



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106414767 A

(43)申请公布日 2017. 02. 15

(21)申请号 201580011297.4

(22)申请日 2015.01.23

(30)优先权数据

2014-011430 2014.01.24 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.08.30

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2015/052601 2015.01.23

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/111760 EN 2015.07.30

(71)申请人 量子生物有限公司

地址 日本东京

(72)发明人 川合知二 谷口正辉 大城敬人

马克·弗洛伊德·欧德涵姆

埃里克·斯科特·诺德曼

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

代理人 金海霞 杨青

(51)Int.Cl.

G12Q 1/68(2006.01)

G01N 27/447(2006.01)

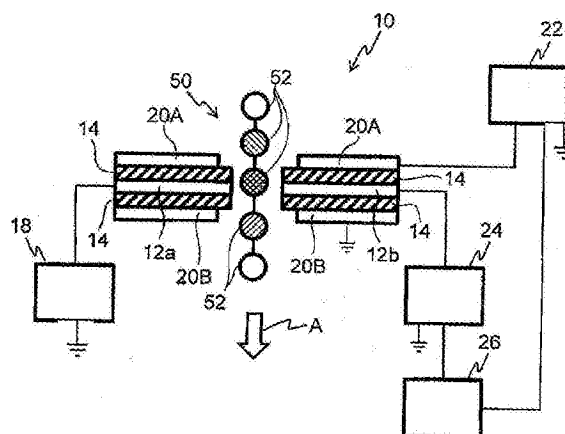
权利要求书4页 说明书19页 附图13页

(54)发明名称

生物分子的测序装置、系统及方法

(57)摘要

本公开内容提供了生物分子测序装置,所述生物分子测序装置包含:至少一组纳米间隙电极,其被布置为使得当样品中所含的生物分子穿过并接近所述至少一组纳米间隙电极时电流流动;电泳电极对,其用于形成电场以使得生物分子从所述至少一组纳米间隙电极的电极之间穿过;用于使样品在朝向纳米间隙电极对的方向上流动的流动路径;用于使样品在远离纳米间隙电极对的方向上流动的流动路径;测定单元,其被构造为测定当生物分子利用形成的电场从纳米间隙电极对的电极之间穿过时生成的隧道电流;和鉴定单元,其被构造为对生物分子进行测序。



1. 一种生物分子测序装置,其包含:

纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过所述纳米通道;

在所述纳米通道中的多组纳米间隙电极,其中所述多组纳米间隙电极中的每组被构造为允许在所述样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流,并且其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着所述纳米通道的宽度具有不同的电极间距离;和

电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动穿过所述纳米通道并接近所述纳米通道中的所述多组纳米间隙电极。

2. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其还包含:

与所述多组纳米间隙电极中的每组通讯的测定单元,其中所述测定单元被构造为测定当所述生物分子穿过并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和

与所述测定单元通讯的鉴定单元,其中所述鉴定单元被构造为鉴定所述生物分子或其部分。

3. 根据权利要求2所述的生物分子测序装置,其中所述生物分子包括多种单体,并且其中所述鉴定单元被构造为基于至少一种已知类型单体的参比物理量和由所述测定单元所测定的电流获得的物理量来鉴定所述多种单体。

4. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其还包含被构造为产生与所述纳米通道流体连通的第一流动路径和第二流动路径的流动引导器,其中所述流动引导器将一部分样品从所述第一流动路径引导至所述纳米通道且将剩余样品从所述第一流动路径引导至所述第二流动路径。

5. 根据权利要求4所述的生物分子测序装置,其中所述流动引导器是沿着样品经所述纳米通道移动的方向朝着所述多组纳米间隙电极延伸的绝缘体。

6. 根据权利要求4所述的生物分子测序装置,其还包含在所述第一路径和/或所述第二流动路径中的允许生物分子线性化的一个或多个柱。

7. 根据权利要求6所述的生物分子测序装置,其中所述一个或多个柱包含众多个柱。

8. 根据权利要求4所述的生物分子测序装置,其中所述第一流动路径、所述第二流动路径和所述纳米通道基本上在同一平面中。

9. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其中所述电流包括隧道电流。

10. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其中所述多组纳米间隙电极中的给定的一组具有至少两个电极。

11. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其中所述电泳电极组具有至少两个电极。

12. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其中所述多组纳米间隙电极和所述电泳电极组被集成为单片单元。

13. 根据权利要求12所述的生物分子测序装置,其中所述多组纳米间隙电极中的给定一组的电极与所述电泳电极通过至少一个固态绝缘体隔开。

14. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其还包含在所述纳米通道中的允许所述生物分子线性化的一个或多个柱。

15. 根据权利要求14所述的生物分子测序装置,其中所述一个或多个柱包含众多个柱。

16. 根据权利要求1~15中任一项所述的生物分子测序装置,其中所述纳米通道朝着所述多组纳米间隙电极锥形化。

17. 根据权利要求1所述的生物分子测序装置,其中所述多组纳米间隙电极中的给定的一组具有小于或等于所述生物分子的分子直径的电极间距离。

18. 一种生物分子测序装置,其包含:

纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过所述纳米通道;

在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在所述样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,其中所述纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化,并且其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于所述生物分子的分子直径的电极间距离;和

电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动穿过所述纳米通道并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极。

19. 一种生物分子测序装置,其包含:

纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过所述纳米通道;

在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在所述样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流;

电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动穿过所述纳米通道并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;和

在所述纳米通道中或接近所述纳米通道的一个或多个柱,其中所述一个或多个柱使所述生物分子线性化,从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定所述生物分子的单个亚单元。

20. 一种生物分子的测序方法,其包括:

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的多组纳米间隙电极,其中所述多组纳米间隙电极中的每组被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流,并且其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着所述纳米通道的宽度具有不同的电极间距离,和 (ii) 电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道,并接近所述纳米通道中的所述多组纳米间隙电极;

(b) 利用所述多组纳米间隙电极,检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中所述生物分子包括多种单体,并且其中所述测序包括基于至少一种已知类型单体的参比物理量和由 (b) 中检测的电流获得的物理量来鉴定所述多种单体。

22. 根据权利要求20所述的方法,其中所述生物分子测序装置还包含被构造为产生与所述纳米通道流体连通的第一流动路径和第二流动路径的流动引导器,并且其中 (a) 包括使一部分样品从所述第一流动路径流向所述纳米通道并且使剩余样品从所述第一流动路径流向所述第二流动路径。

23. 根据权利要求22所述的方法, 其还包括在所述第一路径和/或所述第二流动路径中的允许所述生物分子线性化的一个或多个柱。

24. 根据权利要求20所述的方法, 其中所述电流包括隧道电流。

25. 根据权利要求20所述的方法, 其还包括在所述纳米通道中的使所述生物分子线性化的一个或多个柱。

26. 根据权利要求20所述的方法, 其中所述纳米通道朝着所述多组纳米间隙电极锥形化。

27. 根据权利要求20所述的方法, 其中所述生物分子是多核苷酸或多肽。

28. 一种生物分子的测序方法, 其包括:

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道, 其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极, 其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流, 其中所述纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化, 其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于所述生物分子的分子直径的电极间距离, 和 (ii) 电泳电极组, 其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道, 并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;

(b) 利用所述至少一组纳米间隙电极, 检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流; 和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

29. 一种生物分子的测序方法, 其包括

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道, 其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极, 其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流, (ii) 电泳电极组, 其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道, 并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极, 和 (iii) 在所述纳米通道中或接近所述纳米通道的一个或多个柱, 其中所述一个或多个柱使所述生物分子线性化从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定所述生物分子的单个亚单元;

(b) 利用所述至少一组纳米间隙电极, 检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流; 和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

30. 一种计算机可读介质, 其包含在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法的机器可执行代码, 所述测序方法包括:

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道, 其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的多组纳米间隙电极, 其中所述多组纳米间隙电极中的每组被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流, 并且其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着所述纳米通道的宽度具有不同的电极间距离, 和 (ii) 电泳电极组, 其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道, 并接近所述纳米通道中的所述多组纳米间隙电极;

(b) 利用所述多组纳米间隙电极,检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

31. 一种计算机可读介质,其包含在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法的机器可执行代码,所述测序方法包括:

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,其中所述纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化,其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于所述生物分子的分子直径的电极间距离,和 (ii) 电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道,并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;

(b) 利用所述至少一组纳米间隙电极,检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

32. 一种计算机可读介质,其包含在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法的机器可执行代码,所述测序方法包括:

(a) 引导所述生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含 (i) 在所述纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的所述生物分子穿过所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,和 (ii) 电泳电极组,其提供电场使得所述生物分子移动至所述纳米通道或穿过所述纳米通道,并接近所述纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极,和 (iii) 在所述纳米通道中或接近所述纳米通道的一个或多个柱,其中所述一个或多个柱使所述生物分子线性化从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定所述生物分子的单个亚单元;

(b) 利用所述至少一组纳米间隙电极,检测当所述生物分子流经所述纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和

(c) 利用在 (b) 中检测的电流对所述生物分子或其部分进行测序。

生物分子的测序装置、系统及方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于测序的装置、方法和系统。

背景技术

[0002] 常规来讲,测序已经被用于确定构成生物分子、特别是生物聚合物的单体的顺序,例如构成蛋白质的氨基酸序列、构成核酸的核苷酸序列、构成糖链的单糖序列等。例如,已经使用可基于酶分解的高效液相色谱 (HPLC)、质谱、X射线晶体结构分析、Edman降解等确定蛋白序列。

发明内容

[0003] 技术问题

[0004] 使用隧道电流鉴定单个分子的单分子电测法是能够通过直接测定样品分子的局域态密度而鉴定单个分子的方法。然而,在本文中认识到有多种与这种电测法相关的限制。对于基于样品分子的天然扩散的方法,如在常规单分子电测法中的样品分子导入法中,大多数样品分子可能在与样品分子相关的信号的测定中间扩散性地改变路线或方向而不穿过感测电极。这可能导致错误的结果和无效的测序。一个问题是,难以进行对于具有核酸碱基、糖链、肽链等的生物聚合物的测序可能必要的长的读取结果 (read),使得序列读取被限制为短的读取结果,而且问题在于,分子在感测电极之间穿过的频率是低的,因此分子检测的准确性低。

[0005] 对于导入溶于溶剂中的样品分子,存在使用泵送压力或电渗流动的导入法。然而,这些方法都不能诱导可在分子水平控制的稳定流。在电泳控制的系统中,分子可经通道体积均匀地移动。因此,仅增加分子在感测电极之间穿过的频率是不够的。因此,在利用一些使用隧道电流的常规单分子电测法时存在缺点,是因为这种方法只有在重新测序和可获得高浓度纯样品溶液时才可用。

[0006] 本公开内容提供了用于对生物分子进行测序的装置、方法和系统,其可以解决当前可获得的方法和系统的诸多问题。相比于当前可获得的其它方法和系统,本文中提供的方法和系统可使得以显著高的准确性和显著高的通量对生物分子进行测序。本公开内容的方法和系统能够使得对相对高的读取结果长度进行测序,这提供了其它方法和系统的测序的显著提高。

[0007] 技术方案

[0008] 在一个方面,生物分子测序装置包括:至少一个纳米间隙电极对,该电极对的电极被布置为使得当样品中含有的一种或多种生物分子在纳米间隙电极对的电极之间穿过时隧道电流流动,该生物分子由连接的至少一种单个单体形成;至少一个电泳电极对,其用于形成电场从而在纳米间隙电极对的电极之间移动生物分子;第一流动路径,其用于使至少一部分样品在朝向一个或多个纳米通道中的纳米间隙电极对和在一个或多个纳米通道中的纳米间隙电极对之间的方向上流动;以及第二流动路径,其用于使至少一部分样品在从

一个或多个含有一个或多个纳米间隙电极对的纳米通道的入口路过的方向上流动。该生物分子测序装置可还包括：一个或多个测定单元，所述测定单元被构造为测定当生物分子利用通过跨过电泳电极对施加电压而形成以便在移动方向上移动所述生物分子的电场，通过第一流动路径在纳米间隙电极对的电极之间穿过时生成的隧道电流；和鉴定单元，其被构造为基于至少一种已知类型单体的参比物理量和由测定单元所测定的隧道电流获得的检测物理量来鉴定组成生物分子的至少一种单体。

[0009] 根据本发明，生物分子测序装置可包含：一个或多个电泳电极对；第一流动路径，其用于使至少一部分样品在朝向纳米通道中的一个或多个纳米间隙电极对和在纳米通道中的一个或多个纳米间隙电极对之间的方向上流动；以及第二流动路径，其用于使至少一部分样品在从含有一个或多个纳米间隙电极对的纳米通道的入口通过的方向上流动。相应地，可由于增加在样品分子上施加的电场而改进在纳米间隙电极对之间移动单个分子的效率。此外，这使得能够以高准确性和高通量鉴定单体。

[0010] 生物分子测序装置可包括构造为引导样品流动的流动引导器，所述样品可为流体样品使得可形成第一流动路径和第二流动路径，并且使得在第一路径与第二路径之间可以发生流体连通。

[0011] 流动引导器可以为朝着纳米通道的入口延伸的绝缘体，其中一个或多个纳米间隙电极对在所述纳米通道内并且与纳米通道中所含的任何流体和其它分子电连通。

[0012] 纳米间隙电极对和电泳电极对可平行布置从而在与生物分子移动方向交叉或垂直的方向上延伸。在一个实例中，在通道各个侧的纳米间隙电极和电泳电极彼此平行。

[0013] 纳米间隙电极对可以设置为在与生物分子在纳米通道中移动的方向交叉的方向上延伸，并且电泳电极对可设置在绝缘体上。

[0014] 长的生物分子可变的自身交缠，可能在纳米通道中或在纳米间隙电极处引起堵塞。可以在第一流动路径和第二流动路径中按生物分子可穿过的间隔设置许多柱，并且所述柱可用于使生物分子聚合物线性化。在一些实施方式中，可在一个或多个纳米通道内设置柱，从而在纳米通道中使生物分子聚合物线性化或维持生物分子聚合物的线性化。例如，单链DNA片段在25毫摩尔/L (mM) 的NaCl中可具有3纳米 (nm) 的持久长度，使得大结构以宽度、高度或直径中的一种或多种的100nm的最小尺寸在纳米通道内重组，并且这种二级结构可以甚至以20nm或更小的最小特征大小在纳米通道中重组，由此重新产生在纳米通道内维持线性化的需要。

[0015] 可有大量的电极间距离不同的纳米间隙电极对。

[0016] 本发明还提供可通过生物分子测序装置进行的生物分子测序方法，所述生物分子测序装置包含：一个或多个纳米间隙电极对，所述电极对的电极被布置为使得当样品中所含的生物分子在电极之间穿过时隧道电流增加，所述生物分子由连接的至少一种单体形成；一个或多个电泳电极对，其用于在生物分子在纳米间隙电极对的电极之间移动的移动方向上形成电场；第一流动路径，其用于使至少一部分样品在朝向纳米通道中的纳米间隙电极对和在纳米通道中的纳米间隙电极对之间的方向上流动；以及第二流动路径，其用于使至少一部分样品在从含有至少一个纳米间隙电极对的纳米通道的入口通过的方向上流动，所述方法包括：测定当生物分子利用通过跨过电泳电极对施加电压而形成以便移动生物分子的电场，通过第一流动路径在纳米间隙电极对的电极之间穿过时生成的隧道电流；

和基于至少一种已知类型单体的参比物理量以及由测定单元所测定的隧道电流获得的检测物理量两者来鉴定组成生物分子的至少一种单体的种类。

[0017] 本发明还提供如下的生物分子测序程序,其使得计算机起到本发明生物分子测序装置的测定单元和鉴定单元的作用。

[0018] 根据本发明的用于对生物分子进行测序的装置、方法和程序,可以高准确性鉴定构成生物分子的单体。

[0019] 在另一方面,本公开内容提供了生物分子测序装置,该生物分子测序装置包含:纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过纳米通道;在该纳米通道中的多组纳米间隙电极,其中所述多组纳米间隙电极中的各组被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流,其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着纳米通道的宽度具有不同的电极间距离;和电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动穿过纳米通道并接近纳米通道中的所述多组纳米间隙电极。

[0020] 在本文中所提供方面的一些实施方式中,该生物分子测序装置还包含:与所述多组纳米间隙电极中的每个通讯的测定单元,其中所述测定单元被构造为测定当生物分子穿过并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和与所述测定单元通讯的鉴定单元,其中所述鉴定单元被构造为鉴定生物分子或其部分。

[0021] 在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子包括多种单体,并且鉴定单元被构造为基于至少一种已知类型单体的参比物理量和由测定单元所测定的电流获得的物理量来鉴定所述多种单体。在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子测序装置还包含被构造为产生与纳米通道流体连通的第一流动路径和第二流动路径的流动引导器,其中所述流动引导器将一部分样品从第一流动路径引导至纳米通道且将剩余样品从第一流动路径引导至第二流动路径。在本文中所提供方面的一些实施方式中,流动引导器是沿着样品经纳米通道移动的方向朝着所述多组纳米间隙电极延伸的绝缘体。在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子测序装置还包含在第一路径和/或第二流动路径中的允许生物分子线性化的一个或多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述一个或多个柱包含众多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,第一流动路径、第二流动路径和纳米通道基本上在相同平面中。在本文中所提供方面的一些实施方式中,电流包括隧道电流。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述多组纳米间隙电极中的给定的一组具有至少两个电极。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述电泳电极组具有至少两个电极。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述多组纳米间隙电极和所述电泳电极组被集成为单片单元。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述多组纳米间隙电极中的给定的一组的电极与电泳电极通过至少一个固态绝缘体隔开。在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子测序装置还包含在纳米通道中的允许生物分子线性化的一个或多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述一个或多个柱包含众多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,纳米通道向着所述多组纳米间隙电极锥形化。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述多组纳米间隙电极中的给定的一组具有小于或等于生物分子的分子直径的电极间距离。

[0022] 本公开内容的另一方面提供了生物分子测序装置,其包含:纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过纳米通道;在该纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一

组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,其中纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化,并且其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于生物分子的分子直径的电极间距离;和电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动穿过纳米通道并接近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极。

[0023] 本公开内容的另一方面提供了生物分子测序装置,其包含:纳米通道,其允许含生物分子的样品穿过纳米通道;在该纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流;电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动穿过纳米通道并接近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;和纳米通道中或接近纳米通道的一个或多个柱,其中所述一个或多个柱使生物分子线性化,从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定生物分子的单个亚单元。

[0024] 本公开内容的另一方面提供生物分子的测序方法,所述方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的多组纳米间隙电极,其中所述多组纳米间隙电极中的每组被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流,并且其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着纳米通道的宽度具有不同的电极间距离,和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接近纳米通道中的所述多组纳米间隙电极;(b)利用所述多组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0025] 在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子包含多种单体,并且测序包括基于至少一种已知类型单体的参比物理量以及由(b)中检测的电流获得的物理量来鉴定所述多种单体。在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子测序装置还包含如下的流动引导器,其被构造为产生与纳米通道流体连通的第一流动路径和第二流动路径,并且(a)包括使一部分样品从第一流动路径流向纳米通道并且使剩余样品从第一流动路径流向第二流动路径。在本文中所提供方面的一些实施方式中,所述方法还包括在第一路径和/或第二流动路径中的允许生物分子线性化的一个或多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,电流包括隧道电流。在本文中所提供方面的一些实施方式中,方法还包括在纳米通道中的使生物分子线性化的一个或多个柱。在本文中所提供方面的一些实施方式中,纳米通道朝着所述多组纳米间隙电极锥形化。在本文中所提供方面的一些实施方式中,生物分子是多核苷酸或多肽。

[0026] 本公开内容的另一方面提供生物分子的测序方法,所述方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,其中纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化,其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于生物分子的分子直径的电极间距离,和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;(b)利用所

述至少一组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0027] 本公开内容的另一方面提供生物分子的测序方法,所述方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流组和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极,和(iii)在纳米通道中或接近纳米通道的一个或多个柱,其中所述一个或多个柱使生物分子线性化从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定生物分子的单个亚单元;(b)利用所述至少一组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0028] 本公开内容的另一方面提供了包含机器可执行代码的计算机可读介质,该机器可执行代码在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法,该方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的多组纳米间隙电极,其中所述多组纳米间隙电极中的每组被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时检测电流,并且其中所述多组纳米间隙电极中的至少两组沿着纳米通道的宽度具有不同的电极间距离,和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接近纳米通道中的所述多组纳米间隙电极;(b)利用所述多组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述多组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0029] 本公开内容的另一方面提供了包含机器可执行代码的计算机可读介质,该机器可执行代码在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法,该方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,其中纳米通道朝着所述至少一组纳米间隙电极锥形化,其中所述至少一组纳米间隙电极具有小于或等于生物分子的分子直径的电极间距离,和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极;(b)利用所述至少一组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0030] 本公开内容的另一方面提供了包含机器可执行代码的计算机可读介质,该机器可执行代码在通过一个或多个计算机处理器执行时实施生物分子的测序方法,该方法包括:(a)引导生物分子流向或流经生物分子测序装置的纳米通道,其中所述生物分子测序装置包含(i)在纳米通道中的至少一组纳米间隙电极,其中所述至少一组纳米间隙电极被构造为允许在样品中所含的生物分子穿过纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时检测电流,和(ii)电泳电极组,其提供电场使得生物分子移动至纳米通道或穿过纳米通道,并接

近纳米通道中的所述至少一组纳米间隙电极,和(iii)在纳米通道中或接近纳米通道的一个或多个柱,其中所述一个或多个柱使生物分子线性化从而允许通过所述至少一组纳米间隙电极利用电流检测来鉴定生物分子的单个亚单元;(b)利用所述至少一组纳米间隙电极,检测当生物分子流经纳米通道并接近所述至少一组纳米间隙电极时生成的电流;和(c)利用在(b)中检测的电流对生物分子或其部分进行测序。

[0031] 本公开内容的另外的方面和优点将从以下具体实施方式对于本领域技术人员变得显而易见,其中仅示出和说明了本公开内容的示例性实施方式。如将意识到的,本公开内容能够有其它和不同的实施方式,而且其许多细节能够在各种明显的方面进行修改,而全部不会背离本公开内容。因此,附图及说明被视为本质上是示例性的,而非限制性的。

附图说明

[0032] 本发明的新颖特征特别是在权利要求书中进行了阐述。通过参考以下的阐述示例性实施方式的具体实施方式,将对本发明的特征和优点获得更好的理解,在所述具体实施方式中利用了本发明的原理以及附图,其中:

[0033] 图1是示出生物分子测序装置的示意图。

[0034] 图2是示出图1的纳米间隙电极对的俯视图的放大图。

[0035] 图3是示出图2的一部分的放大图。

[0036] 图4是示出控制单元的功能构造的方块图。

[0037] 图5是示出生物分子测序过程的流程图。

[0038] 图6是示出当未设置电泳电极对所检测的信号的波形的数据。

[0039] 图7是示出当设置电泳电极对所检测的信号的波形的数据。

[0040] 图8是示出信号频率的图。

[0041] 图9是示出当设置和利用电泳电极对时和当未设置电泳电极对时的读取次数的图示。

[0042] 图10是当设置和利用电泳电极对时和当未设置电泳电极对时的每单位时间的读取次数的图示。

[0043] 图11示出电泳电极对的布置的变体实例。

[0044] 图12是示出具有可变间距的纳米间隙的生物分子测序装置的结构示意图。

[0045] 图13是示出可变间距的纳米间隙可用的控制单元的功能构造的流程图。的方块图。

[0046] 图14是示出可变间距的纳米间隙可用的生物分子测序过程的流程图。

[0047] 图15示意性示出被编程或以其它方式构造为实施本公开内容的装置、系统和方法的计算机控制系统。

具体实施方式

[0048] 尽管在本文中示出和描述了本发明的各种实施方式,但对于本领域技术人员显而易见的是这种实施方式仅通过举例而提供。对于本领域技术人员而言,在不背离本发明的情况下,可以出现各种变体、变化和取代。应理解,可以采用本文中所述的发明实施方式的不同可选方案。

[0049] 如在本文中使用的,术语“间隙”通常指一个物体中或两个物体之间的间断或孔。

物体可以为固态物体,例如基材或电极。间隙可以设置为与感测电路或偶联至感测电路的电极相邻或邻近。在一些实施例中,间隙具有0.1纳米(nm)至约1000nm级别的特征宽度或直径。具有纳米级别宽度的间隙被称作“纳米间隙”。在一些情况下,纳米间隙的宽度为约0.1纳米(nm)~50nm,0.5nm~30nm,或0.5nm或10nm,0.5nm~5nm,或0.5nm~2nm,或不大于2nm,1nm,0.9nm,0.8nm,0.7nm,0.6nm或0.5nm。在一些情况下,纳米间隙的宽度为至少约0.5nm,0.6nm,0.7nm,0.8nm,0.9nm,1nm,2nm,3nm,4nm或5nm。在一些情况下,纳米间隙的宽度可以小于或等于生物分子或生物分子的亚单元(例如,单体)的分子直径(例如,平均分子直径)。

[0050] 如本文中使用的,术语“通道”通常涉及在材料中形成或以其它方式设置的孔、通路或导管。材料可以为固态材料,例如基材。在一些实施方式中,通道可具有0.1纳米(nm)至约1000nm级别的特征宽度或直径。具有纳米级别宽度的通道被称作“纳米通道”。在一些情况下,纳米通道的宽度为约0.1纳米(nm)~50nm,0.5nm~30nm,或0.5nm或10nm,0.5nm~5nm,或0.5nm~2nm,或不大于2nm,1nm,0.9nm,0.8nm,0.7nm,0.6nm,或0.5nm。在一些情况下,纳米通道的宽度为至少约0.5nm,0.6nm,0.7nm,0.8nm,0.9nm,1nm,2nm,3nm,4nm或5nm。在一些情况下,纳米通道或纳米通道的一部分(例如,纳米通道的锥形部分)的宽度可以小于或等于生物分子或生物分子的亚单元(例如,单体)的分子直径(例如,平均分子直径)。

[0051] 如本文中使用的,术语“电流”通常是指电流。微安或纳安级别的电流可被称作“纳电流”。在一些实施例中,电流是隧道电流或包括隧道电流。

[0052] 如本文中使用的,术语“电极”通常是指可被用于测定电流的材料。一个电极可被用于测定到另一个电极或来自另一个电极的电流。在一些情况下,电极可被布置在通道(例如,纳米间隙)中并且被用于测定跨过通道的电流。电流可以为隧道电流。在生物分子(例如,蛋白质)流经纳米间隙时可以检测这种电流。在一些情况下,偶联至电极的感测电路跨过电极提供施加的电压以产生电流。作为替代或者除此以外,电极可被用于测定和/或确定与生物分子(例如,蛋白质的氨基酸亚单元或单体)相关的电导。在这种情况下,隧道电流可与所述电导相关。

[0053] 如在本文中使用的,术语“生物分子”通常是指可利用跨过纳米间隙电极的电流和/或电势测询的任何生物材料。生物分子可以为核酸分子、蛋白质或糖类。生物分子可包括一个或多个亚单元,例如核苷酸或氨基酸。生物分子可以为脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)或其衍生物。生物分子可以为更大分子的片段,例如更大的DNA样品的DNA片段。

[0054] 如本文中使用的,术语“核酸”通常是指包含一个或多个核酸亚单元的分子。核酸可包括一个或多个选自腺苷酸(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)或其变体的亚单元。核苷酸可包括A、C、G、T或U或其变体。核苷酸可包括能够并入生长的核酸链的任何亚单元。这种亚单元可以为A、C、G、T或U,或者为对一个或多个互补A、C、G、T或U有特异性,或对嘌呤(即A或G或其变体)或嘧啶(即C、T或U或其变体)互补的任何其它亚单元。亚单元可使得能够分辨单个的核酸碱基或碱基组(例如,AA、TA、AT、GC、CG、CT、TC、GT、TG、AC、CA或其尿嘧啶配对物)。在一些实施例中,核酸为DNA或RNA或其衍生物。核酸可以为单链的或双链的。

[0055] 如本文中使用的,术语“蛋白质”通常是指具有一个或多个氨基酸单体、亚单元或残基的生物分子或大分子。含有50个或更少的氨基酸的蛋白质例如可被称作“肽”。氨基酸单体可选自任何天然存在和/或合成的氨基酸单体,例如20、21或22个天然存在的氨基酸。

在一些情况下,20个氨基酸可在对象的遗传密码中编码。一些蛋白质可包含选自约500个天然和非天然存在的氨基酸的氨基酸。在一些情况下,蛋白质可包含一个或多个选自如下的氨基酸:异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、色氨酸和缬氨酸、精氨酸、组氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、脯氨酸、丝氨酸和酪氨酸。

[0056] 如在本文中使用的,术语“组(set)”通常是指要素的组或集合。一组可包含多个要素。一组可包含“对”或两个。例如,一组电极可包含至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个电极。

[0057] 如在本文中使用的,术语“测序”通常是指用于确定生物分子的序列,例如在一个或多个多核苷酸中的核苷酸碱基的序列,或在多肽中的氨基酸的序列的方法和技术。

[0058] 如本文中使用的,术语“读取结果(read)”通常是指如由测序装置或系统生成的生物分子或生物分子的一部分的序列。这种序列可以是如下的足够长的序列(例如,至少约30个碱基对(bp)),其可用于确定更大的序列或区域,例如可与染色体或遗传区域或基因上的位置对齐。

[0059] 测序装置和系统

[0060] 本公开内容提供用于对生物分子进行测序的装置。测序装置可包括至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、100、1000或10000个通道。通道可在所述通道中包括至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10组纳米间隙电极。通道可以是纳米通道。纳米间隙电极组的电极可对置位于通道中。

[0061] 可以使生物分子(例如单链DNA或RNA,双链DNA或RNA,或蛋白质)在通道中流动或流经通道,并且可以使用给定的一组纳米间隙电极的电极跨过通道测定电流,在一些情况下为隧道电流。电流可以为隧道电流或包括隧道电流。使用由至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10组电泳电极提供的电场,可以使生物分子在通道中流动或流经通道。

[0062] 通道可以为纳米孔的一部分。纳米孔可在膜,例如固态膜中形成。

[0063] 纳米间隙电极组可构造为在生物分子穿过通道并接近所述纳米间隙电极组时检测电流。所述纳米间隙电极组可具有不同的电极间距离。

[0064] 电泳电极组可提供电场以使得生物分子移动穿过纳米通道并接近所述纳米通道中的所述多组纳米间隙电极。可在向电泳电极施加电压或电压脉冲时产生电场。在一些实施例中,电场可具有约0.1牛(N)/库伦(C)~5000N/C、或1N/C~250N/C或10N/C~50N/C的强度。

[0065] 所述电泳电极组可位于通道外部。可选地,所述电泳电极组和所述纳米间隙电极组可集成为单片单元。例如,可通过至少一个固态绝缘体将纳米间隙电极的一个电极与所述电泳电极组中的一个电泳电极隔开。

[0066] 可使用计算机控制单元来对生物分子进行鉴定或测序。计算机控制单元可以为测序装置或包括该测序装置的测序系统的一部分。该计算机控制单元可包括与所述纳米间隙电极组通讯的测定单元。该测定单元被构造为测定在生物分子穿过并接近所述多组纳米间隙电极时产生的电流。该计算机控制单元可还包括与测定单元通讯的鉴定单元。该鉴定单元被构造为鉴定生物分子或其一部分。

[0067] 在一些情况下,生物分子包括多个单体(或亚单元)。该鉴定单元可构造为基于至少一种已知类型单体的参比物理量和由通过测定单元测定的电流获得的物理量鉴定所述多个单体。

[0068] 测序装置可包括如下的流动引导器,该流动引导器被构造为产生与通道流体连通的第一流动路径和第二流动路径。该流动引导器可将样品的一部分从第一流动路径引导至通道,和将样品的剩余部分从第一流动路径引导至第二流动路径。该流动引导器可以为沿着样品经纳米通道移动的方向朝着所述纳米间隙电极组延伸的绝缘体。

[0069] 测序装置可包括至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或100个柱(pillar)。柱可在通道里面或在通道外部,例如在第一路径和/或第二流动路径中。所述柱可以允许生物分子线性化,这可以帮助有效地对生物分子或其部分(例如,亚单元)进行测序或鉴定。

[0070] 第一流动路径、第二流动路径和纳米通道可以基本上在同一平面上(即,共平面)。作为可选方案,第一流动路径、第二流动路径和纳米通道不在同一平面上。

[0071] 通道可包括至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个锥形部分。这种锥形化可在通道的一部分上,该部分在纳米间隙电极组上或接近纳米间隙电极组。

[0072] 所述纳米间隙电极组可包括至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个电极。所述电极的电极间间隔(或距离)可为0.1纳米(nm)~50nm,0.5nm~30nm,或0.5nm或10nm,0.5nm~5nm,或0.5nm~2nm,或不大于2nm,1nm,0.9nm,0.8nm,0.7nm,0.6nm或0.5nm。在一些情况下,间隔为至少约0.5nm,0.6nm,0.7nm,0.8nm,0.9nm,1nm,2nm,3nm,4nm或5nm。在一些实施例中,间隔小于或等于生物分子的分子直径。

[0073] 图1示出了生物分子测序装置。在一些实施方式中,其可包括纳米间隙电极对12(12A和12B),测定电源装置18,电泳的电极对(下文中称为“电泳电极对”)20(20A和20B),电泳的电源装置22,安培计24和系统控制单元26。下面将详细描述各组件。

[0074] 纳米间隙电极对12可包括一对对置的纳米间隙电极12a和12b。纳米间隙电极12a和12b可被布置为使得如下的距离:当样品中含有的生物分子50的单体52在电极之间穿过时,电极之间流动的隧道电流增加。在此,生物分子包括蛋白质、肽、核酸、糖链等。组成生物分子的单体可包括但不限于组成蛋白质或肽的氨基酸、组成核酸的核苷酸、组成多糖或糖链的单糖等。

[0075] 尽管示出和描述了一对纳米间隙电极12a和12b,但是装置10可包括多于两个电极。例如,装置10可包括纳米间隙电极的集合,其中该集合包括至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个电极。

[0076] 当电极间距离比单个分子52的分子直径长的多时,隧道电流可能不容易在纳米间隙电极对12的电极之间流动,或两个或更多个单个分子52可能同时进入到纳米间隙电极对12之间。相反,当电极间距离比单个分子52的分子直径短的多时,单个分子52不能进入到纳米间隙电极对12的电极之间。

[0077] 当电极间距离比单个分子52的分子直径长的多或短的多时,检测穿过单个分子52的隧道电流可能是困难的。因此,可优选使得电极间距离比单个分子52的分子直径略短,或与单个分子52的分子直径相同,或比单个分子52的分子直径略长。例如,电极间距离可以为单个分子52的分子直径的0.5倍至2倍的长度,其中电极间距离任选设置为分子直径的0.5至1倍的长度,和任选设置为分子直径的0.7至0.9倍的长度。

[0078] 用于制作纳米间隙电极12的具体方法没有特别限制。下文将描述这种制作方法的实例。

[0079] 可使用已知的纳米制造机械可控裂结法来制造上面提到的纳米间隙电极对12。纳

米制造机械可控裂结法是能够在皮米水平或更精细的分辨率下以优异的机械稳定性控制电极间距离的优异的方法。例如在T.M. van Ruitenbeek, A. Alvarez, I. Pineyro, C. Grahmann, P. Joyez, M. H. Devoret, D. Esteve, C. Urbina, Rev. Sci. Instrum. (科学仪器综述) 67, 108 (1996) 和M. Tsutsui, K. Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano Lett. (纳米通讯) 8, 345 (2008) 中描述了使用纳米制造机械可控裂结法的电极对的制造方法。电极材料包括任何合适的金属, 例如金、铂、银、钯、钨以及合适的合金或复合物。

[0080] 例如, 可使用以下程序制造纳米间隙电极对12。

[0081] 首先, 使用电子束光刻和剥离技术, 可使用电子束光刻装置(例如, JEOL公司, 目录编号: JSM6500F) 将纳米级金结摹制在聚酰亚胺涂布的柔性金属基材上。然后, 通过使用蚀刻过程例如反应性离子蚀刻过程进行蚀刻而除去结下面的聚酰亚胺, 所述反应性离子蚀刻例如可通过使用反应性离子蚀刻装置(例如, Samco公司, 目录编号: 10NR) 来进行。

[0082] 在这之后, 通过弯曲基材而制造具有3点弯曲结构的纳米级金桥结构。此时, 通过使用压电驱动器(CEDRAT, 目录编号: APA 150M) 控制所述基材的精确弯曲, 可将电极对的电极间距离控制在皮米水平或更精细的分辨率下。

[0083] 在一些实施方式中, 通过使用这种制作方法和过程, 可以完成基本上平面的器件。可以制作一个或多个纳米通道, 使得将所述一个或多个纳米通道制作在基材上面或之上。在所述一个或多个纳米通道末端的中间区域44M可被安置为使得所述中间区域44M的底部与所述一个或多个纳米通道的底部在基材之上的垂直距离相同或基本相同, 其中所述一个或多个纳米通道的末端紧邻所述中间区域。

[0084] 在另外的实施方式中, 在所述一个或多个纳米通道末端的中间区域44M可被安置为使得所述中间区域44M的顶部与所述一个或多个纳米通道的顶部在基材之上的垂直距离相同或基本相同, 其中所述一个或多个纳米通道的末端紧邻所述中间区域。

[0085] 在一些实施方式中, 如果垂直尺寸在原本允许尺寸完全一样的制作容差范围内, 则其可以相同或基本相同或共平面。

[0086] 在其它实施方式中, 如果纳米通道的开口端与中间区域在一个或多个纳米通道的末端处交叉, 则所述一个或多个纳米通道可被视为具有可视为相同或基本相同或共平面的垂直尺寸, 其中所述纳米通道的整个垂直尺寸被包含在所述中间区域的垂直尺寸内。

[0087] 在另外的实施方式中, 如果纳米通道的开口端与中间区域在一个或多个纳米通道的末端处交叉, 则所述一个或多个纳米通道可被视为具有可视为相同或基本相同或共平面的垂直尺寸, 其中所述纳米通道的至少一半垂直尺寸被包含在所述中间区域的垂直尺寸内。

[0088] 因此, 可将如此设置的桥拉伸使得该桥部分断裂。可将桥进一步拉伸, 并且可将由于断裂而出现的纳米间隙的大小(电极间距离) 设定为与目标单个分子52的检测相对应的期望长度。例如, 如果单个分子52是构成通过将作为生物分子的蛋白质切割成一定长度而获得的肽的氨基酸分子, 则该单个分子52的单体的侧链长度可为约0.3nm~1nm。在这种情况下, 通过使用自断裂技术(参见例如M. Tsutsui, K. Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano Lett. (纳米通讯) 8, 345 (2008) 和M. Tsutsui, M. Taniguchi, T. Kawai, Appl. Phys. Lett. (应用物理通讯) 93, 1631-15 (2008)) 调节桥拉伸, 可以准确地控制电极对的电极间距离。

[0089] 具体地, 利用电阻反馈法(参见M. Tsutsui, K. Shoji, M. Taniguchi, T. Kawai, Nano

Lett. (纳米通讯) 8, 345 (2008), 和 M. Tsutsui, M. Taniguchi, T. Kawai, Appl. Phys. Lett. (应用物理通讯) 93, 1631-15 (2008)), 例如采用数据采集板 (国家仪器公司 (National Instruments Corporation), 目录编号: NI PCIe-6321), 使用 10k Ω 的串联电阻和以程序化的结拉伸速度拉伸的金纳米结, 可将 0.1V、或 0.050V~0.4V 的 DC 偏压施加至桥, 从而断裂桥。可以进一步拉伸桥, 并且可将由于断裂而出现的纳米间隙的大小 (电极间距离) 设定为想要的长度。因此, 可形成纳米间隙电极对 12。

[0090] 通过测定电源装置 18 可跨过纳米间隙电极对 12 施加电压。通过测定电压装置 18 向纳米间隙电极对 12 施加的电压没有特别限制, 并且可以例如为 0.25V~0.75V, 或 0.1V~0.4V, 或 0.050V~0.02V。对于测定电源装置 18 的具体构造没有特别限制, 并且可以使用合适的已知电源装置。

[0091] 电泳电极对 20 可包含一对电泳电极 20A 和 20B。可以将电泳电极 20A 和 20B 布置为使得在使得样品 50 中所含的单个分子 52 可移动的方向 (该方向在图 1 中由柱状箭头 A 所指示) 上形成电场。在一些实施方式中, 例如, 电泳电极 20A 和 20B 可被布置为使得样品分子可相对于其间夹设有绝缘体 14 的纳米间隙电极对 12 移动。绝缘体 14 的宽度可设定为足以使得在跨过电泳电极对 20 流动的电流与跨过纳米间隙电极对 12 流动的电流之间不发生干扰的宽度 (例如, 约 300nm)。

[0092] 在图 1 的实施例中, 电泳电极 20A 可由两个独立的电极组成, 但其不需要是独立的且可为单个电极。这也可适用于电泳电极 20B。

[0093] 当在电泳电极 20A 与电泳电极 20B 之间形成电场时, 单个分子 52 可通过电场通过电泳和/或电渗移动。换句话讲, 单个分子 52 可移动从而在纳米间隙电极对 12 的电极之间穿过。

[0094] 通过电泳电源装置 22 可跨过电泳电极对 20 施加电压。通过电泳电源装置 22 向电泳电极对 20 施加的电压没有特别限制, 并且可以适当地设定能够控制单个分子 52 在纳米间隙电极对 12 的电极之间穿过的速度的电压。电泳电源 22 可向电泳电极对 20 施加电压, 使得可以转换电泳电极对 20 的电极之间形成的电场的方向。因此, 可以转换单个分子 52 在电泳电极对 20 的电极之间移动的方向。对于电泳电源装置 22 的具体构造没有特别限制, 可以使用合适的已知电源装置。

[0095] 安培计 24 可测定单体 52 在纳米间隙电极对 12 的电极之间穿过时所生成的隧道电流的增加, 通过测定电源装置 18 跨过所述纳米间隙电极对 12 施加电压。对于安培计 24 的具体构造没有特别限制, 可以使用合适的已知电流测定装置如互阻抗放大器。

[0096] 接下来, 将对与生物分子测序装置 10 的纳米间隙电极对 12 和电泳电极对 20 相关的具体构造进行描述。

[0097] 图 2 是示出纳米间隙电极对 12 和电泳电极对 20 的外周的放大图。如图 2 中所示的, 可以按间隔设置许多纳米柱 40, 使得单个分子 52 能够绕过纳米柱从而到达一对或多对纳米间隙电极对 12 和电泳电极 20。如本文中使用的, “纳米柱” 可以是纳米规模或者直径或宽度更小的柱。

[0098] 可以从其中可设置有纳米柱 40 的左边区域 44L 引导样品 50, 这可在图 2 的左上方, 在由箭头 B 表示的区域看出。样品 50 可通过电泳、电渗、压力、表面张力、扩散之一和其组合移动。样品 50 中所含的复杂的交缠的生物分子如 DNA 等可与其它 DNA 分子分开, 并且通过

像沟槽中的竹竿布置的所述大量纳米柱40理顺或线性化。

[0099] 在一些实施方式中,可以为流体样品的样品可被以使得如下的方式导入装置中:毛细作用可引起所述样品例如从左边区域44L引向中间区域44M并通过中间区域到达右边区域44R。当然,样品可从右边区域44R导入并通过毛细作用引向中间区域44M并因此引向左边区域44L。

[0100] 在一些实施方式中,第二流体可在类似地位于所述一个或多个纳米通道的与可导入样品的末端相反的末端处的未标记区域中的区域的一侧类似地导入,并且可通过毛细作用引向相应的中间区域,并因此可通过毛细作用引向在导入所述第二流体的区域相反侧的区域。

[0101] 在一些实施方式中,在导入第二流体之前可导入样品,使得所述样品可从一个或多个纳米通道的第一末端引向并直达所述一个或多个纳米通道的第二末端。第二流体可自此施加至与中间区域相邻的区域,该区域与一个或多个纳米通道的第二末端交叉。以这种方式,可以在所述一个或多个纳米通道中防止样品与第二流体之间形成气隙或气泡,由此允许流体穿过所述一个或多个纳米通道,如果在纳米通道的两端同时施加流体,则可能出现所述气隙或气泡。类似地,可在导入样品流体之前首先提供第二流体并经毛细作用通过纳米通道。

[0102] 在纳米通道末端之间的距离相比于宽高或直径、或与纳米通道的横截面相关的其它量度长时,这种气隙或气泡的形成更有可能形成。在一些实施方式中,纳米通道的长度可为横截面的最小尺寸的10倍,所述最小尺寸可为纳米通道的高度、宽度或直径。在其它实施方式中,纳米通道的长度可为横截面的最小尺寸的100倍,所述最小尺寸可为纳米通道的高度、宽度或直径。

[0103] 在其它实施方式中,纳米通道的长度可比样品DNA低聚物长,使得所述样品DNA低聚物可以完全放入所述纳米通道内,其中所述样品DNA低聚物可以为100~200个碱基长,或可以为150~500个碱基长,或可以为300~1000个碱基长,或可以为800~4000个碱基长,或可以为3000~10000个碱基长,或可以为8000~100000个碱基长,或可以为大于10000个碱基长。

[0104] 此外,还有一个或多个流动引导器42,其中各自可朝着纳米通道的入口延伸,使得在紧邻纳米通道52的通道区域的区域中通道的宽度可以降低,任选地,以使得流动引导器42相对布置的方式在纳米通道52的末端设置流动引导器,纳米间隙电极对12可位于所述纳米通道52中,或者可以被布置为使得纳米通道的一端具有流动控制器的相关绝缘片,而另一端可以不具有这种特征。流动引导器42可用于导流,使得样品分子可以接近纳米通道的一端,从而使得更高比例的样品分子导入所述纳米通道中,并且可更快速地导入所述样品分子。因此,形成了样品50的两个流动路径,即从左边区域44L延伸至纳米间隙电极对12的电极间区域的流动路径46A,和从左边区域44L延伸至包含纳米柱40的右上区域的流动路径46B,如图2中所示的。换句话说,流动引导器42可用于通过形成各种流动路径来引导样品50的移动,所述流动路径包括用于使样品50在朝向纳米间隙电极对12的方向上流动的流动路径46A,和用于使样品50在远离纳米间隙电极对12的方向上流动的流动路径46B。

[0105] 在一些实施方式中,纳米通道、第一和第二通道、柱和纳米电极对可通过平版印刷术制作在基本相同的平面上。

[0106] 如常规的,当不存在这种流动引导器42时,样品50的流动路径仅在箭头B方向,即朝着纳米间隙电极对12的方向上引导。因此,样品50可能在靠近纳米间隙电极对12的流动路径变窄的区域累积。相反,在一些实施方式中,通过放置流动引导器42而形成两个流动路径46A和46B,使得过量的样品50可通过流动路径46B流至区域44R。以这种方式,可以降低样品50在纳米间隙电极对12附近的堵塞,使得能够高准确性地鉴定所述单个分子52。

[0107] 图3是图2中由虚线描绘的区域54的放大图。如图3中所示,纳米通道56可靠近一个或多个绝缘体14且紧邻中间区域44M形成,所述中间区域M可构造为在纳米通道52的相反侧。纳米通道56可具有从其中设置有纳米柱40的中间区域44M朝向纳米间隙电极对12的电极的锥形形状。这种锥形化可允许生物分子在流经纳米通道56时线性化。在接近中间区域44M的位置处的纳米通道的宽度D1可为例如约120nm,但可以为任何合适的宽度,例如20nm~100nm,50nm~250nm或200nm~1000nm。如上所述,可期望的是,纳米通道56在锥形点处的宽度,即纳米间隙电极对12的电极间距离D2可以略短于、等于或略长于单个分子52的分子直径。例如,单个分子可具有几百皮米(pm)至1.0nm或更高的分子直径。

[0108] 如在图2中所示的,电泳电极对20可设置为与纳米通道56流体连通。这实现了各单个分子的一致电泳迁移率,并且使得能够以高准确性和高通量鉴定单个分子。

[0109] 系统控制单元26可控制生物分子测序装置10的各个组件,并且可以基于信号根据所测定的隧道信号的变化来鉴定目标单个分子52的种类(或类型)。

[0110] 系统控制单元26可以为具有中央处理单元(CPU)、随机存取存储器(RAM)、只读存储器(ROM)的其中可安装生物分子测序程序(后文描述)等的计算机。系统控制单元26可如本文中其它地方例如图15和相应正文所描述的。系统控制单元26可包含计算机,并且可以功能性地表示为包含电泳控制单元30、测定控制单元32和鉴定单元34。下文中,将详细说明各个组件。

[0111] 电泳控制单元30可通过一个或多个电泳电源装置22控制电压的施加,使得单个分子52可在纳米间隙电极对12的电极之间穿过。

[0112] 测定控制单元32可控制安培计24以使得安培计24测定在纳米间隙电极对12的电极之间流动的隧道电流。对于测定隧道电流的时间没有特别限制,其可行的值为10分钟,20分钟,30分钟,40分钟,50分钟,1、2、3、4或更多小时。可以根据以下来适当地设置测定时间:单个分子52的长度,待测序的单个分子的数目,测序的出错率,待测序的单个分子的覆盖率(coverage),用于测序的纳米通道和感测器的数目以及其它因素。

[0113] 此外,测定控制单元32可获得由安培计24测定的隧道电流的电流值,使用获得的电流值计算电导,并且制备电导-时间曲线。通过用隧道电流的电流值除以在测定隧道电流时跨过纳米间隙电极对12施加的电压V而计算电导。即使跨过纳米间隙电极对12施加的电压对于不同的测定不同,使用电导也使得能够获得一致的标准曲线。当使得要跨过纳米间隙电极对12施加的电压值对于每次测定恒定时,可以以相同方式处理隧道电流的电流值和电导。

[0114] 测定控制单元32可使用电流放大器以放大由安培计24所测定的隧道电流,并获得由此放大的隧道电流。使用电流放大器能够放大微弱的隧道电流值。因此,允许以高的灵敏性测定隧道电流。电流放大器可以例如为可商购的可变增益高速电流放大器(目录编号:DHPA-100,由FEMTO Messtechnik GmbH制造)。

[0115] 鉴定单元34可对利用相对电导从通过测定控制单元32制备的电导-时间曲线获得的检测物理量,相比于在相对电导表36中储存的已知种类(或类型)的单个分子52中的单体进行比较,从而鉴定单个分子52中的目标单体的种类。在一些实施方式中,检测的物理量可以为通过测定控制单元32制备的电导-时间曲线的各测定点的电导。如在本文中使用的,相对电导为通过对已知种类的单个分子52中的单体进行测定而获得的单个分子中的各种单体的电导。通过用与单个分子52中的各单体相关的测定电导除以对于单个分子52中的所有单体所测定的最大测定电导值,来计算相对电导。在一些实施方式中,所测定的电导可为最大或模态电导。

[0116] 在一些实施方式中,至少一种待鉴定的单个分子52可溶于溶剂中。对于溶剂没有特别限制。例如,可以使用超纯水。例如可使用由EMD Millipore Corporation制造的Milli-Q® Integral 3(装置名称)(Milli-Q® Integral 3/5/10/15(目录编号))生产超纯水。单个分子52在溶液中的浓度没有特别限制;然而其可以例如为0.01~1.0 μ M,或0.5~5.0 μ M,或2~20 μ M,或10~100 μ M。

[0117] 然后,纳米间隙电极对12可浸入样品中,测定电源装置18可用于跨过纳米间隙电极对12施加电压,并且电泳电源装置22可用于跨过电泳电极对20施加电压。计算机的构成控制单元的CPU可读出并执行在ROM或其它非易失性存储中存储的生物分子测序程序。这可引起生物分子测序装置10执行生物分子测序过程,如图5中示出的。

[0118] 在步骤S10中,测定控制单元32可控制安培计24,以便引起安培计24测定在单个分子52从纳米间隙电极对12的电极之间穿过时生成的隧道电流。

[0119] 在步骤S12中,测定控制单元32获得所测定的隧道电流的电流值,计算各测定点的电导,和制备电导-时间曲线。

[0120] 在步骤S14中,鉴定单元34从相对电导表36获得目标单个分子52的不同单体的相对电导。

[0121] 在步骤S16中,鉴定单元34可将在上述步骤S12中制备的电导-时间曲线与在上述步骤S14中获得的相对电导进行比较,并且鉴定由各信号指示的单体种类。在步骤S18中,鉴定单元34可输出鉴定结果。因此,可完成单个分子的单体鉴定过程。

[0122] 如上所述,在上文中所述的生物分子测序装置的一些实施方式中,电泳电极对20可被布置为靠近纳米通道56、用于在经过纳米通道56和朝着纳米间隙电极对12的方向上移动样品50的流动路径46A和用于在通过可含有一个或多个纳米间隙电极对12的纳米通道56的入口的方向上使样品50流动的流动路径46B。

[0123] 这使得基于在纳米间隙电极对12的电极之间穿过的隧道电流的测定的高信号频率成为可能。图6示出通过其中未设置电泳电极对20的装置以常规方式检测,由此仅利用布朗运动的信号波形,图7示出通过其中如本发明一些实施方式中的生物分子测序装置10一样设置有电泳电极对20的装置检测的信号波形。图6与图7对于电导和时间两者以相同尺寸示出。可以看出,图7具有电导增加的更多的时间(脉冲)段。增加的电导与纳米电极对间隙中存在DNA相关。如图6和7中可看出的,据理解在一些实施方式中的生物分子测序装置10与常规方式相比显示高的信号频率。

[0124] 图8是示出施加至电泳电极对20的电压与每秒钟检测的信号数目(信号频率)之间的关系的测定结果的图。如在图8中可以看出的,据理解在该示例性构造中,信号频率随着

电泳电压的增加而增加,直到施加至电泳电极对20的电压增加至约0.7V。

[0125] 图9示出当设置施加有电压的电泳电极对20时和当未设置电泳电极对20时,多种不同种类单个分子的不同片段读取结果长度的片段读取次数的测定结果。如从图9可以看出的,据理解,与当未设置电泳电极对20时相比,当设置施加有电压的电泳电极对20时读取次数是大的。

[0126] 图10示出当未设置电泳电极对20 (NE) 时和当设置施加有电压的电泳电极对20 (N) 时,不同读取结果长度的读取次数的测定结果。如在图10中可看出的,据理解在1.0ms/碱基 (base) 或更小的范围内,当设置施加有电压的电泳电极对20时的读取次数相比于其中未设置电泳电极对20 (NE) 的系统更大。

[0127] 下表1显示单个分子的平均读取次数和最大读取次数,信号频率以及必要的样品体积的测定结果。当样品50的浓度为 10^{-7} M (摩尔/L) 时测定信号频率。

[0128] [表1]

[0129]		常规的	本发明	本发明/常规的
	平均读取次数 (最大读取次数)	1.4 (12)	2.2 (18)	约 1.5 倍
	信号频率	0~30/秒	500/秒	约 16 倍以上
	必要的样品体积	10~20 μ l	1~2 μ l	约 1/10

[0130] 如在表1中所示的,据理解,与常规技术相比,本发明在单个分子的平均和最大读取次数,信号频率方面全部是优异的,并且需要较低的样品体积。

[0131] 如上所述的,在一些实施方式中可以使得如下的方式构造生物分子测序装置:电泳电极对20可被布置为靠近纳米间隙电极对12,和用于在进入纳米通道56中的朝着纳米间隙电极对12的方向上使样品50流动的流动路径46A以及用于在通过可含有一个或多个纳米间隙电极对12的纳米通道56的方向上使样品50流动的流动路径46B,使得可以改进施加在单个分子52上的电场的增加。这可以实现相对于一个或多个纳米电极对的单个分子的相对于布朗运动的穿过速度的更大稳定化。这实现了更长的读取结果,并以高准确性和高通量鉴定单个分子。

[0132] 在一些实施方式中,解释了其中电泳电极对20与纳米间隙电极对12平行布置的结构。然而,如图11中所例示的,电泳电极对20可被布置为使得其电极布置在流动引导器42上或紧邻流动引导器42。换句话说讲,电泳电极对20可沿着导入样品50的方向延伸接近可含有电极对12的纳米通道56。在此情况下,电泳电极对20的电极可分别被布置为正好在纳米通道56之上和之下。这使得进一步增加了在单个分子52上施加的电场,并且以高准确性和高通量改进了单个分子的单体的鉴定。

[0133] 接下来,将描述本发明的其中可利用多种不同纳米间隙间距的另外的实施方式。与图1的生物分子测序装置10的那些相对应或相似的组件或部件由相同的标记指示,并且将省略其解释。

[0134] 如图12中所示的,根据一些实施方式的生物分子测序装置210包含纳米间隙电极对12A、12B和12C,一个或多个测定用测定电源装置18,一个或多个电泳电极对20,一个或多个电泳用电泳电源装置22,安培计24和一个或多个系统控制单元226。

[0135] 纳米间隙电极对12A、12B和12C的结构可以与关于图1所述的纳米间隙电极对12的结构相同。各纳米间隙电极对12A、12B和12C的电极可以对齐,使得电极对之间的中心线在

相同的轴线上对齐。换言之讲,单个分子52穿过的单个路径可部分由纳米间隙电极对12A、12B和12C的电极间间距所限定。纳米间隙电极对12A的电极间距离可为 d_1 ,纳米间隙电极对12B的电极间距离可为 d_2 ,纳米间隙电极对12C的电极间距离 d_3 可彼此不同。在图12中所示的实施例中,其关系为 $d_1 > d_2 > d_3$ 。例如,这些距离可为 $d_1 = 1.0\text{nm}$, $d_2 = 0.7\text{nm}$, $d_3 = 0.5\text{nm}$,但根据应用所需可为任何距离,例如如果期望测定氨基酸,则一个电极间距离可为 0.25nm ,而另一个电极间距离可为大于 1.0nm ,各自比不同氨基酸的侧链的分子直径小不到20%。在一些实施方式中,电极间距离的一些可相同或基本相同。

[0136] 如在图13中所示的,系统控制单元226可表示为包含电泳控制单元30、测定控制单元232和鉴定单元234的系统。

[0137] 测定控制单元232可控制安培计24以使得安培计24测定在纳米间隙电极对12A、12B和12C之间生成的各隧道电流。测定控制单元232可还获得由安培计24测定的各电极间距离的隧道电流的电流值,计算电导,并制备各电极间距离的电导-时间曲线。

[0138] 鉴定单元234可对从通过测定控制单元32确定的各电极间距离的电导-时间曲线获得的检测物理量与储存于相对电导表236中的关于已知种类的单个分子52的单体的相对电导进行比较,从而鉴定目标单个分子52的单体的种类。

[0139] 在一些实施方式中,至少一种待鉴定的单个分子52可溶于如上文中所述的溶剂中。于是,纳米间隙电极对12A、12B和12C可浸入样品中,测定电源装置18可用于跨过纳米间隙电极对12A、12B和12C中的每个施加电压,电泳电源装置22可用于跨过电泳电极对20A和20B施加电压。计算机的构成系统控制单元226的CPU可读出并执行在ROM或其它非易失性存储中存储的生物分子测序程序。这可引起生物分子测序装置210执行生物分子测序过程,如图14中所例示的。

[0140] 纳米间隙电极对12A、12B和12C可具有不同的间隙大小。可选择间隙大小以允许鉴定生物分子的不同类型的单体(或亚单元)。例如,纳米间隙电极对12A可具有选择为允许鉴定一种类型的核苷酸(例如腺苷酸)的宽度,纳米间隙电极对12B可具有选择为允许鉴定另一种类型的核苷酸(例如胸腺嘧啶)的宽度。

[0141] 纳米间隙电极对12A、12B和12C可安置在纳米通道中。纳米通道可包含任何数量的纳米间隙电极对,例如至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个纳米间隙电极对。至少一些或全部的纳米间隙电极对可具有不同的宽度。

[0142] 在步骤S20中,测定控制单元232控制安培计24,以便引起安培计24测定在单个分子52穿过部分在纳米间隙电极对12A、12B和12C的电极之间形成的纳米通道56时生成的隧道电流。

[0143] 在步骤S22中,测定控制单元232可获得所测定的隧道电流的电流值,计算各测定点的电导,和制备各电极间距离的电导-时间曲线。

[0144] 在步骤S24中,鉴定单元234可将变量“i”设定为1。

[0145] 在步骤S26中,鉴定单元234可获得与电极间距离 d_i 相对应的单个分子52的单体的相对电导,即可用电极间距离 d_i 鉴定的目标单个分子52的单体的相对电导。

[0146] 在步骤S28中,鉴定单元234对在以上步骤S22中制备的电极间距离 d_i 的电导-时间曲线与在以上步骤S26中获得的相对电导值进行比较,并且鉴定由各信号指示的单个分子的单体种类。

[0147] 在步骤S30中,鉴定单元234可确定过程对于全部电极间距离 d_i 是否已经完成。如果有未进行的电极间距离 d_i ,则该过程进行至步骤S32,“i”增量为1,且返回至步骤S26。当该过程对于全部电极间距离 d_i 都完成时,那么该过程进行至步骤S34,鉴定单元234可输出鉴定结果,并且完成生物分子测序过程。

[0148] 如上文中所述的,在一些实施方式中,可使用利用电极间距离不同的多个纳米间隙电极对之间生成的电流(例如,隧道电流)获得的电导。因此,除了通过使用单个纳米间隙电极对或许多具有相同或基本相似的纳米间隙间距的纳米间隙电极对所实现的有利效果外,可以实现更准确的鉴定。不仅其中多个电极间距离不同的纳米间隙电极对的结构是可行的,而且其中单个纳米间隙电极对的电极间距离可改变的结构也是可行的。

[0149] 在本文中所述的一些实施方式中,仅对多个电极间距离不同的纳米间隙电极对的情况做了解释。然而,其中单个纳米间隙电极对的电极间距离改变的结构也是可行的。例如,可利用杠杆原理,通过调节着力点、支点和荷载点的几何结构布置来改变电极间距离。更具体地,通过使用压电元件抬高一部分纳米间隙电极对来移动用作荷载点的电极的末端,可改变电极间距离。在此情况下,可基于由压电元件抬高的距离与电极间距离之间的对应关系,根据需要设定电极间距离。

[0150] 可以使得如下的方式构造生物分子测序装置:电泳电极对20可被布置为靠近纳米间隙电极对12、和用于在进入纳米通道56中的朝着纳米间隙电极对12的方向上使样品50流动的流动路径46A以及用于在通过其中可设置有纳米间隙电极对12的纳米通道56的方向上使样品50流动的流动路径46B,使得可以改进施加在单个分子52上的电场的增加。这实现了以高准确性和高通量鉴定单个分子。此外,在一些实施方式中,生物分子测序装置可用作蛋白质组学测序仪,并且可以以高速度、高灵敏性和低成本应用于例如过敏原试验、疾病诊断等,可用于公共卫生、安全、安保和环境领域。

[0151] 尽管本公开内容已经参考纳米间隙电极的“对”而做出,但将理解本公开内容的装置和系统可包含任何数目的纳米间隙电极。例如,装置可包含纳米间隙电极组,其中所述纳米间隙电极组包含至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个电极。

[0152] 计算机控制系统

[0153] 本公开内容提供了被编程为执行该公开内容的方法的计算机控制系统。图15示出被编程或以其它方式构造为对生物分子例如蛋白质进行测序的计算机系统1501。计算机系统1501可为在本文中其它地方所述的控制单元26和226。计算机系统1501包含中央处理单元(CPU,在本文中也称为“处理器”和“计算机处理器”)1505,其可以为单核或多核处理器,或多个并行处理的处理器。计算机系统1501还包含存储器或存储单元1510(例如,随机存取存储器,只读存储器,快闪存储器),电子存储单元1515(例如,硬盘),用于与一个或多个其它系统通讯的通讯界面1520(例如,网络适配器),外围装置1525,如高速缓冲存储器,其它存储器,数据存储器和/或电子显示器适配器。存储器1510、存储单元1515、界面1520和外围装置1525通过通讯总线(实线)例如主板与CPU1505通讯。存储单元1515可为用于存储数据的数据存储单元(或数据储存库)。计算机系统1501可在通讯界面1520的辅助下操作性地连接至计算机网络(“网络”)1530。网络1530可以是英特网,内联网和/或外联网,或与英特网通讯的内联网和/或外联网。网络1530在一些情况下为电信和/或数据网络。网络1530可包含一个或多个计算机服务器,其可实现分散的计算,例如云计算。网络1530在一些情况下在

计算机系统1501的辅助下可实施点对点网络,这可以使得连接至计算机系统1501的装置用作客户端或服务器。

[0154] CPU 1505可执行机器可读指令的序列,该序列可体现为程序或软件。指令可存储在存储单元,如存储器1510中。指令可引导至CPU 1505,其随后可编程或以其它方式配置CPU 1505,从而实施本公开内容的方法。通过CPU 1505进行的操作的实例可包括获取、解码、执行和回写。

[0155] CPU 1505可以是电路如集成电路的一部分。可在电路中包含系统1501的一个或多个其它组件。在一些情况下,电路是专用集成电路(ASIC)。

[0156] 存储单元1515可存储文档,例如驱动、函数库和保存的程序。存储单元1515可存储用户数据,例如用户偏好和用户程序。计算机系统1501在一些情况下可包含一个或多个另外的数据存储单元,所述数据存储单元在计算机系统1501外部,例如位于通过内联网或英特网与计算机系统1501通讯的远程服务器上。

[0157] 计算机系统1501可通过网络1530与一个或多个远程计算机系统通讯。例如,计算机系统1501可与用户的远程计算机系统通讯。用户可通过网络1530进入计算机系统1501。

[0158] 如本文中所述的方法可通过在计算机系统1501的电子存储单元上,例如在存储器1510或电子存储单元1515上存储的机器(例如,计算机处理器)可执行代码实施。机器可执行或机器可读代码能够以软件的形式提供。在使用期间,代码可通过处理器1505执行。在一些情况下,代码可从存储单元1515中取出并存储在存储器1510上以便于处理器1505访问。在一些情形下,可以排除电子存储单元1515,并且机器可执行指令存储在存储器1510上。

[0159] 代码可利用具有适于执行该代码的处理器机器进行预编译和配置使用,或者可在运行期间编译。代码可以以编程语言的形式提供,该编程语言可选择为使得该代码以预编译或编译态的方式执行。

[0160] 本文中提供的系统和方法的方面,例如计算机系统1501,可在编程中体现。技术的各方面可视为通常呈如下形式的“产品”或“制品”:在一种类型的机器可读介质中实施或体现的机器(或处理器)可执行代码和/或相关的数据。机器可执行代码可存储在电子存储单元,例如存储器(例如,只读存储器,随机存取存储器,快闪存储器)或硬盘上。“存储”型介质可包括计算机的任何的或全部的有形存储器,处理器等,或其相关的模块,例如各种半导体存储器,磁带驱动器,磁盘驱动器等,其可在任何时间为软件编程提供非瞬态存储。全部或部分软件可有时通过英特网或各种其它的电信网络通讯。这种通讯例如可使得软件从一个计算机或处理器输入到另一个,例如从管理服务器或主机输入到应用服务器的计算机平台。因此,可载有软件元件的另一种类型的介质包括例如跨过本地装置之间的物理界面,通过有线或光学的陆上通信网络和通过各种的空中链接使用的光波、电波和电磁波。载有这种波,例如有线或无线链接、光学连接等的物理元件也可视为载有所述软件的介质。如本文中所用的,除非限制为非瞬态的,否则有形的“存储”介质,术语如计算机或机器“可读介质”是指参与向执行用处理器提供指令的任何介质。

[0161] 因此,机器(或计算机)可读介质,例如计算机可执行的代码(或计算机程序)可采取许多形式,包括但不限于有形的存储介质、载波介质或物理传输介质。非易失性存储介质包括例如光盘或磁盘,例如在任何计算机中的任何存储装置等,例如可用于实施在附图所示的数据库等。易失性存储器介质包括动态存储器,例如这种计算机平台的主存储器。有

形的传输介质包括同轴电缆;包括电线的铜线和光纤,所述电线包括在计算机系统内的总线。载波传输介质可采取如下的形式:电信号或电磁信号,或声波或光波,如在无线电频率(RF)和红外(IR)数据通讯期间产生的那些。因此,计算机可读介质的常见形式例如包括:软盘,可折叠磁盘,硬盘,磁带,任何其它磁介质,CD-ROM,DVD或DVD-ROM,任何其它光学介质,穿孔卡片纸带,具有孔图案的任何其它物理存储介质,RAM,ROM,PROM和EPROM,FLASH-EPROM,任何其它存储芯片或存储盒,传输数据或指令的载波,传输这种载波的电缆或连接,或计算机可由其读取编程代码和/或数据的任何其它介质。许多这种形式的计算机可读介质可参与将一种或多种序列的一种或多种指令负载至执行用处理器。

[0162] 如上文所述的,在一些实施方式中,本发明的生物分子测序装置被描述为包含已经预装的程序。然而,可在任何时候通过英特网读取或下载储存在外部存储器或外部记录介质中的程序以用于执行。此外,该程序可以以储存在计算机可读记录介质中的状态提供。

[0163] 尽管已经在本文中示出和说明了本发明的优选实施方式,但对于本领域技术人员将显而易见的是,这种实施方式仅通过举例提供。本发明不旨在由本说明书内提供的具体实例所限制。尽管已经参考前述说明书描述了本发明,但是本文中的实施方式的说明和例示不意味着理解为限制意义。对于本领域技术人员,现在将出现各种变体、改变和取代,而不背离本发明。此外,应理解本发明的全部方面不限于本文中阐述的取决于各种条件和变量的具体的描绘、构造或相对比例。应理解,本文中描述的该发明实施方式的各种可选方式可用于实践该发明。因此,认为本发明还应覆盖任何的这种可选方式、修改、变体或等价物。意图是,以上的权利要求书限定本发明的范围,并且由此覆盖在这些权利要求的范围内的方法和结构以及它们的等价物。

[0164] 本申请要求于2014年1月24日提交的日本专利申请2014-011430的优先权,所述申请通过参考整体并入本文中。

[0165] 在该说明书中提到的全部申请、专利和专利申请以与就好像各单个的申请、专利或专利申请具体地和单独地指示为通过参考并入相同的程度通过参考并入本文中。

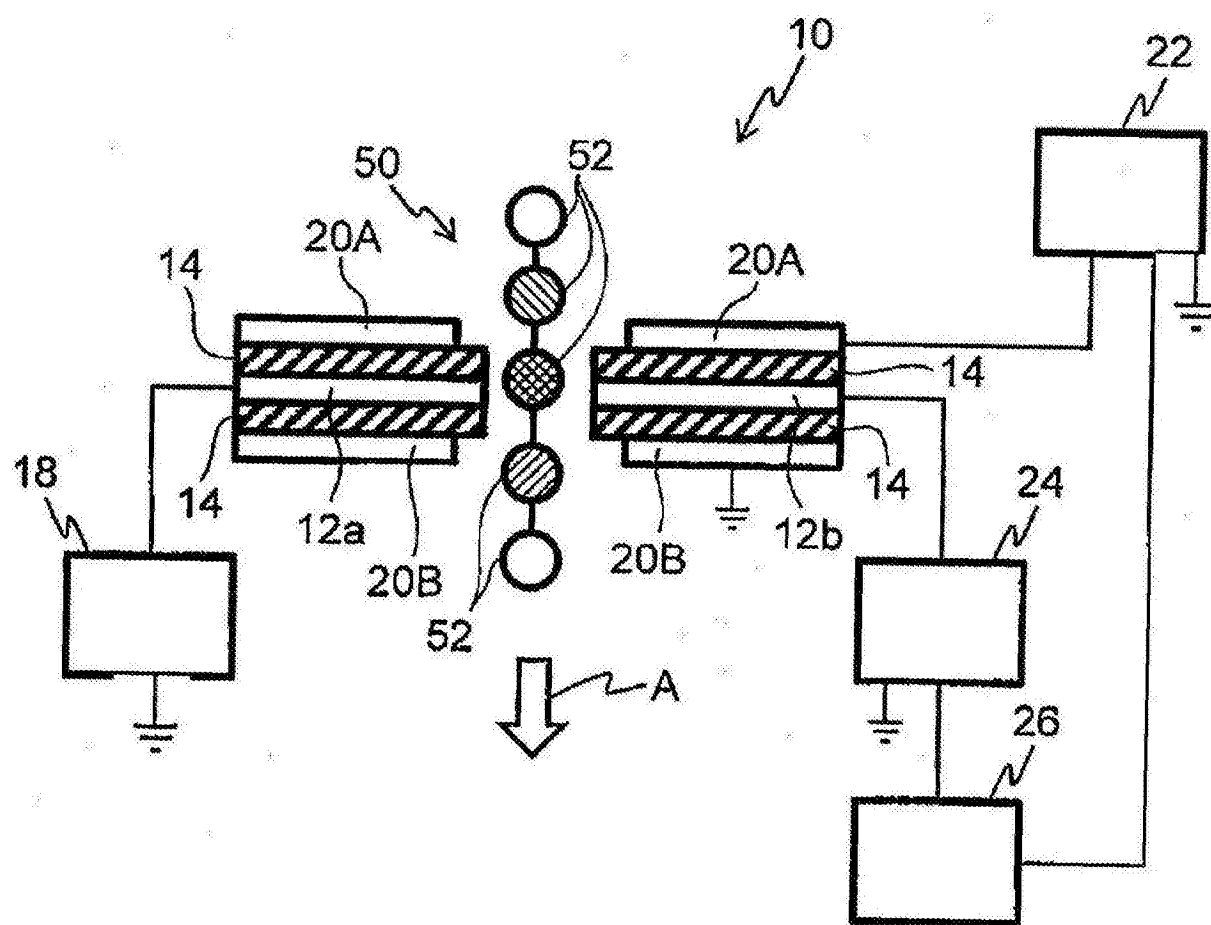


图1

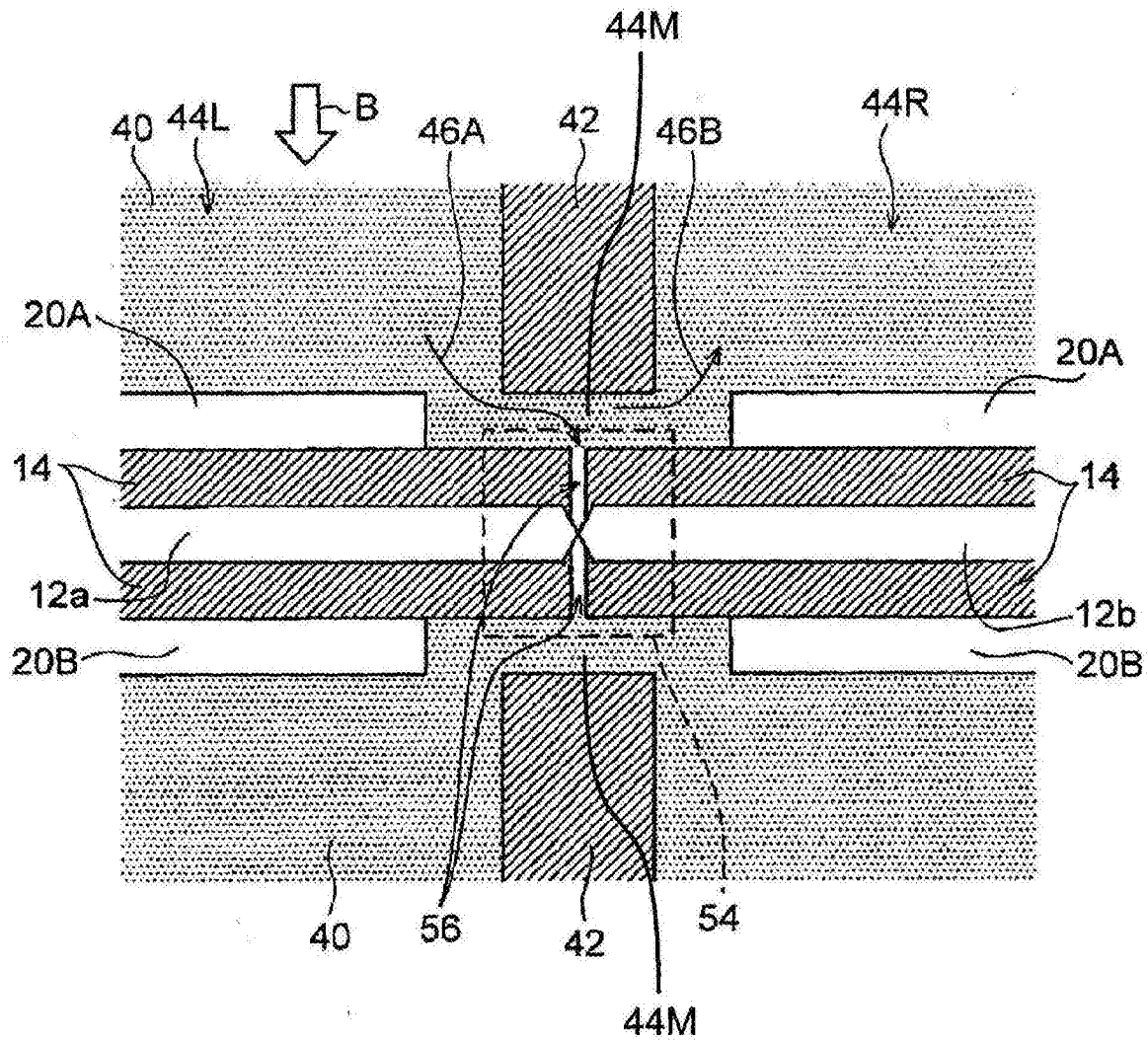


图2

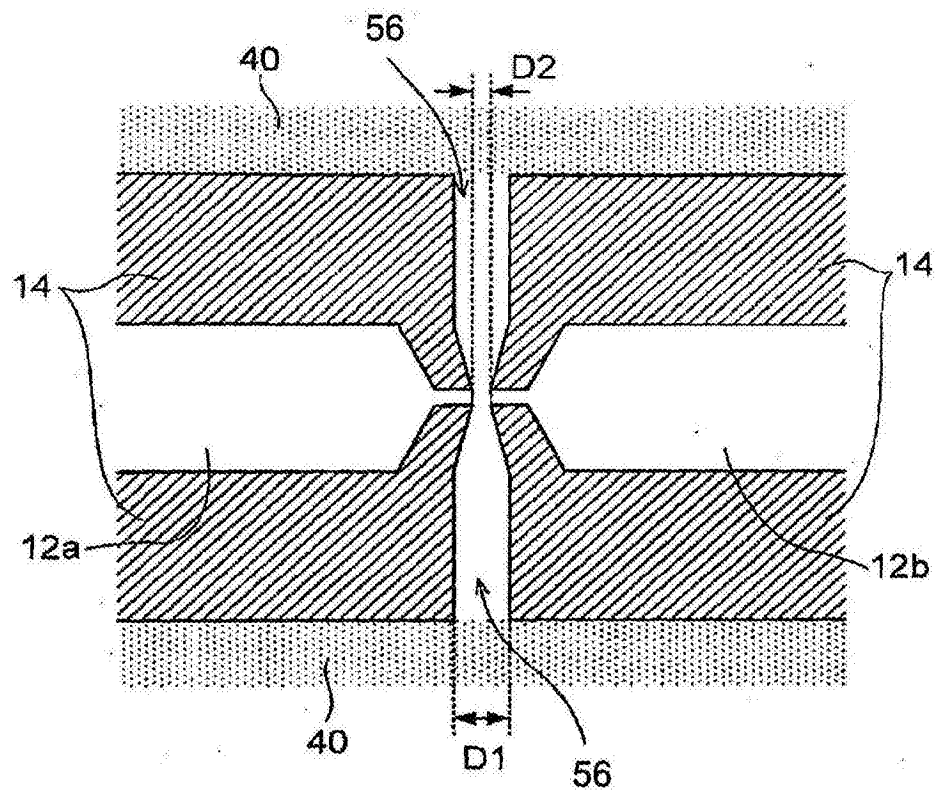


图3

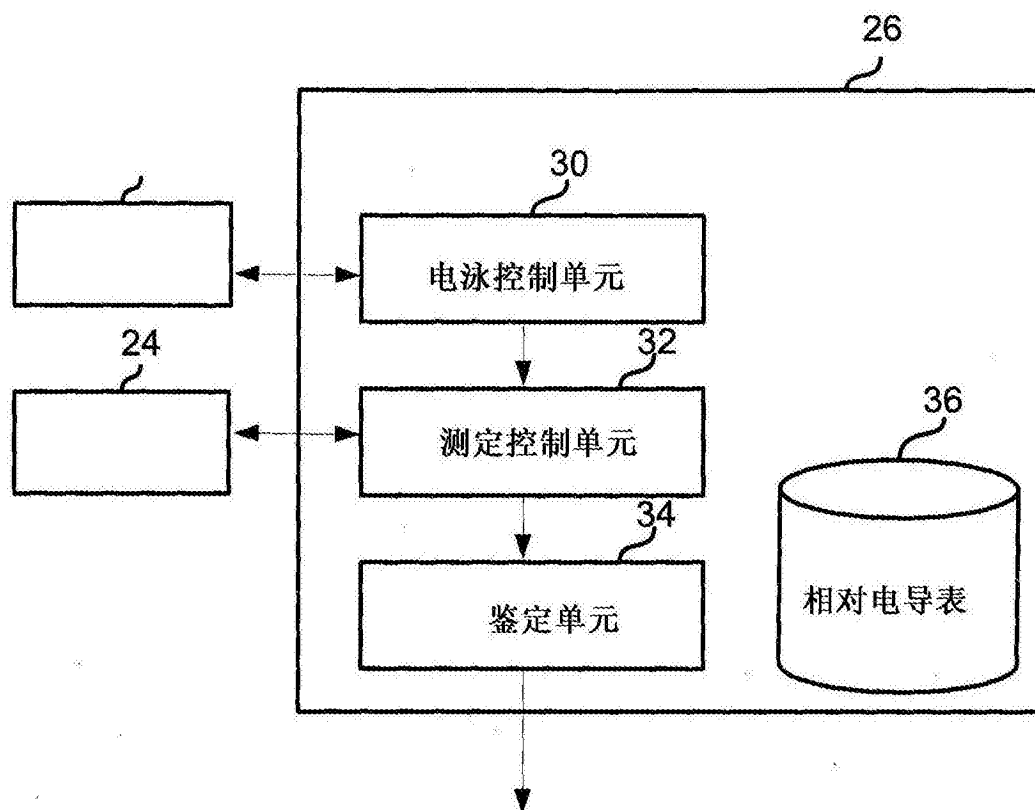


图4

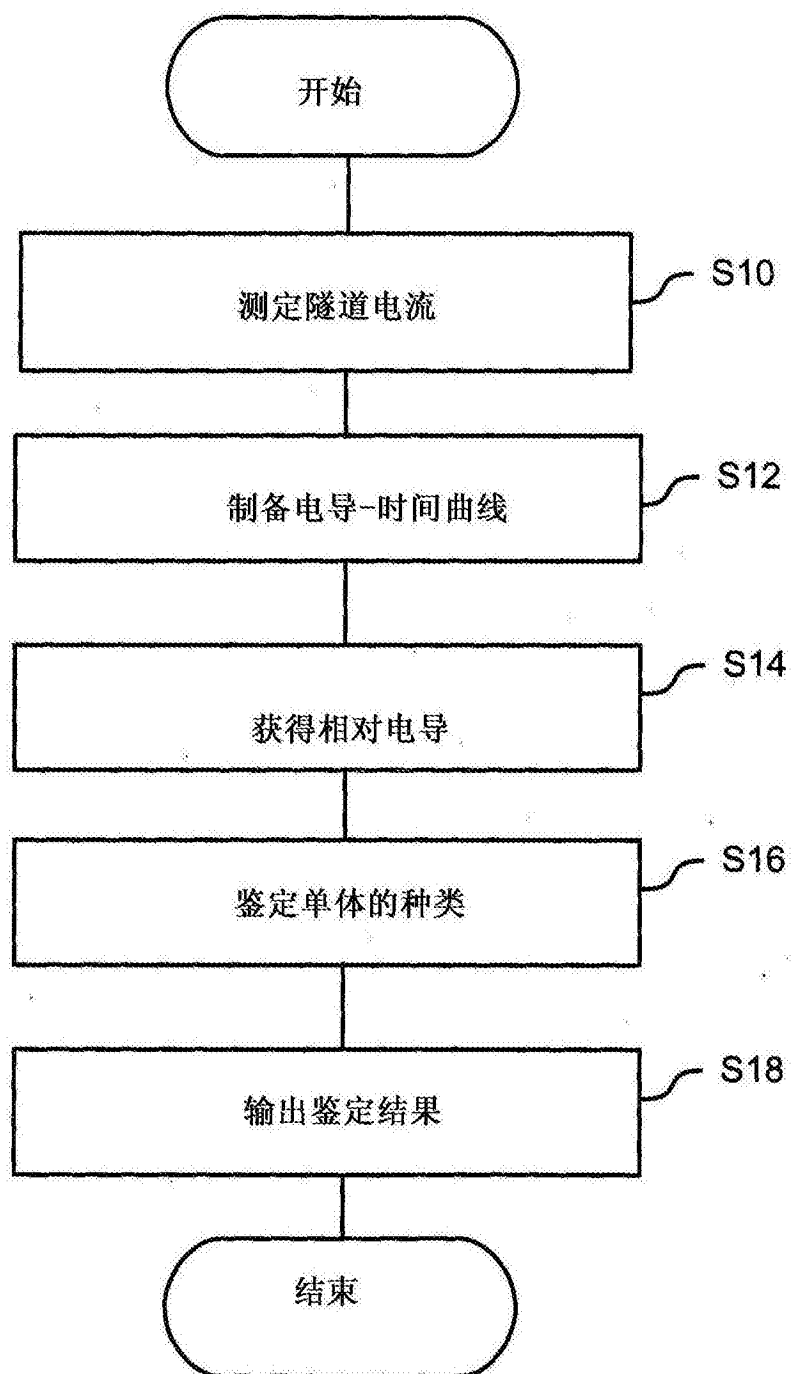


图5

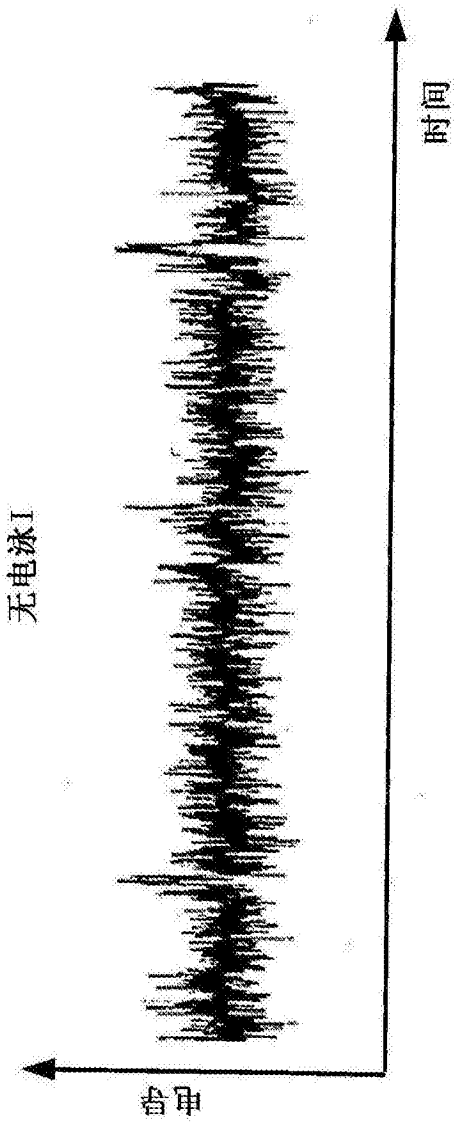


图6

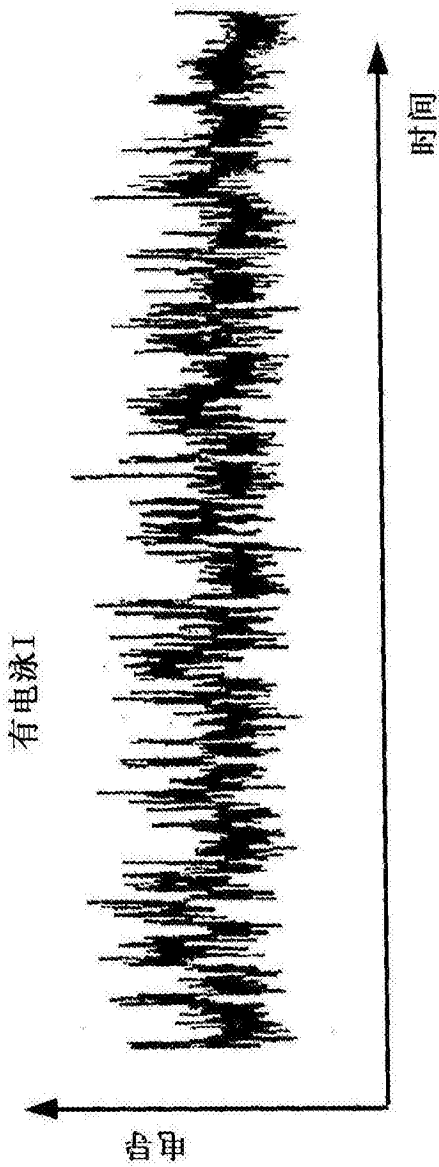


图7

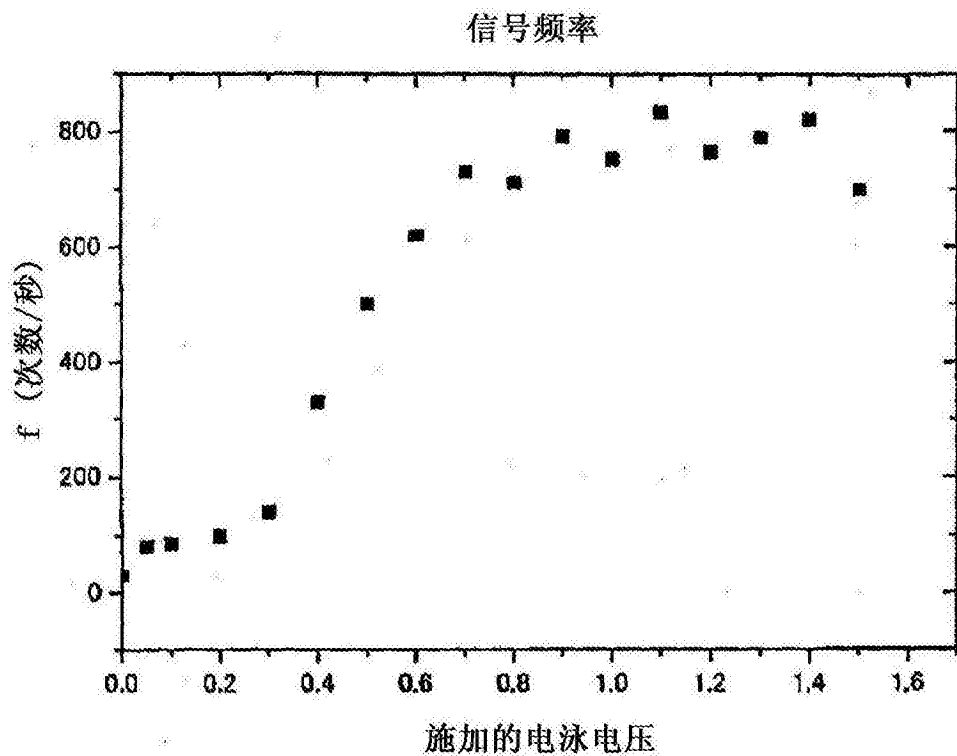


图8

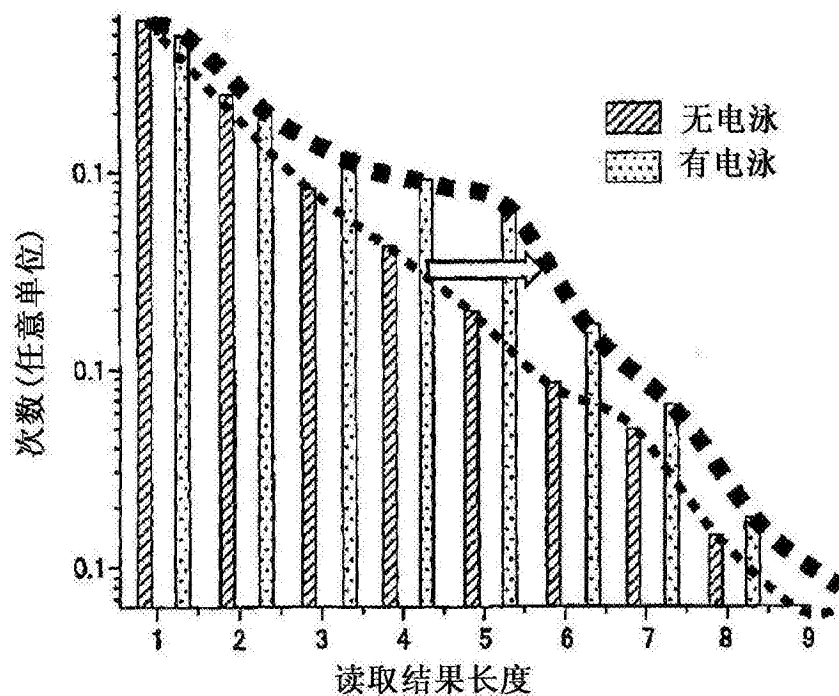


图9

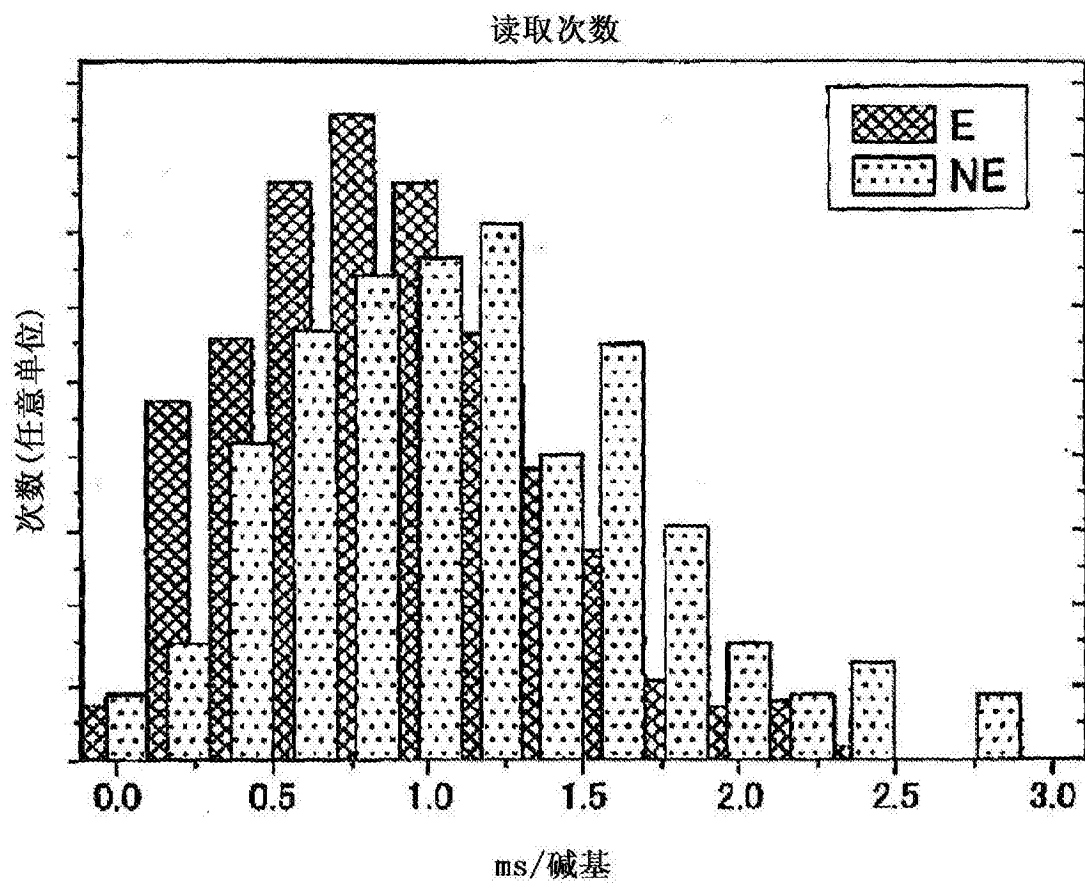


图10

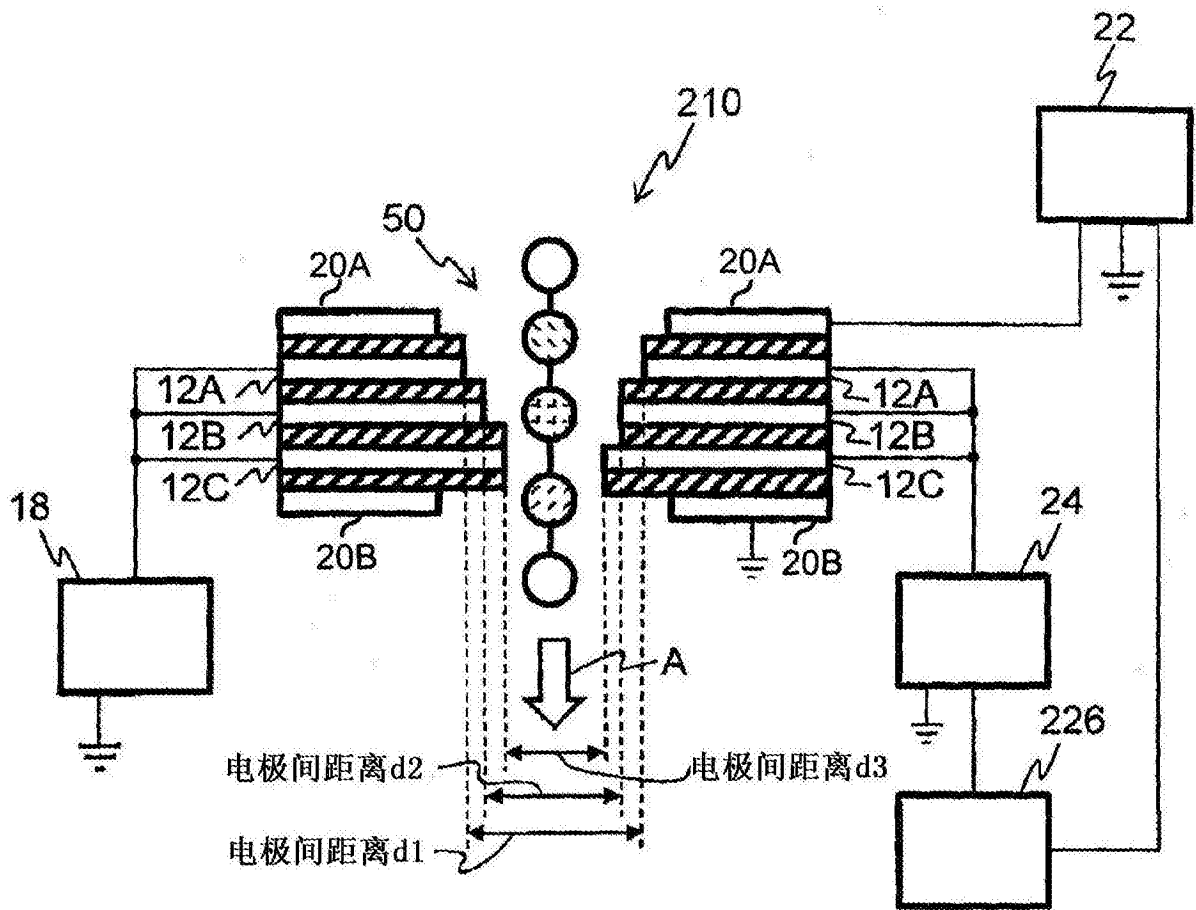


图12

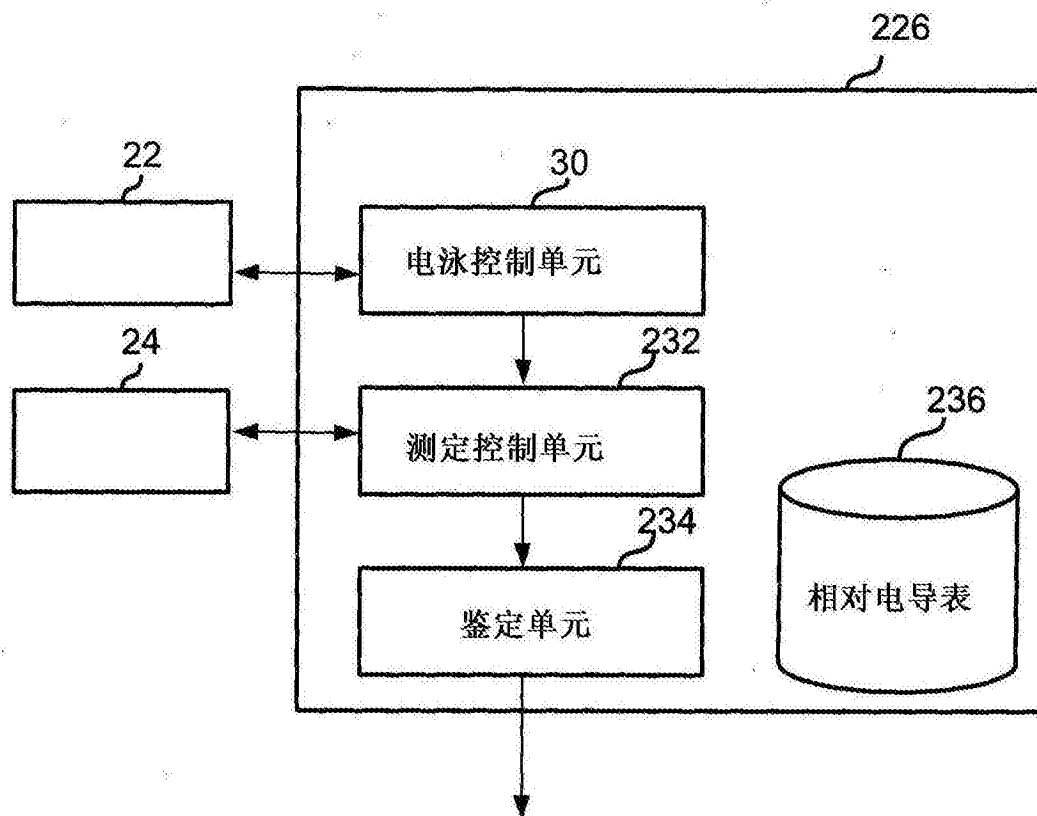


图13

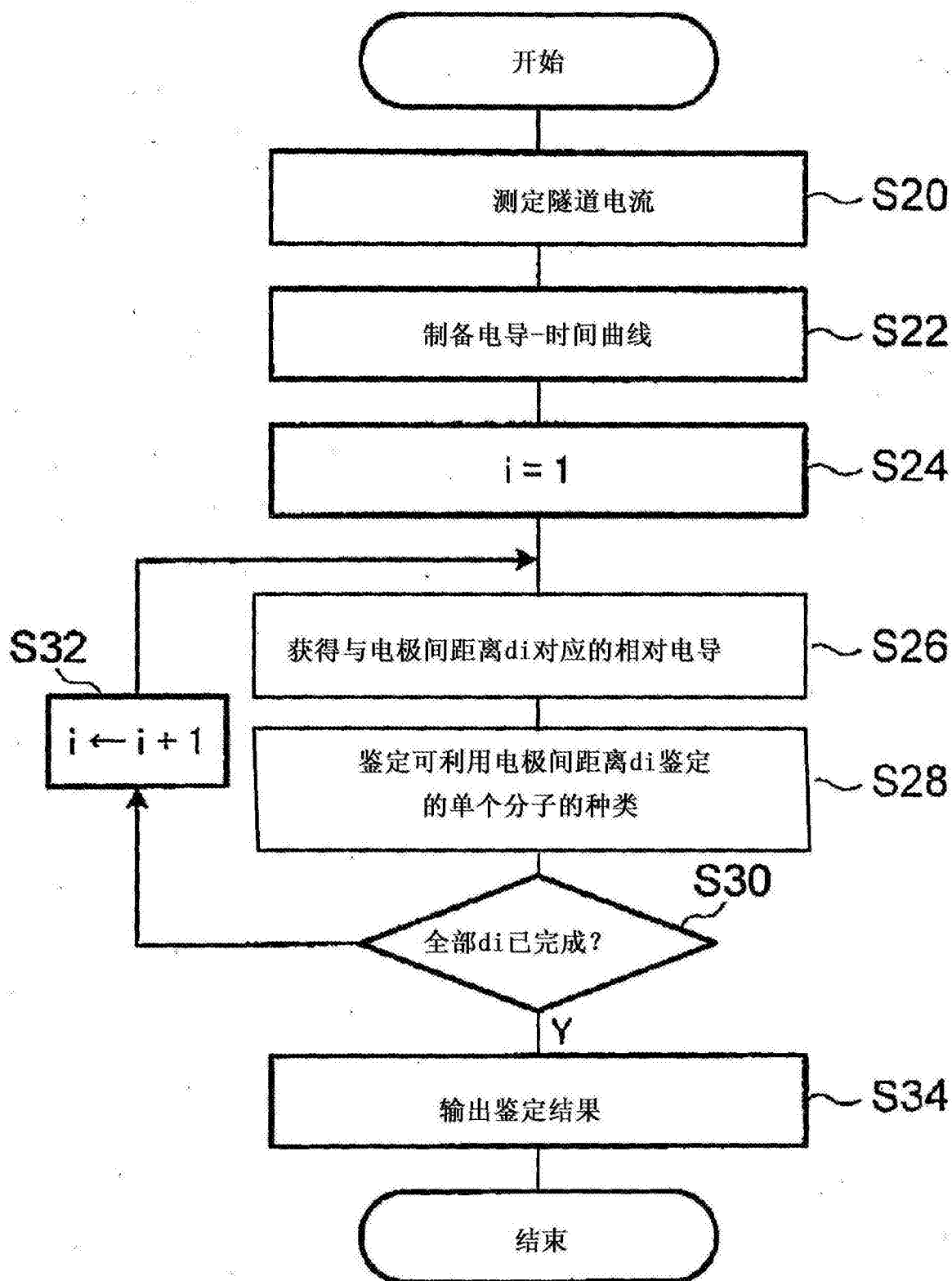


图14

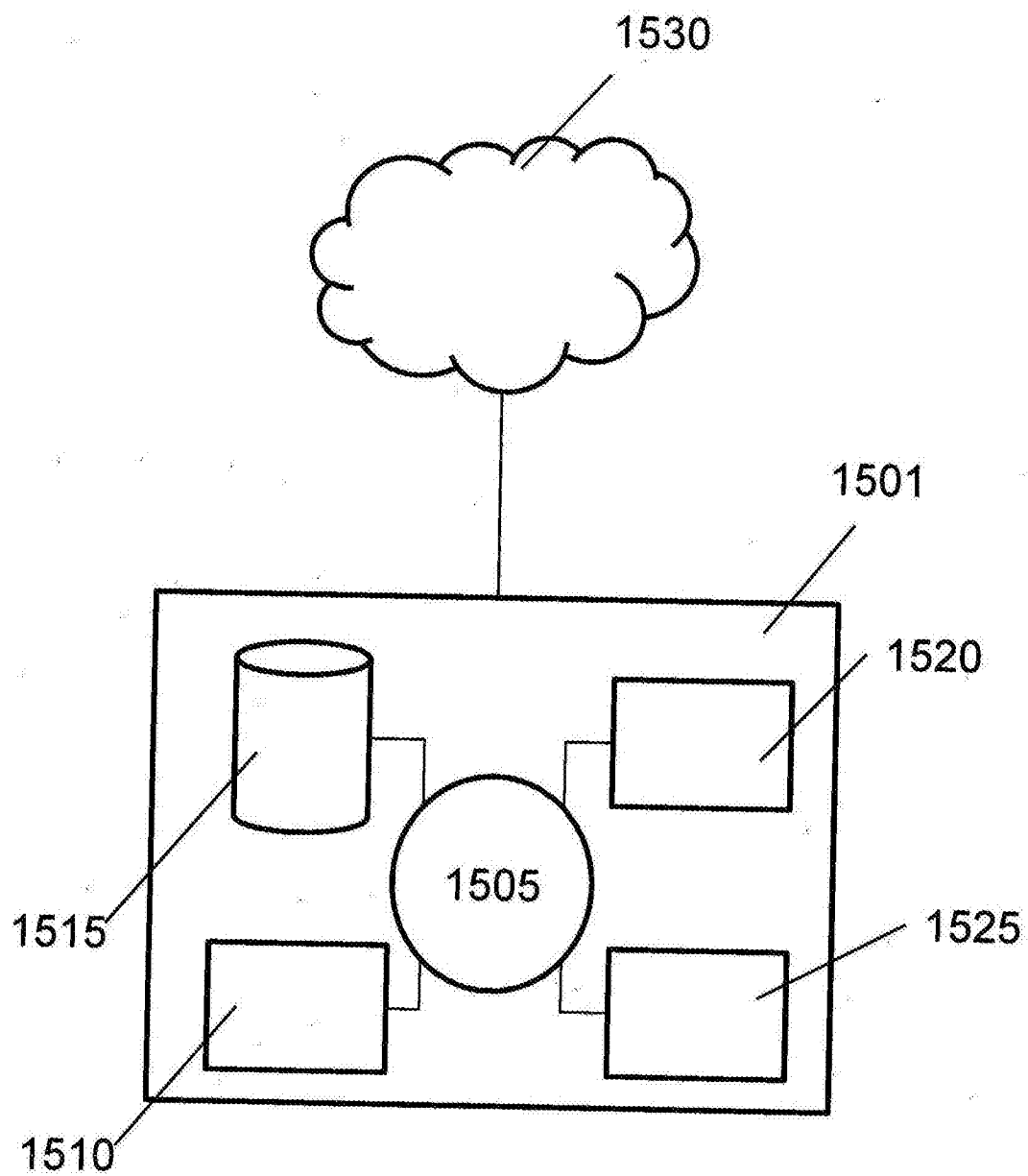


图15