



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202147591 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：110107318

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 03 月 02 日

(51)Int. Cl.：

*H01L27/146 (2006.01)**H01L27/24 (2006.01)**G01N21/01 (2006.01)**G01N21/17 (2006.01)*

(30)優先權：2020/03/02

美國

62/984,229

(71)申請人：美商寬騰矽公司 (美國) QUANTUM-SI INCORPORATED (US)

美國

(72)發明人：史區米德 格瑞德 SCHMID, GERARD (US)；楊 大江 YANG, DAJIANG (US)；

偉柏斯特 艾瑞克 A G WEBSTER, ERIC A.G. (GB)；王欣 WANG, XIN

(CN)；李爾瑞克 陶德 REARICK, TODD (US)；崔 昶勳 CHOI, CHANGHOON

(US)；卡畢里 阿里 KABIRI, ALI (CA)；普雷斯頓 凱爾 PRESTON, KYLE

(US)；瑞德 布萊恩 REED, BRIAN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：5 共 134 頁

(54)名稱

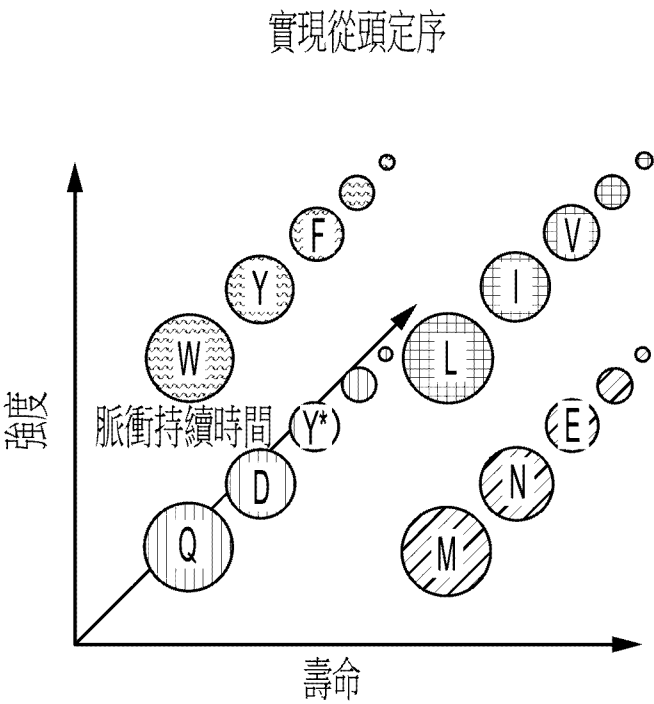
用於多維信號分析之整合感應器

(57)摘要

一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載子；及至少一個控制器，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括脈衝持續時間及脈衝間持續時間的群組之至少一個成員與選自包括波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的群組之至少一個成員。在一些實施例中，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少三個、四個及/或五個成員。在一些實施例中，該經獲取資訊可用來識別該樣本。

Some aspects relate to an integrated circuit, comprising at least one photodetection region configured to generate charge carriers responsive to incident photons emitted from a sample, at least one charge storage region configured to receive the charge carriers from the photodetection region, and at least one controller configured to obtain information about the incident photons, the information comprising at least one member selected from the group comprising pulse duration and interpulse duration and at least one member selected from the group comprising wavelength information, luminescence lifetime information, and intensity information. In some embodiments, the information comprises at least three, four, and/or five members selected from the group comprising wavelength information, luminescence lifetime information, intensity information, pulse duration information, and interpulse duration information. In some embodiments, the information obtained may be used to identify the sample.

指定代表圖：



【圖5-12】



202147591

【發明摘要】**【中文發明名稱】**

用於多維信號分析之整合感應器

【英文發明名稱】**INTEGRATED SENSOR FOR MULTI-DIMENSIONAL SIGNAL ANALYSIS****【中文】**

一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載子；及至少一個控制器，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括脈衝持續時間及脈衝間持續時間的群組之至少一個成員與選自包括波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的群組之至少一個成員。在一些實施例中，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少三個、四個及/或五個成員。在一些實施例中，該經獲取資訊可用來識別該樣本。

【英文】

Some aspects relate to an integrated circuit, comprising at least one photodetection region configured to generate charge carriers responsive to incident photons emitted from a sample, at least one charge storage region configured to receive the charge carriers from the photodetection region, and at least one controller configured to obtain information about the incident photons, the information comprising at least one

member selected from the group comprising pulse duration and interpulse duration and at least one member selected from the group comprising wavelength information, luminescence lifetime information, and intensity information. In some embodiments, the information comprises at least three, four, and/or five members selected from the group comprising wavelength information, luminescence lifetime information, intensity information, pulse duration information, and interpulse duration information. In some embodiments, the information obtained may be used to identify the sample.

【指定代表圖】

圖5-12

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於多維信號分析之整合感應器

【英文發明名稱】

INTEGRATED SENSOR FOR MULTI-DIMENSIONAL SIGNAL ANALYSIS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於可藉由將短光學脈衝提供至數以萬計之樣本井或更多地自該等樣本井接收螢光學信號以供樣本分析來執行樣本之大規模平行分析之積體器件及相關儀器。該等儀器可實用於定點照護檢測(point-of-care)基因定序及個人化醫療。

【先前技術】

【0002】 在各種應用中使用光偵測器來偵測光。已開發出產生指示入射光之強度之電信號之積體光偵測器。用於成像應用之積體光偵測器包含像素陣列以偵測自整個場景接收之光之強度。積體光偵測器之實例包含電荷耦合式器件(CCD)及互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感應器。

【0003】 能夠對生物或化學樣本進行大規模平行分析之儀器通常由於若干因素(可包含其等大尺寸、缺乏便攜性、需要熟練操作儀器之技術人員、電力需求、需要受控操作環境、及成本)而限於實驗室環境。當使用此設備分析樣本時，常見範例係定點照護檢測或現場提取樣本，將樣本發送至實驗室且等待分析結果。等待結果之時間可在自數小時至數天之範圍內。

【發明內容】

【0004】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括脈衝持續時間資訊與選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少一個成員。

【0005】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊之至少三者。

【0006】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括脈衝間持續時間資訊與選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊及脈衝持續時間資訊的群組之至少一個成員。

【0007】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊

及脈衝間持續時間資訊的群組之至少三個成員。

【0008】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少四個成員。

【0009】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊。

【0010】 本發明之一些態樣係關於一種判定關於回應於激勵光而發射發射光的樣本之資訊的器件，該資訊包括選自包括該發射光之脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少一個成員與選自包括該發射光之波長、強度及發光壽命特性的群組之至少一個成員。

【0011】 本發明之一些態樣係關於一種器件，其包括：樣本井，其接納回應於激勵光而發射發射光之樣本；光偵測器，其回應於該發射光而產生電荷載流子；及組件，其至少部分地基於該等電荷載流子之一或多個特性，判定選自包括該發射光之波長、強度、發光壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少兩個成員。

【0012】 本發明之一些態樣係關於一種方法，其包括：用激勵光激

勵樣本；及判定選自包括由該樣本回應於該激勵光發射之光之波長、強度、壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少三個成員。

【0013】 本發明之一些態樣係關於一種方法，其包括：用激勵光激勵樣本；判定由該樣本回應於該激勵光而發射之光之脈衝持續時間特性；及判定選自包括由該樣本回應於該激勵光而發射之該光之波長、強度、壽命及脈衝間持續時間特性的群組之至少一個成員。

【0014】 本發明之一些態樣係關於一種方法，其包括：用激勵光激勵樣本；判定由該樣本回應於該激勵光而發射之光之脈衝間持續時間特性；及判定選自包括由該樣本回應於該激勵光而發射之該光之波長、強度、壽命及脈衝持續時間特性的群組之至少一個成員。

【0015】 本發明之一些態樣係關於一種方法，其包括：基於選自包括發射光之波長、強度、壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少三個成員，判定關於回應於激勵光而發射該發射光的樣本之資訊。

【0016】 本發明之一些態樣係關於一種器件，其包括：複數個樣本井，各樣本井經組態以接納回應於激勵光而發射發射光之樣本；波導，其將該激勵光引導至該複數個樣本井；複數個感應器，該複數個感應器之各感應器經組態以回應於該發射光而產生電荷載流子；及一或多個處理器，其經組態以判定選自包括該發射光之脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少一個成員與選自包括來自該複數個樣本井之一或多個樣本井之該發射光之波長、壽命及強度特性的群組之一個成員，且至少部分地基於該至少兩個特性判定關於該樣本之資訊。

【0017】 本發明之一些態樣係關於一種器件，其包括：複數個樣本

井，各樣本井經組態以接納回應於激勵光而發射發射光之樣本；波導，其將該激勵光引導至該複數個樣本井；複數個感應器，該複數個感應器之各感應器經組態以回應於該發射光而產生電荷載流子；及一或多個處理器，其經組態以判定選自包括來自該複數個樣本井之一或多個樣本井之該發射光之波長、壽命、強度、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少三個成員，且至少部分地基於至少三個特性判定關於該樣本之資訊。

【0018】 本發明之一些態樣係關於一種器件，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；及至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之三、四個或五個特性之任一者。

【0019】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的群組之三、四個或五個成員之任一者，其中：該至少一個組件包括複數個組件，該複數個組件之各者經組態以獲取選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的該群組之該三、四個或五個成員之不同者。

【0020】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽

命資訊及強度資訊的群組之三個、四個或五個特性之任一者，其中：該至少一個組件包括第一組件，該第一組件經組態以獲取選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的該群組之該三個、四個或五個成員之各者。

【0021】 本發明之一些態樣係關於一種積體電路，其包括：至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的群組之三個、四個或五個特性之任一者，該至少一個組件包括：第一組件，其經組態以獲取選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的該群組之該等成員之至少兩者；及第二組件，其經組態以獲取選自包括脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊、波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的該群組之該等成員之至少一者；由該第二組件獲取之該至少一個成員不同於由該第一組件獲取之該至少兩個成員。

【圖式簡單說明】

【0022】 圖1-1A係根據一些實施例之積體器件的示意圖。

【0023】 圖1-1B係根據一些實施例之積體器件之像素的示意圖。

【0024】 圖1-1C係根據一些實施例之圖1-1B之像素的電路圖。

【0025】 圖1-1D係根據一些實施例之圖1-1B及圖1-1C之像素的平面圖。

【0026】 圖1-2A描繪根據一些實施例之具有不同衰變特性之兩個不同螢光團的發射概率曲線。

【0027】 圖1-2B描繪根據一些實施例之螢光發射的時間分格偵測。

【0028】 圖1-2C描繪根據一些實施例之時間分格光偵測器。

【0029】 圖1-2D描繪根據一些實施例之來自樣本之螢光發射的脈衝式激勵及時間分格偵測。

【0030】 圖1-2E描繪根據一些實施例之在樣本之重複脈衝式激勵之後的各個時間格中之經累積螢光光子計數的直方圖。

【0031】 圖2-1係根據一些實施例之實例性像素的側視圖，該實例性像素具有時間閘控電荷儲存區及經組態以經由光偵測區接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區。

【0032】 圖2-2係根據一些實施例之替代實例性像素的側視圖，該替代實例性像素具有時間閘控電荷儲存區及經組態以經由光偵測區接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區。

【0033】 圖2-3係根據一些實施例之實例性像素的側視圖，該實例性像素具有時間閘控電荷儲存區、經組態以接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區及經組態以經由直接激勵電荷儲存區接收至少一些入射光子。

【0034】 圖2-4係根據一些實施例之實例性像素的側視圖，該實例性像素具有兩個不同深度之光偵測區及兩個時間閘控電荷儲存區。

【0035】 圖2-5係根據一些實施例之實例性像素的側視圖，該實例性像素具有三個不同深度之光偵測區。

【0036】 圖3-1A係根據一些實施例之實例性像素的俯視圖，該實例性像素具有一個光偵測區及四個電荷儲存區。

【0037】 圖3-1B係根據一些實施例之圖3-1A之像素之一部分的截面

圖。

【0038】 圖3-2A係根據一些實施例之實例性像素的俯視圖，該實例性像素具有一個光偵測區及六個電荷儲存區。

【0039】 圖3-2B係根據一些實施例之圖3-2A之像素之一部分的截面圖。

【0040】 圖3-3A係根據一些實施例之實例性像素的俯視圖，該實例性像素具有一個光偵測區及兩個電荷儲存區。

【0041】 圖3-3B係根據一些實施例之圖3-3A之像素之一部分的截面圖。

【0042】 圖3-3C係根據一些實施例之圖3-3A之像素之一部分的替代截面圖。

【0043】 圖3-4係根據一些實施例之具有兩個電荷儲存區之實例像素的側視圖，其中該等電荷儲存區之一者具有光學屏蔽。

【0044】 圖4-1係根據一些實施例之實例性像素的側視圖，該實例性像素具有一光學分類元件、兩個光偵測區及兩個時間閘控電荷儲存區。

【0045】 圖4-2係根據一些實施例之替代實例性像素的側視圖，該替代實例性像素具有一光學分類元件、兩個光偵測區及兩個時間閘控電荷儲存區。

【0046】 圖4-3A至圖4-3E展示根據一些實施例之用於被分析樣本分子之特性脈衝型樣之非限制性實例。

【0047】 圖4-4展示根據一些實施例之針對多維鑒別技術收集之資料之一項實例。

【0048】 圖5-1A係根據一些實施例之積體器件及儀器的方塊圖。

【0049】 圖5-1B係根據一些實施例之包含積體器件之裝置的示意圖。

【0050】 圖5-1C係根據一些實施例之包含緊湊鎖模雷射模組之分析儀器的方塊圖描繪。

【0051】 圖5-1D描繪根據一些實施例之併入至分析儀器中之緊湊鎖模雷射模組。

【0052】 圖5-2描繪根據一些實施例之一系列光學脈衝。

【0053】 圖5-3描繪根據一些實施例之可由脈衝式雷射經由一或多個波導光學地激勵之平行反應室之實例。

【0054】 圖5-4繪示根據一些實施例之自波導對反應室之光學激勵。

【0055】 圖5-5描繪根據一些實施例之整合式反應室、光學波導及時間分格光偵測器之進一步細節。

【0056】 圖5-6描繪根據一些實施例之可在反應室內發生之生物反應之實例。

【0057】 圖5-7描繪根據一些實施例之具有不同衰變特性之兩個不同螢光團的發射概率曲線。

【0058】 圖5-8描繪根據一些實施例之螢光發射的時間分格偵測。

【0059】 圖5-9描繪根據一些實施例之時間分格光偵測器。

【0060】 圖5-10A描繪根據一些實施例之來自樣本之螢光發射的脈衝式激勵及時間分格偵測。

【0061】 圖5-10B描繪根據一些實施例之在樣本之重複脈衝式激勵之後的各個時間格中之經累積螢光光子計數的直方圖。

【0062】 圖5-11A至圖5-11D描繪根據一些實施例之可對應於四種核苷酸(T、A、C、G)或核苷酸類似物的不同直方圖。

【0063】 圖5-12繪示展示用於識別胺基酸之三維鑒別技術的實例曲線圖。

【0064】 圖5-13係繪示根據一些實施例之藉由埃德曼降解來對帶標示多肽進行定序之方法的流程圖。

【0065】 圖5-14包含繪示根據一些實施例之其中離散結合事件引起信號輸出之信號脈衝之定序方法的流程圖，及繪示信號輸出的曲線圖。

【0066】 自下文在結合圖式進行時所闡述之詳細描述，本發明之特徵及優點將變得更加顯而易見。當參考圖式描述實施例時，可使用方向性參考(「上方」、「下方」、「頂部」、「底部」、「左」、「右」、「水平」、「垂直」等)。此等參考僅僅意欲為輔助讀者以正常定向檢視圖式。此等方向性參考並非意欲於描述所體現器件之特徵之較佳或唯一定向。可使用其他定向體現器件。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0067】 本申請案根據35 U.S.C. § 119(e)主張2020年3月2日以代理人案號R0708.70090US00申請之標題為「INTEGRATED SENSOR FOR MULTI-DIMENSIONAL SIGNAL ANALYSIS」之美國臨時專利申請案第62/984,229號之權益，該案之全文以引用的方式併入本文中。

【0068】 I. 引言

【0069】 本發明之態樣係關於能夠平行分析樣本(包含識別單種分子及核酸定序)之積體器件、儀器及相關系統。此儀器可為緊湊的，易於攜

帶且易於操作，從而允許醫師或其他提供者容易地使用該儀器且將該儀器輸送至可能需要護理之所欲位置。樣本之分析可包含用一或多種螢光標記物標示樣本，該一或多種螢光標記物可用來偵測樣本及/或識別樣本之單種分子(例如，作為核酸定序之部分之個別核苷酸識別)。回應於用激勵光(例如，具有可將螢光標記物激勵至受激態之特性波長之光)照明螢光標記物，該螢光標記物可被激勵，且若該螢光標記物被激勵，則發射發射光(例如，具有由該螢光標記物藉由自受激態返回至基態而發射之特性波長之光)。發射光之偵測可允許螢光標記物之識別，及因此可由螢光標記物標示之樣本或樣本分子之識別。根據一些實施例，該儀器可能夠進行大規模平行樣本分析且可經組態以同時處置數以萬計之樣本或更多樣本。

【0070】 發明人已認知且明白，可使用積體器件來達成此數目個樣本之分析，該積體器件具有：樣本井，其等經組態以接納形成於該積體器件上之樣本及積體光學件；及儀器，其經組態以與該積體器件介接。該儀器可包含一或多個激勵光源，且該積體器件可與該儀器介接，使得使用形成於該積體器件上之積體光學組件(例如，波導、光學耦合器、分光器)將激勵光遞送至樣本井。光學組件可改良跨積體器件之樣本井之照明之均勻性且可減少否則可能需要之大量外部光學組件。此外，發明人已認知且明白，積體器件上之積體光偵測器(例如，光二極體)可改良來自樣本井之螢光發射之偵測效率且減少否則可能需要之光收集組件之數目。

【0071】 發明人已進一步認知，可量測及分析來自樣本井之螢光發射之特定特性以用於數個應用中。例如，經發射光之特定特性可實現正被分析樣本之識別(例如，螢光標記物之識別)，此可促進基因定序應用，諸如DNA、RNA及/或蛋白質定序。可獲取發射光之多個特性，包含關於強

度、波長、壽命、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及其等任何組合之資訊，以實現用於分析化學或生物樣本之多維鑒別技術。在一些實施例中，該器件經組態以獲取對經發射光之特性之量測以實現用於一或多個被分析樣本之2-D、3-D、4-D及5-D鑒別之技術。

【0072】 例如，發明人已開發出用於獲取光譜資訊(諸如自樣本并發射之入射光之波長)之技術。例如，在一些態樣中，像素可包含經組態以接收回應於來自光源之入射光子而產生的電荷載流子之一或多個電荷儲存區，其中儲存於該(等)電荷儲存區中之電荷載流子指示光譜及時序資訊。在一項實例中，兩個電荷儲存區可接收回應於不同波長之入射光而產生的電荷載流子，使得以該等電荷儲存區中之經累積電荷指示入射光之功率譜密度之差。替代地或另外，在一些態樣中，像素可包含具有不同深度之區，各區經組態以回應於入射光子而產生電荷載流子。例如，在一項實例中，該像素可包含具有不同深度之兩個或更多個光偵測區(例如，沿著光學軸)，使得回應於不同波長之入射光子而在不同光偵測區中產生電荷載流子。替代地或另外，在一些態樣中，像素可包含具有不同深度之多個電荷儲存區，且該等電荷儲存區之一或多者可經組態以接收入射光子且在其中產生電荷載流子。該等電荷儲存區之另一者可經組態以接收該像素之(若干)光偵測區中產生的電荷載流子。在一些態樣中，像素可替代地或另外包含光學分類元件，該光學分類元件經組態以將至少一些入射光子引導至一個電荷儲存區且將其他入射光子引導至另一電荷儲存區。例如，在一項實例中，該光學分類元件可包含至少部分折射、繞射、散射及/或電漿元件。發明人已認知，在2-D、3-D、4-D及/或5-D鑒別樣本分析技術之一些實施例中，波長資訊可用作一個鑒別度。

【0073】 另外，發明人已開發出用於分開地及以任何組合獲取被分析樣本之壽命、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及強度資訊之方法。具體而言，可使用時間閘控技術來獲取來自被分析樣本之發射之螢光壽命、脈衝寬度/持續時間及/或脈衝間持續時間之量測。在一些實施例中，藉由收集及量化由一或多個電荷儲存區中之入射光子產生的電荷載流子來獲取對發射光之強度之一或多個量測。發明人已認知，在2-D、3-D、4-D及/或5-D鑒別樣本分析技術之一些實施例中，除波長資訊外或替代其的是，此螢光壽命、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及/或強度資訊亦可用作鑒別度。例如，在2-D鑒別技術中，樣本之鑒別可基於組合地使用之任何兩種類型之資訊，諸如波長及強度、壽命及強度等。針對3-D鑒別技術，可基於組合地使用之任何三種類型之資訊(諸如波長、壽命及強度等)執行樣本之鑒別。同樣地，可基於組合地使用之任何四種類型之資訊執行4-D鑒別技術且可基於組合地使用之任何五種類型之資訊執行5-D鑒別技術。

【0074】 因此，發明人已認知，可使用本文中所描述之用於獲取來自樣本之發射光之波長、壽命、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及強度資訊及/或任何其他合適特性之技術來促進使用本文中所描述之特性之任何組合對生物或化學樣本進行多維分析。在一些實施例中，多維分析可用於識別自其收集及分析發射光之特定樣本，例如，識別特定胺基酸或核苷酸。發明人已認知，與一維分析相反，樣本之多維分析可提供分子之更準確識別。另外，與使用較少維度以供分析之技術相比較，使用較多維度之技術可提供分子之更準確識別。

【0075】 在一些實施例中，二維鑒別技術用於基於與樣本相關聯之發射光之特性分析及識別樣本。可在此等二維技術中使用任何合適特性分

群，例如，壽命及波長資訊，及/或波長及強度資訊。在一些實施例中，三維鑒別技術用於例如使用波長、壽命及強度資訊，使用波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及壽命資訊及/或任何其他合適特性分群來分析及識別樣本。在一些實施例中，四維鑒別技術用於例如使用與被分析樣本相關聯之經收集發射光之波長、壽命、強度、脈衝持續時間及脈衝間持續時間資訊分析及識別樣本。在一些實施例中，該積體器件經組態用於大規模平行樣本分析且因此多維分析技術可用於一次分析及識別大量樣本。

【0076】 應明白，本文中所描述之積體器件可單獨地或組合地併入本文中所描述之任何或所有技術。

【0077】 II. 積體器件概述

【0078】 在一些實施例中，可使用諸如圖1-1A中所展示之積體器件1-102的積體器件來實施本文中描述之多維信號分析技術。圖1-1A中展示繪示像素1-112之列之積體器件1-102之截面示意圖。積體器件1-102可包含耦合區1-201、路由區1-202及像素區1-203。像素區1-203可包含具有定位於與耦合區1-201分離之位置處之表面上之樣本井1-108之複數個像素1-112，該位置係激勵光(被展示為虛線箭頭)耦合至積體器件1-102之位置。可穿過(若干)金屬層1-106形成樣本井1-108。由虛線矩形所繪示之一個像素1-112係積體器件1-102之區，該區包含樣本井1-108及具有一或多個光偵測器1-110之光偵測區。

【0079】 圖1-1A繪示藉由將激勵光束耦合至耦合區1-201及樣本井1-108之激勵路徑(以虛線展示)。圖1-1A中所展示之樣本井1-108之列可經定位以與波導1-220光學地耦合。激勵光可照明定位於樣本井內之樣本。該樣本可回應於被激勵光照明而達到受激態。當樣本處於受激態時，該樣

本可發射發射光，該發射光可由與該樣本井相關聯之一或多個光偵測器來偵測。圖1-1A示意性地繪示自樣本井1-108至像素1-112之(若干)光偵測器1-110之發射光OPT之光學軸。像素1-112之(若干)光偵測器1-110可經組態及經定位以偵測來自樣本井1-108之發射光。合適光偵測器之實例在2015年8月7日以代理人案號R0708.70002US02申請之標題為「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」之美國專利申請案第14/821,656號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。針對個別像素1-112，樣本井1-108及(若干)其各自光偵測器1-110可沿著共同軸(沿著圖1-1A中所展示之y方向)對準。以此方式，(若干)光偵測器可與像素1-112內之樣本井重疊。

【0080】 來自樣本井1-108之發射光之方向性可取決於樣本井1-108中之樣本相對於(若干)金屬層1-106之定位，因為(若干)金屬層1-106可起到反射發射光之作用。以此方式，(若干)金屬層1-106與定位於樣本井1-108中之螢光標記物之間的距離可能影響在相同於該樣本井之像素中之(若干)光偵測器1-110偵測由螢光標記物發射之光之效率。(若干)金屬層1-106與樣本井1-106之底表面(其接近可在操作期間放置樣本之位置)之間的距離可在100 nm至500 nm之範圍內，或可為彼範圍內之任何值或值範圍。在一些實施例中，(若干)金屬層1-106與樣本井1-106之底表面之間的距離為近似300 nm。

【0081】 樣本與(若干)光偵測器之間的距離亦可能影響偵測發射光之效率。藉由減小光必須在樣本與(若干)光偵測器之間行進之距離，可改良發射光之偵測效率。另外，樣本與(若干)光偵測器之間的較小距離可允許佔據積體器件之較小佔據面積之像素，此可允許在積體器件中包含較高

數目個像素。樣本井1-106之底表面與(若干)光偵測器之間的距離可在5 μm 至15 μm 之範圍內，或可為彼範圍內之任何值或值範圍。應明白，在一些實施例中，可透過除激勵光源及樣本井之外的其他構件提供發射光。據此，一些實施例可不包含樣本井1-108。

【0082】 (若干)光子結構1-230可經定位於樣本井1-108與光偵測器1-110之間且經組態以減少或防止激勵光到達光偵測器1-110，其否則可能在偵測發射光時促成信號雜訊。如圖1-1A中所展示，一或多個光子結構1-230可經定位於波導1-220與光偵測器1-110之間。(若干)光子結構1-230可包含一或多個光學拒斥光子結構，該一或多個光學拒斥光子結構包含光譜濾光器、偏光濾光器及空間濾光器。(若干)光子結構1-230可經定位以沿著共同軸與個別樣本井1-108及(若干)其等各自光偵測器1-110對準。根據一些實施例，可充當用於積體器件1-102之電路的金屬層1-240亦可充當空間濾光器或偏光濾光器。在此等實施例中，一或多個金屬層1-240可經定位以阻擋一些或所有激勵光到達(若干)光偵測器1-110。

【0083】 耦合區1-201可包含經組態以耦合來自外部激勵源之激勵光之一或多個光學組件。耦合區1-201可包含經定位以接收激勵光束之一些或全部之光柵耦合器1-216。合適光柵耦合器之實例在2017年12月15日以代理人案號R0708.70021US01申請之標題為「OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM」之美國專利申請案第15/844,403號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。光柵耦合器1-216可將激勵光耦合至波導1-220，該波導1-220可經組態以將激勵光傳播至一或多個樣本井1-108附近。替代地，耦合區1-201可包括用於將光耦合至波導中之其他熟知結構。

【0084】定位於積體器件外之組件可用來定位激勵源1-106且將激勵源1-106對準至積體器件。此等組件可包含光學組件，該等光學組件包含透鏡、鏡、稜鏡、窗口、孔徑、衰減器及/或光纖。額外機械組件可包含於該儀器中以允許控制一或多個對準組件。此等機械組件可包含致動器、步進馬達及/或旋鈕。合適激勵源及對準機構之實例在2016年5月20日以代理人案號R0708.70010US02申請之標題為「PULSED LASER AND SYSTEM」之美國專利申請案第15/161,088號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。束操縱模組之另一實例在2017年12月14日以代理人案號R0708.70024US01申請之標題為「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」之美國專利申請案第15/842,720號中予以描述，該案特此以引用的方式併入本文中。

【0085】可將待分析之樣本引進至像素1-112之樣本井1-108中。該樣本可為生物樣本或任何其他合適樣本，諸如化學樣本。該樣本可包含多種分子且該樣本井可經組態以隔離單種分子。在一些情況下，樣本井之尺寸可起到將單種分子侷限於樣本井內之作用，從而允許對單種分子執行量測。可將激勵光遞送至樣本井1-108中，以便激勵該樣本或與該樣本附接或以其他方式相關聯之至少一種螢光標記物，同時其位於樣本井1-108內之照明區域內。

【0086】在操作中，藉由使用激勵光激勵樣本井內之一些或所有樣本且利用光偵測器偵測來自樣本發射之信號來對該等井內之樣本實行平行分析。來自樣本之發射光可由對應光偵測器來偵測且轉換為至少一個電信號。可收集關於發射光之各種特性(例如，波長、螢光壽命、強度、脈衝持續時間及/或任何其他合適特性)之資訊且將該資訊用於後續分析，如本

文中所描述。可在積體器件之電路中沿著導電線(例如，金屬層1-240)傳輸該等電信號，該電路可經連接至與積體器件介接之儀器。可隨後處理及/或分析該等電信號。該等電信號之處理或分析可在定位於儀器上或外之合適運算器件上發生。

【0087】圖1-1B繪示積體器件1-102之像素1-112的截面圖。像素1-112包含光偵測區(其可為鈉紫光二極體(PPD))及儲存區(其可為儲存二極體(SD0))。在像素1-112之操作期間，激勵光可照明樣本井1-108，從而致使包含來自樣本之螢光發射之入射光子沿著光學軸流動至光偵測區PPD。當轉移閘TG0在光偵測區PPD與儲存區SD0之間的半導體區處引發第一電偏壓時，可在半導體區中形成轉移路徑。入射光子在光偵測區PPD中產生的電荷載流子(例如，光電子)可沿著轉移路徑流動至儲存區SD0。在一些實施例中，可在分格週期期間施加第一電偏壓，在該分格週期期間將來自樣本之電荷載流子選擇性地引導至儲存區SD0。替代地，當轉移閘TG0在光偵測區PPD與儲存區SD0之間的半導體區處提供第二電偏壓時，可阻擋來自光偵測區PPD之電荷載流子沿著轉移路徑到達儲存區SD0。例如，在一些實施例中，諸如在來自該樣本之螢光發射光子到達光偵測區PPD之前的拒斥週期期間，汲極閘REJ可提供至汲極D之通道以自光偵測區PPD及儲存區SD0抽離由激勵光在光偵測區PPD中產生的雜訊電荷載流子。在一些實施例中，在讀出週期期間，轉移閘TG0可提供第二電偏壓且轉移閘TX0可提供電偏壓以致使儲存於儲存區SD0中之電荷載流子流動至讀出區以供處理，該讀出區可為浮動擴散(FD)區。應明白，根據各項實施例，本文中所描述之轉移閘可包含(若干)半導體材料及/或金屬，且可包含場效應電晶體(FET)之閘極、雙極接面電晶體(BJT)之基極及/或類似物。

【0088】 在一些實施例中，像素1-112之操作可包含一或多個拒斥(例如，汲取)週期及一或多個收集週期。在一項實例中，根據激勵光源之一或多個脈衝的像素1-112之操作可開始於拒斥週期，諸如以丟棄回應於來自該光源之激勵光子而在像素1-112中(例如，在光偵測區PD中)產生的電荷載流子。例如，激勵光子可在來自樣本井之螢光發射光子到達之前到達像素1-112。用於電荷儲存區之轉移閘可經偏壓以在將電荷儲存區耦合至光偵測區之電荷轉移通道中具有低導電率，從而阻擋電荷載流子在電荷儲存區中之轉移及累積。用於汲極區之汲極閘可經偏壓以在光偵測區與汲極區之間的汲極通道中具有高導電率，從而促進電荷載流子自光偵測區至汲極區之汲取。用於耦合至光偵測區之任何電荷儲存區之轉移閘可經偏壓以在光偵測區與電荷儲存區之間具有低導電率，使得在拒斥週期期間電荷載流子不轉移至電荷儲存區或累積於電荷儲存區中。

【0089】 在拒斥週期後，可能發生收集週期，其中將回應於入射光子而產生的電荷載流子轉移至一或多個電荷儲存區。在收集週期期間，入射光子可包含螢光發射光子，從而導致螢光發射電荷載流子累積於該(等)電荷儲存區中。例如，用於該等電荷儲存區之一者之轉移閘可經偏壓以在光偵測區與電荷儲存區之間具有高導電率，從而促進電荷載流子累積於電荷儲存區中。耦合至光偵測區之任何汲極閘可經偏壓以在光偵測區與汲極區之間具有低導電率，使得在收集週期期間不丟棄電荷載流子。一些實施例可包含多個收集週期，諸如在第一收集週期後之第二收集週期，以供多個電荷儲存區在不同時間累積電荷載流子。例如，在多個收集週期之一者期間，該等轉移閘之一者可經偏壓以促進電荷載流子累積於對應電荷儲存區中，且其他轉移閘可經偏壓以阻擋電荷載流子累積於另一電荷儲存區

中。在一些實施例中，多個電荷儲存區可在單個收集週期期間累積電荷載流子。在一些實施例中，像素之操作可包含與電荷儲存區一樣多之收集週期。在一些實施例中，可針對激勵光源之各脈衝重複如本文中所描述之操作。在一些實施例中，各個電荷儲存區之收集週期可分離達拒斥週期。例如，在一些實施例中，激勵光源之各脈衝可後接一個拒斥週期及一個收集週期(例如，累積於單個電荷儲存區中)。

【0090】如本文中進一步描述，可使用來自積體電路之控制電路之一或多個控制信號控制拒斥及/或收集週期，諸如藉由將該(等)控制信號提供至控制積體電路之(若干)像素之汲極及/或轉移閘。應明白，在一些實施例中，本文中所描述之像素之操作可如本節中所描述般發生。

【0091】例如，圖1-1C係根據一些實施例之圖1-1B之像素1-112的電路圖。在圖1-1C中，光偵測區PPD經耦合至多個儲存區SD0及SD1。儲存區SD1及轉移閘TG1可以針對儲存區SD0及轉移閘TG0所描述之方式組態。像素1-112可經組態使得儲存區SD0及SD1之僅一者在給定時間接收來自光偵測區PPD的電荷載流子。例如，儲存區SD0及SD1可具有在時間上分離之分格週期，其中轉移閘TG0使電荷載流子能夠在儲存區SD0之分格週期期間流動至儲存區SD0，且轉移閘TG1使電荷載流子能夠在儲存區SD1之分格週期期間流動至儲存區SD1。同樣地，像素1-112可經組態使得儲存區SD0及SD1之僅一者可將電荷載流子提供至讀出區FD。例如，儲存區SD0及SD1可具有在時間上分離之讀出週期，其中轉移閘TX0使電荷載流子能夠在儲存區SD0之讀出週期期間自儲存區SD0流動，且轉移閘TX1使電荷載流子能夠在儲存區SD1之讀出週期期間自儲存區SD1流動。如圖1-1C所示，像素1-112可包含轉移閘RS及RST、電壓源VDDP及位元

線COL。

【0092】 圖1-1D係繪示儲存區SD0及SD1相對於光偵測區PPD之相對定位之圖1-1B及圖1-1C之像素的平面圖。

【0093】 在一些實施例中，本文中所描述之像素之一些組件可經安置及/或經形成於積體電路之一或多個基板層上。在一些實施例中，該(等)基板層可替代地或另外包含安置於(若干)其他基板層上方及/或下方之一或多個輔助層(例如，磊晶層)。在一些實施例中，可藉由蝕刻掉該(等)基板及/或輔助層之至少一部分來形成本文中所描述之像素之一些組件。在一些實施例中，可使用諸如多晶矽之半導體材料形成本文中所描述之轉移及/或汲極閘，該半導體材料可為至少部分不透明的。

【0094】 III. 用於獲取壽命資訊之技術

【0095】 根據本文中所描述之技術之態樣，發明人已開發出用於自樣本并獲取關於發射光之多個特性之資訊以促進樣本分析(包含具有多個鑒別維度之樣本識別)之技術。發明人已認知，用來標示生物或化學樣本之螢光標記物在被入射光激勵時，發出具有特性壽命(例如，特性發射衰變時間週期)之螢光，使得分析發射光之壽命資訊可促進識別螢光標記物所附接(例如，結合)之特定樣本。在本文中亦簡稱為「壽命」之螢光壽命係螢光標記物在返回基態且發射光子之前在受激態下所花費之時間之量度。在一些實施例中，可透過用於對由入射光子產生的電荷載流子進行時間分格之技術獲取螢光壽命資訊。

【0096】 例如，圖1-2A繪製兩個不同螢光發射概率曲線(A及B)，例如，其等可例如表示來自兩個不同螢光分子之螢光發射。參考曲線A(虛線)，在被短或超短光學脈衝激勵之後，來自第一分子之螢光發射之概率

$p_A(t)$ 可隨時間衰變，如所描繪。在一些情況下，光子隨時間發射之概率之減小可由指數衰變函數 $p_A(t) = P_{Ao} e^{-(t/\tau_1)}$ 來表示，其中 P_{Ao} 係初始發射概率且 τ_1 係特性化發射衰變概率之與第一螢光分子相關聯之時間參數。 τ_1 可稱為第一螢光分子之「螢光壽命」、「發射壽命」或「壽命」。在一些情況下，可藉由螢光分子之局部環境更改 τ_1 之值。其他螢光分子可具有不同於曲線A中所展示之發射特性之發射特性。例如，另一螢光分子可具有不同於單個指數衰變之衰變輪廓，且其壽命之特徵可在於半衰期值或某個其他度量。

【0097】 第二螢光分子可具有指數式但具有可量測的不同壽命 τ_2 之衰變輪廓 $p_B(t)$ ，如針對圖1-2A中之曲線B所描繪。在所展示實例中，曲線B之第二螢光分子之壽命短於曲線A之壽命，且在激勵第二分子之後不久，發射概率 $p_B(t)$ 變高於曲線A之發射概率。在一些實施例中，不同螢光分析可具有在自約0.1 ns至約20 ns之範圍內之壽命或半衰期值。

【0098】 螢光發射壽命之差可用來辨別不同螢光分子之存在或缺失及/或辨別螢光分子所經受之不同環境或條件。在一些情況下，基於壽命(例如，而非發射波長)辨別螢光分子可簡化分析儀器之態樣。作為實例，當基於壽命辨別螢光分子時，可減少波長鑒別光學件(諸如波長濾光器、各波長之專用偵測器、不同波長之專用脈衝式光源及/或繞射光學件)之數目或消除波長鑒別光學件。在一些情況下，可使用在單個特性波長下操作之單個脈衝式光源來激勵在光譜之相同波長區內發射但具有可量測的不同壽命之不同螢光分子。使用單個脈衝式光源而非在不同波長下操作之多個源來激勵及辨別在相同波長區內發射之不同螢光分子的分析系統可不太複雜地操作及維護，更緊湊，且可以更低成本來製造。

【0099】 儘管基於螢光壽命分析之分析系統可具有特定益處，但可藉由允許額外偵測技術來增加由分析系統獲取之資訊量及/或偵測準確度。例如，一些分析系統可另外經組態以基於如本文中所描述之螢光波長、脈衝持續時間/寬度及/或螢光強度識別樣本之一或多個性質。

【0100】 再次參考圖1-2A，根據一些實施例，可利用光偵測器區分不同螢光壽命，該光偵測器經組態以在激勵螢光分子後對螢光發射事件進行時間分格。時間分格可在光偵測器之單個電荷累積循環期間發生。電荷累積循環係在其期間光生載流子累積於時間分格光偵測器之格中讀取事件之間的間隔。圖1-2B中以圖形方式介紹藉由發射事件之時間分格判定螢光壽命之概念。在恰好於 t_1 之前的時間 t_e ，由短或超短光學脈衝激勵相同類型(例如，對應於圖1-2A之曲線B之類型)之螢光分子或螢光分子系集。針對較大分子系集，發射強度可具有類似於曲線B之時間輪廓，如圖1-2B中所描繪。

【0101】 然而，關於此實例，針對單種分子或少量分子，根據圖1-2A中之曲線B之統計發生螢光光子之發射。時間分格光偵測器1-322可將自發射事件產生的載流子累積至離散時間格中。圖1-2B中指示三個格，儘管可在實施例中使用更少格或更多格。相對於(若干)螢光分子之激勵時間 t_e 在時間上解析該等格。例如，第一格可累積在時間 t_1 與 t_2 之間的時間間隔產生的載流子，此係在時間 t_e 之激勵事件之後發生。第二格可累積在時間 t_2 與 t_3 之間的時間間隔內產生的載流子，且第三格可累積在時間 t_3 與 t_4 之間的時間間隔內產生的載流子。當將大量發射事件相加時，該等時間格中累積之載流子可近似於圖1-2B中所展示之衰變強度曲線，且經分格信號可用來區分不同螢光分子或其中定位有螢光分子之不同環境。

【0102】時間分格光偵測器1-322之實例在2015年8月7日以代理人案號R0708.70002US02申請之標題為「Integrated Device for Temporal Binning of Received Photons」之美國專利申請案第14/821,656號及2017年12月22日以代理人案號R0708.70017US01申請之標題為「Integrated Photodetector with Direct Binning Pixel」之美國專利申請案第15/852,571號中予以描述，該兩案之全文特此以引用的方式併入本文中。出於解釋目的，圖1-2C中描繪時間分格光偵測器之非限制性實施例。單個時間分格光偵測器1-322可包括皆形成於半導體基板上之光子吸收/載流子產生區1-902、載流子排出通道1-906及複數個載流子儲存區1-908a、1-908b。載流子輸送通道1-907可連接於光子吸收/載流子產生區1-902與載流子儲存區1-908a、1-908b之間。在所繪示實例中，展示兩個載流子儲存區，但可存在更多或更少載流子儲存區。可存在連接至該等載流子儲存區之讀出通道1-910。可藉由局部地摻雜半導體及/或形成相鄰絕緣區以提供載流子之光偵測能力、侷限及輸送來形成光子吸收/載流子產生區1-902，載流子排出通道1-906，載流子儲存區1-908a、1-908b及讀出通道1-910。時間分格光偵測器1-322亦可包含形成於該基板上之複數個電極1-920、1-921、1-922、1-923、1-924，該等電極經組態以在該器件中產生電場以透過該器件輸送載流子。

【0103】在操作中，透過時間分格光偵測器1-322將來自脈衝式光源(例如，鎖模雷射)之激勵脈衝之一部分遞送至反應室。最初，一些激勵輻射光子1-901可到達光子吸收/載流子產生區1-902處且產生載流子(被展示為淺色圓圈)。亦可存在與激勵輻射光子1-901一起到達且產生對應載流子(展示為暗色圓圈)之一些螢光發射光子1-903。最初，由激勵輻射產生

的載流子之數目與由螢光發射產生的載流子之數目相比較可能過大。在時間間隔 $|t_e - t_1|$ 期間產生的初始載流子可藉由例如利用第一轉移閘1-920將其等閘控至載流子排出通道1-906中而被拒斥。

【0104】在稍後時間，大多數螢光發射光子1-903到達光子吸收/載流子產生區1-902處且產生提供表示來自反應室1-330之螢光發射之有用且可偵測的信號之載流子(被指示為暗色圓圈)。根據一些偵測方法，可在稍後時間對第二電極1-921及第三電極1-923進行閘控以將在稍後時間(例如，在第二時間間隔 $|t_1 - t_2|$ 期間)產生的載流子引導至第一載流子儲存區1-908a。隨後，可在稍後時間(例如，在第三時間間隔 $|t_2 - t_3|$ 期間)對第四電極1-922及第五電極1-924進行閘控以將載流子引導至第二載流子儲存區1-908b。電荷累積可在大量激勵脈衝中之激勵脈衝之後以此方式繼續以在各載流子儲存區1-908a、1-908b中累積可觀數目個載流子及信號位準。在稍後時間，可自該等格讀出信號。在一些實施方案中，對應於各儲存區之時間間隔處於亞奈秒級時間標度，儘管可在一些實施例中使用更長時間標度(例如，在其中螢光團具有更長衰變時間之實施例中)。

【0105】在時間分格光偵測器1-322之單個電荷累積循環期間，在激勵事件(例如，來自脈衝式光源之激勵脈衝)之後產生及時間分格載流子之程序可在單個激勵脈衝之後發生一次或在多個激勵脈衝之後重複多次。在電荷累積完成之後，可經由讀出通道1-910自儲存區讀出載流子。例如，可將適當偏壓序列施加至電極1-923、1-924且至少施加至電極1-940以自儲存區1-908a、1-908b移除載流子。電荷累積及讀出程序可在光電晶片上進行大規模平行操作時發生，從而得到資料訊框。

【0106】儘管結合圖1-2C之所描述實例包含多個電荷儲存區1-

908a、1-908b，但在一些情況下可代替地使用單個電荷儲存區。例如，在時間分格光偵測器1-322中僅可存在格1。在此情況下，可以可變時間閘控方式操作單個儲存區1-908a以在不同激勵事件之後查看不同時間間隔。例如，在第一系列激勵脈衝中之脈衝之後，可對用於儲存區1-908a之電極進行閘控以收集在第一時間間隔期間(例如，在第二時間間隔 $|t_1-t_2|$ 期間)產生的載流子，且可在第一預定數目個脈衝之後讀出經累積信號。在同一反應室處之後續系列激勵脈衝中之脈衝之後，可對用於儲存區1-908a之相同電極進行閘控以收集在不同間隔期間(例如，在第三時間間隔 $|t_2-t_3|$ 期間)產生的載流子，且可在第二預定數目個脈衝之後讀出經累積信號。若需要，可在稍後時間間隔期間以類似方式收集載流子。以此方式，可使用單個載流子儲存區產生與在激勵脈衝到達反應室處之後的不同時間週期期間對應於螢光發射之信號位準。

【0107】 無論在激勵之後如何針對不同時間間隔實行電荷累積，經讀出信號可提供例如表示螢光發射衰變特性之格的直方圖。圖1-2D及圖1-2E中繪示實例程序，其中使用兩個電荷儲存區以自反應室採集螢光發射。直方圖之格可指示在反應室中激勵(若干)螢光團之後的各時間間隔期間偵測到之光子之數目。在一些實施例中，將在大量激勵脈衝之後累積用於該等格之信號，如圖1-2D中所描繪。激勵脈衝可在分離達脈衝間隔時間T之時間 t_{e1} 、 t_{e2} 、 t_{e3} 、 $\dots$ 、 t_{eN} 出現。在一些情況下，可存在於針對反應室中觀察到之單個事件(例如，DNA分析中之單個核苷酸併入事件)將信號累積於電子儲存區中期間施加至反應室之105個與107個激勵脈衝(或其等部分)。在一些實施例中，一個格(格0)可經組態以偵測隨各光學脈衝遞送之激勵能量之振幅，且可用作參考信號(例如，以正規化資料)。在其他情

況下，激勵脈衝振幅可為穩定的，可在信號採集期間判定一或多次，且在各激勵脈衝之後不再判定使得在各激勵脈衝之後不存在格0信號採集。在此等情況下，可拒斥且自光子吸收/載流子產生區1902傾倒由激勵脈衝產生的載流子，如上文結合圖1-2C所描述。

【0108】 在一些實施方案中，在激勵事件後，可自螢光團發射僅單個光子，如圖1-2D中所描繪。在時間 t_{e1} 之第一激勵事件之後，時間 t_{f1} 之經發射光子可在第一時間間隔內(例如，在時間 t_1 與 t_2 之間)出現，使得所得電子信號經累積於第一電子儲存區中(貢獻於格1)。在時間 t_{e2} 之後續激勵事件中，時間 t_{f2} 之經發射光子可在第二時間間隔內(例如，在時間 t_2 與 t_3 之間)出現，使得所得電子信號貢獻於格2。在 t_{e3} 之下一激勵事件之後，光子可在第一時間間隔內出現之時間 t_{f3} 發射。

【0109】 在一些實施方案中，可能不存在於反應室處接收之各激勵脈衝之後發射及/或偵測到之螢光光子。在一些情況下，在反應室處針對遞送至反應室之每10,000個激勵脈衝可偵測到僅僅一個螢光光子。將鎖模雷射實施為脈衝式激勵源之一個優點係鎖模雷射可在高脈衝重複速率下(例如，介於50 MHz與250 MHz之間)產生具有高強度及快速關斷時間之短光學脈衝。藉由如此高的脈衝重複速率，10毫秒電荷累積間隔內之激勵脈衝之數目可為50,000至250,000，使得可累積可偵測信號。

【0110】 在大量激勵事件及載流子累積之後，可讀出時間分格光偵測器1-322之載流子儲存區以提供反應室之多值信號(例如，兩個或更多個值的直方圖、N維向量等)。各格之信號值可取決於螢光團之衰變速率。例如且再次參考圖1-2B，具衰變曲線B之螢光團將在格1至格2中具有高於具衰變曲線A之螢光團之信號比率。可分析來自該等格之值且與校準值進行

比較及/或彼此進行比較，以判定存在特定螢光團。針對定序應用，識別螢光團可判定例如併入至DNA生長鏈中之核苷酸或核苷酸類似物。針對其他應用，識別螢光團可判定所關注分子或樣品之相同度，該所關注分子或樣品可與螢光團鏈結。

【0111】 為了進一步輔助理解信號分析，經累積、多格值可被繪製為直方圖，例如如圖1-2E中所描繪，或可被記錄為N維空間中之向量或位置。可分開地執行校準運行以採集四個不同螢光團之多值信號之校準值(例如，校準直方圖)。

【0112】 因此，獲取藉由本文中所描述之時間分格技術獲取之壽命資訊可促進樣本井中之樣本之分析及識別。應明白，可實施除本文中所描述之技術之外的對電荷載流子進行及/或以其他方式獲取螢光壽命資訊之其他合適技術，且該技術之態樣在此方面不受限制。

【0113】 IV. 用於獲取波長資訊之技術

【0114】 根據本文中所描述之技術之另一態樣，發明人已開發出用於鑒別入射光之光譜資訊(例如，波長資訊)之技術。例如，除使用用於鑒別時間資訊(例如，壽命資訊)之時間閘控技術之外或替代其的是，本文中所描述之器件亦可經組態以判定光譜資訊以增強可自樣本獲取之資料。發明人已認知，類似於壽命，來自特定螢光標記物之發射光可具有特性波長，使得分析發射光之波長資訊可促進識別螢光標記物所附接的樣本。因此，在一些實施例中，發射光波長係本文中所描述之多維鑒別技術中使用之額外鑒別維度。

【0115】 發明人已認知，諸如積體器件1-102的積體器件可透過本文中進一步描述之各種技術獲取發射光之波長量測。例如，在一些實施例

中，可透過併入具有不同深度之光偵測器區之技術獲取波長量測。在其他實施例中，可使用併入不同深度之電荷轉移通道之技術獲取波長量測。在一些實施例中，可使用併入光學屏蔽元件之技術獲取波長資訊。此外，在一些實施例中，可使用一或多個光學分類元件獲取發射光之波長量測。應明白，可使用除本文中所描述之技術之外或替代其等之任何合適技術來獲取發射光之波長量測以促進樣本之多維鑒別，且該技術之態樣在此方面不受限制。

【0116】 a. 併入不同深度區之技術

【0117】 在一些態樣中，可使用具有不同深度(例如，*半導體接面*深度)區之像素來獲取光譜資訊。例如，在一些實施例中，一或多個電荷儲存區經組態為具有不同深度。在一些實施例中，除組態具有不同深度之一或多個電荷儲存區之外或替代其的是，一或多個光偵測區亦可經組態為具有不同深度。圖2-1係根據一些實施例之像素2-112之替代實施例的側視圖，像素2-112可具有時間間控電荷儲存區及經組態以經由光偵測區接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區。像素2-112可以結合圖1-1A至圖1-1D針對像素1-112所描述之方式組態。例如，圖2-1中展示包含光偵測區PPD與電荷儲存區SD0及SD1之像素2-112。在一些實施例中，像素2-112亦可包含一或多個轉移閘，諸如圖2-1中所繪示之轉移閘TG0。在一些實施例中，像素2-112可包含一或多個阻障，諸如圖2-1中所繪示之金屬層M0。應明白，像素2-112可包含任何數目個光偵測區、電荷儲存區及/或轉移閘。像素2-112可替代地或另外包含一或多個汲極區及/或汲極閘。

【0118】 在一些實施例中，像素2-112可包含一或多個輕度p摻雜之基板層。可使用n型摻雜技術在(若干)基板層中或上形成及/或安置光偵測

區PPD與電荷儲存區SD0及SD1。可使用p型摻雜技術在(若干)基板層中或上形成及/或安置一或多個阻障。可使用比(若干)基板層更不透明之材料(諸如多晶矽)形成轉移閘TG0。應明白，在一些實施例中，可輕度n摻雜(若干)基板層，且可使用p型摻雜技術形成及/或安置光偵測區PPD與電荷儲存區SD0及SD1。在此等實施例中，可使用p型摻雜技術形成及/或安置(若干)阻障。

【0119】 在一些實施例中，像素2-112之一些區可具有大於該像素之其他區之深度。例如，在圖2-1之實例中，電荷儲存區SD1在平行於光學軸之方向(例如，入射光沿著該方向自光源行進至像素2-112)上具有大於電荷儲存區SD0之深度。圖2-1中亦展示，電荷儲存區SD1至少部分地安置於光偵測區PPD下方，諸如自光源及/或樣本井接收之入射光子可在至少部分地穿過光偵測區PPD之後到達電荷儲存區SD1。在一些實施例中，像素2-112之各個區之不同深度可促進像素2-112中之光譜及/或時序(例如，壽命)資訊之鑒別。例如，如圖2-1中所展示，來自光源及/或樣本井之入射光子可沿著光學軸行進不同距離至像素2-112中。(例如，第一波長之)一些光子可到達光偵測區PPD (如圖2-1中之較短箭頭所指示)，從而產生可在收集週期期間傳導至電荷儲存區SD0之電荷載流子。例如，在收集週期期間，轉移閘TG0可自像素2-112之控制電路接收控制信號，回應於此，將光偵測區PPD耦合至儲存區SD0之電荷轉移通道可變得更導電。因此，在收集週期期間，光偵測區PPD中產生的電荷載流子可行進至電荷儲存區SD0且累積於電荷儲存區SD0中。(例如，長於第一波長的第二波長之)其他入射光子可繼續行進超過光偵測區PPD (如圖2-1中之較長箭頭所指示)且到達電荷儲存區SD1，從而在電荷儲存區SD1中產生電荷載流子。

在一些實施例中，汲取及/或收集像素2-112中之電荷載流子之組態(例如，時序)可如結合圖1-1A至圖1-1D所描述般發生。

【0120】 在一些實施例中，電荷儲存區SD0中收集之電荷載流子與電荷儲存區SD1中收集之電荷載流子之間的差可指示入射光之光譜及/或時序(例如，壽命)資訊。例如，在一些實施例中，電荷儲存區中收集之電荷載流子之數目之和及/或差可指示自樣本井接收之螢光發射之螢光壽命及/或波長。在一項實例中，較高波長光子可實質上更多地貢獻於電荷儲存區SD0中收集之電荷載流子之數目，且較低波長光子可實質上更多地貢獻於電荷儲存區SD1中收集之電荷載流子之數目。在此實例中，較低波長光子可具有高於較高波長光子之能量，從而致使諸多較低波長光子繼續行進超過光偵測區PPD至電荷儲存區SD1，而較高波長光子可能主要終止於光偵測區PPD處(例如，歸因於像素2-112整體之衰減)。因此，較高波長光子可在收集週期期間在電荷儲存區SD0中產生更多待收集之電荷載流子，且較低波長光子可在電荷儲存區SD1中產生更多電荷載流子。據此，累積於電荷儲存區SD0及SD1中之電荷載流子之和及/或差可指示入射光之光譜資訊，諸如入射光之波長。在一些實施例中，電荷儲存區SD0之深度及/或電荷儲存區SD1之深度可經組態使得各電荷儲存區主要收集具有特定波長及/或波長範圍之入射光子。替代地或另外，在一些實施例中，(若干)電荷儲存區SD0及/或SD1與光偵測區PPD之間的深度差可經組態使得各電荷儲存區主要收集具有特定波長及/或波長範圍之入射光子。

【0121】 在一些實施例中，耦合至像素2-112之一或多個處理器(例如，微處理器、場可程式化閘陣列(FPGA)及/或特定應用積體電路(ASIC))，其等之部分或各者可與積體器件整合在一起等)可經組態以基於

累積於(若干)電荷儲存區SD0及/或SD1中之電荷載流子之數目判定壽命及/或光譜資訊。應明白，替代地或另外，累積於電荷儲存區SD0及/或SD1中之電荷載流子之數目可指示入射光之螢光壽命。在一些實施例中，該等電荷儲存區之一者中收集之電荷載流子可指示時序資訊，且該等電荷儲存區之另一者中收集之電荷載流子可指示光譜資訊。

【0122】 應明白，本文中所描述之積體電路可經組態以在具有各種光學波長及/或光學波長範圍之入射光子當中進行鑒別。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於600 nm之波長，且較低波長光子可具有小於600 nm之波長。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於700 nm之波長，且較低波長光子可具有小於600 nm之波長。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於700 nm之波長，且較低波長光子可具有小於700 nm之波長。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於600 nm之波長，且較低波長光子可具有小於600 nm之波長。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於600 nm之波長，且較低波長光子可具有小於550 nm之波長。在一些實施例中，以上實例之較高波長光子可具有大於550 nm之波長，且較低波長光子可具有小於550 nm之波長。在一些實施例中，本文中所描述之像素可具有小於或等於40平方微米之面積。

【0123】 圖2-2係根據一些實施例之像素2-212的側視圖，像素2-212可具有時間閘控電荷儲存區及經組態以經由光偵測區接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區。像素2-112可以針對像素2-212所描述之方式組態。例如，如圖2-2中所展示，像素2-212包含光偵測區PPD、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0。圖2-2可替代地或另外包含一或多個阻

障，諸如金屬層M0，及/或被繪示為自金屬層M0延伸至該像素中之阻障DTI。例如，該阻障可在平行於光偵測區PPD之方向上伸長，光偵測區PPD沿著該方向接收來自光源的入射光。雖然圖2-1之像素2-112可經組態以在其中光偵測區PPD平行於光學軸與轉移閘TG0隔開之方向上接收光，但像素2-212可經組態以在與像素2-112相反之方向上接收光。例如，如圖2-2中所展示，像素2-112可經組態以在其中轉移閘TG0平行於光學軸與光偵測區PPD隔開之方向上接收光。圖2-2中所繪示之結構(例如，背側照明)之一個優點係入射光子可在到達電荷儲存區之深度之前在像素之(若干)基板層中衰減，因此減少可能到達電荷儲存區及/或在電荷儲存區中產生的雜訊光子及/或電荷載流子之數目，因此改良像素操作之信號完整性。

【0124】 如在圖2-1中，像素2-212之一些區可具有大於該像素之其他區之深度。例如，在圖2-2之實例中，電荷儲存區SD1在平行於光學軸之方向上(例如，入射光沿著該方向自光源行進至像素2-112)具有大於電荷儲存區SD0之深度。替代地或另外，電荷儲存區SD0及SD1之一者可經組態以接收入射光且產生及儲存電荷載流子。例如，在圖2-2中，電荷儲存區SD1經定位使得入射光子可行進穿過光偵測區PPD且到達電荷儲存區SD0。在一些實施例中，像素2-212之(若干)阻障可阻擋至少一些入射光子(例如，傾斜入射光子)到達電荷儲存區SD0，使得使用轉移閘TG0主要自光偵測區PPD對累積於電荷儲存區SD0中之電荷載流子進行時間閘控。在一些實施例中，電荷儲存區SD0及SD1及/或光偵測區PPD之間的深度差可致使累積於電荷儲存區中之電荷載流子具有入射光之不同可指示時序及/或光譜資訊。例如，在一些實施例中，電荷儲存區SD0之深度、電荷儲存區SD1之深度及/或光偵測區PPD之深度可經組態使得各電荷儲存區主要收

集具有特定波長及/或波長範圍之入射光子。

【0125】圖2-3係根據一些實施例之像素2-312的側視圖，像素2-312可具有時間閘控電荷儲存區、經組態以接收來自光源的入射光子之直接激勵電荷儲存區及經組態以經由直接激勵電荷儲存區接收至少一些入射光子之光偵測區。像素2-312可以結合圖2-3針對像素2-312所描述之方式組態。例如，在圖2-3中，像素2-312包含光偵測區PPD、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0。在一些實施例中，像素2-312可包含一或多個阻障，諸如金屬層M0及/或被展示為平行於光學軸伸長之阻障DTI。圖2-3中亦展示，像素2-312可經組態以在其中轉移閘TG0平行於光學軸與光偵測區PPD隔開之方向上接收光。

【0126】在一些實施例中，電荷儲存區SD0與SD1及/或光偵測區PPD之間的深度差可致使累積於電荷儲存區中之電荷載流子具有入射光之不同可指示時序及/或光譜資訊。例如，在一些實施例中，電荷儲存區SD0之深度、電荷儲存區SD1之深度及/或光偵測區PPD之深度可經組態使得各電荷儲存區主要收集具有特定波長及/或波長範圍之入射光子。然而，與圖2-2不同，像素2-312之光偵測區PPD經組態以接收已行進穿過電荷儲存區SD0之入射光子。因此，與較高波長光子相比，更多數目個較低波長光子可到達光偵測區PPD，使得與較高波長電荷載子相比，可在電荷儲存區SD1中產生及儲存更多數目個較低波長電荷載流子。同樣地，更多數目個較高波長光子可在光偵測區PPD中產生高波長電荷載流子，從而導致藉由經由轉移閘TG0進行時間閘控，在電荷儲存區SD0中累積更多數目個較高波長電荷載流子。

【0127】圖2-4係根據一些實施例之具有兩個不同深度之光偵測區

及兩個時間閘控電荷儲存區之像素2-412的側視圖。像素2-412可以結合圖2-1針對像素2-112所描述之方式組態。例如，如圖2-4中所展示，像素2-412包含光偵測區PPD0、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0。如同在圖2-1中，像素2-412可包含不同深度之區。例如，在圖2-4中，像素2-412可包含光偵測區PPD1及轉移閘TG1，且光偵測區PPD0及PPD1被展示為具有不同深度。在一項實例中，與較高波長入射光子相比，更多數目個較低波長入射光子可到達光偵測區PPD1。因此，與較高波長電荷載流子相比，藉由經由轉移閘TG1進行時間閘控，更多數目個較低波長電荷載流子可經累積於電荷儲存區SD1中。同樣地，與較低波長入射光子相比，更多數目個較高波長入射光子可在光偵測區PPD0中產生電荷載流子，從而導致與較低波長電荷載流子相比，藉由經由轉移閘TG0進行時間閘控，在電荷儲存區SD0中累積更多較高波長電荷載流子。

【0128】圖2-5係根據一些實施例之具有三個不同深度之光偵測區之像素2-512的側視圖。像素2-512可以結合圖2-4針對像素2-415所描述之方式組態，諸如具有不同深度之區。例如，如圖2-5中所展示，像素2-512包含光偵測區PPD0及PPD1與電荷儲存區SD0及SD1，其中光偵測區PPD0及PPD1具有不同深度。圖2-5中亦展示，像素2-512包含光偵測區PPD2及電荷儲存區SD2，其中光偵測區PPD2具有不同於光偵測區PPD0及PPD1之深度。在一些實施例中，諸如圖2-5中所繪示，一或多個電荷儲存區可經定位於該等光偵測區之相鄰者之間。替代地或另外，如圖2-5中所繪示，像素2-512可包含定位於相鄰光偵測區PD之間的一或多個阻障2-502 (例如，p摻雜阻障「Pwell」)。例如，阻障2-502可以與光偵測區PPD0、PPD1、PPD2相反之導電類型摻雜，諸如當光偵測區PPD0、PPD1及

PPD2被n型摻雜時被p型摻雜。

【0129】 應明白，在具有兩個以上光偵測區之實施例中，一些(或所有)光偵測區可具有相同深度。替代地或另外，在具有多個光偵測區(例如，具有不同深度)之一些實施例中，電荷儲存區可具有不同深度。藉由包含更多不同深度區，諸如圖2-5中所繪示，可獲取入射光之更多時序及/或光譜資訊以供處理。

【0130】 b. 併入不同深度之電荷轉移通道之技術

【0131】 圖3-1A及圖3-1B繪示根據一些實施例之可具有一個光偵測區及四個電荷儲存區之像素3-112。圖3-1A係像素3-112的俯視圖，且圖3-1B係像素3-112沿著線A的截面圖。像素3-112可以結合圖2-4針對像素2-412所描述之方式組態。例如，如圖3-1A及圖3-1B中所展示，像素3-112包含光偵測區PPD0及PPD1，以及電荷儲存區SD0及SD1 (其中電荷儲存區SD1被隱藏於視線之外)與轉移閘TG0及TG1。另外，像素3-112包含電荷儲存區SD2及SD3 (其中電荷儲存區SD2被隱藏於視線之外)與轉移閘TG2及TG3，其等經定位於與電荷儲存區SD0及SD1以及轉移閘TG0及TG1相對之側上。在一項實例中，電荷儲存區SD0及SD1可分別實質上相同於電荷儲存區SD2及SD3而組態。例如，電荷儲存區SD0及SD1可具有相同深度且可經組態以亦經由具有相同深度之電荷轉移通道接收來自光偵測區PPD0的電荷載流子。同樣地，電荷儲存區SD2及SD3可具有相同深度且可經組態以經由具有相同深度之電荷轉移通道接收來自光偵測區PPD1的電荷載流子。在一些實施例中，電荷儲存區SD0及SD3可實質上彼此相同地組態，且電荷儲存區SD1及SD2可實質上彼此相同地組態。在一些實施例中，電荷儲存區SD0及SD2可實質上彼此相同地組態，且電荷

儲存區SD1及SD3可實質上彼此相同地組態。應明白，諸如歸因於製造像素3-112中之不一致性所致之細微差異可導致實質上相同地組態之電荷儲存區之間的較大差異。在一些實施例中，像素3-112之電荷儲存區可彼此不同地組態，諸如具有彼此不同之深度。如圖3-1A和3-1B所示，像素3-112可包含轉移閘TX0、TX1、TX2及TX3。

【0132】 像素3-112之區可具有不同深度。在一些實施例中，電荷儲存區SD0及SD3可具有相同深度，且將各自光偵測區PPD0及PPD1耦合至電荷儲存區SD0及SD3之電荷轉移通道可具有不同深度，諸如圖3-1B中所展示。例如，如圖3-112中所展示，耦合至電荷儲存區SD3之電荷轉移通道至少部分地在耦合至電荷儲存區SD0之電荷轉移通道下方(例如，在平行於光學軸之方向上)。據此，在一些實施例中，電荷儲存區SD0及SD1可在相同頻率範圍內累積實質上相等數量之電荷載流子(例如，相同數目個較低波長電荷載流子及相同數目個較高波長電荷載流子)。同樣地，在一些實施例中，電荷儲存區SD2及SD3可在該頻率範圍內彼此累積實質上相等數量之電荷載流子，但在各個頻率下累積不同於電荷儲存區SD0及SD1之數量個電荷載流子。例如，藉由自較深光偵測區PPD1接收電荷載流子，與電荷儲存區SD0及SD1相比，電荷儲存區SD2及SD3可累積更多數目個較高電荷載流子。據此，累積於電荷儲存區中之電荷載流子可指示入射光之光譜資訊。此外，包含多個電荷儲存區SD0及SD1 (與同樣地SD2及SD3)，可讀出電荷載流子以判定時序資訊及光譜資訊兩者。例如，在一項實例中，累積於電荷儲存區SD0及SD3中之電荷載流子可指示光譜資訊，且累積於電荷儲存區SD0及SD1中之電荷載流子可指示時序資訊。應明白，電荷儲存區SD0、SD1、SD2及SD3之其他組合可用來判定入射

光之各種資訊。

【0133】 圖3-2A及圖3-2B繪示根據一些實施例之可具有一個光偵測區及六個電荷儲存區之像素3-212。圖3-2A係像素3-212的俯視圖，且圖3-2B係像素3-212沿著線B的截面圖。像素3-212可以結合圖3-1A及圖3-1B針對像素3-112所描述之方式組態。例如，像素3-112在圖3-2A及圖3-2B中被展示為包含光偵測區PPD0及PPD1，轉移閘TG0、TG1、TG2及TG4，轉移閘TX0、TX1、TX2、TX3、TX4及TX5與電荷儲存區SD0、SD1、SD2及SD3（其中電荷儲存區被隱藏於視線之外）。另外，像素3-212包含光偵測區PPD2、轉移閘TG4及TG5與電荷儲存區SD4及SD5（其中電荷儲存區SD5被隱藏於視線之外）。如圖3-2B中所展示，光偵測區PPD2可具有不同於光偵測區PPD0及PPD1之深度。在一項實施例中，電荷儲存區SD4及SD5可經組態以經由具有不同於將光偵測區PPD0及PPD1耦合至電荷儲存區SD0、SD1、SD2、及SD3之電荷轉移通道之深度之電荷轉移通道接收來自光偵測區PPD2的電荷載流子。據此，在一些實施例中，與其他電荷儲存區相比，電荷儲存區SD4及SD5可累積更多數目個較低波長電荷載流子，諸如歸因於與其他電荷儲存區相比，更多較低波長光子到達光偵測區PPD2。因此，包含更多數目個光偵測區及電荷儲存區可增加可使用像素3-212獲取之入射光之時序及/或光譜資訊。

【0134】 c. 併入光學屏蔽之技術

【0135】 應明白，在一些實施例中，可使用不併入不同深度區之像素來獲取光譜資訊。例如，圖3-3A至圖3-3C繪示根據一些實施例之可具有一個光偵測區及兩個電荷儲存區之像素3-312。圖3-3A係像素3-312的俯視圖，圖3-3B係像素3-312沿著圖3-3A之線A的截面圖，且圖3-3C係像

素3-312沿著圖3-3C之線B的截面圖。像素3-312可以結合圖2-2針對像素2-212所描述之方式組態。例如，如圖3-3A至圖3-3C中所展示，像素3-312包含光偵測區PD、讀出區FD0及FD1、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0。圖3-3B及圖3-3C中亦展示，像素3-312可經組態以在其中轉移閘TG0平行於光學軸與光偵測區PPD隔開之方向上接收入射光。像素3-312亦可包含轉移閘TG1。例如，一或多個阻障(例如，金屬層M0)可經組態以阻擋入射光子到達電荷儲存區SD0，使得電荷載流子藉由從光偵測區PD經由轉移閘TG0進行時間閘控而主要到達電荷儲存區SD0。在一些實施例中，一或多個阻障DTI可經定位於電荷儲存區SD0附近及/或經定位於光偵測區PPD與電荷儲存區SD0之間，平行於光學軸伸長，諸如圖3-3C中所繪示。與電荷儲存區SD0形成對比，除從光偵測區PD經由轉移閘TG1進行時間閘控之外，電荷載流子亦可藉由直接激勵(例如，藉由入射光子到達電荷儲存區SD1且產生電荷載流子)到達電荷儲存區SD1。據此，累積於各自電荷儲存區SD0及SD1中之電荷載流子可指示時序及/或光譜資訊。在一項實例中，累積於各自電荷儲存區中之電荷載流子之數目之差可指示入射光子之波長含量之差(例如，較低波長入射光之量、較高波長入射光之量等)。

【0136】 圖3-4係像素3-412之另一實例，圖3-4之像素3-412具有例如被阻障光學地屏蔽之至少一個電荷儲存區。例如，像素3-412可經組態為具有一個光偵測區PD與兩個電荷儲存區SNA及SNB。該等電荷儲存區之各者可分別耦合至讀出區FDA及FDB，以致使電荷載流子流出電荷儲存區SNA及SNB且流入讀出區FDA及FDB以供處理。在一些實施例中，讀出區FDA及FDB係浮動擴散區。入射於光偵測區PPD上之發射光可產生選

擇性地儲存於兩個電荷儲存區SNA及SNB之一者中之電荷載流子。像素3-312可經組態以在「乒乓」模式下、以不同時間間隔、在儲存區SNA及SNB之各者中之讀出電荷載流子之間交替地操作，例如如本文中關於圖4-4所描述。

【0137】 如圖3-4中所展示，例如可使用阻障光學地屏蔽該等電荷儲存區之至少一者，以限制除通過光偵測區PD之外的至電荷儲存區之光學路徑。例如，在圖3-4中，阻障經組態使得入射光子不到達電荷儲存區SNA。代替地，電荷儲存區SNA可根據本文中所描述之方法透過光偵測區PPD接收電荷載流子。第二電荷儲存區SNB可不被光學地屏蔽且因此可累積來自光偵測區PPD之電荷載流子並且可直接自具有較長波長之入射發射光產生電荷載流子且因此可到達電荷儲存區SNB。因此，分析電荷儲存區SNA與SNB之間的電荷累積之差異可有效地提供入射發射光之波長資訊。

【0138】 d. 併入一或多個光學分類元件之技術

【0139】 圖4-1係根據一些實施例之像素4-112的側視圖，像素4-112可具有一光學分類元件、兩個光偵測區及兩個時間間控電荷儲存區。像素4-112可以結合圖2-4針對像素2-412所描述之方式組態。例如，像素4-112在圖4-1中被展示為包含光偵測區PPD0及PPD1、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0及TG1。光偵測區PPD0及PPD1被展示為具有實質上相等深度，電荷儲存區SD0及SD1亦係如此。像素4-112被展示為進一步包含光學分類元件OSE，該光學分類元件OSE經組態以引導來自光源之至少一些入射光子朝向電荷儲存區SD0且引導來自光源之至少一些其他入射光子朝向電荷儲存區SD1。回應於入射光子而累積於電荷儲存區SD0及SD1中之

電荷載流子可指示不同資訊。例如，電荷儲存區SD0可指示特定於經引導朝向電荷儲存區SD0的入射光子之時序及/或光譜資訊，且電荷儲存區SD1可指示此資訊針對經引導朝向電荷儲存區SD1的入射光子。在一些實施例中，儲存於電荷儲存區SD0中之電荷載流子可指示時序資訊且儲存於電荷儲存區SD0中之電荷載流子可指示波長資訊。替代地或另外，來自各電荷儲存區之資訊可經組合以判定由各電荷儲存區接收之入射光之時序及/或光譜資訊。

【0140】根據各項實施例，光學分類元件OSE可經組態為至少部分折射、繞射、散射及/或電漿元件。例如，在一些實施例中，光學分類元件OSE可包含經組態以諸如取決於入射光之波長而折射入射光朝向電荷儲存區SD0及SD1的微碟、微透鏡及/或稜鏡。在一些實施例中，光學分類元件OSE可包含經組態以諸如取決於入射光之波長而繞射入射光朝向電荷儲存區SD0及SD1的線性光柵元件、彎曲光柵元件、波帶片及/或光子晶體。在一些實施例中，光學分類元件OSE可包含散射元件，諸如具有具不同折射率之多個元件。在一些實施例中，光學分類元件OSE可包含電漿元件，諸如奈米孔及/或非凡光學透射元件。因為光學分類元件OSE可致使具有不同頻率之入射光子朝向不同光偵測區PPD0及PPD1，所以累積於電荷儲存區SD0及SD1中之電荷載流子可指示入射光子之不同光譜資訊，諸如不同波長資訊。

【0141】應明白，在一些實施例中，該等電荷儲存區之一或多者可經組態以自光學分類元件OSE接收入射光子且作為回應而產生及儲存電荷載流子。

【0142】圖4-2係根據一些實施例之像素4-212的側視圖，像素4-

212可具有一光學分類元件、兩個光偵測區及兩個時間閘控電荷儲存區。像素4-212可以結合圖4-1針對像素4-112所描述之方式組態。例如，像素4-212在圖4-2中被展示為具有光偵測區PPD0及PPD1、電荷儲存區SD0及SD1與轉移閘TG0及TG1。另外，像素4-212包含至少部分地定位於光偵測區PPD0及PPD1與各自電荷儲存區SD0及SD1之間的一或多個阻障DTI。圖4-2中亦展示，像素4-212可經組態以在其中轉移閘TG0及TG1平行於光學軸與光偵測區PPD0及PPD1隔開之方向上接收入射光子，而像素4-112可經組態以在其中光偵測區PPD0及PPD1平行於光學軸與轉移閘TG0及TG1隔開之方向上接收入射光。

【0143】 V. 用於獲取脈衝持續時間資訊之技術

【0144】 根據本文中所描述之技術之進一步態樣，發明人已開發出用於獲取來自樣本井中之樣本之發射光之脈衝持續時間資訊之技術。例如，結合至樣本中之分子之螢光標記物可具有特性脈衝及脈衝間持續時間，使得自特定螢光標記物獲取發射光之脈衝及脈衝間持續時間之量測促進識別自其發射光之螢光標記物。本文中亦稱為脈衝寬度之脈衝持續時間係指跨脈衝量測之時間間隔，在一些實施例中，脈衝之全寬半高值。本文中亦稱為脈衝間寬度之脈衝間持續時間係指脈衝之間的時間間隔。

【0145】 因此，在一些實施例中，本文中所描述之積體器件可經組態以實施用於獲取脈衝持續時間資訊之技術，諸如2019年11月15日以代理人案號 R0708.70042US02 申請之標題為「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」之美國專利申請案第16/686,028號及2019年11月15日以代理人案號R0708.70042WO00申請之標題為「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN

SEQUENCING」之PCT申請案第PCT/US19/61831號中所描述之技術，該兩案之全文以引用的方式併入本文中。例如，如本文中所描述，樣本中之分子可用螢光標記物來標示。一或多種螢光標記物可經附接(例如，結合)至分子，且在被激勵光激勵時，可各發射光子，此統稱為螢光事件。藉由歸因於螢光標記物之重複激勵所致之諸多此等螢光事件產生的經發射光子可稱為信號脈衝。各信號脈衝包括對應於螢光標記物之辨識分子與被分析樣本分子之間的締合事件之脈衝持續時間(「*pd*」)。

【0146】 例如，在不希望受理論束縛之情況下，螢光標記物之帶標示親和試劑根據由結合締合速率(association rate)或「開」速率(k_{on})及結合解離速率(dissociation rate)或「關」速率(k_{off})界定的結合親和力(K_D)來選擇性地與辨識分子結合。當螢光分子經結合至辨識分子時，該標記物可發螢光且發射光子，而當螢光標記物未結合時，即使當接收激勵光且進入及離開受激態時，該標記物亦可能不發螢光，如本文中所描述。速率常數 k_{off} 及 k_{on} 分別係脈衝持續時間(例如，對應於可偵測結合事件之時間)及脈衝間持續時間(例如，可偵測結合事件之間的時間)之關鍵決定因素。在一些實施例中，可設計此等速率以達成給出最佳定序準確度之脈衝持續時間及脈衝速率(例如，信號脈衝之頻率)。

【0147】 因此，在一些實施例中，脈衝持續時間係結合解離速率之特性。另外，特性型樣之各信號脈衝與特性型樣之另一信號脈衝分離達脈衝間持續時間(「*ipd*」)。在一些實施例中，脈衝間持續時間係結合締合速率之特性。在一些實施例中，可基於信號脈衝之基線與峰值之間的差判定信號脈衝之振幅變化(「 ΔM 」)。在一些實施例中，基於脈衝持續時間判定特性型樣。在一些實施例中，基於脈衝持續時間及脈衝間持續時間判

定特性型樣。在一些實施例中，基於脈衝持續時間、脈衝間持續時間及振幅變化之任何一或多者判定特性型樣。在一些實施例中，一系列脈衝提供可診斷被分析樣本之相同度之脈衝型樣(例如，特性型樣)。

【0148】 圖4-3A至圖4-3C展示用於被分析樣本分子之特性脈衝型樣之非限制性實例。圖4-3A係展示當由帶標示ClpS2逆結合時三個N-端殘基當中之鑒別性脈衝持續時間(信號峰值之持續時間)之圖表。圖4-3B係展示三個N-端殘基當中之鑒別性脈衝間持續時間(信號脈衝之間的持續時間)之圖表。圖4-3C至圖4-3E展示進一步繪示肽N-端處之苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸當中之鑒別性脈衝持續時間之圖表。

【0149】 如本文中所描述，信號脈衝資訊可用來基於一系列信號脈衝中之特性型樣辨識分子，諸如胺基酸。在一些實施例中，特性型樣包括複數個信號脈衝，各信號脈衝包括脈衝持續時間。在一些實施例中，複數個信號脈衝之特徵可在於特性型樣中之脈衝持續時間之分佈之概括統計(例如，平均值、中值、時間衰變常數)。在一些實施例中，特性型樣之平均脈衝持續時間介於約1毫秒與約10秒之間(例如，介於約1 ms與約1 s之間、介於約1 ms與約100 ms之間、介於約1 ms與約10 ms之間、介於約10 ms與約10 s之間、介於約100 ms與約10 s之間、介於約1 s與約10 s之間、介於約10 ms與約100 ms之間或介於約100 ms與約500 ms之間)。在一些實施例中，可基於概括統計之統計上顯著差彼此區分對應於單個多肽中之不同類型胺基酸之不同特性型樣。例如，在一些實施例中，可基於至少10 ms (例如，介於約10 ms與約10 s之間、介於約10 ms與約1 s之間、介於約10 ms與約100 ms之間、介於約100 ms與約10 s之間、介於約1 s與約10 s之間或介於約100 ms與約1 s之間)之平均脈衝持續時間差區分一個特性

型樣與另一特性型樣。應明白，在一些實施例中，不同特性型樣之間的平均脈衝持續時間之較小差可能在各特性型樣內需要較多數目個脈衝持續時間以藉由統計信賴度區分彼此。

【0150】如本文中所描述，螢光標記物可經組態使得螢光標記物在附接至樣本中之所關注分子時僅發螢光，且在解離週期期間可不發螢光。例如，在一些實施例中，使用螢光諧振能量轉移(FRET)技術，使得當標記物附接至樣本中之所關注分子時選擇性地出現標記物之螢光。用於螢光標記物之帶標示親和試劑可包括具有結合引發發光之標示。例如，在一些實施例中，帶標示適體包括供體標示及受體標示。作為自由分子之帶標示適體可採用其中供體標示及受體標示分離達限制該等標示之間的可偵測FRET之距離(例如，約10 nm或更長)之構形。作為選擇性結合分子之帶標示適體採用其中供體標示及受體標示在促成該等標示之間的可偵測FRET之距離(例如，約10 nm或更短)之構形。在又其他實施例中，帶標示適體包括淬滅部分且類似於分子信標而起作用，其中帶標示適體之發光在內部淬滅為自由分子且還原為選擇性結合分子(參見，例如Hamaguchi等人(2001) *Analytical Biochemistry* 294, 126-131)。在不希望受理論束縛之情況下，認為此等及其他類型之用於結合引發發光之機制可有利地減少或消除背景發光以增加本文中所描述之方法之總靈敏度及準確度。

【0151】發明人已認知，可使用積體器件1-102及本文中特別是關於本發明之節III所描述之時間分格技術完成獲取脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間之一或多個量測以促進本文中所描述之鑒別技術。在一些實施例中，脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間可用作用於鑒別被分析樣本井中之樣本之維度。例如，如本文中所描述，特定分子可具有特性脈衝持續

時間及/或脈衝間持續時間且可藉由比較經量測脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間與已知特性持續時間來識別樣本。

【0152】 VI. 用於獲取強度資訊之技術

【0153】 根據本文中所描述之技術之另一態樣，發明人已開發出用於獲取發射光強度之一或多個量測之技術，該等技術在一些實施例中可促進樣本井中之樣本之多維鑒別技術。發明人已認知，即使一些螢光團之衰變速率可能類似，但其等亦可在顯著不同強度下發射或在其等激勵概率上具有顯著差(例如，至少約35%之差)。藉由對照經分格信號(例如，藉由量測電荷載流子之累積)與經量測激勵能量及/或其他經採集信號，可基於強度位準區分不同螢光團。因此，應明白，諸如積體器件1-102的積體器件可經組態以基於通過如本文中所描述之各種讀出週期之儲存格中電荷載流子之累積量測強度，且可使用強度量測來區分特定被分析樣本。

【0154】 在一些實施例中，不同數目個相同類型之螢光團可與樣本中之不同分子鏈結，使得可基於發光強度識別各分子。例如，兩個螢光團可與第一帶標示分子鏈結且四個或更多個螢光團可與第二帶標示分子鏈結。由於不同數目個螢光團，因此可存在與不同分子相關聯之不同激勵及螢光團發射概率。例如，在信號累積間隔期間，第二帶標示分子可能存在更多發射事件，使得該等格之表觀強度顯著地高於第一帶標示分子之表觀強度。因此，發明人已認知，在一些實施例中，控制與樣本中之特定分子鏈結之螢光團之數目可促進該樣本之識別。因此，在一些實施例中，強度係多維鑒別技術中用於樣本分析之數個特性之至少一者。

【0155】 VII. 多維鑒別技術之應用

【0156】 因此，雖然已描述用於獲取關於來自樣本之發射光之各種

特性(例如，壽命、波長、強度、脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間)之資訊之多種技術，但現在將描述多維鑒別技術之實例應用。例如，發明人已認知，可使用本文中所描述之多維技術識別被分析樣本中之一或多種分子。具體而言，可藉由諸如本文中所描述之積體器件之器件獲取發射光之一或多個特性之量測，且可比較經收集量測與螢光標記物之經量測特性之已知特性值以判定哪種螢光標記物係最有可能的發射光源。繼而，藉由識別螢光標記物，可基於已知螢光標記物所附接的分子之特定類型知道螢光標記物所附接的分子之相同度。

【0157】 可在本文中所描述之多維技術中組合及使用任何合適特性組合。例如，在一些實施例中，二維鑒別技術可基於與所關注樣本相關聯之發射光之壽命、波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及強度之任何兩者之資訊識別該樣本。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之波長資訊及壽命資訊。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術係基於與該樣本相關聯之發射光之壽命資訊及強度資訊。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之波長資訊及壽命資訊。在一些實施例中，三維鑒別技術可基於與所關注樣本相關聯之發射光之壽命、波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及強度之任何三者之資訊識別該樣本。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之三維鑒別技術係基於與該樣本相關聯之發射光之壽命資訊、波長資訊及強度資訊。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之三維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之波長資訊、壽命資訊及強度資訊之任何兩者與脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊之任一者。根據本文中所描述之技術之另一態樣，使用四維鑒別技術以

基於與所關注樣本相關聯之發射光之壽命、波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及強度之任何四者之資訊識別該樣本。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之四維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之壽命資訊、波長資訊、強度資訊與脈衝間持續時間資訊及脈衝持續時間資訊之一者。根據本文中所描述之技術之另一態樣，使用五維鑒別技術以基於與該樣本相關聯之發射光之壽命、波長、強度、脈衝持續時間及脈衝間持續時間之資訊識別該樣本。

【0158】 在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術基於與該樣本相關之發射光之波長、壽命、強度、脈衝持續時間及脈衝間持續時間之任何兩者之量測。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之壽命及強度之量測。在一些實施例中，用於識別所關注樣本之二維鑒別技術基於與該樣本相關聯之發射光之波長及強度之量測。

【0159】 例如，圖4-4展示根據本文中所描述之一些實施例之針對多維鑒別技術收集之資料之一項實例。在圖4-4中之所繪示實例中，收集自樣本井內之樣本發射且由光偵測器SNA及SNB收集之發射光之強度、波長及壽命之量測。圖4-4中所展示的曲線圖含有自兩個儲存節點SNA及SNB收集之信號資料。例如，儲存節點SNA及SNB可經組態為圖3-3中之兩個電荷儲存區。如應用於儲存節點SNA及SNB之「乒」及「乓」標示可係指由處理器獲取來自各自儲存節點之信號之時間間隔。可將累積儲存於儲存區中之電荷載流子遞增地讀出至組件，諸如處理器、控制器及/或電路，其中最初讀出第一儲存節點SNA中之電荷載流子兩次(乒間隔及乓間隔)且此後讀出第二儲存節點SNB中之電荷載流子兩次(乒間隔及乓間隔)。

隔)。該信號表示來自先前讀出之所有儲存節點之經累積電荷。

【0160】在各個時間間隔對信號之分析提供入射發射光之各種特性之資訊。例如，可藉由比較SNA兵間隔之相對信號量測來最好地分析入射發射光之強度，該SNA兵間隔係經讀出電荷載流子之初始間隔。如該曲線圖及附表中所展示，脈衝1至4具有相對低於脈衝5-8之信號，且因此，脈衝1至4可被視為具有低強度，而脈衝5至8可被視為具有相對較高強度。可藉由檢視SNA兵間隔與SNB兵間隔之間的相對信號差來分析壽命資訊。例如，在經讀出SNA兵間隔信號近似相同於SNB兵間隔之情況下，由在SNA兵間隔(其係較早間隔)期間產生的電荷載流子產生該信號之大部分且，因此針對彼等脈衝，壽命相對短。在經讀出SNA兵間隔信號大於SNB兵間隔之情況下，在稍後時間間隔中產生更多電荷載流子且因此壽命相對長。在所繪示圖中，奇數脈衝被展示為具有短壽命，而偶數脈衝具有較長壽命。最後，可基於儲存節點SNA及SNB之配置判定波長資訊。當該等儲存節點組態有如關於圖3-3所描述之光學阻擋元件時，與受阻儲存節點SNA相比，未受阻儲存節點SNB將在較長波長下接收更多光。因此，分析SNA兵間隔與SNB兵間隔之間的差以判定SNB電荷載流子讀數是否相對大於SNA電荷載流子讀數將指示該脈衝是具有相對短還是長波長。例如，比較兵間隔之SNA讀出信號與SNB讀出信號且判定SNB之信號讀數是否為SNA讀出信號之近似兩倍以上，將判定入射發射光之波長是相對短還是相對長。

【0161】發明人已認知，具有相對高數目個維度(例如，三維對二維、四維對三維等)之鑒別技術可改良準確地識別發射光源且因此準確地識別被分析樣本之能力。如本文中所描述，在將多維鑒別技術應用於蛋白

質定序時，為了準確地識別20種不同胺基酸以及轉譯後修飾，使用具有較高維數度之鑒別技術(例如，用於鑒別樣本之三個、四個、及/或五個維度)係有利的。具體而言，即使在經接收信號相對低(即，發射光強度相對弱)時，較高維技術亦可促進準確地識別發射源(例如，螢光標記物及/或螢光標記物所附接的樣本)。發明人已認知，即使在相對低信號下亦起作用之開發鑒別技術可延伸用於本文中所描述之定序應用之讀取長度且改良該技術對較大化驗大小之可擴展性。

【0162】 儘管增加用來識別樣本之鑒別技術之維數可能係有利的，但如此做可增加自其獲取鑒別資訊的積體器件之複雜性。另外，提供經最佳化用於獲取關於多個特性(例如，波長及壽命)之資訊的螢光標記物可能需要增加螢光標記物及/或積體器件之工作量及複雜性。然而，發明人已認知，可在不增加積體器件之複雜性之情況下獲取特定類型之資訊，如本文中所描述。例如，可使用經組態用於獲取波長資訊及/或壽命資訊之既有器件獲取脈衝持續時間資訊、脈衝間持續時間資訊及脈衝強度資訊，而無需最小化至不改變所要器件。因此，發明人已認知，藉由使用脈衝強度資訊、脈衝持續時間資訊及/或脈衝間持續時間資訊以識別樣本來增加鑒別技術之維數可在不顯著地增加積體器件之複雜性之情況下改良識別準確度。

【0163】 如本文中所描述，可基於儲存於至少一個電荷儲存區中之電荷載流子獲取上文所描述之特性，例如，波長資訊、強度資訊、壽命資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊。在一些實施例中，作為積體器件之部分之組件經組態用於獲取關於本文中所描述之特性之一或多者之資訊。例如，該組件可為硬體模組(例如，一或多個控制器、一或多個

處理器、經由一或多個場可程式化閘陣列(FPGA)實施之電路、特定應用積體電路(ASIC))及/或經組態以執行本文中所描述之組件之功能之任何其他合適組件。

【0164】 在一些實施例中，積體器件經組態為具有能夠獲取波長資訊、強度資訊、壽命資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊之一個組件。在一些實施例中，積體器件可經組態為具有能夠獲取波長資訊、強度資訊、壽命資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊之多個組件。例如，在一些實施例中，可由不同組件獲取各類型之資訊(例如，波長資訊、壽命資訊等)。在一些實施例中，第一組件可經組態以獲取一些但非所有類型之資訊，且一或多個其他組件可經組態以獲取並非由第一組件獲取之其他類型之資訊。例如，可由第一組件獲取脈衝間持續時間資訊及脈衝持續時間資訊，而可由一或多個其他組件獲取波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊。在一些實施例中，可由第一組件獲取脈衝間持續時間資訊、脈衝持續時間資訊及發光壽命資訊，且可由一或多個其他組件獲取波長資訊及發光壽命資訊。在一些實施例中，多個組件可經組態以獲取單種類型之資訊(例如，波長資訊)。

【0165】 發明人已明白，可在多種應用中實施多維鑒別技術，該等應用之兩項非限制性實例包含DNA及/或RNA定序應用及/或蛋白質定序應用，其等之各者在本文中予以進一步描述。

【0166】 a. DNA及/或RNA定序應用

【0167】 發明人已認知，在一些實施例中，作為一項非限制性實例，可在DNA及/或RNA定序應用中使用本文中所描述之用於樣本之多維鑒別之技術。例如，本文中所描述之分析系統可包含積體器件及經組態以

與積體器件介接之儀器。積體器件可包含像素陣列，其中像素包含反應室及至少一個光偵測器。積體器件之表面可具有複數個反應室，其中反應室經組態以自放置於積體器件之表面上之懸浮液接納樣本。懸浮液可含有多個相同類型之樣本，且在一些實施例中，含有不同類型之樣本。在此方面，例如，本文中所使用之片語「所關注樣本」可係指例如分散於懸浮液中之複數個相同類型之樣本。類似地，如本文中所使用之片語「所關注分子」可係指分散於懸浮液中之複數個相同類型之分子。複數個反應室可具有合適大小及形狀，使得該等反應室之至少一部分自懸浮液接納一個樣本。在一些實施例中，反應室內之樣本之數目可分佈於反應室當中，使得一些反應室含有一個樣本，而其他反應室含有零個、兩個或更多個樣本。

【0168】 在一些實施例中，懸浮液可含有多個單鏈DNA模板，且積體器件之表面上之個別反應室可經定大小及經定形以接納定序模板。定序模板可分佈於積體器件之反應室當中，使得積體器件之反應室之至少一部分含有定序模板。懸浮液亦可含有接著進入反應室中之帶標示核苷酸且可允許在核苷酸經併入至與反應室中之單鏈DNA模板互補之DNA鏈中時識別核苷酸。在一些實施例中，懸浮液可含有定序模板且可在核苷酸經併入至反應室內之互補鏈中時隨後將帶標示核苷酸引進至反應室。以此方式，可藉由何時將帶標示核苷酸引進至積體器件之反應室來控制核苷酸之併入之時序。

【0169】 自與積體器件之像素陣列分離地定位之激勵源提供激勵光。至少部分地由積體器件之元件引導激勵光朝向一或多個像素以照明反應室內之照明區。接著，當標記物經定位於照明區內時且回應於被激勵光照明，可發射發射光。在一些實施例中，一或多個激勵源係系統儀器之部

分，其中儀器及積體器件之組件經組態以引導激勵光朝向一或多個像素。

【0170】 接著，可由積體器件之像素內之一或多個光偵測器偵測自反應室(例如，由螢光標示)發射之發射光。經偵測發射光之特性可提供用於識別與該發射光相關聯之標記物之指示。此等特性可包含任何合適類型之特性，包含由光偵測器偵測之光子之到達時間、由光偵測器隨時間累積之光子量及/或跨兩個或更多個光偵測器之光子分佈。在一些實施例中，光偵測器可具有允許偵測與發射光相關聯之一或多個特性之組態，諸如時序特性(例如，螢光壽命)、波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間及/或強度。作為一項實例，光偵測器可在激勵光之脈衝傳播穿過積體器件之後偵測光子到達時間分佈，且該到達時間分佈可提供發射光之時序特性之指示(例如，螢光壽命、脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間之代理)。在一些實施例中，一或多個光偵測器提供由標記物發射之發射光之概率之指示(例如，螢光強度)。在一些實施例中，複數個光偵測器可經定大小及經配置以捕獲發射光之空間分佈(例如，波長)。接著，可使用來自一或多個光偵測器之輸出信號以自複數個標記物當中區分標記物，其中複數個標記物可用來識別樣本或其結構。在一些實施例中，可由多個激勵能量激勵樣本，且回應於多個激勵能量，來自反應室之發射光及/或發射光之時序特性可自複數個標記物區分標記物。

【0171】 在一些實施例中，可實施類似於本文中先前描述之技術之系統及積體器件以促進DNA及/或RNA定序應用。例如，圖5-1A中繪示系統5-100之示意性概述。該系統包括與儀器5-104介接之積體器件5-102。在一些實施例中，儀器5-104可包含整合為儀器5-104之部分之一或多個激勵源5-106。在一些實施例中，激勵源可在儀器5-104及積體器件5-102兩

者外部，且儀器5-104可經組態以自激勵源接收激勵光且將激勵光引導至積體器件。可使用任何合適插座將積體器件與儀器介接以接納積體器件且將其固持而與激勵源精確地光學對準。激勵源5-106可經組態以將激勵光提供至積體器件5-102。如圖5-1A中示意性地繪示，積體器件5-102具有複數個像素5-112，其中像素之至少一部分可對所關注樣本執行獨立分析。此等像素5-112可稱為「被動源像素」，因為像素自與該像素分離之源5-106接收激勵光，其中來自該源之激勵光激勵一些或所有像素5-112。激勵源5-106可為任何合適光源。合適激勵源之實例在2015年8月7日以代理人案號R0708.70004US02申請之標題為「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」之美國專利申請案第14/821,688號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。在一些實施例中，激勵源5-106包含經組合以將激勵光遞送至積體器件5-102之多個激勵源。多個激勵源可經組態以產生多個激勵能量或波長。

【0172】 像素5-112具有經組態以接納單個所關注樣本之反應室5-108及用於回應於照明該樣本及反應室5-108之至少一部分而自該反應室發射之發射光之光偵測器5-110，其中由激勵源5-106提供激勵光。在一些實施例中，反應室5-108可將該樣本保持於積體器件5-102之表面附近，此可易於將激勵光遞送至該樣本及偵測來自該樣本或反應組分(例如，帶標示核苷酸)之發射光。

【0173】 用於將來自激勵光源5-106之激勵光耦合至積體器件5-102且將激勵光導引至反應室5-108的光學元件兩者經定位於積體器件5-102及儀器5-104上。源至室光學元件可包括定位於積體器件5-102上之一或多個

光柵耦合器以將激勵光耦合至積體器件及波導，以將激勵光自儀器5-104遞送至像素5-112中之反應室。一或多個分光器元件可經定位於光柵耦合器與波導之間。分光器可耦合來自光柵耦合器之激勵光且將激勵光遞送至該等波導之至少一者。在一些實施例中，分光器可具有允許跨所有波導實質上均勻地遞送激勵光，使得該等波導之各者接收實質上類似量之激勵光之組態。此等實施例可藉由改良由積體器件之反應室接收之激勵光之均勻性來改良積體器件之效能。

【0174】反應室5-108、激勵源至室光學件之一部分及反應室至光偵測器光學件經定位於積體器件5-102上。激勵源5-106及源至室組件之一部分經定位於儀器5-104中。在一些實施例中，單個組件可在將激勵光耦合至反應室5-108及將發射光自反應室5-108遞送至光偵測器5-110兩者中發揮作用。用於將激勵光耦合至反應室及/或將發射光引導至光偵測器、包含於積體器件中之合適組件之實例在2015年8月7日代理人案號R0708.70004US02申請之標題為「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」之美國專利申請案第14/821,688號及2014年11月17日代理人案號R0708.70005US00申請之標題為「INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING, DETECTING, AND ANALYZING MOLECULES」之美國專利申請案第14/543,865號中予以描述，該兩案之全文特此以引用的方式併入本文中。

【0175】像素5-112與其自身個別反應室5-108及至少一個光偵測器5-110相關聯。積體器件5-102之複數個像素可經配置以具有任何合適形狀、大小及/或尺寸。積體器件5-102可具有任何合適數目個像素。積體器

件2-102中之像素之數目可在近似10,000個像素至1,000,000個像素之範圍內或可為彼範圍內之任何值或值範圍。在一些實施例中，像素可經配置成512個像素×512個像素之陣列。可以任何合適方式將積體器件5-102與儀器5-104介接。在一些實施例中，儀器5-104可具有可拆卸地耦合至積體器件5-102之介面，使得使用者可將積體器件5-102附接至儀器5-104以使用積體器件5-102來分析懸浮液中之至少一個所關注樣本，且自儀器5-104移除積體器件5-102以允許附接另一積體器件。儀器5-104之介面可定位積體器件5-102以與儀器5-104之電路耦合以允許將來自一或多個光偵測器之讀出信號傳輸至儀器5-104。積體器件5-102及儀器5-104可包含用於處置與大像素陣列(例如，大於10,000個像素)相關聯之資料之多通道、高速通信鏈路。

【0176】 圖5-1B中展示繪示像素5-112之列之積體器件5-102之截面示意圖。積體器件5-102可包含耦合區5-201、路由區5-202及像素區5-203。像素區5-203可包含具有定位於與耦合區5-201分離之位置處之表面上之反應室5-108之複數個像素5-112，該位置係激勵光(被展示為虛線箭頭)耦合至積體器件5-102之位置。可穿過(若干)金屬層5-116形成反應室5-108。由虛線矩形所繪示之一個像素5-112係積體器件5-102之區，該區包含反應室5-108及具有一或多個光偵測器5-110之光偵測區。

【0177】 圖5-1B繪示藉由將激勵光束耦合至耦合區5-201及反應室5-108之激勵路徑(以虛線展示)。圖5-1B中所展示之反應室5-108之列可經定位以與波導5-220光學地耦合。激勵光可照明定位於反應室內之樣本。樣本或反應組分(例如，螢光標示)可回應於被激勵光照明而達到受激態。當處於受激態時，樣本或反應組分可發射發射光，該發射光可由與反應室

相關聯之一或多個光偵測器來偵測。圖5-1B示意性地繪示自反應室5-108至像素5-112之(若干)光偵測器5-110之發射光之路徑(被展示為實線)。像素5-112之(若干)光偵測器5-110可經組態及經定位以偵測來自反應室5-108之發射光。合適光偵測器之實例在2015年8月7日以代理人案號R0708.70002US02申請之標題為「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」之美國專利申請案第14/821,656號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。針對個別像素5-112，反應室5-108及(若干)其各自光偵測器5-110可沿著共同軸(沿著圖5-1B中所展示之y方向)對準。以此方式，(若干)光偵測器可與像素5-112內之反應室重疊。

【0178】來自反應室5-108之發射光之方向性可取決於樣本在反應室5-108中相對於(若干)金屬層5-116之定位，因為(若干)金屬層5-116可起到反射發射光之作用。以此方式，(若干)金屬層5-116與定位於反應室5-108中之螢光標記物之間的距離可能影響在相同於該反應室之像素中的(若干)光偵測器5-110偵測由螢光標記物發射之光的效率。(若干)金屬層5-116與反應室5-106之底表面之間的距離(其接近在操作期間樣本可定位之位置)可在100 nm至500 nm之範圍內或可為彼範圍內之任何值或值範圍。在一些實施例中，(若干)金屬層5-116與反應室5-108之底表面之間的距離為近似300 nm。

【0179】樣本與(若干)光偵測器之間的距離亦可能影響偵測發射光之效率。藉由減小光必須在樣本與(若干)光偵測器之間行進之距離，可改良發射光之偵測效率。另外，樣本與(若干)光偵測器之間的愈小距離可允許佔據積體器件之愈小佔據面積之像素，此可允許在積體器件中包含更高

數目個像素。反應室5-108之底表面與(若干)光偵測器之間的距離可在1 μm 至15 μm 之範圍內或可為彼範圍內之任何值或值範圍。

【0180】 (若干)光子結構5-230可經定位於反應室5-108與光偵測器5-110之間且經組態以減少或防止激勵光到達光偵測器5-110，其否則可能在偵測發射光時促成信號雜訊。如圖5-1B中所展示，一或多個光子結構5-230可經定位於波導5-220與光偵測器5-110之間。(若干)光子結構5-230可包含一或多個光學拒斥光子結構，該一或多個光學拒斥光子結構包含光譜濾光器、偏光濾光器及空間濾光器。(若干)光子結構5-230可經定位以沿著共同軸線與個別反應室5-108及其等各自光偵測器5-110對準。根據一些實施例，可充當用於積體器件5-102之電路的金屬層5-240亦可充當空間濾光器。在此等實施例中，一或多個金屬層5-240可經定位以阻擋一些或所有激勵光到達(若干)光偵測器5-110。

【0181】 耦合區5-201可包含經組態以耦合來自外部激勵源之激勵光之一或多個光學組件。耦合區5-201可包含經定位以接收激勵光束之一些或全部之光柵耦合器5-216。合適光柵耦合器之實例在2017年12月15日以代理人案號R0708.70021US01申請之標題為「OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM」之美國專利申請案第15/844,403號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。光柵耦合器5-216可將激勵光耦合至波導5-220，該波導5-220可經組態以將激勵光傳播至一或多個反應室5-108附近。替代地，耦合區5-201可包括用於將光耦合至波導中之其他熟知結構。

【0182】 定位於積體器件外之組件可用來定位激勵源5-106且將激勵源5-106對準至積體器件。此等組件可包含光學組件，該等光學組件包

含透鏡、鏡、稜鏡、窗口、孔徑、衰減器及/或光纖。額外機械組件可包含於該儀器中以允許控制一或多個對準組件。此等機械組件可包含致動器、步進馬達及/或旋鈕。合適激勵源及對準機構之實例在2016年5月20日以代理人案號R0708.70010US02申請之標題為「PULSED LASER AND SYSTEM」之美國專利申請案第15/161,088號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。束操縱模組之另一實例在2017年12月14日以代理人案號R0708.70024US01申請之標題為「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」之美國專利申請案第15/842,720號中予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。

【0183】可將待分析之樣本引進至像素5-112之反應室5-108中。該樣本可為生物樣本或任何其他合適樣本，諸如化學樣本。在一些情況下，懸浮液可包含多個所關注分子且反應室可經組態以隔離單種分子。在一些情況下，反應室之尺寸可起到將單種分子侷限於反應室內之作用，從而允許對單種分子執行量測。可將激勵光遞送至反應室5-108中，以便激勵該樣本或與該樣本附接或以其他方式相關聯之至少一種螢光標記物，同時其位於反應室5-108內之照明區域內。

【0184】在操作中，藉由使用激勵光激勵反應室內之一些或所有樣本且用表示來自反應室之發射光之光偵測器偵測信號來對反應室內之樣本實行平行分析。來自樣本或反應組分(例如，螢光標示)之發射光可由對應光偵測器來偵測且轉換為至少一個電信號。可在積體器件之電路中沿著導電線(例如，金屬層5-240)傳輸該等電信號，該電路可經連接至與積體器件介接之儀器。可隨後處理及/或分析該等電信號。該等電信號之處理或分析可在定位於儀器上或外之合適運算器件上發生。

【0185】 儀器5-104可包含用於控制儀器5-104及/或積體器件5-102之操作的使用者介面。使用者介面可經組態以允許使用者將資訊輸入至儀器中，諸如用來控制儀器之運作之命令及/或設定。在一些實施例中，使用者介面可包含用於語音命令之按鈕、開關、撥號盤及麥克風。使用者介面可允許使用者接收關於儀器及/或積體器件之效能之回饋，諸如恰當適當對準及/或藉由來自積體器件上之光偵測器之讀出信號獲取之資訊。在一些實施例中，使用者介面可使用揚聲器來提供回饋以提供可聽回饋。在一些實施例中，使用者介面可包含用於將視覺回饋提供至使用者之指示燈及/或顯示螢幕。

【0186】 在一些實施例中，儀器5-104可包含經組態以與運算器件連接之電腦介面。電腦介面可為USB介面、FireWire介面或任何其他合適電腦介面。運算器件可為任何通用電腦，諸如膝上型或桌上型電腦。在一些實施例中，運算器件可為經由合適電腦介面在無線網路上可存取之伺服器(例如，基於雲端之伺服器)。電腦介面可促進儀器5-104與運算器件之間的資訊通信。可將用於控制及/或組態儀器5-104之輸入資訊提供至運算器件且經由電腦介面傳輸至儀器5-104。可由運算器件經由電腦介面接收由儀器5-104產生的輸出資訊。輸出資訊可包含關於儀器5-104之效能、積體器件5-112之效能及/或自光偵測器5-110之讀出信號產生的資料之回饋。

【0187】 在一些實施例中，儀器5-104可包含經組態以分析自積體器件5-102之一或多個光偵測器接收之資料及/或將控制信號傳輸至(若干)激勵源2-106之處理器件。在一些實施例中，處理器件可包括通用處理器、專用處理器(例如，諸如一或多個微處理器或微控制器核心之中央處

理單元(CPU)、場可程式化閘陣列(FPGA)、特定應用積體電路(ASIC)、定製積體電路、數位信號處理器(DSP)或其等組合)。在一些實施例中，可由儀器5-104之處理器件及外部運算器件兩者執行來自一或多個光偵測器之資料之處理。在其他實施例中，可省略外部運算器件且可僅僅由積體器件5-102之處理器件執行來自一或多個光偵測器之資料之處理。

【0188】 參考圖5-1C，可攜式、先進分析儀器5-100可包括作為可替代模組安裝於該儀器5-100內或以其他方式耦合至該儀器5-100之一或多個脈衝式光源5-106。可攜式分析儀器5-100可包含光學耦合系統5-115及分析系統5-160。光學耦合系統5-115可包含光學組件之某個組合(例如，其可不包含以下組件，包含來自以下組件當中之一者或包含來自以下組件當中之一個以上組件：透鏡、鏡、光學濾光器、衰減器、束操縱組件、束塑形組件)且經組態以對輸出光學脈衝5-122進行操作及/或將輸出光學脈衝5-122自脈衝式光源5-106耦合至分析系統5-160。分析系統5-160可包含複數個組件，該等組件經配置以將光學脈衝引導至至少一個反應室以供樣本分析，自至少一個反應室接收一或多個光學信號(例如，螢光、反向散射輻射)，且產生表示經接收光學信號之一或多個電信號。在一些實施例中，分析系統5-160可包含一或多個光偵測器且亦可包含經組態以處理來自該等光偵測器之電信號之信號處理電子裝置(例如，一或多個微控制器、一或多個場可程式化閘陣列、一或多個微處理器、一或多個數位信號處理器、邏輯閘等)。分析系統5-160亦可包含經組態以將資料傳輸至外部器件(例如，網路上、儀器5-100可經由一或多個資料通信鏈路連接之一或多個外部器件)及自外部器件接收資料之資料傳輸硬體。在一些實施例中，分析系統5-160可經組態以接收生物光電晶片5-140，該生物光電晶片

5-140固持一或多個待分析之樣本。

【0189】 圖5-1D描繪包含緊湊脈衝式光源5-108之可攜式分析儀器5-100之進一步詳細實例。在此實例中，脈衝式光源5-108包括緊湊、被動鎖模雷射模組5-113。被動鎖模雷射可在不施加外部脈衝式信號之情況下自動地產生光學脈衝。在一些實施方案中，該模組可經安裝至儀器機架或框架5-103，且可經定位於該儀器之外殼內部。根據一些實施例，脈衝式光源5-106可包含可用來操作光源且對來自光源5-106之輸出束進行操作之額外組件。鎖模雷射5-113可包括在雷射腔中或耦合至雷射腔之元件(例如，可飽和吸收器、聲光調變器、克爾透鏡)，此引發雷射縱向頻率模式之鎖相。雷射腔可部分地由腔端鏡5-111、5-119界定。此頻率模式鎖定導致雷射之脈衝式操作(例如，腔內脈衝5-120在該等腔端鏡之間來回反彈)且自一個端鏡5-111產生正在部分地透射之輸出光學脈衝5-122之串流。

【0190】 在一些情況下，分析儀器5-100經組態以接納可移除、封裝式、生物光電或光電晶片5-140 (亦稱為「可棄式晶片」)。該可棄式晶片可包含例如生物光電晶片，該生物光電晶片包括複數個反應室、經配置以將光學激勵能量遞送至反應室的積體光學組件及經配置以偵測來自反應室之螢光發射的積體光偵測器。在一些實施方案中，晶片5-140可在單次使用之後可棄，而在其他實施方案中，晶片5-140可被重複使用兩次或更多次。當晶片5-140係由儀器5-100來接納時，其可與脈衝式光源5-106及分析系統5-160中之裝置進行電及光學通信。例如，可透過晶片封裝上之電接觸件進行電通信。

【0191】 在一些實施例中且參考圖5-1D，可棄式晶片5-140可經安裝(例如，經由插座連接)於電子電路板5-130上，諸如可包含額外儀器電

子裝置之印刷電路板(PCB)。例如，PCB 5-130可包含經組態以將電功率、一或多個時脈信號及控制信號提供至光電晶片5-140的電路，及經配置以接收表示自反應室偵測到之螢光發射之信號的信號處理電路。在一些實施方案中，部分地或全部地由儀器5-100上之電子裝置處理自光電晶片傳回之資料，儘管可經由網路連接將資料傳輸至一或多個遠端資料處理器。PCB 5-130亦可包含經組態以自晶片接收與耦合至光電晶片5-140之波導中的光學脈衝5-122之光學耦合及功率位準相關之回饋信號的電路。可將回饋信號提供至脈衝式光源5-106及光學系統5-115之一者或兩者以控制光學脈衝5-122之輸出束之一或多個參數。在一些情況下，PCB 5-130可將功率提供或路由至脈衝式光源5-106以操作該光源及光源5-106中之相關電路。

【0192】 根據一些實施例，脈衝式光源5-106包括緊湊鎖模雷射模組5-113。鎖模雷射可包括增益介質5-105 (在一些實施例中其可為固態材料)、輸出耦合器5-111及雷射腔端鏡5-119。鎖模雷射之光學腔可由輸出耦合器5-111及端鏡5-119定界。雷射腔之光學軸5-125可具有一或多個折疊(匝)以增加雷射腔之長度且提供所欲脈衝重複速率。由雷射腔之長度(例如，光學脈衝在雷射腔內往返之時間)判定脈衝重複速率。

【0193】 在一些實施例中，在雷射腔中可存在用於束塑形、波長選擇及/或脈衝形成之額外光學元件(圖5-1D中未展示)。在一些情況下，端鏡5-119包括引發縱向腔模之被動鎖模且導致鎖模雷射之脈衝式操作的可飽和吸收鏡(SAM)。鎖模雷射模組5-113可進一步包含用於激勵增益介質5-105之泵浦源(例如，雷射二極體，圖5-1D中未展示)。鎖模雷射模組5-113之進一步細節可在2017年12月15日申請之標題為「Compact Mode-

Locked Laser Module」之美國專利申請案第15/844,469號中找到，該案以引用的方式併入本文中。

【0194】當雷射5-113被鎖模時，腔內脈衝5-120可在端鏡5-119與輸出耦合器5-111之間循環，且該腔內脈衝之一部分可作為輸出脈衝5-122透射穿過輸出耦合器5-111。據此，如圖5-2之曲線圖中所描繪，當腔內脈衝5-120在雷射腔中之輸出耦合器5-111與端鏡5-119之間來回反彈時，可在該輸出耦合器處偵測到一系列輸出脈衝5-122。

【0195】圖5-2描繪輸出脈衝5-122之時間強度輪廓，儘管該繪圖未按比例繪製。在一些實施例中，經發射脈衝之峰值強度值可近似相等，且該等輪廓可具有高斯時間輪廓，儘管諸如sech²輪廓之其他輪廓亦係可能的。在一些情況下，該等脈衝可能不具有對稱時間輪廓且可具有其他時間形狀。各脈衝之持續時間之特徵可在於全寬半高(FWHM)值，如圖5-2中所指示。根據鎖模雷射之一些實施例，超短光學脈衝可具有小於100皮秒(ps)之FWHM值。在一些情況下，FWHM值可介於近似5 ps與近似30 ps之間。

【0196】輸出脈衝5-122可分離達規則間隔T。例如，可由輸出耦合器5-111與腔端鏡5-119之間的往返行進時間判定T。根據一些實施例，脈衝分離間隔T可在約1 ns與約30 ns之間。在一些情況下，脈衝間隔間隔T可介於約5 ns與約20 ns之間，此對應於介於約0.7米與約3米之間的雷射腔長度(雷射腔內之光學軸5-125之近似長度)。在實施例中，該脈衝分離間隔對應於雷射腔中之往返行進時間，使得3米之腔長度(6米之往返距離)提供近似20 ns之脈衝間隔T。

【0197】根據一些實施例，可由晶片5-140上之反應室之數目、螢

光發射特性及用於自光電晶片 5-140 讀取資料之資料處置電路之速度的組合判定所欲脈衝分離間隔 T 及雷射腔長度。在實施例中，不同螢光團可藉由其等不同螢光衰變速率或特性壽命來區分。據此，需要足夠的脈衝分離間隔 T 來收集選定螢光團之足夠統計以區分其等不同衰變速率。另外，若脈衝分離間隔 T 過短，則資料處置電路無法跟上由大量反應室收集之大量資料。介於約 5 ns 與約 20 ns 之間的脈衝分離間隔 T 適合於具有高達約 2 ns 之衰變速率之螢光團且適合於處置來自介於約 60,000 個與 10,000,000 個反應室之間的資料。

【0198】 根據一些實施方案，束操縱模組 5-150 可自脈衝式光源 5-106 接收輸出脈衝且經組態以至少調整至光電晶片 5-140 的光學耦合器(例如，光柵耦合器)上之光學脈衝之位置及入射角。在一些情況下，可由束操縱模組 5-150 對來自脈衝式光源 5-106 之輸出脈衝 5-122 進行操作，以另外或替代地改變光電晶片 5-140 上之光學耦合器處之束形狀及/或束旋轉。在一些實施方案中，束操縱模組 5-150 亦可提供至光學耦合器上之輸出脈衝束之聚焦及/或偏光調整。束操縱模組之一項實例在 2016 年 5 月 20 日申請之標題為「**Pulsed Laser and Bioanalytic System**」之美國專利申請案第 15/161,088 號中予以描述，該案以引用的方式併入本文中。束操縱模組之另一實例在 2016 年 12 月 16 日申請之標題為「**Compact Beam Shaping and Steering Assembly**」之分開之美國專利申請案第 62/435,679 號中予以描述，該案以引用的方式併入本文中。

【0199】 參考圖 5-3，來自脈衝式光源之輸出脈衝 5-122 可經耦合至例如生物光電晶片 5-140 上之一或多個光學波導 5-312 中。在一些實施例中，光學脈衝可經由光柵耦合器 5-310 耦合至一或多個波導，儘管在一些

實施例中，可使用至光電晶片上之一或多個光學波導之端之耦合。根據一些實施例，四邊形偵測器5-320可經定位於半導體基板5-305 (例如，矽基板)上以輔助將光學脈衝5-122之束對準至光柵耦合器5-310。一或多個波導5-312及反應室或若干反應室5-330可經整合於同一半導體基板上，其中在基板、波導、反應室與光偵測器5-322之間具有中介介電層(例如，二氧化矽層)。

【0200】 各波導5-312可在反應室5-330下方包含錐形部分5-315以等化沿著該波導耦合至該等反應室之光學功率。縮減錐形可迫使更多光學能量在波導核心外，從而增加至反應室之耦合且補償沿著波導之光學損耗，包含耦合至反應室中之光之損耗。第二光柵耦合器5-317可經定位於各波導之端處以將光學能量引導至積體光二極體5-324。例如，積體光二極體可偵測沿著波導耦合之功率量且將經偵測信號提供至控制束操縱模組5-150之回饋電路。

【0201】 反應室5-330或若干反應室5-330可與波導之錐形部分5-315對準且凹入於桶5-340中。針對各反應室5-330，可存在定位於半導體基板5-305上之光偵測器5-322。在一些實施例中，半導體吸收器(圖5-5中被展示為光學濾光器5-530)可經定位於該波導與各像素處之光偵測器5-322之間。金屬塗層及/或多層塗層5-350可經形成於反應室周圍及波導上方以防止不在反應室中(例如，分散於反應室上方之溶液中)之螢光團之光學激勵。金屬塗層及/或多層塗層5-350可升高超過桶5-340之邊緣以減少各波導之輸入及輸出端處之波導5-312中之光學能量之吸收性損耗。

【0202】 在光電晶片5-140上可存在波導、反應室及時間分格光偵測器之複數個列。例如，在一些實施方案中，可存在128個列，各列具有

512個反應室，總共65,536個反應室。其他實施方案可包含更少或更多反應室，且可包含其他佈局組態。來自脈衝式光源5-106之光學功率可經由一或多個星形耦合器或多模干涉耦合器或藉由定位於至晶片5-140之光學耦合器5-310與複數個波導5-312之間的任何其他構件分配至多個波導。

【0203】圖5-4繪示自波導之錐形部分5-315內之光學脈衝5-122至反應室5-330之光學能量耦合。該圖式係根據考量波導尺寸、反應室尺寸、不同材料之光學性質及波導之錐形部分5-315距反應室5-330之距離的光學波之電磁場模擬產生。例如，該波導可由二氧化矽之周圍介質5-410中之氮化矽形成。波導、周圍介質及反應室可藉由在2015年8月7日申請之標題為「Integrated Device for Probing, Detecting and Analyzing Molecules」之美國申請案第14/821,688號中所描述之微製造程序來形成。根據一些實施例，消散光學場5-420將由波導輸送之光學能量耦合至反應室5-330。

【0204】圖5-5中描繪在反應室5-330中進行之生物反應之非限制性實例。該實例描繪將核苷酸或核苷酸類似物循序地併入至與靶核酸互補之生長鏈中。循序併入可在反應室5-330中進行，且可由先進分析儀器來偵測以對DNA進行定序。該反應室可具有介於約150 nm與約250 nm之間的深度及介於約80 nm與約160 nm之間的直徑。可在光偵測器5-322上方圖案化金屬化層5-540 (例如，用於參考電位之金屬化)以提供阻擋來自相鄰反應室及其他不想要光源之雜散光之孔徑或虹膜。根據一些實施例，聚合酶5-520可經定位於反應室5-330內(例如，附接至該室之基底)。該聚合酶可吸收靶核酸5-510 (例如，自DNA衍生之核酸之一部分)，且對互補核酸之生長鏈進行定序以產生DNA 5-512之生長鏈。可將用不同螢光團標示之

核苷酸或核苷酸類似物分散於反應室上方及內部之溶液中。

【0205】 當將帶標示核苷酸或核苷酸類似物5-610併入至互補核酸之生長鏈中時，如圖5-6中所描繪，可由自波導5-312耦合至反應室5-330中之光學能量脈衝重複地激勵一或多個附接螢光團5-630。在一些實施例中，一或多個螢光團5-630可藉由任何合適鏈結子5-620附接至一或多種核苷酸或核苷酸類似物5-610。併入事件可能持續高達約100 ms之時間週期。在此時間期間，例如，可利用時間分格光偵測器5-322偵測由於來自鎖模雷射之脈衝激勵(若干)螢光團而產生的螢光發射脈衝。在一些實施例中，在各像素處可存在用於信號處置(例如，放大、讀出、路由、信號預處理等)之一或多個額外積體電子器件5-323。根據一些實施例，各像素可包含使螢光發射通過且減少來自激勵脈衝之輻射之透射之至少一個光學濾光器5-530 (例如，半導體吸收器)。一些實施方案可能不使用光學濾光器5-530。藉由附接具有不同發射特性(例如，螢光衰變速率、強度、螢光波長、脈衝持續時間、脈衝間持續時間)之螢光團與不同核苷酸(A、C、G、T)，偵測及區分不同發射特性同時DNA 5-512之鏈併入核酸且實現判定DNA生長鏈之基因序列。

【0206】 用於對由入射發射光產生的電荷載流子進行時間分格以促進獲取本文中例如關於節III.及V.所描述之發射光之時序資訊(例如，螢光壽命、脈衝持續時間、脈衝間持續時間)之技術可應用於DNA及/或RNA定序應用。例如，根據一些實施例，經組態以基於螢光發射特性分析樣本之先進分析儀器5-100可偵測不同螢光分子之間的螢光壽命及/或強度之差及/或不同環境中之相同螢光分子之壽命及/或強度之間的差。圖5-7以解釋方式繪製兩個不同螢光發射概率曲線(A及B)，其等例如可表示例如來自兩

個不同螢光分子之螢光發射。參考曲線A (虛線)，在被短或超短光學脈衝激勵之後，來自第一分子之螢光發射之概率 $p_A(t)$ 可隨時間衰變，如所描繪。在一些情況下，光子隨時間發射之概率之減小可由指數衰變函數 $p_A(t) = P_{Ao} e^{(-t/\tau_1)}$ 來表示，其中 P_{Ao} 係初始發射概率且 τ_1 係特性化發射衰變概率之與第一螢光分子相關聯之時間參數。 τ_1 可稱為第一螢光分子之「螢光壽命」、「發射壽命」或「壽命」。在一些情況下，可藉由螢光分子之局部環境來更改 τ_1 之值。其他螢光分子可具有不同於曲線A中所展示之發射特性之發射特性。例如，另一螢光分子可具有不同於單個指數衰變之衰變輪廓，且其壽命之特徵可在於半衰期值或某個其他度量。

【0207】 第二螢光分子可具有指數式但具有可量測的不同壽命 τ_2 之衰變輪廓 $p_B(t)$ ，如針對圖5-7中之曲線B所描繪。在所展示實例中，曲線B之第二螢光分子之壽命短於曲線A之壽命，且在激勵第二分子之後不久，發射概率 $p_B(t)$ 高於曲線A之發射概率。在一些實施例中，不同螢光分子可具有在自約0.1 ns至約20 ns之範圍內之壽命或半衰期值。

【0208】 螢光發射壽命之差可用來辨別不同螢光分子之存在或缺失及/或辨別螢光分子所經受之不同環境或條件。在一些情況下，基於壽命(例如，而非發射波長)辨別螢光分子可簡化分析儀器5-100之態樣。作為實例，當基於壽命辨別螢光分子時，可減少波長鑒別光學件(諸如波長濾光器、各波長之專用偵測器、不同波長之專用脈衝式光源及/或繞射光學件)之數目或消除波長鑒別光學件。在一些情況下，可使用在單個特性波長下操作之單個脈衝式光源來激勵在光譜之相同波長區內發射但具有可量測的不同壽命之不同螢光分子。使用單個脈衝式光源而非在不同波長下操作之多個源來激勵及辨別在相同波長區內發射之不同螢光分子的分析系統

可不太複雜地操作及維護，更緊湊，且可以更低成本來製造。

【0209】 儘管基於螢光壽命分析之分析系統可具有特定益處，但可藉由允許額外偵測技術來增加由分析系統及/或偵測系統獲取之資訊量。例如，一些分析系統5-160可另外經組態以基於如本文中所描述之螢光波長、脈衝持續時間/寬度、脈衝間持續時間及/或螢光強度識別樣本之一或多個性質。

【0210】 再次參考圖5-7，根據一些實施例，可利用經組態以在激勵螢光分子後對螢光發射事件進行時間分格之光偵測器區分不同螢光壽命。時間分格可在光偵測器之單個電荷累積循環期間發生。電荷累積循環係讀出事件之間的時間間隔，在此期間光生載流子累積於時間分格光偵測器之格中。圖5-8中以圖形方式介紹藉由發射事件之時間分格判定螢光壽命之概念。在緊接 t_1 之前的時間 t_e ，由短或超短光學脈衝激勵相同類型(例如，對應於圖5-7之曲線B之類型)之螢光分子或螢光分子系集。針對大分子系集，發射強度可具有類似於曲線B之時間輪廓，如圖5-8中所描繪。

【0211】 然而，關於此實例，針對單種分子或少量分子，根據圖5-7中之曲線B之統計發生螢光光子之發射。時間分格光偵測器5-322可將自發射事件產生的載流子累積至離散時間格中。圖5-8中指示三個格，儘管在實施例中可使用更少格或更多格。相對於(若干)螢光分子之激勵時間 t_e 在時間上解析該等格。例如，第一格可累積在時間 t_1 與 t_2 之間的時間間隔期間產生的載流子，此係在時間 t_e 之激勵事件之後發生。第二格可累積在時間 t_2 與 t_3 之間的時間間隔期間產生的載流子，且第三格可累積在時間 t_3 與 t_4 之間的時間間隔期間產生的載流子。當將大量發射事件相加時，該等時間格中累積之載流子可近似於圖5-8中所展示之衰變強度曲線，且經分格

信號可用來區分不同螢光分子或其中定位有螢光分子之不同環境。

【0212】 時間分格光偵測器5-322之實例在2015年8月7日申請之標題為「Integrated Device for Temporal Binning of Received Photons」之美國專利申請案第14/821,656號及2017年12月22日申請之標題為「Integrated Photodetector with Direct Binning Pixel」之美國專利申請案第15/852,571號中予以描述，該兩案之全文以引用的方式併入本文中。出於解釋目的，圖5-9中描繪時間分格光偵測器之非限制性實施例。單個時間分格光偵測器5-322可包括皆形成於半導體基板上之光子吸收/載流子產生區5-902，載流子排出通道5-906及複數個載流子儲存區5-908a、5-908b。載流子輸送通道5-907可連接於光子吸收/載流子產生區5-902與載流子儲存區5-908a、5-908b之間。在所繪示實例中，展示兩個載流子儲存區，但可存在更多或更少載流子儲存區。可存在連接至該等載流子儲存區之讀出通道5-910。可藉由局部地摻雜半導體且形成相鄰絕緣區以提供載流子之光偵測能力、侷限及輸送來形成光子吸收/載流子產生區5-902，載流子排出通道5-906，載流子儲存區5-908a、5-908b及讀出通道5-910。時間分格光偵測器5-322亦可包含形成於該基板上、經組態以在該器件中產生電場以透過該器件輸送載流子之複數個電極5-920、5-921、5-922、5-923、5-924。

【0213】 在操作中，透過時間分格光偵測器5-322將來自脈衝式光源5-106（例如，鎖模雷射）之激勵脈衝5-122之一部分遞送至反應室5-330。最初，一些激勵輻射光子5-901可能到達光子吸收/載流子產生區5-902處且產生載流子（被展示為淺色圓圈）。亦可存在與激勵輻射光子5-901一起到達且產生對應載流子（被展示為暗色圓圈）之一些螢光發射光子5-

903。最初，由激勵輻射產生的載流子之數目與由螢光發射產生的載流子之數目相比較可能過大。在時間間隔 $|t_e-t_1|$ 期間產生的初始載流子例如藉由利用第一轉移閘5-920將其等閘控至載流子排出通道5-906中而被拒斥。

【0214】在稍後時間，大多數螢光發射光子5-903到達光子吸收/載流子產生區5-902處且產生提供表示來自反應室5-330之螢光發射之有用且可偵測的信號之載流子(指示為暗色圓圈)。根據一些偵測方法，可在稍後時間對第二電極5-921及第三電極5-923進行閘控以將在稍後時間(例如，在第二時間間隔 $|t_1-t_2|$ 期間)產生的載流子引導至第一載流子儲存區5-908a。隨後，可在稍後時間(例如，在第三時間間隔 $|t_2-t_3|$ 期間)對第四電極5-922及第五電極5-924進行閘控以將載流子引導至第二載流子儲存區5-908b。在大量激勵脈衝中之激勵脈衝之後，電荷累積可此方式繼續以在各載流子儲存區5-908a、5-908b中累積可觀數目個載流子及信號位準。在稍後時間，可自該等格讀出信號。在一些實施方案中，對應於各儲存區之時間間隔處於亞奈秒級時間標度，儘管可在一些實施例中使用更長時間標度(例如，在其中螢光團具有更長衰變時間之實施例中)。

【0215】在時間分格光偵測器5-322之單個電荷累積循環期間，在激勵事件(例如，來自脈衝式光源之激勵脈衝)之後產生及時間分格載流子之程序可在單個激勵脈衝之後發生一次或在多個激勵脈衝之後重複多次。在電荷累積完成之後，可經由讀出通道5-910自儲存區讀出載流子。例如，可將適當偏壓序列施加至電極5-923、5-924及至少施加至電極5-940以自儲存區5-908a、5-908b移除載流子。電荷累積及讀出程序可在光電晶片5-140上進行大規模平行操作時發生，從而得到資料訊框。

【0216】儘管結合圖5-9之所描述實例包含多個電荷儲存區5-

908a、5-908b，但在一些情況下可代替地使用單個電荷儲存區。例如，在時間分格光偵測器5-322中僅可存在格1。在此情況下，可以可變時間閘控方式操作單個儲存區5-908a以在不同激勵事件之後查看不同時間間隔。例如，在第一系列激勵脈衝中之脈衝之後，可對用於儲存區5-908a之電極進行閘控以收集在第一時間間隔期間(例如，在第二時間間隔 $|t_1-t_2|$ 期間)產生的載流子，且可在第一預定數目個脈衝之後讀出經累積信號。在同一反應室處之後續系列激勵脈衝中之脈衝之後，可對用於儲存區5-908a之相同電極進行閘控以收集在不同間隔期間(例如，在第三時間間隔 $|t_2-t_3|$ 期間)產生的載流子，且可在第二預定數目個脈衝之後讀出經累積信號。若需要，則可在稍後時間間隔期間以類似方式收集載流子。以此方式，可使用單個載流子儲存區產生對應於在激勵脈衝到達反應室處之後的不同時間週期期間之螢光發射之信號位準。

【0217】 無論在激勵之後如何針對不同時間間隔實行電荷累積，經讀出信號可提供例如表示螢光發射衰變特性之格的直方圖。圖5-10A及圖5-10B中繪示實例程序，其中使用兩個電荷儲存區以自反應室獲取螢光發射。直方圖之格可指示在反應室5-330中激勵(若干)螢光團之後的各時間間隔期間偵測到之光子之數目。在一些實施例中，將在大量激勵脈衝後累積用於該等格之信號，如圖5-10A中所繪示。激勵脈衝可在分離達脈衝間隔時間 T 之時間 t_{e1} 、 t_{e2} 、 t_{e3} 、 $\dots$ 、 t_{eN} 出現。在一些情況下，可存在於針對反應室中觀察到之單個事件(例如，DNA分析中之單個核苷酸併入事件)將信號累積於電子儲存區中期間施加至反應室之105個與107個激勵脈衝5-122(或其等部分)。在一些實施例中，一個格(格0)可經組態以偵測與各光學脈衝一起遞送之激勵能量之振幅，且可用作參考信號(例如，以正規化

資料)。在其他情況下，激勵脈衝振幅可為穩定的，在信號採集期間判定一或多次，且在各激勵脈衝之後無法判定使得在各激勵脈衝之後不存在格0信號採集。在此等情況下，可拒斥且自光子吸收/載流子產生區5-902傾倒由激勵脈衝產生的載流子，如上文結合圖5-9所描述。

【0218】 在一些實施方案中，在激勵事件後，可自螢光團發射僅單個光子，如圖5-10A中所描繪。在時間 t_{e1} 之第一激勵事件之後，在時間 t_{f1} 之經發射光子可在第一時間間隔內(例如，在時間 t_1 與 t_2 之間)發生，使得所得電子信號經累積於第一電子儲存區中(貢獻於格1)。在時間 t_{e2} 之後續激勵事件中，在時間 t_{f2} 之經發射光子可在第二時間間隔內(例如，在時間 t_2 與 t_3 之間)發生，使得所得電子信號貢獻於格2。在時間 t_{e3} 之下一激勵事件之後，光子可在第一時間間隔內出現之時間 t_{f3} 發射。

【0219】 在一些實施方案中，可能不存在於反應室5-330處接收之各激勵脈衝之後發射及/或偵測到之螢光光子。在一些情況下，在反應室處針對遞送至該反應室之每10,000個激勵脈衝可偵測到僅僅一個螢光光子。將鎖模雷射5-113實施為脈衝式激勵源5-106之一個優點係鎖模雷射可在高脈衝重複速率下(例如，介於50 MHz與250 MHz之間)產生具有高強度及快速關斷時間之短光學脈衝。藉由如此高的脈衝重複速率，在10毫秒電荷累積間隔內之激勵脈衝之數目可為50,000至250,000，使得可累積可偵測信號。

【0220】 在大量激勵事件及載流子累積之後，可讀出時間分格光偵測器5-322之載流子儲存區以提供反應室之多值信號(例如，兩個或更多個值的直方圖、N維向量等)。各格之信號值可取決於螢光團之衰變速率。例如且再次參考圖5-8，具衰變曲線B之螢光團將在格1至格2中具有高於具

衰變曲線A之螢光團之信號比率。可分析來自該等格之值且與校準值進行比較及/或彼此進行比較，以判定存在特定螢光團。針對定序應用，識別螢光團可判定例如併入至DNA生長鏈中之核苷酸或核苷酸類似物。針對其他應用，識別螢光團可判定所關注分子或樣品之相同度，該所關注分子或樣品可與螢光團鏈結。

【0221】 為了進一步輔助理解信號分析，將經累積、多格值可被繪製為直方圖，例如如圖5-10B中所描繪，或可被記錄為N維空間中之向量或位置。可分開地執行校準運行以採集針對與四種核苷酸或核苷酸類似物鏈結之四個不同螢光團之多值信號之校準值(例如，校準直方圖)。作為實例，校準直方圖可如圖5-11A (與T核苷酸相關聯之螢光標記物)、圖5-11B (與A核苷酸相關聯之螢光標記物)、圖5-11C (與C核苷酸相關聯之螢光標記物)及5-11D (與G核苷酸相關聯之螢光標記物)中所描繪般表現。經量測多值信號(對應於圖5-10B的直方圖)與校準多值信號之比較可判定併入至DNA生長鏈中之核苷酸或核苷酸類似物之相同度「T」(圖5-11A)。

【0222】 在一些實施方案中，可另外或替代地使用螢光強度來區分不同螢光團。例如，一些螢光團可在顯著不同強度下發射或在其等激勵概率下具有顯著差(例如，至少約35%之差)，即使其等衰變速率可能類似。藉由對照經分格信號(格5-3)與經量測激勵能量及/或其他經採集信號，可基於強度位準區分不同螢光團。

【0223】 在一些實施例中，不同數目個相同類型之螢光團可與不同核苷酸或核苷酸類似物鏈結，使得可基於螢光團強度識別核苷酸。例如，兩個螢光團可與第一核苷酸(例如，「C」)或核苷酸類似物鏈結且四個或更多個螢光團可與第二核苷酸(例如，「T」)或核苷酸類似物鏈結。由於不同

數目個螢光團，可存在與不同核苷酸相關聯之激勵及螢光團發射概率。例如，在信號累積間隔期間，「T」核苷酸或核苷酸類似物可能存在更多發射事件，使得該等格之表觀強度顯著高於「C」核苷酸或核苷酸類似物之表觀強度。

【0224】基於螢光團衰變速率及/或螢光團強度區分核苷酸或任何其他生物或化學樣品實現簡化分析儀器5-100中之光學激勵及偵測系統。例如，可利用單波長源(例如，產生一個特性波長之源而非多個源或在多個不同特性波長下操作之源)執行光學激勵。另外，在偵測系統中可能不需要波長鑒別光學件及濾光器來區分不同波長之螢光團。再者，單個光偵測器可用於各反應室以偵測來自不同螢光團之發射。然而，在一些實施例中，藉由使用強度、壽命、波長、脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間之多者來區分樣本而添加用於識別特定分子之額外鑒別維度可能係有利的。

【0225】片語「特性波長」或「波長」用來係指有限輻射頻寬內之中央或主要波長(例如，由脈衝式光源輸出之20 nm頻寬內之中央或峰值波長)。在一些情況下，「特性波長」或「波長」可用來係指由源輸出之輻射之總頻寬內之峰值波長。

【0226】具有介於約560 nm與約900 nm之間的範圍內之發射波長之螢光團可提供足夠量之螢光以由時間分格光偵測器(其可使用CMOS程序製造於矽晶片上)來偵測。此等螢光團可與所關注生物分子鏈結，諸如用於基因定序應用之核苷酸或核苷酸類似物。與較長波長之螢光相比，在基於矽之光偵測器中可以更高回應度偵測此波長範圍內之螢光發射。另外，此波長範圍內之螢光團及相關聯鏈結子可能不干擾核苷酸或核苷酸類似物併入至DNA生長鏈中。在一些實施方案中，可利用單波長源光學地

激勵具有介於約560 nm與約660 nm之間的範圍內之發射波長之螢光團。此範圍內之實例螢光團係可自Waltham, Massachusetts之Thermo Fisher Scientific Inc.購得之Alexa Fluor 647。較短波長(例如，介於約500 nm與約650 nm之間)之激勵能量可用來激勵在介於約560 nm與約900 nm之間的波長下發射之螢光團。在一些實施例中，時間分格光偵測器可例如藉由將諸如Ge之其他材料併入至該光偵測器之主動區中來有效地偵測來自反應室之較長波長發射。

【0227】 b.蛋白質定序應用

【0228】 本發明之一些態樣可對蛋白質定序有用。例如，本發明之一些態樣對自多肽判定胺基酸序列資訊(例如，用於對一或多種多肽進行定序)有用，諸如藉由應用使用波長、壽命、強度、脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間之多維鑒別技術量測來識別特定樣本。在一些實施例中，可判定單種多肽分子之胺基酸序列資訊。在一些實施例中，(例如，直接或間接)標示多肽之一或多種胺基酸且判定多肽中之帶標示胺基酸之相對位置。在一些實施例中，使用一系列胺基酸標示及裂解步驟判定蛋白質中之胺基酸之相對位置。具體而言，本文中所描述之多維鑒別技術可利用以下申請案中所描述之蛋白質定序方法來實施：2019年11月15日以代理人案號R0708.70042US02申請之標題為「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」之美國專利申請案第16/686,028號及2019年11月15日以代理人案卷號R0708.70042WO00申請之標題為「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」之PCT申請案第PCT/US19/61831號，該兩案之全文特此以引用的方式併入本文中。

【0229】 例如，圖5-12繪示展示用於識別胺基酸之三維鑒別技術的實例曲線圖。發明人已認知，可基於特性強度、脈衝持續時間及壽命量測之至少一者識別單個胺基酸。具體而言，藉由獲取來自螢光標記物之經發射光之強度、脈衝持續時間及壽命之量測，可比較經獲取量測與已知量測以判定發射光所源自之最可能的螢光標記物。藉由識別特定螢光標記物，接著可知道該標記物所附接的胺基酸。使用三個鑒別維度，特別是強度、脈衝持續時間及壽命，可識別所有二十種標準基因胺基酸以及轉譯後修飾。儘管在所繪示實施例中，繪示用於識別特定胺基酸之三維鑒別技術，但發明人已明白，任何多維技術可應用於蛋白質定序應用，包含二維、四維及/或五維技術。另外，儘管在所繪示實施例中，使用強度、壽命及脈衝持續時間之量測展示三維鑒別技術，但應明白，可在本文中所描述之多維技術中實施其他合適組合，例如，強度、壽命、波長、脈衝持續時間及/或脈衝間持續時間之任一者。

【0230】 在一些實施例中，評估端胺基酸(例如，N-端或C-端胺基酸)之相同度，此後移除端胺基酸並評估下一端胺基酸之相同度，且重複此程序直至評估多肽中之複數種連續胺基酸。在一些實施例中，評估胺基酸之相同度包括判定存在之胺基酸之類型。在一些實施例中，判定胺基酸之類型包括判定實際胺基酸相同度，例如藉由判定端胺基酸係天然存在之20種胺基酸之哪一者(例如，使用特定於個別端胺基酸之辨識分子)。然而，在一些實施例中，評估端胺基酸類型之相同度可包括判定可存在於多肽端處之潛在胺基酸之子集。在一些實施例中，此可藉由判定胺基酸並非一或多種特定胺基酸(且因此可為任何其他胺基酸)來實現。在一些實施例中，此可藉由(例如，基於大小、電荷、疏水性、結合性質)判定指定子集

之胺基酸之哪一者可在多肽端處(例如，使用結合至兩個或更多個端胺基酸之指定子集之辨識分子)來實現。

【0231】 例如，可使用選擇性結合多肽上之一或多種類型之胺基酸之胺基酸辨識分子間接標示多肽胺基酸。可例如藉由用唯一可識別標示選擇性地修飾多肽上之一或多種類型之胺基酸側鏈來直接標示多肽胺基酸。胺基酸側鏈之選擇性標示之方法以及與帶標示多肽之製備及分析相關之細節在此項技術係已知的(參見，例如Swaminathan等人PLoS Comput Biol. 2015, 11(2):e1004080)。據此，在一些實施例中，藉由偵測選擇性結合一或多種類型之胺基酸之一或多種胺基酸辨識分子之結合來識別一或多種類型之胺基酸。在一些實施例中，藉由偵測帶標示多肽來識別一或多種類型之胺基酸。

【0232】 在一些實施例中，可在不自蛋白質移除胺基酸之情況下而是藉由使帶標示蛋白質轉位通過孔(例如，蛋白質通道)且在轉位通過孔期間自(若干)帶標示胺基酸偵測信號(例如，費斯特諧振能量轉移(FRET)信號)以便判定蛋白質分子中之帶標示胺基酸之相對位置來判定蛋白質分子中之帶標示胺基酸之相對位置。

【0233】 如本文中所使用，對多肽進行定序係指判定多肽之序列資訊。在一些實施例中，此可涉及判定多肽之一部分(或全部)之各循序胺基酸之相同度。然而，在一些實施例中，此可涉及評估多肽內之胺基酸之子集之相同度(例如，及判定一或多種胺基酸類型之相對位置而不判定多肽中之各胺基酸之相同度)。然而，在一些實施例中，可自多肽獲取胺基酸含量資訊，而無需直接判定多肽中之不同類型之胺基酸之相對位置。胺基酸含量可單獨用來推斷存在之多肽之相同度(例如，藉由比較胺基酸含量

與多肽資訊資料庫且判定哪種(些)多肽具有相同胺基酸含量)。

【0234】 在一些實施例中，可分析自較長多肽或蛋白質獲取之複數種多肽產物之序列資訊(例如，經由酶促及/或化學裂解)以重建或推斷較長多肽或蛋白質之序列。據此，一些實施例提供用於藉由對多肽之複數個片段進行定序來對多肽進行定序之組合物及方法。在一些實施例中，對多肽進行定序包括組合複數個多肽片段之序列資訊以識別及/或判定該多肽之序列。在一些實施例中，可藉由電腦硬體及軟體來執行組合序列資訊。本文中所描述之方法可允許對一組相關多肽，諸如生物體之整個蛋白質組進行定序。在一些實施例中，可平行地(例如，在單個晶片上)執行複數個單分子定序反應。例如，在一些實施例中，各在單個晶片上之分開之樣本井中執行複數個單分子定序反應。

【0235】 在一些實施例中，本文中所提供之方法可用於定序及識別包括蛋白質之複雜混合物之樣本中之個別蛋白質。一些實施例提供唯一地識別蛋白質之複雜混合物中之個別蛋白質之方法。在一些實施例中，藉由判定蛋白質之部分胺基酸序列，在混合樣本中偵測個別蛋白質。在一些實施例中，蛋白質之部分胺基酸序列在近似5種至50種胺基酸之連續範圍內。

【0236】 在不希望受任何特定理論束縛之情況下，據信可使用不完整的序列資訊參考蛋白質組學資料庫來識別大多數人類蛋白質。例如，人類蛋白質組之簡單模型化已表明，可藉由偵測6種至40種胺基酸之範圍內之僅四種胺基酸唯一地識別近似98%之蛋白質(參見，例如Swaminathan等人 PLoS Comput Biol. 2015, 11(2):e1004080；及 Yao 等人 Phys. Biol. 2015, 12(5):055003)。因此，蛋白質之複雜混合物可被降解(例如，化學

降解、酶促降解)成近似6種至40種胺基酸之短多肽片段，且此多肽庫之定序將揭露存在於原始複雜混合物中之蛋白質之各者之相同度及豐富性。用於藉由判定部分序列資訊進行選擇性胺基酸標示及識別多肽之組合物及方法在2015年9月15日申請之標題為「SINGLE MOLECULE PEPTIDE SEQUENCING」之美國專利申請案第15/510,962號予以描述，該案之全文特此以引用的方式併入本文中。

【0237】根據一些實施例之定序可涉及將多肽固定於基板或固體支持物(諸如晶片或積體器件)之表面上。在一些實施例中，可將多肽固定於基板上之樣本井之表面上(例如，在樣本井之底表面上)。在一些實施例中，將多肽之第一端固定至表面，且使另一端經受如本文中所描述之定序反應。例如，在一些實施例中，多肽透過C-末端固定至表面，且端胺基酸辨識及降解自多肽之N-末端朝向C-末端進行。在一些實施例中，多肽之N-端胺基酸被固定(例如，附接至表面)。在一些實施例中，多肽之C-端胺基酸被固定(例如，附接至表面)。在一些實施例中，一或多種非端胺基酸被固定(例如，附接至表面)。該(等)經固定胺基酸可使用任何合適共價或非共價鍵來附接，例如如本文中所描述。在一些實施例中，複數種多肽經附接至複數個樣本井(例如，其中一種多肽經附接至各樣本井之表面，例如底表面)，例如在基板上之樣本井之陣列中。

【0238】本發明之一些態樣提供一種藉由偵測經受端胺基酸修飾及裂解之重複循環之帶標示多肽之發光來對多肽進行定序之方法。例如，圖5-13展示根據一些實施例之藉由埃德曼降解對帶標示多肽進行定序之方法。在一些實施例中，該方法通常如本文中針對藉由埃德曼降解進行定序之其他方法所描述般進行。例如，在一些實施例中，圖5-13中所展示之步

驟(1)及(2)可如本文中別處針對分別在埃德曼降解反應中之端胺基酸修飾及端胺基酸裂解所描述般執行。

【0239】 如圖5-13中所描繪之實例中展示，在一些實施例中，該方法包括(1)修飾帶標示多肽之端胺基酸之步驟。如本文中別處所描述，在一些實施例中，修飾包括使端胺基酸與異硫氰酸酯(例如，PITC)接觸以形成異硫氰酸酯修飾之端胺基酸。在一些實施例中，異硫氰酸酯修飾5-1310將端胺基酸轉化為更易於被裂解試劑(例如，化學或酶促裂解試劑，如本文中所描述)移除之形式。據此，在一些實施例中，該方法包括(2)使用化學或酶促方式移除修飾之端胺基酸之步驟，包含如本文中別處針對埃德曼降解所描述之方式。

【0240】 在一些實施例中，該方法包括在複數個循環內重複步驟(1)至(2)，在此期間偵測帶標示多肽之發光，且可將對應於自端移除帶標示胺基酸之裂解事件偵測為經偵測信號之減小。在一些實施例中，如圖5-13中所展示之步驟(2)後之無信號變化識別未知類型之胺基酸。據此，在一些實施例中，可藉由在各連續輪次期間憑藉估計步驟(2)之後偵測到之信號、藉由基於經偵測信號之變化對胺基酸類型指派經判定相同度或基於經偵測信號無變化將胺基酸類型識別為未知來判定部分序列資訊。

【0241】 本發明之一些態樣提供藉由估計端胺基酸與帶標示胺基酸辨識分子及帶標示裂解試劑(例如，帶標示外肽酶)之結合相互作用來即時進行多肽定序之方法。圖5-14展示定序方法之實例，其中離散結合事件引起信號輸出5-1400之信號脈衝。圖5-14之插圖繪示藉由此方法進行即時定序之一般方案。如所展示，帶標示胺基酸辨識分子5-1410選擇性結合至端胺基酸且與端胺基酸解離(在此展示為賴氨酸)，此在信號輸出5-1400中產

生可用來識別端胺基酸之一系列脈衝。在一些實施例中，該系列脈衝提供可診斷對應端胺基酸之相同度之脈衝型樣。

【0242】 在不希望受理論束縛之情況下，帶標示胺基酸辨識分子5-1410根據由結合締合速率(k_{on})及結合解離速率(k_{off})界定之結合親和力(KD)選擇性地結合。速率常數 k_{off} 及 k_{on} 分別係脈衝持續時間(例如，對應於可偵測結合事件之時間)及脈衝間持續時間(例如，可偵測結合事件之間的時間)之關鍵決定因素。在一些實施例中，可設計此等速率以達成給出最佳定序準確度之脈衝持續時間及脈衝速率。

【0243】 如插圖中所展示，定序反應混合物進一步包括帶標示裂解試劑5-1420，該帶標示裂解試劑5-1420包括不同於帶標示胺基酸辨識分子5-1410之可偵測標示之可偵測標示。在一些實施例中，帶標示裂解試劑5-1420以小於帶標示胺基酸辨識分子5-1410之濃度之濃度存在於混合物中。在一些實施例中，帶標示裂解試劑5-1420顯示廣泛特異性，使得其裂解大多數或所有類型之端胺基酸。

【0244】 如由信號輸出5-1400之程序所繪示，在一些實施例中，帶標示裂解試劑5-1420之端胺基酸裂解引起唯一可識別信號脈衝，且此等事件以高於帶標示胺基酸辨識分子5-1410之結合脈衝之波長發生。以此方式，可在即時定序程序中對多肽之胺基酸進行計數及/或識別。如信號輸出5-1400中進一步繪示，在一些實施例中，帶標示胺基酸辨識分子5-1410經設計以結合一種以上類型之胺基酸與對應於各類型之不同結合性質，此產生唯一可識別脈衝型樣。在一些實施例中，可使用複數種帶標示胺基酸辨識分子，各帶標示胺基酸辨識分子具有可用來識別對應端胺基酸之診斷脈衝型樣，包含特性波長、壽命、強度、脈衝持續時間及/或脈衝間持續

時間。

【0245】 VIII. 替代物及範疇

【0246】 因此，雖然已描述本發明之技術之若干態樣及實施例，但應明白，一般技術者將容易想到各種更改、修改及改良。此等更改、修改及改良意欲於在本文中所描述之技術之精神及範疇內。因此，應理解，前述實施例僅以實例方式呈現且在隨附發明申請專利範圍及其等效物之範疇內，可以不同於如具體描述方式之方式實踐發明實施例。另外，若本文中所描述之兩個或更多個特徵、系統、物件、材料、套組及/或方法並非相互矛盾，則此等特徵、系統、物件、材料、套組及/或方法之任何組合包含於本發明之範疇內。

【0247】 再者，如所描述，一些態樣可被體現為一或多種方法。作為該方法之部分執行之動作可以任何適合方式排序。據此，可建構其中以不同於所繪示之順序之順序執行動作之實施例，該順序可包含同時執行一些動作，即使在闡釋性實施例中被展示為循序動作。

【0248】 如本文中所定義及使用，所有定義應被理解為支配字典定義、以引用的方式併入之文件中之定義及/或所定義術語之普通含義。

【0249】 除非有清楚相反指示，否則如本文在說明書及發明申請專利範圍中所使用之不定冠詞「一」及「一個」應被理解為意謂「至少一個」。

【0250】 如本文在說明書及發明申請專利範圍中所使用，片語「及/或」應被理解為意謂如此連接之元件之「任一者或兩者」，即，在一些情況中結合存在且在其他情況下分離存在之元件。

【0251】 如本文在說明書及發明申請專利範圍中所使用，提及一

或多個元件之清單之片語「至少一個」應被理解為意謂選自該元件清單中之元件之任何一或多者之至少一個元件，但不一定包含該元件清單內具體地列出之每個元件之至少一者且不排除該元件清單中之元件之任何組合。此定義亦容許可視情況存在除片語「至少一個」所提及之在該元件清單內具體地識別之元件之外的元件，無論與彼等具體地識別之元件相關或無關。

【0252】 在發明申請專利範圍以及以上說明書中，所有過渡片語，諸如「包括」、「包含」、「攜帶」、「具有」、「含有」、「涉及」、「固持」、「由…組成」及類似物應被理解為開放式，即，意謂包含但不限於。過渡片語「由…組成」及「本質上由……構成」應分別係封閉式或半封閉式過渡片語。

【符號說明】

【0253】

1-102: 積體器件

1-106: 金屬層

1-108: 樣本井

1-110: 光偵測器

1-112: 像素

1-201: 耦合區

1-202: 路由區

1-203: 像素區

1-216: 光柵耦合器

1-220: 波導

- 1-230: 光子結構
- 1-240: 金屬層
- 1-322: 時間分格光偵測器
- 1-901: 激勵輻射光子
- 1-902: 光子吸收/載流子產生區
- 1-903: 螢光發射光子
- 1-906: 載流子排出通道
- 1-907: 載流子輸送通道
- 1-908a: 載流子儲存區/第一載流子儲存區
- 1-908b: 載流子儲存區/第二載流子儲存區
- 1-910: 讀出通道
- 1-920: 電極/第一轉移閘
- 1-921: 電極/第二電極
- 1-922: 電極/第四電極
- 1-923: 電極/第三電極
- 1-924: 電極/第五電極
- 1-940: 電極
- 2-112: 像素
- 2-212: 像素
- 2-312: 像素
- 2-412: 像素
- 2-502: 阻障
- 2-512: 像素

- 3-112: 像素
- 3-212: 像素
- 3-312: 像素
- 3-412: 像素
- 4-112: 像素
- 4-212: 像素
- 5-100: 可攜式、先進分析儀器/可攜式分析儀器/儀器
- 5-102: 積體器件
- 5-103: 儀器機架或框架
- 5-104: 儀器
- 5-105: 增益介質
- 5-106: 激勵源/脈衝式光源
- 5-108: 反應室/緊湊脈衝式光源
- 5-110: 光偵測器
- 5-111: 腔端鏡/輸出耦合器
- 5-112: 像素
- 5-113: 緊湊、被動鎖模雷射模組/鎖模雷射模組/雷射
- 5-115: 光學系統/光學耦合系統
- 5-116: 金屬層
- 5-119: 腔端鏡/雷射腔端鏡/端鏡
- 5-120: 腔內脈衝
- 5-122: 輸出光學脈衝/光學脈衝/輸出脈衝/激勵脈衝
- 5-125: 光學軸

- 5-130: 電子電路板/印刷電路板(PCB)
- 5-140: 生物光電晶片/可棄式晶片/光電晶片
- 5-150: 束操縱模組
- 5-160: 分析系統
- 5-201: 耦合區
- 5-202: 路由區
- 5-203: 像素區
- 5-216: 光柵耦合器
- 5-220: 波導
- 5-230: 光子結構
- 5-240: 金屬層
- 5-305: 半導體基板
- 5-310: 光柵耦合器
- 5-312: 光學波導/波導
- 5-315: 錐形部分
- 5-317: 第二光柵耦合器
- 5-320: 四邊形偵測器
- 5-322: 光偵測器/時間分格光偵測器
- 5-323: 額外積體電子器件
- 5-324: 積體光二極體
- 5-330: 反應室/光學濾光器
- 5-340: 桶
- 5-350: 金屬塗層及/或多層塗層

- 5-410: 周圍介質
- 5-420: 消散光學場
- 5-510: 靶核酸
- 5-512: DNA
- 5-520: 聚合酶
- 5-530: 光學濾光器
- 5-540: 金屬化層
- 5-610: 帶標示核苷酸或核苷酸類似物
- 5-620: 鏈結子
- 5-630: 附接螢光團
- 5-901: 激勵輻射光子
- 5-902: 光子吸收/載流子產生區
- 5-903: 螢光發射光子
- 5-906: 載流子排出通道
- 5-907: 載流子輸送通道
- 5-908a: 載流子儲存區/第一載流子儲存區
- 5-908b: 載流子儲存區/第二載流子儲存區
- 5-910: 讀出通道
- 5-920: 電極/第一轉移閘
- 5-921: 電極/第二電極
- 5-922: 電極
- 5-923: 電極/第三電極
- 5-924: 電極

5-940: 電極

5-1310: 異硫氰酸酯修飾

5-1400: 信號輸出

5-1410: 帶標示胺基酸辨識分子

5-1420: 帶標示裂解試劑

COL: 位元線

D: 汲極

DTI: 阻障

FD: 浮動擴散/讀出區

FD0: 讀出區

FD1: 讀出區

FDA: 讀出區

FDB: 讀出區

M0: 金屬層

OPT: 發射光

OSE: 光學分類元件

PPD: 鈎紫光二極體/光偵測區

PPD0: 光偵測區

PPD1: 光偵測區

PPD2: 光偵測區

REJ: 汲極閘

RS: 轉移閘

RST: 轉移閘

SD0: 儲存二極體/儲存區/電荷儲存區

SD1: 儲存區/電荷儲存區

SD2: 電荷儲存區

SD3: 電荷儲存區

SD4: 電荷儲存區

SNA: 電荷儲存區/儲存節點/第一儲存節點

SNB: 電荷儲存區/第二電荷儲存區/儲存節點/第二儲存節點

TG0: 轉移閘

TG1: 轉移閘

TG2: 轉移閘

TG3: 轉移閘

TG4: 轉移閘

TG5: 轉移閘

TX0: 轉移閘

TX1: 轉移閘

TX2: 轉移閘

TX3: 轉移閘

TX4: 轉移閘

TX5: 轉移閘

VDDP: 電壓源

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種積體電路，其包括：

至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；

至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及

至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括脈衝持續時間資訊與選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少一個成員。

【請求項2】

如請求項1之積體電路，其中該至少一個組件進一步經組態以至少部分地基於由該至少一個組件獲取之該資訊識別該樣本。

【請求項3】

如請求項2之積體電路，其中識別該樣本包括識別至少一種螢光標記物，且該至少一個組件進一步經組態以識別該至少一種螢光標記物所附接的至少一種分子。

【請求項4】

如請求項3之積體電路，其中識別該至少一種分子包括識別至少一種胺基酸。

【請求項5】

如請求項1之積體電路，其中關於該等入射光子之該資訊至少部分地基於儲存於該至少一個電荷儲存區中之該等電荷載流子之一或多個特性。

【請求項6】

如請求項1之積體電路，其中至少部分地藉由判定期間由該至少一個光偵測區接收之入射光子之總數目超過臨限值的時間間隔之長度來獲取該脈衝持續時間資訊。

【請求項7】

如請求項1之積體電路，其中該至少一個組件包括至少一個處理器。

【請求項8】

一種積體電路，其包括：

至少一個光偵測區，其經組態以回應於自樣本發射之入射光子而產生電荷載流子；

至少一個電荷儲存區，其經組態以接收來自該光偵測區的該等電荷載流子；及

至少一個組件，其經組態以獲取關於該等入射光子之資訊，該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊、強度資訊、脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之至少三個成員。

【請求項9】

如請求項8之積體電路，其中由該至少一個組件獲取之該資訊包括選自包括波長資訊、發光壽命資訊及強度資訊的群組之至少兩個成員與選自包括脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的群組之一個成員。

【請求項10】

如請求項9之積體電路，其中由該至少一個組件獲取之該資訊包括發光壽命資訊、強度資訊與選自包括脈衝持續時間資訊及脈衝間持續時間資訊的該群組之一個成員。

【請求項11】

如請求項8之積體電路，其中該至少一個組件進一步經組態以至少部分地基於由該至少一個組件獲取之該資訊識別該樣本。

【請求項12】

如請求項11之積體電路，其中識別該樣本包括識別至少一種螢光標記物，且該至少一個組件進一步經組態以識別該至少一種螢光標記物所附接的至少一種分子。

【請求項13】

如請求項12之積體電路，其中識別該至少一種分子包括識別至少一種胺基酸。

【請求項14】

一種方法，其包括：

基於選自包括發射光之波長、強度、壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的群組之至少三個成員，判定關於回應於激勵光而發射該發射光的樣本之資訊。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中該方法進一步包括基於選自包括該發射光之波長、強度、壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性的該群組之至少四個成員，判定關於該樣本之資訊。

【請求項16】

如請求項14之方法，其中該方法進一步包括基於該發射光之波長、強度、壽命、脈衝持續時間及脈衝間持續時間特性，判定關於該樣本之資訊。

【請求項17】

如請求項14之方法，其中該資訊包括該樣本中之至少一種螢光標記物之相同度。

【請求項18】

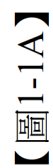
如請求項17之方法，其中該資訊進一步包括該至少一種螢光標記物所附接的至少一種分子之相同度。

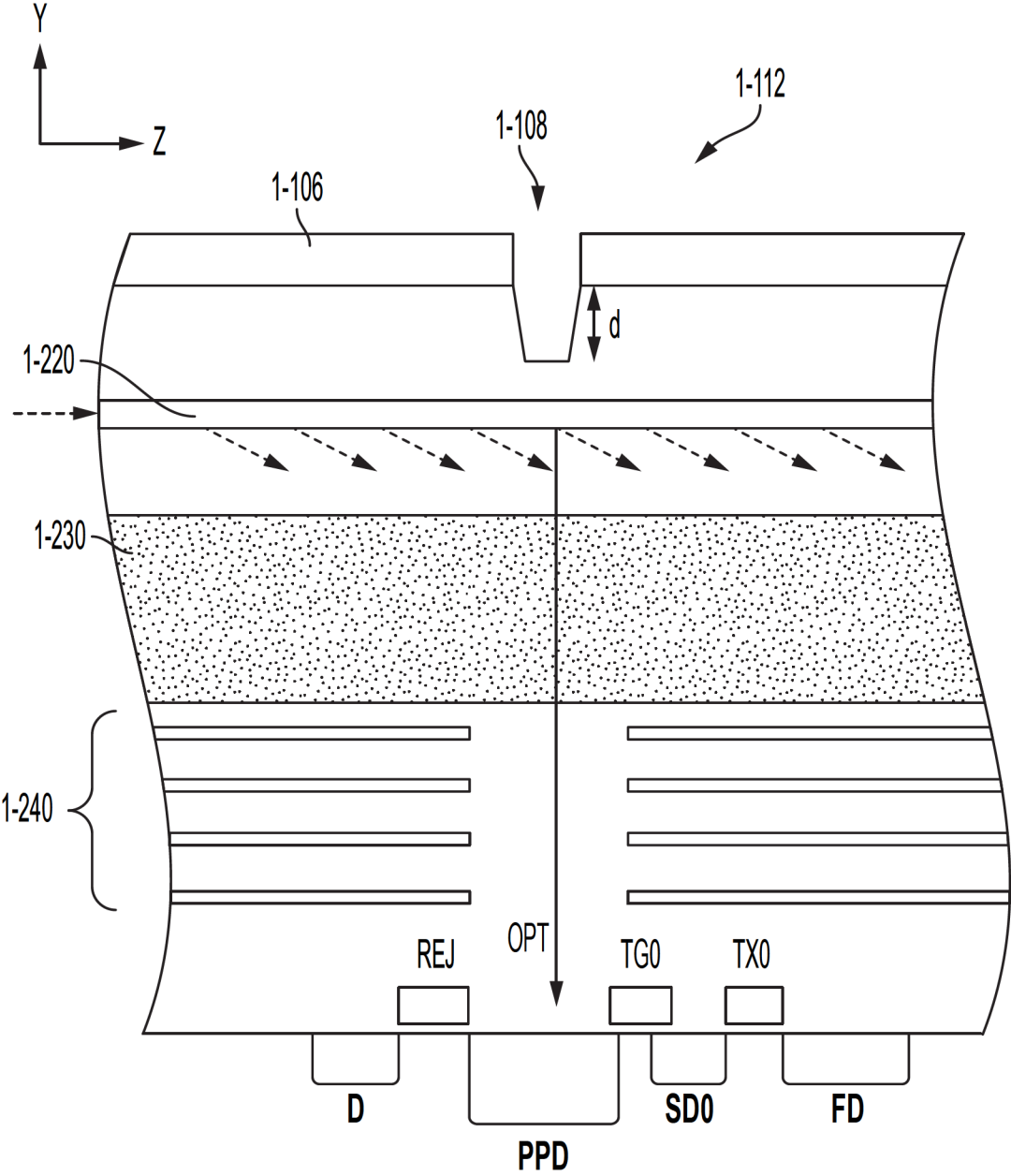
【請求項19】

如請求項18之方法，其中該至少一種分子包括至少一種胺基酸。

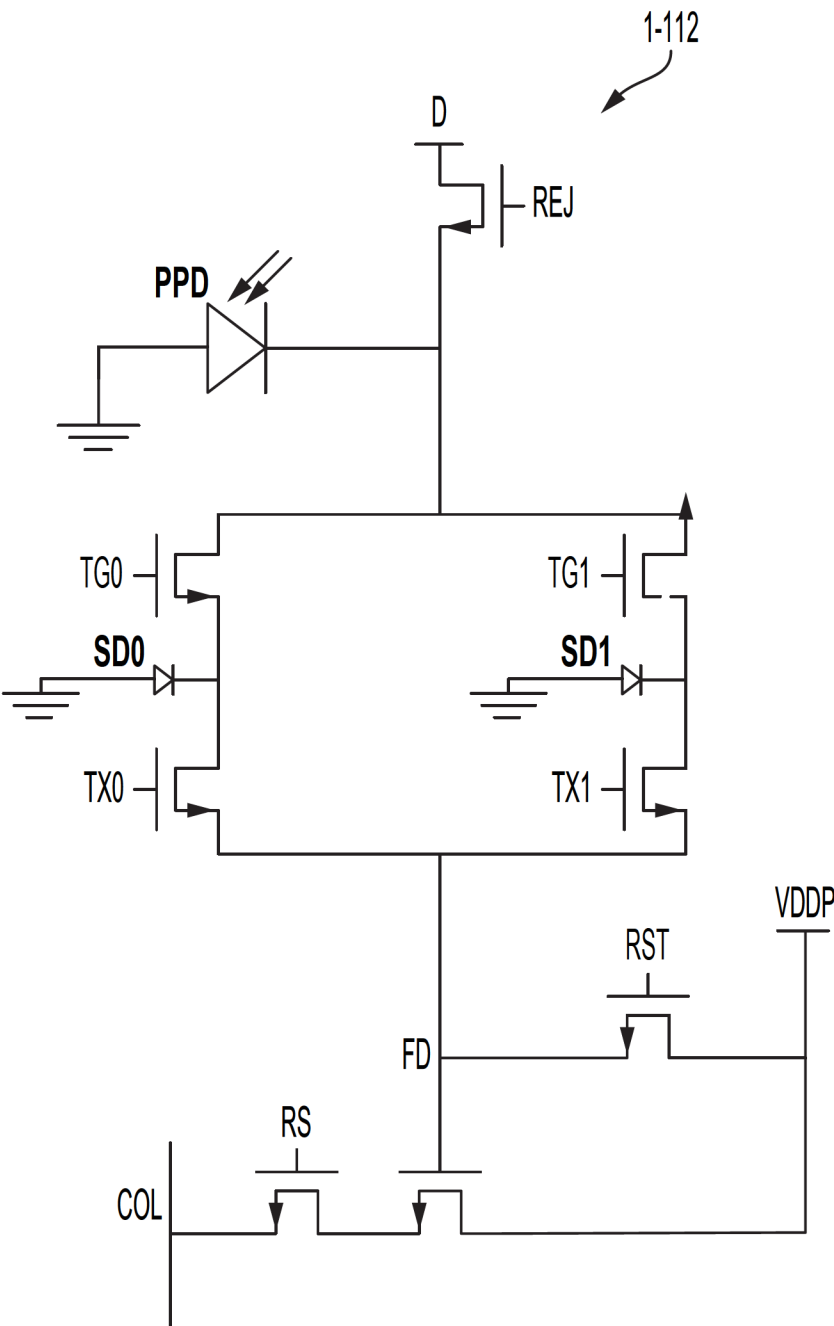
【請求項20】

如請求項14之方法，其中判定關於該樣本之資訊至少部分地基於回應於該發射光而產生的一或多個電荷載流子之一或多個特性。

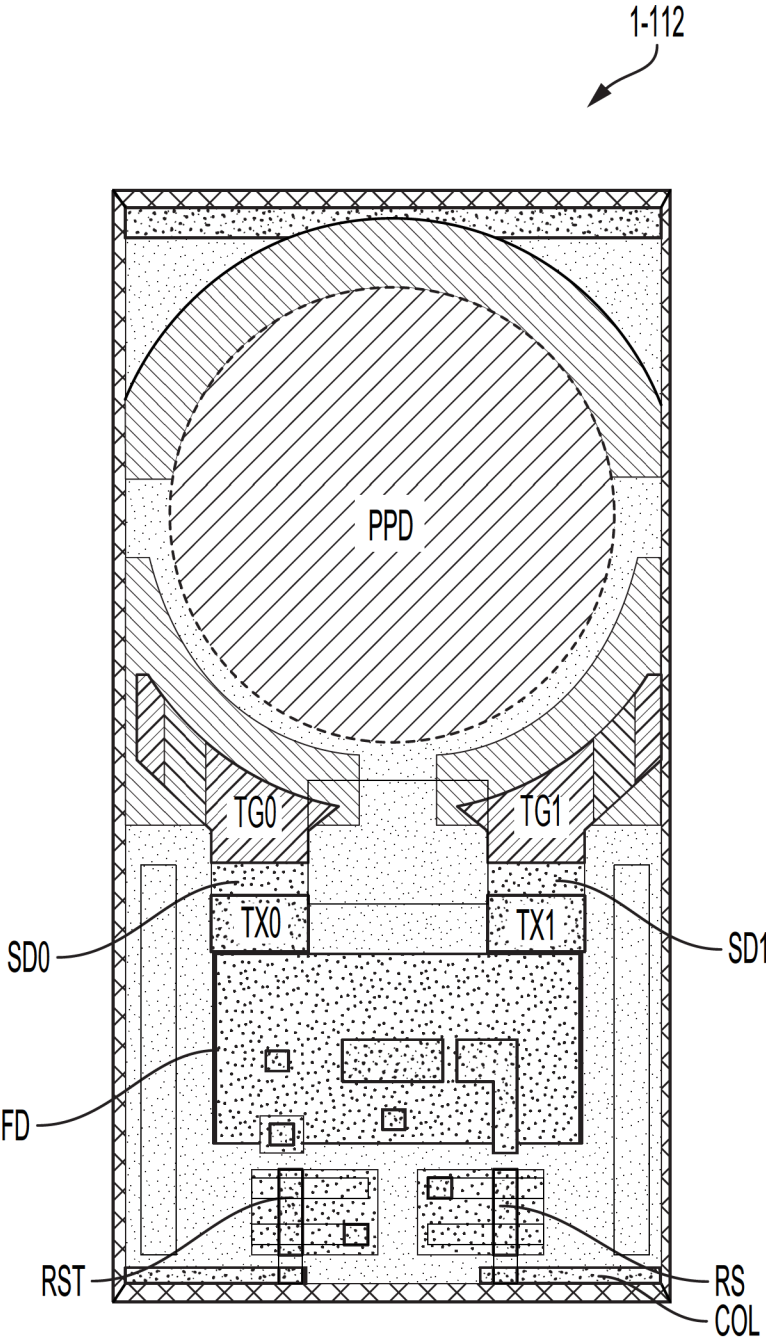




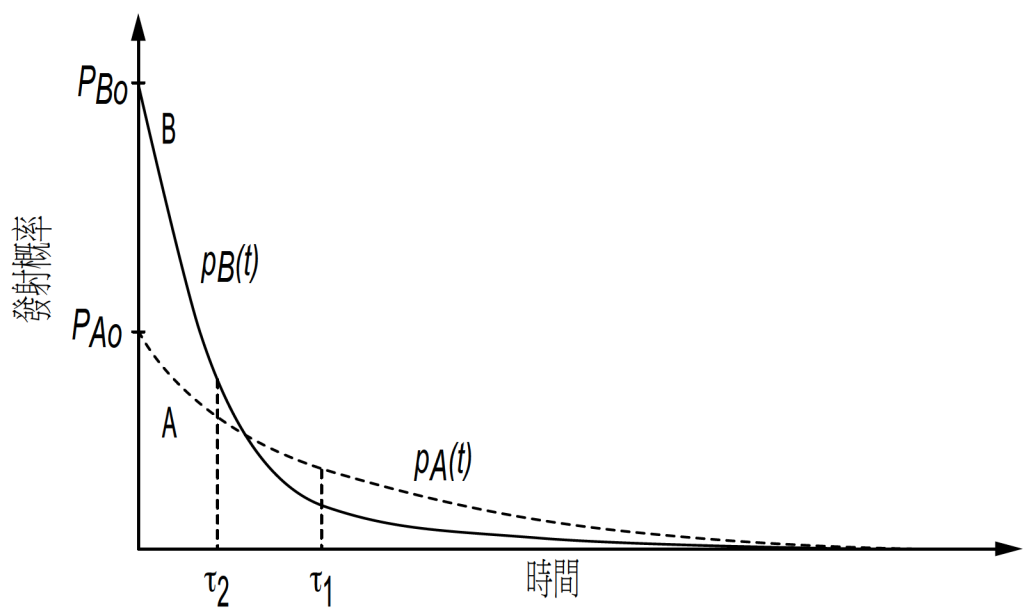
【圖1-1B】



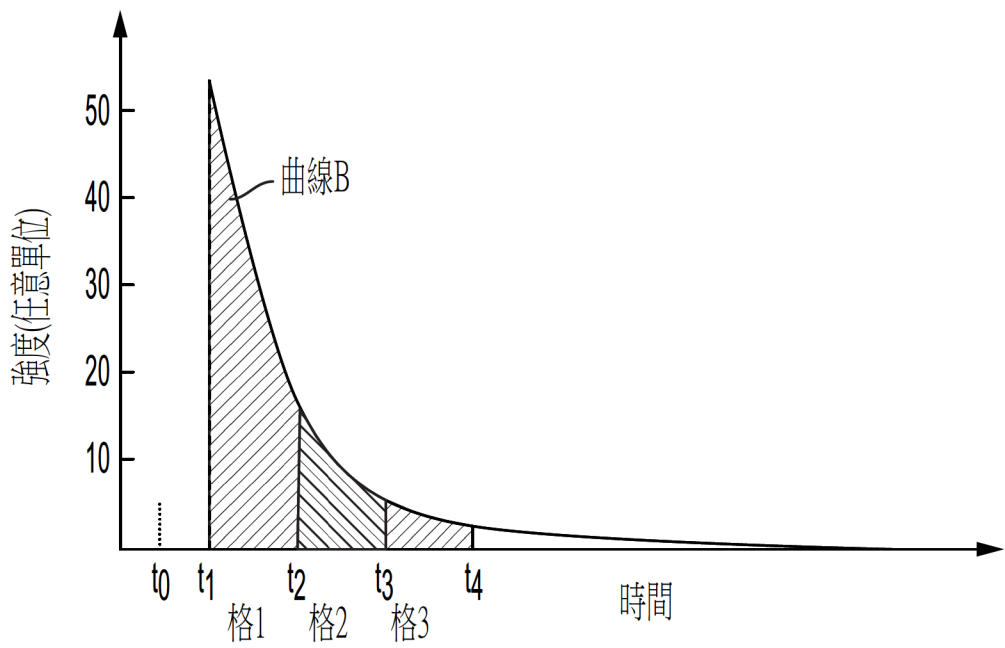
【圖1-1C】



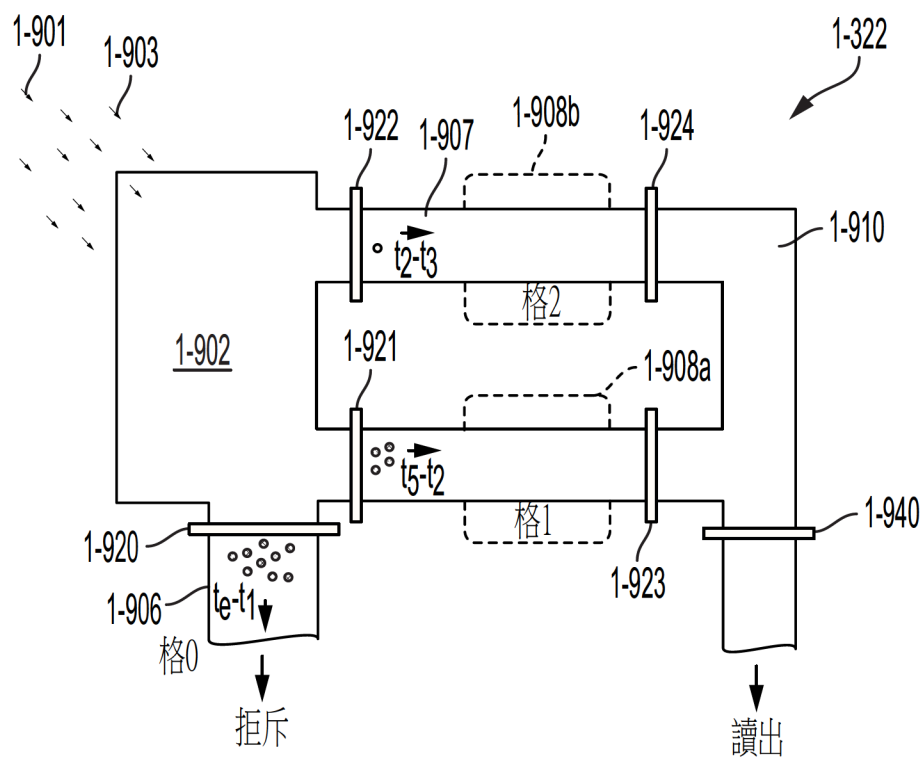
【圖1-1D】



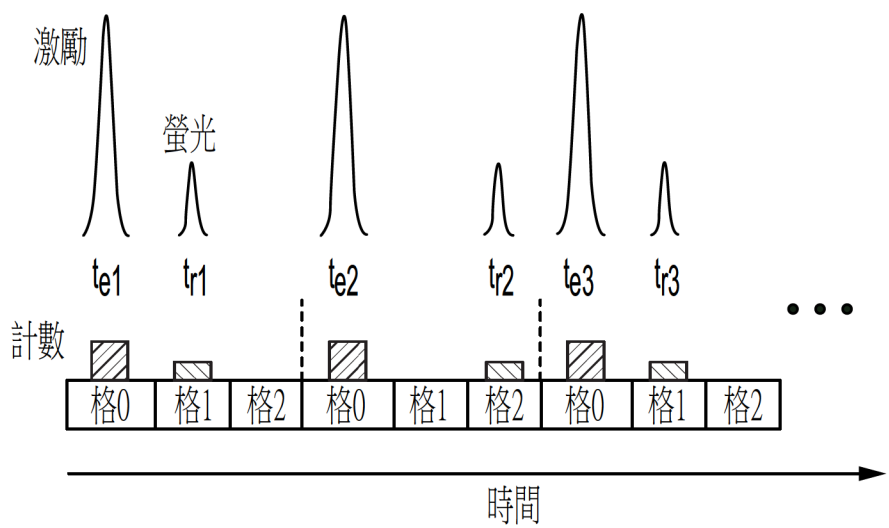
【圖1-2A】



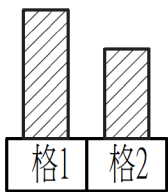
【圖1-2B】



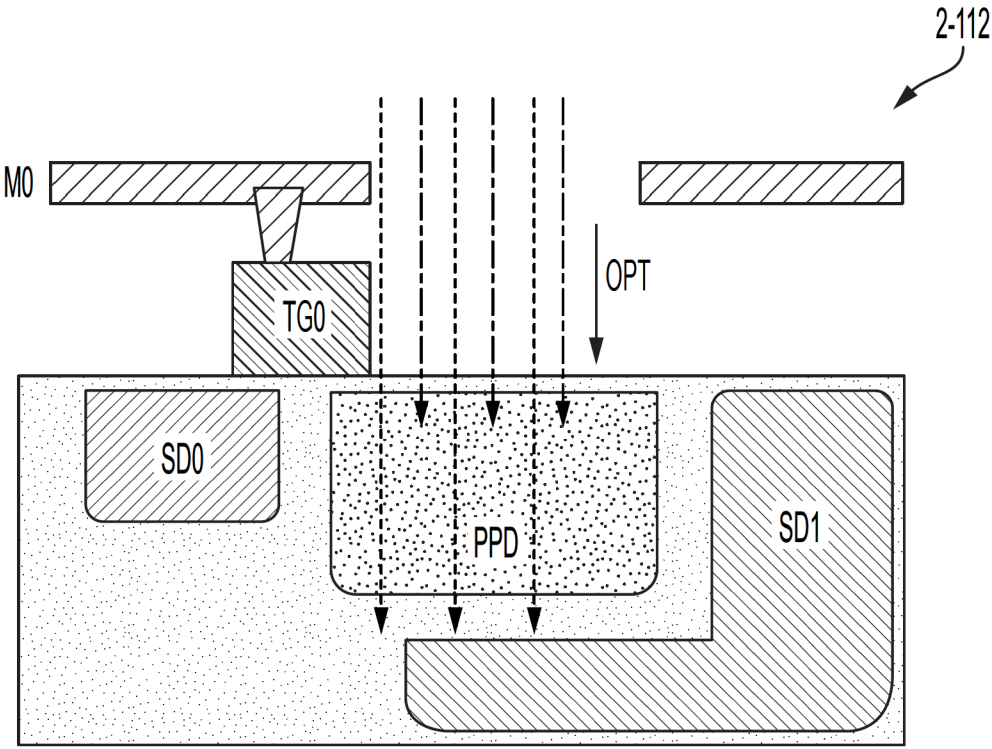
【圖1-2C】



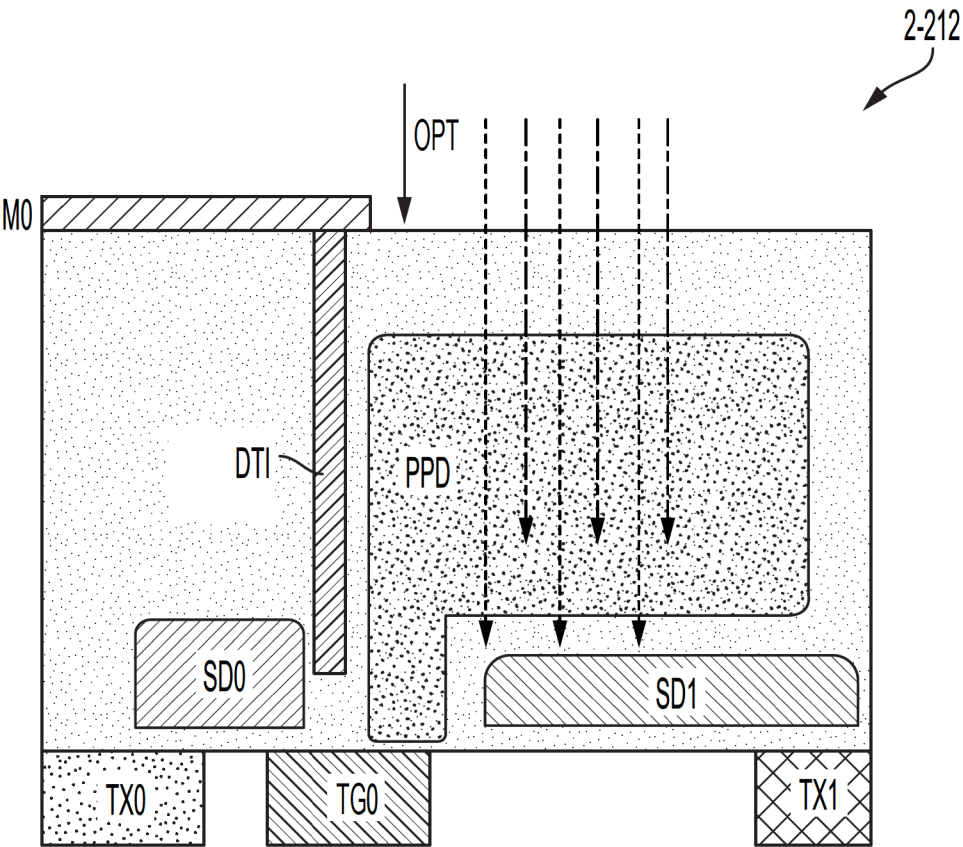
【圖1-2D】



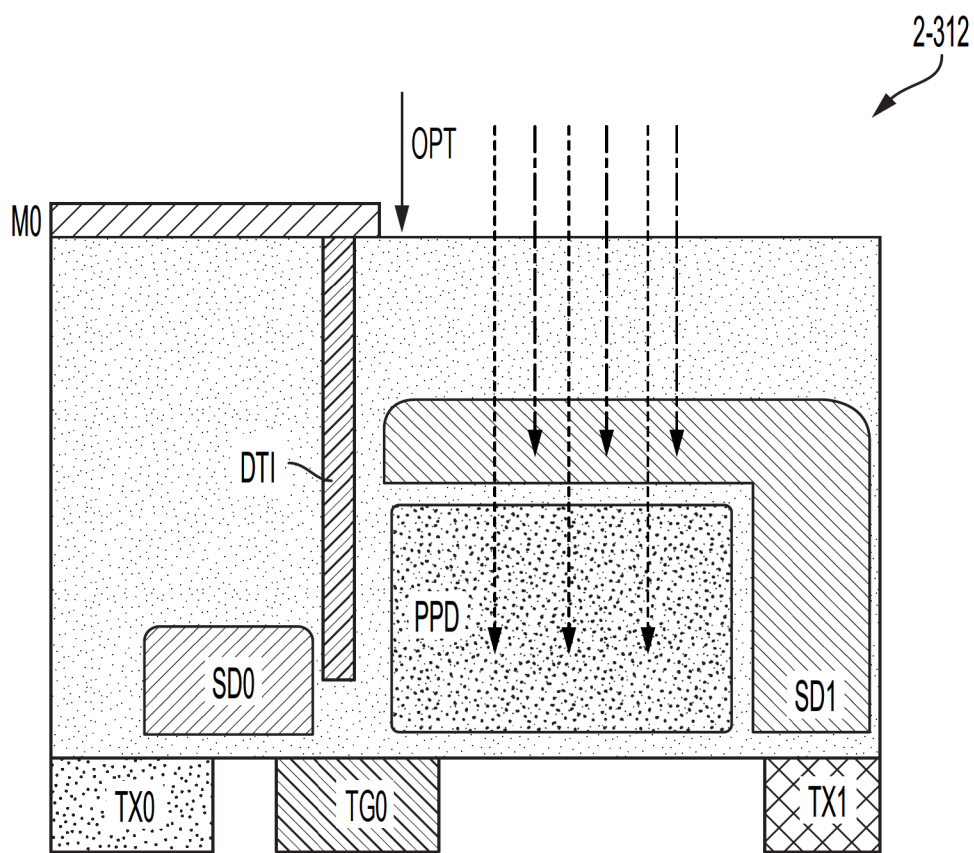
【圖1-2E】



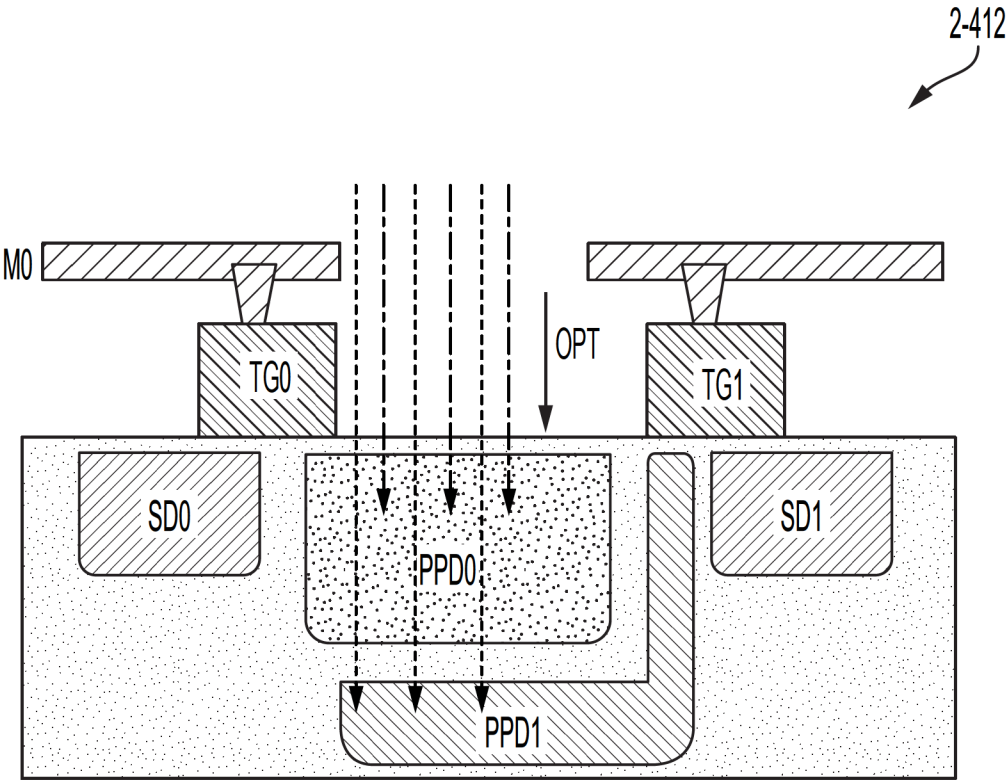
【圖2-1】



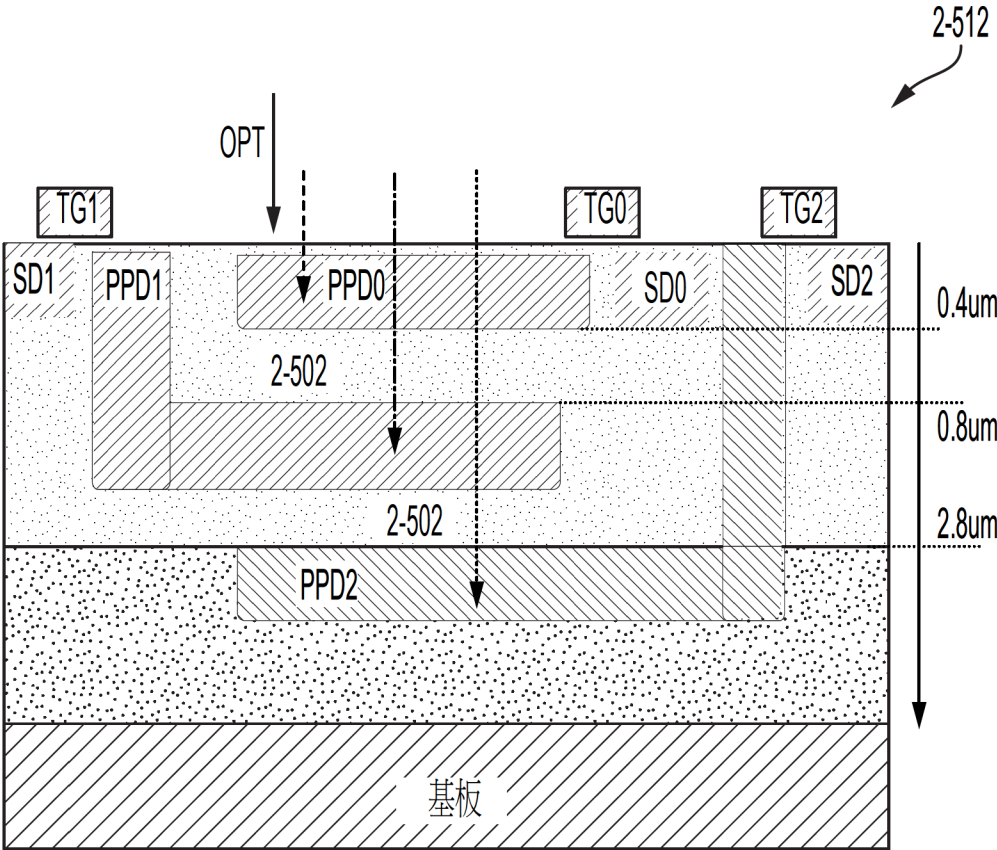
【圖2-2】



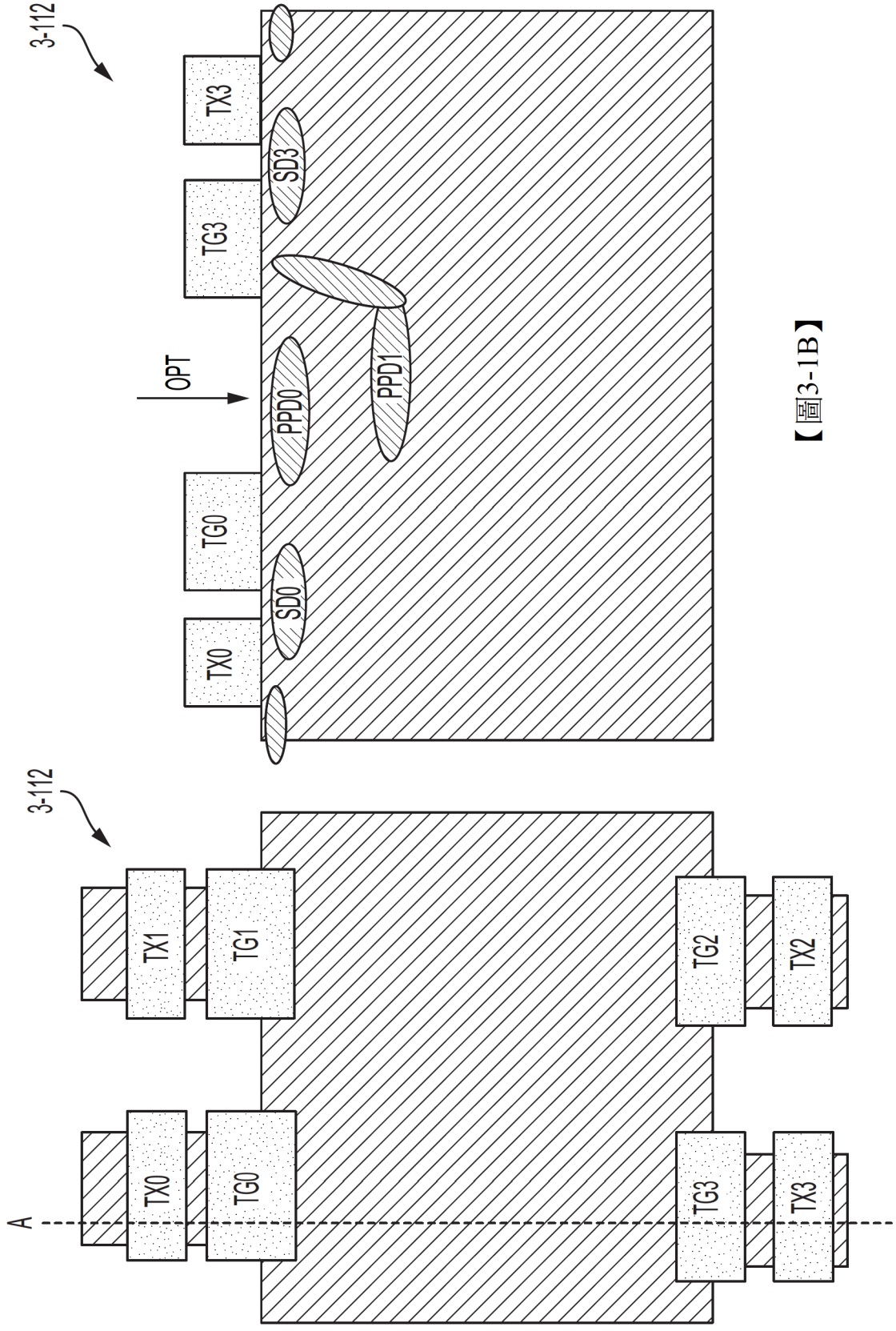
【圖2-3】



【圖2-4】

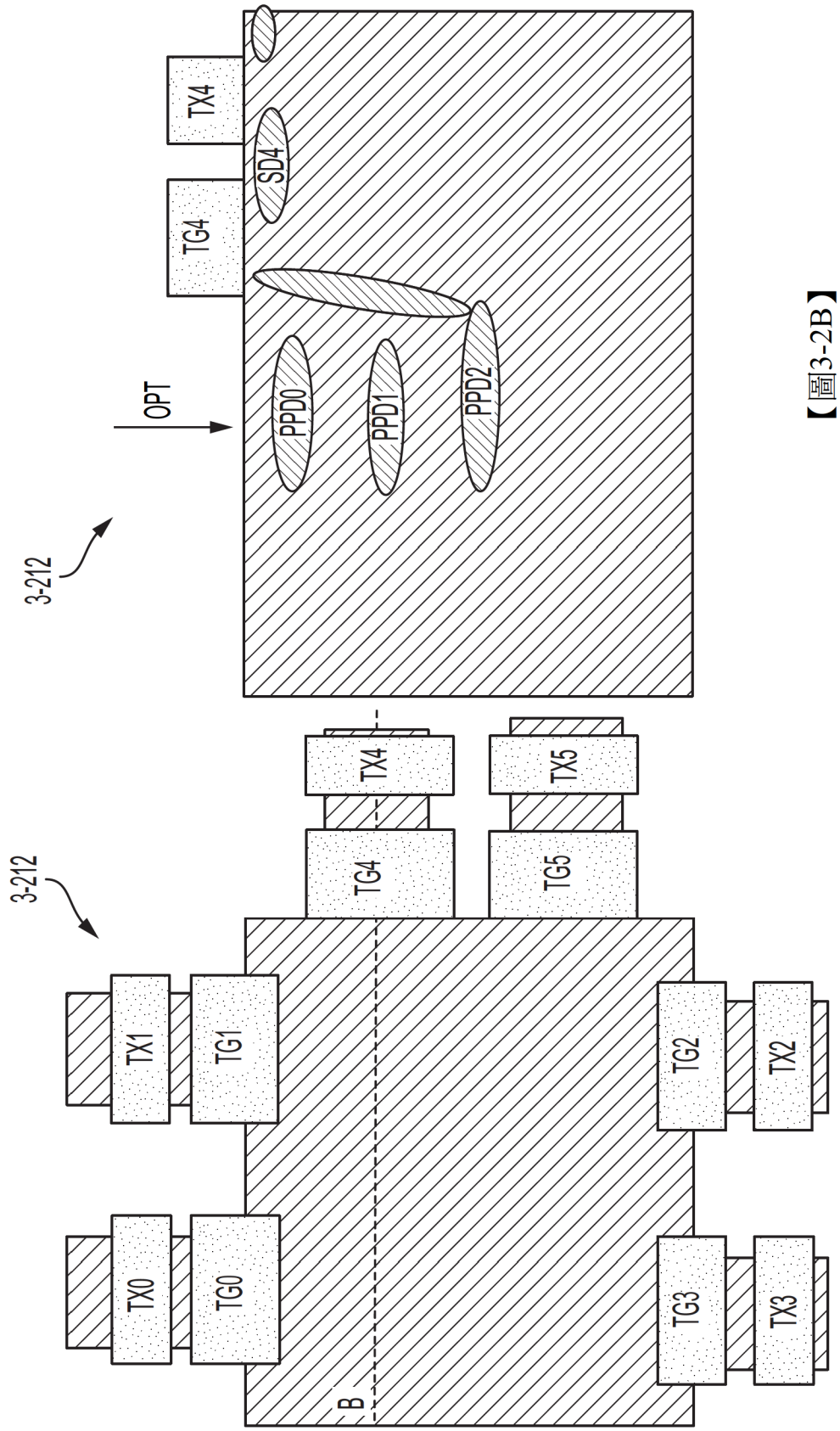


【圖2-5】



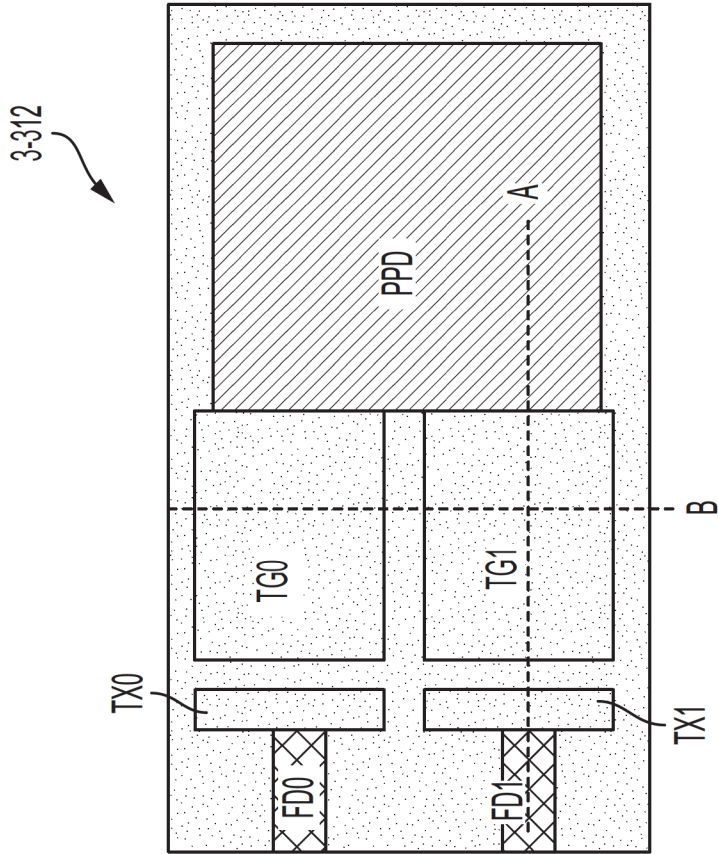
【圖3-1B】

【圖3-1A】

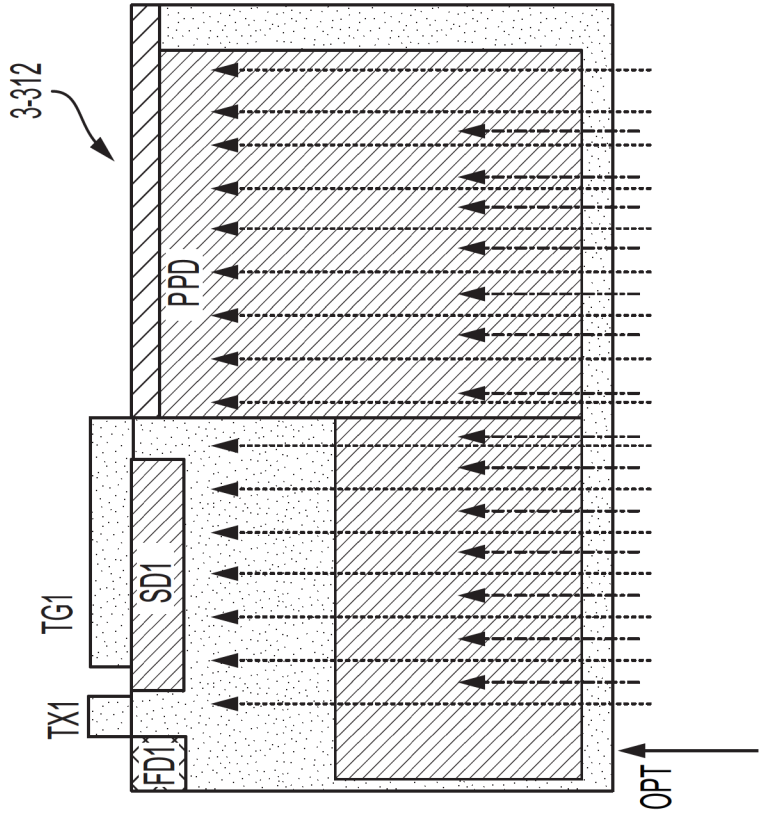


【圖3-2A】

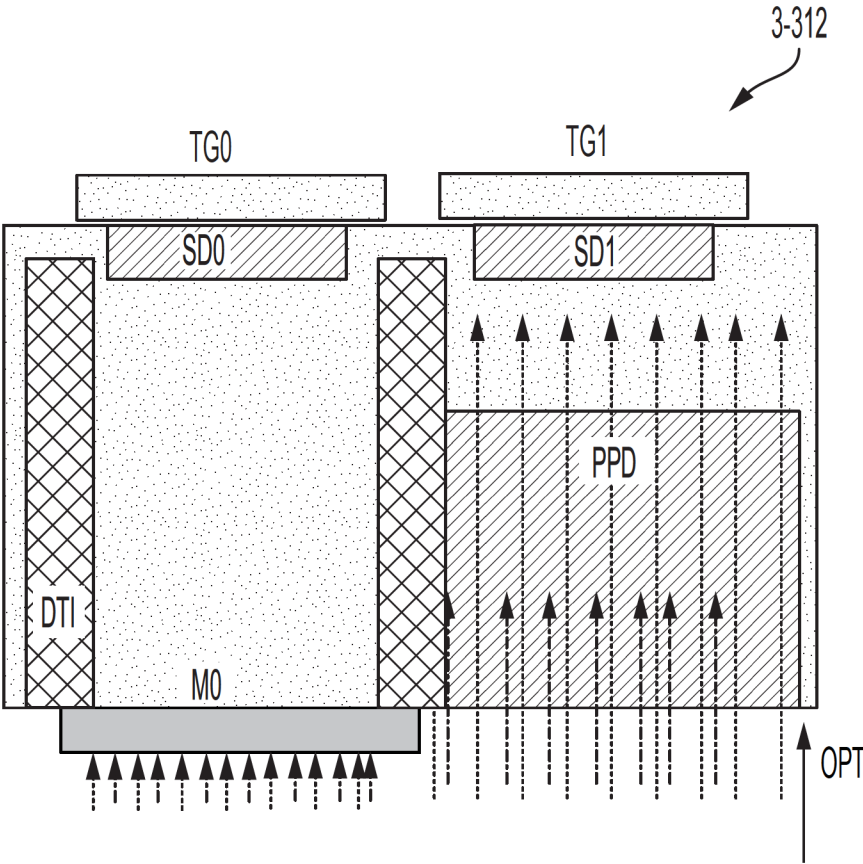
【圖3-2B】



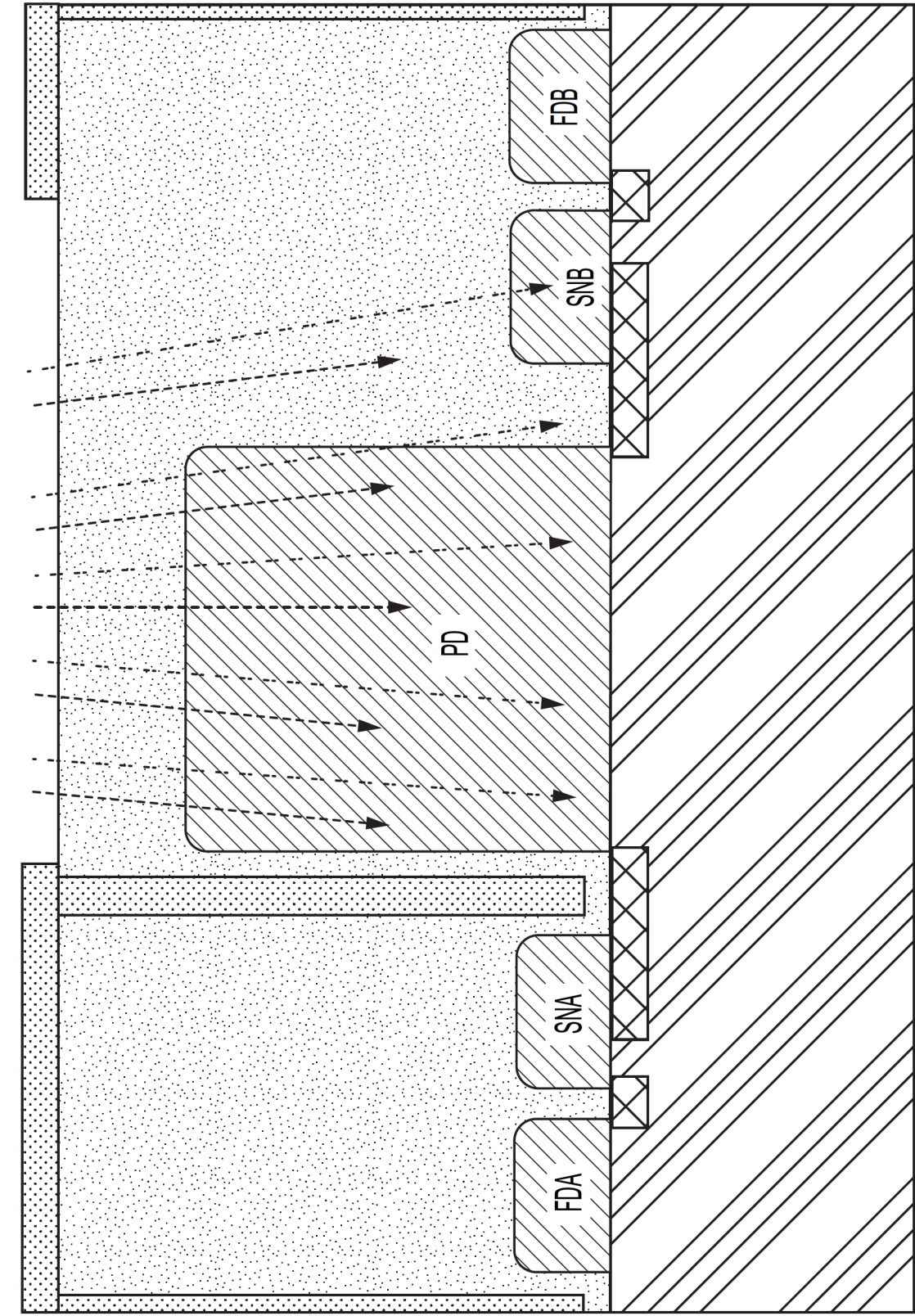
【圖3-3A】



【圖3-3B】

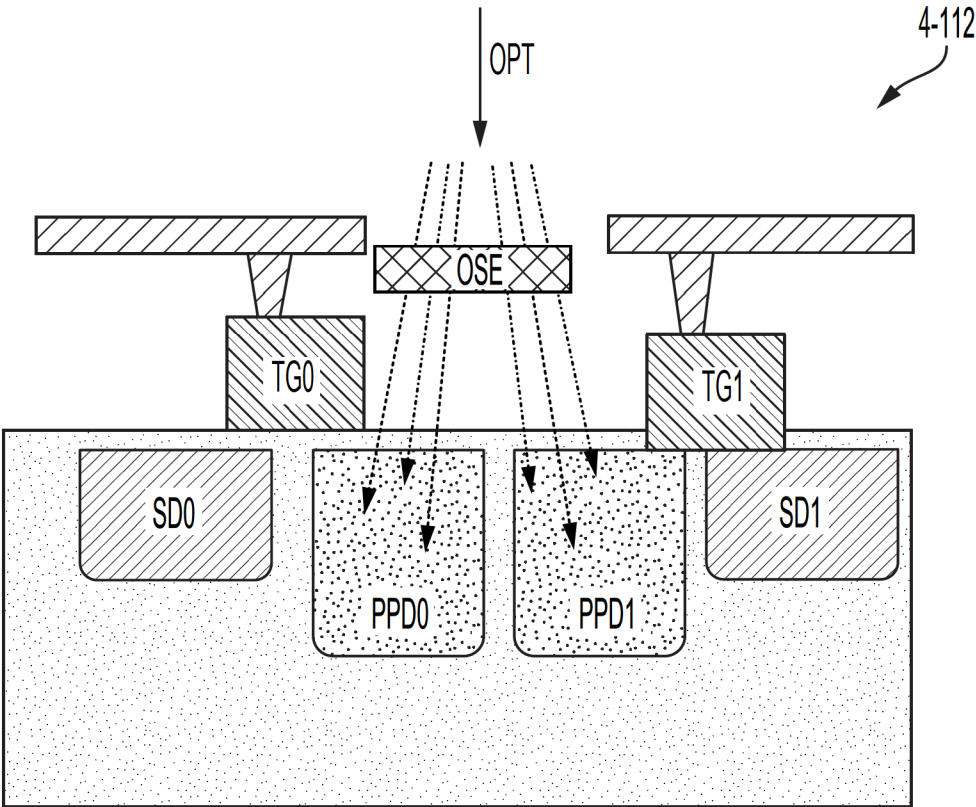


【圖3-3C】

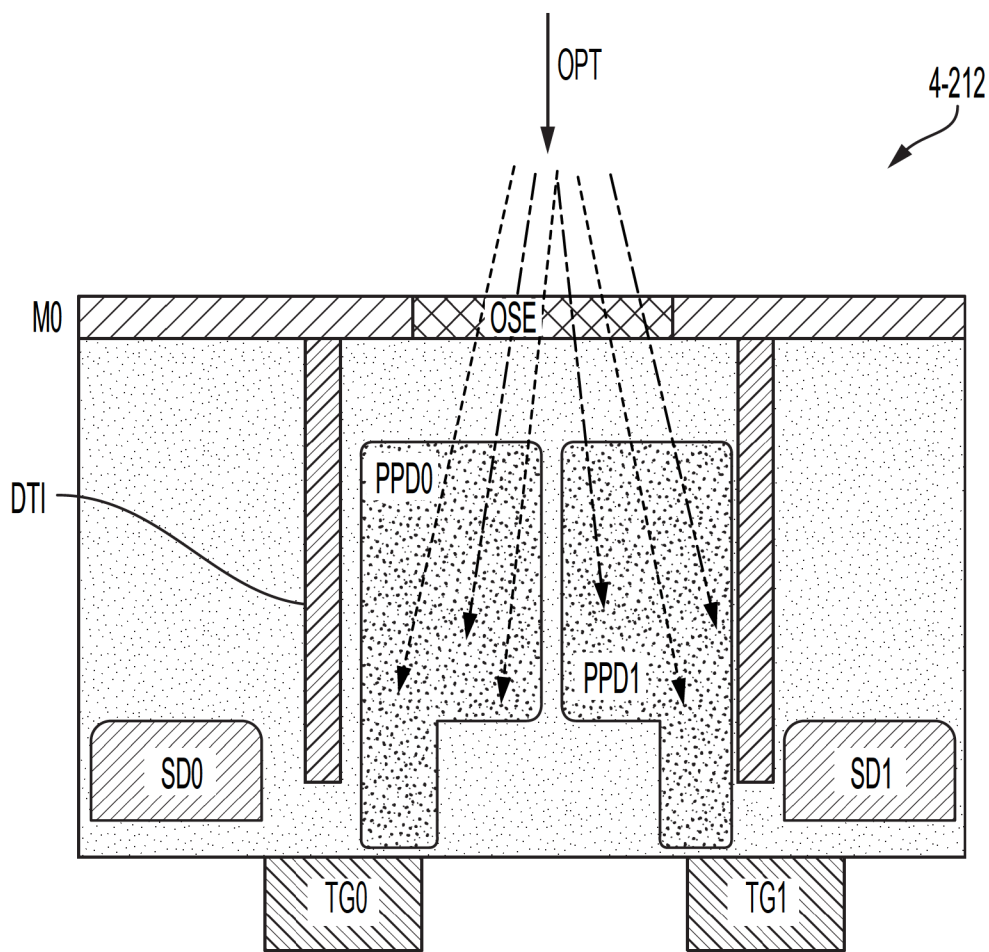


【圖3-4】

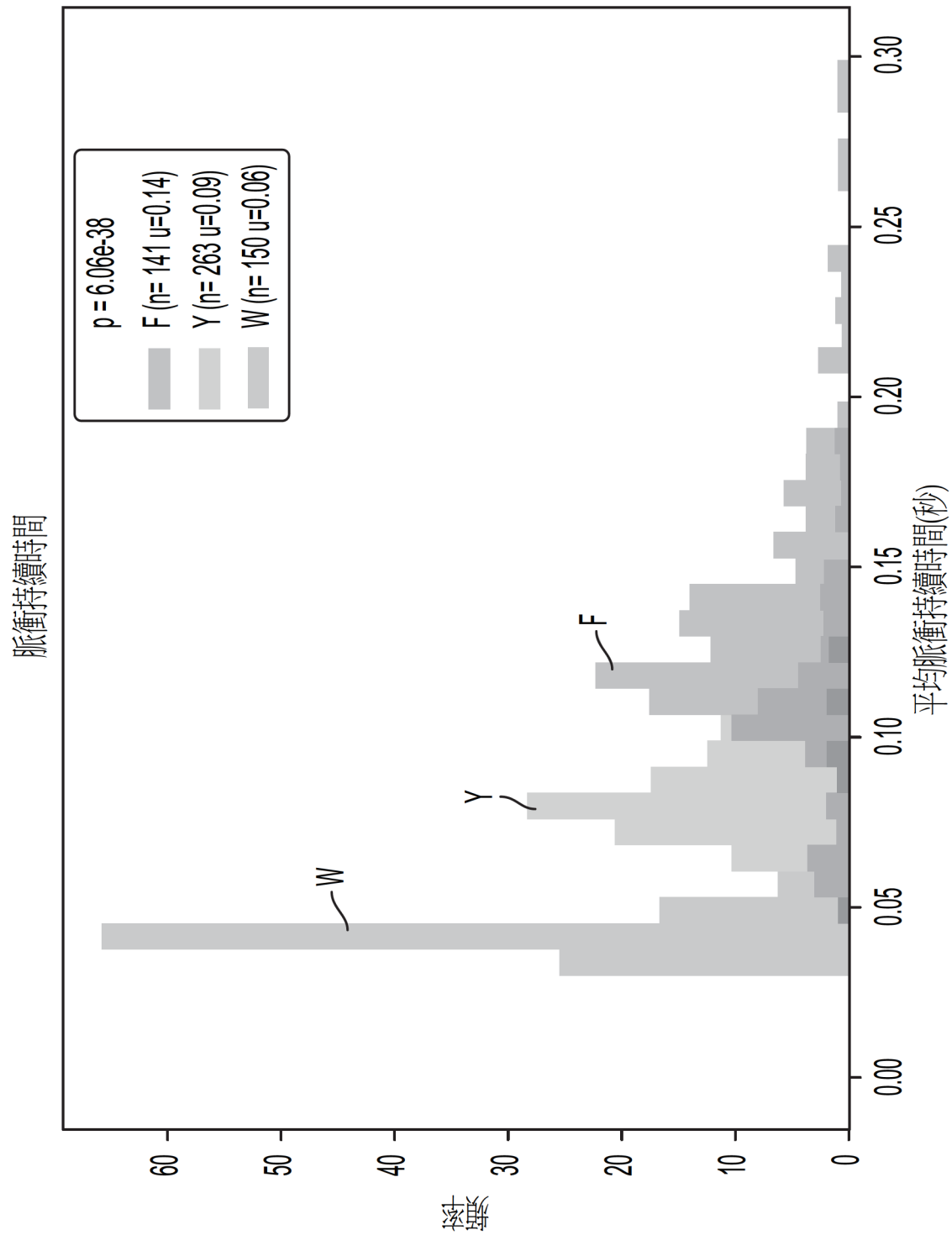
3-412 ↗



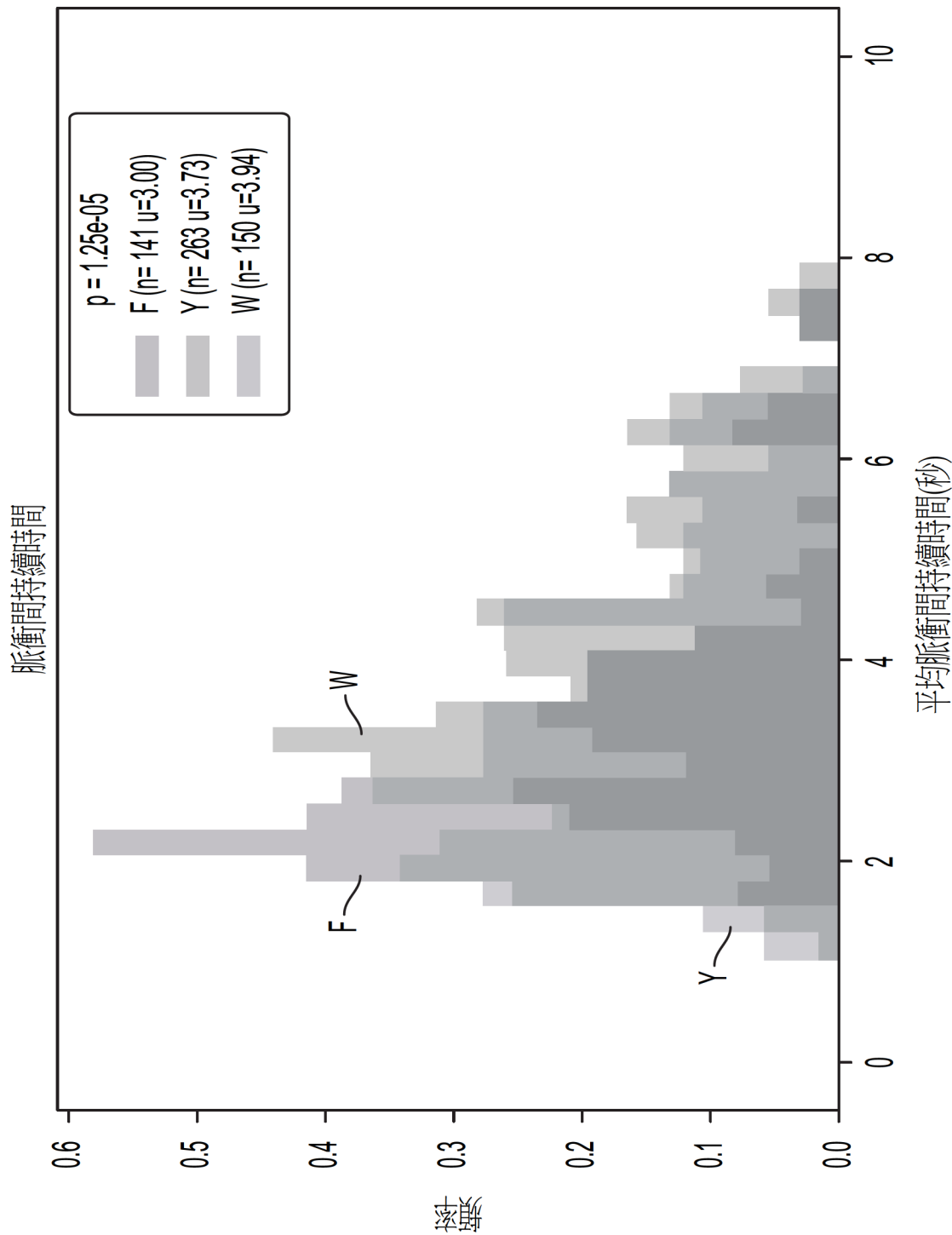
【圖4-1】



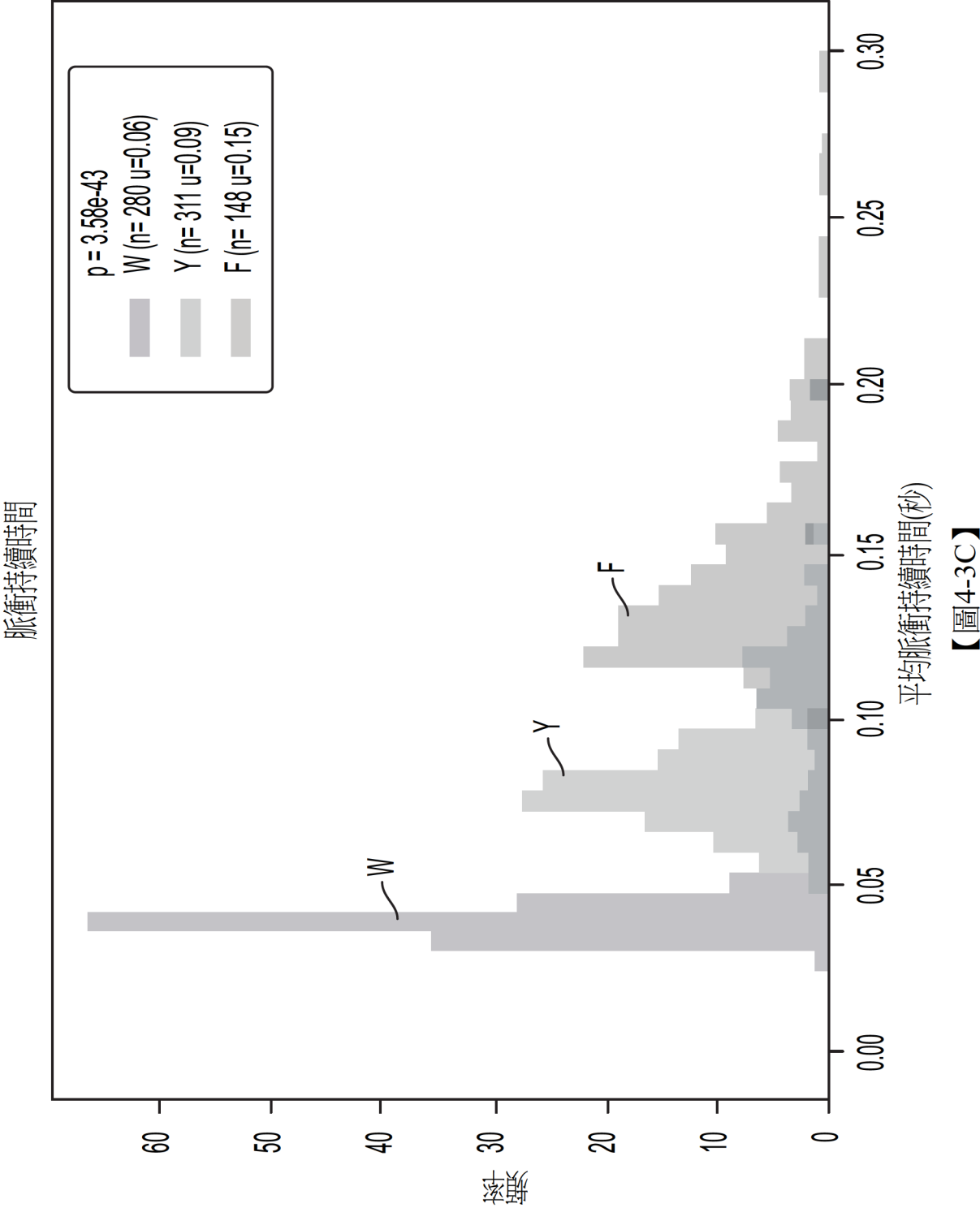
【圖4-2】

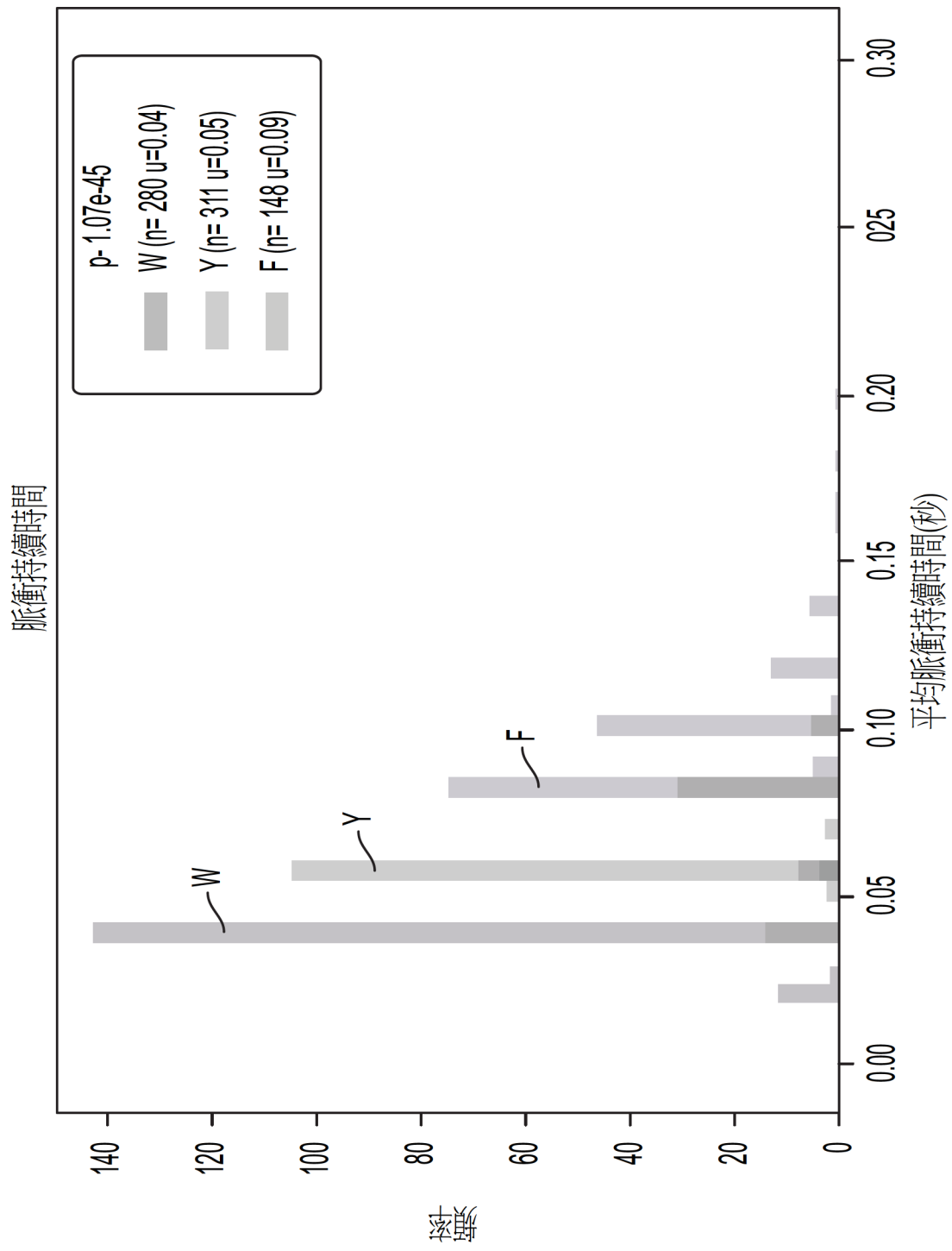


【圖4-3A】

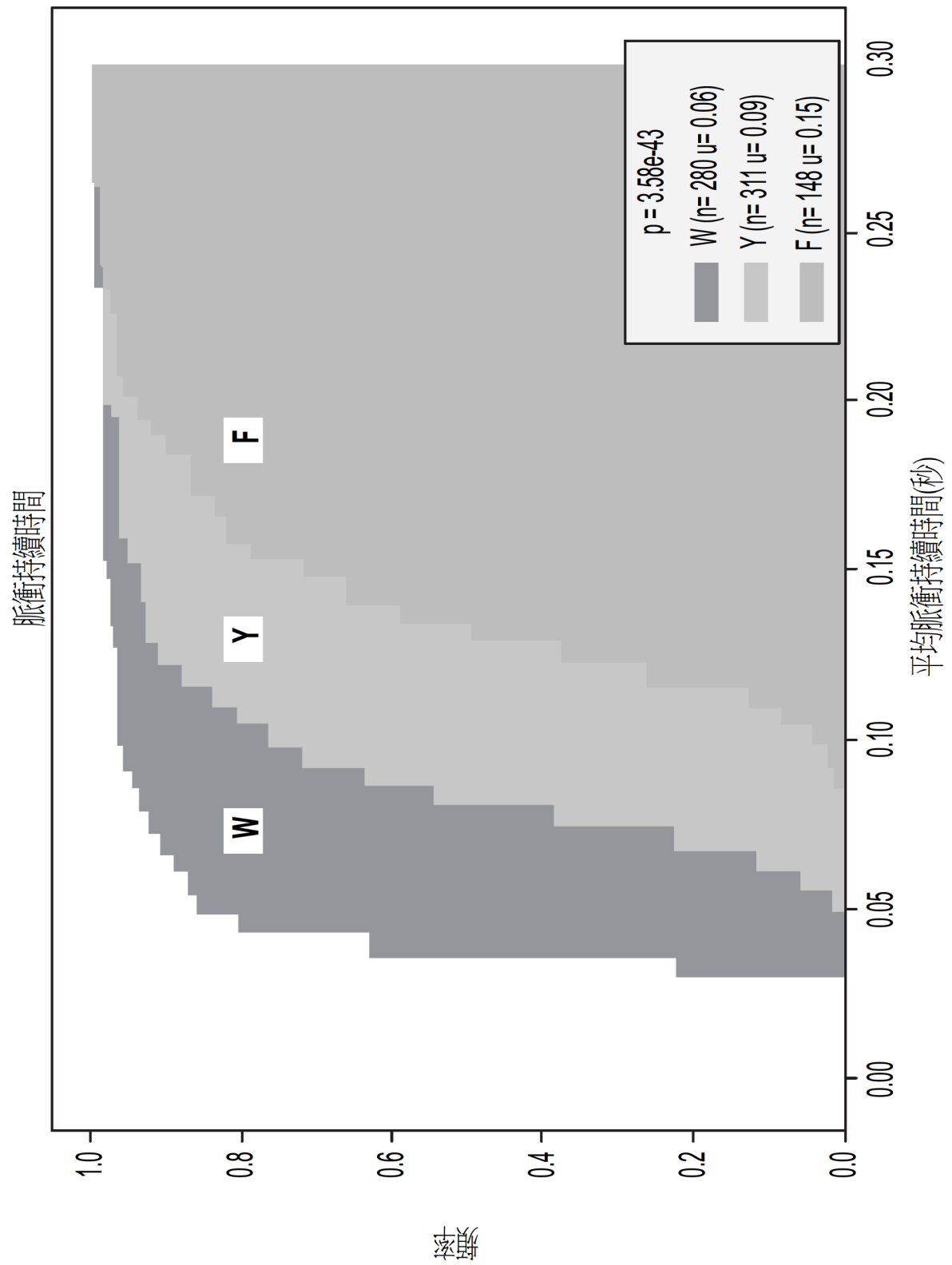


【圖4-3B】

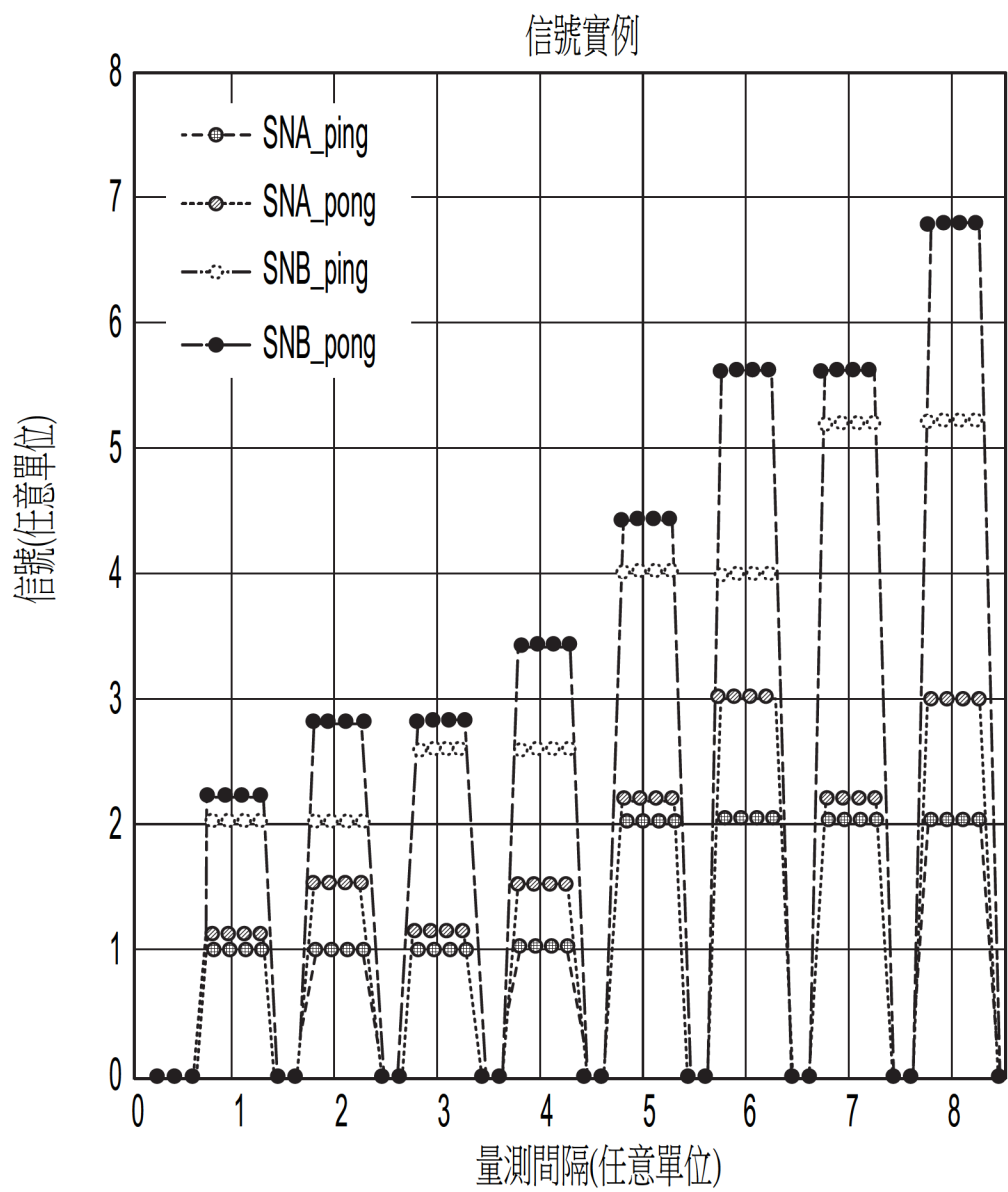




【圖4-3D】



【圖4-3E】

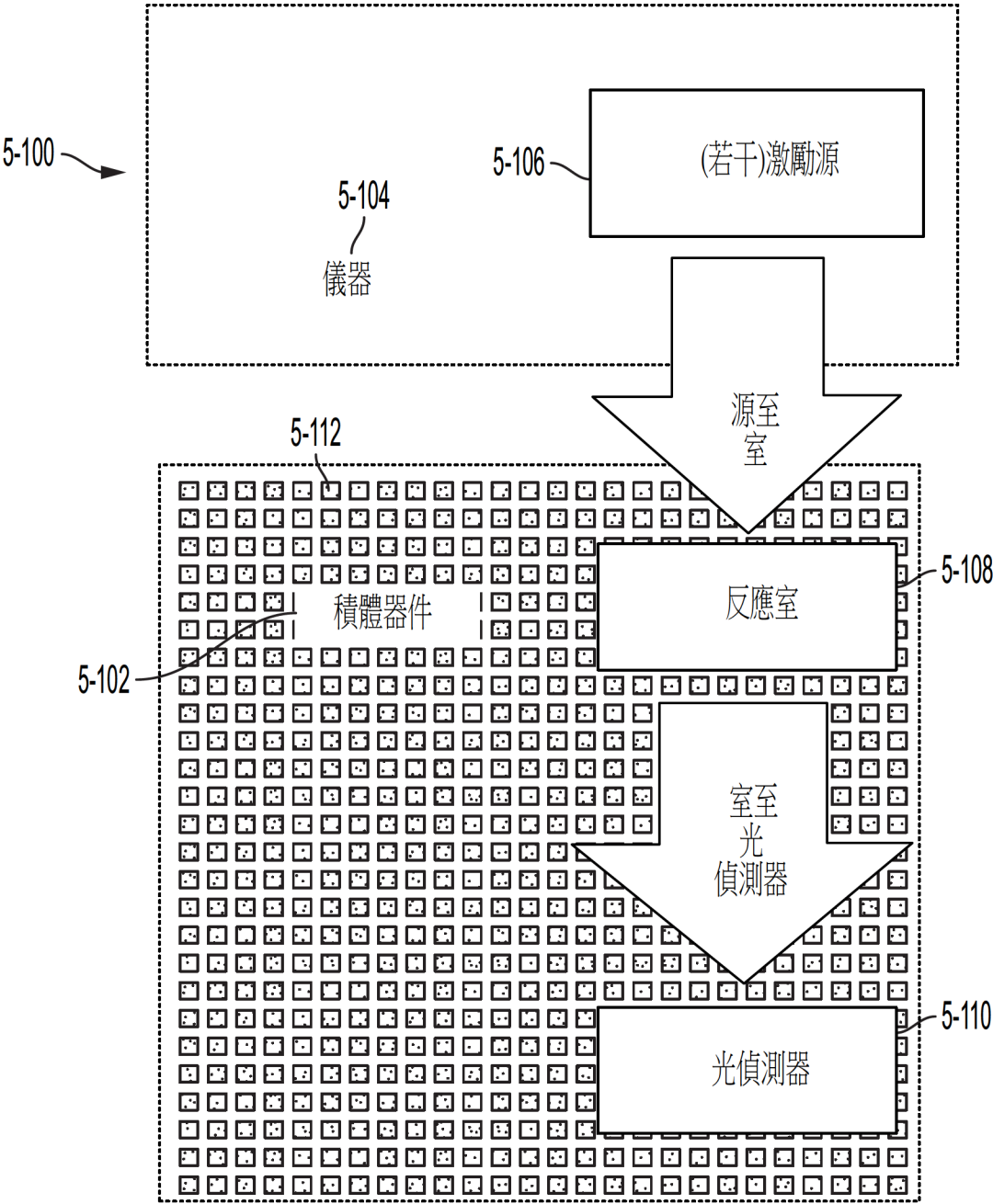


【圖4-4】

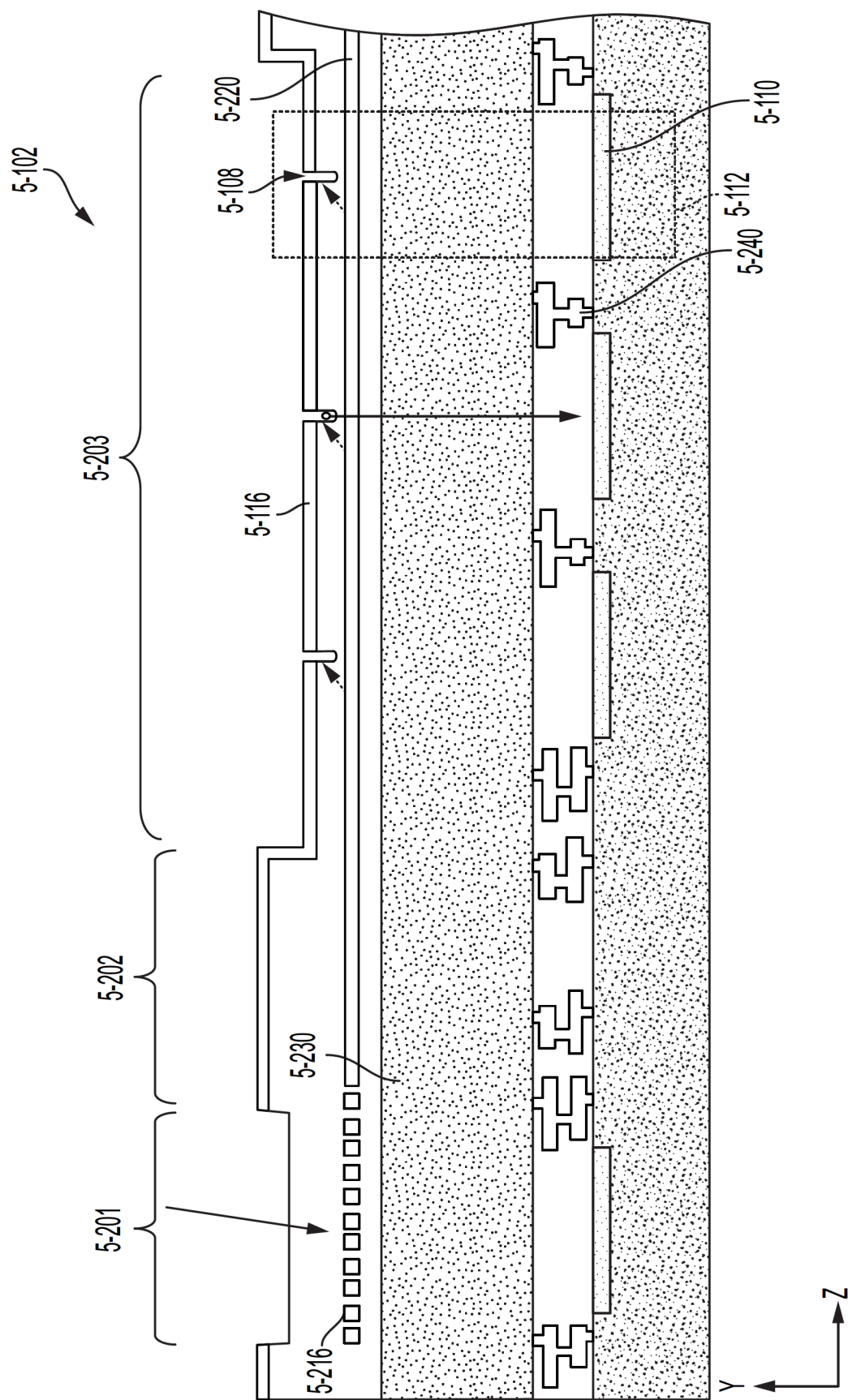
信號實例

脈衝數目	強度	波長	壽命
1	低	短	短
2	低	短	長
3	低	長	短
4	低	長	長
5	高	短	短
6	高	短	長
7	高	長	短
8	高	長	長

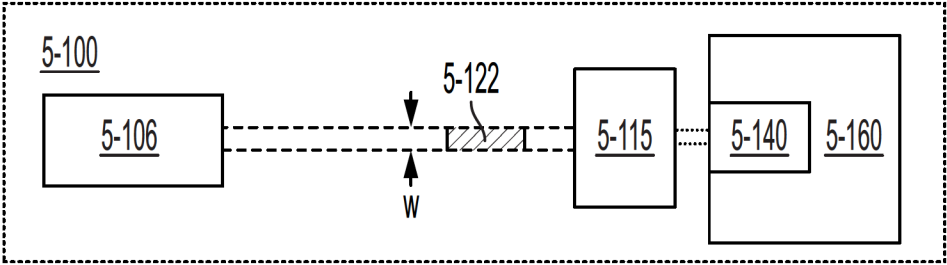
【圖4-4】(續)



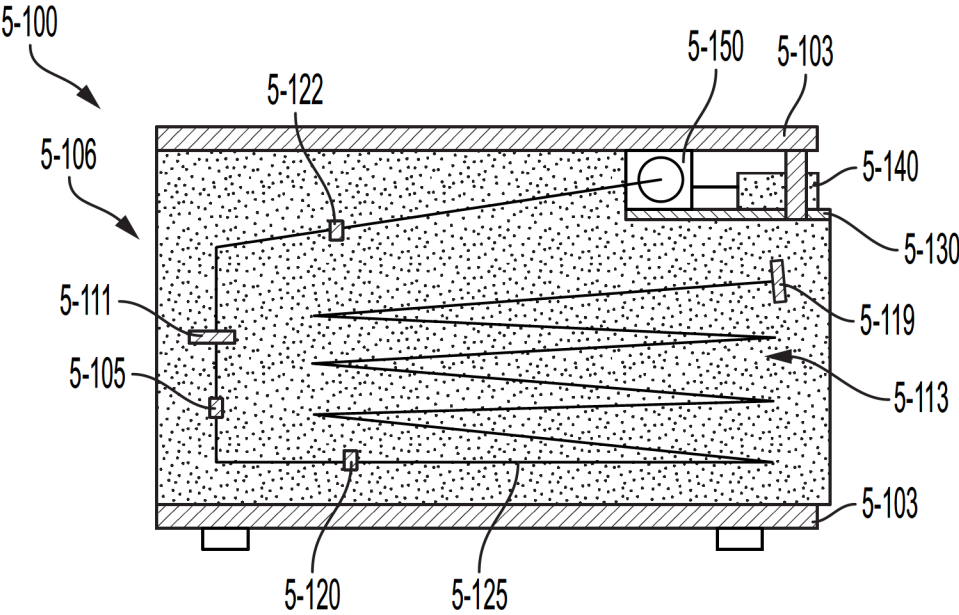
【圖5-1A】



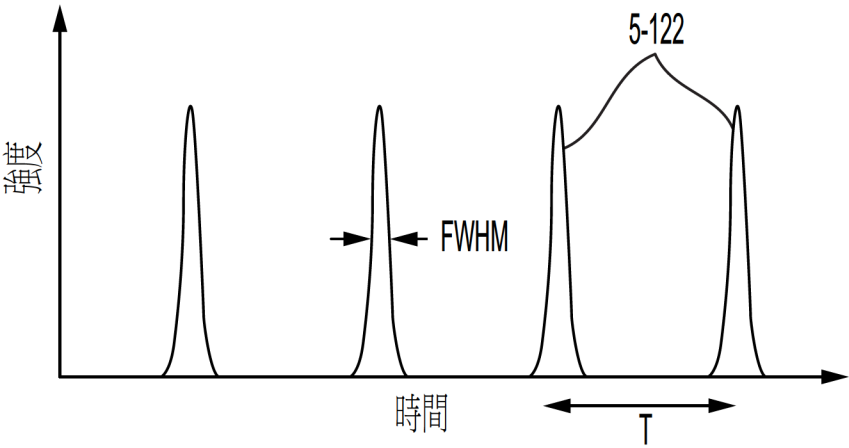
【圖5-1B】



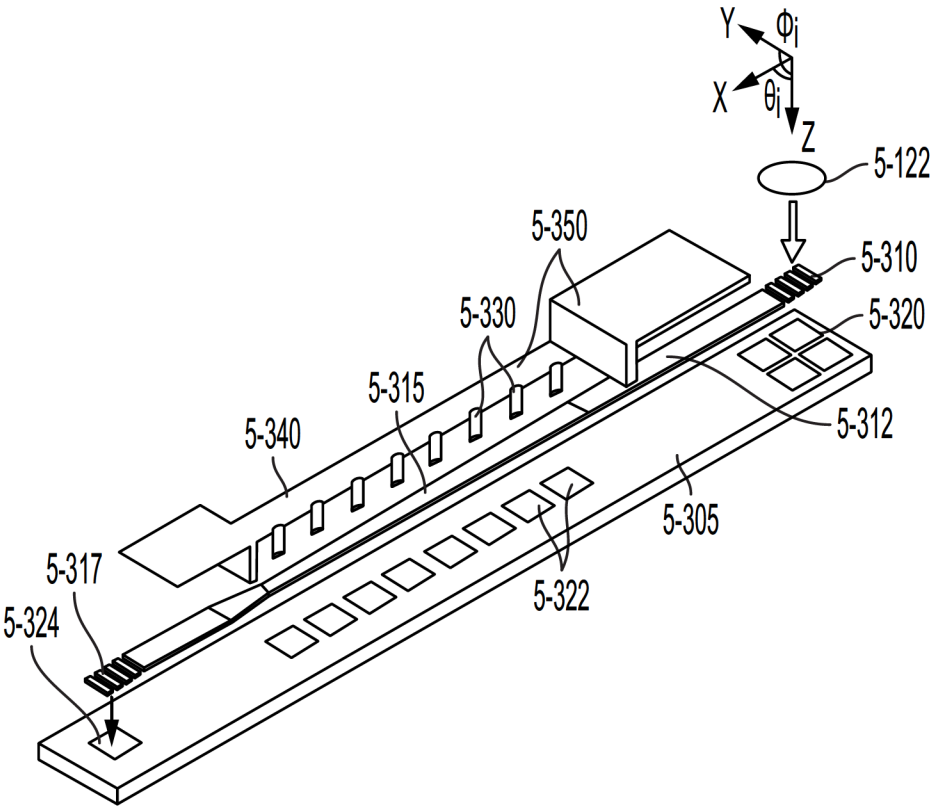
【圖5-1C】



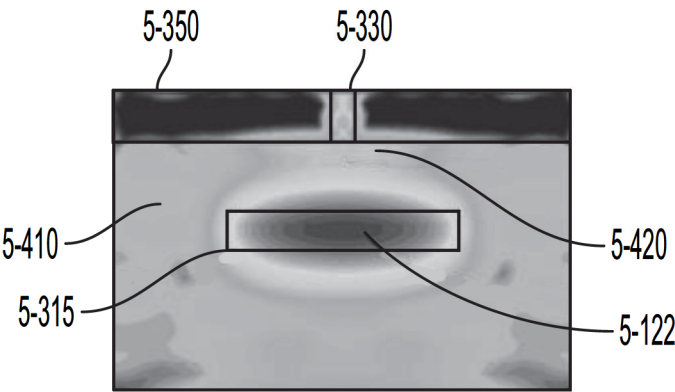
【圖5-1D】



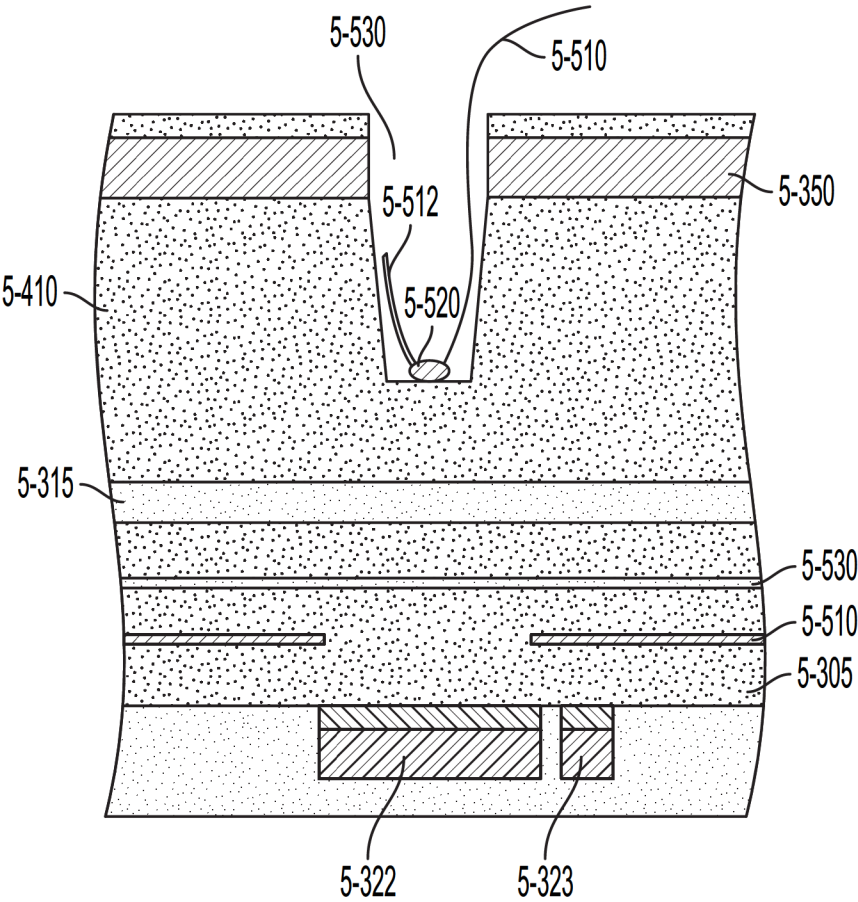
【圖5-2】



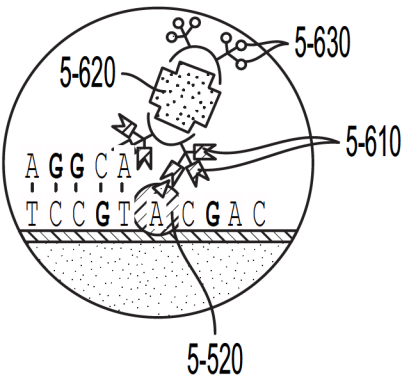
【圖5-3】



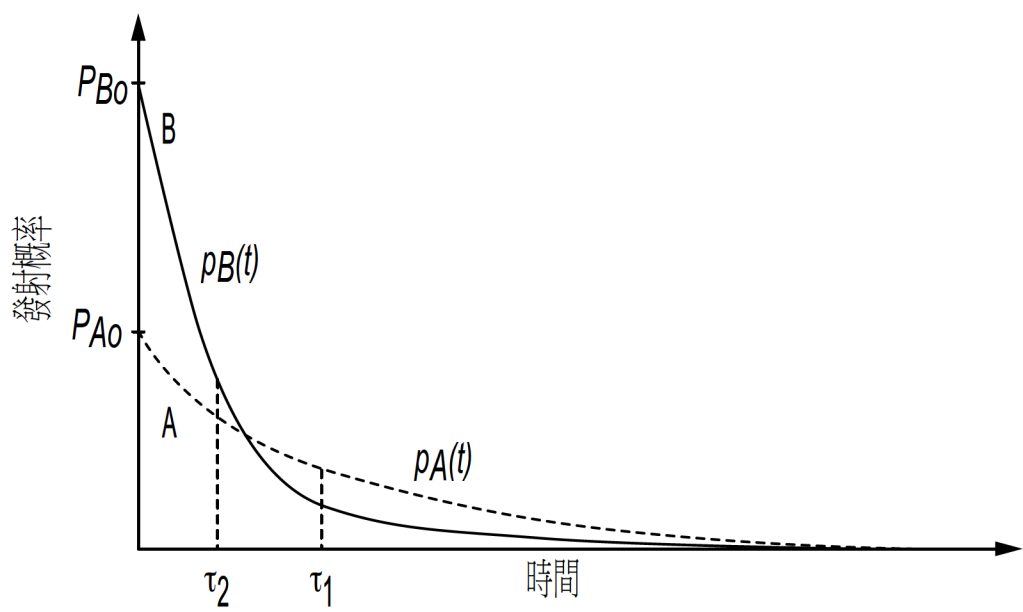
【圖5-4】



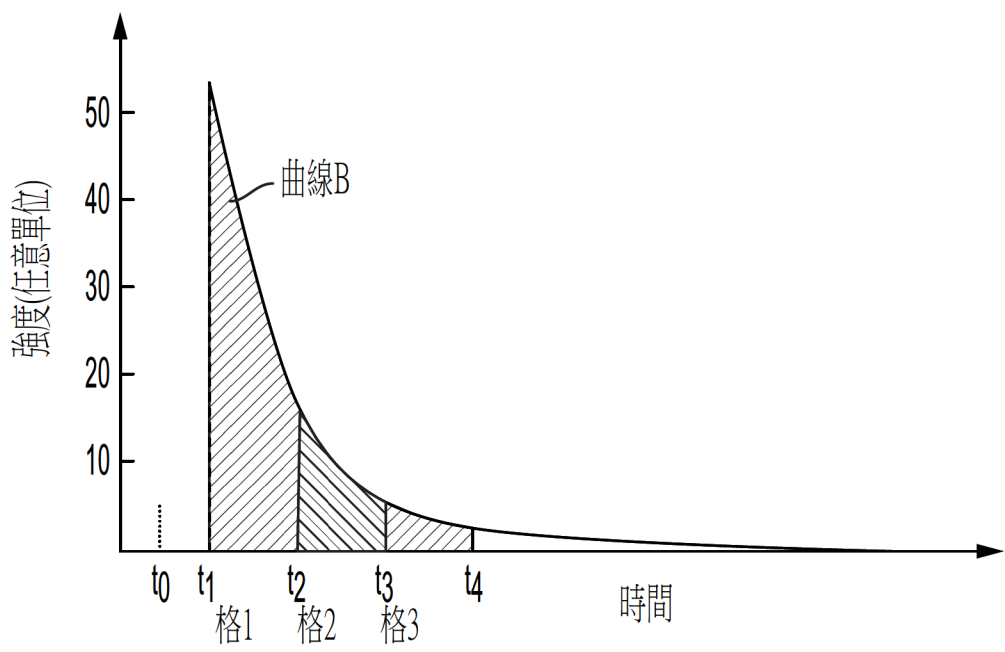
【圖5-5】



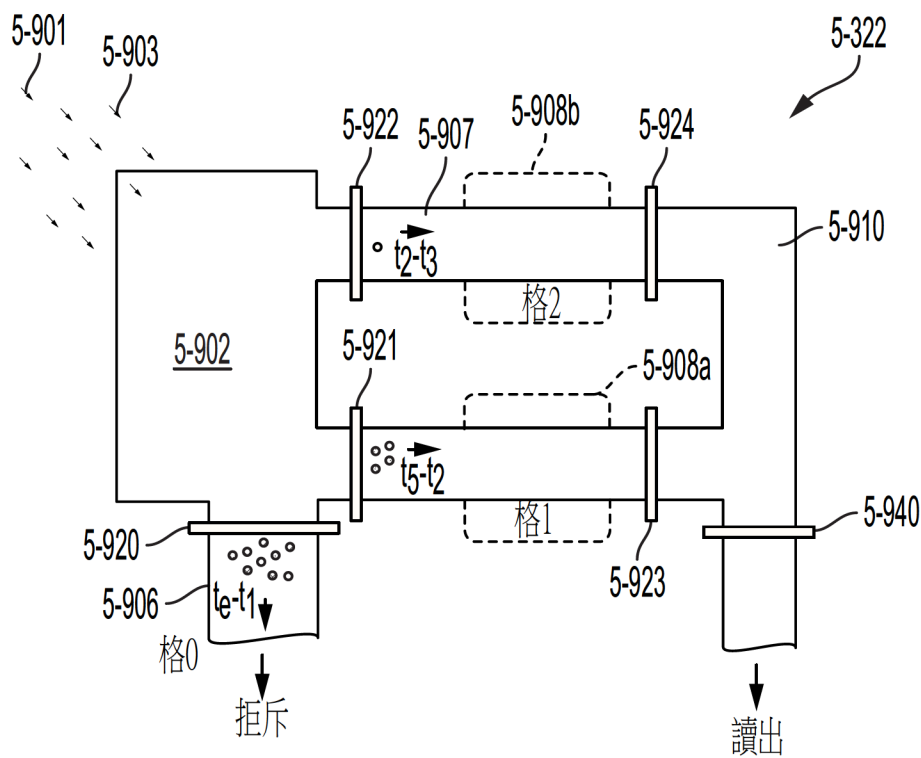
【圖5-6】



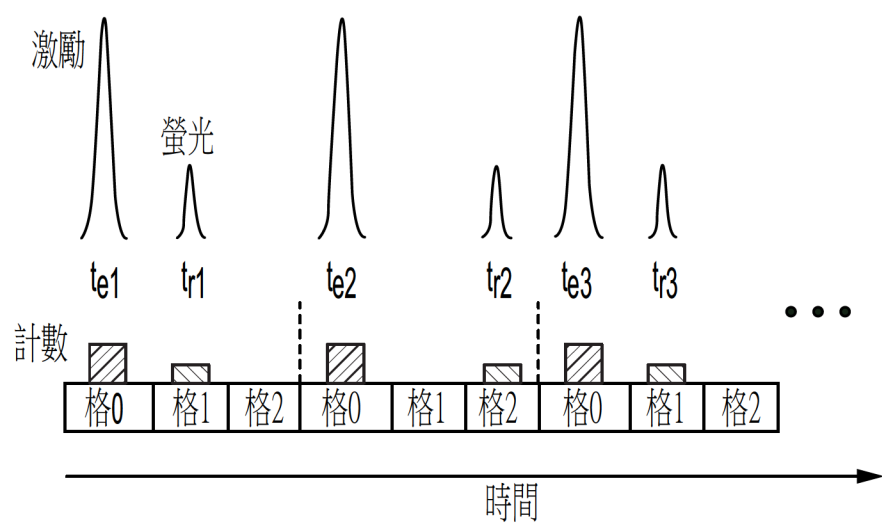
【圖5-7】



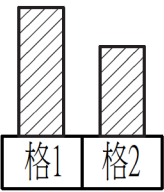
【圖5-8】



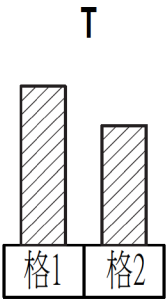
【圖5-9】



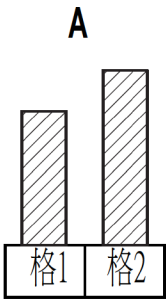
【圖5-10A】



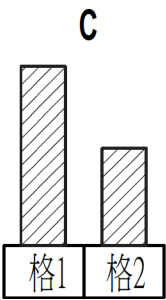
【圖5-10B】



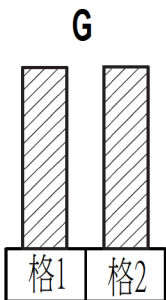
【圖5-11A】



【圖5-11B】

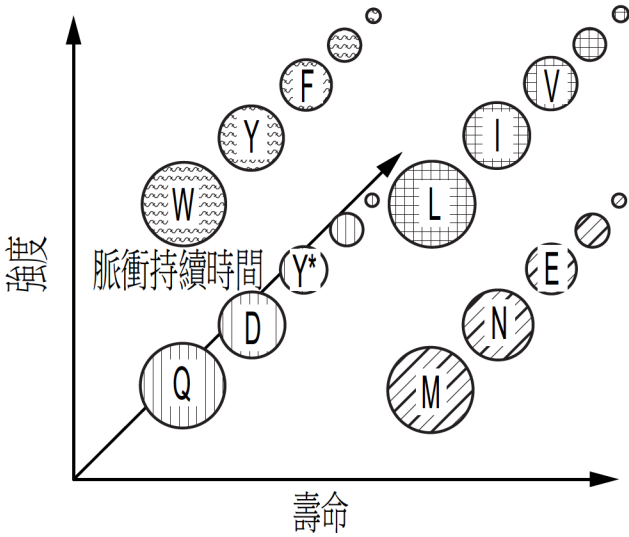


【圖5-11C】

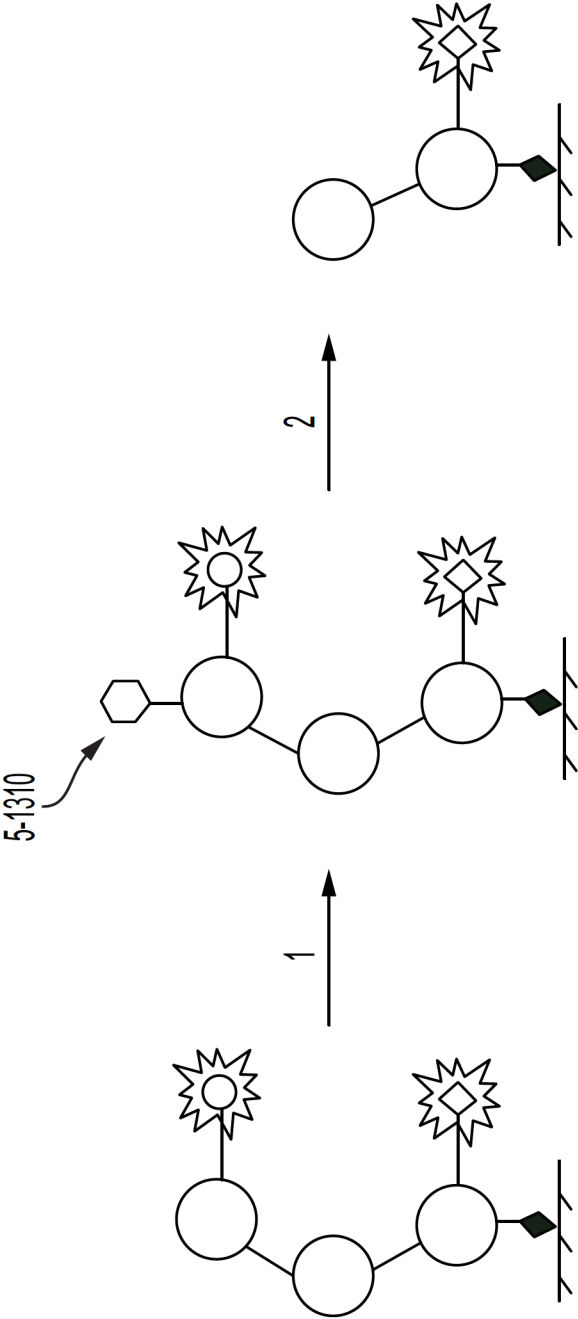


【圖5-11D】

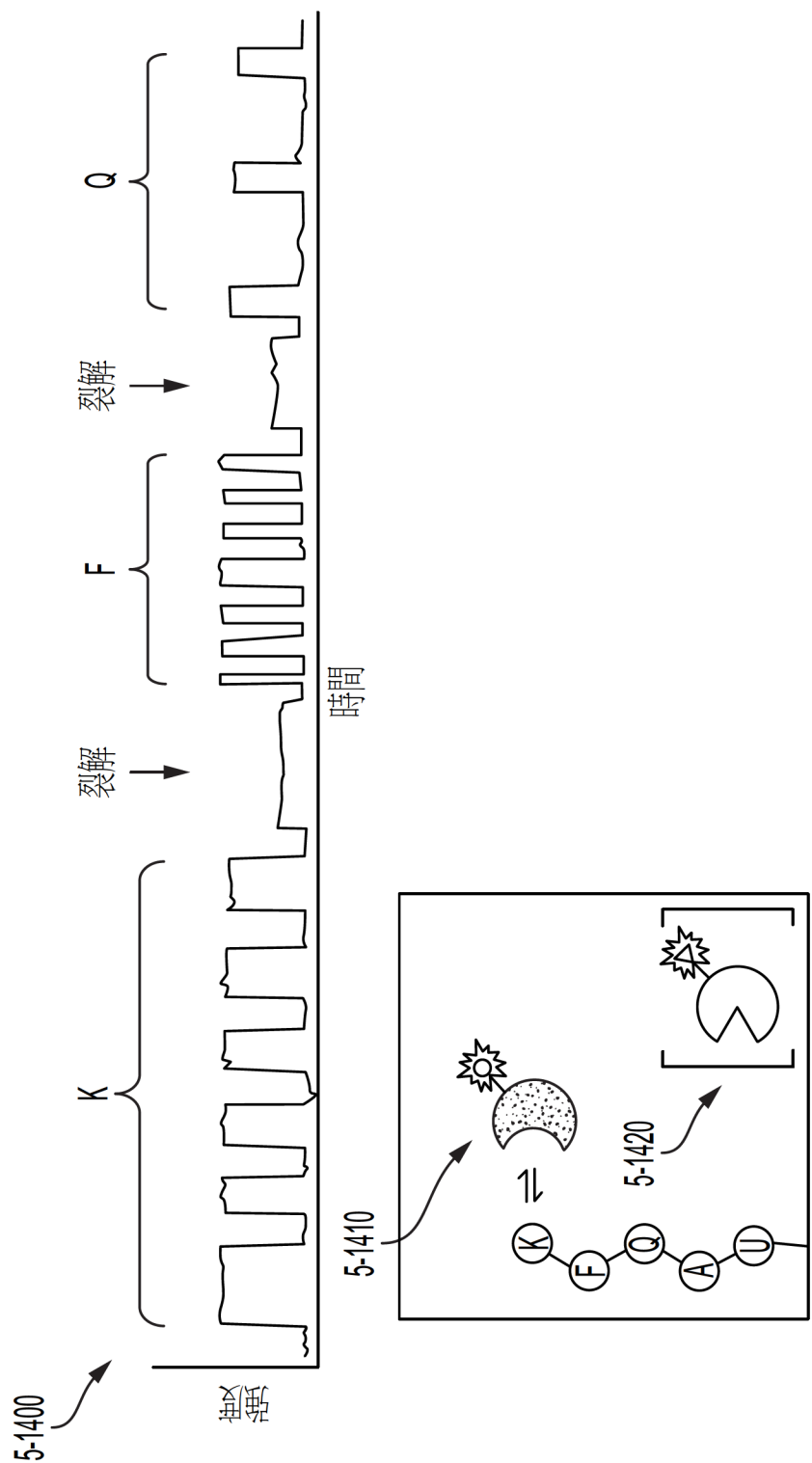
實現從頭定序



【圖5-12】



【圖5-13】



【圖5-14】