



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111133294 B

(45) 授权公告日 2024.05.24

(21) 申请号 201880061902.2

(24) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司

72003

(22) 申请日 2018.07.23

专利代理人 付文川 吴小瑛

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 111133294 A

(51) Int.CI.

G01N 21/64 (2006.01)

(43) 申请公布日 2020.05.08

C12Q 1/6869 (2018.01)

(30) 优先权数据

62/536,268 2017.07.24 US

(56) 对比文件

US 2016084761 A1, 2016.03.24

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

CN 1708680 A, 2005.12.14

2020.03.24

US 2015141268 A1, 2015.05.21

(86) PCT国际申请的申请数据

US 2003222223 A1, 2003.12.04

PCT/US2018/043333 2018.07.23

US 2008105831 A1, 2008.05.08

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 106796176 A, 2017.05.31

W02019/023146 EN 2019.01.31

US 2017082544 A1, 2017.03.23

(73) 专利权人 宽腾矽公司

WO 2016022998 A2, 2016.02.11

地址 美国康涅狄格州

US 2015141267 A1, 2015.05.21

(72) 发明人 乔纳森·M·罗思伯格

CN 106796175 A, 2017.05.31

杰勒德·施密德

CN 106029904 A, 2016.10.12

亚历山大·贡达伦科 J·比奇

CN 101960293 A, 2011.01.26

K·普勒斯顿 法席德·加塞米

US 2004234417 A1, 2004.11.25

杰瑞米·拉基 杰克·朱厄尔

审查员 王姝月

基斯·G·法夫 阿里·卡比里

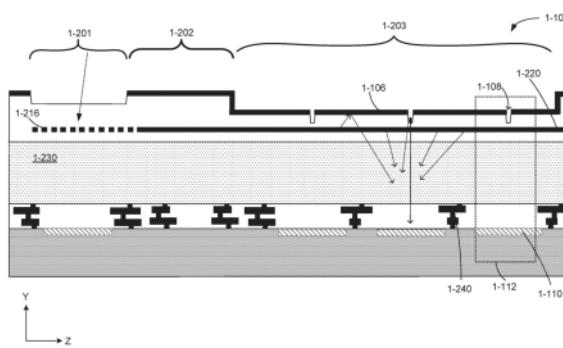
权利要求书3页 说明书28页 附图38页

(54) 发明名称

发光,从而由该一或多个光检测器生成的信号指示检测到发射光的光子。

光抑制光子结构

(57) 摘要



CN 111133294 B

本发明公开了用于并行分析样品的集成装置以及相关仪器及系统。该集成装置可包含配置于其表面上的样品孔,其中个别样品孔经配置以接收经至少一种荧光标记物标记的样品,该至少一种荧光标记物经配置以响应于激发光发射发射光。该集成装置可进一步包含定位于该集成装置的层中的光检测器,其中一或多个光检测器经定位以接收自样品孔发射的发射光的光子。该集成装置进一步包含一或多个定位于这些样品孔与这些光检测器之间的光子结构,其中该一或多个光子结构经配置以相对于该发射光衰减该激

1. 一种集成装置,其包括:

多个样品孔,其配置于该集成装置的第一层上,其中该多个样品孔的个别样品孔经配置以接收经至少一种荧光标记物标记的样品,该至少一种荧光标记物经配置以响应于激发光发射发射光;

至少一个经配置以使激发光耦合至该多个样品孔的一部分的波导;

多个光检测器,其配置于该集成装置的第二层上且经定位以接收自该多个样品孔发射的发射光的光子,其中该多个样品孔的个别样品孔与该多个光检测器的至少一个光检测器对准;及

至少一个光子结构,其定位于个别样品孔与其各自至少一个光检测器之间,该至少一个光子结构经配置以相对于该发射光衰减该激发光,其中由该至少一个光检测器生成的信号指示检测到发射光的光子,且该至少一个光子结构定位于至少一个波导和该第二层之间,其中该至少一个光子结构包含至少一个具有至少一个开口的空间滤波器,该开口与该多个样品孔的至少一部分重叠,且至少一个空间滤波器的至少一个金属层经配置以阻断该激发光的至少一部分的传递,其中至少一个空间滤波器包括具有第一开口的第一空间滤波器和具有第二开口的第二空间滤波器,其中第一开口各自具有第一尺寸且第二开口各自具有第二尺寸且第一尺寸不同于第二尺寸,并且其中第一空间滤波器的第一开口和第二空间滤波器的第二开口至少部分重叠。

2. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构经定位以在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准。

3. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个样品孔的样品孔经定位以与其各自至少一个光检测器重叠。

4. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个样品孔的个别样品孔与该多个光检测器的个别光检测器对准。

5. 如权利要求1所述的集成装置,其中该第一空间滤波器的该第一开口之一及其该第二空间滤波器的各自的该第二开口在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准。

6. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个波导的第一波导经定位以与该多个样品孔的第一样品孔及该多个光检测器的第一光检测器沿共轴重叠。

7. 如权利要求6所述的集成装置,其中该至少一个光子结构沿该共轴定位于该第一波导与该第一光检测器之间。

8. 如权利要求1所述的集成装置,其中该集成装置进一步包括含有该至少一个金属层的电路,其中该电路电耦合至该多个光检测器的至少一个光检测器。

9. 如权利要求1所述的集成装置,其中该第一空间滤波器经定位邻近该多个样品孔且该第二空间滤波器经定位邻近该多个光检测器。

10. 如权利要求9所述的集成装置,其中该第一开口之一具有第一尺寸且该第二开口之一具有第二尺寸,该第一尺寸大于该第二尺寸。

11. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构包含至少一个经配置以大于第二范围波长的量传递第一范围波长的滤光器,其中该第一范围波长包含该发射光的至少一个特征波长且该第二范围波长包含该激发光的至少一个特征波长。

12. 如权利要求11所述的集成装置,其中该至少一个滤光器定位于该第一空间滤波器与该第二空间滤波器之间。

13. 如权利要求11所述的集成装置,其中该至少一个滤光器包含多个具有低折射率材料的低折射率层及多个具有高折射率材料的高折射率层。

14. 如权利要求13所述的集成装置,其中该至少一个滤光器包含该多个高折射率层及该多个低折射率层的交替层。

15. 如权利要求11所述的集成装置,其中该集成装置进一步包含经配置以接收激发光束且使激发光光学耦合至该集成装置的波导的激发源耦合区,其中该至少一个滤光器与该激发源耦合区重叠。

16. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构包含至少一个经配置以衰减具有一定类型偏振的光的传递的偏振滤波器。

17. 如权利要求16所述的集成装置,其中该激发光是横向电偏振光,且该至少一个偏振滤波器经配置以衰减横向电偏振光。

18. 如权利要求16所述的集成装置,其中该至少一个偏振滤波器包含周期性狭缝阵列。

19. 如权利要求1所述的集成装置,其中该激发光是激发光脉冲且该发射光是由该至少一种荧光标记物响应于该激发光脉冲所发射的光子,其中该多个光检测器的个别光检测器进一步经配置以生成指示该发射光的寿命的信号。

20. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个光检测器的个别光检测器经配置以丢弃自激发光光子产生的电荷载流子。

21. 如权利要求20所述的集成装置,其中该激发光是激发光脉冲,且个别光检测器进一步经配置以丢弃在第一时间段中自该激发光脉冲的光子产生的电荷载流子。

22. 如权利要求21所述的集成装置,其中个别光检测器进一步经配置以在第二时间段中基于这些电荷载流子的产生时间将借由入射光子产生的电荷载流子选择性引导至各自电荷载流子储存区。

23. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构经配置以衰减在与法向于该至少一个光子结构构成一定角度范围内的激发光。

24. 如权利要求1所述的集成装置,其中该发射光的特征波长介于550nm与650nm之间。

25. 如权利要求1所述的集成装置,其中该激发光的特征波长是532nm。

26. 如权利要求1所述的集成装置,其中该激发光的特征波长是515nm。

27. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构包含垂直侧壁,这些垂直侧壁定位于该至少一个空间滤波器与该多个光检测器的至少一部分之间。

28. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构包含定位于该第一空间滤波器与该第二空间滤波器之间的垂直侧壁。

29. 如权利要求1所述的集成装置,其中该集成装置进一步包括具有定位于该第一空间滤波器与该多个光检测器的至少一个光检测器之间的第一介电材料的区域;及具有定位于该第一空间滤波器及与该至少一个光检测器重叠的样品孔之间的第二介电材料的区域,其中该第一介电材料的折射率高于该第二介电材料。

30. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个样品孔的一个样品孔与该多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离小于10微米。

31. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个样品孔的一个样品孔与该多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离小于5微米。

32. 如权利要求1所述的集成装置,其中该多个样品孔的一个样品孔与该多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离介于1.5微米与5微米之间。

33. 如权利要求1所述的集成装置,其中该至少一个光子结构包括至少一个具有多个开口的空间滤波器,该多个开口的每一个开口均与该多个样品孔的各自样品孔重叠并具有大于其各自样品孔的尺寸的尺寸。

34. 如权利要求33所述的集成装置,其中该多个开口的每个开口的尺寸均大于其各自样品孔的底部表面的尺寸。

35. 如权利要求33所述的集成装置,其中该多个开口的每个开口的面积均大于其各自样品孔的底部表面的面积。

36. 如权利要求1-35任一项所述的集成装置,其中该至少一个波导定位于该第一层和该至少一个光子结构之间。

37. 一种用于并行分析样品的系统,所述系统包括:

如权利要求1-36任一项所述的集成装置;及

包括以下的仪器:

激发源,其经配置以发射激发光脉冲;及

至少一个对准组件,其经配置以使激发光光束与该集成装置对准,从而使激发光耦合至该集成装置的至少一个波导。

38. 一种形成集成装置的方法,其包括:

形成多个配置于该集成装置的第一层上的样品孔,其中该多个样品孔的个别样品孔经配置以接收经至少一种荧光标记物标记的样品,该至少一种荧光标记物经配置以响应于激发光发射发射光;

形成至少一个经配置以使激发光耦合至该多个样品孔的一部分的波导;

形成多个配置于该集成装置的第二层上且经定位以接收自该多个样品孔发射的发射光的光子的光检测器,其中该多个样品孔的个别样品孔与该多个光检测器的至少一个光检测器对准;及

形成至少一个经定位以在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准的光子结构,该至少一个光子结构经配置以相对于该发射光衰减该激发光,其中由该至少一个光检测器生成的信号指示检测到发射光的光子,其中该至少一个光子结构定位于至少一个波导和该第二层之间,其中该至少一个光子结构包含至少一个具有至少一个开口的空间滤波器,该开口与该多个样品孔的至少一部分重叠,且至少一个空间滤波器的至少一个金属层经配置以阻断该激发光的至少一部分的传递,其中至少一个空间滤波器包括具有第一开口的第一空间滤波器和具有第二开口的第二空间滤波器,其中第一开口各自具有第一尺寸且第二开口各自具有第二尺寸且第一尺寸不同于第二尺寸,并且其中第一空间滤波器的第一开口和第二空间滤波器的第二开口至少部分重叠。

光抑制光子结构

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35U.S.C. §119(e)要求2017年7月24日提交的美国申请系列号62/536,268的权益,其代理卷号为R0708.70027US00,发明名称为“光抑制光子结构”,其全文通过引用并入此处。

技术领域

[0003] 本申请涉及集成装置及相关仪器,其可借由向数万或更多个样品孔同时提供短光学脉冲并自样品孔接收荧光信号以用于样品分析来大规模并行分析样品。这些仪器可用于定点护理基因测序及个人化医疗。

现有技术

[0004] 能够大规模并行分析生物或化学样品的仪器通常因若干因素而限于实验室环境,这些因素可包含其尺寸较大、缺乏可移植性、需要熟练技术人员来操作仪器、功率需要、受控操作环境需要及成本。在拟使用该设备分析样品时,常用范例是在护理点或现场提取样品,将样品发送至实验室并等待分析结果。结果的等待时间可介于数小时至数天之间。

发明内容

[0005] 一些实施方案涉及一种集成装置,其包括多个配置于集成装置的第一层上的样品孔。多个样品孔的个别样品孔经配置以接收经至少一种荧光标记物标记的样品,该至少一种荧光标记物经配置以响应于激发光发射发射光。集成装置进一步包括多个光检测器,这些光检测器配置于集成装置的第二层上且经定位以接收自多个样品孔发射的发射光的光子。多个样品孔的个别样品孔与多个光检测器的至少一个光检测器对准。集成装置进一步包括至少一个定位于个别样品孔与其各自至少一个光检测器之间的光子结构,至少一个光子结构经配置以相对于发射光衰减激发光,由至少一个光检测器生成的信号指示检测到发射光的光子。

[0006] 在一些实施方案中,至少一个光子结构经定位以在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准。在一些实施方案中,多个样品孔的样品孔经定位以与其各自至少一个光检测器重叠。在一些实施方案中,多个样品孔的个别样品孔与多个光检测器的个别光检测器对准。在一些实施方案中,至少一个光子结构具有至少一个在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准的开口。

[0007] 在一些实施方案中,集成装置进一步包括至少一个经配置以使激发光耦合至多个样品孔的一部分的波导。在一些实施方案中,至少一个波导的第一波导经定位以与样品孔部分的第一样品孔及多个光检测器的第一光检测器沿共轴重叠。在一些实施方案中,至少一个光子结构沿共轴定位于第一波导与第一光检测器之间。

[0008] 在一些实施方案中,至少一个光子结构包含至少一个具有至少一个开口的空间滤波器,该开口与多个样品孔的至少一部分重叠且经配置以阻断至少一部分激发光的传递。

在一些实施方案中,至少一个空间滤波器包含至少一个经配置以阻断至少一部分激发光的传递的金属层。在一些实施方案中,集成装置进一步包括含有至少一个金属层的电路,该电路电耦合至多个光检测器的至少一个光检测器。在一些实施方案中,至少一个空间滤波器包含经定位邻近多个样品孔的第一空间滤波器及经定位邻近多个光检测器的第二空间滤波器。在一些实施方案中,第一空间滤波器含有具有第一尺寸的开口且第二空间滤波器含有具有第二尺寸的开口,第一尺寸大于第二尺寸。

[0009] 在一些实施方案中,至少一个光子结构包含至少一个经配置以高于第二范围波长的水平传递第一范围波长的滤光器,第一范围波长包含发射光的至少一个特征波长且第二范围波长包含激发光的至少一个特征波长。在一些实施方案中,至少一个滤光器定位于第一空间滤波器与第二空间滤波器之间。在一些实施方案中,至少一个滤光器包含多个具有低折射率材料的低折射率层及多个具有高折射率材料的高折射率层。在一些实施方案中,至少一个滤光器包含多个高折射率层及多个低折射率层的交替层。在一些实施方案中,集成装置进一步包含经配置以接收激发光光束且使激发光光学耦合至集成装置的波导的激发源耦合区,至少一个滤光器与激发源耦合区重叠。

[0010] 在一些实施方案中,至少一个光子结构包含至少一个经配置以衰减具有一定类型偏振的光的传递的偏振滤波器。在一些实施方案中,激发光是横向电(TE)偏振光,且至少一个偏振滤波器经配置以衰减TE偏振光。在一些实施方案中,至少一个偏振滤波器包含周期性狭缝阵列。

[0011] 在一些实施方案中,激发光是激发光脉冲且发射光是由至少一种荧光标记物响应于激发光脉冲发射的光子,且多个光检测器的个别光检测器进一步经配置以生成指示发射光寿命的信号。在一些实施方案中,多个光检测器的个别光检测器经配置以丢弃自激发光光子产生的电荷载流子。在一些实施方案中,激发光是激发光脉冲,且个别光检测器进一步经配置以在第一时间段内丢弃自激发光脉冲的光子产生的电荷载流子。在一些实施方案中,个别光检测器进一步经配置以在第二时间段内基于产生电荷载流子的时间将借由入射光子产生的电荷载流子选择性引导至各自电荷载流子储存区。

[0012] 在一些实施方案中,至少一个光子结构经配置以衰减与法向于至少一个光子结构成一定角度范围内的激发光。在一些实施方案中,发射光的特征波长介于550nm与650nm之间。在一些实施方案中,激发光的特征波长为532nm。在一些实施方案中,激发光的特征波长为515nm。

[0013] 在一些实施方案中,至少一个光子结构包含至少一个空间滤波器及定位于至少一个空间滤波器与多个光检测器的至少一部分之间的垂直侧壁。在一些实施方案中,至少一个光子结构包含第一空间滤波器、第二空间滤波器及定位于第一空间滤波器与第二空间滤波器之间的垂直侧壁。在一些实施方案中,至少一个光子结构包含空间滤波器,且集成装置进一步包括具有第一介电材料(定位于空间滤波器与多个光检测器的至少一个光检测器之间)的区域及具有第二介电材料(定位于空间滤波器与重叠于至少一个光检测器的样品孔之间)的区域,第一介电材料具有高于第二介电材料的折射率。

[0014] 在一些实施方案中,多个样品孔的一个样品孔与多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离小于10微米。在一些实施方案中,多个样品孔的一个样品孔与多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离小于5微米。在一些实施方案中,多个样品孔的一个样品孔

与多个光检测器的至少一个光检测器之间的距离介于1.5微米与5微米之间。

[0015] 一些实施方案涉及如本文所阐述的集成装置及一种仪器,该仪器包括经配置以发射激发光脉冲的激发源及至少一个经配置以使激发光光束与集成装置对准以便激发光耦合至集成装置的至少一个波导的对准组件。

[0016] 一些实施方案涉及形成集成装置的方法,其包括:形成多个配置于集成装置的第一层上的样品孔,多个样品孔的个别样品孔经配置以接收经至少一种荧光标记物标记的样品,该至少一种荧光标记物经配置以响应于激发光发射发射光。该方法进一步包括形成多个配置于集成装置的第二层上且经定位以接收自多个样品孔发射的发射光的光子的光检测器,多个样品孔的个别样品孔与多个光检测器的至少一个光检测器对准。该方法进一步包括形成至少一个经定位以在共轴上与个别样品孔及其各自至少一个光检测器对准的光子结构,至少一个光子结构经配置以相对于发射光衰减激发光,由至少一个光检测器生成的信号指示检测到发射光的光子。

[0017] 附图简要说明

[0018] 参照下列各图来阐述本申请的各个方面及实施方案。应了解,各图未必按比例绘制。出现于多个图中的物项在其出现的所有图中皆由相同参考编号指示。

[0019] 图1-1A是根据一些实施方案的集成装置的示意图。

[0020] 图1-1B是根据一些实施方案的集成装置的像素的示意图。

[0021] 图2-1A是根据一些实施方案的具有滤光器的集成装置的剖面图。

[0022] 图2-1B是根据一些实施方案的具有滤光器及空间滤波器的集成装置的剖面图。

[0023] 图2-2A是根据一些实施方案的包含于滤光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。

[0024] 图2-2B是根据一些实施方案的实例性滤光器的传递对波长的绘图。

[0025] 图2-3A是根据一些实施方案的包含于滤光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。

[0026] 图2-3B是根据一些实施方案的实例性滤光器的传递对波长的绘图。

[0027] 图2-4A是根据一些实施方案的包含于滤光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。

[0028] 图2-4B是根据一些实施方案的实例性滤光器的传递对波长的绘图。

[0029] 图2-5A是根据一些实施方案的包含于滤光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。

[0030] 图2-5B是根据一些实施方案的实例性滤光器的传递对波长的绘图。

[0031] 图2-6是根据一些实施方案的法向入射下的传递率对两个滤光器的波长的绘图。

[0032] 图2-7A是根据一些实施方案的包含于滤光器中的个别层的厚度的表格。

[0033] 图2-7B是根据一些实施方案的实例性滤光器的光抑制对相对于法向入射的角度的绘图。

[0034] 图2-7C是根据一些实施方案的实例性滤光器的光抑制对波长的绘图。

[0035] 图3-1A系根据一些实施方案的具有偏振滤波器的集成装置的俯视平面图。

[0036] 图3-1B是根据一些实施方案的具有偏振滤波器的集成装置的剖面图。

[0037] 图3-2A及3-2B是根据一些实施方案的穿过不具有偏振滤波器的横截面集成装置

的具有532nm特征波长的横向电光的光学功率及电场的绘图。

[0038] 图3-2C及3-2D是根据一些实施方案的穿过不具有偏振滤波器的横截面集成装置的具有532nm特征波长的横向磁光的光学功率及电场的绘图。

[0039] 图3-3A及3-3B分别是根据一些实施方案的穿过具有偏振滤波器的横截面集成装置的具有532nm特征波长的横向电光的光学功率及电场的绘图。

[0040] 图3-3C及3-3D分别是根据一些实施方案的穿过具有偏振滤波器的横截面集成装置的具有532nm特征波长的横向磁光的光学功率及电场的绘图。

[0041] 图4-1A是根据一些实施方案的具有多个空间滤波器的集成装置的剖面图。

[0042] 图4-1B、4-1C、4-1D、4-1E及4-1F是根据一些实施方案的集成装置中的像素的平面图,其图解说明实例性空间滤波器开口。

[0043] 图4-2是根据一些实施方案的空间滤波器的层的剖面图。

[0044] 图4-3A及4-3B分别是实例性空间滤波器的吸收对角度及波长的绘图。

[0045] 图4-3C及4-3D分别是实例性空间滤波器的反射对角度及波长的绘图。

[0046] 图4-3E是两个实例性空间滤波器关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。

[0047] 图4-3F是两个实例性空间滤波器关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。

[0048] 图4-3G是此空间滤波器与标准CMOS金属层相比关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。

[0049] 图4-4是根据一些实施方案的具有多个空间滤波器及滤光器的集成装置的剖面图。

[0050] 图4-5A是根据一些实施方案的图4-4中所展示集成装置的剖面图且绘示532nm光的光学功率的传播。

[0051] 图4-5B是根据一些实施方案的图4-4中所展示集成装置的剖面图且绘示575nm光的光学功率的传播。

[0052] 图4-6是根据一些实施方案的具有滤光器及经配置以用作空间滤波器的金属层的集成装置的剖面图且绘示532nm光的光学功率的传播。

[0053] 图4-7是根据一些实施方案的具有垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。

[0054] 图4-8A-4-8F图解说明根据一些实施方案的用于形成垂直吸收侧壁的实例性制作步骤。

[0055] 图4-9A是根据一些实施方案的具有垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。

[0056] 图4-9B是根据一些实施方案的具有垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。

[0057] 图4-9C是根据一些实施方案的具有垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。

[0058] 图4-10A是根据一些实施方案的具有垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。

[0059] 图4-10B是根据一些实施方案的在个别像素内具有高介电材料区域的集成装置的剖面图。

[0060] 图5-1是根据一些实施方案的集成装置及仪器的方块图。

[0061] 图5-2A是根据一些实施方案的仪器的方块图绘示图。

[0062] 图5-2B是根据一些实施方案的光学脉冲序列的绘图。

- [0063] 图5-3是根据一些实施方案的可借由脉冲激光经由一或多个波导以光学方式激发的平行样品孔及每一样品孔的相应检测器的示意图。
- [0064] 图5-4是根据一些实施方案的绘示样品孔自波导的光学激发的光学功率绘图。
- [0065] 图5-5是根据一些实施方案的具有样品孔、光学波导及时间方格化光检测器的像素的示意图。
- [0066] 图5-6是根据一些实施方案的可发生于样品孔内的实例性生物反应的示意图。
- [0067] 图5-7是两种具有不同衰减特性的不同荧光团的发射机率曲线的绘图。
- [0068] 图5-8是根据一些实施方案的荧光发射的时间方格化检测的绘图。
- [0069] 图5-9A是根据一些实施方案的实例性时间方格化光检测器。
- [0070] 图5-9B是根据一些实施方案的实例性时间方格化光检测器。
- [0071] 图5-10A是图解说明根据一些实施方案的样品的脉冲激发及荧光发射的时间方格化检测的示意图。
- [0072] 图5-10B是根据一些实施方案的在重复脉冲激发样品之后各个时间方格中的累积荧光光子计数的直方图。
- [0073] 图5-11A-5-11D是根据一些实施方案的可对应于4种核苷酸(T、A、C、G)或核苷酸类似物的不同直方图。

具体实施方式

[0074] I. 介绍

[0075] 本申请的方面涉及能够并行分析样品(包含单一分子鉴别及核酸测序)的集成装置、仪器及相关系统。此一仪器可较为紧凑,易于携带,且易于操作,从而使得医师或其他提供者易于使用该仪器且将仪器传输至可需要护理的期望位置。样品分析可包含使用一或多种荧光标记物标记样品,这些荧光标记物可用于检测样品和/或鉴别单一样品分子(例如作为核酸测序的一部分的个别核苷酸鉴别)。荧光标记物可响应于使用激发光(例如可将荧光标记物激发至激发态的具有特征波长的光)照射荧光标记物而变得激发,且在荧光标记物变得激发时会发射发射光(例如荧光标记物借由自激发态返回基态而发射的具有特征波长的光)。发射光检测可允许鉴别荧光标记物,且由此鉴别由荧光标记物标记的样品或样品分子。根据一些实施方案,该仪器可能能够大规模并行分析样品且可经配置以同时处置数万或更多个样品。

[0076] 发明者已认识到且了解,可使用具有经配置以接收样品的样品孔及形成于集成装置上的集成光学装置的集成装置及经配置以与集成装置界接(interface with)的仪器来分析此数量的样品。该仪器可包含一或多个激发光源,且集成装置可与该仪器界接,从而使用形成于集成装置上的集成光学组件(例如波导、光耦合器、分光器)将激发光递送至样品孔。光学组件可改良集成装置的样品孔中的照射均匀性且可减少大量可原本需要的外部光学组件。另外,发明者已认识到且了解,将光检测器整合于集成装置上可改良来自样品孔的荧光发射的检测效率且减小可原本需要的光收集组件数。

[0077] 挑战可在于检测荧光发射的光子,这是因为荧光标记物每次仅发射单一光子。为可靠地激发荧光标记物,耦合至集成装置且递送至个别样品孔的激发光可具有高功率值,从而激发光的光子可负面影响集成装置的光检测器检测发射光的效率,这是因为光检测器

可变得经激发光子饱和,这可以在发射光的整体检测信号中生成噪音。发明者已认识到且了解,用于减小或去除来自由集成装置的光检测器所生成检测信号的激发光的影响的技术可改良发射光检测且由此改良样品分析。这些技术可抑制一些或所有有助于由光检测器生成的信号的激发光。根据一些实施方案,为借由光检测器检测发射光的单一光子,可能需要借由光检测器抑制数百至数百万的激发光光子和/或抑制其到达光检测器。

[0078] 发明者已进一步认识到且了解,包含形成于集成装置上、定位于样品孔与光检测器之间且经配置以相对于发射光衰减激发光的光子结构可有助于改良发射光子的检测。这些光子结构可用于借由使用一或多种操纵光的性质(包含激发光的吸收、反射及折射)来衰减到达光检测器的激发光的量。这些类型的光子结构可称为「光抑制」(optical rejection)光子结构,这是因为可防止一些或所有激发光到达光检测器。

[0079] 集成装置可包含多个经配置以将激发光递送至一些或所有样品孔的波导。波导可经配置以经由集成装置的一或多个光学组件(例如光栅耦合器、分光器)与激发光光束耦合且与样品孔光学耦合。在一些实施方案中,波导可与一列经定位邻近波导的样品孔耦合。经配置以衰减激发光的光子结构可形成于波导与光检测器之间。光子结构可提供一些或所有自波导散射且可另外到达光检测器并影响发射光光子的检测效率的激发光的光抑制。自波导散射的激发光可在多个方向上传播,包含在自波导的宽角形区域中。与之相比,来自样品孔的发射光可实质上沿样品孔与相应光检测器之间的方向传播。因此,借由经配置以阻断一些或所有以特定角度或特定角度范围朝向个别光检测器传播的光,本申请的一些光子结构利用散射激发光与发射光之间的此方向性差异。在一些实施方案中,光抑制光子结构可允许传递实质上法向入射至光检测器的光,而衰减或阻断实质上与法向于光检测器以一定角度(例如自法向入射45°)入射至光检测器的光。

[0080] 可形成于集成装置中的一类光子结构是滤光器。滤光器可基于光波长(例如光的特征波长、光的波长带)选择性吸收、反射和/或抑制入射至滤光器的光。滤光器优先吸收或抑制的波长可对应于用于激发一或多种标记样品的荧光标记物的激发光的特征波长。适宜类型的滤光器可包含色彩吸收滤波器、陷波抑制滤波器、带通滤波器及长通滤波器。

[0081] 另一类可形成于集成装置中的光抑制光子结构是偏振滤波器。偏振滤波器可用于减小或防止具有特定类型偏振的光的传递。以此方式,偏振滤波器可相对于未偏振光衰减偏振光。举例而言,波导可传播具有特定类型偏振(例如横向电(TE)偏振、横向磁(TM)偏振)的激发光。与之相比,由荧光标记物发射的光可未偏振或具有不同于激发光的类型的偏振。整合于集成装置中的偏振滤波器可用于衰减偏振激发光(包含散射激发光),而允许一些或大部分发射光通过偏振滤波器。在一些实施方案中,集成装置的波导可经配置以传播具有TE偏振的激发光,且集成装置可具有经配置以衰减TE偏振光以便一些或所有入射至偏振滤波器的激发光并不通过偏振滤波器的偏振滤波器。尽管偏振滤波器可将发射光衰减至一定程度,但在集成装置中引入偏振滤波器可提供优于其他光抑制光子结构的益处,包含制作便利性及以一定角度范围入射至偏振滤波器的光的期望光抑制。

[0082] 第三类可形成于集成装置中的光抑制光子结构是空间滤波器。空间滤波器可包含一或多个彩虹结构(iris structure),这些结构可包含一或多个用于吸收一些或所有入射光的材料层及一或多个允许光通过的开口。开口可经定位以与样品孔及各自光检测器重叠以允许发射光传递穿过空间滤波器。空间滤波器可用于阻断杂散激发光且减小相邻光检测

器中的串扰。在一些实施方案中,集成装置的一或多个金属层可用作空间滤波器。一或多个金属层亦可用作集成装置的电路(例如电耦合至光检测器的电路)。可使用适宜互补金属氧化物半导体(CMOS)制作技术形成一或多个金属层。

[0083] 一或多个光抑制光子结构可与其他用于改良集成装置的发射光检测的技术组合使用。根据一些实施方案,集成装置的光检测器可经配置以丢弃由激发光光子产生的电荷载流子。借由光检测器检测荧光发射可发生于在对应于激发光脉冲的时间段之后于光检测器可变得由激发光光子饱和时。同样,发明者已认识到且了解,借由在激发之后于存在足以检测量的荧光且并无来自激发光的实质性噪音信号时一次性检测发射光,使用可迅速关闭的脉冲激发源(例如自峰值在小于500ps内)可允许改良来自样品孔的发射光的检测。举例而言,可在光检测器未由激发光饱和时一次性检测发射光。这些包含对脉冲激发源及集成装置的光检测器定时以减小激发光对发射光光子的检测效率的影响的技术可称为「电抑制」(electrical rejection)技术类型。组合光抑制光子结构与这些电抑制技术可使得减小相邻像素之间的串扰信号,这可以允许集成装置的个别像素占据小于单独实施光抑制光子结构或电抑制技术时的覆盖区域。在一些情况下,组合光抑制光子结构与这些电抑制技术可允许更有效地将发射光传递至光检测器,这可以使得能够获得大于单独实施光抑制光子结构或电抑制技术时的信号噪音比。

[0084] 其他改良发射信号的技术可包含增加发射光强度的技术。在一些实施方案中,样品可经一种以上荧光标记物标记,从而可在激发光脉冲之后自经标记样品发射多个发射光光子。举例而言,经多个相同类型荧光标记物标记的样品可响应于借由激发光脉冲照射而发射多个发射光光子。另外或替代地,可根据一或多种可改良激发光抑制的特性来选择荧光标记物。一种特性是荧光标记物的寿命。使用具有较长寿命的荧光标记物可改良激发光的抑制,这是因为光检测器丢弃由激发光产生的电荷载流子的时间段可有所延长,而仍允许在一定时间段内收集发射光光子。荧光标记物的另一特性是其斯托克斯位移(Stokes shift)或荧光标记物的特征性吸收波长(其可对应于激发光的特征波长)与特征性发射波长(其可对应于发射光)之间的波长间隔。具有较大斯托克斯位移的荧光标记物可使得较大程度地抑制激发光,尤其在集成装置中整合一或多个滤光器时。

[0085] II. 集成装置

[0086] A. 概述

[0087] 图解说明一列像素1-112的集成装置1-102的横截面示意图展示于图1-1A中。集成装置1-102可包含耦合区1-201、路由区1-202及像素区1-203。像素区1-203可包含多个像素1-112,这些像素具有定位于表面上与耦合区1-201隔开的位置的样品孔1-108,该位置是激发光(展示为虚线箭头)耦合至集成装置1-102的位置。样品孔1-108可穿过金属层1-106形成。一个像素1-112(由虚线矩形图解说明)是集成装置1-102中包含样品孔1-108及具有一或多个光检测器1-110的光检测器区域的区域。

[0088] 图1-1A图解说明借由使激发光光束耦合至耦合区1-201及样品孔1-108所达成的激发路径(以虚线展示)。图1-1A中所展示的一列样品孔1-108可经定位以与波导1-220光学耦合。激发光可照射位于样品孔内的样品。样品可响应于激发光照射而达到激发态。在样品处于激发态时,样品可发射发射光,发射光可借由一或多个与样品孔相连的光检测器来检测。图1-1A示意性图解说明像素1-112中自样品孔1-108至光检测器1-110发射光路径(展示

为实线)。像素1-112的光检测器1-110可经配置及定位以检测来自样品孔1-108的发射光。适宜光检测器的实例阐述于标题为「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」的美国专利申请14/821,656中,该申请的全部内容以引用方式并入本文中。对于个别像素1-112而言,样品孔1-108及其各自光检测器1-110可沿共轴(沿图1-1A中所展示的y方向)对准。以此方式,光检测器可与像素1-112内的样品孔重叠。

[0089] 来自样品孔1-108的发射光的方向性可取决于样品在样品孔1-108中相对于金属层1-106的定位,这是因为金属层1-106可用于反射发射光。以此方式,金属层1-106与定位在样品孔1-108中的荧光标记物之间的距离可影响光检测器1-110(与样品孔位于相同像素中)检测由荧光标记物所发射光的效率。金属层1-106与样品孔1-106的底部表面(其邻近在操作期间样品可定位的处)之间的距离可在100nm至500nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,金属层1-106与样品孔1-106的底部表面之间的距离大约为300nm。

[0090] 样品与光检测器之间的距离亦可影响检测发射光的效率。借由降低光必须在样品与光检测器之间行进的距离,可改良发射光的检测效率。另外,样品与光检测器之间的较小距离可允许像素占据集成装置的较小覆盖区域,这可以允许较高数量的像素包含于集成装置中。样品孔1-106的底部表面与光检测器之间的距离可在1.5μm至15μm范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,样品孔与光检测器之间的距离可小于10微米。在一些实施方案中,样品孔与光检测器之间的距离可小于5微米。在一些实施方案中,样品孔与光检测器之间的距离可介于1.5微米与5微米之间。

[0091] 光子结构1-230可定位于样品孔1-108与光检测器1-110之间且经配置以减少或防止到达光检测器1-110的激发光,该激发光可原本有助于检测发射光时的信号噪音。如图1-1A中所展示,一或多个光子结构1-230可定位于波导1-220与光检测器1-110之间。光子结构1-230可包含一或多个光抑制光子结构(包含滤光器、偏振滤波器及空间滤波器)。光子结构1-230可经定位以与个别样品孔1-108及其各自光检测器1-110沿共轴对准。根据一些实施方案,金属层1-240(其可用作集成装置1-102的电路)亦可用作空间滤波器。在这些实施方案中,一或多个金属层1-240可经定位以阻断一些或所有到达光检测器1-110的激发光。

[0092] 图1-1B图解说明集成装置1-102的像素1-112的剖面图。激发光可沿波导1-220传播,如借由图1-1B中的左侧虚线所展示。随着激发光沿波导1-220传播,一些激发光可发生散射。散射激发光可相对于沿波导1-220的光传播方向和/或相对于光子结构1-230的法向方向(例如沿图1-1B中所展示的y方向)具有特定方向性。自波导1-220散射的光可相对于光子结构1-230的法向方向处于特定角度或角度范围内,如借由图1-1B中展示的虚线所展示。散射光的角度可取决于集成装置1-102的一或多种特性,包含波导1-220的折射率、环绕波导1-220的材料的折射率及垂直于光传播的波导1-220的尺寸(例如波导宽度、波导高度,例如沿y方向)。举例而言,在波导1-220与环绕材料(例如电介质)之间的折射率差较高的波导设计中,沿波导1-220传播的光可以高于具有较低折射率差的波导设计的角度发生散射。在一些实施方案中,光子结构1-230可经配置以阻断或减小以散射激发光角度入射至光子结构1-230的激发光的传递。以此方式,光子结构1-230可补偿与特定波导设计有关的散射激发光。举例而言,自波导1-220散射的激发光可自法向于光子结构1-230具有在大约50°至60°范围内的方向。光子结构1-230可经配置以实质上阻断或减小激发光在此角度范围内的

传递。在一些实施方案中,光子结构1-230可包含经配置以减小自在与法向于滤光器成40°至70°范围内的激发光传递的滤光器,该滤光器可用于阻断至少一些自波导1-220散射的激发光。

[0093] 耦合区1-201可包含一或多个经配置以耦合来自外部激发源的激发光的光学组件。耦合区1-201可包含经定位以接收一些或所有激发光光束的光栅耦合器1-216。适宜光栅耦合器的实例阐述于标题为「OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM」的美国专利申请62/435,693中,该申请的全部内容以引用方式并入本文中。光栅耦合器1-216可使激发光耦合至波导1-220,该波导可经配置以将激发光传播至一或多个样品孔1-108附近。或者,耦合区1-201可包括其他用于将光耦合至波导中的熟知结构。

[0094] 可使用位于集成装置外的组件来定位激发源1-106且使其对准至集成装置。这些组件可包含光学组件,包含透镜、反光镜、棱镜、窗口、孔口、衰减器和/或光学纤维。可在仪器中包含其他机械组件以允许控制一或多个对准组件。这些机械组件可包含传动装置、步进马达和/或旋钮。适宜激发源及对准机制的实例阐述于标题为「PULSED LASER AND SYSTEM」的美国专利申请15/161,088中,该申请的全部内容以引用方式并入本文中。束流导向模块的另一实例阐述于标题为「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」的美国专利申请62/435,679中,其全部内容以引用方式并入本文中。

[0095] 可将拟分析样品引入像素1-112的样品孔1-108中。样品可为生物样品或任一其他适宜样品(例如化学样品)。该样品可包含多种分子且样品孔可经配置以分离单一分子。在一些情况下,样品孔的尺寸可用于将单一分子限制于样品孔内,从而允许对单一分子实施量测。可将激发光递送至样品孔1-108中以激发样品或至少一种连接至样品或另外与样品缔合的荧光标记物(在其位于样品孔1-108内的照射区域内时)。

[0096] 在操作时,借由使用激发光激发样品孔内的一些或所有样品并使用光检测器检测来自样品发射的信号来并行分析样品孔内的样品。可借由相应光检测器来检测来自样品的发射光并转化成至少一种电信号。电信号可沿集成装置的电路中的导线(例如金属层1-240)传递,这些导线可链接至与集成装置界接的仪器。可随后处理电信号和/或加以分析。可在位于仪器上或仪器外的适宜计算装置来处理或分析电信号。

[0097] B. 滤光器

[0098] 光子结构1-230可包含一或多个滤光器,这些滤光器经配置以借由选择性具有高于激发光的发射光传递程度来相对于发射光衰减激发光。在一些实施方案中,用于标记样品的荧光标记物可经配置以发射波长在550nm至650nm范围内或为该范围内的任一值或值范围的光。用于激发荧光标记物的激发光可具有较低波长(例如515nm、532nm)。集成装置中所包含的滤光器可经配置以具有高发射光传递程度,同时具有低激发光传递程度。在滤光器衰减较短波长(例如激发光)且传递较长波长(例如发射光)的实施方案中,滤光器可考虑长通滤波器。滤光器可经配置以衰减在宽范围角度内入射至滤光器的激发光,这可以提供以许多方向自波导和/或样品孔散射的一些或所有激发光的光抑制。在一些实施方案中,滤光器可经配置以在相对于法向入射(沿图1-1A中所展示的y方向)至滤光器的一定角度范围内(例如0°至45°)具有低激发光传递程度。在一些实施方案中,滤光器可经配置以在一定角度范围内提供特定偏振光的低传递程度。此一滤波器可实质上增强偏振激发光(包含自波导散射的光)的抑制。

[0099] 濾光器可包含多个层,这些层可称为层堆栈。形成濾光器的层堆栈可包含高折射率材料及低折射率材料的交替层。低折射率材料可具有在1.40至1.55范围内或为该范围内的任一值或值范围的折射率。高折射率材料可具有大于1.7的折射率。可用于濾光器中的低折射率材料的一实例是二氧化硅(SiO₂)。可用于濾光器中的高折射率材料的实例包含Ta₂O₅、Nb₂O₅、TiO₂、Al₂O₃、富硅氧化物(SRO)及非晶形Si(a-Si)。在一些实施方案中,可选择低折射率材料及高折射率材料以达成所得濾光器的期望光学性质且同时达成层堆栈的特定整体厚度。举例而言,选择具有较高反差(例如低折射率材料与高折射率材料之间的差异)的低折射率材料及高折射率材料的组合可允许堆栈薄于具有低反差的低折射率材料及高折射率材料的组合。濾光器的较薄堆栈可改良一或多个光检测器的发射光收集。在一些情况下,可期望较薄堆栈以促进濾光器及所得集成装置的制作。濾光器可由允许制作集成装置的其他组件且并不显著降低濾光器的完整性及性能的材料形成。在一些情况下,濾光器可在高达大约400°C下实质上热稳定。可使用任何适用于基于硅的光子装置的制作技术(例如互补金属氧化物半导体(CMOS)制作)来形成濾光器。在一些实施方案中,可使用等离子体增强的化学气相沉积(PECVD)来形成濾光器,例如包含SiO₂、SiN、SiON、a-Si、SiC及其组合的滤波器。在一些实施方案中,可借由物理气相沉积(PVD)或溅镀来形成濾光器,这些技术可使得能够在适宜控制膜厚度和/或光学性质下沉积金属氧化物材料。在一些实施方案中,可使用离子束溅镀(IBS)或离子束沉积(IBD)来形成濾光器,且这些技术可允许形成极致密光学膜。许多滤波器堆栈材料在沉积于晶圆上时展现显著膜应力,且此膜应力可引起可妨碍后续处理(例如光刻)的晶圆扭曲。可借由将晶圆退火或借由使用实质上补偿膜应力的膜涂覆晶圆背侧来最小化或减小由膜应力所致的晶圆扭曲。

[0100] 濾光器可包含在2至45层范围内或该范围内的任一数量或数量范围的诸多交替高折射率及低折射率材料层。濾光器中的个别层的厚度可有所变化,从而个别层的厚度可在20nm至300nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。濾光器中的总层厚度可在0.1微米至3微米范围内或为该范围内的任一值或值范围。图2-1A是具有样品孔2-108、波导2-220及濾光器(由高折射率材料2-110及低折射率材料2-112的交替层形成)的所制作实例性集成装置的横截面影像。如本文所阐述,集成装置的一些实施方案可包含具有彩虹结构的空间滤波器,该彩虹结构具有与个别样品孔重叠的开口。图2-1B是具有样品孔2-108、波导2-220、濾光器(由高折射率材料2-110及低折射率材料2-112的交替层形成)及具有开口2-116的空间濾波器2-114的所制作实例性集成装置的横截面影像。

[0101] 在一些实施方案中,濾光器可包含Ta₂O₅及SiO₂的交替层。图2-2A展示包含于具有23层且总厚度大约为1466nm的实例性濾光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。图2-2B是图2-2A的表格中所阐述濾光器的传递对波长的绘图。图2-2B中所展示的传递对波长绘图展示,此类濾光器对于在入射至濾光器的一定角度范围(包含相对于法向于濾光器在0°至45°范围内的角度)内波长范围为500nm至540nm的光具有较低传递。濾光器的另一实例具有37个Ta₂O₅及SiO₂交替层且总厚度大约为2498nm,如参照图2-3A及图2-3B所展示。与图2-2A及2-2B的濾光器相比,增加厚度可补偿较低波长下的降低的传递。

[0102] 在一些实施方案中,濾光器可包含TiO₂及SiO₂的交替层。图2-4A展示包含于具有25层且总厚度大约为1550nm的实例性濾光器中的个别层的材料、厚度及折射率的表格。在此实例中,高折射率层包含TiO₂且在532nm波长下具有大约2.36的折射率。图2-4B是图2-4A的

表格中所阐述滤光器的传递对波长的绘图。图2-4B中所展示的传递对波长绘图展示,此类滤光器对于在入射至滤光器的一定角度范围(包含相对于法向于滤光器在0°至45°范围内的角度)内波长范围为500nm至540nm的光具有较低传递。滤光器的另一实例具有23个TiO₂及SiO₂交替层且总厚度大约为1252nm,如参照图2-5A及图2-5B所展示。在此实例中,高折射率层包含TiO₂且在532nm波长下具有大约2.75的折射率。与图2-4A及2-4B的滤光器相比,较高折射率可允许较薄厚度的滤光器。

[0103] 图2-6是法向入射下的传递率对波长的绘图,其比较由图2-3A及2-3B阐述的滤光器及由图2-4A及2-4B阐述的滤光器。如图2-6中所展示,两种滤光器皆在较低波长(例如在515nm及532nm波长下)具有降低的光传递,这些波长可对应于根据一些实施方案的激发光的特征波长或波长带。

[0104] 在一些实施方案中,滤光器可包含Nb₂O₅及SiO₂的交替层。图2-7A展示包含于具有23层的实例性滤光器中的个别层的厚度的表格。在此实例中,高折射率层包含Nb₂O₅且在532nm波长下具有大约2.358的折射率。图2-7B是在波长532nm(其可对应于激发光)及575nm(其可对应于发射光)下s-偏振光(TE光)的传递光学密度对相对于图2-7A表格中所阐述滤光器的法线的角度的绘图。图2-7B中所展示的光学密度对角度的绘图展示,此类滤光器在与法向于滤光器成大约50°至大约60°的范围内较575nm光针对532nm光具有较高光抑制,从而产生较低传递。此一滤光器可允许光抑制在此角度范围内自波导散射的激发光。图2-7C是图2-7A的表格中所阐述滤光器在法向于滤光器在角度0°及55°中的传递光学密度对波长的绘图。如图2-7C中所展示,与小于560nm的波长相比,在560nm至600nm范围内的波长的光在0°及55°下皆具有较低光抑制,从而产生较高传递。此一滤光器可允许以期望程度光抑制波长小于560nm的激发光,同时以期望程度传递在大约560nm至600nm范围内的发射光。

[0105] C. 偏振滤波器

[0106] 光子结构1-230可包含一或多个经配置以选择性衰减具有特定类型偏振的光的偏振滤波器,该特定类型偏振可在一些实施方案中对应于激发光的偏振。未偏振光或随机偏振光(例如由随机定向的荧光标记物发射的光子)可至少部分地通过偏振滤波器。波导中的激发光可实质上发生偏振,且此激发光可激发荧光标记物。荧光标记物的激发可取决于标记物相对于激发光偏振的定向。来自荧光标记物的发射光可具有不同于激发光的偏振。另外,荧光标记物可或可不在激发事件与发射事件之间改变定向。偏振滤波器可至少在集成装置中与个别样品孔重叠的区域中包含狭缝阵列。图3-1A展示样品孔3-108经定位邻近波导3-220及偏振滤波器3-230的集成装置的平面图,该偏振滤波器具有定位于波导3-220下方的狭缝阵列。图3-1B展示图3-1A中所展示集成装置的剖面图且展示定位于样品孔3-108与光检测器3-110之间的偏振滤波器3-230。在一些实施方案中,偏振滤波器3-230可包含与个别样品孔3-108相连的狭缝阵列区。在个别狭缝阵列区域间存在一或多个可用于阻断光的不具有狭缝的层,这可以减小或防止像素之间的串扰。狭缝阵列的狭缝及狭缝阵列区之间的层可由任一适宜材料(包含铝或另一金属,例如CMOS金属)形成。狭缝阵列的厚度T可在0.05微米至0.3微米范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,狭缝阵列的厚度可大约为0.1微米。狭缝阵列中的个别狭缝的宽度w可在0.05微米至0.15微米范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,狭缝阵列中的狭缝的宽度可大约为0.09微米。狭缝可具有周期性配置,从而在存在特定间距p或阵列的个别狭缝之间的距离。

狭缝阵列的间距可在0.1微米至0.5微米范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,狭缝阵列可具有大约0.26微米的间距。

[0107] 图3-2A、B、C、D展示缺乏偏振滤波器的集成装置的剖面图且绘示自样品孔3-108及波导3-220所散射特征波长为532nm的光的传播。如所展示,TE及TM 532nm光皆沿样品孔3-108与光检测器3-110之间的距离传播。与之相比,图3-3A、B、C、D展示具有偏振滤波器(例如上述偏振滤波器)的集成装置的剖面图且绘示特征波长为532nm的光自样品孔3-108至光检测器3-110的传播。如图3-3A及3-3B中所展示,与缺乏偏振滤波器的集成装置相比,将偏振滤波器整合至集成装置中可衰减TE 532nm光(参见图3-2A及3-2B以进行对比)。如图3-3C及3-3D中所展示,偏振滤波器对衰减TM 532nm光具有极小影响(参见图3-2C及3-2D以进行对比)。

[0108] D. 空间滤波器

[0109] 光子结构1-230可包含一或多个具有经配置以阻断光传递的层的空间滤波器,其中该(等)层具有经定位以允许光通过空间滤波器的开口或孔口。空间滤波器的个别开口可经定位以与样品孔及对应于个别样品孔的光检测器重叠,从而开口经定位以允许来自样品孔的发射光朝向其各自光检测器传播。在一些实施方案中,空间滤波器的个别开口可经定位以与样品孔及其各自光检测器沿共轴对准。空间滤波器的开口可经适宜地定尺寸及成型以允许借由对应于样品孔的光检测器检测期望含量的自样品孔发射的发射光。因空间滤波器的层可能并不区分发射光与激发光,故空间滤波器的开口可经定尺寸及成型以利用发射光与激发光之间的方向性差异。来自样品孔的发射光可实质上沿样品孔与其各自光检测器之间的方向进行传播,该方向法向于空间滤波器(沿图4-1A中所展示的y方向)。发射光的此方向性可借由样品孔的底部表面与金属层(例如金属层1-106)之间的距离及发射光的波长来达成。样品孔的底部表面与金属层之间的距离(如图1-1B中所展示的d)可在100nm至500nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。为达成发射光实质上法向于空间滤波器的方向性,样品孔的底部表面与金属层间的距离可大约为奇数个环绕材料中发射光的波长的四分之一波长。举例而言,对于近似发射波长 $\lambda=580\text{nm}$ 及折射率 $n=1.45$ 而言,该距离可大约为 $(3/4)*\lambda/n=300\text{nm}$ 。与之相比,自波导散射的激发光可自法向于空间滤波器在较宽角度范围内传播。空间滤波器的开口的尺寸及形状可用于阻断一些入射至空间滤波器的激发光(包含以较宽角度入射至空间滤波器的激发光)。空间滤波器中的开口可适宜地经定尺寸及成型以相对于激发光增加穿过空间滤波器的发射光传递,其中相对于发射光衰减激发光。借由实施此一空间滤波器,光检测器可生成指示发射光的信号,其中该信号并不实质上由激发光饱和。

[0110] 一些实施方案涉及具有多个空间滤波器的集成装置。一个空间滤波器的层开口可与另一空间滤波器的开口重叠,且空间滤波器的重叠开口可具有不同尺寸及形状,从而不同空间滤波器的开口具有不同面积。在一些实施方案中,一个空间滤波器的开口及另一空间滤波器的开口可沿由像素内的样品孔及其各自光检测器所共有的共轴对准。不同空间滤波器的开口的尺寸变化可衰减通过空间滤波器系列的光,从而通过第一空间滤波器的开口的光由第二空间滤波器的层阻断。这可以允许空间滤波器系列较使用单一空间滤波器时更有效地阻断较宽角形范围内的光(包含激发光)到达光检测器。在一些实施方案中,集成装置可包含经定位邻近样品孔的第一空间滤波器及经定位邻近光检测器的第二空间滤波器。

对于集成装置的像素而言,第一空间滤波器可具有拥有第一尺寸(例如开口直径)的开口且第二过滤可具有拥有第二尺寸的开口,其中第一尺寸及第二尺寸不同。在一些实施方案中,第二尺寸可小于第一尺寸。在其他实施方案中,第一尺寸可小于第二尺寸。

[0111] 图4-1A展示具有第一空间滤波器4-234及第二空间滤波器4-232的集成装置4-102的剖面图。第一空间滤波器4-234及第二空间滤波器4-242包含与个别样品孔1-108重叠的开口。第一空间滤波器4-234具有与像素4-112的样品孔1-108及光检测器1-110重叠的开口4-240。第二空间滤波器4-232具有与像素4-112的样品孔1-108及光检测器1-110重叠的开口4-242。在一些实施方案中,空间滤波器4-234的开口4-240及空间滤波器4-232的开口4-242可沿共轴与样品孔1-108及光检测器1-110对准。如图4-1A中所展示,第二空间滤波器4-232的开口4-242的尺寸(沿z方向的尺寸)小于第一空间滤波器4-234的开口4-240。

[0112] 空间滤波器中的个别开口可相对于集成装置中的相应样品孔及光检测器适宜地定尺寸、成型及定位,从而改良光检测器的发射光收集和/或减小入射至光检测器的激发光量。图4-1B、4-1C、4-1D、4-1E及4-1F是集成装置中的像素的俯视平面图,其分别图解说明实例性空间滤波器开口4-240b、4-240c、4-240d、4-240e及4-240f。空间滤波器中的开口可在开口平面中沿一或多个方向对称(例如如图4-1B及4-1C中分别所展示的空间滤波器开口4-240b及4-240c),或在开口平面中沿一或多个方向不对称(例如如图4-1E及4-1F中分别所展示的空间滤波器开口4-240e及4-240f)。空间滤波器中的开口可与像素中的相应样品孔和/或光检测器共轴(例如如图4-1B、4-1D、4-1E中分别所展示的空间滤波器开口4-240b、4-240d及4-240e)或不共轴(例如如图4-1B及4-1F中分别所展示的空间滤波器开口4-240c及4-240f)。

[0113] 在一些情况下,空间滤波器中的开口的尺寸及形状可适应集成装置的其他特性,包含影响激发光散射及发射光收集的特性。作为一实例,样品孔的尺寸和/或形状可影响由样品孔散射的激发光的方向性。特定而言,随着样品孔的横截面尺寸或面积有所增加,样品孔可展现较大正向散射,这是因为样品孔可较用作瑞利散射(Raleigh scattering)物体更多地用作米氏散射(Mie scattering)物体。举例而言,横截面尺寸为大约160nm或更小的样品孔可用作瑞利散射体,而横截面尺寸为大约170nm或更大的样品孔可用作米氏散射体且可展现正向散射。对于样品孔的空间滤波器开口可相对于样品孔具有一定尺寸、形状及位置以减小到达光检测器的正向散射光的量。在一些情况下,空间滤波器开口可在沿波导的光传播方向具有减小的尺寸或尺寸。在一些实施方案中,空间滤波器开口沿穿过波导的光传播方向的尺寸可小于自波导具有一定角度的另一尺寸。

[0114] 参照图4-1B、4-1C、4-1D、4-1E及4-1F,光沿波导1-220自左向右传播,如由箭头所展示。空间过滤开口4-240d具有椭圆形形状且平行于波导1-220的尺寸小于垂直于波导1-220的开口尺寸。在一些实施方案中,样品孔至其相应空间滤波器开口在激发光沿波导的传播方向(例如朝向+z方向,如图4-1B、4-1C、4-1D、4-1E及4-1F中所展示)上的边缘的距离小于样品孔至空间滤波器开口在光沿波导传播的来向(例如朝向-z方向,如图4-1B、4-1C、4-1D、4-1E及4-1F中所展示)上的边缘的距离。这些空间滤波器开口可使得减小正向散射光(包含源自用作米氏散射体的样品孔的正向散射光)的阻断。举例而言,在空间滤波器开口4-240e的形状中,开口的右手侧可用于阻断正向散射激发光,这是因为开口4-240e开口在该开口的右手侧与左手侧相比部分地闭合。作为另一实例,空间滤波器开口4-240f相对于

样品孔1-108具有一定形状及位置,从而样品孔与开口4-240f在+z方向上的边缘之间的距离小于-z方向。

[0115] 一些空间滤波器开口可用于借由使开口自相应样品孔朝向光入射至波导的方向偏移以便开口及样品孔不共轴来阻断正向散射光。举例而言,借由在光沿波导传播的来向(其是-z方向,如图4-1C中所展示)偏移,空间滤波器开口4-240c与相应样品孔1-108不共轴。

[0116] 空间滤波器的层可由一或多种经配置以阻断或衰减光(包含激发光)的传递的材料形成。空间滤波器可包含金属层及抗反射层。可用于形成空间滤波器的层的材料实例包含钛、氮化钛、铝、氮化钽、钽、氧化硅、氧氮化硅及氮化硅。空间滤波器的个别层的厚度可介于5nm至200nm之间或为该范围内的任一值或值范围。

[0117] 图4-2是具有形成于光学透明材料4-210内的第一层4-202、第二层4-204、第三层4-206及第四层4-208的实例性空间滤波器的剖面图。此实例性空间滤波器可在宽角度范围内具有减小或最小的激发波长反射。空间滤波器可整合于装置中,其中第一层4-202邻近装置的样品孔(例如样品孔1-108)且第四层4-208邻近装置的光检测器(例如光检测器1-110),从而光实质上入射至第一层4-202。第一层4-202及第三层4-206可包含氮化钛(TiN)。第二层4-204可包含氮化硅(SiN)和/或二氧化硅(SiO₂)。第四层4-208可包含钛。光学透明材料可包含二氧化硅。第一层4-202的厚度可在3nm至15nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。第二层4-204的厚度可在30nm至60nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。第三层4-206的厚度可在20nm至90nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。第四层4-208的厚度可在40nm至60nm范围内或为该范围内的任一值或值范围。图4-3A及4-3B分别是吸收(p-偏振光及s-偏振光)对角度及波长的绘图,且图4-3C及4-3D分别是反射(p-偏振光及s-偏振光)对角度及波长的绘图,其中实例性空间滤波器具有厚度大约为7nm的第一层(氮化钛)、厚度大约为47nm的第二层(氮化硅)、厚度大约为50nm的第三层(氮化钛)及厚度大约为50nm的第四层(钛)。

[0118] 图4-3E是两个实例性空间滤波器关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。一个空间滤波器具有厚度大约为6nm的第一层(氮化钛)、厚度大约为36nm的第二层(氮化硅)、厚度大约为77nm的第三层(氮化钛)及厚度大约为50nm的第四层(钛)。另一空间滤波器具有厚度大约6nm为的第一层(氮化钛)、厚度大约为39nm的第二层(氮化硅)、厚度大约为27nm的第三层(氮化钛)及厚度大约为50nm的第四层(钛)。图4-3F是两个实例性空间滤波器关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。一个空间滤波器具有厚度大约为6nm的第一层(氮化钛)、厚度大约为36nm的第二层(氮化硅)、厚度大约为77nm的第三层(氮化钛)及厚度大约为50nm的第四层(钛)。另一空间滤波器具有厚度大约为10nm的第一层(氮化钛)、厚度大约为49nm的第二层(二氧化硅)、厚度大约为73nm的第三层(氮化钛)及厚度大约为50nm的第四层(钛)。

[0119] 在一些实施方案中,空间滤波器可由集成装置中用作集成装置电路的金属层(例如金属层1-240)形成。金属层可电耦合至集成装置的光检测器且可经配置以将控制信号自集成装置的外部电路(例如与集成装置界接的仪器)传递至光检测器和/或将由光检测器生成的检测信号传递至外部电路。经配置以用作空间滤波器的金属层可形成于集成装置的互补金属氧化物半导体(CMOS)区域内。可使用适宜CMOS制作技术来形成金属层。可用于形成

空间滤波器的层的材料实例包含钛、氮化钛、铝、铜、氧氮化硅(例如SiON)。在一些实施方案中,空间滤波器可包含第一层(氧氮化硅,SiON)、第二层(氮化钛)、第三层(钛)及第四层(铝铜,AlCu)。图4-3G是此空间滤波器与标准CMOS金属层相比关于具有532nm特征波长的光的反射对角度的绘图。如图4-3G中所展示,与CMOS金属相比,此空间滤波器的光学性质减小了光反射率。特定而言,此空间滤波器对0°至45°范围内的入射光程度展现减小的反射率。

[0120] 在一些实施方案中,集成装置可包含经定位邻近样品孔的第一空间滤波器及经定位邻近光检测器的第二空间滤波器,这些空间滤波器是由集成装置中用作集成装置电路的金属层所形成。第一空间滤波器可由金属层(例如Ti)及两个或更多个抗反射层(例如锡)形成,其中抗反射层定位于金属层的任一侧。用作电路且形成第二空间滤波器的金属层可反射入射光。邻近第二空间滤波器的第一空间滤波器的抗反射层可用于减小由第二空间滤波器的金属层反射的光,这可以较未包含抗反射层时改良第一空间滤波器及第二空间滤波器阻断激发光的效率。

[0121] 一些实施方案涉及具有多类本文所论述的光子结构的集成装置。不同类型的光子结构可利用不同类型的光子结构的益处,且可较仅使用一类光子结构达成改良的激发光光抑制。举例而言,滤光器光抑制激发光的性能可取决于激发光至滤光器的入射角。滤光器可相对于较宽角度改良在接近法向于滤光器的角度下光抑制激发光的性能。空间滤波器可与滤光器组合使用以补偿这些较宽角度下的降低的性能。在一些实施方案中,空间滤波器可定位于滤光器中邻近样品孔的一侧。在一些实施方案中,空间滤波器可定位于滤光器中邻近光检测器的一侧。

[0122] 图4-4是具有定位于第一空间滤波器4-234与第二空间滤波器4-232之间的滤光器4-230的集成装置4-402的剖面图。如图4-4中所展示,滤光器4-230可沿集成装置的长度(沿z方向)延伸且可与第一空间滤波器4-234及第二空间滤波器4-232中的开口及样品孔1-108重叠。图4-5A是图4-4中所展示集成装置中的像素的剖面图且绘示532nm光的传播,该光可在一些实施方案中用作激发光,自波导1-220及样品孔1-108散射。如由图4-5A所展示,第一空间滤波器4-234、滤光器4-230及第二空间滤波器4-232的组合实质上阻断532nm光到达光检测器1-110。图4-5B是图4-4中所展示集成装置中的像素的剖面图且绘示572nm光的传播,该光可在一些实施方案中是由荧光标记物发射的发射光。如由图4-5B所展示,与532nm光相比,滤光器4-230允许传递572nm光,从而尽管一些572nm光可由第一空间滤波器4-234及第二空间滤波器4-232阻断,但一些572nm光到达光检测器1-110。另外,可入射至光检测器1-110的572nm光的量可显著大于532nm光的量,从而由光检测器1-110生成的信号可指示572nm光。

[0123] 如上文所论述,集成装置中用作电路的金属层亦可经配置以用作空间滤波器。在一些实施方案中,集成装置可包含滤光器及一或多个配置为空间滤波器的金属层。图4-6是集成装置的像素的剖面图且绘示532nm光的传播,该光可在一些实施方案中用作激发光,自波导1-220及样品孔1-108散射。如由图4-6所展示,滤光器4-230及金属层4-240的组合实质上阻断532nm光到达光检测器1-110。

[0124] 一些实施方案涉及具有光吸收结构的集成装置,这些光吸收结构实质上垂直(例如实质上正交)于集成装置的波导或顶部表面定向,且可称为垂直吸收侧壁。垂直吸收侧壁可定位于集成装置的个别像素之间,且可改良像素之间的光学分离并可减小激发光及发射

光在相邻像素之间的串扰。垂直吸收侧壁可定位于沿像素的样品孔与光检测器之间的光学路径的任一适宜位置。在包含多个空间滤波器层的实施方案中,垂直吸收侧壁可延伸于两个空间滤波器层之间。在一些实施方案中,垂直吸收侧壁可定位于集成装置的空间滤波器层与光检测器之间。

[0125] 图4-7是具有第一空间滤波器4-234及第二空间滤波器4-232以及垂直吸收侧壁4-704(定位于第一空间滤波器4-234与第二空间滤波器4-232之间)的集成装置4-702的剖面图。如图4-4中所展示,垂直吸收侧壁4-704定位于个别像素之间,从而一组垂直吸收侧壁与个别样品孔及相应光检测器1-110相连。垂直吸收侧壁4-704可吸收或另外减少自样品孔到达相邻像素中的光检测器的发射光(由实箭头展示),这可以减小集成装置的像素中的串扰量。另外,垂直吸收侧壁4-704可减少到达集成装置的光检测器的激发光(由虚箭头展示)。

[0126] 垂直吸收侧壁可包含一或多个经配置以吸收或实质上阻断光的材料层。可用于形成垂直吸收侧壁的适宜材料的实例可包含硅、氮化硅、氧氮化硅、氧化硅、钨、钛、氮化钛、钽及氮化钽。

[0127] 根据一些实施方案,可在制作集成装置期间借由蚀刻沟槽并将光吸收材料沉积于沟槽内来形成垂直吸收侧壁。在一些实施方案中,垂直吸收侧壁的形成可涉及蚀刻集成装置的像素区内的沟槽。在一些实施方案中,垂直吸收侧壁的形成可涉及蚀刻集成装置的像素区之间的沟槽。

[0128] 图4-8A-4-8F图解说明用于形成垂直吸收侧壁的实例性制作步骤。在图4-8A中,使光学透明材料4-210形成于空间滤波器4-232(其在一些实施方案中是金属CMOS层)上方。如图4-8A中所展示,使空间滤波器4-232形成于金属层1-240及基板4-802(其可包含光检测器)上方。光学透明材料可包含二氧化硅(SiO_2)。如本文所论述,在一些实施方案中,空间滤波器4-232可包含一或多个用于减少反射光的层(例如图4-2中所展示的实例性空间滤波器)。可使用化学-机械平面化(CMP)技术将光学透明材料平面化。如图4-8B中所展示,可使用任何适宜微影技术在光学透明材料中形成沟槽4-804。沟槽4-804可经形成以延伸至空间滤波器4-232的区域,如图4-8B中所展示。在这些情况下,空间滤波器4-232可用作蚀刻停止件。在一些实施方案中,沟槽4-804可能并不完全朝向下伏空间滤波器延伸。

[0129] 在形成沟槽4-804之后,用于形成垂直吸收侧壁4-704的材料可沉积于沟槽上,如图4-8C中所展示。可使用一或多个硅、钨、钛、氮化钛、钽及氮化钽的层形成垂直吸收侧壁。沟槽剩余部分可经任一适宜介电材料4-806填充。介电材料4-806的实例可包含二氧化硅(SiO_2)、氧氮化硅($SiON$)、氮化硅(SiN)及硅(包含非晶形硅)。可使用任何适宜沉积技术(包含等离子体增强的化学气相沉积(PECVD))填充沟槽。在沟槽经介电材料填充后,可立即在经填充沟槽上形成空间滤波器4-234形成层,如图4-8E中所展示。可借由蚀刻经介电材料4-806填充的沟槽之间的那些层来形成空间滤波器4-234,如图4-8F中所展示。其他光学透明材料可形成于经蚀刻空间滤波器4-234上。集成装置的后续处理可涉及形成波导1-220及样品孔1-108,如图4-9A中所展示。图4-9A中所展示的所得集成装置具有形成于具有样品孔1-108及相关光检测器1-110的个别像素之间的垂直吸收侧壁4-704及介电材料4-806。

[0130] 在一些实施方案中,垂直吸收侧壁的形成可涉及蚀刻集成装置的个别像素内的区域。举例而言,代之以蚀刻与空间滤波器4-232重叠的区域(如图4-8B中所展示),垂直吸收侧壁的形成可包含蚀刻与空间滤波器4-232的开口重叠的区域并在这些经蚀刻沟槽中形成

介电材料。图4-9B展示具有借由此一制程形成的垂直吸收侧壁的集成装置的剖面图。特定而言,形成介电材料4-808的区域以与像素内的个别样品孔1-108及光检测器重叠。

[0131] 应了解,可将任一适宜数量的垂直吸收侧壁定位于像素之间以达成集成装置的期望性质。另外,在选择所得集成装置中用于毗邻像素之间的垂直吸收侧壁的数量时,可考虑集成装置的制作便利性。在一些情况下,在像素之间具有较少侧壁可允许像素结构在集成装置中的像素阵列中具有可扩缩性和/或改良制作容限(fabrication tolerance)。举例而言,在毗邻像素之间具有单一垂直侧壁可减小使用对于形成较小特征具有特定制作限制的微影技术(包含图案化、蚀刻及沉积材料)形成较小特征的需要。图4-9C展示具有定位于毗邻像素之间的单一垂直吸收侧壁4-704的集成装置的剖面图。

[0132] 在一些实施方案中,集成装置可包含定位于集成装置的空间滤波器与光检测器之间的垂直吸收侧壁。图4-10A展示具有定位于空间滤波器4-232与光检测器1-110之间的垂直吸收侧壁4-904的集成装置的剖面图。在一些实施方案中,垂直吸收侧壁4-904可连续延伸于空间滤波器4-232与光检测器1-110之间,如图4-10A中所展示。在一些实施方案中,垂直吸收侧壁4-904可部分地延伸于空间滤波器4-232与光检测器1-110之间。可借由以下方式来形成垂直吸收侧壁4-904:在集成装置的像素内的金属层1-240之间蚀刻沟槽并在沟槽内沉积吸收材料以形成垂直吸收侧壁4-904。

[0133] 一些实施方案涉及集成装置具有定位于个别像素内的介电材料区,其中这些区域具有适宜折射率以改良集成装置的光检测器的收集。在一些实施方案中,这些区域的折射率可高于可用于将光引向光检测器的环绕材料(例如光学透明材料,例如二氧化硅)。这些高折射率介电材料区可定位于空间滤波器与光检测器之间。图4-10B展示具有定位于个别像素内空间滤波器4-232与光检测器1-110之间的高折射率材料区4-906的集成装置的剖面图。可借由以下方式来形成区域4-906:在集成装置的像素内的金属层1-240之间蚀刻沟槽并在沟槽内沉积高折射率材料以形成垂直吸收侧壁4-904。可用于形成区域4-906的适宜材料的实例包含氮化硅、氧氮化硅和/或其他在特定特征波长下的折射率在1.5至2.0范围内的介电材料。应了解,集成装置的一些实施方案可包含垂直吸收侧壁及高折射率介电材料区。

[0134] III. 其他系统方面

[0135] 该系统可包含集成装置及经配置以与集成装置界接的仪器。集成装置可包含像素阵列,其中像素包含样品孔及至少一个光检测器。集成装置的表面可具有多个样品孔,其中样品孔经配置以自置于集成装置的表面上的样品接收样品。样品可含有多个样品,且在一些实施方案中含有不同类型的样品。多个样品孔可具有适宜尺寸及形状,从而至少一部分样品孔自样品接收一种样品。在一些实施方案中,一个样品孔内的诸多样品可分布于诸多样品孔内,从而一些样品孔含有一种样品,而其他样品孔含有零种、两种或更多种样品。

[0136] 在一些实施方案中,样品可含有多个单链DNA模板,且集成装置表面上的个别样品孔可经定尺寸及成型以接收单链DNA模板。单链DNA模板可分布于集成装置的诸多样品孔内,从而集成装置的至少一部分样品孔含有单链DNA模板。样品亦可含有经标记三磷酸脱氧核苷酸(dNTP),后者然后进入样品孔中且可允许在核苷酸引入与样品孔中的单链DNA模板互补的DNA链中时鉴别该核苷酸。在此一实例中,「样品」可是指单链DNA及通常由聚合酶引入的经标记dNTP。在一些实施方案中,样品可含有单链DNA模板且可随后随着将核苷酸引入

样品孔内的DNA互补链中来将经标记dNTP引入样品孔中。以此方式,可借由将经标记dNTP引入集成装置的样品孔中的时间来控制引入核苷酸的时刻。

[0137] 自与集成装置的像素阵列分隔的激发源来提供激发能。至少部分地借由集成装置的组件将激发光引向一或多个像素以照射样品孔内的照射区。在位于照射区内时且响应于由激发光照射,标记物可然后发射发射光。在一些实施方案中,一或多个激发源是系统仪器的一部分,其中仪器及集成装置的组件经配置以将激发光引向一或多个像素。

[0138] 然后可借由集成装置的像素内的一或多个光检测器来检测由样品发射的发射光。所检测发射光的特性可提供鉴别与发射光有关的标记物的指示。这些特性可包含任一适宜类型的特性,包含由光检测器检测的光子的到达时间、随时间变化由光检测器累积的光子量和/或光子在两个或更多个光检测器中的分布。在一些实施方案中,光检测器可具有允许检测一或多种与样品发射光有关的时刻特征(例如荧光寿命)的配置。光检测器可检测在激发光脉冲传播穿过集成装置之后光子到达时间的分布,且到达时间的分布可指示样品发射光的时刻特性(例如荧光寿命的代替者)。在一些实施方案中,一或多个光检测器会指示由标记物发射的发射光的机率(例如荧光强度)。在一些实施方案中,多个光检测器可经定尺寸及配置以捕获发射光的空间分布。然后可使用来自一或多个光检测器的输出信号自多种标记物区分某一标记物,其中可使用多种标记物来鉴别样品内的样品。在一些实施方案中,样品可由多种激发能激发,且发射光和/或响应于多种激发能由样品发射的发射光的时刻特性可自多种标记物区分某一标记物。

[0139] 系统5-100的示意性概述图解说明于图5-1中。该系统包括集成装置5-102及与之接的仪器5-104。在一些实施方案中,仪器5-104可包含一或多个整合为仪器5-104的一部分的激发源5-106。一些实施方案中,激发源可位于仪器5-104及集成装置5-102外部,且仪器5-104可经配置以接收来自激发源的激发光且将激发光引导至集成装置。集成装置可使用任一适宜插孔与仪器界接,该插孔用于接纳集成装置且保持其与激发源精确光学对准。激发源5-106可经配置以向集成装置5-102提供激发光。如图5-1中所示意性图解说明,集成装置5-102具有多个像素5-112,其中至少一部分像素可实施样品的独立分析。这些像素5-112可称为「被动式源像素」,这是因为像素自与像素分隔的来源5-106接收激发光,其中来自该来源的激发光激发一些或所有像素5-112。激发源5-106可为任一适宜光源。适宜激发源的实例阐述于标题为「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」的美国专利申请14/821688中,该专利申请的全部内容以引用方式并入本文中。在一些实施方案中,激发源5-106包含多个经组合以将激发光递送至集成装置5-102的激发源。多个激发源可经配置以产生多种激发能或波长。

[0140] 像素5-112具有样品孔5-108(其经配置以接收样品)及光检测器5-110(其用于检测响应于使用由激发源5-106提供的激发光照射样品由样品发射的发射光)。在一些实施方案中,样品孔5-108可使样品保持靠近集成装置5-102的表面,这可以易于将激发光递送至样品且检测来自样品的发射光。

[0141] 用于使激发光自激发光源5-106耦合至集成装置5-102且将激发光引导至样品孔5-108的光学组件位于集成装置5-102及仪器5-104上。源-至-孔光学组件可包括一或多个位于集成装置5-102上的光栅耦合器,这些光栅耦合器使激发光耦合至集成装置及波导以将激发光自仪器5-104递送至像素5-112中的样品孔。一或多个分光器组件可定位于光栅耦

合器与波导之间。分光器可耦合来自光栅耦合器的激发光且将激发光递送至至少一个波导。在一些实施方案中,分光器可具有允许在所有波导中实质上均匀递送激发光的配置,从而每一波导接收实质上类似量的激发光。这些实施方案可借由改良由集成装置的样品孔所接收激发光的均匀性来改良集成装置的性能。

[0142] 样品孔5-108、激发源-至-孔光学装置的一部分及样品孔-至-光检测器光学装置位于集成装置5-102上。激发源5-106及源-至-孔组件的一部分位于仪器5-104中。在一些实施方案中,单一组件可用于将激发光耦合至样品孔5-108且将来自样品孔5-108的发射光递送至光检测器5-110。包含于集成装置中的用于将激发光耦合至样品孔和/或将发射光引导至光检测器的适宜组件的实例阐述于标题为「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」的美国专利申请14/821,688及标题为「INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING, DETECTING, AND ANALYZING MOLECULES」的美国专利申请14/543,865中,这些专利申请的全部内容皆以引用方式并入本文中。

[0143] 像素5-112自身具有个别样品孔5-108及至少一个光检测器5-110。集成装置5-102的多个像素可经配置以具有任何适宜的形状、尺寸和/或尺寸。集成装置5-102可具有任一适宜数量的像素。集成装置2-102中的像素数量可在大约10,000个像素至1,000,000个像素范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些实施方案中,像素可配置成512个像素×512个像素的阵列。集成装置5-102可与仪器5-104以任一适宜方式界接。在一些实施方案中,仪器5-104可具有以可拆卸方式耦合至集成装置5-102的界面,从而用户可将集成装置5-102连接至仪器5-104以使用集成装置5-102分析样品及自仪器5-104去除集成装置5-102以允许连接另一集成装置。仪器5-104的界面可定位集成装置5-102以与仪器5-104的电路耦合,从而允许来自一或多个光检测器的读出信号传递至仪器5-104。集成装置5-102及仪器5-104可包含用于处置与大像素阵列(例如大于10,000个像素)有关的数据的多通道、高速通信连接。

[0144] 仪器5-104可包含用户界面以控制仪器5-104和/或集成装置5-102的操作。用户界面可经配置以允许用户将信息输入仪器中(例如用于控制仪器的运作的命令和/或设置)。在一些实施方案中,用户界面可包含按钮、开关、拨号盘及用于语音命令的麦克风。用户界面可允许用户接收关于仪器和/或集成装置的性能的反馈(例如合理对准和/或借由来自集成装置上的光检测器的读出信号获得的信息)。在一些实施方案中,用户界面可使用扬声器提供反馈以提供听觉反馈。在一些实施方案中,用户界面可包含指示灯和/或显示屏幕以向用户提供视觉反馈。

[0145] 在一些实施方案中,仪器5-104可包含经配置以与计算装置链接的计算机界面。计算机界面可为USB界面、FireWire界面或任一其他适宜计算机界面。计算装置可为任一通用计算机,例如膝上型计算机或桌面计算机。在一些实施方案中,计算装置可为可经由适宜计算机界面在无线网络上访问的服务器(例如云端服务器)。计算机界面可促进仪器5-104与计算装置之间的信息通信。可将用于控制和/或配置仪器5-104的输入信息提供至计算装置且经由计算机界面传输至仪器5-104。可借由计算装置经由计算机界面接收由仪器5-104生成的输出信息。输出信息可包含关于仪器5-104的性能、集成装置5-112的性能和/或自光检测器5-110的读出信号生成的数据的反馈。

[0146] 在一些实施方案中,仪器5-104可包含处理装置,该处理装置经配置以分析自集成装置5-102的一或多个光检测器接收的数据和/或将控制信号传输至激发源2-106。在一些实施方案中,处理装置可包括通用处理器、专用处理器(例如中央处理器(CPU)(例如一或多个微处理器或微控制器核心)、现场可编辑门阵列(FPGA)、特定应用集成电路(ASIC)、定制集成电路、数字信号处理器(DSP)或其组合)。在一些实施方案中,可借由仪器5-104的处理装置及外部计算装置来处理来自一或多个光检测器的数据。在其他实施方案中,可删去外部计算装置且可仅借由集成装置5-102的处理装置来处理来自一或多个光检测器的数据。

[0147] 实例性仪器5-104可包括一或多个以可替换模块形式安装于仪器内或另外耦合至仪器的锁模激光模块5-258,如图5-2A中所绘示。仪器5-104可包含光学系统5-255及分析系统5-260。光学系统5-255可包含光学组件的一些组合(其可包含(例如)以下每一者中的零者、一者或两者:透镜、反光镜、光学滤波器、衰减器、束流导向组件、光束塑形组件)且经配置以加以操作和/或将输出光学脉冲5-252自锁模激光模块5-258递送至分析系统5-260。分析系统可包含多个组件5-140,这些组件经配置以将光学脉冲引导至至少一种拟分析样品,自至少一种样品接收一或多种光学信号(例如荧光、背向散射辐射),且产生一或多种代表所接收光学信号的电信号。在一些实施方案中,分析系统5-260可包含一或多个光检测器及经配置以处理来自光检测器的电信号的信号处理电子装置(例如一或多个微控制器、一或多个现场可编辑门阵列、一或多个微处理器、一或多个数字信号处理器、逻辑门等)。分析系统5-260亦可包含数据传递硬件,该数据传递硬件经配置以经由一或多个数据通信连接往返外部装置传输及接收数据。在一些实施方案中,分析系统5-260可经配置以接纳集成装置5-102,该集成装置可接收一或多种拟分析样品。

[0148] 图5-2B绘示输出脉冲5-252的时间强度特征。在一些实施方案中,发射脉冲的峰强度值可大致相等,且这些特征可具有高斯型时间特征(Gaussian temporal profile),但可能为其他特征(例如双曲线正割²特征)。在一些情形下,脉冲可并不具有对称时间特征且可具有其他时间形状。可借由半高全宽(FWHM)值来表征每一脉冲的持续时间,如图5-2B中所指示。根据锁模激光的一些实施方案,超短光学脉冲可具有小于100皮秒(ps)的FWHM值。在一些情形下,FWHM值可介于大约5ps与大约30ps之间。

[0149] 输出脉冲5-252可相隔规则间隔T。举例而言,可借由输出耦合器与激光模块5-258的腔端镜(cavity end mirror)之间的来回行进时间来测定T。根据一些实施方案,脉冲间隔T可在大约1ns至大约30ns范围内或为该范围内的任一值或值范围。在一些情形下,脉冲间隔T可在大约5ns至大约20ns范围内,此对应于激光谐振腔长度(激光模块5-258的激光谐振腔内的光学轴的近似长度)介于约0.7米与约3米之间。

[0150] 根据一些实施方案,期望脉冲间隔T及激光谐振腔长度可取决于以下各项的组合:集成装置5-102上的样品孔数量、荧光发射特性及数据处置电路自集成装置5-102读取数据的速度。发明者已认识到且了解,可借由不同荧光衰减速率或特征性寿命来区分不同荧光团。因此,需要足够脉冲间隔T来收集所选荧光团的适当统计学以区分其不同衰减速率。另外,若脉冲间隔T过短,则数据处置电路不能保持大量数据由大量样品孔收集。发明者已认识到且了解,介于约5ns与约20ns之间的脉冲间隔T适用于衰减速率高达约2ns的荧光团且处置来自约60,000至600,000个样品孔的数据。

[0151] 根据一些实施方案,束流导向模块可自锁模激光模块5-125接收输出脉冲且经配

置以至少将光学脉冲的位置及入射角度调节至朝向集成装置5-102的光耦合器。在一些情形下,可借由束流导向模块操作来自锁模激光模块的输出脉冲以另外或替代地改变集成装置5-102的光耦合器处的光束形状和/或光束旋转。在一些实施方案中,束流导向模块可另外提供输出脉冲光束在光耦合器上的聚焦/或偏振调节。束流导向模块的一实例阐述于2016年5月20日提出申请的标题为「PULSED LASER AND BIOANALYTIC SYSTEM」的美国专利申请15/161,088号中,该专利申请以引用方式并入本文中。束流导向模块的另一实例阐述于标题为「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」的美国专利申请62/435,679(其以引用方式并入本文中)中,该申请具有档案号R0708.70024US00且在2016年12月16日提出申请。

[0152] 参照图5-3,来自锁模激光模块的输出脉冲5-522可耦合至集成装置上的一或多个光学波导5-312。在一些实施方案中,光学脉冲可经由光栅耦合器5-310耦合至一或多个波导,但可在一些实施方案中耦合至集成装置上的一或多个光学波导的一端。根据一些实施方案,象限检测器5-320可位于半导体基板5-305(例如硅基板)上以有助于使光学脉冲5-122的光束与光栅耦合器5-310对准。可将一或多个波导5-312及样品孔5-330整合于相同半导体基板上且将介电层(例如二氧化硅层)插入基板、波导、样品孔与光检测器5-322之间。

[0153] 每一波导5-312可在样品孔5-330下方包含锥形部分5-315以平衡沿波导耦合至样品孔的光学功率。减小斜度可迫使更多光学能量离开波导核心,从而更多程度地耦合至样品孔且补偿沿波导的光学损失(包含耦合至样品孔的光损失)。第二光栅耦合器5-317可位于每一波导的一端以将光学能量引导至集成光二极管5-324。集成光二极管可检测沿波导向下耦合的功率量且将检测信号提供至控制束流导向模块的反馈电路。

[0154] 样品孔5-330可与波导的锥形部分5-315对准且凹陷于槽座(tub)5-340中。时间方格化光检测器5-322可位于每一样品孔5-330的半导体基板5-305上。金属涂层和/或多层涂层5-350可形成于样品孔周围及波导上方以防止或减小并非在样品孔中(例如分散于样品孔上方的溶液中)的荧光团的光学激发。金属涂层和/或多层涂层5-350可升高至超过槽座5-340的边缘以减小波导5-312中在每一波导的输入端及输出端的光学能量的吸收损失。

[0155] 可在集成装置上存在多列波导、样品孔及时间方格化光检测器。举例而言,在一些实施方案中,可存在128列,每一列具有512个样品孔,且总共具有65,536个样品孔。其他实施方案可包含更少或更多的样品孔,且可包含其他布置配置。可经由位于集成装置的光耦合器与多个波导之间的一或多个星形耦合器和/或多模式干扰耦合器或借由任一其他构件将来自锁模激光的光学功率分布至多个波导。

[0156] 图5-4图解说明光学能量自波导5-315内的光学脉冲5-122耦合至样品孔5-330。波导5-315可考虑通道波导。该附图是自光学波的电磁场仿真所产生,该电磁场模拟考虑了波导尺寸、样品孔尺寸、不同材料的光学性质及波导5-315距样品孔5-330的距离。举例而言,波导可自二氧化硅的环绕介质5-410中的氮化硅形成。波导、环绕介质及样品孔可借由阐述于2015年8月7日提出申请且标题为「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」的美国专利申请第14/821,688号中的微加工工艺来形成。根据一些实施方案,渐逝光场(evanescent optical field)5-420将由波导传输的光学能量耦合至样品孔5-330。

[0157] 发生于样品孔5-330中的生物反应的非限制性实例绘示于图5-5中。在此实例中,

在样品孔中将核苷酸和/或核苷酸类似物依序引入靶核酸的互补生长链中。可检测依序引入以对一系列核酸(例如DNA、RNA)测序。样品孔的深度可在大约100nm至大约500nm范围内或为该范围内的任一值或值范围,且直径在大约80nm至大约200nm范围内。可将金属化层5-540(例如针对参考电位金属化)图案化于光检测器上方以提供孔口来阻断来自毗邻样品孔及其他不期望光源的杂散光。根据一些实施方案,聚合酶5-520可位于样品孔5-330内(例如连接至样品孔的基底)。聚合酶可吸收靶核酸5-510(例如衍生自DNA的一部分核酸),且对互补核酸的生长链测序以产生DNA生长链5-512。经不同荧光团标记的核苷酸和/或核苷酸类似物可分散于样品孔上方及内部的溶液中。

[0158] 在将经标记核苷酸和/或核苷酸类似物5-610引入互补核酸的生长链中时(如图5-6中所绘示),一或多种连接荧光团5-630可由自波导5-315耦合至样品孔5-330的光学能量的脉冲重复激发。在一些实施方案中,可使用任一适宜连接体5-620将一或多种荧光团5-630连接至一或多种核苷酸和/或核苷酸类似物5-610。引入事件可持续最长约100ms的时间段。在此时间期间,可使用时间方格化光检测器5-322检测借由锁模激光脉冲激发荧光团所产生的荧光发射脉冲。借由将具有不同发射特性(例如荧光衰减速率、强度、荧光波长)的荧光团连接至不同核苷酸(A、C、G、T),可检测及区分不同发射特性,同时DNA链5-512引入核酸且使得能够测定DNA生长链的核苷酸序列。

[0159] 根据一些实施方案,经配置以基于荧光发射特性来分析样品的仪器5-104可检测不同荧光分子之间的荧光寿命和/或强度差异和/或相同荧光分子在不同环境中的寿命和/或强度差异。借由阐释方式,图5-7绘示两个不同荧光发射机率曲线(A及B),其可代表(例如)来自两种不同荧光分子的荧光发射。参照曲线A(虚线),在由短或超短光学脉冲激发之后,来自第一分子的荧光发射的机率 $p_A(t)$ 可随时间衰减,如图所绘示。在一些情形下,随时间所发射光子的降低机率可由指数衰减函数 $p_A(t) = P_{A0}e^{-t/\tau_A}$ 表示,其中 P_{A0} 是初始发射机率且 τ_A 是与第一荧光分子有关的描述发射衰减机率的时间参数。 τ_A 可称为第一荧光分子的「荧光寿命」、「发射寿命」或「寿命」。在一些情形下,可借由荧光分子的局部环境来改变 τ_A 值。其他荧光分子可具有不同于曲线A中所展示者的发射特性。举例而言,另一荧光分子可具有不同于单一指数衰减的衰减特征,且其寿命可借由半衰期值或一些其他度量来表征。

[0160] 第二荧光分子可具有指数式衰减特征,但具有可量测的不同寿命 τ_B ,如图5-7中的曲线B所绘示。在所展示实例中,曲线B的第二荧光分子的寿命短于曲线A的寿命,且在激发第二分子之后不久的发射机率高于曲线A。在一些实施方案中,不同荧光分子可具有介于约0.1ns至约20ns之间的寿命或半衰期值。

[0161] 发明者已认识到且了解,可使用荧光发射寿命的差异来辨别不同荧光分子的存在或不存在和/或辨别荧光分子所经受的不同环境或条件。在一些情形下,基于寿命(而非例如发射波长)来辨别荧光分子可简化仪器5-104的方面。作为一实例,在基于寿命辨别荧光分子时,可减小波长区分性光学装置(例如波长滤波器、针对每一波长的专用检测器、不同波长下的专用脉冲光学来源和/或衍射光学装置)的数量或消除这些光学装置。在一些情形下,可使用在单一特征波长下操作的单一脉冲光学来源来激发在光谱的相同波长区域内发射但具有可量测不同寿命的不同荧光分子。使用单一脉冲光学来源而非在不同波长下操作的多个来源来激发且辨别发射于相同波长区域中的不同荧光分子的分析系统可具有较不复杂的操作及维持性,更为紧凑,且可以较低成本制得。

[0162] 尽管基于荧光寿命分析的分析系统可具有某些益处,但可借由允许其他检测技术来增加借由分析系统获得的信息量和/或检测准确度。举例而言,一些分析系统5-160可进一步经配置以基于荧光波长和/或荧光强度来辨别样品的一或多种性质。

[0163] 再次参照图5-7,根据一些实施方案,可使用经配置以在激发荧光分子后对荧光发射事件进行时间分方格的光检测器来区分不同荧光寿命。时间分方格可发生于光检测器的单一电荷累积循环期间。电荷累积循环是读出事件之间的间隔,在此期间光生成载流子累积极于时间方格化光检测器的方格中。借由发射事件的时间分方格来测定荧光寿命的概念以图形形式介绍于图5-8中。在 t_1 的前即刻的时间 t_0 下,借由短或超短光学脉冲来激发荧光分子或相同类型(例如对应于图5-7的曲线B的类型)的荧光分子的系综。对于较大分子系综而言,发射强度可具有类似于曲线B的时间特征,如图5-8中所绘示。

[0164] 然而,对于单一分子或少量分子而言,在此实例中,荧光光子的发射是根据图5-7中的曲线B的统计学来发生。时间方格化光检测器5-322可在离散时间方格(三个指示于图5-8中)累积自发射事件生成的载流子,这些离散时间方格是针对荧光分子的激发时间来暂时解析)。在总结大量发射事件时,累积极于时间方格中的载流子可近似于图5-8中所展示的衰减强度曲线,且可使用分方格(binned)信号来区分不同荧光分子或荧光分子所处的不同环境。

[0165] 时间方格化光检测器的实例阐述于2015年8月7日提出申请且标题为「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」的美国专利申请第14/821,656号中,该专利申请以引用方式并入本文中。出于阐释目的,时间方格化光检测器的一非限制性实施方案绘示于图5-9A中。单一时间方格化光检测器5-900可包括光子吸收/载流子生成区5-902、载流子行进/捕获区5-906及载流子储存区,该载流子储存区具有一或多个可对应于时间方格的电荷载流子储存区5-908a、5-908b、5-908c。载流子行进/捕获区可借由载流子传输通道5-907链接至电荷载流子储存区。仅展示三个载流子储存方格,但可存在更多或更少。在一些实施方案中,单一时间方格化光检测器5-900包含至少两个电荷载流子储存区。可存在连结至电荷载流子储存区的读出通道5-910。可借由局部掺杂半导体和/或形成毗邻绝缘区以提供照光检测能力并限制载流子来形成光子吸收/载流子生成区5-902、载流子行进/捕获区5-906、电荷载流子储存区5-908a、5-908b、5-908c及读出通道5-910。时间方格化光检测器5-900可包含经形成与载流子行进/捕获区5-906连结的汲极(drain)5-904。汲极5-904可经配置以在特定时间下丢弃电荷载流子。借由以此方式去除光生成电荷载流子,可丢弃响应于激发光所产生的不期望电荷载流子。时间方格化光检测器5-900可包含多个形成于基板上的电极5-920、5-922、5-932、5-934、5-936、5-940,这些电极经配置以在装置中生成用于使电荷载流子传输穿过光检测器的电场。多个电极可确立电位梯度,从而电荷载流子朝向汲极5-904行进。

[0166] 在操作时,荧光光子可在不同时间下接收于光子吸收/载流子生成区5-902此且生成载流子。举例而言,在大约时间 t_1 下,在光子吸收/载流子生成区5-902的消耗区中,三个荧光光子可生成三个载流子电子。装置中的电场(因掺杂和/或自外部向电极5-920及5-922及视情况或替代地5-932、5-934、5-936施加偏压)可使载流子移动至载流子行进/捕获区5-906。在载流子行进/捕获区中,行进距离转换成在激发荧光分子之后的时间。在后续时间 t_5 下,另一荧光光子可接收于光子吸收/载流子生成区5-902中且生成额外载流子。此时,前三

一个载流子已行进至载流子行进/捕获区5-906中毗邻第二储存方格5-908b的位置。在后续时间 t_7 下,可将电偏压施加于电极5-932、5-934、5-936及电极5-940之间以将载流子自载流子行进/捕获区5-906侧向传输至储存方格。前三个载流子然后可传输至第一方格5-908a并保留于其中,且随后生成的载流子可传输至第三方格5-908c并保留于其中。在一些实施方案中,对应于每一储存方格的时间间隔为亚纳秒时间标度,但较长时间规模可用于一些实施方案中(例如在荧光团具有较长衰减时间的实施方案中)。

[0167] 在光检测器5-900的单一电荷累积循环期间,在激发事件(例如来自脉冲光学来源的激发脉冲)之后生成及时间分方格电荷载流子的过程可在单一激发脉冲之后发生一次或在多个激发脉冲之后重复多次。在完成电荷累积之后,可自储存方格经由读出通道5-910读出载流子。举例而言,可将适当偏压序列施加至至少电极5-940及下游电极(未展示)以自储存方格5-908a、5-908b、5-908c去除载流子。

[0168] 时间方格化光检测器5-900可经配置以丢弃自激发光或其他不期望光的光子所产生的电荷载流子。可将在载流子行进/捕获区5-906内产生一或多个势垒的时刻定时,从而由不期望光(包含激发光)产生的光生成载流子朝向汲极5-904行进且并不朝向电荷载流子储存区5-908a、5-908b、5-908c行进。向电极(例如电极5-922)施加电压以产生势垒的时刻可位于一定时间段之后,从而在该时间段期间生成的一些或所有电荷载流子朝向汲极5-904行进且并不引向电荷载流子储存区5-908a、5-908b、5-908c。可将在该时间段之后生成的后续电荷载流子选择性引导至电荷载流子储存区5-908a、5-908b、5-908c。在一些实施方案中,激发光是激发光脉冲,且时间方格化光检测器5-900可经配置以丢弃在第一时间段中自激发光脉冲光子产生的至少一些电荷载流子。在第一时间段之后,时间方格化光检测器5-900可在第二时间段中基于电荷载流子的产生时间将借由入射光子产生的电荷载流子选择性引导至一或多个各自电荷载流子储存区。

[0169] 在诸多激发事件之后,可读出每一电子储存方格中的累积信号以提供具有代表(例如)荧光发射衰减速率的相应方格的直方图。此一过程图解说明于图5-10A及图5-10B中。直方图的方格可指示在激发样品孔中的荧光团之后于每一时间间隔期间所检测的诸多光子。在一些实施方案中,方格信号将累积于大量激发脉冲后,如图5-10A中所绘示。激发脉冲可出现于时间 $t_{e1}、t_{e2}、t_{e3} \dots t_{eN}$ 下,这些时间相隔脉冲间隔时间T。在电子储存方格中的信号累积期间可向样品孔施加 10^5 至 10^7 个激发脉冲。在一些实施方案中,一个方格(方格0)可经配置以检测使用每一光学脉冲递送的激发光的波幅,且用作参考信号(例如用以正规化数据)。

[0170] 在一些实施方案中,时间方格化光检测器可在光子吸收/载流子生成区中生成电荷载流子且将电荷载流子直接转移至电荷载流子储存区中的电荷载流子储存方格。在这些实施方案中,时间方格化光检测器可不包含载流子行进/捕获区。此一时间方格化光检测器可称为「直接分方格像素」。时间方格化光检测器(包含直接分方格像素)的实例阐述于2016年12月22日提出申请且标题为「INTEGRATED PHOTODETECTOR WITH DIRECT BINNING PIXEL」的美国专利申请第62/438,051号中,该专利申请以引用方式并入本文中。出于阐释目的,时间方格化光检测器的一非限制性实施方案绘示于图5-9B中。如图5-9B中所展示,时间方格化光检测器5-950包含光子吸收/载流子生成区5-952、电荷载流子储存区5-958的方格及读出电路5-960,该读出电路来自电荷载流子储存区5-958的方格读出信号。电荷载流

子转移至的方格是基于光子在产生电荷载流子的光子吸收/载流子生成区5-952中的到达时间。图5-9B展示在电荷载流子储存区5-958中具有两个方格(方格0及方格1)的时间方格化光检测器的一实例。在一些情况下,方格0可聚集在触发事件(例如激发光脉冲)后的一定时段中接收的电荷载流子,且方格1可聚集相对于触发事件的后续时间段中所接收的电荷载流子。然而,电荷储存区5-958可具有任一数量的方格,例如一个方格、三个方格、四个方格或更多个方格。时间方格化光检测器5-950可包含电极5-953、5-955及5-956,这些电极可经配置以施加电压,从而确立引导电荷载流子的电位梯度。时间方格化光检测器5-950可包含抑制区5-965,该抑制区可用作汲极或进一步经配置以丢弃在光子吸收/载流子生成区5-952中所产生的电荷载流子。借由抑制区5-965抑制电荷载流子时的时间段可经定时以出现于触发事件(例如激发光脉冲)期间。

[0171] 因激发光脉冲可在光子吸收/载流子生成区5-952中产生诸多不期望电荷载流子,故可在像素5-950中确立电位梯度以在抑制期期间将这些电荷载流子引导抑制区5-965。作为一实例,抑制区5-965可包含在其中将电子引导至电源电压的高电位扩散区。抑制区5-965可包含使区域5-952直接电荷耦合至抑制区5-965的电极5-956。电极5-956的电压可有所变化以在光子吸收/载流子生成区5-952中确立期望电位梯度。在抑制期期间,电极5-956的电压可设定于将载流子自光子吸收/载流子生成区5-952汲取至电极5-956中并输出为电源电压的值。举例而言,电极5-956的电压可设定为正电压以吸引电子,从而将这些电子自光子吸收/载流子生成区5-952汲取至抑制区5-965中。抑制区5-965可视为「侧向抑制区」,这是因为其允许将载流子自区域5-952侧向转移至汲极。

[0172] 在抑制期后,可对光子吸收/载流子生成区5-952中所产生的光生成电荷载流子进行时间分方格。可基于到达时间将个别电荷载流子引导至方格中。为此,可在各自时间段中改变光子吸收/载流子生成区5-952与电荷载流子储存区5-958之间的电位以确立电位梯度,从而将光生成电荷载流子引导至各自时间方格。举例而言,在第一时间段期间,可降低由电极5-953形成的障壁5-962,且可自光子吸收/载流子生成区5-952至方格0确立电位梯度,从而将在此时段期间生成的载流子转移至方格0。然后,在第二时间段期间,可降低由电极5-955形成的障壁5-964,且可自光子吸收/载流子生成区5-952至方格1确立电位梯度,从而将在此后续时段期间生成的载流子转移至方格1。

[0173] 在一些实施方案中,平均而言,在激发事件后仅可自荧光团发射单一光子,如图5-10A中所绘示。在时间 t_{e1} 下的第一激发事件之后,时间 t_{f1} 下的发射光子可出现于第一时间间隔内,从而所得电子信号累积于第一电子储存方格中(有助于方格1)。在时间 t_{e2} 下的后续激发事件中,时间 t_{f2} 下的发射光子可出现于第二时间间隔内,从而所得电子信号有助于方格2。

[0174] 在大量激发事件及信号累积之后,可读出时间方格化光检测器5-322的电子储存方格以提供样品孔的多值信号(例如两个或更多个值的直方图、N维向量等)。每一方格的信号值可取决于荧光团的衰减速率。举例而言且再次参照图5-8,具有衰减曲线B的荧光团的方格1对方格2信号比高于具有衰减曲线A的荧光团。可分析方格值且针对校准值和/或彼此比较以测定特定荧光团,此继而鉴别样品孔中连接至荧光团的核苷酸或核苷酸类似物(或所关注的任一其他分子或样品)。

[0175] 为进一步有助于理解信号分析,举例而言,累积的多方格值可绘示为直方图,如图

5-10B中所绘示,或可记录为N维空间中的向量或位置。可单独实施校准实验以获取连接至4种核苷酸或核苷酸类似物的4个不同荧光团的多值信号的校准值(例如校准直方图)。作为一实例,校准直方图可表示为图5-11A(荧光标记与T核苷酸缩合)、图5-11B(荧光标记与A核苷酸缩合)、图5-11C(荧光标记与C核苷酸缩合)及图5-11D(荧光标记与G核苷酸缩合)中所绘示一般。所量测多值信号(对应于图5-10B的直方图)与校准多值信号的对比可确定引入DNA生长链中的核苷酸或核苷酸类似物的属性「T」(图5-11A)。

[0176] 在一些实施方案中,可另外或替代地使用荧光强度来区分不同荧光团。举例而言,一些荧光团可在显著不同的强度下发射或具有显著激发机率差异(例如至少相差约35%),即使其衰减速率可是类似的。借由参照分方格信号(方格1-3)与所量测激发光方格0,可基于强度值来区分不同荧光团。

[0177] 在一些实施方案中,不同数量的相同类型荧光团可连接至不同核苷酸或核苷酸类似物,从而可基于荧光团强度来鉴别核苷酸。举例而言,两个荧光团可连接至第一核苷酸(例如「C」)或核苷酸类似物且4个或更多个荧光团可连接至第二核苷酸(例如「T」)或核苷酸类似物。因荧光团数量不同,故可存在与不同核苷酸有关的不同激发及荧光团发射机率。举例而言,「T」核苷酸或核苷酸类似物在信号累积间隔期间可存在较多发射事件,从而方格的表观强度显著高于「C」核苷酸或核苷酸类似物。

[0178] 发明者已认识到且了解,基于荧光团衰减速率和/或荧光团强度来区分核苷酸或任何其他生物或化学样品使得能够简化仪器5-104中的光学激发及检测系统。举例而言,可使用单一波长来源(例如产生一种特征波长的来源,而非多个来源或在多个不同特征波长下操作的来源)来实施光学激发。另外,在检测系统中可能无需区分波长的光学装置及滤波器。同样,每一样品孔可使用单一光检测器以检测来自不同荧光团的发射。经简化光学激发及检测系统促进了自样品孔至光检测器的较短光学路径,这可以改良信号收集和/或允许像素在集成装置中占据较小覆盖区域。

[0179] 词组「特征波长」或「波长」用于指有限辐射带宽内的中心或主要波长(例如脉冲光学来源的20nm带宽输出内的中心或峰波长)。在一些情形下,「特征波长」或「波长」可用于指一定来源的辐射输出总带宽内的峰波长。

[0180] 发明者已认识到且了解,发射波长在约560nm至约900nm范围内的荧光团可提供拟借由时间方格化光检测器(其可使用CMOS制程制作于硅晶圆上)检测的适当量荧光。这些荧光团可连接至所关注生物分子(例如核苷酸或核苷酸类似物)。可在基于硅的光检测器中以高于较长波长荧光的反应性检测到此波长范围中的荧光发射。另外,此波长范围中的荧光团及相关连接体可不干扰核苷酸或核苷酸类似物在DNA生长链中的引入。发明者亦已认识到且了解,可使用单一波长来源来以光学方式激发发射波长在约560nm至约660nm范围内的荧光团。此范围中的一实例性荧光团是Alexa Fluor 647,其可自Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts获得。发明者亦已认识到且了解,可需要较短波长(例如介于约500nm与约650nm之间)下的激发光来激发在介于约560nm与约900nm之间的波长下发射的荧光团。在一些实施方案中,时间方格化光检测器可(例如)借由将其他材料(例如Ge)引入光检测器主动区中来有效检测来自样品的较长波长发射。

[0181] 尽管使用发射单一特征波长的激发源对DNA进行测序的前景可简化一些光学系统,但其可对激发源提出技术上有挑战性的要求,如上所述。举例而言,发明者已认识到且

了解,在上述检测方案中,来自激发源的光学脉冲应迅速熄灭,从而激发光并不淹没或干扰随后检测的荧光信号。在一些实施方案中且再次参照图5-5,可在波导5-315与时间方格化光检测器5-322之间不存在波长滤波器。为避免激发光干扰后续信号收集,激发脉冲可能需要在约100ps内自激发脉冲的峰将强度减小至少50dB。在一些实施方案中,激发脉冲可能需要在约100ps内自激发脉冲的峰将强度减小至少80dB。发明者已认识到且了解,锁模激光可提供该快速关闭特性。然而,锁模激光可能难以以稳定锁模状态操作延长时间段。同样,因脉冲重复速率可能需要低于100MHz以用于数据获取目的,故锁模激光谐振腔的长度可变得极长。这些较长长度不同于可引入可携式桌上型仪器中的紧凑光学来源。另外,锁模激光必须在每一脉冲中提供适当能量(或高平均功率)以用于在低于660nm的波长下激发荧光团,从而可使用集成光二极管平行检测数千或甚至数百万个样品孔的荧光。发明者另外已认识到且了解,锁模激光的光束质量应较高(例如 M^2 值小于1.5),从而可(例如)有效耦合至集成装置5-102的光耦合器及波导。当前,尚无具有以下特征的商业可用的锁模激光系统:在重复速率50MHz至200MHz、波长500nm至650nm、平均功率250mW至1W下提供脉冲,且呈可引入可携式桌上型仪器中且保持稳定延长时间段的紧凑模块的形式(例如占据小于0.1ft³的体积)。

[0182] 在一些实施方案中,可使用一或多种标记物标记样品,且可借由仪器辨别与标记物有关的发射。举例而言,光检测器可经配置以将来自发射光的光子转化成电子以形成电信号,可使用该电信号来辨别取决于的来自特定标记物的发射光的寿命。借由使用具有不同寿命的标记物来标记样品,可基于借由光检测器检测的所得电信号来鉴别特定样品。

[0183] 样品可含有多类分子且不同发光标记物可独特地与一类分子缔合。在激发期间或之后,发光标记物可发射发射光。可使用发射光的一或多种性质来鉴别样品中的一或多类分子。用于区分分子类型的发射光性质可包含荧光寿命值、强度和/或发射波长。光检测器可检测光子(包含发射光的光子),且提供指示这些性质中的一或更多的电信号。在一些实施方案中,来自光检测器的电信号可提供关于在一或多个时间间隔中的光子到达时间分布的信息。光子到达时间分布可对应于在借由激发源发射激发光脉冲之后检测到光子的时间。时间间隔值可对应于在该时间间隔期间检测的光子数。多个时间间隔中的相对值可指示发射光的时间特性(例如寿命)。样品分析可包含借由比较分布内两个或更多个不同时间间隔的值来区分标记物。在一些实施方案中,可借由测定分布中所有时间方格中的光子数来提供强度指示。

[0184] IV. 总结

[0185] 已由此阐述本申请的技术的若干方面及实施方案后,应了解,本领域技术人员易于明了各种改变、修改及改良。这些改变、修改及改良也包括在本申请中所阐述技术的精神及范围内。因此,应理解,前述实施方案仅是以举例方式呈现且在随附权利要求及其等效物的范围内,可不同于所特定阐述来实践发明性实施方案。另外,若特征、系统、对象、材料、套组和/或方法并不相互矛盾,则两个或更多个这些特征、系统、对象、材料、套组和/或方法的任一组合包含于本发明范围内。

[0186] 同样,如所阐述,一些方面可体现为一或多种方法。作为方法的一部分实施的行动可以任一适宜方式排序。因此,实施方案可经构筑,其中以不同于所阐释的次序实施行动,其可包含同时实施一些行动,即使在阐释性实施方案中展示为依序行动。

[0187] 本文所定义及使用的所有定义应理解为控制在辞典定义、以引用方式并入的文档中的定义和/或所定义术语的普遍意义以内。

[0188] 除非明确指示为相反,否则如本文在说明书及在权利要求中使用的不定冠词「一(a及an)」应理解为意指「至少一个」。

[0189] 如本文在说明书及权利要求中所用,词组「和/或」应理解为意指如此结合的要素中的「任一者或两者」,亦即,在一些情形下以结合方式存在且在其他情形下以分离方式存在的要素。

[0190] 如本文在说明书中及在权利要求中所用,提及一或多个要素的清单的词组「至少一个」应理解为意指至少一个选自要素清单中的任一或多个要素的要素,但未必包含要素清单内特定列出的各自及每一要素中的至少一者,且不排除要素清单中要素的任何组合。此定义亦允许可视情况存在除词组「至少一个」所指的要素清单内特定鉴别的要素外的要素,不论与特定鉴别的那些要素相关抑或不相关。

[0191] 在权利要求以及在上文说明书中,所有过渡性词组(例如「包括」、「包含」、「携载」、「具有」、「含有」、「涉及」、「固持」、「由……构成」及诸如此类)应理解为是开放式,亦即意指包含但不限于。过渡性词组「由……构成」及「基本上由……构成」分别应是封闭式或半封闭式过渡性词组。

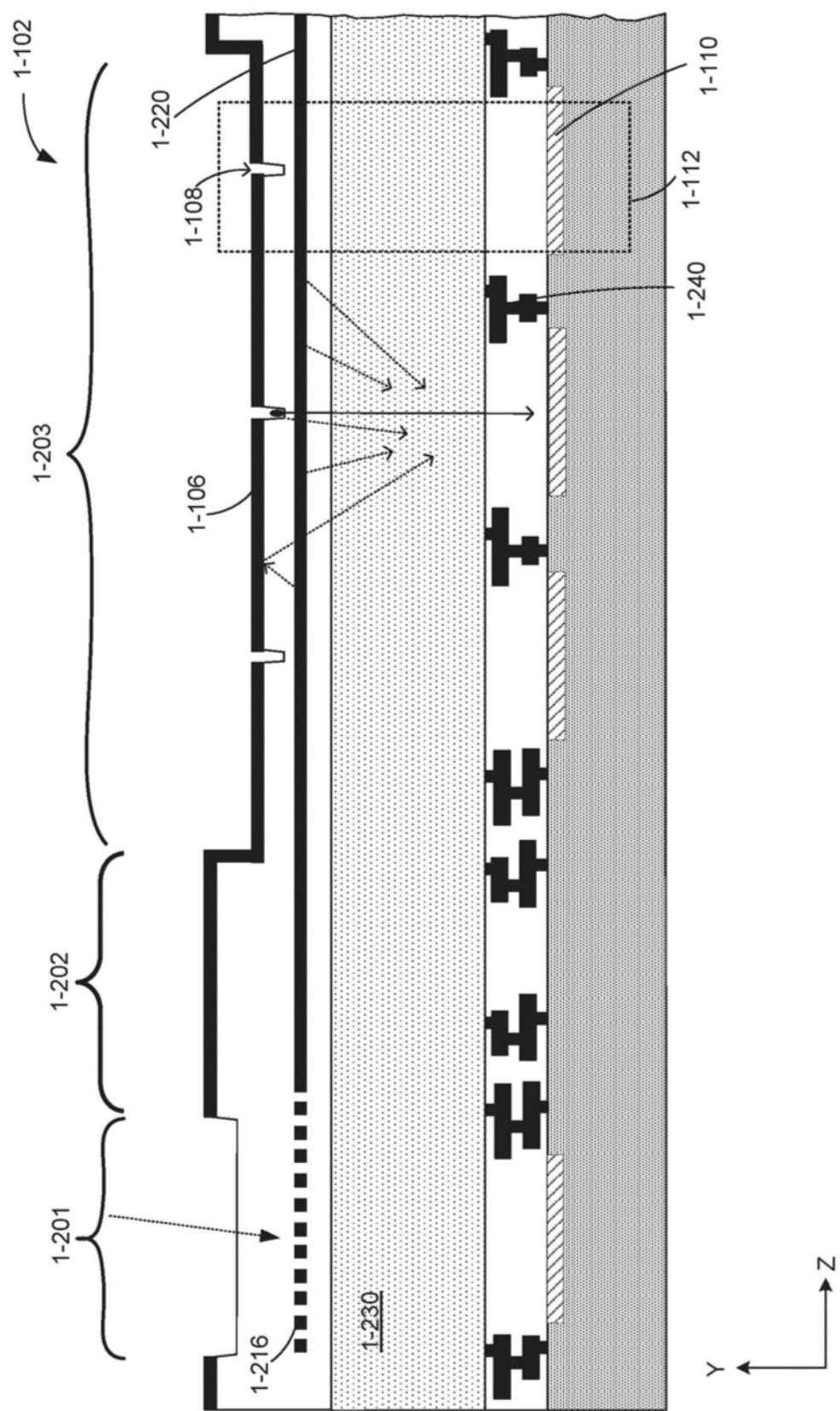


图1-1A

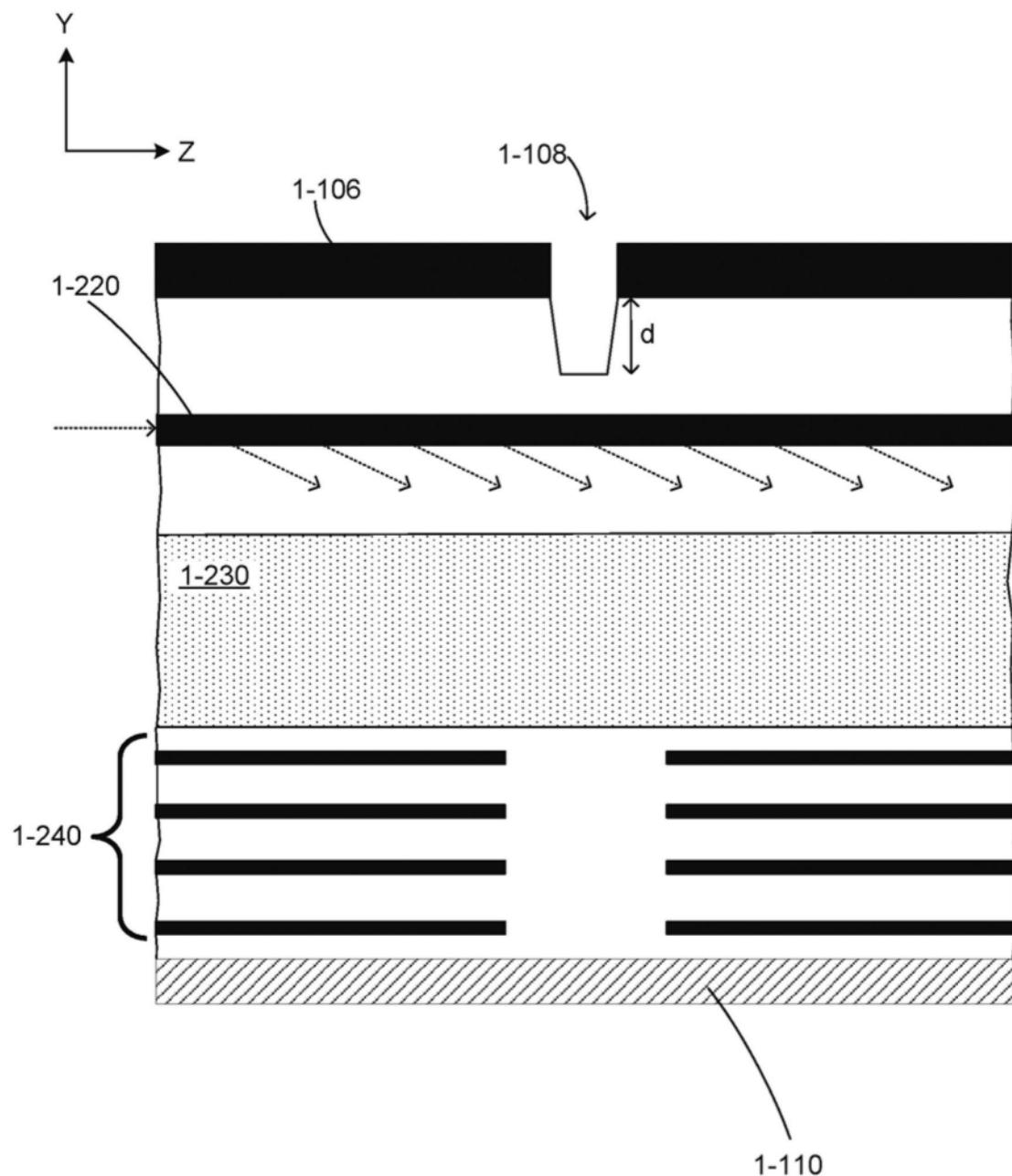


图1-1B

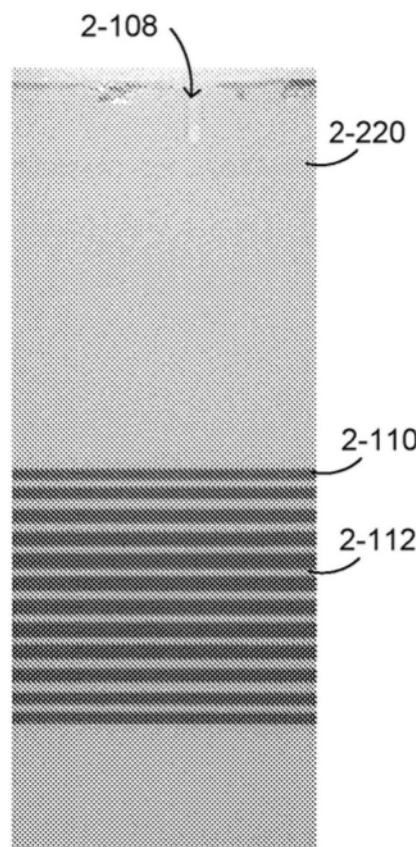


图2-1A

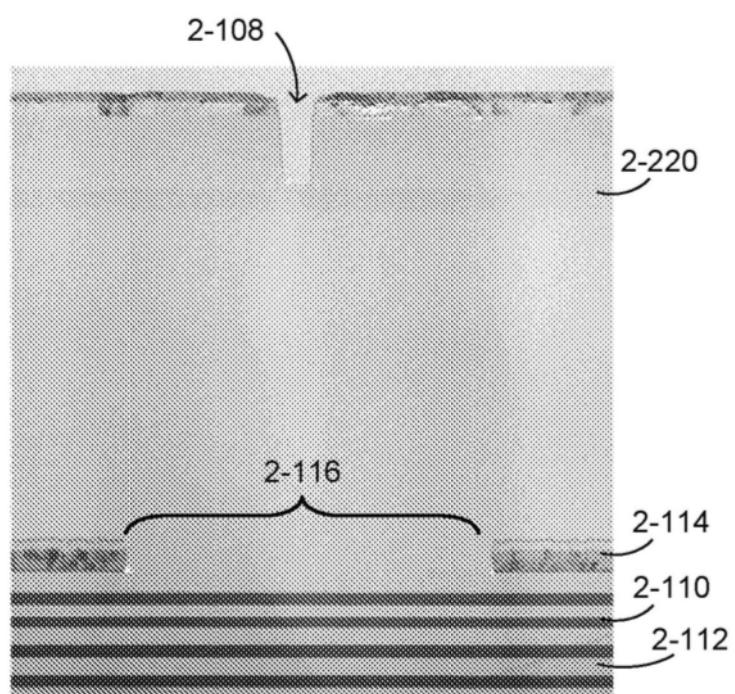


图2-1B

物质	厚度 <i>t_{form}</i>	指数
1 T ₄₂ C ₃	59.274	2.147%
2 S ₀₂	58.153	1.4864
3 T ₄₂ C ₃	47.568	2.147%
4 S ₀₂	92.345	1.4864
5 T ₄₂ C ₃	63.173	2.147%
6 S ₀₂	34.779	1.4864
7 T ₄₂ C ₃	62.764	2.147%
8 S ₀₂	69.569	1.4864
9 T ₄₂ C ₃	98.532	2.147%
10 S ₀₂	71.175	1.4864
11 T ₄₂ C ₃	65.514	2.147%
12 S ₀₂	82.885	1.4864
13 T ₄₂ C ₃	63.173	2.147%
14 S ₀₂	78.240	1.4864
15 T ₄₂ C ₃	61.186	2.147%
16 S ₀₂	82.880	1.4864
17 T ₄₂ C ₃	63.279	2.147%
18 S ₀₂	92.343	1.4864
19 T ₄₂ C ₃	64.271	2.147%
20 S ₀₂	88.127	1.4864
21 T ₄₂ C ₃	61.653	2.147%
22 S ₀₂	94.728	1.4864
23 T ₄₂ C ₃	43.231	2.147%

图2-2A

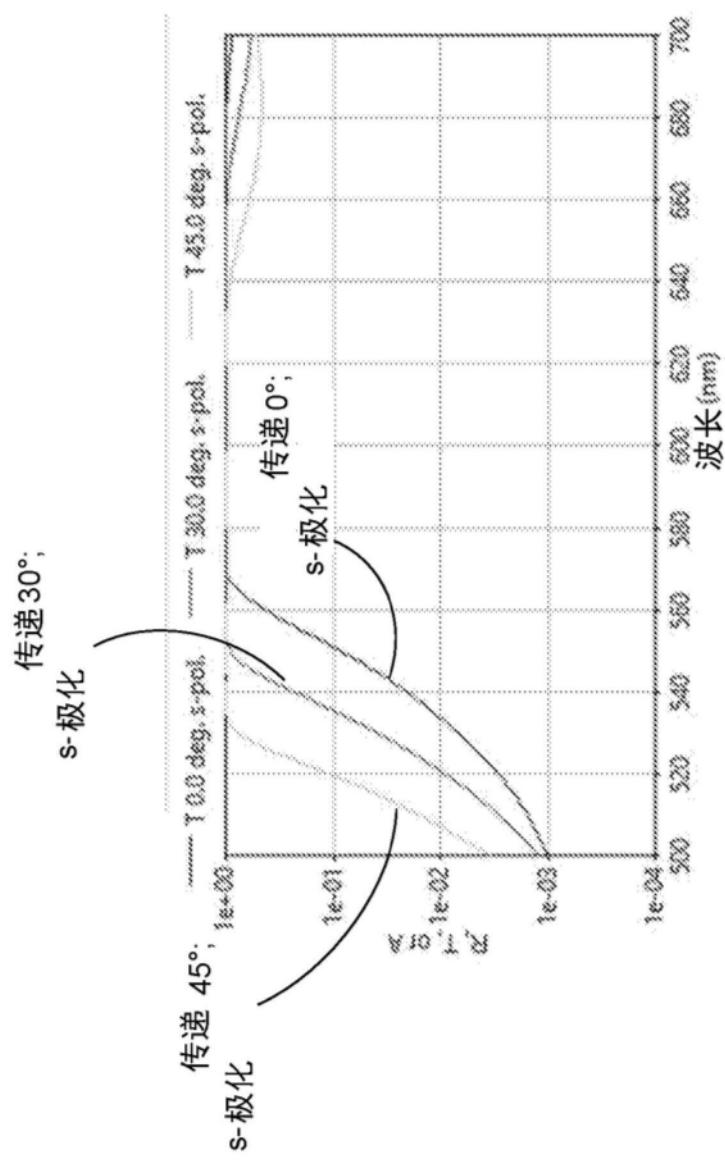


图2-2B

物质	厚度 _{form}	指数
1	1.6e03	2.3423
2	5.02	1.4864
3	1e035	2.3423
4	5e02	1.4864
5	1e035	2.3423
6	5e02	1.4864
7	1e035	2.3423
8	5e02	1.4864
9	1e035	2.3423
10	5e02	1.4864
11	1e035	2.3423
12	5e02	1.4864
13	1e035	2.3423
14	5e02	1.4864
15	1e035	2.3423
16	5e02	1.4864
17	1e035	2.3423
18	5e02	1.4864
19	1e035	2.3423
20	5e02	1.4864
21	1e035	2.3423
22	5e02	1.4864
23	1e035	2.3423
24	5e02	1.4864
25	1e035	2.3423
26	5e02	1.4864
27	1e035	2.3423
28	5e02	1.4864
29	1e035	2.3423
30	5e02	1.4864
31	1e035	2.3423
32	5e02	1.4864
33	1e035	2.3423
34	5e02	1.4864
35	1e035	2.3423
36	5e02	1.4864
37	1e035	2.3423

图2-3A

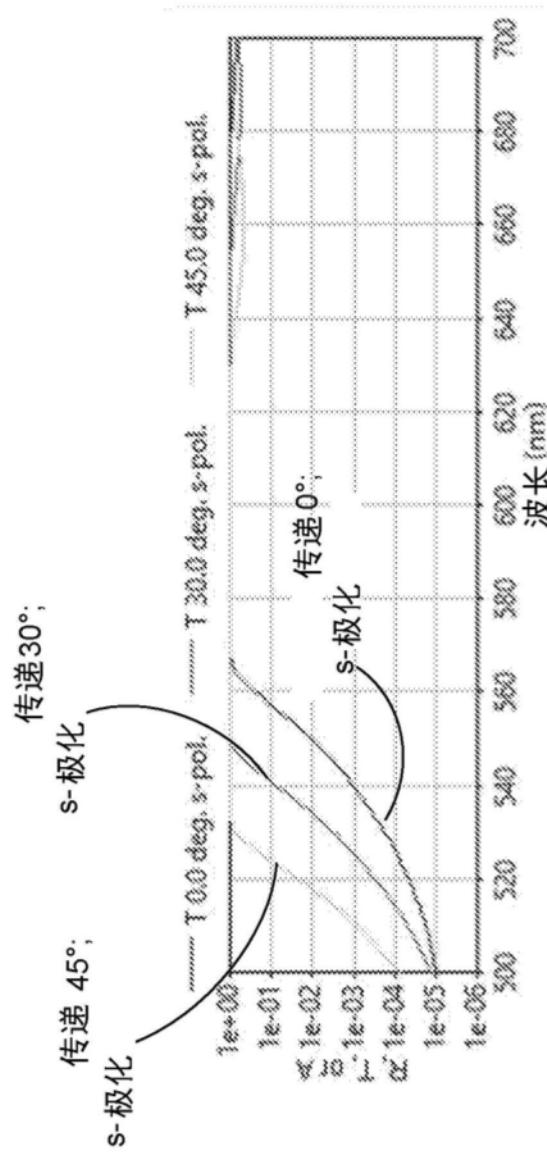


图2-3B

物质	厚度 _{λ_{486nm}}	指数
1 TiO ₂	46.227	2.38611
2 SiO ₂	52.535	1.48664
3 TiO ₂	53.239	2.38611
4 SiO ₂	78.034	1.48664
5 TiO ₂	56.134	2.38611
6 SiO ₂	76.336	1.48664
7 TiO ₂	53.038	2.38611
8 SiO ₂	73.583	1.48664
9 TiO ₂	56.182	2.38611
10 SiO ₂	73.475	1.48664
11 TiO ₂	56.281	2.38611
12 SiO ₂	73.282	1.48664
13 TiO ₂	53.677	2.38611
14 SiO ₂	74.310	1.48664
15 TiO ₂	56.545	2.38611
16 SiO ₂	75.356	1.48664
17 TiO ₂	57.203	2.38611
18 SiO ₂	68.486	1.48664
19 TiO ₂	53.818	2.38611
20 SiO ₂	73.232	1.48664
21 TiO ₂	55.685	2.38611
22 SiO ₂	74.259	1.48664
23 TiO ₂	56.095	2.38611
24 SiO ₂	53.853	1.48664
25 TiO ₂	73.926	2.38611

图2-4A

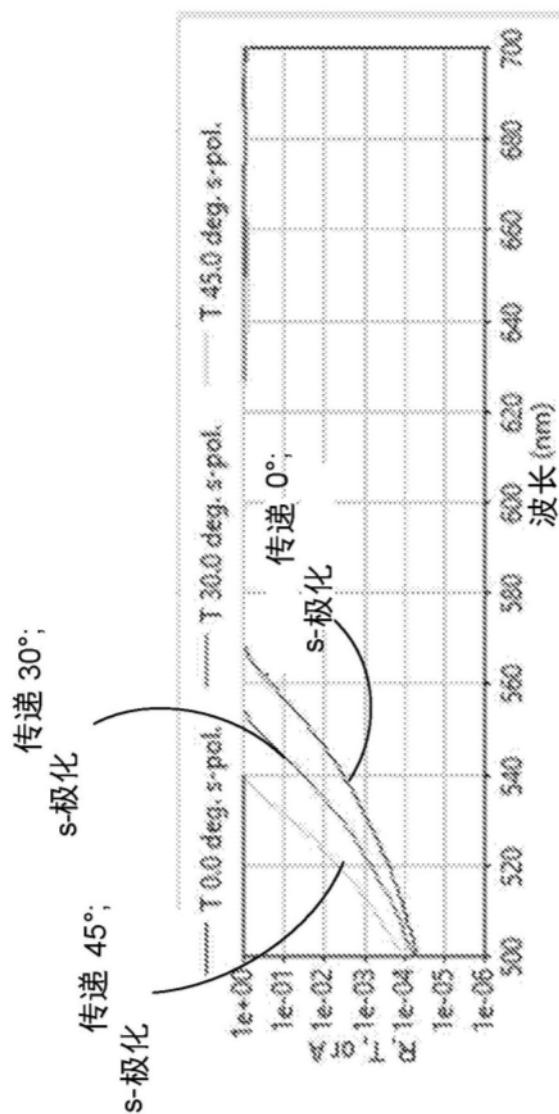


图2-4B

物质	厚度 mm	指数
1 TiC2x	34.279	2.7355
2 Sc2	33.138	1.4831
3 TiC2x	52.205	2.7355
4 Sc2	72.388	1.4831
5 TiC2x	61.155	2.7355
6 Sc2	42.571	1.4831
7 TiC2x	62.915	2.7355
8 Sc2	38.465	1.4831
9 TiC2x	62.388	2.7355
10 Sc2	22.546	1.4831
11 TiC2x	63.824	2.7355
12 Sc2	23.617	1.4831
13 TiC2x	63.024	2.7355
14 Sc2	72.869	1.4831
15 TiC2x	62.348	2.7355
16 Sc2	38.405	1.4831
17 TiC2x	62.915	2.7355
18 Sc2	42.570	1.4831
19 TiC2x	63.135	2.7355
20 Sc2	72.386	1.4831
21 TiC2x	52.205	2.7355
22 Sc2	33.138	1.4831
23 TiC2x	54.278	2.7355

图2-5A

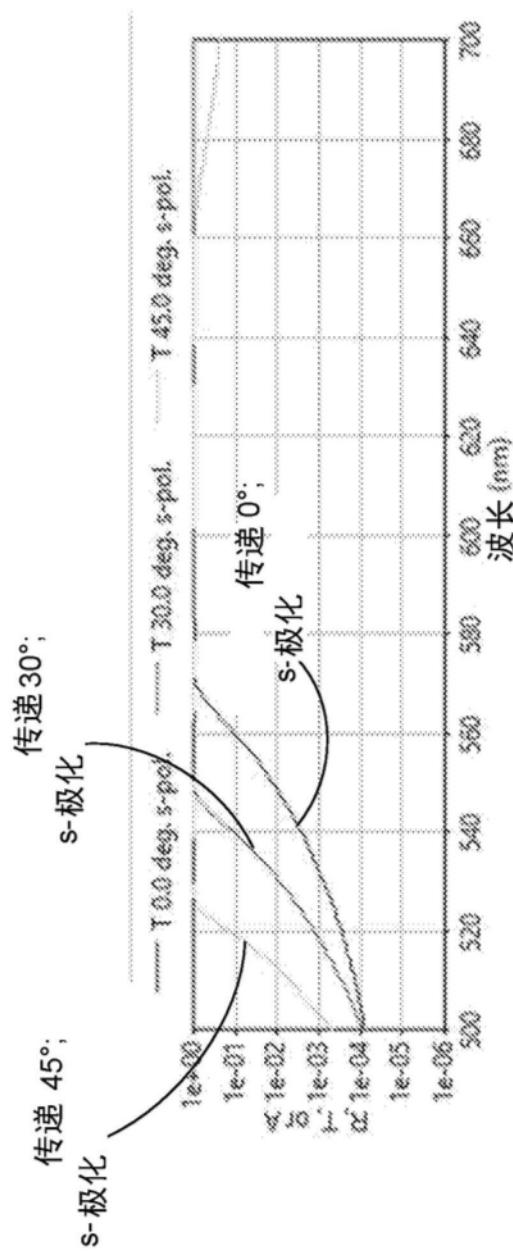


图2-5B

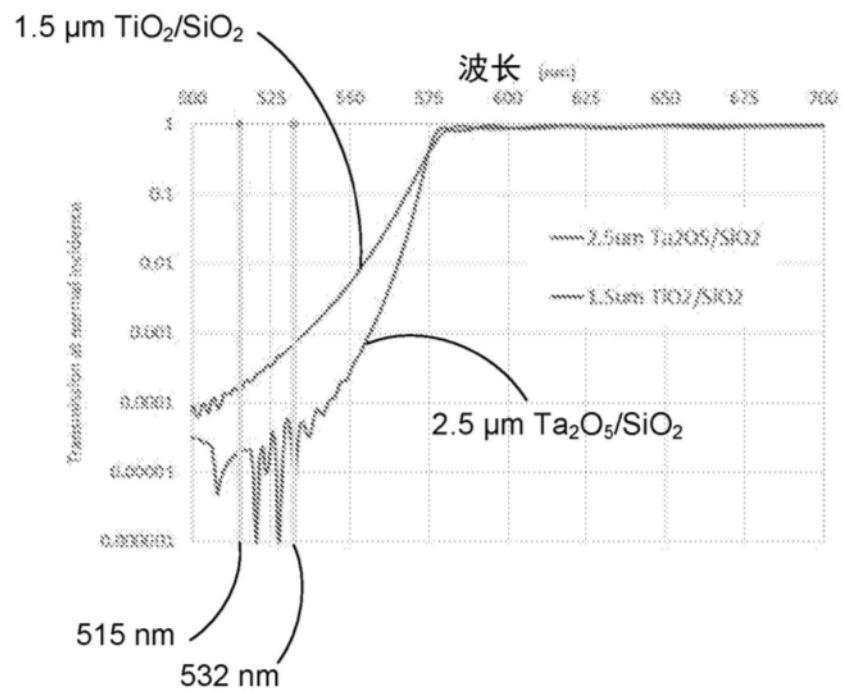


图2-6

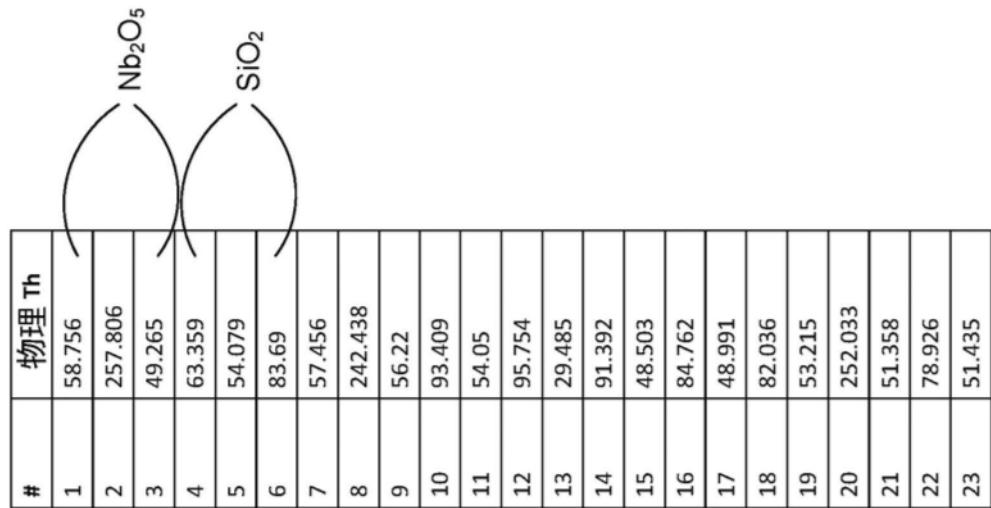


图2-7A

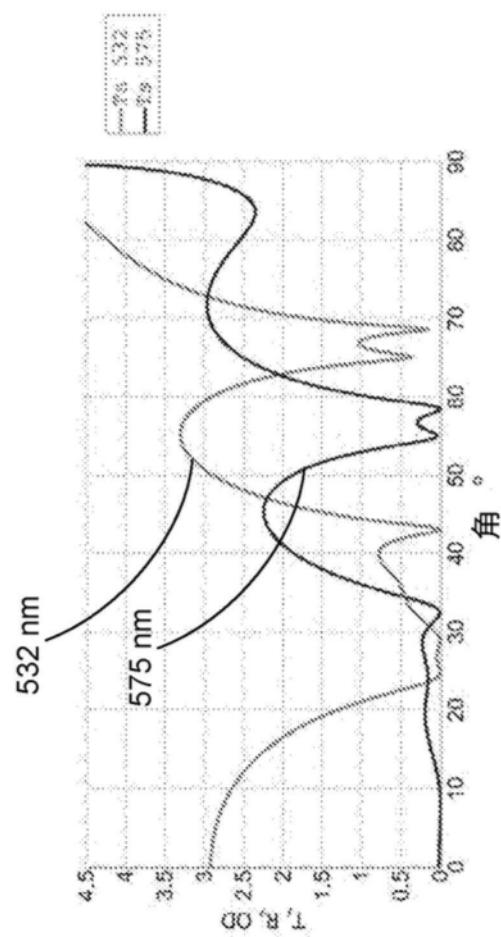


图2-7B

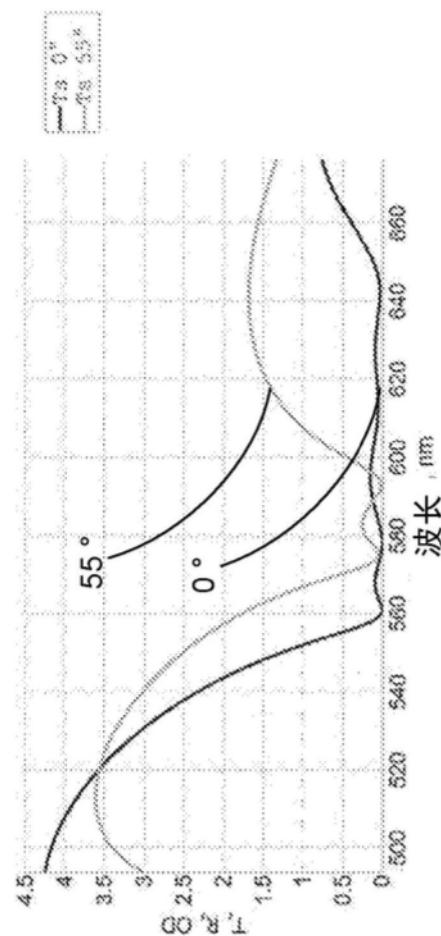


图2-7C

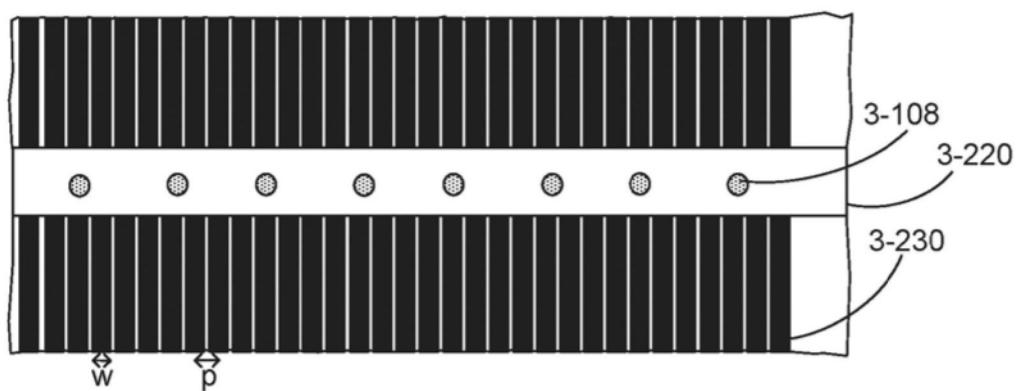


图3-1A

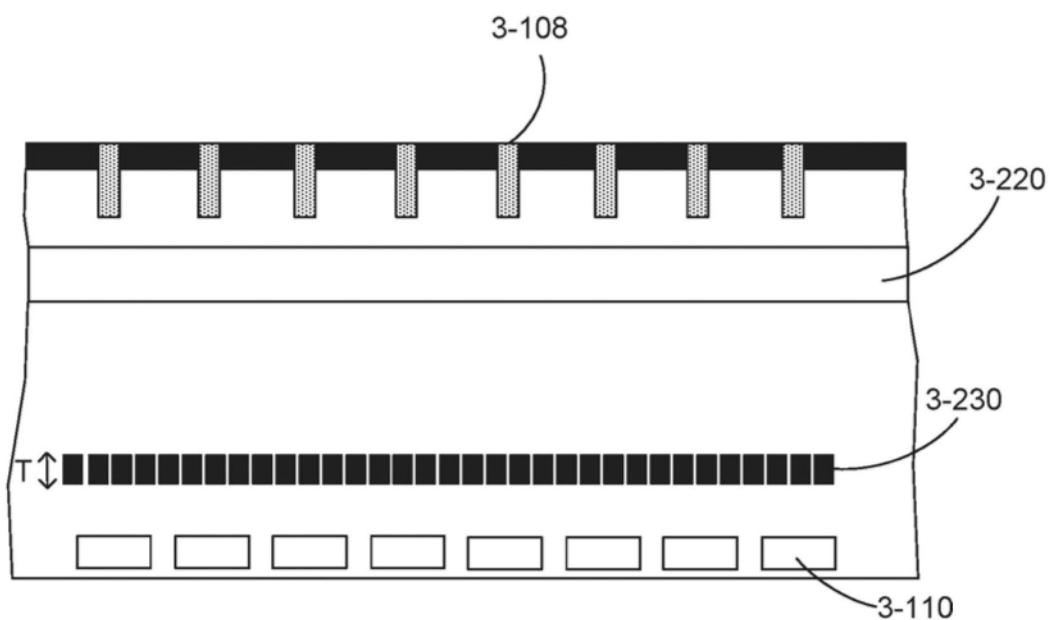


图3-1B

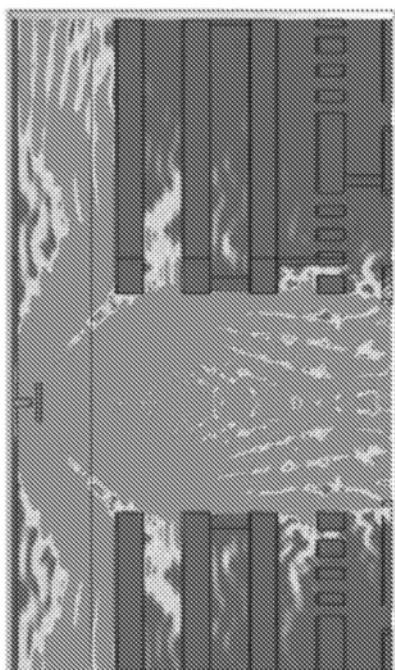


图3-2C

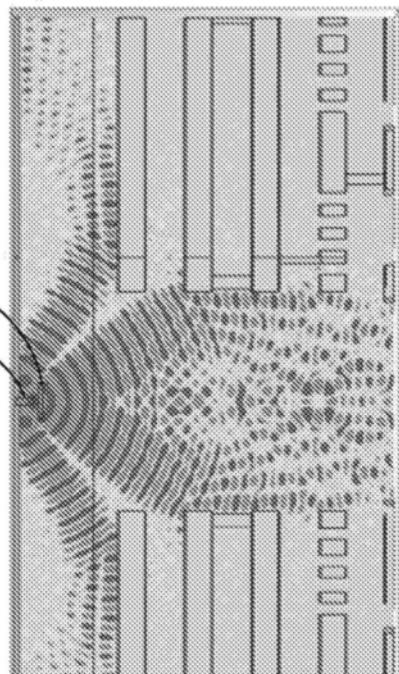
3-108
3-220

图3-2D

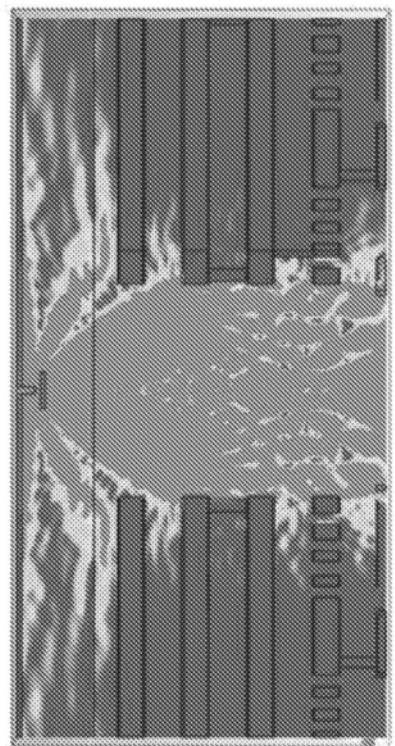


图3-2A

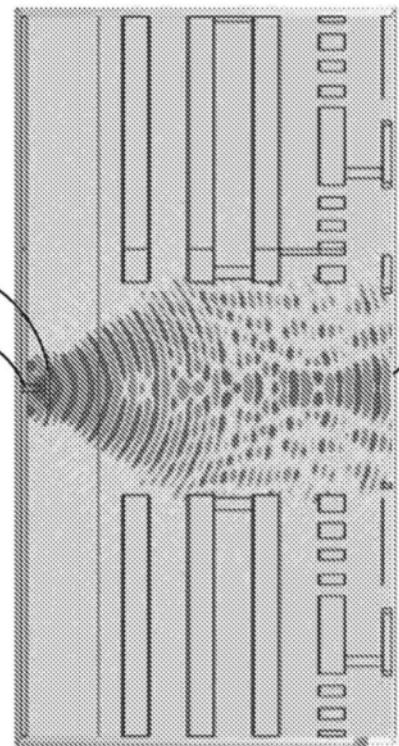
3-108
3-220

图3-2B

Y
X

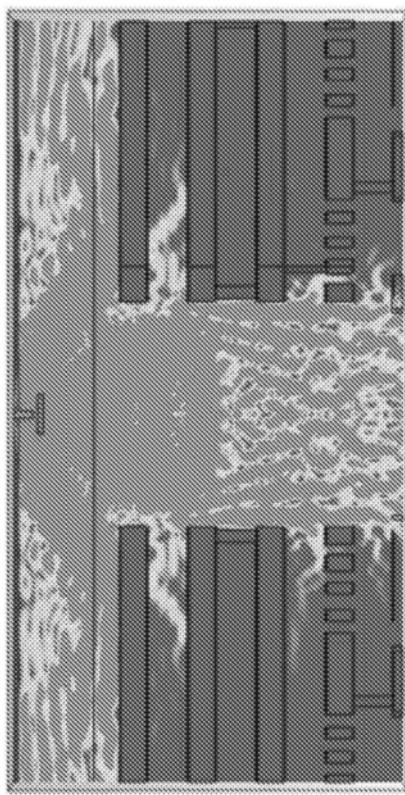
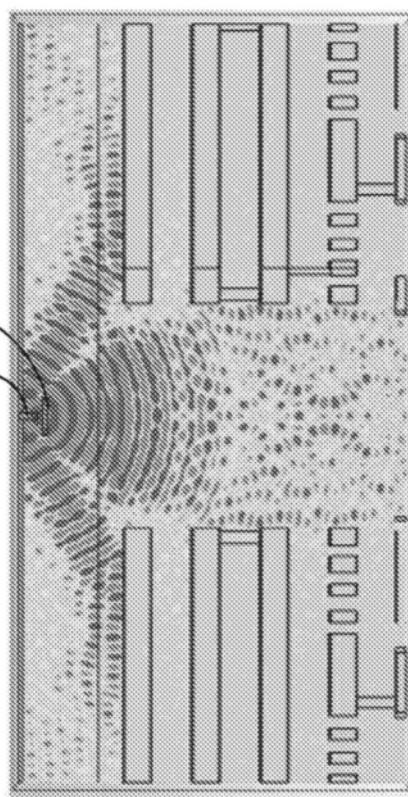


图3-3A

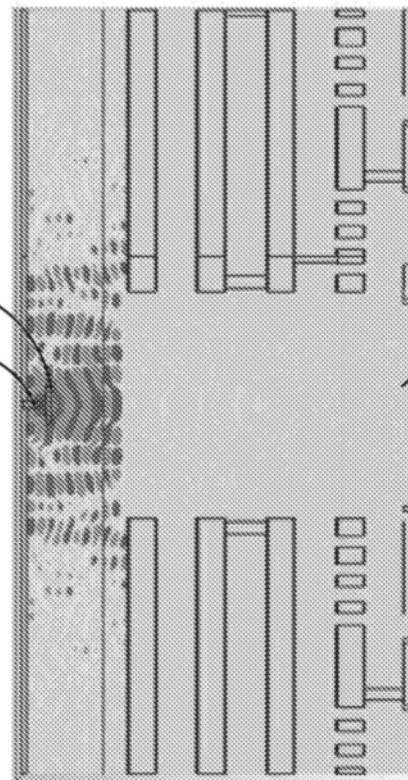
图3-3A

X
Y



3-108 3-220

图3-3D



3-108
3-220

3-110

图3-3B

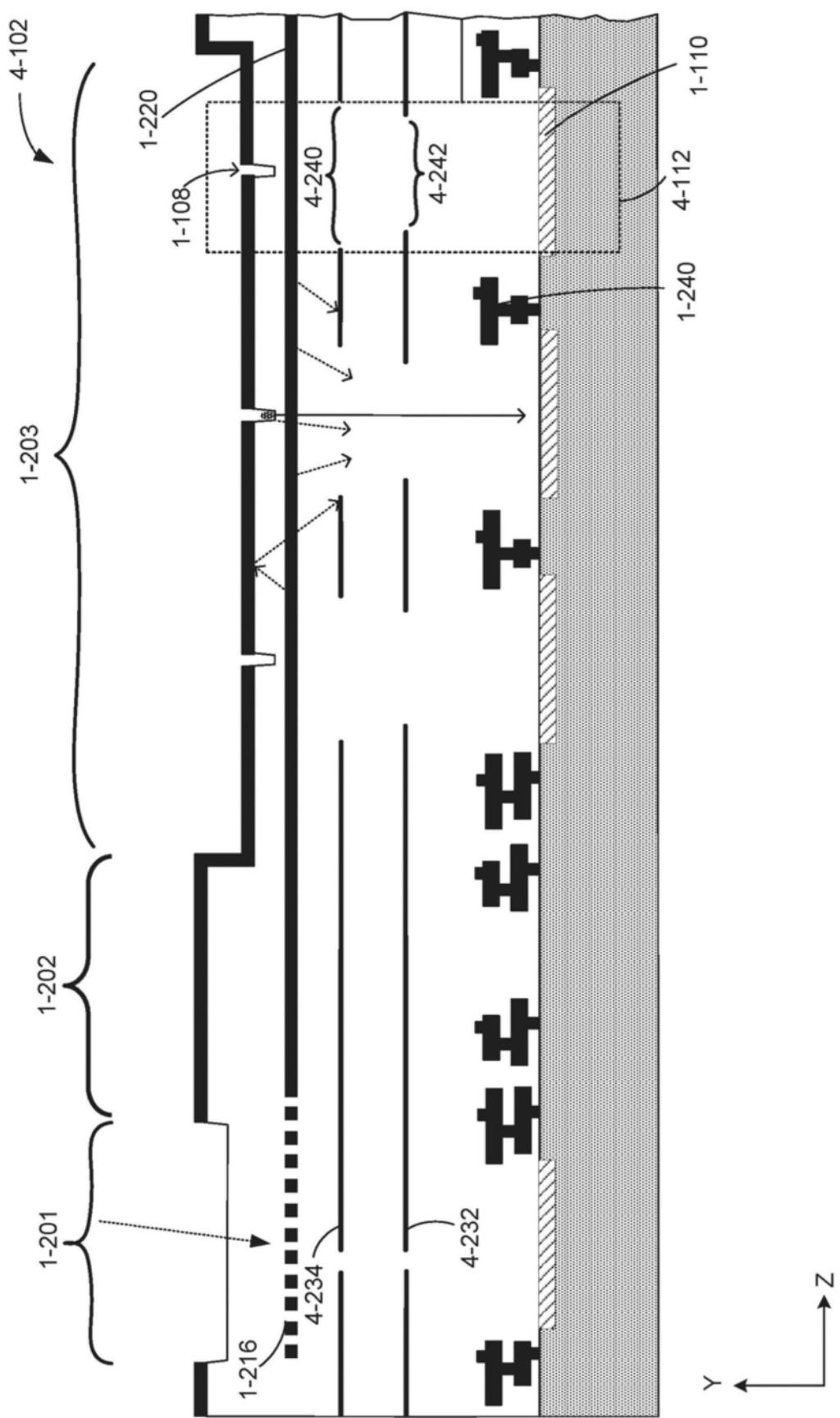


图4-1A

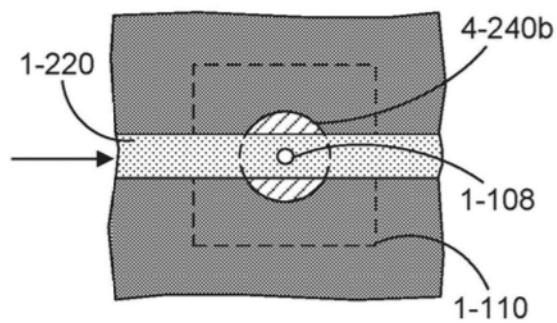


图4-1B

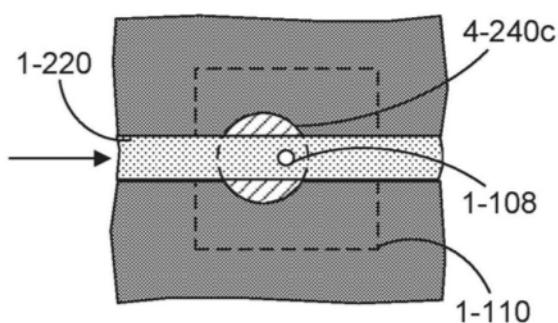


图4-1C

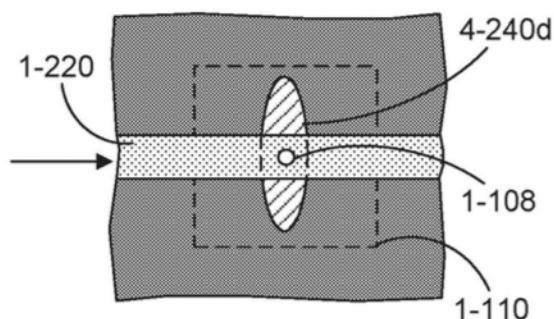


图4-1D

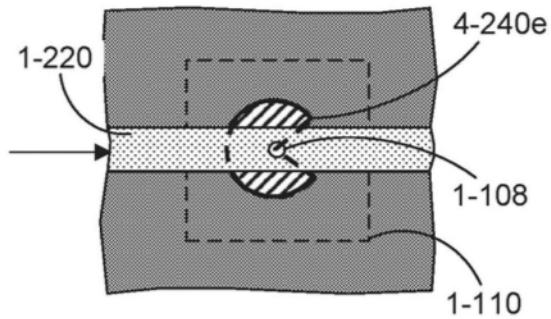


图4-1E

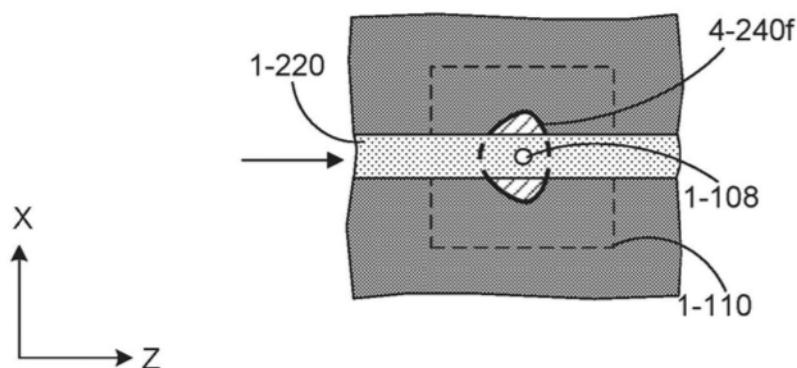


图4-1F

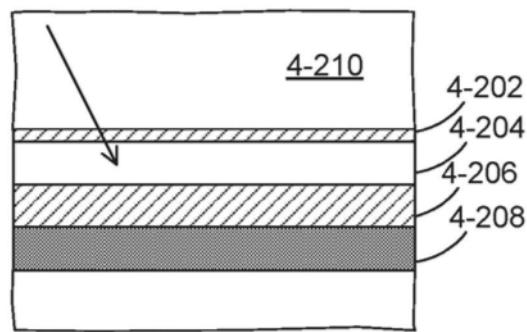


图4-2

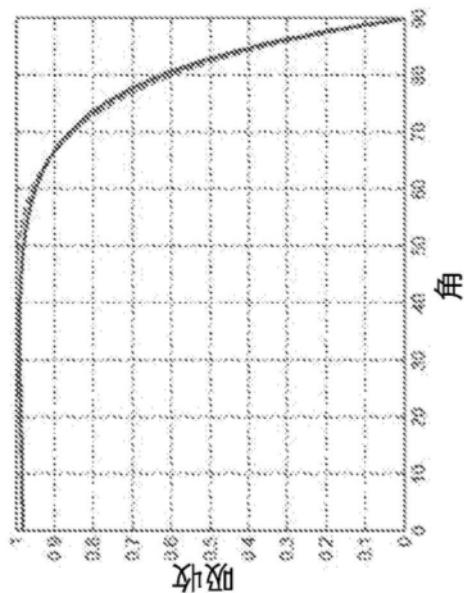


图4-3A

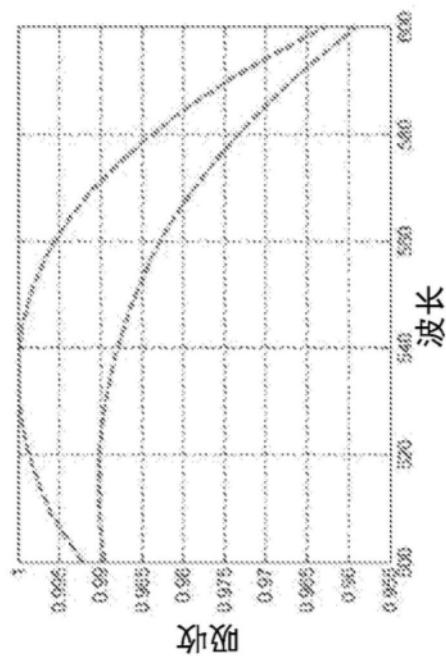


图4-3B

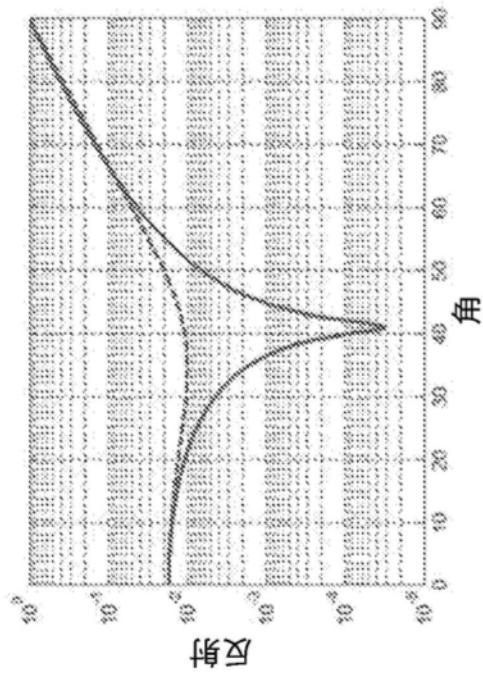


图4-3C

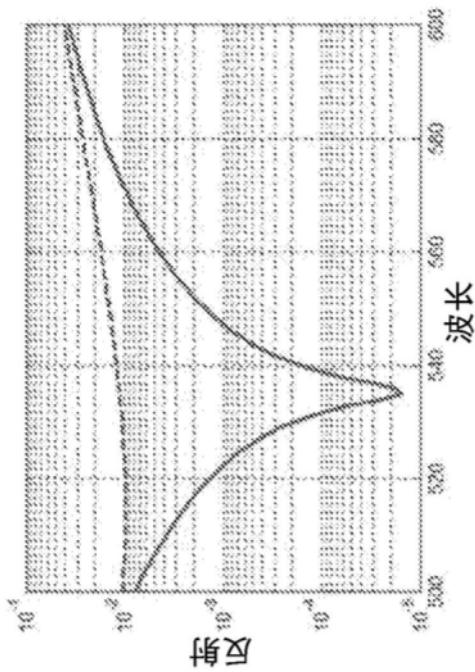


图4-3D

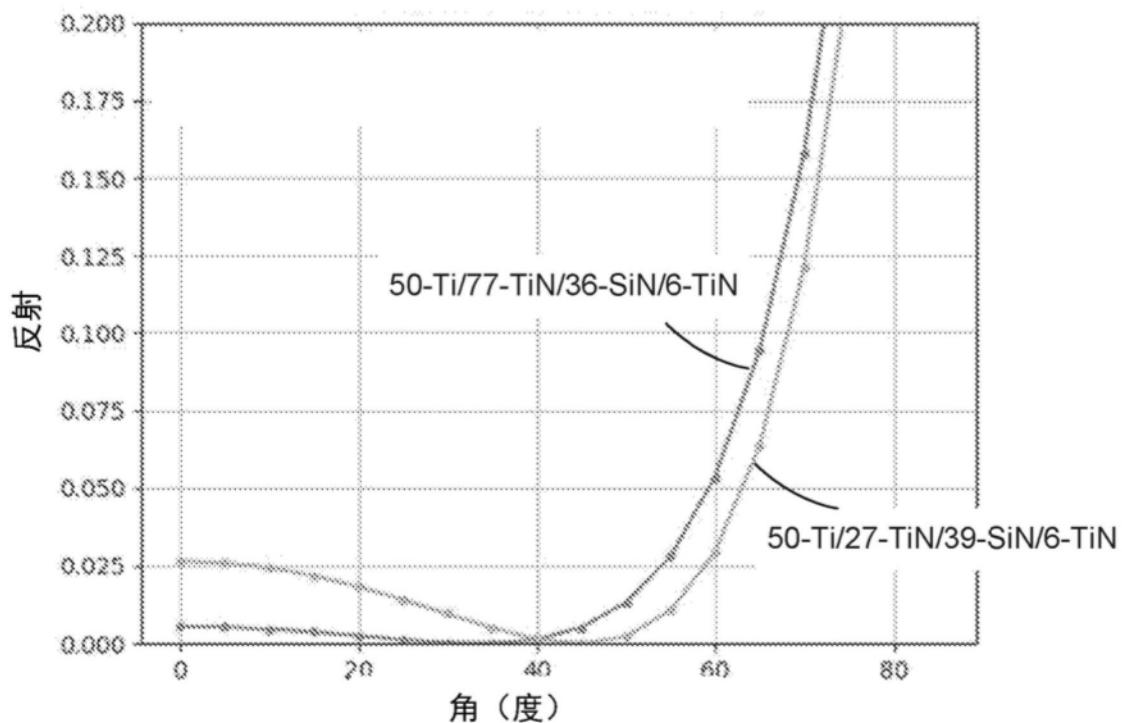


图4-3E

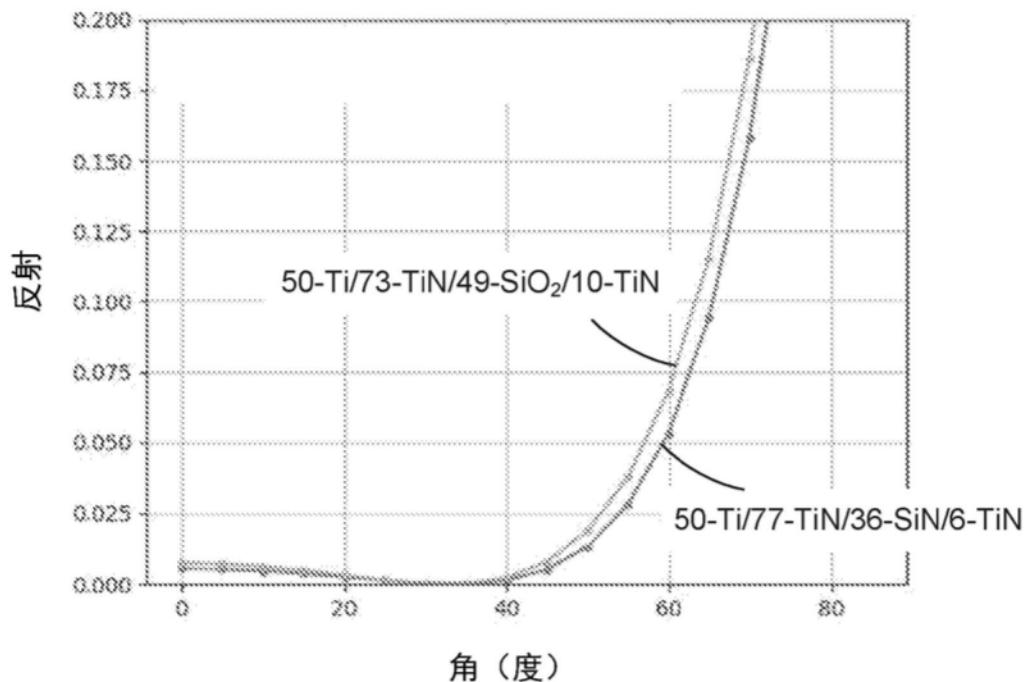


图4-3F

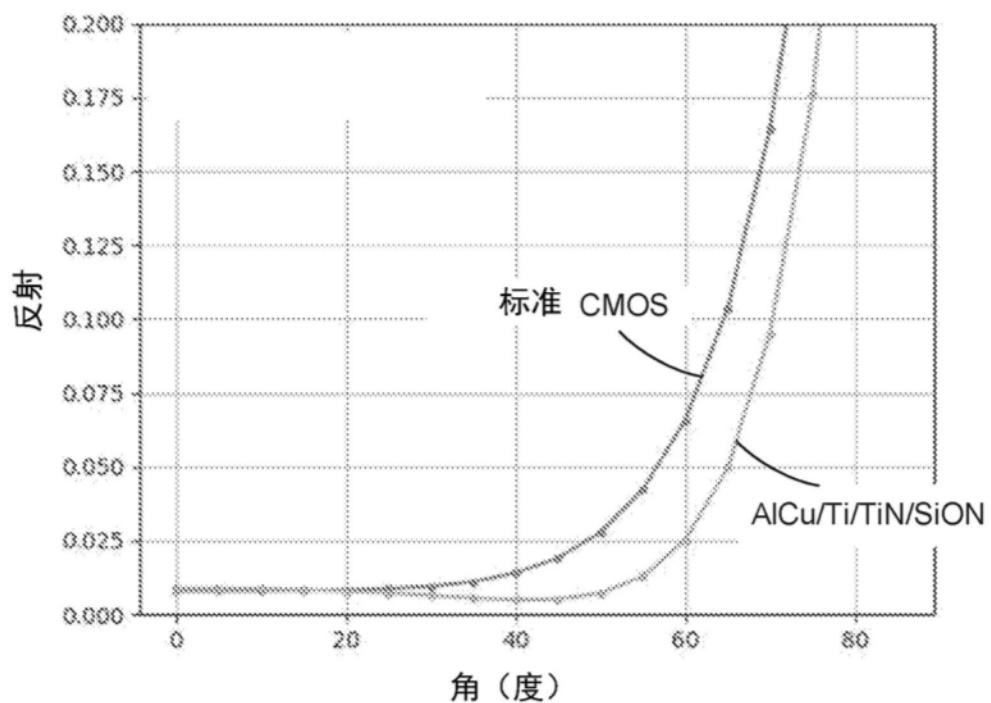


图4-3G

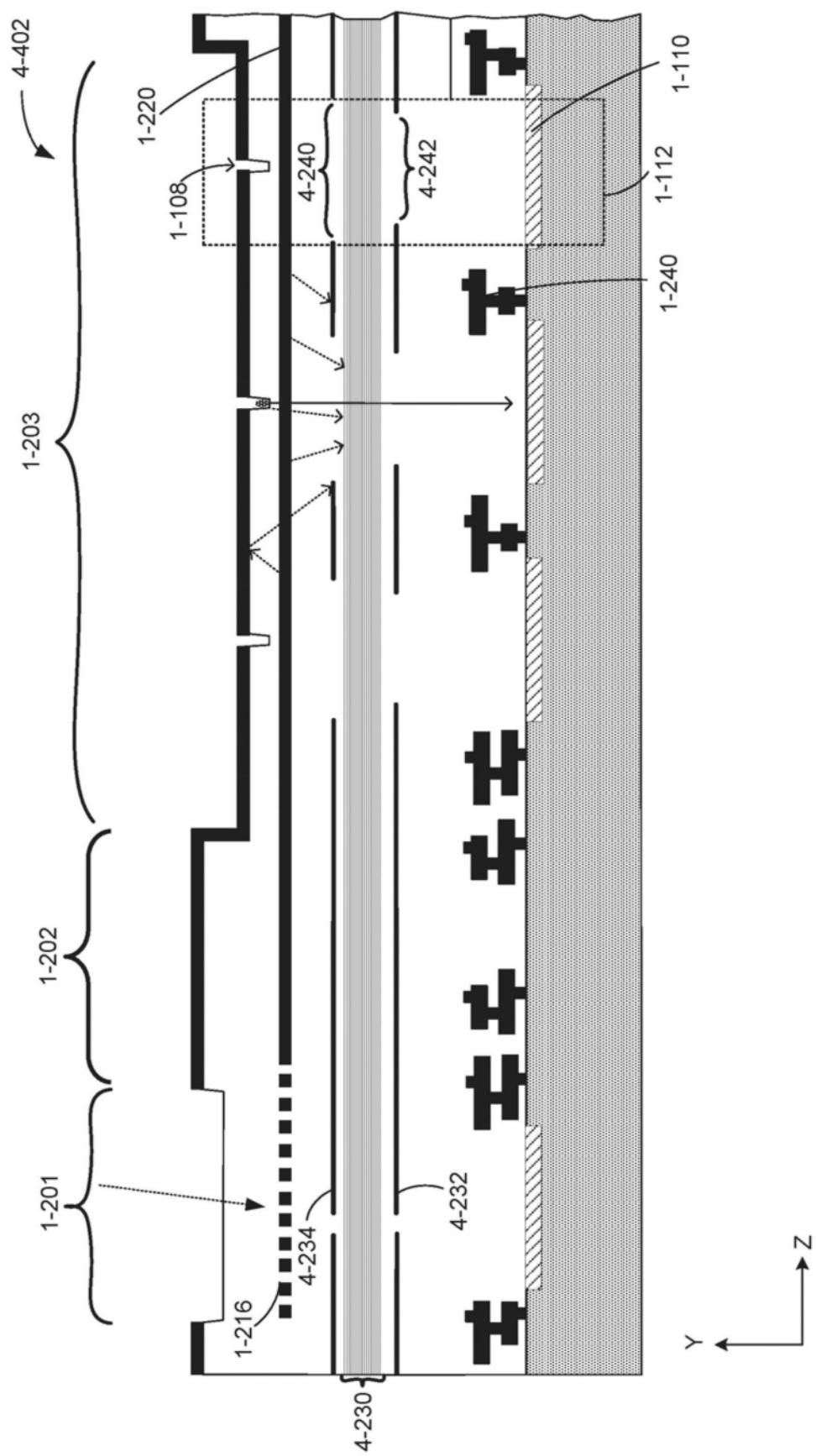
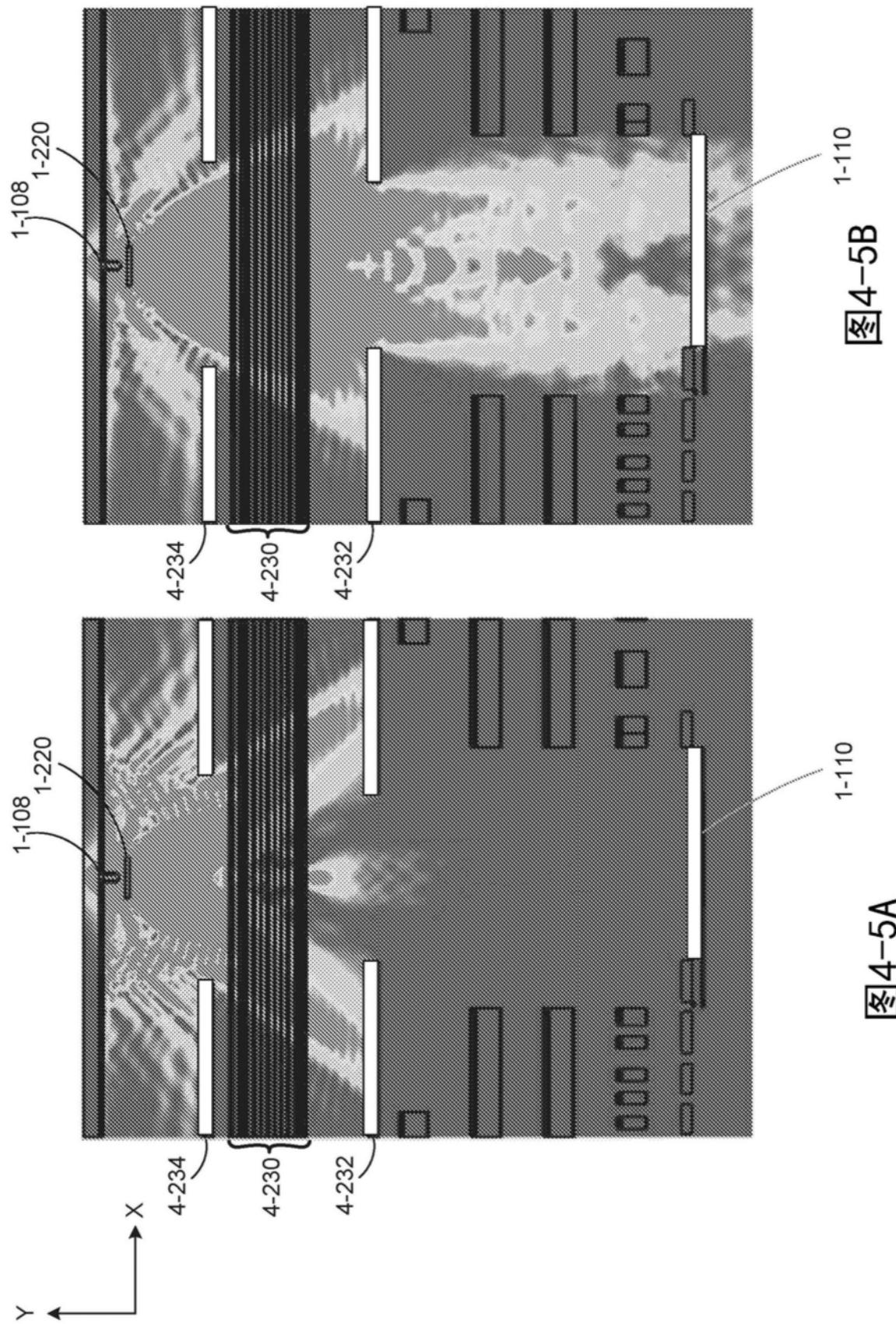


图4-4



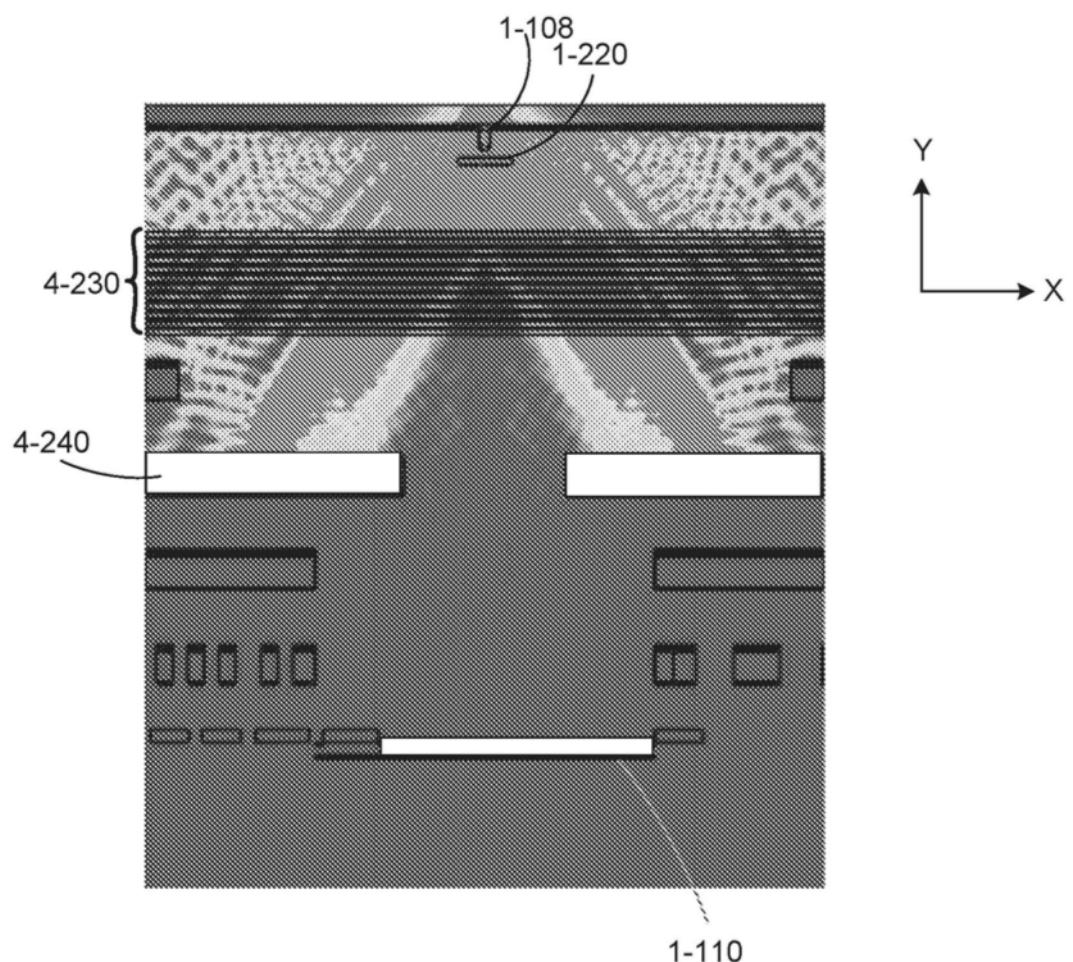


图4-6

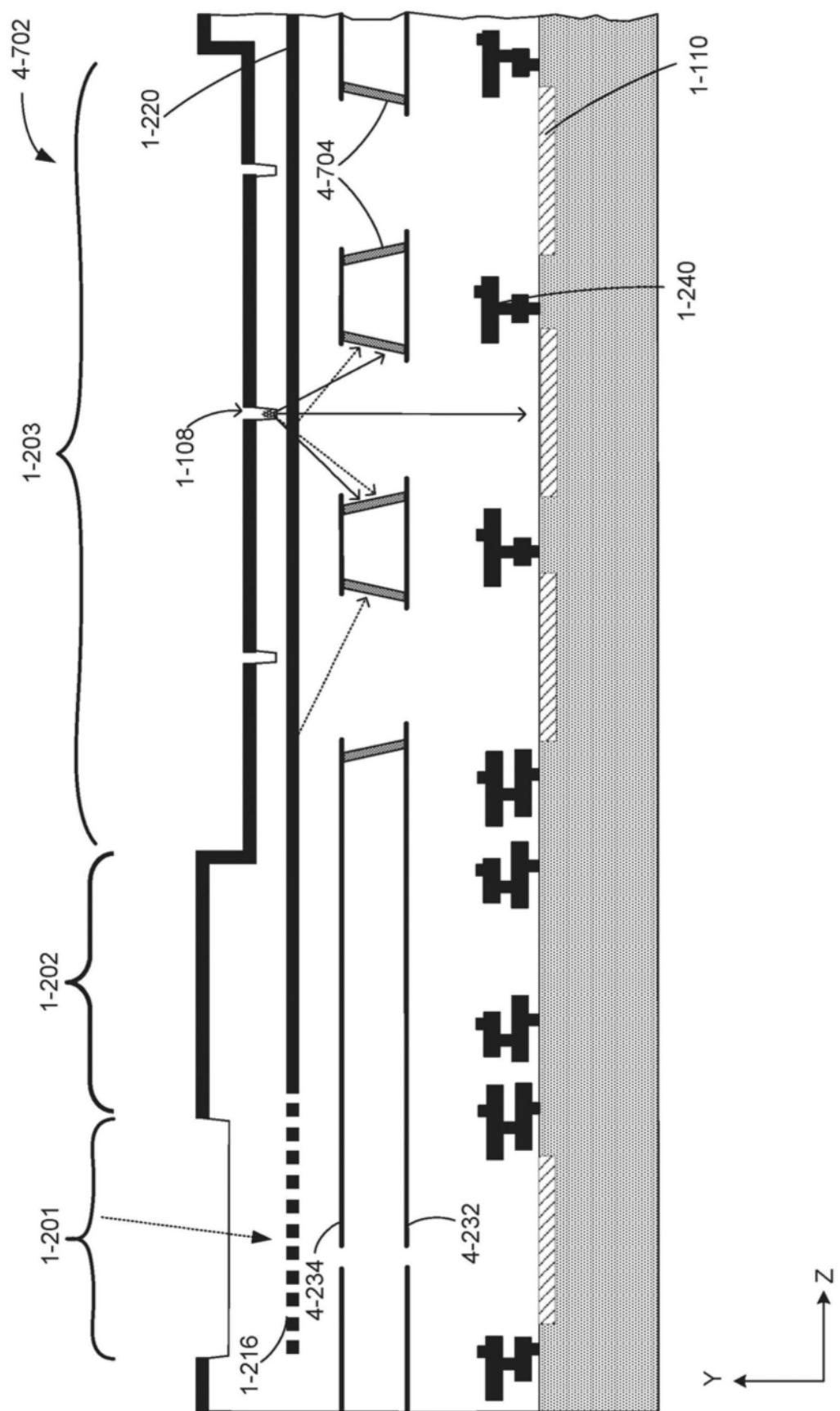


图4-7

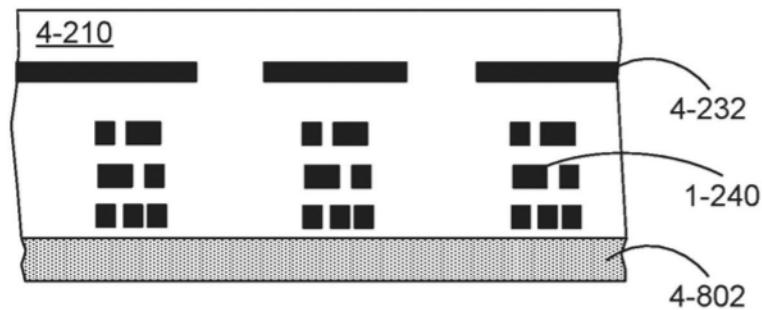


图4-8A

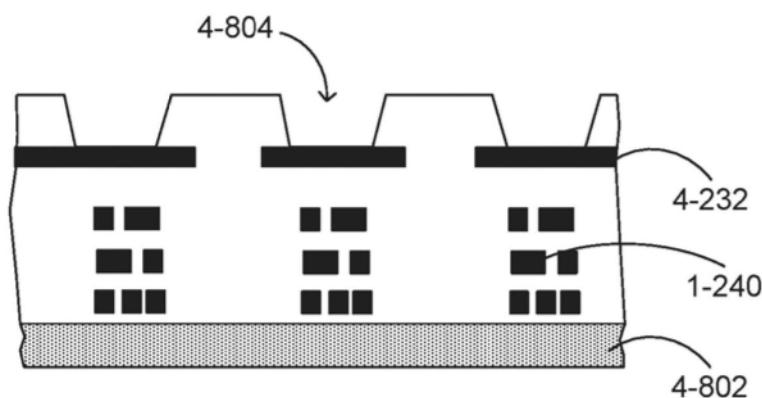


图4-8B

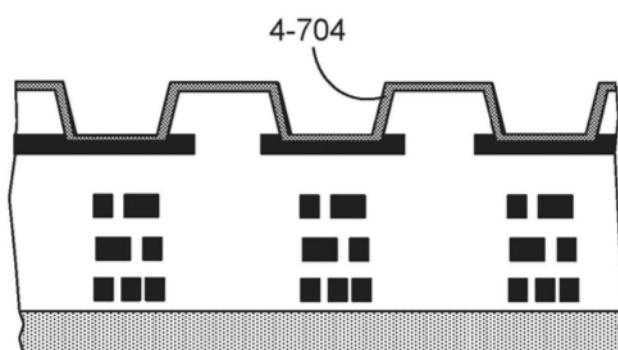


图4-8C

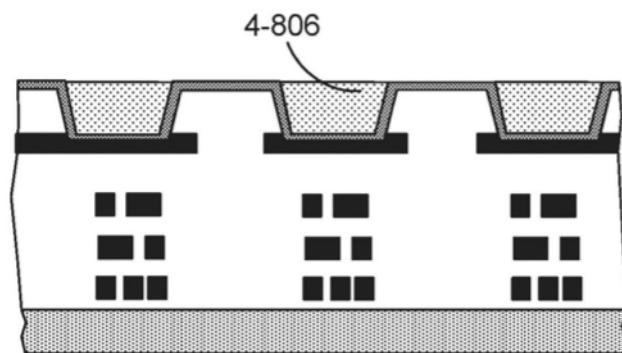


图4-8D

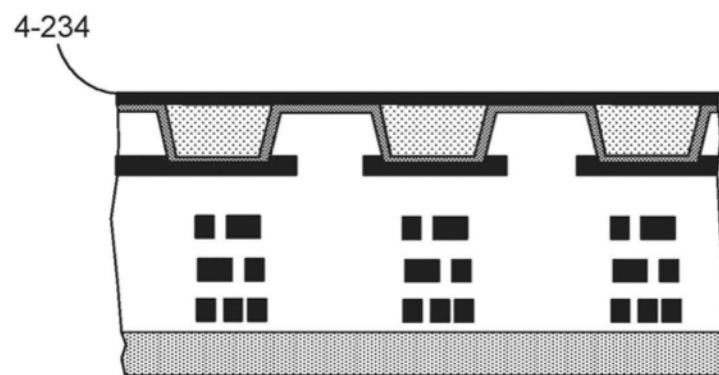


图4-8E

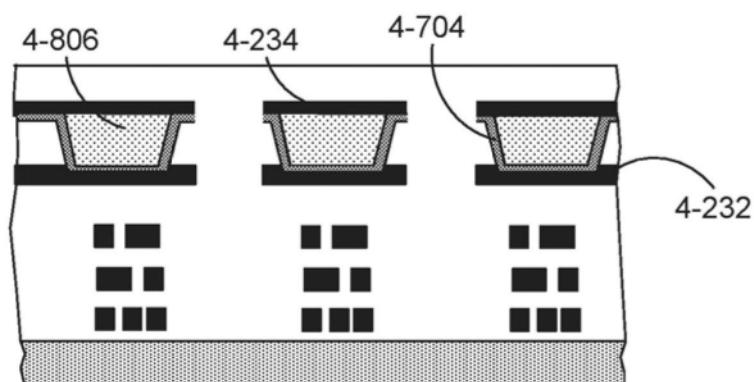


图4-8F

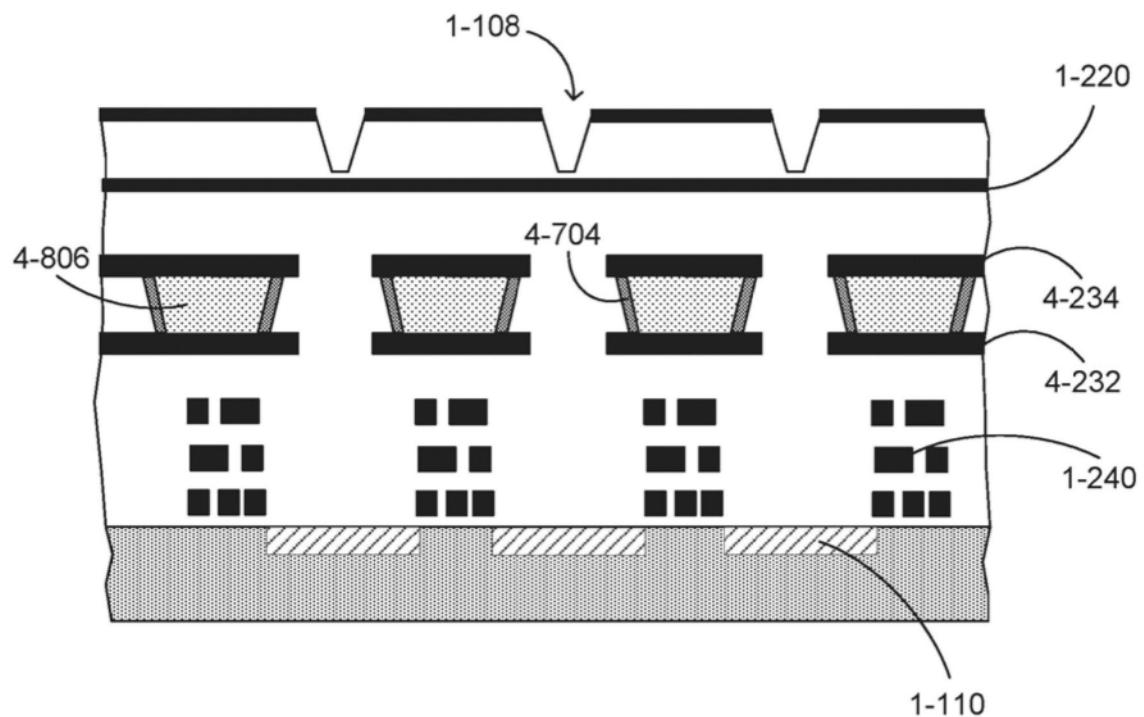


图4-9A

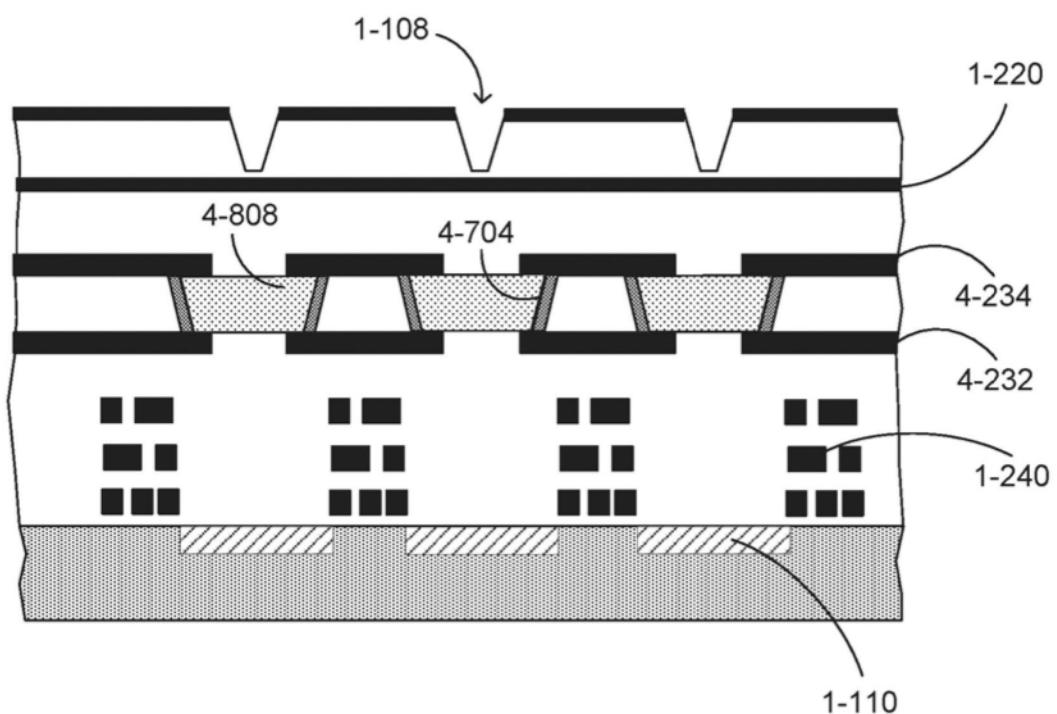


图4-9B

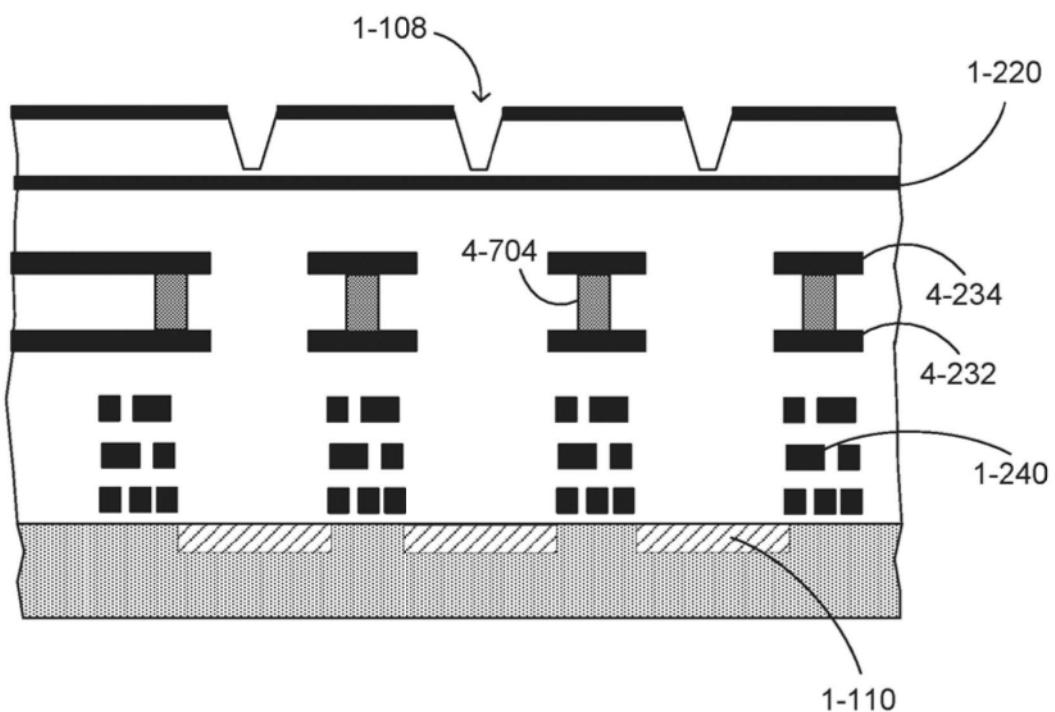


图4-9C

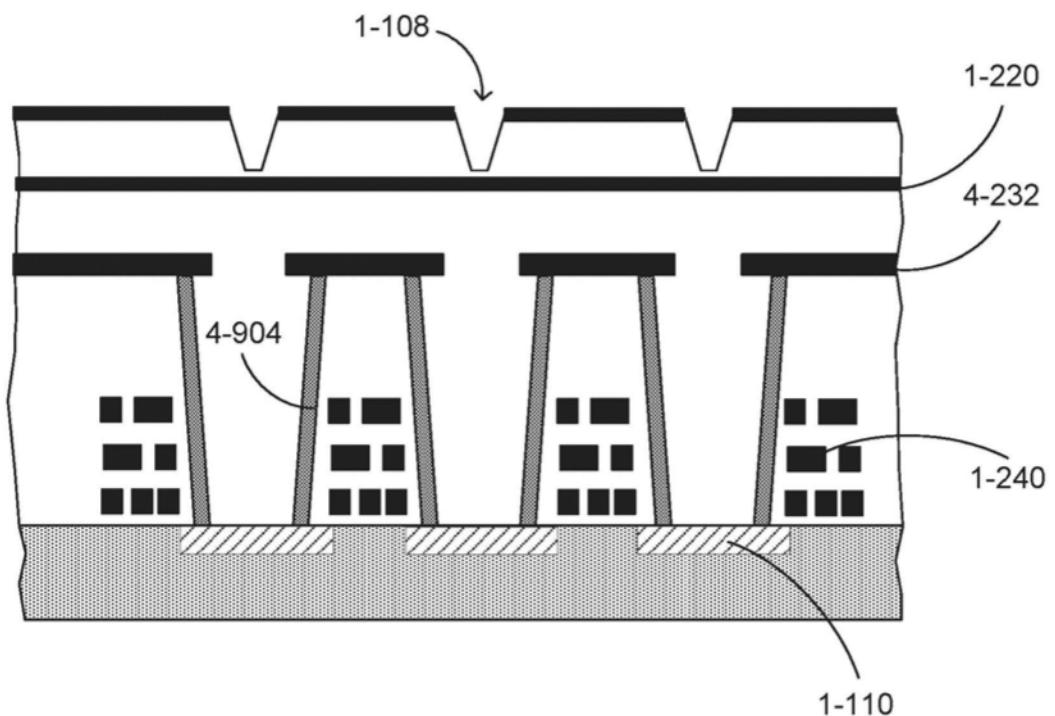


图4-10A

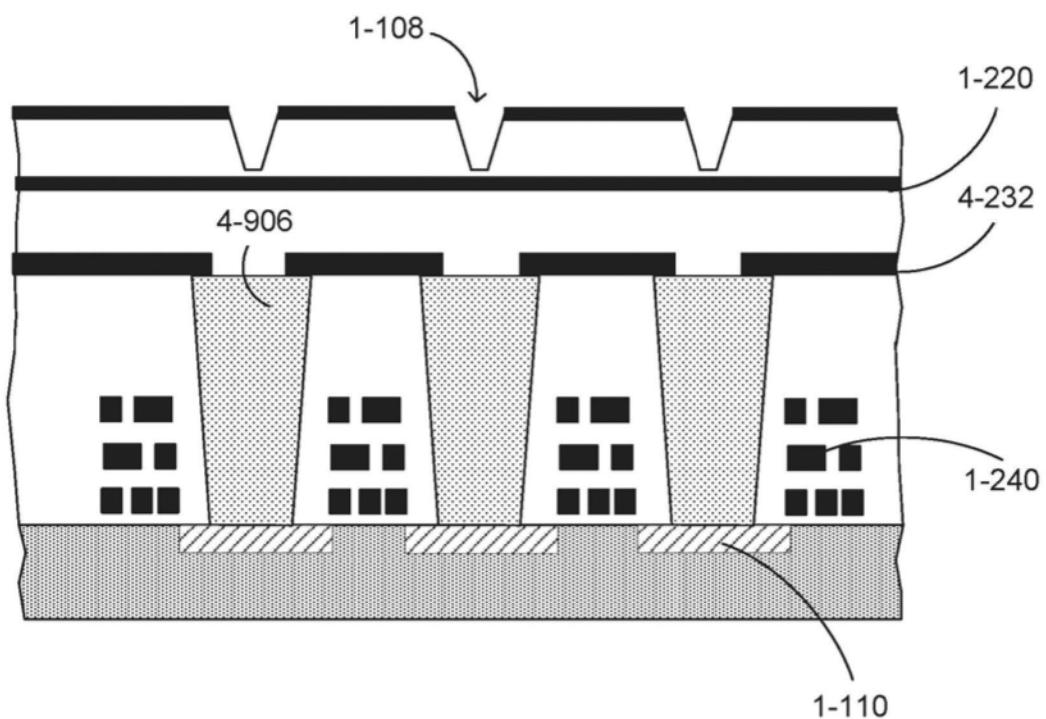


图4-10B

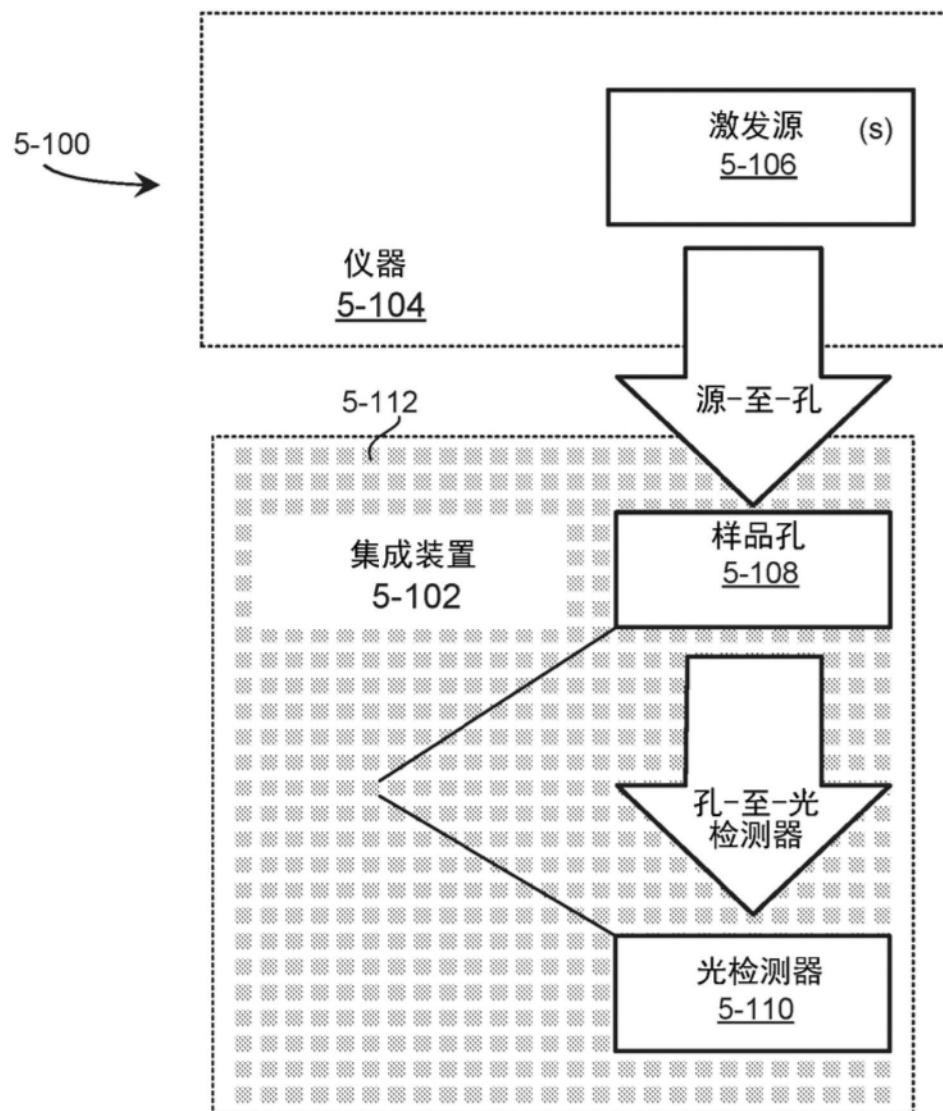


图5-1

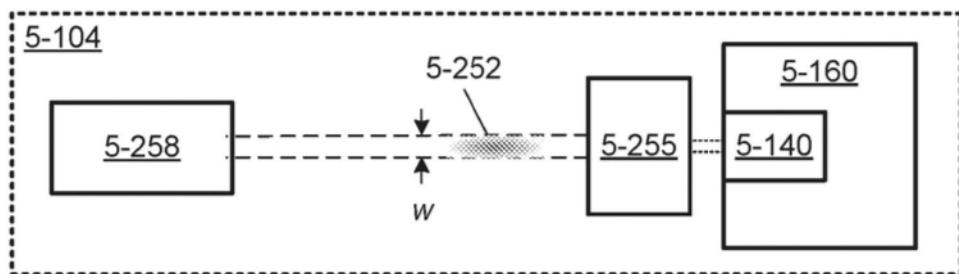


图5-2A

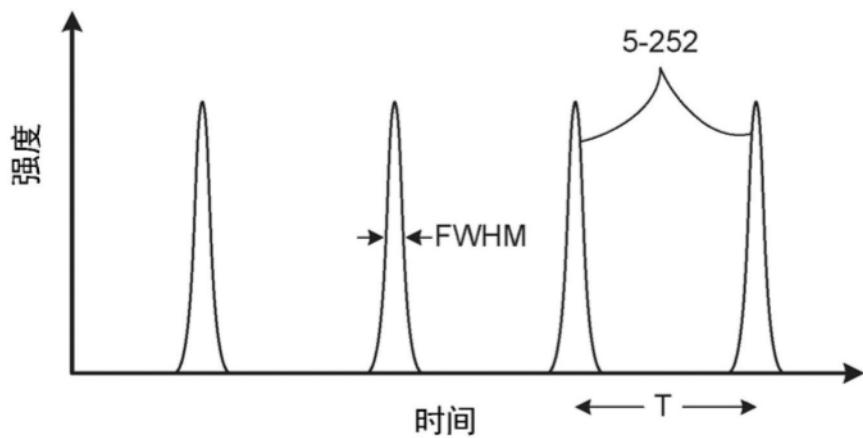


图5-2B

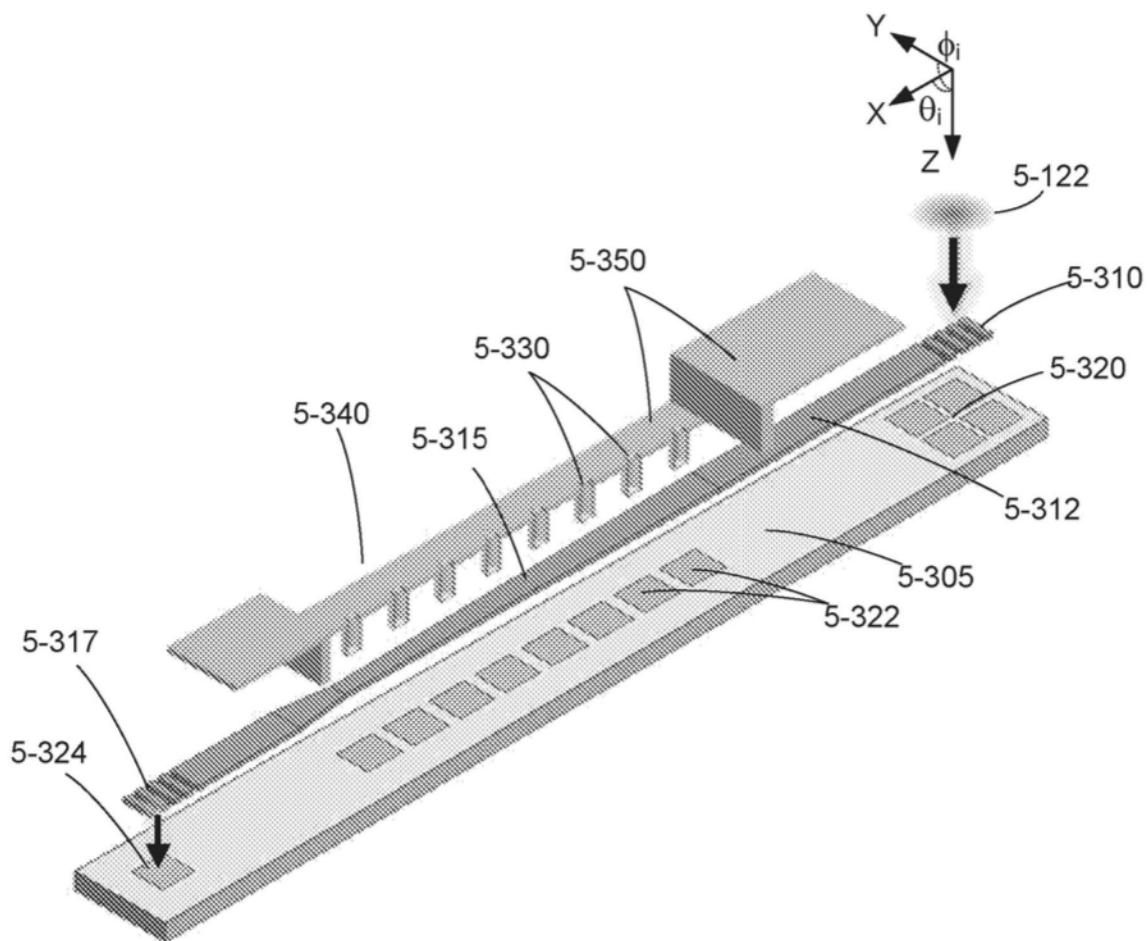


图5-3

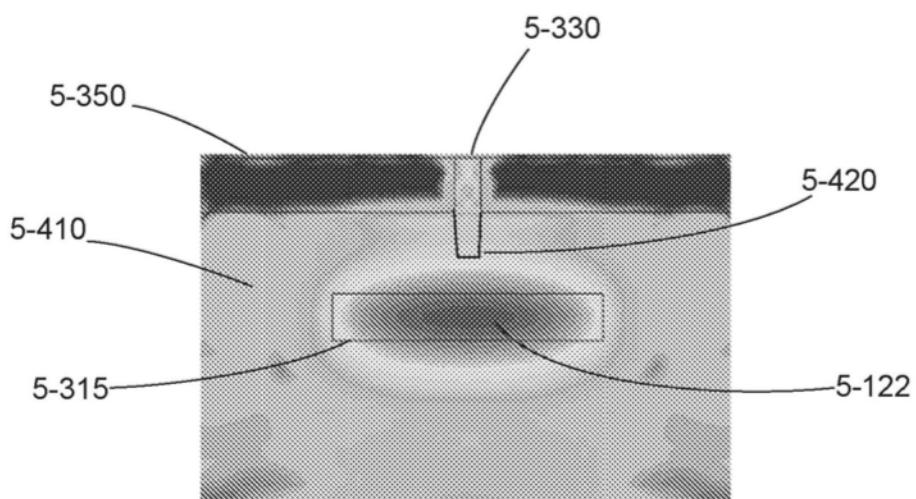


图5-4

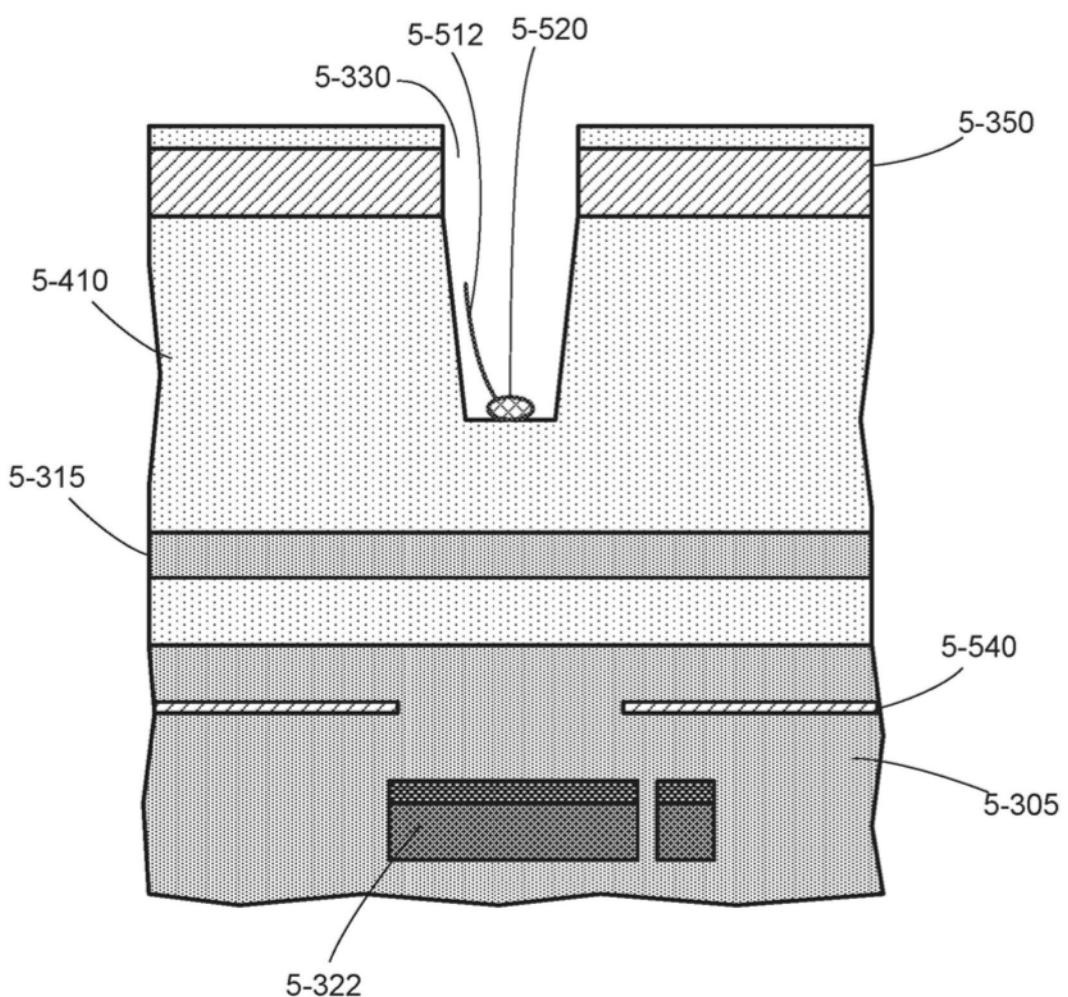


图5-5

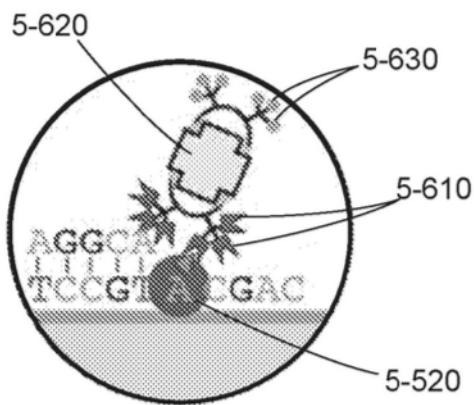


图5-6

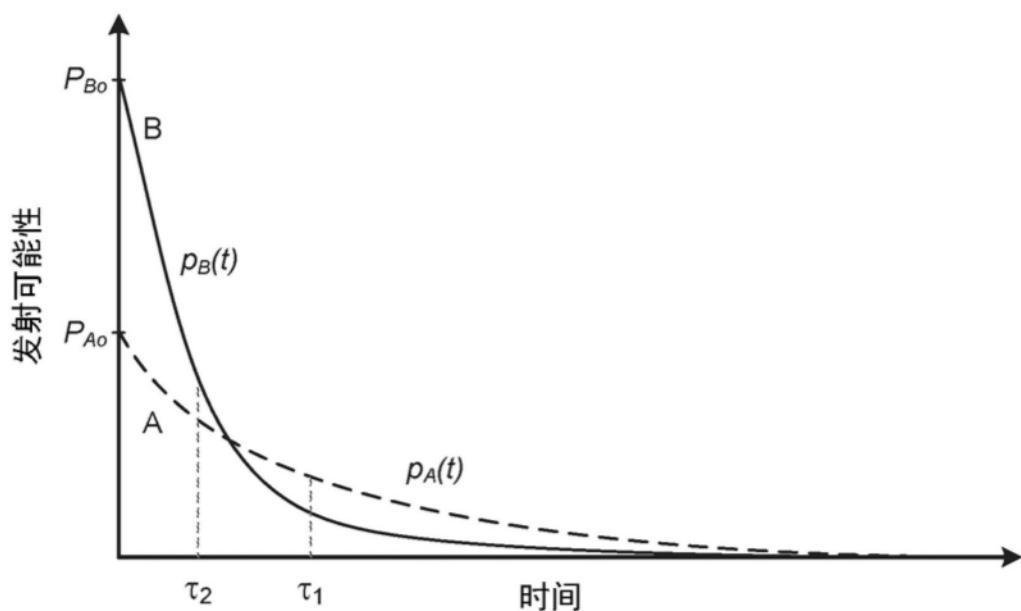


图5-7

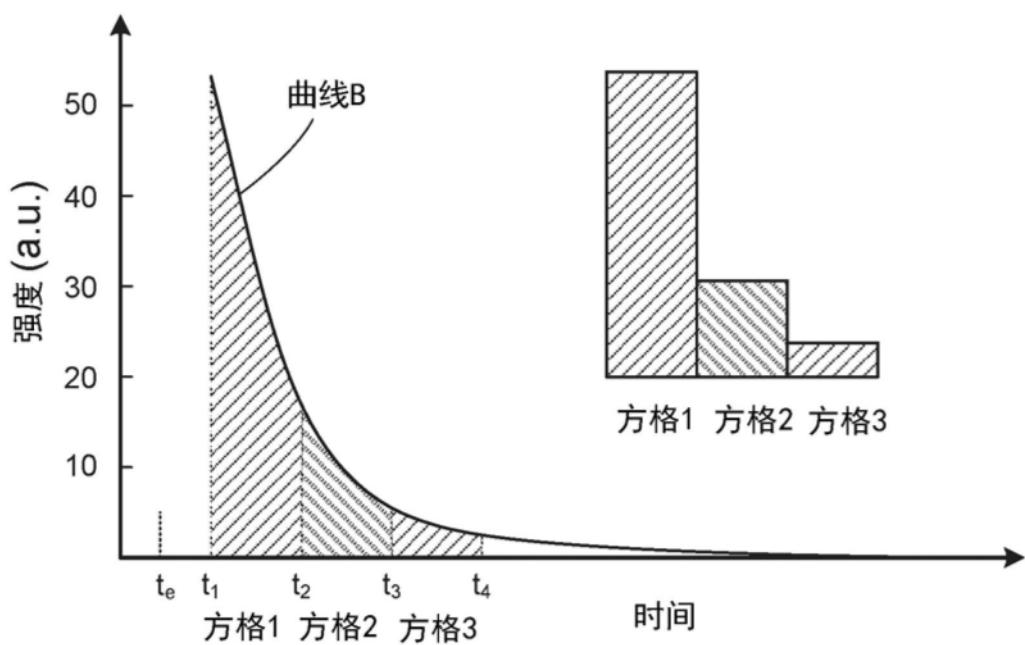


图5-8

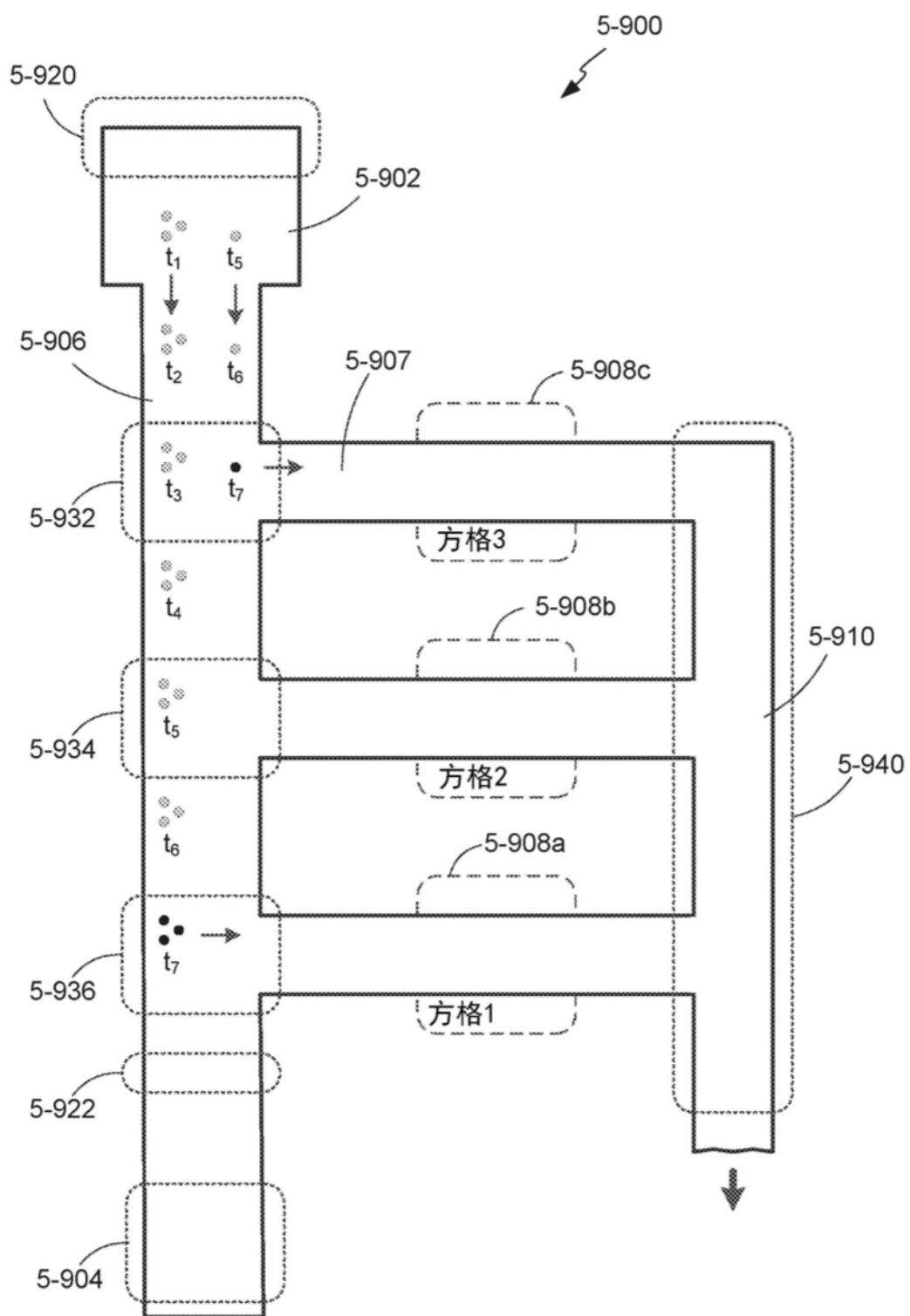


图5-9A

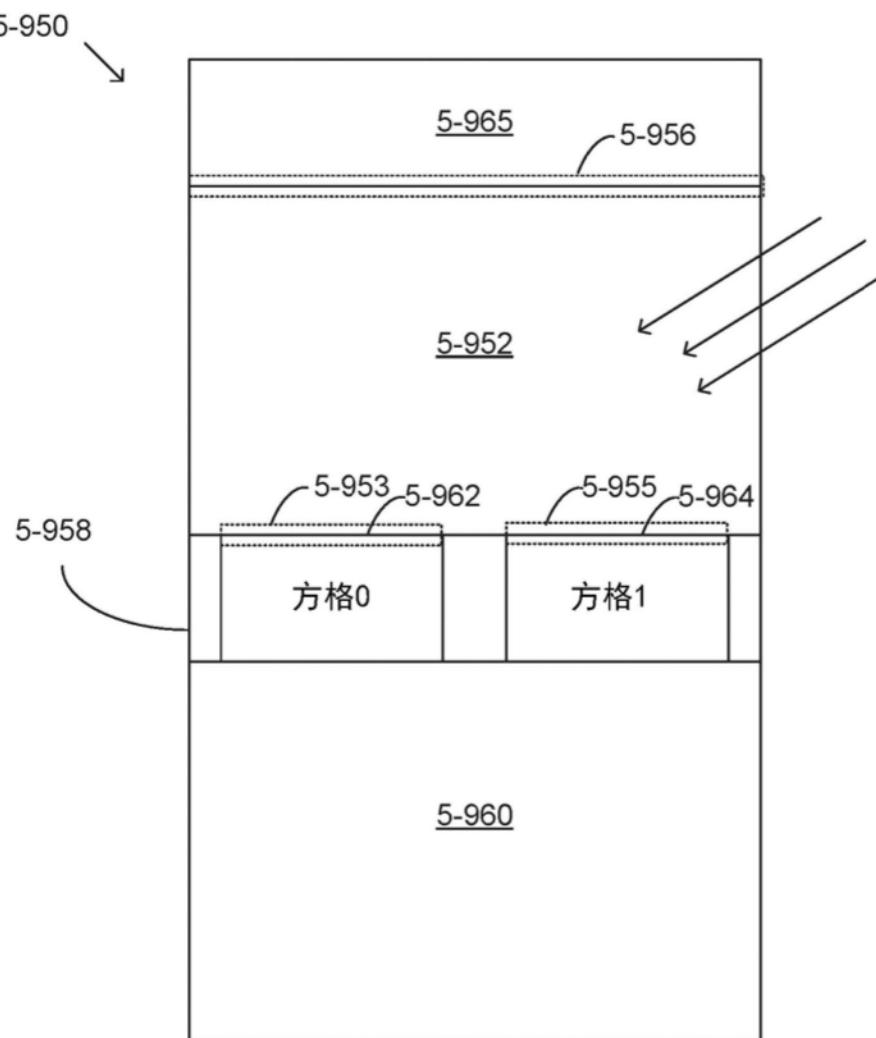


图5-9B

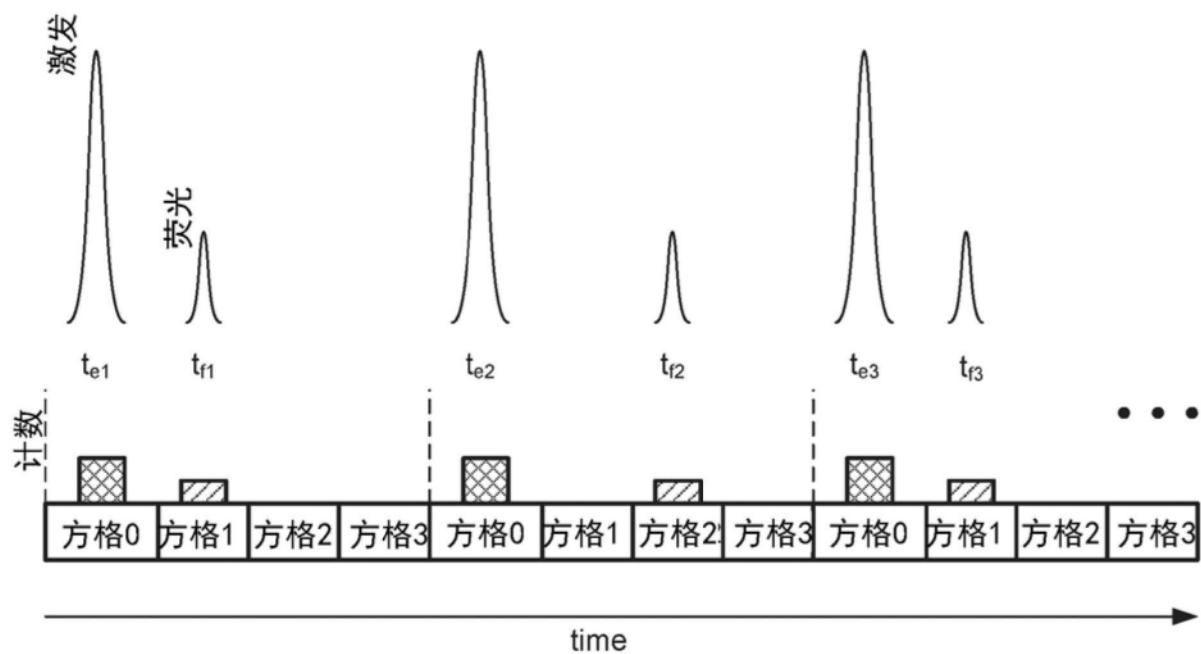


图5-10A

