d) 在工作电极和对电极之间通过电流以便电解环境的成分以在电解体积中生成电解产物(例如,离子);以及

[0039] e) 传递电解产物中的至少一些到第二体积,由此在环境的第二体积中产生质子浓度

[0040] 其中电流是这样以致在第二体积中产生的质子浓度是指定的质子浓度。根据一些实施例,工作电极对于通过其的电解产物的通过是可渗透的(例如,用网制成)并且传递步骤包括允许在电解体积中生成的电解产物通过工作电极进入第二体积,由此在第二体积中产生质子浓度。

[0041] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有用于在包含电解质的环境中产生指定质子浓度的装置,包括:

[0042] a) 工作电极;以及

[0043] b) 对电极,

[0044] 工作电极和对电极设置使得:

[0045] 工作电极的第一侧面向对电极以限定工作电极和对电极之间的电解体积,以及

[0046] 工作电极的第二侧面向容器的体积,容器配置成容纳包含电解质的环境,

[0047] 其中电解体积与容器的体积流动连通。根据一些实施例,工作电极对于通过其的电解产物的通过是可渗透的(例如,用网制成)以允许在电解体积中生成的电解产物通过工作电极进入第二体积。

[0048] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有使用等电聚焦分析分析物的方法,包括

[0049] a) 将适合通过等电聚焦分析的分析物放置在包含电解质的环境中;

[0050] b) 在环境中产生非固定化的质子浓度形貌;

[0051] c) 对环境施加势差;以及

[0052] d) 观察分析物的成分在环境中关于质子浓度形貌和势差的位置,由此使用等电聚焦来分析分析物。根据一些实施例,非固定化质子浓度形貌是易变的。

[0053] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有在实现等电聚焦的方法中有用的装置。

[0054] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有显示数据的方法,包括

[0055] a) 提供多个独立可控的单元,每个单元配置成在包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度(例如通过电解);

[0056] b) 使环境与多个单元接触以便将环境分为多个相邻的离散体积,多个离散体积中每个与单元关联,环境包括:

[0057] 电解质,以及

[0058] 具有依赖于环境中的质子浓度的外观的 pH 灵敏指示剂(indicator);以及

[0059] c) 激活多个单元中的每个单元,以便在环境的每个关联的体积中产生指定的质子浓度,

[0060] 其中在每个体积中产生的指定的质子浓度给予 pH 指示剂指定的外观;以及

[0061] 其中在体积中 pH 指示剂的总体外观是构成数据显示的图像。

[0062] 根据本发明的一些实施例的方面,提供有在实现显示数据的方法中有用的装置。

[0063] 除非另外限定,本文使用的技术和/或科学术语具有与由本发明有关的领域内普通技术人员中之一通常理解的相同的含义。在冲突的情况下,包括定义的专利说明书将控制。本文公开的材料、方法和示例仅是说明性的并且不意为必然限制性的。

[0064] 如本文使用的,术语“包括”、“包含”和“具有”或其的语法变化形式将被视为指定陈述的特征、整数、步骤或成分但不排除增加一个或多个附加特征、整数、步骤、成分或其的组。该术语包含术语“由...组成”和“基本上由...组成”。

[0065] 短语“基本上由...组成”或其的语法变化形式当在本文使用时将被视为指定陈述的特征、整数、步骤或成分但不排除增加一个或多个附加特征、整数、步骤、成分或其的组但仅当附加特征、整数、步骤、成分或其的组不实质上改变要求权利的组成、装置或方法的基本和新颖特性。

[0066] 如本文使用的,不定冠词“一”和“一个”意思是“至少一个”或“一个或多个”(除非上下文另外清楚的指出)。

[0067] 除非上下文另外清楚的指出,术语“生成”和“产生”或其的语法变化形式将看作同义的。

[0068] 本文中,术语“单元阵列”和“电极阵列”在一些情况下可互换使用。

[0069] 本文中,术语“分析物”和“材料”在一些情况下在不同的上下文中是用于相同概念的。术语“分析物”一般指在分析上下文(例如,在混合物中存在的材料量的分析)中的材料,同时更一般的“材料”指例如在准备上下文中的材料。

附图说明

[0070] 本发明的一些实施例仅通过示例参照附图在本文中描述。说明与图一起使本发明的实施例可如何实践对具有本领域内普通技术的人员明显。图是用于本发明的实施例的说明性论述的目的并且不试图采用比对于本发明的基础理解所必需的更详细的方式示出实施例的结构细节。为了清楚,在图中描绘的大多数物体没有缩放。

[0071] 在图中:

[0072] 图 1A 示意地描绘各种一维质子浓度形貌;

[0073] 图 1B 示意地描绘各种二维质子浓度形貌;

[0074] 图 1C 示意地描绘(采用透视图)用于产生质子浓度形貌的装置;

- [0075] 图 2A 示意地描绘（采用侧横截面）用于产生指定质子浓度的装置；
- [0076] 图 2B 是定性地示出在图 2A 的装置中电解的产物的浓度的图；
- [0077] 图 3A-3C 示意地描绘用于产生一维质子浓度形貌的适合用于等电聚焦的装置；
- [0078] 图 4A-4C 示意地描绘用于产生一维质子浓度形貌的适合用于等电聚焦的装置；
- [0079] 图 5A-5C 示意地描绘用于产生一维质子浓度形貌的配置用于等电聚焦的装置；
- [0080] 图 6A-6B 示意地描绘用于产生一维质子浓度形貌的配置用于等电聚焦的装置；
- [0081] 图 7A 和 7B 是用于产生一维质子浓度形貌的装置的示意顶视图，这些装置实际上构建并且用于实现本发明的教导；
- [0082] 图 8A-8B 是示出使用在图 7A 中描绘的装置所产生的质子浓度的图；
- [0083] 图 8C 是示出使用图 7B 中描绘的装置所产生的质子浓度形貌的图；
- [0084] 图 9A-9B 示意地描绘用于产生一维质子浓度形貌的配置成用于等电聚焦的装置的实施例；以及
- [0085] 图 10A-10F 示意地描绘用于在混合物中分离分析物的本发明的方法的实施例。

具体实施方式

[0086] 在一些实施例中，本发明是关于质子浓度形貌以及用于在包含电解质的环境（例如，溶液、凝胶或其类似物）中产生质子浓度形貌的方法和装置的发明，一般的环境具有低、可忽略的或不存在的缓冲能力。在一些实施例中，质子浓度形貌是非固定化的，就是说是按要求产生（当期望和需要时）。在一些实施例中，产生的质子浓度形貌是易变的，就是说可随意或作为时间的函数可控地变化。一些实施例还涉及在例如液体（如与例如凝胶相反的）等流体中的质子浓度形貌，这些质子浓度形貌例如对等电聚焦和对提纯分析物是有用的。一些实施例涉及或对实现等电聚焦是有用的。一些实施例涉及或对在流体中实现等电聚焦是有用的。一些实施例涉及或对数据显示是有用的。

[0087] 本发明的教导的原理、用途和实现可参照附带说明和图更好地理解。当熟读本文呈现的说明和图时，本领域内技术人员能够实现本发明的教导而不用过度的努力和实验。在图中，相似的标号在全文中指相似的部件。

[0088] 在详细说明本发明的至少一个实施例之前，要理解本发明在其申请中不限于本文阐述的细节。本发明可以用其他实施例实现并且可以采用各种方法实践或实施。还理解本文采用的措辞和术语是用于说明的目的并且不应该认作限制性的。

[0089] 如上文提到的，本发明的一些实施例涉及在包含电解质的环境中的质子浓度。这样的环境允许化学个体（chemical entity）电解生成，化学个体例如影响环境中的质子浓度的质子和羟基阴离子。典型的这样的环境包括在等电聚焦和电泳的领域中已知的水溶液和凝胶。

[0090] 在该领域中，质子浓度梯度是已知的。例如，当电流通过浸入在包含电解质的非缓冲环境中的两个电极之间时，产生单调的质子浓度梯度，高质子浓度靠近阳极，其连续地并且单调地下降到靠近阴极的低质子浓度。这样的质子浓度梯度是非固定化的，因为这些浓度梯度仅当期望时产生。这样的质子浓度梯度还是易变的，因为改变通过电极之间的电流改变梯度。

[0091] 相比之下，现有技术等电聚焦方法基于在例如凝胶等非流体环境中固定化的非易

变质子浓度梯度的使用。

[0092] 本发明的一些实施例涉及在环境中的质子浓度形貌。通过质子浓度形貌意思是在环境中质子浓度的分布并且如此而包括术语“质子浓度梯度”。然而,尽管术语“质子浓度梯度”产生作为位置的函数的线性、连续和单调变化的质子浓度,术语“质子浓度形貌”具有更宽广的含义并且包括在一维(例如,线、曲线、例如圆等几何图形的轮廓)、在二维(例如,平面、曲面、凹面、凸面)和在三维的质子浓度的分布。术语“质子浓度形貌”包括其中在通过环境的给定方向上质子浓度的变化率不是连续的和/或不是单调的形貌。

[0093] 在一些实施例中,质子浓度是易变的并且可以采用可控方式改变。从而,在实施例中质子浓度形貌可具有期望的任意形状或样式,其在实施例中可采用可控方式改变。在一些实施例中,提供有在环境中的质子浓度的时间和空间控制以允许产生可控和可调节质子浓度形貌,从而允许产生可以随意改变的动态和复杂质子浓度形貌。在一些实施例中,该控制使用电子或数字控制器。

[0094] 在本发明的一些实施例中,质子浓度形貌在流体环境中产生,例如液体(例如水溶液等)中产生。这允许实现等电聚焦和其他使用流体环境中产生的特别的质子浓度形貌的方法。此外,在其中进行分析物分离的流体环境的使用允许实现用于制备纯材料和不只用于混合物的分析的方法。分析物混合物使用例如等电聚焦分离。例如单蛋白质的期望成分通过包括该成分的流体的提取(例如,用吸液管)容易地与其他成分隔离。这是更简单的并且允许隔离比当前要求的凝胶体积的切除(excision)更大量的材料。从而,根据本发明的一些实施例的方面,提供有从材料的混合物(例如,来自多肽的混合物的多肽,例如蛋白质或肽)隔离材料(例如,提纯或浓缩材料)的方法,包括:a)在流体环境中进行包括期望材料的材料混合物的等电聚焦;以及b)在等电聚焦后,移除包括期望材料的流体环境的一部分(fraction),由此从材料的混合物隔离期望的材料。

[0095] 质子浓度形貌

[0096] 在一些实施例中,本发明提供质子浓度形貌,包括:a)包含电解质的环境,该环境分为多个相邻的离散体积;b)在任意两个相邻体积之间的界面体积;和c)每个体积具有指定质子浓度。

[0097] 在一些实施例中,本发明的质子浓度形貌是离散的和/或不连续的。在一些实施例中,质子浓度形貌由多个相邻离散体积构成,每个体积具有指定的质子浓度的事实的意思是每个体积可以看作“pH-xel”(类比于二维图像的像素)。

[0098] 在一些实施例中,这些体积在一个维度上设置,例如构成体积的一维阵列,例如线、曲线或例如圆等几何图形的轮廓。

[0099] 在一些实施例中,这些体积在两个维度上设置,例如构成体积的二维阵列,例如六边形阵列,其中每个非边缘体积被六个等距相邻体积围绕,或正方形阵列,其中每个非边缘体积被设置为十字形的四个相邻体积围绕。

[0100] 在一些实施例中,这些体积在三个维度上设置,构成三维阵列。

[0101] 在一些实施例中,离子在两个相邻体积之间的移动被抑制,例如通过在两个体积之间插入对离子不可渗透的屏障来抑制。在一些这样的实施例中,界面体积被屏障占用。一些这样的实施例对于用于数据显示的质子浓度形貌是格外有用的,其中体积(pH-xel)之间具有明显区别可以是有利的。

[0102] 在一些实施例中,离子在两个相邻体积之间的移动基本上未被抑制并且 d) 每个界面体积具有与限定该界面体积的相邻体积的质子浓度有关的质子浓度。一些这样的实施例对于用于实现等电聚焦的质子浓度形貌是格外有用的,其中需要有分析物分子通过质子浓度形貌移动直到达到等电点。

[0103] 在一些实施例中,在通过环境的给定方向上,相邻体积之间的质子浓度的变化率是基本上单调的,例如根据分子的或 pH 标度是线性的。

[0104] 在一些实施例中,在通过环境的给定方向上,相邻体积之间的质子浓度的变化率变化,例如有成组的相邻体积,其中体积之间质子浓度的变化率更多地大于或更多地小于其他组,在变化率方面存在不连续性或有反向 (reversal)。

[0105] 在图 1A 中,示意地描绘质子浓度形貌的各种实施例。

[0106] 一维形貌 i-vi 全都在分为十个相邻离散体积的细长容器中产生,其中每个体积和每个界面体积的质子浓度 (采用 pH) 借助于示出 pH 作为体积号的函数的图描绘。

[0107] 在质子浓度形貌 i 中,质子浓度从在体积 1 中非常低的质子浓度以高速率恒定 (采用 pH 单位) 单调地增加到在体积 10 中的非常高的浓度。看出在每个体积中, pH 是明确限定的而在界面体积中质子浓度是与限定该界面体积的相邻体积的质子浓度有关的梯度。

[0108] 在质子浓度形貌 ii 中,质子浓度从在体积 1 中某个质子浓度以低速率恒定 (采用 pH 单位) 单调地增加到在体积 10 中的稍微较高的质子浓度。

[0109] 在质子浓度形貌 iii 中,质子浓度以变化速率从体积 1 单调地增加到体积 10。从体积 1 到体积 4 在质子浓度上的增加速率是非常高的,而从体积 4 到体积 10 在质子浓度上的增加速率是相对低的。

[0110] 在质子浓度形貌 iv 中,质子浓度以变化速率从体积 1 单调地增加到体积 10。从体积 1 到体积 2 在质子浓度上的增加速率是非常高的,从体积 3 到体积 8 在质子浓度上的增加速率是相对低的,并且从体积 8 到体积 10 在质子浓度上的增加速率是非常高的。

[0111] 在质子浓度形貌 v 中,质子浓度以恒定速率 (采用 pH 单位) 从体积 1 单调地增加到体积 6,然后以恒定速率 (采用 pH 单位) 从体积 6 单调地减小到体积 10。

[0112] 在质子浓度形貌 vi 中,离子在两个相邻体积之间的移动被抑制,例如通过在任意两个体积之间放置不可渗透的屏障来抑制。看出在这样的实施例中,界面体积实际上由不可渗透的屏障占用并且不具有显著质子浓度。

[0113] 在图 1B 中描绘的质子浓度形貌 vii 和 viii 是根据上文示意地描绘的二维质子浓度形貌。在质子形貌 vi 和 vii 中,界面体积用灰色描绘。每个体积的质子浓度采用 pH 单位写在体积的中间,而界面体积的质子浓度由限定该界面体积的相邻体积限定。

[0114] 质子浓度形貌 vii 包括十六个离散的相邻体积,它们设置在 4 体积乘 4 体积正方形阵列中,其中每个非边缘体积被设置为十字形的四个相邻体积围绕。

[0115] 质子浓度形貌 vii 包括 25 个离散的相邻体积,它们设置在六边形阵列中,其中每个非边缘体积被六个等距相邻体积围绕。

[0116] 在本发明的一些实施例中,质子浓度形貌是非固定化的并且仅当期望时在环境中产生。

[0117] 在一些实施例中,质子浓度形貌是可控易变的。在一些实施例中,在至少一个体

积、优选地多个体积中的质子浓度可以可控地改变使得质子浓度形貌是可控易变的。

[0118] 在一些实施例中,质子浓度形貌是作为时间的函数可控易变的。在一些实施例中,在至少一个体积、优选地多个体积中的质子浓度可作为时间的函数可控地改变使得质子浓度形貌是作为时间的函数可控易变的。

[0119] 用于产生质子浓度梯度的方法

[0120] 任何适合的方法可用于产生质子浓度梯度。即便如此,一些实施例提供可用于产生质子浓度梯度的方法。

[0121] 本发明的一些实施例提供在包含电解质的环境中产生指定质子浓度形貌的方法,包括:a) 提供多个独立可控的单元,每个单元配置成在包含电解质的环境的关联体积中例如通过电解产生指定的质子浓度;b) 使包含电解质的环境与多个单元接触以便将环境分为多个相邻的离散体积,每个体积与相应的单元关联;c) 指定期望的质子浓度形貌;以及d) 激活多个单元中的每个单元,以便在与环境的单元关联的每个体积中产生指定的质子浓度,其中在每个体积中产生的指定的质子浓度共同构成指定的质子浓度形貌。

[0122] 在一些实施例中,e) 在d之后,指定与之前限定的质子浓度形貌不同的期望的质子浓度形貌;以及f) 在必要的情况下,激活多个单元中的单元,以在环境的关联体积中产生不同的质子浓度,由此改变质子浓度形貌为新近指定的质子浓度形貌。

[0123] 在一些实施例,该方法还包括作为时间的函数改变(逐步地或连续地)在至少一个关联体积中的质子浓度,由此作为时间的函数改变质子浓度形貌。

[0124] 在一些实施例中,这些体积在一个维度上设置,例如构成体积的一维阵列,例如线、曲线或例如圆等几何图形的轮廓。

[0125] 在一些实施例中,这些体积在两个维度上设置,例如构成体积的二维阵列,例如六边形阵列,其中每个非边缘体积被六个等距相邻体积围绕,或正方形阵列,其中每个非边缘体积被设置为十字形的四个相邻体积围绕。

[0126] 在一些实施例中,这些体积在三个维度上设置,构成三维阵列。

[0127] 在一些实施例中,离子在两个相邻体积之间的移动被抑制,例如通过在两个体积之间插入物理屏障(例如不可渗透材料(例如聚乙烯或玻璃)片)或其他对离子不可渗透的屏障来抑制。当该方法用于数据显示时一些这样的实施例是格外有用的,其中体积之间具有明显区别可以是有利的。

[0128] 在一些实施例中,离子在两个相邻体积之间的移动基本上未被抑制,例如环境是基本上均质的(没有不同的质子浓度),例如没有固定化质子浓度梯度的溶液或凝胶。当该方法用于实现等电聚焦时一些这样的实施例是格外有用的,其中需要有分析物分子通过产生的质子浓度形貌移动直到达到等电点。

[0129] 用于产生质子浓度梯度的装置

[0130] 任何适合的装置可用于实现本发明的用于产生质子浓度梯度的方法。即便如此,本发明的一些实施例提供可用于实现用于产生质子浓度梯度的方法的装置。

[0131] 本发明的一些实施例提供用于在包含电解质的环境中产生质子浓度形貌的装置,包括:a) 多个独立可控的单元,每个单元配置成在包含电解质的环境的关联体积中例如通过环境成分的电解、基本上独立于其他单元来产生指定的质子浓度;和b) 功能上与多个单元关联的容器,该容器配置成容纳包含电解质的环境并且配置成允许由容纳在容器中的环

境的体积中的单元产生指定的质子浓度。在一些实施例中,多个单元是至少 2 个单元,在一些实施例中至少 5 个单元,在一些实施例中至少 10 个单元,并且在一些实施例中至少 12 个单元。

[0132] 如上文提到的,在一些实施例中,与单元关联的每个体积可看作独立可控的“pH-xel”,其中相应单元可用于在关联的体积中产生指定的质子浓度。装置的这样的配置允许期望的质子浓度形貌由装置产生,其包括具有任意特征的形貌(通过改变在关联的体积中的一个或多个中的质子浓度)。

[0133] 在一些实施例中,该装置还包括环境,其包括容纳在容器内的电解质。

[0134] 在一些实施例中,该装置配置成允许离子在两个相邻体积之间的基本上未被抑制的移动。当该装置用于实现等电聚焦时,一些这样的实施例是格外有用的,其中需要有分析物分子通过产生的质子浓度形貌移动直到达到等电点。

[0135] 在一些实施例中,容器具有充分大于与这些单元关联的体积的尺寸的尺寸。在一些这样的实施例中,单个大的容器在功能上与多个单元关联,并且与这些单元关联的环境的体积是物理连续的并且由关联的单元在其中产生的质子浓度限定。

[0136] 在一些实施例中,设置多个单元使得保持在容器中的环境被物理分为多个离散的相邻体积,每个这样的体积是与单元关联的体积,如上文描述的。在这样的实施例中,容器可看作子容器的集合,每个这样的子容器与相应的单元关联并且在一些实施例中至少部分限定关联的体积,其中相应的单元产生指定的质子浓度。在一些这样的实施例中,子容器具有大约单元的尺寸。

[0137] 在一些实施例中,该装置还包括位于相邻体积之间并且至少部分限定子容器的屏障,这些屏障配置成抑制离子在两个相邻体积之间移动。当装置用于数据显示时一些这样的实施例是格外有用的,其中体积之间具有明显区别可以是有利的。在这样的装置中,相邻体积一般靠近在一起并且对离子移动的屏障一般相对于单元的尺寸是薄的,例如是屏障分开的两个体积的中心之间的距离的 30% 以下、20% 以下或甚至 10% 以下。

[0138] 在一些实施例中,设置单元使得关联的体积在一个维度上设置,例如构成体积的一维阵列,例如线、曲线或例如圆等几何图形的轮廓。

[0139] 在一些实施例中,设置单元使得关联的体积在两个维度上设置,例如构成体积的二维阵列,例如六边形阵列,其中每个非边缘体积被六个等距相邻体积围绕,或正方形阵列,其中每个非边缘体积被设置为十字形的四个相邻体积围绕。

[0140] 在一些实施例中,设置单元使得关联的体积在三个维度上设置,构成三维阵列。

[0141] 在一些实施例中,每个单元配置成改变在关联的体积中的指定质子浓度,在一些实施例中基本上独立于其他单元来改变在关联的体积中的指定质子浓度。在一些这样的实施例中,这样的配置允许期望的质子浓度形貌通过改变在关联的体积中的一个或多个中的质子浓度而产生,例如具有任意特征的形貌。

[0142] 在一些实施例中,每个单元配置成作为时间的函数改变在关联的体积中的指定质子浓度,在一些实施例中基本上独立于其他单元来作为时间的函数改变在关联的体积中的指定质子浓度。在一些这样的实施例中,这样的配置允许产生的质子浓度形貌是暂时可变的。

[0143] 在一些实施例中,装置配置成允许在包含电解质的环境填充容器时独立可控的电

流通过单元中的每个。在一些这样的实施例中，这样的配置允许指定的质子浓度形貌产生。

[0144] 在一些实施例中，该装置还包括控制器，其配置成允许通过单元中的每个的电流的大小的独立变化。在一些实施例中，控制器配置成作为时间的函数变化电输入，允许质子浓度形貌作为时间的函数被改变。

[0145] 在一些实施例中，该装置还包括在功能上与单元中的每个关联的质子浓度传感器，该质子浓度传感器配置成确定在与单元关联的体积中的质子浓度的值并且向控制器报告确定的值；并且控制器配置成响应于报告的值改变通过单元的电流的大小。在一些实施例中，该装置包括质子浓度传感器，其用作反馈电路的部件以提供对单元更好的控制。

[0146] 在一些实施例中，该装置还包括在功能上与控制器关联的控制器输入部件，其配置成允许用户输入单元中每个单元的期望值，该期望值影响通过单元的电流的大小。

[0147] 用于产生质子浓度梯度的装置的许多实施例在图 1C 中描绘。

[0148] 装置 10 包括设置成一条直线的十个独立可控的单元 12 以构成线形区域，每个单元 12 配置成在保持在容器 14 中的包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度。与每个单元 12 关联的体积是最接近该单元 12 的保持在容器 14 中的环境的体积。由于关联体积之间没有屏障或其他障碍，装置 10 配置成允许离子在相邻体积之间基本上未抑制的移动。

[0149] 装置 10 包括控制器 16，其在功能上与单元 12 中的每个关联，并且用于通过控制通过每个单元 12 的电流的大小控制在每个单元 12 的关联体积中产生的质子浓度。控制器 16 包括控制器输入部件，允许用户输入由每个单元在关联的体积中产生的期望质子浓度以便指定期望的质子浓度形貌。装置 10 可用于产生许多不同的装置浓度形貌，包括在图 1A 中描绘的质子形貌 i、ii、iii、iv 和 v。

[0150] 在图 1C 中描绘的装置 18 与装置 10 相似。然而，容器 14 由不可渗透的屏障 20 分为十个子容器 14'。

[0151] 在容器 14 填充有包含电解质的流体环境使得流体的水平面低于屏障 20 的高度的实施例中，保持在容器 14 中的环境分为多个物理上离散的相邻体积，其中相邻体积之间的离子移动被抑制。在这样的实施例中，与单元 12 关联的每个体积由子容器 14' 在物理上限定。在这样的实施例中，装置 18 可用于产生许多不同的质子浓度形貌，包括在图 1A 中描绘的质子浓度形貌 vi。

[0152] 在一些实施例中，容器 14 填充有包含电解质的流体环境使得流体的水平面高于屏障 20 的高度。在这样的实施例中，与单元 12 关联的每个体积仅由子容器 14' 部分在物理上限定。在这样的实施例中，装置 18 可用于产生许多不同的质子浓度形貌，包括在图 1A 中描绘的质子形貌 i、ii、iii、iv 和 v。

[0153] 在图 1C 中描绘的装置 22 包括设置在四个单元乘四个单元正方形阵列中的十六个独立可控的单元 12，每个单元 12 配置成在保持在容器 14 中的包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度。与每个单元 12 关联的体积是最接近该单元 12 的保持在容器 14 中的环境的体积。由于关联体积之间没有屏障或其他障碍，装置 10 配置成允许离子在相邻体积之间基本上未抑制的移动。装置 22 可用于产生许多不同的质子浓度形貌，包括在图 1B 中描绘的质子浓度形貌 vii。

[0154] 用于在环境中产生指定质子浓度的方法

[0155] 如上文描述的用于产生质子浓度形貌的本发明的实施例的实现决定于在环境中、例如在如上文描述的与单元关联的环境的体积中产生指定的质子浓度。

[0156] 可使用用于在环境中产生指定质子浓度的任何适合的方法。即便如此，本发明的一些实施例提供用于在包含电解质的环境中产生指定质子浓度的方法，包括：a) 提供包含电解质的环境；b) 使工作电极和对电极与环境接触使得：工作电极的第一侧面向对电极以限定工作电极和对电极之间的环境的电解体积，以及工作电极的第二侧面向环境的第二体积；c) 指定期望的质子浓度；d) 在工作电极和对电极之间通过电流以便电解环境的成分以在电解体积中生成电解产物；以及 e) 传递至少一些电解产物到第二体积，由此在环境的第二体积中产生质子浓度，其中电流是这样以致在第二体积中产生的质子浓度是指定的质子浓度。

[0157] 在一些实施例中，工作电极对于通过其的电解产物的通过是可渗透的（例如，用网制成）并且电解产物的传递包括允许电解体积中生成的电解产物通过工作电极进入第二体积，由此在第二体积中产生质子浓度。

[0158] 在一些实施例中，工作电极是阳极而对电极是阴极。

[0159] 在一些实施例中，工作电极是阴极而对电极是阳极。

[0160] 在一些实施例中，该方法还包括：f) 监测（连续地或周期地）在环境的第二体积中产生的质子浓度；以及 g) 如果必要，调节通过工作电极和对电极之间的电流以便保持第二体积中产生的质子浓度如指定的质子浓度。

[0161] 在一些实施例中，该方法还包括：在 d 之后，指定与之前指定的质子浓度不同的期望质子浓度；并且在工作电极和对电极之间通过电流，由此在环境的第二体积中产生质子浓度，其中电流是这样的以致在第二体积中产生的质子浓度是不同的指定质子浓度。

[0162] 在一些实施例中，该方法还包括：作为时间函数改变（逐步地或连续地）电流，由此作为时间的函数改变在第二体积中产生的质子浓度。

[0163] 用于在环境中产生指定质子浓度的装置

[0164] 在实现本发明的教导中可使用用于在环境中产生指定质子浓度的任何适合的装置。

[0165] 即便如此，一些实施例提供可用于实现用于在包含电解质的环境中产生指定质子浓度的方法的装置，包括：a) 工作电极；以及 b) 对电极，工作电极和对电极设置使得：工作电极的第一侧面向对电极以限定工作电极和对电极之间的电解体积，以及工作电极的第二侧面向容器的第二体积，容器配置成容纳包含电解质的环境，其中电解体积与容器的第二体积流动连通。

[0166] 在一些实施例中，工作电极对于通过其的电解产物的通过是可渗透的（例如，用网制成）以允许在电解体积中生成的电解产物通过工作电极进入第二体积。

[0167] 在一些实施例中，该装置还包括环境，其包括容纳在容器内的电解质，填充电解体积并且接触工作电极和对电极。

[0168] 在一些实施例中，容器具有大约对电极的和第二体积的尺寸，并且容器由对离子的通过可渗透的屏障至少部分在物理上限定。

[0169] 在一些实施例中，容器具有充分大于第二体积的尺寸的尺寸。

[0170] 在一些实施例中，装置配置成当包含电解质的环境填充容器和电解体积时允许电

路在工作电极和对电极之间的建立。

[0171] 在一些实施例中,该装置还包括配置成允许通过建立的电路的电流的大小变化的控制器。

[0172] 在一些实施例中,该装置还包括在功能上与单元并且与控制器关联的质子浓度传感器,该质子浓度传感器配置成确定在第二体积中的质子浓度的值并且向控制器报告质子浓度的值;并且控制器还配置成响应于报告的值改变通过建立的电路的电流的大小。在一些实施例中,包括质子浓度传感器,其用作反馈电路的部件以提供对单元更好的控制。

[0173] 在一些实施例中,该装置还包括在功能上与控制器关联的控制器输入部件,其配置成允许用户输入期望的值,其影响通过建立的电路的电流的大小。

[0174] 在一些实施例中,控制器配置成作为时间的函数变化通过建立的电路的电流,允许在第二体积中产生的质子浓度作为时间的函数而被改变。

[0175] 在图 2A 中,用于在环境中产生指定质子浓度的装置,单元 12 采用侧横截面示意地描绘。单元 12 包括对电极 24、工作电极 26(对离子的通过可渗透的网)、电解体积 28(工作电极 26 和对电极 24 之间的体积)、在工作电极 26 的对面的第二体积 30 和在第二体积 30 中的质子浓度传感器 32,所有都容纳在由容器 14 限定的体积内。电极 24 和 26 在功能上与控制器 16 关联,控制器 16 配置成当包含电解质的环境容纳在容器 14 内并且与电极 24 和 26 接触时控制通过电极 24 和 26 之间的电流的大小。

[0176] 为了使用,包含电解质的环境添加到容器 14 以填充电解体积 28 和第二体积 30 并且建立包括电极 24 和 26 的电路。控制器 16 使电流通过电极 24 和 26 之间建立的电路。电解在电解体积 28 中发生,电解水以生成电解产物,例如质子和羟基阴离子。质子迁移到阴极同时羟基阴离子迁移到阳极,改变在电极附近的质子浓度。

[0177] 在工作电极 26 附近的离子通过工作电极进入第二体积 30,改变在第二体积 30 中的质子浓度为基本上等于靠近工作电极 26 的质子浓度。

[0178] 质子浓度传感器 32 确定在第二体积 30 中质子浓度的值并且向控制器 16 报告质子浓度的值,控制器 16 然后(如果必要的话)响应于报告的值改变电流的大小以便在第二体积 30 中产生期望的质子浓度(如由用户通过控制器 16 的控制器输入部件输入到控制器 16 的)。

[0179] 在图 2B 中示出在定性地描绘当激活时在图 2A 的装置 22 中的质子和羟基阴离子的浓度的图,激活使得工作电极 26 是阳极而对电极 24 是阴极。看出质子浓度从靠近对电极 24 的最大值通过电解体积 28 单调降低。在工作电极 26 附近以及在第二体积 30 中有高浓度的羟基阴离子和因此低浓度的质子。看出在第二体积 30 的所有中的羟基阴离子的浓度是相同的并且基本上与靠近工作电极 26 的浓度相同。

[0180] 用于等电聚焦的方法和装置

[0181] 如上文论述的,等电聚焦基于提供适合的质子浓度形貌(例如质子的浓度在给定方向上单调改变的形貌)和施加平行于方向的势差。在本领域中,等电聚焦在凝胶中固定化的质子浓度梯度中进行。

[0182] 本发明的教导可应用于进行等电聚焦,其中质子浓度形貌是非固定化的。

[0183] 本发明的一些实施例提供使用等电聚焦分析分析物的方法,包括 a) 将适合通过等电聚焦分析的分析物放置在包含电解质的环境中;b) 在环境中产生非固定化的质子浓

度形貌 ;c) 对环境施加电势差 ;以及 d) 观察分析物的成分在环境中关于质子浓度形貌和电势差的位置,由此使用等电聚焦分析分析物。

[0184] 观察成分的位置是通过任何适合的方法并且一般取决于分析物的性质。例如,在一些实施例中,荧光分析物(例如,蛋白质)借助于荧光探测器观察。

[0185] 在一些实施例中,环境是流体。这与其中环境(等电聚焦需要的质子浓度形貌在其中)是凝胶的等电聚焦的已知方法相反。流体的使用允许更快的等电聚焦,因为分析物的成分更快地迁移到等电点,是更廉价的因为不须要操作昂贵和敏感的凝胶,并且允许高产能的分析因为可使用单个装置连续自动地分析分析物:在分析物的分析完成后,排尽流体,清洗装置并且引入新的流体。

[0186] 在一些实施例中,质子浓度形貌是易变的。在一些实施例中,该方法还包括:e) 在 d 之后,改变易变的质子浓度形貌到第二非固定化质子浓度形貌;以及 f) 观察分析物的成分在环境中关于第二质子浓度形貌和电势的位置。这样的实施例允许同一样本的多个分析的性能。例如,覆盖大范围的质子浓度的第一质子浓度形貌用于提供分析物的成分的等电点的粗略指示(即,以“低分辨率”)。产生随后的质子浓度形貌,每个这样的形貌包括质子浓度的有限范围,其跨越确定分析物的特定成分的等电点需要的质子浓度(即,以“高分辨率”)。以这样的方式,分析物的每个成分的等电点可非常准确地确定。

[0187] 在一些实施例中,该方法还包括:在 d 之后,当间歇地或连续地观察分析物的成分在环境中的位置时,作为时间的函数改变质子浓度形貌。这样的实施例对于“扫描”未知分析物以在进行更严格的分析前确定等电点的有限范围是有用的。

[0188] 在一些实施例中,根据本发明用于等电聚焦的装置是用于产生质子浓度形貌的装置(例如上文描述的),但其提供有用于施加等电聚焦场的阳极和阴极。当必要时,离子浓度和其类似物可使用商业上可用的部件确定,例如基于离子敏感场效应晶体管技术来确定。

[0189] 如上文提到的,本发明的一些实施例针对用于产生在等电聚焦和相关分析物分离方法中使用的质子浓度形貌的方法和装置。

[0190] 根据本发明的教导配置用于产生质子浓度形貌并且对于等电聚焦有用的装置的实施例,装置 36 在图 3A(透视图)、3B(侧视图)和 3C(顶视图)中描绘。

[0191] 外壳 34(其是基本上大约 5cm 长、0.5cm 宽、0.5cm 深的具有顶部开口的透明聚碳酸酯的不导电矩形盒)容纳装置 36 的其他部件。由外壳 34 限定的体积看作容器 14。

[0192] 在外壳 34 的一侧上发现基本上标准的电泳组件,其包括等电聚焦阳极 38、等电聚焦阴极 40 和电泳凝胶 42(例如,从 Bio-Rad Haifa, Ltd., Haifa, Israel 可获得的中性不带电的聚丙烯酰胺水凝胶)。通过在功能上关联阳极 38 和阴极 40 与标准电泳电源,电泳可采用通常的方式在凝胶 42 中进行。

[0193] 凝胶 42 的一面接触外壳 34 的壁。接触凝胶 42 的相反面的是膜 44(例如,例如作为 Durapore (SVLP04700) 从 Millipore, Inc. Billerica, MA, USA 可获得的具有 5 微米孔隙的亲水性聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜),其物理上支撑凝胶 42 并且允许离子和水分子在凝胶 42 和容器 14 的体积的剩余部分之间基本上自由的通过。

[0194] 容器 14 包含多个(十个)独立可控单元的阵列的成分,这些单元类似于在图 2A 中描绘的单元 12。单元阵列中的每个单元配置成在凝胶 42 的关联体积中产生指定的质子浓

度。整体来看,单元阵列的单元根据本发明的方面配置用于在凝胶 42 中产生一维(线形)质子浓度形貌。

[0195] 单元的阵列包括与十个独立可控的工作电极 26a-26j(铂网,其用 0.1mm 粗金属线以 0.1mm 间隙来制成)相对的单个对电极(铂片),每个工作电极 26 通过电极分离器 46a-46i(0.1mm 玻璃墙)与相邻的工作电极 26 分开。工作电极 26a-26j 离膜 44 大约 0.5mm 和离对电极 24 大约 2mm 放置。

[0196] 在工作电极 26 和对电极 24 之间限定的体积是电解体积 28。

[0197] 由工作电极 26、一个或两个接界电极分离器 46 和膜 44 限定的体积是质子储藏体积 48a-48j,质子浓度传感器 32a-32j(例如,Orion9863BN, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 和磁搅拌器(stirrer)50a-50j 嵌在该质子储藏体积的底部上。

[0198] 为了使用,电解体积 28 和质子储藏体积 48a-48j 填充有电解溶液(例如,在水中 0.1M Na_2SO_4)。

[0199] 等电聚焦阳极 38、等电聚焦阴极 40、对电极 24、工作电极 26、质子浓度传感器 32 和搅拌器 50 都在功能上与控制器 16 关联(例如,适当配置的微处理器或具有必需的外围附件的数字计算机)。

[0200] 激活搅拌器 50 和质子浓度传感器 32。

[0201] 控制器 16 激活每个单元使得典型地 0 和大约 1mA cm^{-2} 之间(根据期望的质子浓度)的选择的电流在对电极 24 和每个工作电极 26a-26j 之间独立地建立使得 0 和大约 5V 之间的电压在对电极 24 和每个工作电极 26a-26j 之间存在。

[0202] 当系统稳定时,质子浓度梯度(基本上如在图 2B 中描绘的)在保持在对电极 24 和每个工作电极 26a-26j 之间的电解体积 28 中的包含电解质的环境中产生。如参照图 2B 论述的,在每个质子储藏体积 48a-48j 中,由于质子储藏体积 48 的小体积以及由于搅拌器 50 的作用而保持单个稳定和均匀的质子浓度。在每个质子储藏体积 48 中的质子浓度通过膜 44 影响在凝胶 42 中的质子浓度使得在给定质子储藏体积 48 中的质子浓度在与该质子储藏体积 48 紧密相邻的凝胶 42 的体积中是相同的。

[0203] 关于质子浓度传感器 32,通过对电极 24 和每个工作电极 26a-26j 之间的电流变化直到在关联的质子储藏体积 48 中产生并且探测到期望的质子浓度(如由控制器 16 指定的)。由于通过对电极 24 和每个工作电极 26a-26j 之间的电流是独立可控的,在每个质子储藏体积 48 中和随后在凝胶 42 的相邻体积中的质子浓度是分别可控的。以这样的方式,期望的指定质子浓度形貌在凝胶 42 中产生,其中每个单元在与该单元关联的凝胶 42 的体积中产生指定的质子浓度。

[0204] 用于通过等电聚焦分离的一个或多个分析物的混合物装载到凝胶 42 上并且电势(例如,700V)在等电聚焦阳极 38 和等电聚焦阴极 40 之间供应。在凝胶 42 内的质子浓度形貌引起个体分析物在混合物中根据等电点分离。个体分析物的位置采用通常的方式观察和分析。一旦分析物的混合物在第一质子浓度形貌已经被分离和分析,在工作电极 26 上的电势可选地被改变以产生不同的质子浓度形貌以便具有不同的等电分离,其也采用通常的方式观察和分析。

[0205] 例如,在实施例第一质子浓度形貌指定为具有在与工作电极 26a 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH5.0 的质子浓度,该质子浓度单调和线性地降低到在与工作电极 26j 关联

的凝胶 42 的体积中具有 pH8.0 的质子浓度,而第二质子浓度形貌指定为具有在与工作电极 26a 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH5.2 的质子浓度,该质子浓度单调和线性地降低到在与工作电极 26j 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH5.2 的质子浓度。

[0206] 例如,在实施例中第一质子浓度形貌指定为具有在与工作电极 26a 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH5.0 的质子浓度,该质子浓度单调和线性地降低到在与工作电极 26j 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH6.0 的质子浓度,而第二质子浓度形貌指定为具有在与工作电极 26a 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH5.8 的质子浓度,该质子浓度单调和线性地降低到在与工作电极 26j 关联的凝胶 42 的体积中具有 pH7.0 的质子浓度。

[0207] 在上文描述的特定示例中,在从工作电极 26a 的附近到工作电极 26j 的附近的通过凝胶 42 的方向上,质子浓度单调降低。如对本领域内技术人员是清楚的,质子浓度在通过凝胶 42 的方向上的变化可以是基本上任何期望的函数、单调的或非单调的。

[0208] 根据本发明的教导配置用于产生质子浓度形貌并且对于等电聚焦有用的装置的另外的实施例,装置 52 在图 4A(透视图)、4B(侧视图)和 4C(顶视图)中描绘。

[0209] 装置 52 基本上类似于装置 36 但包括许多显著的区别。一个区别是不是有一个起与多个工作电极 26a-26j 相对的作用的对电极 24 而正相反有多个独立的对电极 24a-24j,每个在功能上与相应的工作电极 26a-26j 关联。另外的区别是电极分离器 46a-46i 分开相邻对电极 24a-24j 以及相邻工作电极 26a-26j,由此限定多个物理上离散的电解体积 28a-28j。另外,质子浓度传感器 32 嵌入凝胶 42 内且在相应对电极 24 对面的外壳 34 的壁上以便测量与在凝胶 42 内的工作电极 26 关联的体积的实际质子浓度。此外,装置 52 基本上没有质子储藏体积 48。反而,工作电极 26 和膜 44 之间的距离是非常小的,大约仅 0.1mm。

[0210] 根据本发明的教导配置用于产生质子浓度形貌并且对于等电聚焦有用的装置的另外的实施例,装置 54 在图 5A(透视图)、5B(侧视图)和 5C(顶视图)中描绘。

[0211] 装置 54 基本上类似于装置 36 和 52 但包括许多显著的区别,其中包括,装置 54 配置使得质子浓度传感器 32 被隔离免受由等电聚焦阳极 38 和阴极 40 产生的电场的影响。每个质子储藏体积 48 被分为两个部分,如在图 5B 中看出的,第一部分 48' (在图 5B 中,描绘 48a') 和第二部分 48'' (在图 5B 中,描绘 48a'')。

[0212] 质子储藏体积 48 的第一部分,例如 48a',由工作电极 26、一个或两个接界电极分离器 46 和膜 44 限定使得质子和水分子可以基本上未抑制地通过第一部分 48' 和凝胶 42 之间。

[0213] 质子储藏体积 48 的第二部分,例如 48a'',由工作电极 26、一个或两个接界电极分离器 46 限定。第二部分 48'' 由绝缘隔断 56(例如聚碳酸酯的)与第一部分 48' 并且与凝胶 42 分开,使得第二部分 48'' 和凝胶 42 之间的质子移动被抑制。质子浓度传感器 32(在图 5B 中,描绘 32a) 包含在体积 48 的第二部分 48'' 内。以这样的方式,质子浓度传感器 32 与等电聚焦阳极 38 和阴极 40 之间的电场隔离。

[0214] 根据本发明的教导配置用于产生质子浓度形貌并且对于等电聚焦有用的装置的另外的实施例,装置 58 在图 6A(透视图)和 6B(侧视图)中描绘。

[0215] 装置 58 基本上类似于装置 36、52 和 54 但包括许多显著的区别。像在装置 36 中,装置 58 包括质子储藏体积 48a-48j,其由工作电极 26、一个或两个接界电极分离器 46 和与凝胶 42 紧密关联的质子可渗透的膜 44a 限定。像在装置 54 中,质子浓度传感器 32 放置在

对电极 24 对面的外壳 34 的壁上,由质子可渗透的膜 44b 而从与凝胶 42 直接接触处分开。然而,不像在装置 54 中,在装置 58 中质子浓度传感器 32 不嵌入凝胶 42 而相反接触其表面。

[0216] 根据本发明的教导配置用于产生质子浓度形貌并且对于等电聚焦有用的装置的另外的实施例,装置 66 在图 9A(透视图)和 9B(详细顶视图)中描绘。装置 66 基本上类似于装置 36、52、54 和 58 但包括许多显著的区别。

[0217] 装置 66 包括五个独立可控的单元 12a-12e(基本上类似于在图 2A 中描绘的单元 12)的阵列。单元的阵列中的每个单元配置成在保持在质子浓度形貌通道 72 中的包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度。总体来看,单元的阵列中的每个单元配置成用于在通道 72 中产生一维(线形)质子浓度形貌。

[0218] 装置 66 提供有大的阳极浴器 68,等电聚焦阳极 38 浸入其中,和大的阴极浴器 70,等电聚焦阴极 40 浸入其中。

[0219] 在装置 66 中,每个单元 12 的部件与质子浓度形貌通道 72 隔离且在容器 14 的分离的体积中以保护这些部件不受在阳极 38 和阴极 40 之间产生的电场损害。对电极 24 和工作电极 26 隔离在体积(其也包括电解体积 28 和质子储藏体积 48)中,该体积通过构成相应的质子储藏体积 48 的一部分的狭窄管道与质子浓度形貌通道 72 流动连通。在靠近每个管道的开口的质子浓度形貌通道 72 中存在的包含电解质 的环境的体积与质子储藏体积 48 一起包括与每个单元 12 关联的其中产生指定的质子浓度的体积。在质子浓度形貌通道 72 中,任意两个这样的体积之间存在界面体积,其具有与限定该界面体积的两个相邻体积的质子浓度有关的质子浓度(并且在一些情况下,具有与之相关的质子浓度梯度)。

[0220] 每个质子浓度传感器 32 与质子浓度形貌通道 72 隔离且在相应的质子浓度传感器体积 74 中,其通过狭窄管道与质子浓度形貌通道 72 流动连通。在一些实施例(没有描绘出)中泵(例如,蠕动泵)或其他适合的装置提供质子浓度传感器体积 74 和相应的质子储藏体积 48 之间的流动连通以确保测量正确的质子浓度。

[0221] 在装置 36、52、54 和 58 中,在其中产生指定质子浓度形貌的包含电解质的环境包含电解质溶液和凝胶 42。在装置 66 中,在其中产生指定质子浓度形貌的包含电解质的环境包括保持在质子浓度形貌通道 72 中的电解质溶液。

[0222] 在装置 36、52、54、58 和 66 中,配置成容纳包含电解质的环境的容器包括容器 14,其包括凝胶 42 保持在其中的部分或装置 66 的质子浓度形貌通道 72。

[0223] 在装置 36、52、54 和 58 中,配置成在包含电解质的环境的关联体积中产生指定的质子浓度个体独立可控的单元包括对电极 24、电解体积 28、工作电极 26、质子浓度传感器 32 和对于装置 36、54、58 和 66 的质子储藏体积 48。

[0224] 在装置 36 中,每个单元的电解体积没有在物理上分开并且对于所有工作电极 26a-26j 存在有单个对电极 24。然而,在电势施加在等电聚焦阳极 38 和等电聚焦阴极 40 之间的实施例中,每个工作电极 26 提供有专用对电极 24 以减小相邻单元之间的干扰常常是有利的。因此,在装置 36、52、54、58 和 66 中,每个单元包括在工作电极 26 和相应的对电极 24 之间的电解体积 28。

[0225] 在装置 36、54 和 58 中,在其中产生指定质子浓度的与单元关联 的环境的体积包括质子储藏体积 48 以及位于相应的质子储藏体积 48 附近的膜 44 和凝胶 42 的体积。在装置 52 中,在其中产生指定质子浓度的与单元关联的环境的体积包括位于相应的工作电极

26 附近的膜 44 和凝胶 42 的体积。

[0226] 在装置 36、52、54、58 和 66 中,质子浓度传感器 32 测量由单元(例如,12)产生的质子浓度并且向控制器 16 报告测量的浓度。这允许实际产生的质子浓度的监测和如果必要的话调整通过工作电极 26 和对电极 24 之间的电流以保持实际产生的质子浓度为指定的质子浓度。

[0227] 如上文描述的,当装置 36、52、54、58 和 66 操作以产生质子浓度形貌时,保持在通道 72 中的凝胶 42 或环境分为多个离散的体积,其特征不在于指定的质子浓度,每个体积与特定工作电极 26 关联并且在其附近并且在装置 36、54、58 和 66 的情况下与相应的质子储藏体积 48 关联并且在其附近。在凝胶 42 和在通道 72 中,任意两个这样的关联的体积之间(并且靠近电极分离器 46)的是界面体积,其具有与限定该界面体积的两个相邻体积的质子浓度有关的质子浓度(并且在一些情况下,具有与之有关的质子浓度梯度)。

[0228] 在一些实施例中,例如装置 36、52、54、58 或 66 等本发明的装置配置使得在凝胶 42 或质子浓度形貌通道 72 中产生的质子浓度形貌是易变的并且质子浓度形貌可按期望改变和/或随时间变化。

[0229] 在一些这样的实施例中,根据需要,控制器 16 提供有用户界面,其允许用户提供指定由每个单元产生的期望质子浓度的指令或指定期望的质子浓度形貌。当接收到用户指令时,控制器 16 改变(或保持)通过一个或多个对电极 24 和相应的工作电极 26 之间的电流以便产生期望的质子浓度形貌。

[0230] 在一些这样的实施例中,控制器 16 提供有计时器和指令,如如何作为时间的函数改变产生的质子浓度形貌。参考计时器,控制器 16 根据指令改变(或保持)通过一个或多个对电极 24 和相应的工作电极 26 之间的电流以便作为时间的函数改变产生的质子浓度形貌。电流上的改变可以是这样的以致在由单元产生的质子浓度上的改变采用逐步的方式(就是说,允许稳定在某个值并且保持在该值某段时间)或连续地改变。

[0231] 在一些实施例中,例如装置 36,每个质子储藏体积 48 提供有专用搅拌器 50。在一些实施例中,质子储藏体积没有实际的搅拌器并且均匀的质子浓度通过质子在质子储藏体积内扩散来达到。

[0232] 在一些实施例中例如装置 36、52、54、58 或 66 等装置的操作导致热的产生,特别当电流通过等电聚焦阳极 38 和等电聚焦阴极 40 之间时是这样。在一些这样的实施例中,装置提供有冷却系统,例如包括冷却包含电解质的环境的部件。在典型的示例中,例如在图 9 中描绘的装置 66 等装置在阳极浴器 68 和阴极浴器 70 的壁中提供有冷却元件。

[0233] 在上文论述的实施例中,等电聚焦在作为凝胶 42 的环境的一部分中或在通道 72 中进行,在其中产生质子浓度形貌,其是非固定化的并且是易变的。一些优势包括使用具有更大可重现性的更便宜凝胶的能力和本文论述的使用许多不同质子浓度形貌分析分析物的相同样本的可能性。

[0234] 证明当进行等电聚焦时易变质子浓度梯度的效用的实施例参照图 10A-10F 论述。在该实施例中,期望分辨具有相似的电泳迁移率但不同的等电点(例如,在 pH5.5 和在 pH6.5)的感兴趣的两种蛋白质,该两种蛋白质与三种其他的具有不同电泳迁移率和未知等电点的蛋白质一起在混合物中。图 10A-10F 中的每个示意地描绘在凝胶 42(标准电泳/等电聚焦凝胶)中混合物的五种蛋白质的位置(每个描绘为水平带),在凝胶中产生质子浓度

形貌并且其两端的电场施加在等电聚焦阳极 38 和等电聚焦阴极 40 之间。该实施例的特性是电泳分离和等电分辨 (isoelectric resolution) 在平行轴线上进行, 而不是在如本领域内已知的垂直轴线上进行。

[0235] 均匀质子浓度 (pH7) 在整个凝胶 42 中产生并且蛋白质的混合物采用通常的方式装载到凝胶 42 上。电势施加在阳极 38 和阴极 40 之间。

[0236] 在图 10A 中, 个体蛋白质由于电泳而以不同的速率移动。

[0237] 在图 10B 中, 个体蛋白质已经达到最大电泳分辨率, 其中“最快”的蛋白质在阳极 38 附近。看出感兴趣的两种蛋白质靠近在一起。

[0238] 在图 10C 中, 产生复杂质子浓度形貌以进一步分辨感兴趣的蛋白质。在中心区域 76 (其中发现感兴趣的两种蛋白质的凝胶 42 的体积) 中, 质子浓度单调地从 pH2 (在阳极 38 侧) 降低到 pH10 (在阴极 40 侧)。从朝向阴极 40、阴极区域 78 (包括两种“不需要的”蛋白质的凝胶 42 的体积) 的具有 pH2 的中心区域 76 的末端, 质子浓度从 pH2 单调地降低到阴极 40 附近的 pH10。从朝向阳极 38、阳极区域 80 (包括“不需要的”蛋白质的凝胶 42 的体积) 的具有 pH10 的中心区域 76 的末端, 质子浓度从 pH10 单调地增加到阳极 38 附近的 pH2。

[0239] 在图 10D 中, 在阴极区域 78 和阳极区域 80 中的三种“不需要的”蛋白质各移动到相应靠近凝胶 42 的边缘的等电点, 同时在中央区域 76 中感兴趣的两种蛋白质不断增加地在空间上分辨, 其由于产生于参照图 10C 描述的质子浓度形貌和施加在阳极 38 和阴极 40 之间的电势的等电聚焦引起。

[0240] 在图 10E 中, 中心区域 76 被拉长, 增加感兴趣的两种蛋白质的空间分辨率。阴极区域 78 和阳极区域 80 变得更小, 迫使三种“不需要的”蛋白质更靠近在一起。

[0241] 在图 10F 中, 在中心区域 76 中感兴趣的两种蛋白质在空间上很好地分辨。

[0242] 从而, 使用易变质子浓度形貌, 本发明提供使用等电聚焦分析分析物的方法, 如上文描述的, 其中选择第二非固定化质子浓度形貌使得感兴趣的成分在空间上分辨所达的程度比之前的非固定化质子浓度形貌中的更大。

[0243] 在本发明的一些实施例中, 等电聚焦在作为例如液体 (例如, 电解质溶液) 等流体的环境中进行, 例如在装置 66 的通道 72 中或在一些凝胶 42 被移除并且用电解质溶液代替的这样的环境中进行。在液体中进行等电聚焦的一些优势是更低的价格、分析之间的环境的更简单的替换和当大分析物分子通过在凝胶内的通道时没有出现筛选效应。如上文论述的, 流体环境的使用还允许基于分离方法 (例如等电聚焦等) 的制备方法的简单实现。

[0244] 在上文论述的实施例中, 在凝胶 42 中环境的两个相邻体积之间的离子的移动基本上未被抑制, 是适合许多用途 (例如等电聚焦) 的配置。

[0245] 在一些实施例中, 两个相邻体积之间的离子的移动被抑制。例如, 其中相邻体积之间的离子移动基本上被抑制的一个这样的实施例与在图 3 中描绘的装置 36 相似, 其中凝胶 42 用绝缘玻璃板代替。在这样的实施例, 在其中产生指定的质子浓度的与个体单元关联的环境的体积仅包括相应的质子储藏体积 48。这样的实施例例如对数据显示是有用的。

[0246] 为了使用, 质子储藏体积 48 和电解体积 28 填充有包含电解质的环境和具有取决于环境中的质子浓度的外观的 pH 灵敏指示剂, 例如 Yamada 通用 pH 指示剂 (参见例如, Foster SF 和 Gruntfest 在 J. Chem. Educ. 1937, 14, 274 中)。激活这些个体单元以在相应

的质子储藏体积 48 中产生指定的质子浓度。在质子储藏体积 48 中的指示剂采用取决于产生的质子浓度的颜色。指定每个质子储藏体积 48 中的质子浓度使得那时质子储藏体积 48 的总体外观（其具有如通过在环境中的 pH 指示剂使之变得明显的产生的质子浓度形貌）构成数据的显示（例如图像）。

[0247] 如对本领域内技术人员清楚的，使用与如上文描述的装置 36 相似的具有单元的一维阵列的产生一维装置浓度形貌的装置的数据显示被限制。具有单元的二维阵列以产生二维质子浓度形貌的类似装置 具有更大的效用，特别对实际图像的显示是这样。

[0248] 尽管描述了用于显示数据的方法和装置的实施例，其中两个相邻体积之间的离子的移动被抑制，在一些用于数据显示的实施例中两个相邻体积之间的离子的移动基本上未被抑制。

[0249] 本发明的实施例在除等电聚焦和数据显示之外的领域中是有用的，例如在微流体 (microfluidics) 和芯片缩微实验室 (lab-on-chip) 应用中是有用的。

[0250] 本发明的教导可由具有本领域内普通技术的人当细读说明书和图时使用通常的技术和方法（例如作为在微电子和微流体的领域中已知的）实现。

[0251] 实验的

[0252] 用于产生指定质子浓度的装置

[0253] 用于在包含电解质的液体环境中产生质子浓度的装置的实施例，根据本发明的教导制造并且使用装置 60 以产生指定的质子浓度。装置 60 在图 7A 中采用顶视图示意性地描绘。

[0254] 装置 60 的外壳 34 是 4cm 长 (y 维度)、3cm 宽 (x 维度) 和 2cm 高 (z 维度) 的聚甲基 (丙烯酸甲酯) (polymethyl (methacrylate)) (**Perspex®**) 块，其中挖出容器 14 以容纳单元 12 用于在包含电解质的环境中产生指定的质子浓度，单元 12 是 1cm 长 (y 维度)、0.6cm 宽 (x 维度) 和 1cm 深 (z 维度)。0.1mm 厚铂网的对电极 24 沿单元 12 的壁放置。工作电极 26 放置在容器 14 内，其平行于对电极 24 并且与其间隔 2mm。质子浓度传感器 32 (Orion 9863BN, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 放置在对电极 24 的对面的单元 12 的壁上，且在体积 30 内。

[0255] 容器 14 填充有水中 0.1M Na₂SO₄ 的电解质溶液。质子浓度传感器 32 连接到适合的显示装置以指示由该传感器在体积 30 中测量什么质子浓度。

[0256] 装置 60 用于在保持在体积 30 中的环境中产生指定的质子浓度。对电极 24 和工作电极 26 在功能上与可变电源关联以建立电路。可变电源用于以大约 0 和大约 5V 之间的电势使大约 0 和大约 1mA cm⁻² 之间的电流通过包括电极的电路。通过电路的电流导致在电解室 28 的体积中水的水解和质子以及羟基阴离子的产生。质子的浓度在阴极附近增加而质子的浓度在阳极附近降低。因为工作电极 26 由网制成因此对离子是可渗透的，产生的离子从工作电极 26 附近通过工作电极 26 进入体积 30 中保持的电解溶液。

[0257] 通过电路的电流的大小参考质子浓度传感器 32 的读数调节直到对应于 4.7 的 pH 的质子浓度在体积 30 中保持的电解质溶液中产生，参见图 8A。

[0258] 通过电路的电流的大小随后参考质子浓度传感器 32 的读数调节直到对应于 9 的 pH 的质子浓度在体积 30 中保持的电解质溶液中产生，参见图 8B。

[0259] 用于产生指定质子浓度形貌的装置

[0260] 用于在液体环境中产生质子浓度形貌的装置的实施例、装置 62 根据本发明的教导制造并且使用以产生指定的质子浓度形貌。装置 62 在图 7B 中采用顶视图示意性地描绘。

[0261] 装置 60 的外壳 34 是 4cm 长 (y 维度)、3cm 宽 (x 维度) 和 2cm 高 (z 维度) 的聚甲基 (丙烯酸甲酯) (Perspex®) 块, 其中挖出容器 14 以容纳两个单元 12a 和 12b, 每个用于在包含电解质的环境中产生指定的质子浓度, 每个单元 12a 或 12b 是 1cm 长 (y 维度)、0.6cm 宽 (x 维度) 和 1cm 深 (z 维度)。0.2cm 宽 (x 维度) 的不可渗透的壁 64 将对应于每个单元 12a 和 12b 的容器 14 的洞分开。0.1mm 厚铂网的对电极 24a 和 24b 分别沿单元 12a 和 12b 的壁放置。工作电极 26a 和 26b 放置在容器 14 内, 其平行于对电极 24a 和 24b 并且与其间隔 2mm。质子浓度传感器 32a 和 32b (Orion 9863BN, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 放置在对电极 24a 和 24b 的对面的单元 12a 和 12b 的壁上, 且在体积 30a 和 30b 内。

[0262] 容器 14 填充有水中 0.1M Na_2SO_4 的电解质溶液。每个质子浓度传感器 32a 和 32b 连接到适合的显示装置以指示由该传感器在对应的体积 30a 或 30b 中测量什么 pH。

[0263] 装置 62 用于在容器 14 的一部分 (包括体积 30a、30b 和在其之间的界面体积 74) 中的电解溶液中产生指定的质子浓度形貌。

[0264] 建立了两个电路, 每个电路包括电极对 24a/26a 或 24b/26b 和单独独立的可变电电源。每个可变电电源用于独立地以大约 0 和大约 5V 之间的电势使大约 0 和大约 1mA cm^{-2} 之间的电流通过相应的电路。通过电路的电流导致在电解室 28a 或 28b 的体积中水的水解和质子以及羟基阴离子的产生。质子的浓度在阴极附近增加而质子的浓度在阳极附近降低。因为工作电极 26a 和 26b 由网制成因此对离子是可渗透的, 产生的离子从工作电极 26 附近通过工作电极 26 进入保持在相应的关联体积 30a 或 30b 中的电解溶液。

[0265] 施加在对电极 24a 和工作电极 26a 之间的电流参考质子浓度传感器 32a 的读数调节直到对应于 5.2 的 pH 的质子浓度在保持在与工作电极 26a 关联的体积 30a 中的电解质溶液中测量到, 而施加在对电极 24b 和工作电极 26b 之间的电流参考质子浓度传感器 32b 的读数调节直到对应于 9 的 pH 的质子浓度在容纳在与工作电极 26b 关联的体积 30b 中的电解质溶液中测量到, 参见图 8C。

[0266] 意识到本发明的某些特征 (其为了清楚在分别的实施例的上下文中描述) 还可在单个实施例中组合提供。相反地, 本发明的各种特征 (其为了简洁在单个实施例的上下文中描述) 还可分别或以任何合适的子组合或如可适合的方式在本发明的任何其他描述的实施例中提供。在各种实施例的上下文中描述的某些特征不被看作这些实施例的必要特征, 除非该实施例没有这些元件是不能操作的。

[0267] 尽管本发明已经连同其特定实施例描述, 很明显许多备选方案、修改和变化形式对于本领域内技术人员是明显的。因此, 意在涵盖落入附上的权利要求的精神和宽范围内的所有这样的备选方案、修改和变化形式。

[0268] 在本申请中任何引用的记载或标识不应解释为准许这样的引用作为本发明的现有技术是可获得的。

[0269] 在本文中使用的章节标题以使说明书的理解容易并且不应该解释为必要的限制。

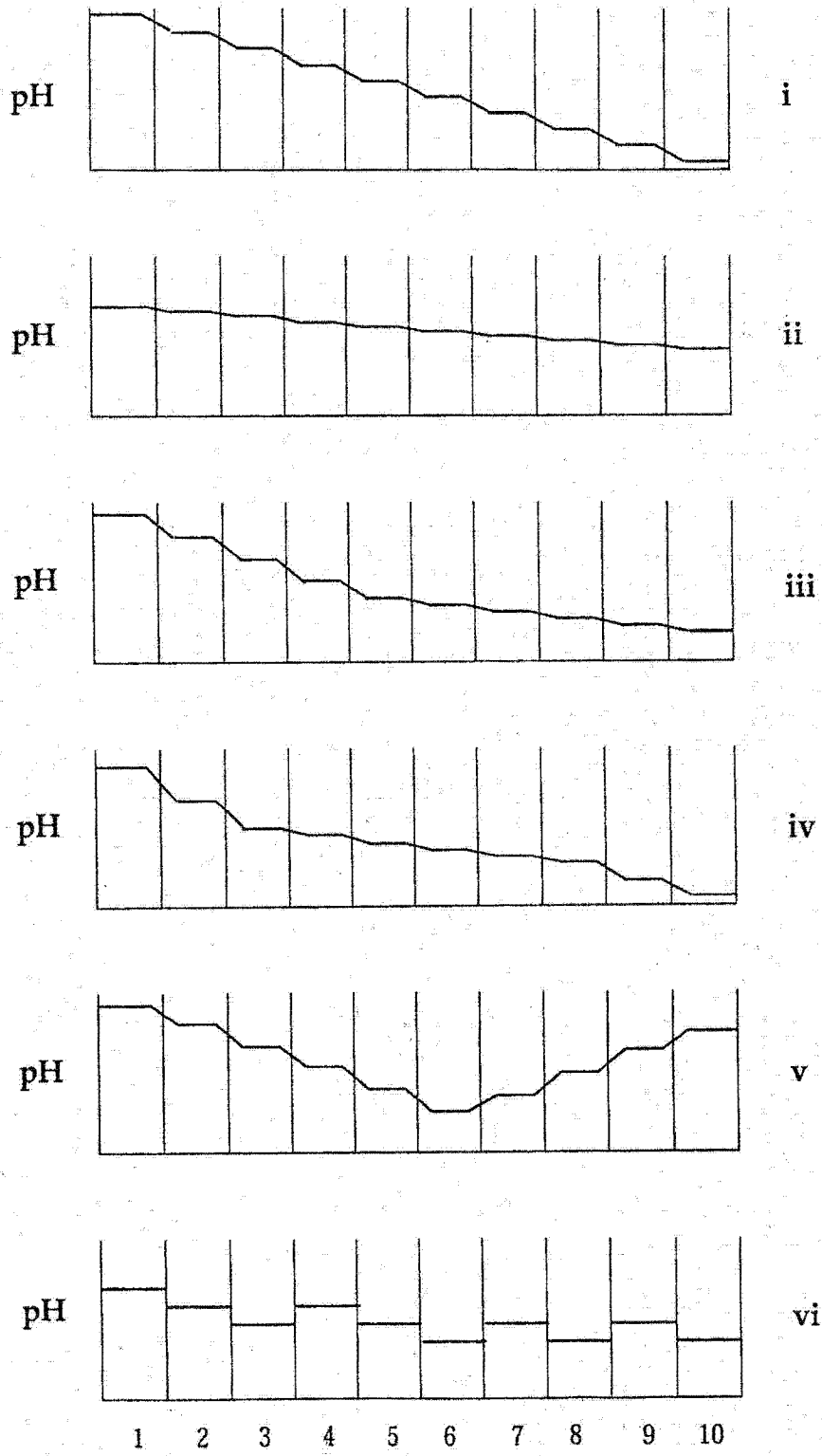
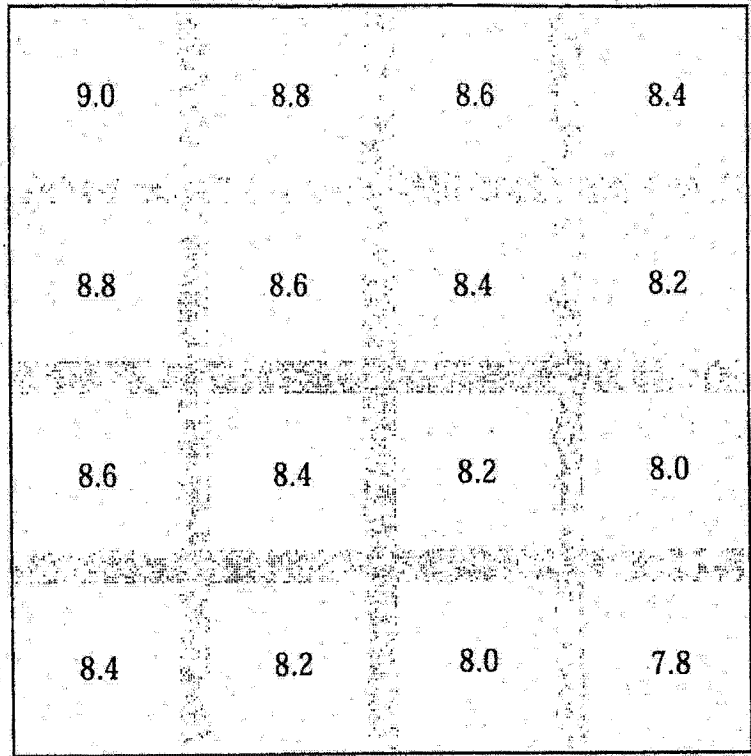
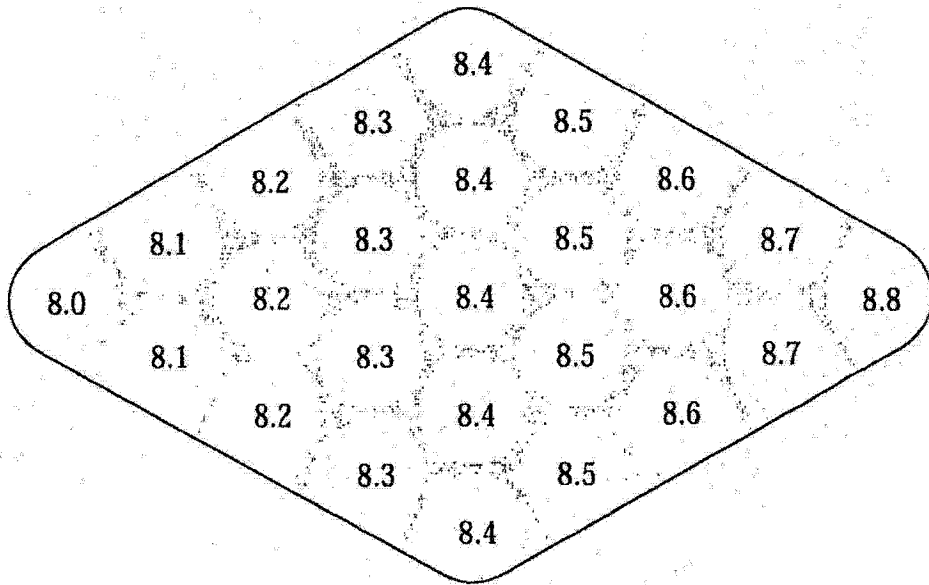


图 1A



vii



viii

图 1B

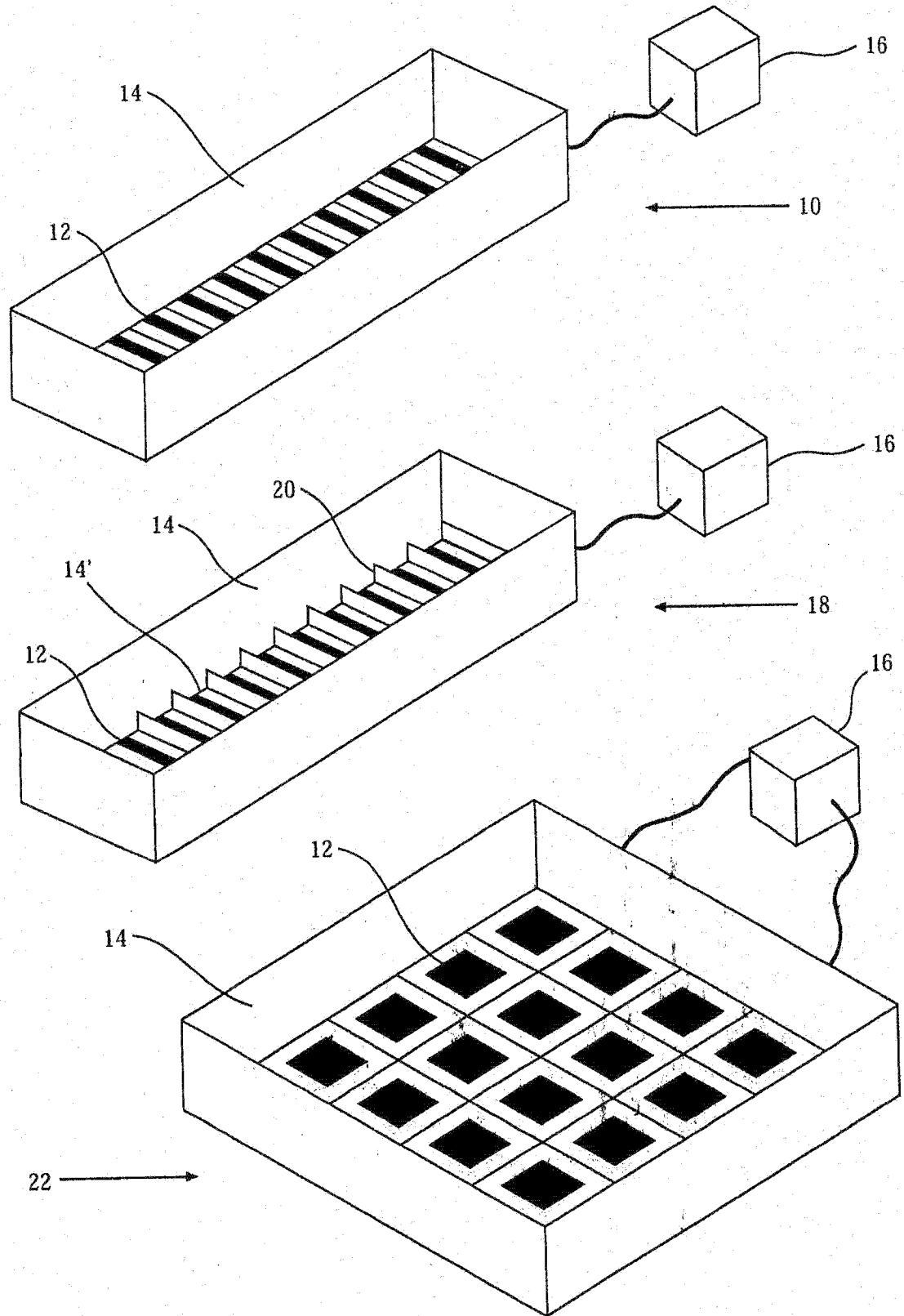


图 1C

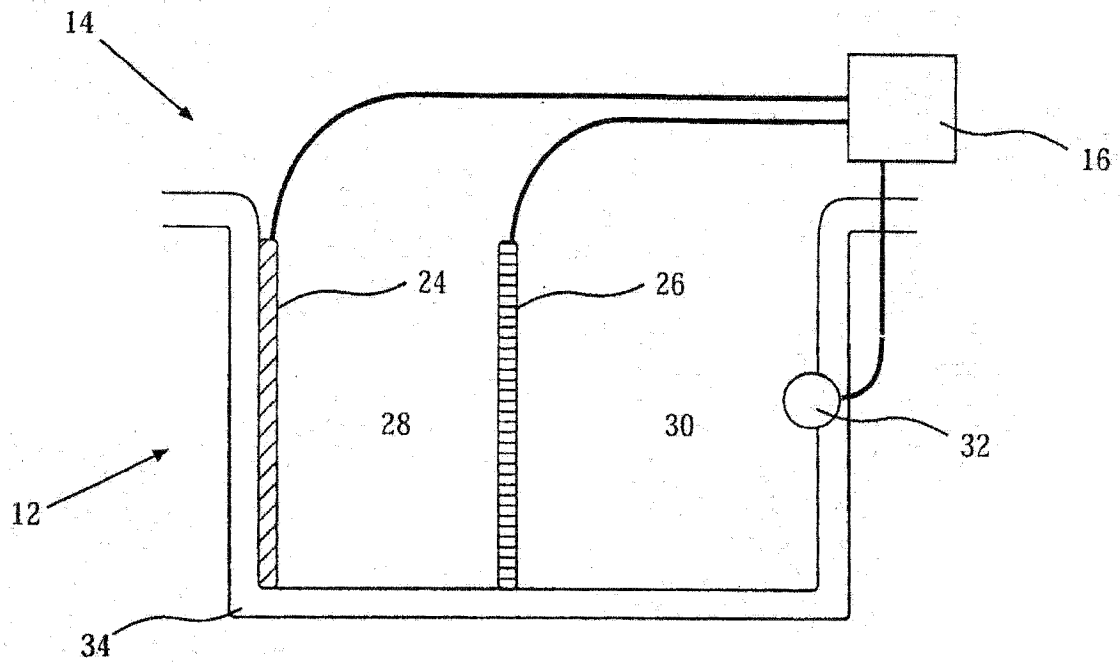


图 2A

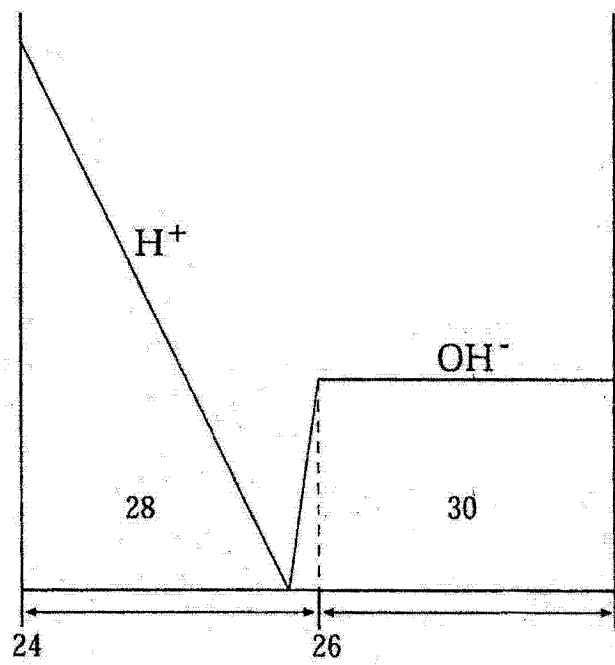


图 2B

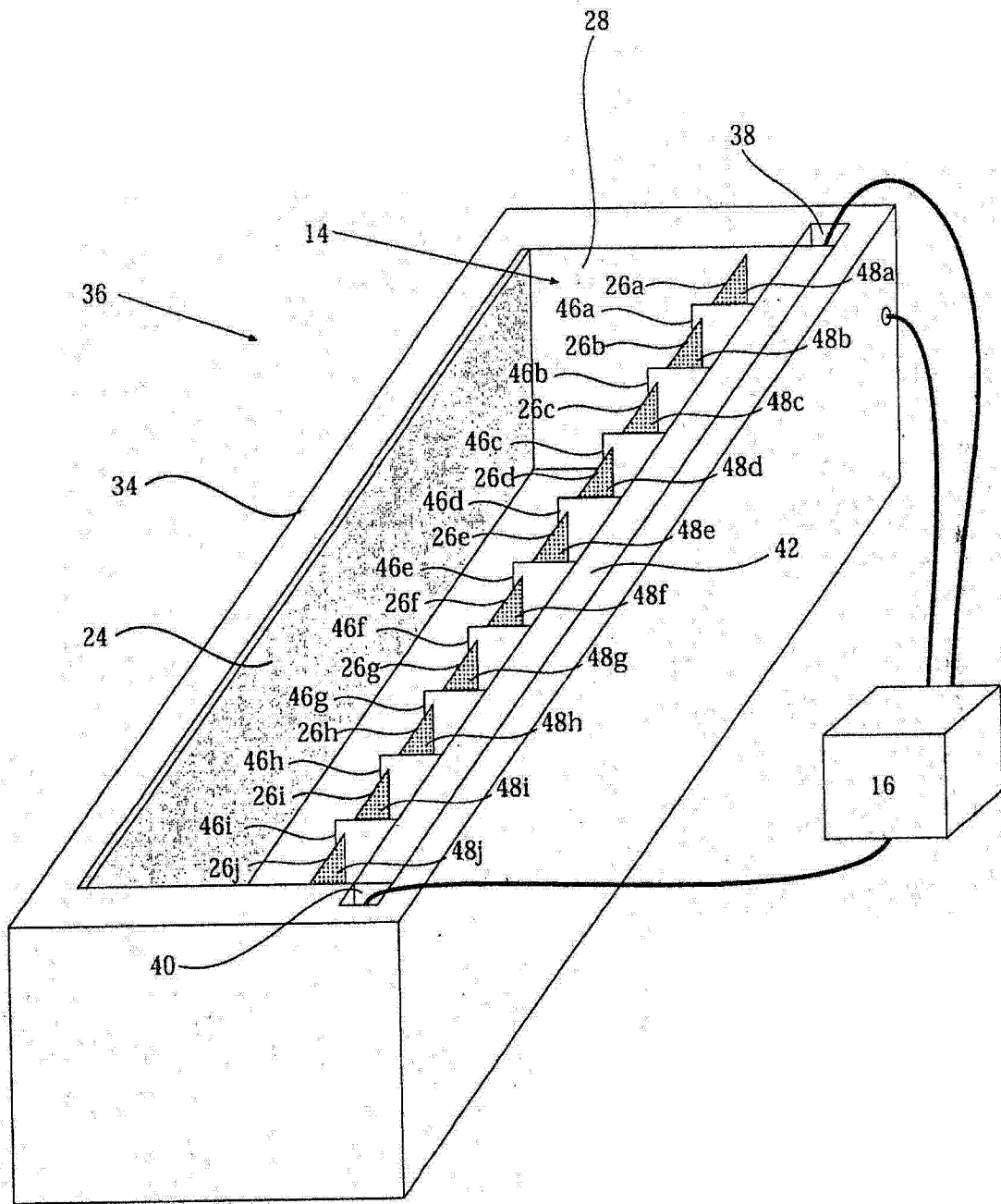


图 3A

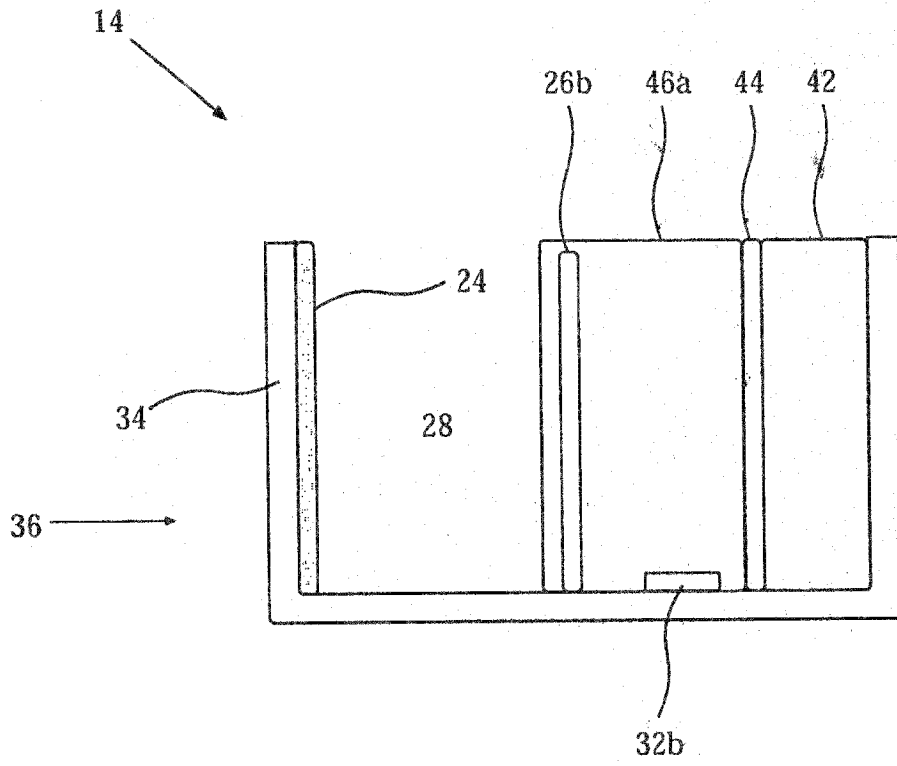


图 3B

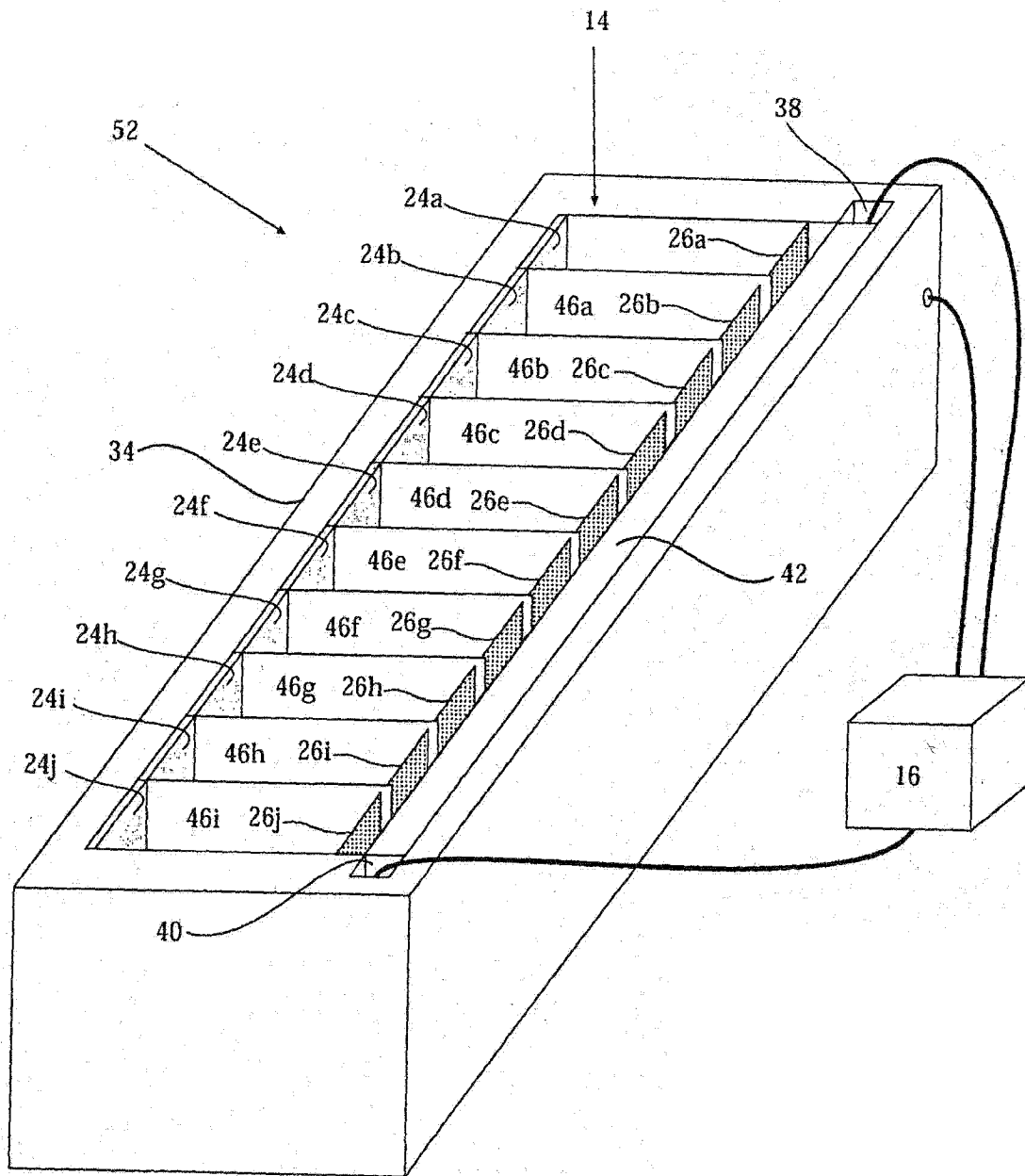


图 4A

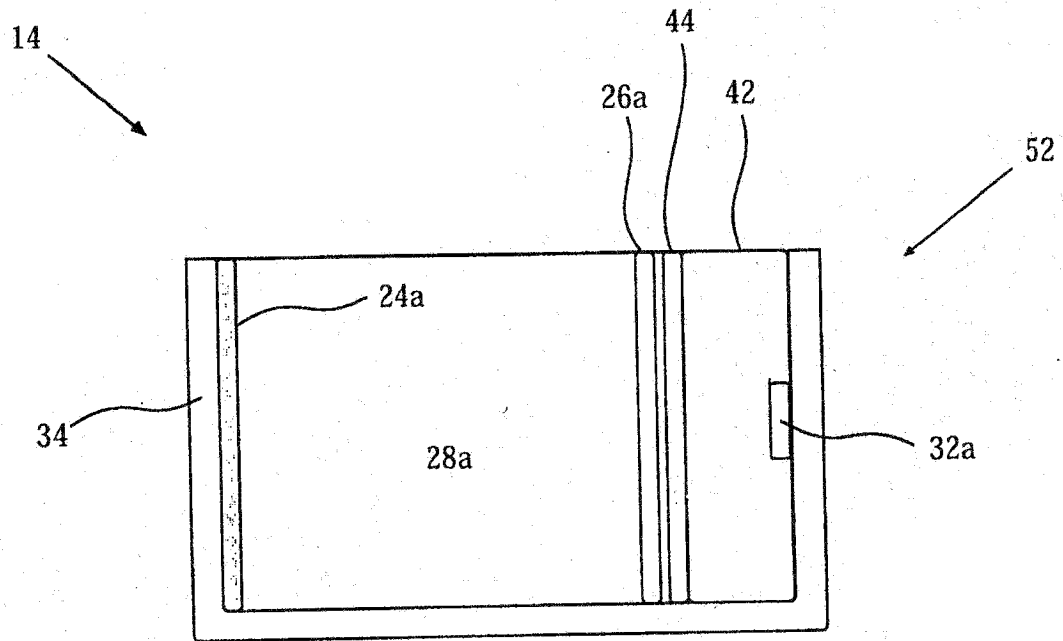


图 4B

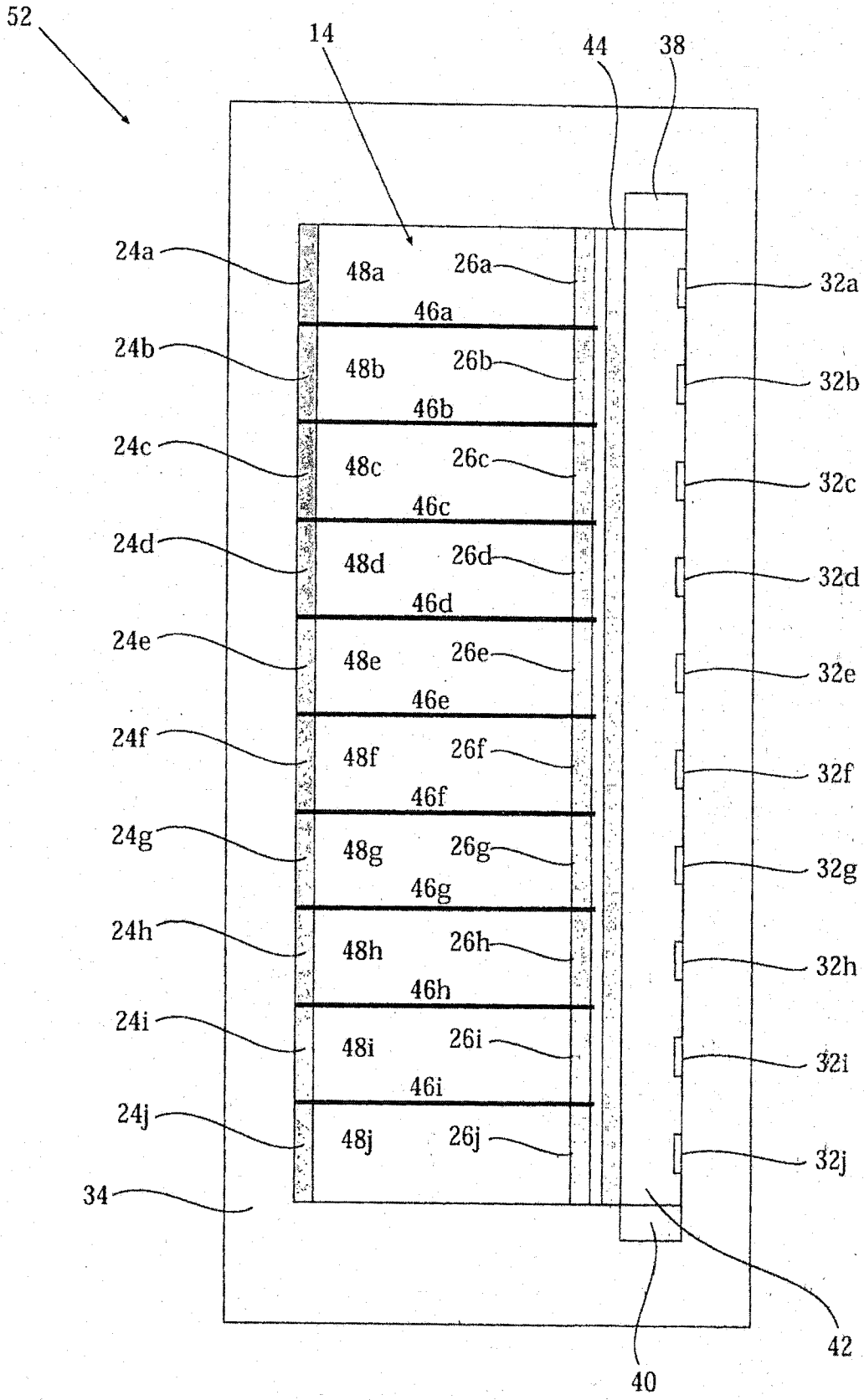


图 4C

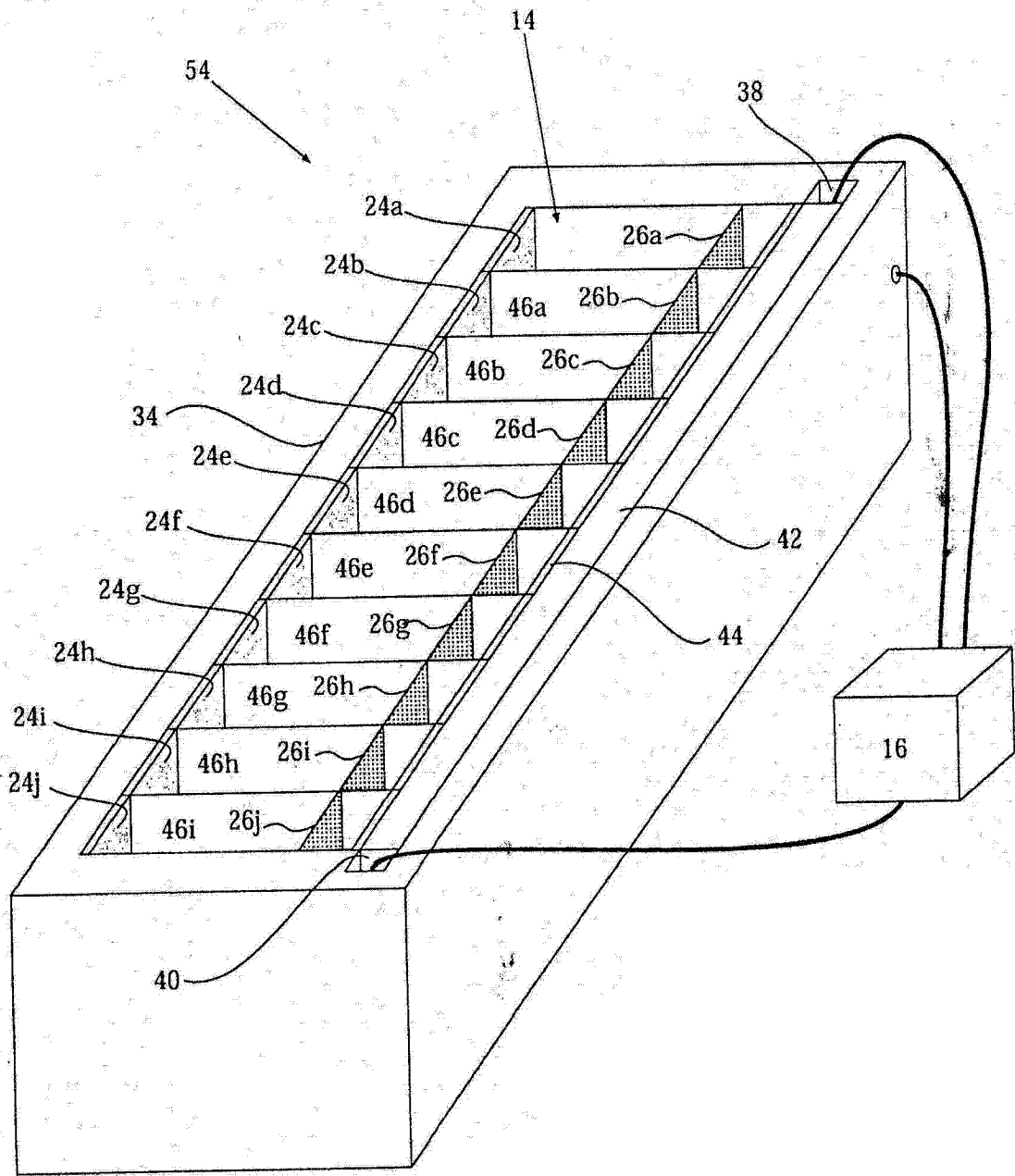


图 5A

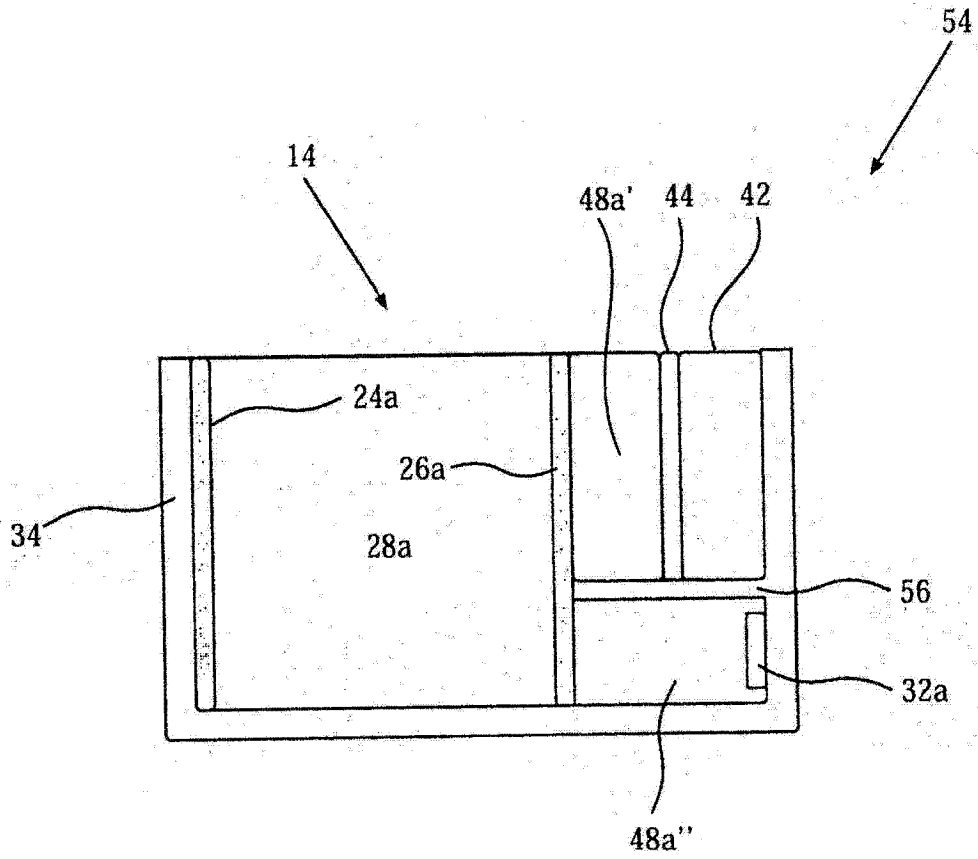


图 5B

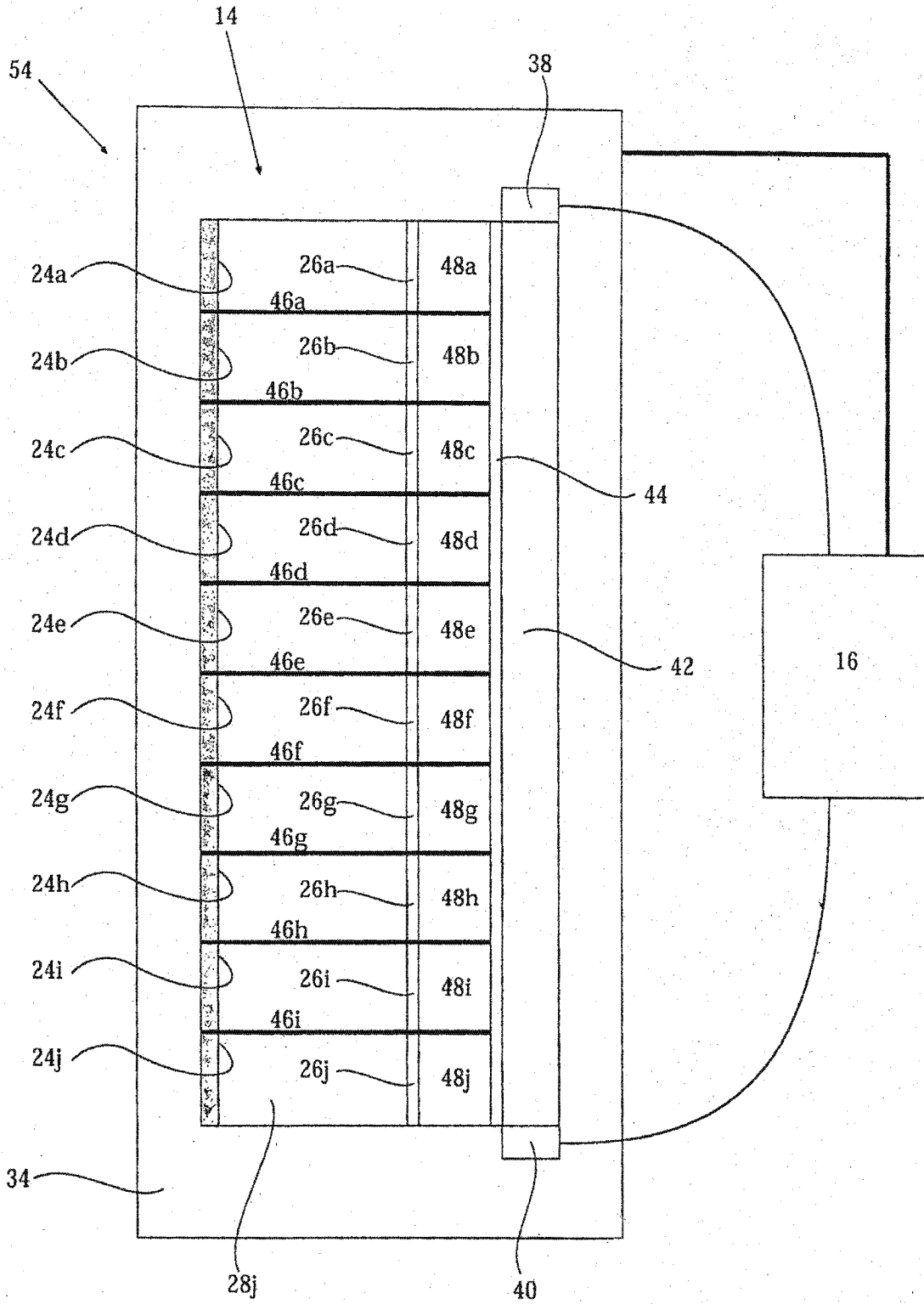


图 5C

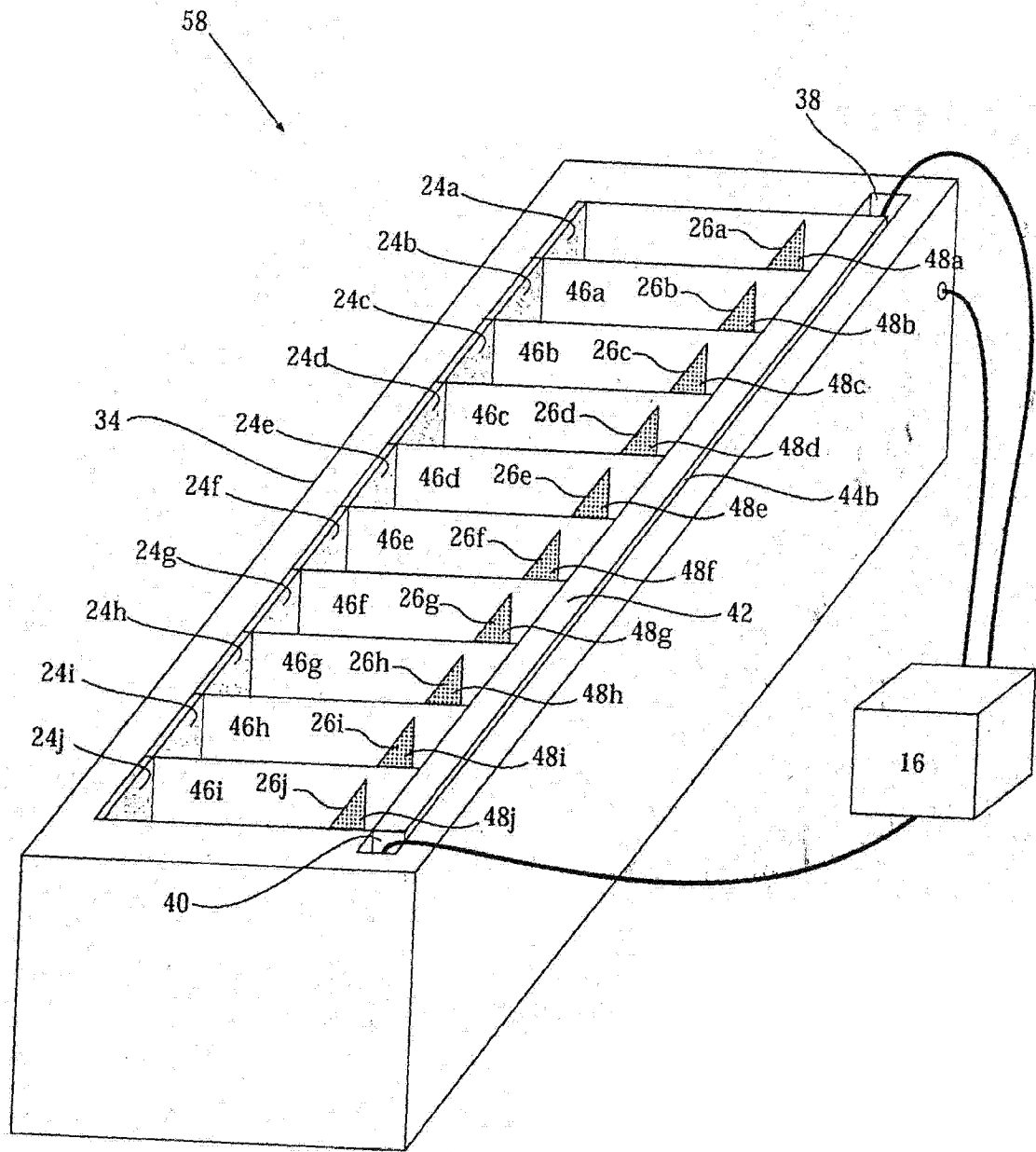


图 6A

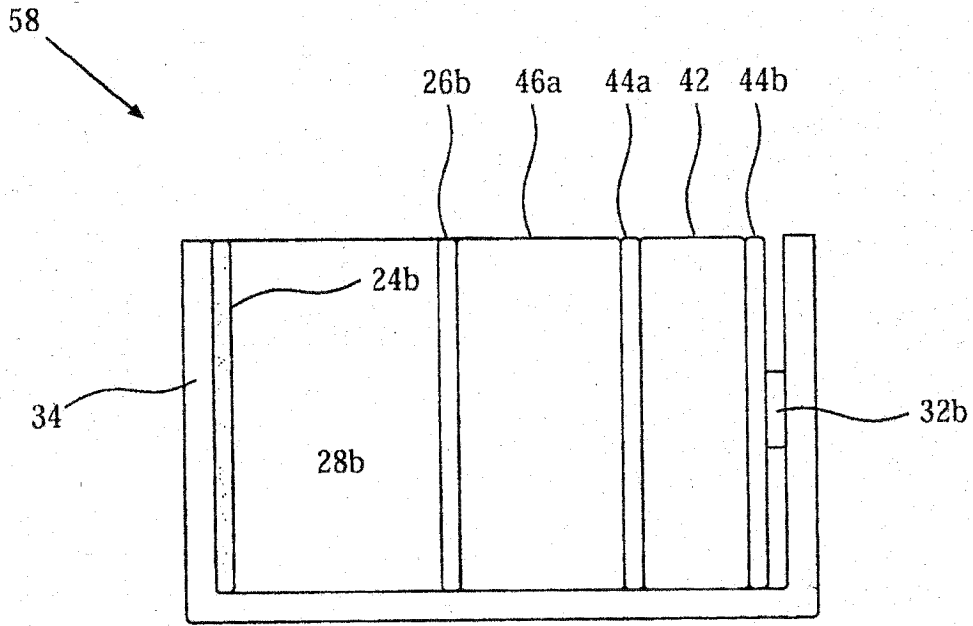


图 6B

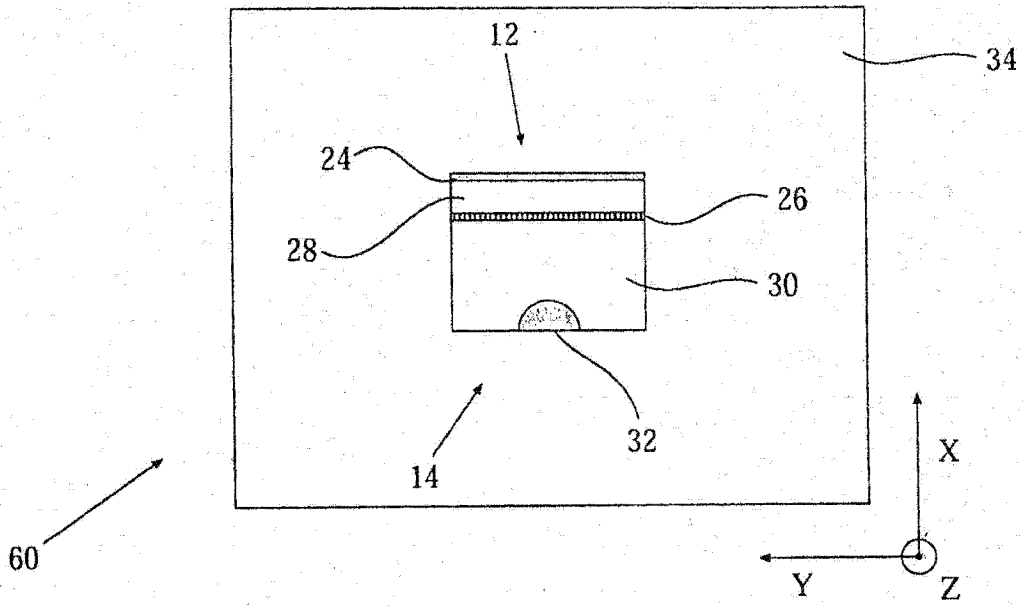


图 7A

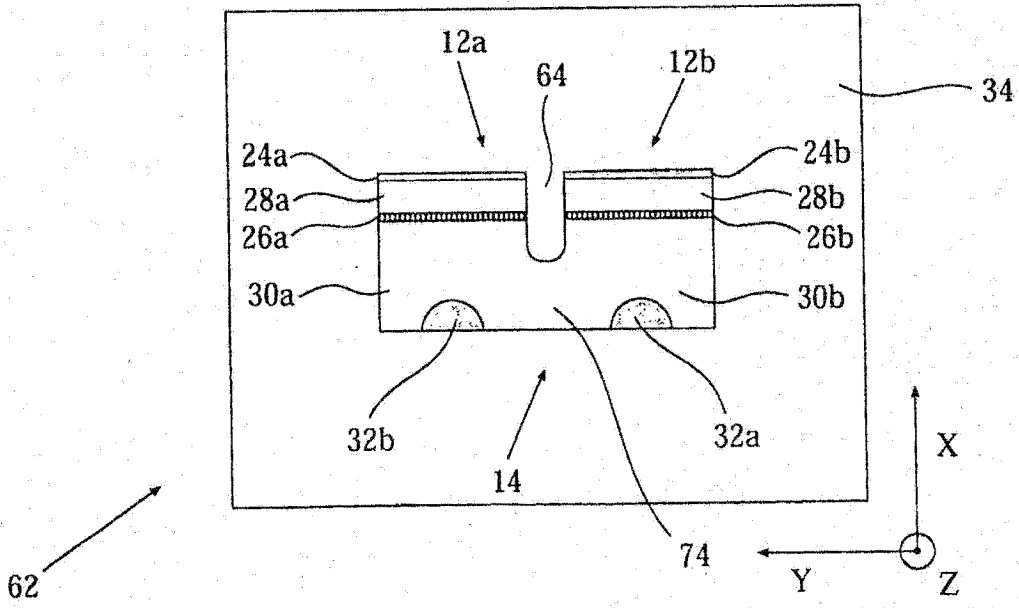


图 7B

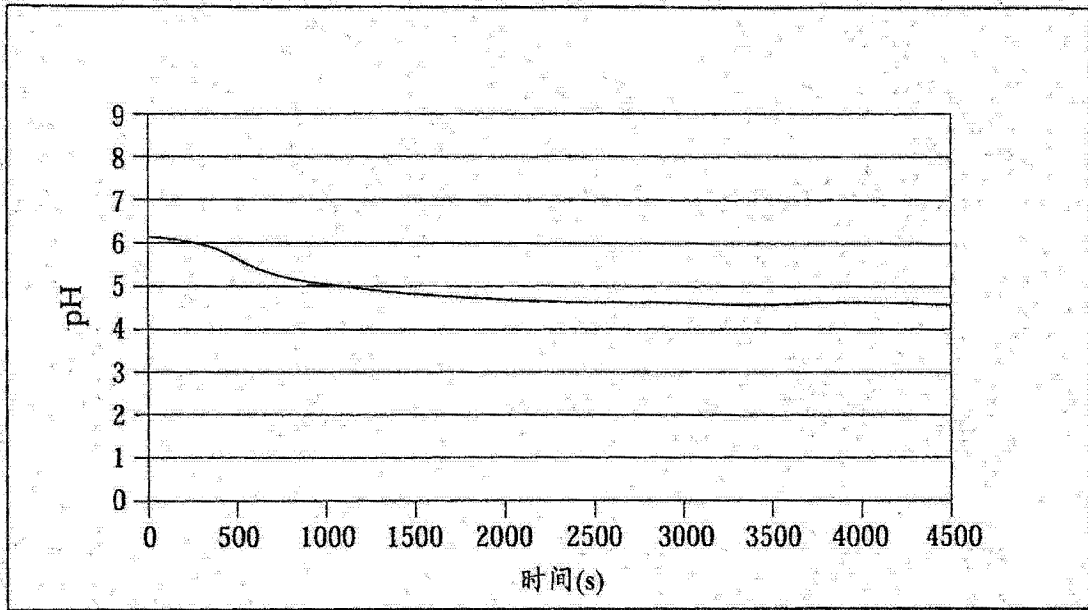


图 8A

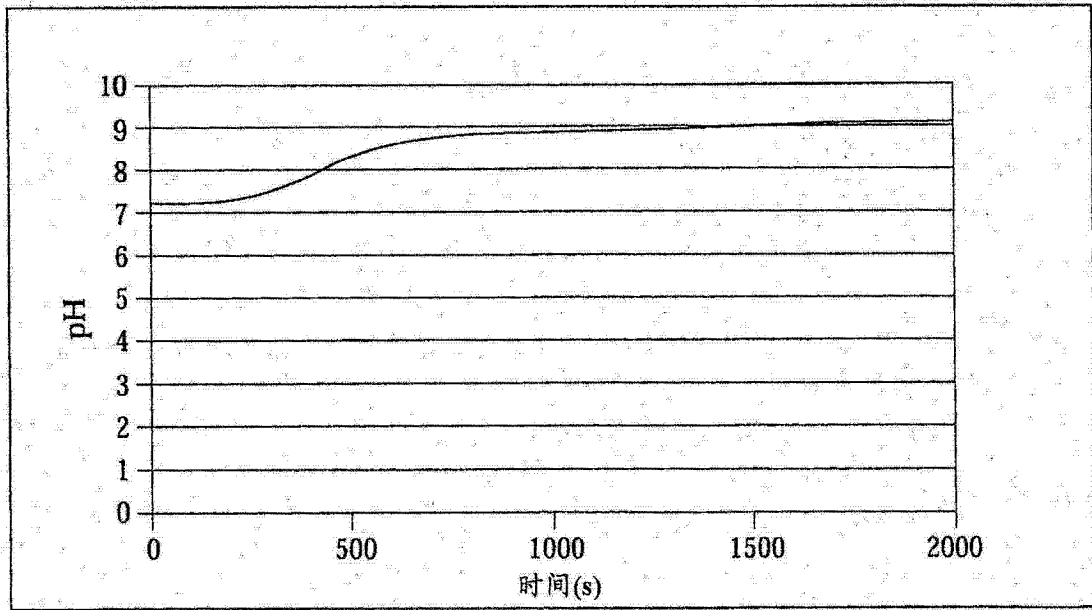


图 8B

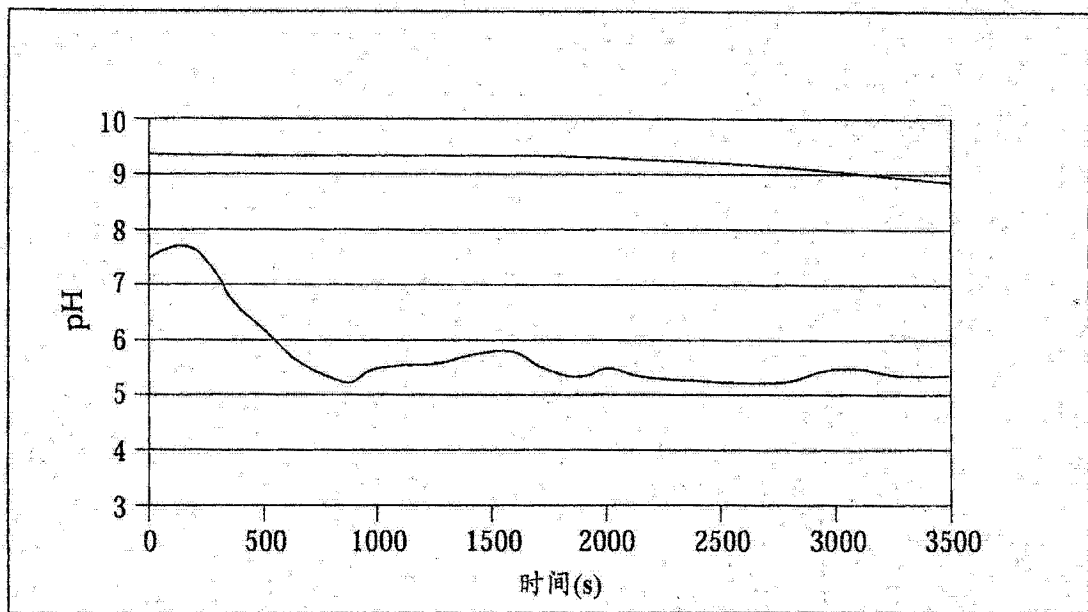


图 8C

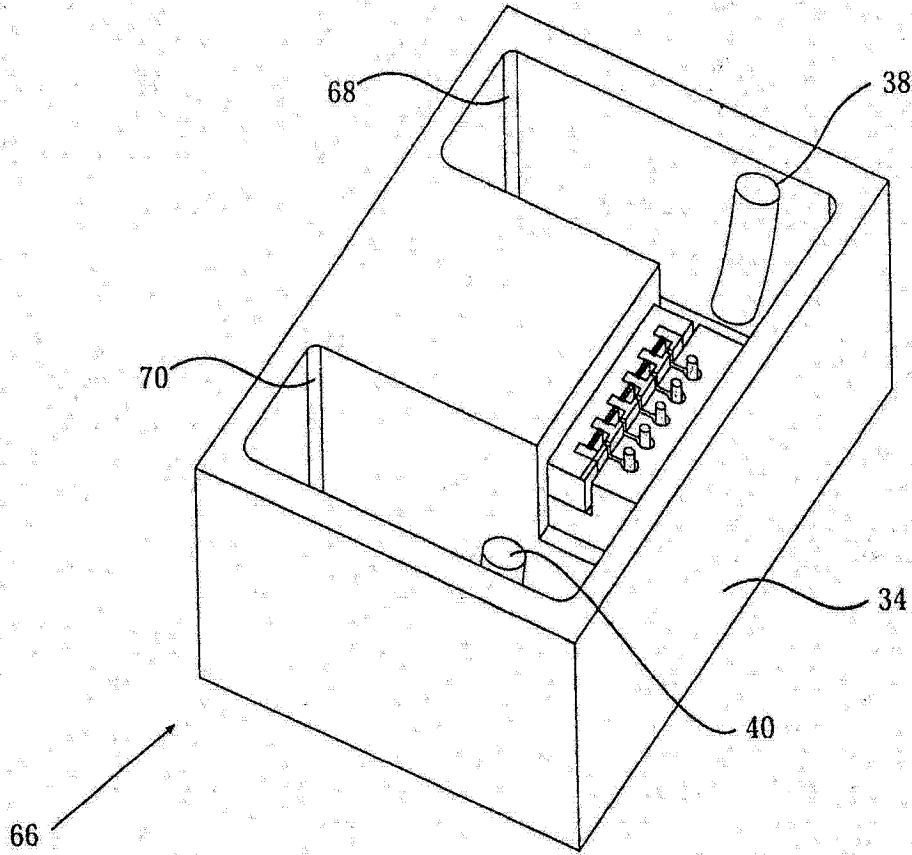


图 9A

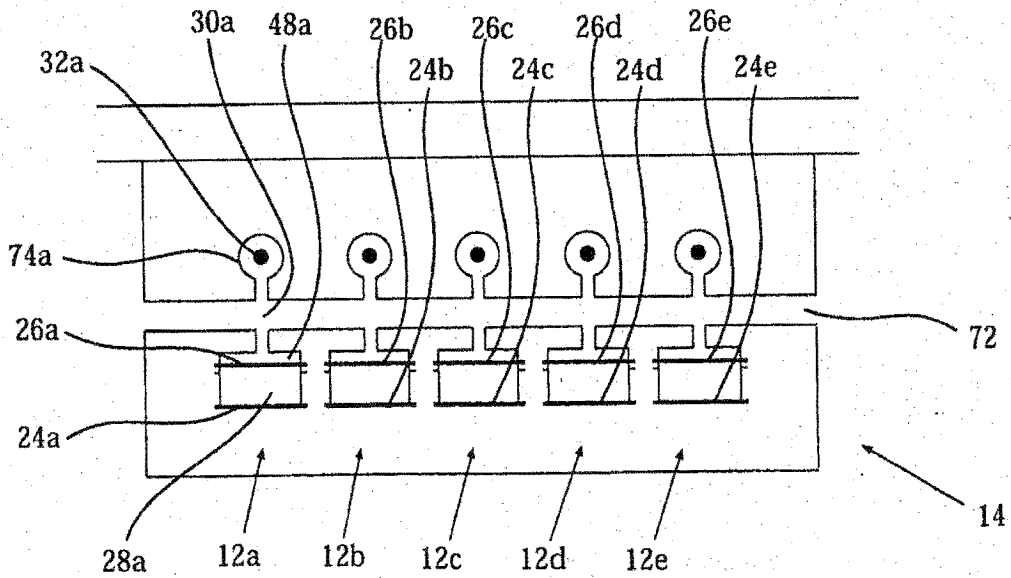


图 9B

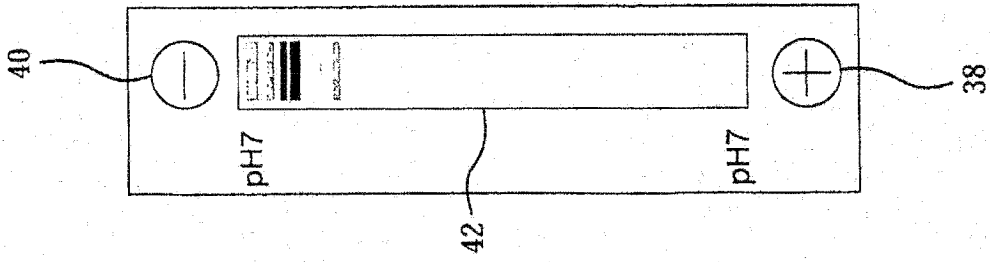


图 10A

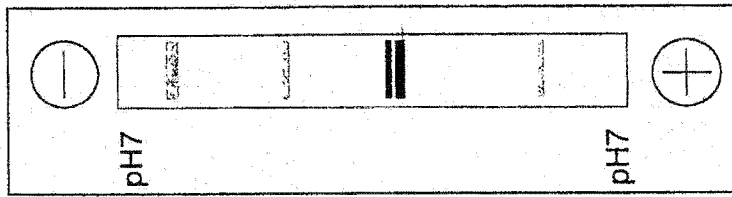


图 10B

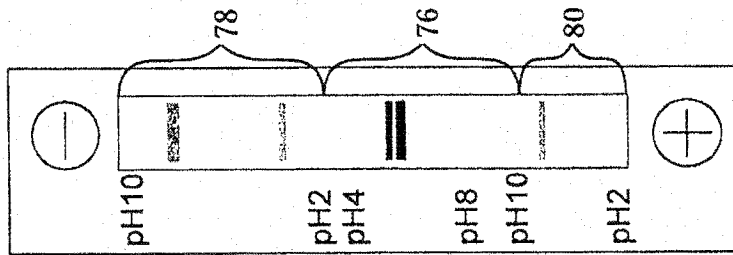


图 10C

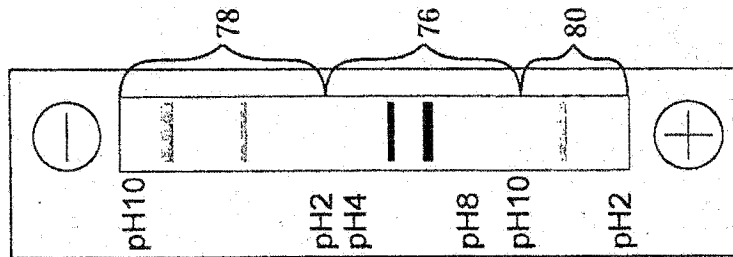


图 10D

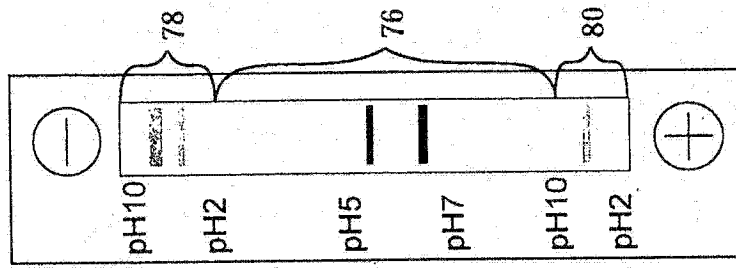


图 10E

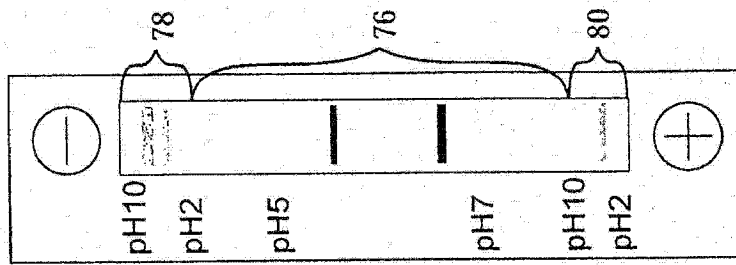


图 10F