



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104246498 B

(45) 授权公告日 2016. 06. 29

(21) 申请号 201380018156. 6

(22) 申请日 2013. 02. 13

(30) 优先权数据

1202519. 3 2012. 02. 13 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 09. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2013/050333 2013. 02. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/121193 EN 2013. 08. 22

(73) 专利权人 牛津楠路珀尔科技有限公司

地址 英国牛津

(72) 发明人 詹森·罗伯特·海德

詹姆斯·安东尼·克拉克

加埃列·安尼-勒奥尼·安德烈亚塔

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 张英

(51) Int. Cl.

G01N 33/487(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101932933 A, 2010. 12. 29,

US 2008254995 A1, 2008. 10. 16,

US 3799743 A, 1974. 03. 26,

WO 2006138160 A3, 2007. 10. 11,

审查员 于园园

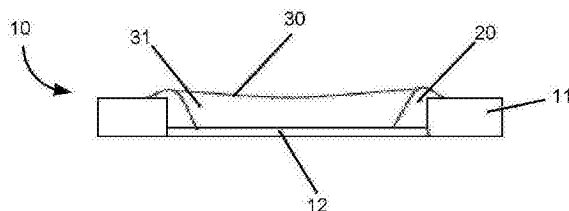
权利要求书2页 说明书16页 附图10页

(54) 发明名称

包括传感器井阵列和流量控制井阵列以改善施用至装置本体表面的流体的可润湿性和分布的装置及形成两亲分子层阵列的方法

(57) 摘要

一种用于支持两亲分子层阵列的装置, 所述装置包括: 本体 (11), 在本体表面形成的传感器井 (10) 阵列, 其能够支持跨越传感器井的两亲分子层 (30), 传感器井每个包括用于连接电路的电极 (12), 和在传感器井之间的本体表面上形成的能够使跨越表面的液体流动平稳进行的流量控制井。



1. 一种用于支持两亲分子层阵列的装置,所述装置包括:
本体,
在所述本体表面形成的传感器井阵列,其能够支持跨越所述传感器井的两亲分子层,
所述传感器井每个包括用于连接电路的电极,以及
在所述传感器井之间的所述本体表面上形成的流量控制井,其能够使跨越表面的液体流动平稳进行;
其中,所述流量控制井的截面积小于传感器井的截面积。
2. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述流量控制井不包含电极。
3. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述流量控制井每个包含电极,所述传感器井中的电极与所述电路连接,但所述流量控制井中的所述电极不与所述电路连接。
4. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括在所述本体表面上的限定其间腔的盖,和布置在所述腔中用于连接电路的共电极。
5. 根据权利要求4所述的装置,其中,所述盖具有面向本体表面的内表面,其是粗糙化的以使在其上的液体流动平稳进行。
6. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述传感器井的阵列是规则阵列,并且所述流量控制井由流量控制井的规则阵列构成。
7. 根据权利要求1所述的装置,其中,至少部分所述流量控制井阵列的间距小于至少部分传感器井阵列的间距。
8. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述传感器井是圆形的和/或其中所述流量控制井是方形的。
9. 根据权利要求1所述的装置,其中,相比于所述传感器井,所述流量控制井分布于更大的区域上。
10. 根据权利要求1所述的装置,其中,布置所述传感器井和流量控制井使得施用至所述本体表面的疏水流体的预处理器不会进入Cassie-Baxter状态。
11. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述传感器井和流量控制井成形为提供所述表面和井的总面积除以所述表面的投射面积所定义的表面粗糙度 r ,以及所述井之间的表面积除以所述表面的投射面积所定义的固体表面面积分数 f ,其满足关于预处理物的要求,所述预处理器是具有 $((\phi-1)/(r-\phi)) > \cos(\theta)$ 的接触角 θ 的能够与两亲分子相互作用的流体。
12. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述井形成在具有 3.2×10^{-5} 井/微米²或更大数量密度的表面上。
13. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述井形成在具有 6.4×10^{-5} 井/微米²或更大数量密度的表面上。
14. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述井形成在具有 1.5×10^{-4} 井/微米²或更大数量密度的表面上。
15. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述井形成在具有 2.5×10^{-4} 井/微米²或更大数量密度的表面上。
16. 根据权利要求1所述的装置,其中,进一步包括施用至所述传感器井的预处理器,所述预处理器是能够与所述两亲分子相互作用的流体。

17. 一种制备用于形成两亲分子层阵列的装置的方法,所述方法包括:
提供根据权利要求1所述的装置;
跨越本体表面递送疏水流体的预处理器。
18. 根据权利要求17所述的方法,其中,在溶剂中递送所述预处理器,所述方法进一步包括干燥所述本体表面以去除溶剂。
19. 根据权利要求18所述的方法,其中,在低于大气压的压力下进行干燥本体表面以去除溶剂的步骤。
20. 根据权利要求17所述的方法,其中,进行所述方法使得满足下列每个条件:
所述预处理器对所述表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的15%;
填充的传感器井的比例小于5%;以及
预处理器在各个传感器井周围的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的40%内。
21. 根据权利要求17所述的方法,其中,进行所述方法使得满足下列每个条件:
所述预处理器对所述表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%;
填充的传感器井的比例少于0.5%;以及
预处理器在各个传感器井周围的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的20%内。
22. 一种形成两亲分子层阵列的方法,所述方法包括:
通过根据权利要求17所述的方法制备装置;和
使包含两亲分子的流体流动跨越本体表面以形成跨越至少一些传感器井阵列的两亲分子层。
23. 一种形成两亲分子层阵列的方法,所述方法包括:
提供根据权利要求1所述的装置;和
使包含两亲分子的流体流动跨越本体表面以形成跨越至少一些传感器井阵列的两亲分子层。

包括传感器井阵列和流量控制井阵列以改善施用至装置本体表面的流体的可润湿性和分布的装置及形成两亲分子层阵列的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于支持两亲分子阵列的装置和形成这样的阵列的方法。具体地，本发明涉及两亲分子阵列的有效形成。应用的一个领域是脂双层的制备。

背景技术

[0002] 在一种已知的技术中，基于膜的两亲分子层可以用作作为分开两种体积的水溶液的工具。当在两种水溶液间应用电位差时，两亲分子层抵抗两种体积间电流的流动。将膜穿透蛋白质插入两亲分子层以允许离子穿过该层通过，其记录为通过放置在每个水溶液中的电极所探测的电信号，如在W02009/077734公开的。

[0003] 在这个技术中，目标分析物可以与膜穿透蛋白质相互作用以调节离子的流动，并且可以通过观察电信号中所产生的变化进行检测。这个技术因此允许两亲分子层被用作为生物传感器以检测分析物。

[0004] 在这个技术中，两亲分子层具有双重目的。首先，所述层为充当敏感元件的蛋白质提供平台。其次，所述层在体积间隔离离子的流动。所述层的电阻确保在系统中离子流动的主要贡献是通过感兴趣的膜蛋白完成的，伴随通过两亲分子层的可忽视的流动，从而允许用单个蛋白质通道检测。

[0005] 这个技术的具体应用是在纳米孔传感中，其中保持膜蛋白的数量是小的，通常在1到100之间，以便可以电监测单个蛋白质分子的行为。这种方法给出每个具体的分子间相互作用的信息，并且因此提供比容积测量更丰富的信息。然而，由于涉及小电流，通常为几pA，这个方法依靠非常高的电阻密封的形成，通常大于 $1\text{G}\Omega$ ，以及足够的电敏感性以测量电流。

[0006] 尽管在实验室中已经满足随机传感的要求，但是在商业产品中，条件和专业知识限制其实际应用。此外，实验方法是费力和费时的并且无法轻易得到合乎任何商用生物传感器需要的高密度阵列。而且，单个两亲膜的脆性意味着它们可能难以形成，以使抗震桌子常常只在实验室中使用。在商业产品中，强迫使用这样的抗震桌子将是不合乎需要的。

[0007] 对于使用微制造使双分子层形成变得容易，这里已经付出了巨大的努力。一些技术已经尝试用于折叠的脂双层或着色的脂双层的标准系统的小型化。其他技术包括在固体基底或者直接在电极表面上通过吸收或者吸附形成双分子层。大部分纳米孔传感装置通过使用折叠的脂双层技术的变体，或着色的双分子层技术形成双层。迄今为止，大多数已经专注于孔形成的新方法、在微制造中利用新兴技术以使设备小型化，或者创造大量的可寻址的传感器，如在EP2107040和W02010/122293中公开的。

[0008] 存在与常规支持的两亲分子层方法相关的问题，其使该方法不适合。第一个问题在于通常为约 $100\text{M}\Omega$ 的层状膜的阻力。尽管这个可以适合于在大蛋白浓度时检测蛋白质行为，但是这对于基于单分子检测的高保真试验是不足够的。为了实现至少 $1\text{G}\Omega$ 阻力的单分子传感以及对于一些应用，需要高一个或两个数量级。第二个问题涉及陷在两亲分子层和

固体支撑物之间小距离中的溶液的小体积,通常为1nm数量级。该小体积的溶液不包括许多离子,这影响跨两亲分子层潜能的稳定,并限制用于能够实施记录的持续时间。

[0009] 硅片工业中使用的技术提供用于创造大量可以用于生物传感器应用的电极的有吸引力的技术。在相关申请US 7,144,486和US 7,169,272中公开了该方法。US 7,144,486公开了将包含蚀刻至绝缘体材料层中微腔的微电极设备的制造方法。据说所述设备具有广泛范围的电化学应用,其中腔中的电极允许测量电信号。

[0010] 总之,上面讨论的已知技术给出了任何两亲分子层形成的方法,这些方法不能可重现地实现高电阻;遭受低离子储存器的折磨;不能够持续长时间的直流电测量;和/或对于每个阵列元素需要单独的流体室。这限制了生产高密度的阵列设备的技术放大。

[0011] W02009/077734描述了制备跨凹处两亲分子层和测量具有多个凹处设备的简化的装置,凹处形成不需要任何复杂装置的大规模传感器阵列室。

[0012] 在这种方法中,类脂两亲分子层形成为分开两种体积水溶液的层,所述方法包括:(a)提供包括限定室的元件的装置,所述元件包括非传导材料本体,在其中已经形成开口面向所述室的至少一个凹槽,所述凹槽包含电极;(b)将疏水流体的预处理物涂层施用至跨所述凹槽的本体;(c)流动水溶液,将两亲分子添加至其,跨越本体以覆盖所述凹槽以便将所述水溶液从室引入至凹槽中和以便两亲分子层形成跨越凹槽分离水溶液体积。

[0013] 这种方法的关键特点是高质量两亲分子层的制备,高质量两亲分子层适合于高灵敏度生物传感器应用,如纳米孔检测和单通道记录。已经证明这个方法形成高电阻的两亲分子层,提供具有大于1G Ω 的电阻的高度抗电封印,代表性地为100G Ω ,其例如能高保真记录单个蛋白质孔。

[0014] 在这种方法中,假如在跨凹槽的本体中施用疏水流体的预处理物涂层,简单地通过使水溶液流过本体以覆盖凹槽形成跨凹槽的两亲分子层是可能的。预处理物涂层有助于两亲分子层的形成并且有助于用水溶液润湿形成传感器井(well)的微腔。

[0015] 然而,在一些情况下,高质量两亲分子层的形成可能遭到危害。本发明目标是至少部分解决这个问题。

发明内容

[0016] 根据本发明的第一个方面,提供用于支持两亲分子层阵列的装置,该装置包括:本体(body),在本体表面形成的,能够支持跨越传感器井(sensor well)的两亲分子层的传感器井阵列,每个包括用于连接电路的电极的传感器井,和在传感器井之间本体表面上形成的能够平稳跨越表面的液体流动的流量控制井。

[0017] 该方面涉及其中为增加分布均匀性提供非活性流量控制井的本体。也就是说,另外的井减少任何粘/滑特性,导致更可预料地均匀的湿润面。提供另外的井允许传感器井按需要分布和作用,而不需要负责系统的润湿特性。也就是说,能够选择所需要的传感器井的分布,并且能够提供另外的井负责系统润湿特性。

[0018] 可选地,流量控制井的截面积小于传感器井的面积。

[0019] 可选地,流量控制井不包含电极。或者,流量控制井各自包含电极,在传感器井中的电极连接至电路,但是在流量控制井中的电极不连接至电路。在其中流量控制井不充当活性传感器井的实施方式中,它们的功能是仅改进系统的润湿特性。同样,去除要求流量控

制井能够充当流量传感器井的限制,并且可以提供流量控制井的尺寸,例如孔的截面积或井的形状,或者不适宜作为传感器井使用的间距(pitch)。

[0020] 可选地,该装置进一步包括限定其间腔的本体表面上的盖(覆盖物,cover),和用于连接电路的布置在腔中的共电极。盖可以具有面对本体表面的内表面,内表面是粗糙化的以使其上面的液体流动平稳进行。

[0021] 可选地,传感器井的阵列是规则的阵列,并且流量控制井由流量控制井的规则阵列构成。可选地,至少一部分流量控制井的阵列的间距小于至少一部分传感器井的阵列的间距。也就是说,在流量控制井之间的轴距可以小于传感器井之间的轴距。流量控制井相比于流量传感器井可以具有不同的尺寸,例如,相比于传感器井,不同大小、不同截面积和/或不同孔截面积。可选地,传感器井是圆形的,并且可选地流量控制井是方形的。可选地,相比于传感器井,流量控制井在更大的区域分布。

[0022] 可选地,传感器井和流量控制井布置为使得在表面上能与两亲分子相互作用的流体预处理器不会进入Cassie-Baxter状态。可选地,传感器井和流量控制井形成为提供表面和井的总面积除以表面的投射面积(projected area)所定义的表面粗糙度 r ,和井之间的表面面积除以表面的投射面积所定义的固体表面面积分数 f ,其满足关于预处理物的要求,它是具有接触角 θ ($((\phi-1)/(r-\phi))>\cos(\theta)$)的能够与两亲分子相互作用的流体。这确保预处理器能进入井。

[0023] 可选地,在数量密度(数密度,number density)为 3.2×10^{-5} 井/微米²或更多的表面上形成井,可选地 6.4×10^{-5} 井/微米²或更多,进一步可选地 1.5×10^{-4} 井/微米²或更多,并且仍然进一步可选地 2.5×10^{-4} 井/微米²或更多。

[0024] 可选地,该装置进一步包括施用至本体表面的两亲流体的预处理器。

[0025] 根据这个方面,还提供用于形成两亲分子层阵列的装置的制备方法,该方法包括:提供上面讨论的装置;跨越本体表面将疏水流体的预处理器涂层递送至井。预处理器涂层可用来支持两亲分子层,以便可以形成跨井的高度抗电密封。

[0026] 可选地,在溶剂中递送预处理器,该方法进一步包括干燥本体表面以去除溶剂。所述干燥本体表面以去除溶剂的步骤优选在低于大气压的压力下进行。

[0027] 可选地,实施该方法以满足下列每个条件:预处理器对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的15%;填充的传感器井的比例小于5%;以及预处理器在各个传感器井周围的所有环形的矩形性(垂直度,rectangularity)和周长(perimeter)的值落入40%的平均值内。进一步可选地,实施方法以便满足下列每个条件:预处理器对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%;填充的传感器井的比例小于0.5%;和预处理物的所有环形的矩形性和周长的值落入20%的平均值内。在该上下文中,‘平均值’分别指的是对所有传感器井所计算的环形的矩形性和周长的平均值。

[0028] 根据这个方面,还提供了形成传感器井阵列的方法,每个传感器井包括连接到电路的电极,其中,井具有 3.2×10^{-5} 井/微米²或更多,可选地 6.4×10^{-5} 井/微米²或更多,进一步可选地 1.5×10^{-4} 井/微米²或更多,以及仍然进一步可选地 2.5×10^{-4} 井/微米²或更多的数量密度。

[0029] 可选地,所有的井是传感器井。或者,一些井是传感器井,剩余的井是在传感器井之间的本体表面上形成的流量控制井。

- [0030] 可选地,流量控制井的面积小于传感器井的面积。
- [0031] 可选地,流量控制井不包括电极。或者,流量控制井各自包括电极,在传感器井中的电极连接至电路,但在流量控制井中的电极不连接至电路。
- [0032] 可选地,传感器井阵列是规则的阵列,并且流量控制井由流量控制井的规则阵列构成。可选地,流量控制井阵列的间距小于传感器井阵列的间距。可选地,传感器井是圆形的,以及流量控制井是方形的。
- [0033] 可选地,相比于传感器井,流量控制井在更大的区域分布。
- [0034] 可选地,该装置进一步包括限定其间腔的本体表面上的盖,和用于连接电路的布置在腔中的共电极。可选地,盖具有面对本体表面的内表面,内表面是粗糙化的以使其上面的液体流动平稳进行。
- [0035] 可选地,井具有0.141或者更大的表面密度。
- [0036] 可选地,布置井使得施用至本体表面的预处理器不进入Cassie-Baxter状态。可选地,传感器井和流量控制井形成为提供表面和井的总面积除以表面的投射面积所定义的表面粗糙度 r ,和井之间的表面面积除以表面的投射面积所定义的固体表面面积分数 f ,它满足关于预处理物的要求,它是具有接触角 θ ($((\phi-1)/(r-\phi))>\cos(\theta)$)的能够与两亲分子相互作用的流体。
- [0037] 可选地,该装置进一步包括施用于传感器井的疏水流体的预处理器。
- [0038] 根据第二方面,还提供用于形成传感器井阵列的装置的制备方法,该方法包括:提供上面讨论的第二方面的装置;跨越本体表面将疏水流体的预处理器递送至井。
- [0039] 可选地,预处理器在溶剂中递送,该方法进一步包括干燥本体表面以去除溶剂。可选地,干燥本体表面以去除溶剂的步骤在低于大气压的压力下进行。
- [0040] 可选地,实施该方法使得满足下列每个条件:预处理器对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的15%;填充的传感器井的比例小于5%;以及在各个传感器井周围的预处理物的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的40%内。进一步可选地,实施该方法使得满足下列每个条件:预处理器对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%;填充的传感器井的比例小于0.5%;以及在各个传感器井周围的预处理物的所有环形的矩形性和周长的值位于平均值的20%内。
- [0041] 根据第二个方面,还提供了两亲分子层阵列的形成方法,该方法包括:通过上面讨论的第二方面的方法制备装置;和将包含两亲分子的流体流经本体表面以形成跨越至少一些传感器井阵列的两亲分子层。
- [0042] 根据第三个方面,提供了用于形成两亲分子层阵列的装置的制备方法,该方法包括:提供一种装置,该装置包括本体和在本体表面形成的井阵列,其中至少一些是在施用至疏水流体预处理物的传感器井后能够支持跨越传感器井的两亲分子层的传感器井,传感器井各自包括用于连接电路的电极,和跨越本体表面递送预处理器,它是能与两亲分子相互作用、在溶剂中将预处理器使用至传感器井的流体;在低于大气压的压力下干燥本体表面以去除溶剂。
- [0043] 根据这个方面,在本体表面上使用低压干燥产生更均匀的干燥预处理器。
- [0044] 可选地,该装置是根据上面讨论的第一或第二方面的装置。
- [0045] 可选地,实施该方法以便满足下列每个条件:预处理器对表面的可见覆盖度小于

传感器井阵列所处的区域的15%；填充的传感器井的比例小于5%；以及在各个传感器周围的预处理器物的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的40%内。进一步可选地，实施该方法以便满足下列每个条件：预处理器物对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%；填充的传感器井的比例小于0.5%；以及在各个传感器井周围的预处理器物的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的20%内。

[0046] 本发明的第三个方面还提供了两亲分子层阵列的形成方法，该方法包括：通过上面讨论的根据第三方面的方法制备装置；和使包含两亲分子的流体跨越本体表面以形成跨越至少一些传感器井阵列的两亲分子层。

[0047] 根据本发明的第四个方面，提供了用于形成两亲分子层阵列的装置的制备方法，该方法包括：提供一种装置，该装置包括本体和在本体表面形成的井阵列，其中至少一些是在施用至疏水流体预处理器物的传感器井后能够支持跨传感器井的两亲分子层的传感器井，传感器井各自包括用于连接电路的电极，并将疏水流体的预处理器物传递至本体，实施该方法使得满足下列每个条件：预处理器物对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的15%；填充的传感器井的比例小于5%；以及在各个传感器周围预处理器物的每个环形的矩形性和周长的值位于平均值的40%内。可以用任何适当的光源确定可见覆盖。例如，在适当的光照条件下，覆盖在正常光中是可见的。或者，在特别的光照条件下，预处理器物中的添加剂可以用于突出覆盖。例如，在本发明的一个实施方式中，绿色荧光染料(氟硼荧(硼络合二吡咯甲川, boron-dipyrromethene))被用于突出预处理器物，以及红色荧光染料(磺基罗丹明)用于突出膜层下的缓冲液。

[0048] 可选地，实施该方法以便满足下列每个条件：预处理器物对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%；填充的传感器井的比例小于0.5%；以及在各个传感器周围的预处理器物的所有形的矩形性和周长的值落入平均值的20%内。

[0049] 可选地，将预处理器物在溶剂中施用至本体，并且该方法进一步包括干燥本体表面以去除溶剂。实施该方法以便在所述干燥之后满足所述条件。

[0050] 第四个方面提供了形成两亲分子层阵列的方法，该方法包括：根据上面讨论的第四方面的方法制备装置；和将包含两亲分子的流体流经本体表面以形成跨越至少一些传感器井阵列的两亲分子层。

[0051] 第四方面进一步提供了用于形成两亲分子层阵列的装置，该装置包括：本体；和在本体表面形成的井阵列，其中至少一些是在施用至疏水流体预处理器物的传感器井后能够支持跨越传感器井的两亲分子层的传感器井，传感器井各自包括用于连接电路的电极，安排井阵列以便在递送至预处理器物的本体，即能与两亲分子相互作用的一种流体之后，满足下列每个条件：预处理器物对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的15%；填充的传感器井的比例小于5%；以及在各个传感器周围的预处理器物的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的40%内。

[0052] 可选地，安排井阵列以便在递送至疏水流体预处理器物的本体后，满足下列每个条件：预处理器物对表面的可见覆盖度小于传感器井阵列所处区域的5%；填充的传感器井的比例小于0.5%；以及在各个传感器周围预处理器物的所有环形的矩形性和周长的值落入平均值的20%内。

[0053] 可选地，该装置进一步包括使用至传感器井的疏水流体的预处理器物。

附图说明

- [0054] 将参照示例性实施方式和附图描述本发明,其中:
- [0055] 图1是井中理想流体行为的图;
- [0056] 图2是井中不想要的流体行为的图;
- [0057] 图3是示出不同润湿行为的图;
- [0058] 图4a和4b是对于不同‘天然的’接触角,对于间隔为(a)相距63微米和(b)相距81微米的50微米井阵列的预期改进的接触角;
- [0059] 图5a-c是示出变化的表面设计如何影响预处理物分布的图像;
- [0060] 图6是示出用于第一个设计的预处理物分布的图像;
- [0061] 图7a-d是示出用于第二个设计的预处理物分布的图像;
- [0062] 图8a是示出在不同条件下用于第二个设计的预处理物分布的图像;
- [0063] 图9a-9c是示出用于第三个设计的预处理物分布的图像;
- [0064] 图10a是第四个设计的图示,以及图10b-c是示出用于第四个设计的预处理物分布的图像;
- [0065] 图11a是第五个设计的图示,以及图11b-c是示出用于第五个设计的预处理物分布的图像;
- [0066] 图12a是第六个设计的图示,以及图12b和图12c是示出用于第六个设计的预处理物分布的图像;
- [0067] 图13a是第六个设计的图示,以及图13b和图13c是示出用于第七个设计的预处理物分布的图像;

具体实施方式

- [0068] 如上所提及的,在一些情况下,W02009/077734的技术(通过引用将其整体并入本文)可能导致折中质量的两亲分子层。本发明已经确定,这可能是由于预处理物涂层在阵列的一些部分中大于或小于最佳水平的结果。
- [0069] 图1示出了通过传感器阵列的微腔或传感器井10的示意性截面。在材料11如形成本体的SU-8中形成井10,并且在该材料内的附近(close proximity)形成许多井10以形成传感器井阵列。优选地,形成井的材料自身是固体并且不是多孔的,以致于井维持它们的完整性,并且液体不会从井中泄漏或浸出。本体也可以由其他材料制成,如阳性的或阴性的光致抗蚀剂,塑料如聚碳酸酯或聚酯或固态无机材料如硅、玻璃或氮化硅。可以使用的光致抗蚀剂的实例是SU8 2000或3000系列材料、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基戊二酰亚胺)(PMGI)、苯酚甲醛树脂(DNQ/酚酞清漆)或基于聚羟基苯乙烯的聚合物。在井的底部是用于联络电路的电极12,其(与井上面的另一个电极组合)可以用于检测通过井10的电流流动。
- [0070] 在实践中,在本体中形成此类传感器井10阵列将提供在进一步包括在本体表面上的盖的装置中,以限定盖和本体之间的腔。电极布置在腔中用于连接电路,并且在阵列中充当用于井的共电极。
- [0071] 图1示出了理想结构,其中预处理物20被紧紧地束缚于井10的边缘。这个结构考虑到了在井10内的最大的被困体积(trapped volume)(即两亲分子层30的体积)。这个结构导

致具有最长使用期限的生物传感器。

[0072] 预处理物是能与两亲分子相互作用的流体。预处理涂层通常是有机溶剂中的疏水物质,通常具有长链分子。合适的有机物质包括但不限于:正癸烷、十六烷、异二十烷(isoeicosane)、角鲨烯、异十八烷(2,6,10,14-四甲基十五烷)、氟化的油(适合与氟化的类脂使用)、烷基硅烷(适合与玻璃膜使用)和烷基硫醇(适合与金属膜使用)。合适的溶剂包括但不限于:戊烷、己烷、庚烷、辛烷、癸烷和甲苯。该材料通常可以是0.1 μ l至10 μ l的处于戊烷或者另外的溶剂中的0.1%至50%(v/v)的十六烷,例如2 μ l的处于戊烷或者另外的溶剂中的1%(v/v)的十六烷,在这种情况下,可以以0.6mg/ml的浓度包括类脂如二植烷基-sn-丙三基-3-胆碱磷酸(DPhPC)。

[0073] 通过实施例的方式在表1中列出用于预处理涂层30的一些具体材料,但并不限于此。

[0074] 表1:预处理材料的实施例。

[0075]

预处理配方	施加的体积
处于戊烷中的 0.3%的十六烷	2 $\times$ 1 μ l
处于戊烷中的 1%的十六烷	2 $\times$ 2 $\times$ 0.5 μ l; 2 $\times$ 0.5 μ l; 1 μ l; 2 $\times$ 1 μ l; 2 $\times$ 1 μ l; 2 μ l; 2 $\times$ 2 μ l; 5 μ l
处于戊烷中的 3%十六烷	2 $\times$ 1 μ l; 2 μ l
处于戊烷中的 10%的十六烷	2 $\times$ 1 μ l; 2 μ l; 5 μ l
处于戊烷中的 0.5%的十六烷 +0.6mg/ml DPhPC 类脂	5 μ l
处于戊烷中的 1.0%的十六烷 +0.6mg/ml DPhPC 类脂	2 $\times$ 2 $\times$ 0.5 μ l
处于戊烷中的 1.5%的十六烷和 0.6mg/ml DPhPC 类脂	2 μ l; 2 $\times$ 1 μ l

[0076] 两亲分子层可以由形成层状相的任何两亲化合物制成。两亲化合物包括能形成脂双层的类脂。选择两亲化合物以便形成具有所需的特性如表面电荷,支持膜蛋白的能力、堆积密度(packing density)或机械性能的两亲分子层。两亲化合物可以包括一个或多个不同的组分。例如,两亲化合物可以包括多达100种两亲化合物。两亲化合物可以是自然产生的或者是合成的。两亲化合物可以是嵌段共聚物。

[0077] 在两亲化合物是类脂的实施方式中,类脂通常包括一个头部基团(首基, head group)、界面部分和可以是相同的或不同的两个疏水尾部基团。合适的头部基团包括但不限于中性头部基团如二酰基甘油酯(DG)和神经酰胺(CM);两性离子的头部基团如磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)和鞘磷脂(SM);带负电荷的头部基团如磷脂酰甘油(PG)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰肌醇(PI)、磷酸(PA)和心磷脂(CA);以及带正电荷的头部基团如三甲铵丙烷(TAP)。合适的界面部分包括但不限于自然产生的界面部分如基于甘油的或基于

神经酰胺的部分。合适的疏水尾部基团包括但不限于饱和烃链,如月桂酸(正十二烷酸)、肉豆蔻酸(正十四烷酸)、棕榈酸(正十六烷酸)、硬脂酸(正十八烷酸)和花生酸(正二十烷酸);不饱和烃链,如油酸(顺-9-十八烯酸);以及支链烃链,如植烷酰基(phytanoyl)。链的长度以及不饱和烃链的双键的位置和数量是可以变化的。链的长度以及支链的位置和数量如甲基基团在支链烃链中可以变化。疏水尾部基团可以与界面部分以醚或酯连接。

[0078] 类脂还可以被化学修饰。类脂的头部基团或尾部基团可以是化学修饰的。其头部基团已经被化学修饰的合适的类脂包括但不限于PEG修饰的类脂,如1,2-二酰基-sn-丙三基-3-磷酸氨基乙醇-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000];功能化的PEG类脂,如1,2-二硬脂酰基-sn-丙三基-3-磷酸氨基乙醇-N-[生物素基(聚乙二醇)2000];以及为了结合修饰的类脂,如1,2-二油酰基-sn-丙三基-3-磷酸氨基乙醇-N-(丁二酰)和1,2-二棕榈酰基-sn-丙三基-3-磷酸氨基乙醇-N-(生物素基)。尾部基团已经被化学修饰的合适的类脂包括但不限于聚合型类脂,如1,2-双(10,12-二十三烷二酰)-sn-丙三基-3-磷酸胆碱(1,2-bis(10,12-tricosadiynoyl)-sn-Glycerol-3-phosphocholine);氟化类脂,如1-棕榈酰基-2-(16-氟棕榈酰基)-sn-丙三基-3-磷酸胆碱;氘化类脂,如1,2-二棕榈酰基-D62-sn-丙三基-3-磷酸胆碱;以及醚连接的类脂,如1,2-二-O-植烷基-sn-丙三基-3-磷酸胆碱(1,2-Di-O-phytanoyl-sn-Glycerol-3-Phosphocholine)。

[0079] 类脂可以包括会影响脂双层特性的一种或多种添加剂。合适的添加剂包括但不限于脂肪酸如棕榈酸、豆蔻酸和油酸;脂肪醇如棕榈醇、豆蔻醇和油醇;固醇如胆固醇、麦角固醇、羊毛固醇、谷甾醇和豆甾醇;溶血磷脂素类如1-酰基-2-羟基-sn-丙三基-3-磷酸胆碱;和神经酰胺。当膜蛋白将被插入至两亲分子层时,类脂优选包括胆固醇和/或麦角固醇。

[0080] 当预处理油20没有沉积于图1中的最佳结构中时,更小的被困体积是最可能的结果。还有一个更高的可能性,过量的预处理油将位于井10的上表面。这在图2中示意性所示。在图2中,预处理物20没有紧紧地困于(钉在,pin)井10的边缘。因此,两亲分子30的被困体积减少。而且,预处理物20a也存在于井10的上表面。

[0081] 为了在预处理物20和两亲分子层30之间形成良好的接触,优选使用疏水材料用于形成井10。这促进预处理物20和两亲分子层30之间的小接触角。然而,这也使预处理油更可能在阵列材料的表面上形成液滴20a,除非预处理油堵塞于井10并且被Laplace压力聚集。通过合适的材料选择可以实现适当的疏水表面特征。然而,在存在冲突的约束(conflicting constraint),例如使用适用于制造所需结构的光致抗蚀剂材料,不可获得期望的表面特征时,这可能是不可能的。在这种情况下,通常,将表面处理应用于实现亲水表面,如添加化学涂层或等离子体修饰。这些方法是不理想的,代表性地,它们在长的产品贮藏寿命期间是不稳定的,或者可能引起与传感器化学系统的干扰。

[0082] 当存在快速形成两亲分子层的期望时,需要在表面上的快速流动速度,或者当使用非常大规模的阵列,已经发现,在两亲分子层形成阶段过程中水溶液的流动可以引起预处理物20转移至阵列下游领域,或者在水溶液中产生乳液,这是不受欢迎的。在预处理油20位于井的外面,例如,在SU-8表面上的情况下这是更可能的。

[0083] 在目前的发明中,将表面图案引入至阵列的整体表面(bulk surface)允许具有良好均匀性的预处理层20的改进形成,以及在与两亲分子层形成有关的随后流体流动期间有助于预处理层20的保持。

[0084] 预处理分布的均匀性可以通过扩展表面图案超出阵列的整体表面进一步增强,以便考虑包含阵列的流体流动吸收池(流动池,fluidic flow cell)的其他内表面。在这个实施例中,在预处理应用阶段,还将预处理油材料涂覆至所有其他内表面上。在随后的流体流动步骤中,也可以再分配这种材料,从而折中高质量类脂两亲分子层的形成。能够在这些其他表面上引进表面图案,并且适用于控制有预处理物的涂覆程度,并且在增强装置整体性能的这些表面上增强预处理物的保持。

[0085] 表面图案还能通过实现所需表面的疏水性,其通过阵列材料的表面化学修饰按照惯例实现,其通过改变在原材料和空气之间,或者任何周围的整体介质(bulk medium)的表面能量分布的比率实现。

[0086] 通过总体热力学位置定义很好包括的表面存在的表面状态。

[0087] 在‘Cassie-Baxter’状态中,疏水性是足够高的以致井不由湿流体填充,而是保持被整体介质填充。然而,这种状态是热力学不稳定的并且在正常情况下,这种状态能衰退至更低能量状态。

[0088] 在热力学最稳定的‘Wenzel’状态,井通过湿流体完全填充。一旦实现,在Wenzel和Cassie-Baxter状态之间不可能回转。

[0089] 图3显示了(a)平表面的润湿与在(b)Wenzel和(c)Cassie-Baxter状态中含有微观结构的表面的弄湿相比较。从图中可以看出,接触角 θ 在不同状态中不同。

[0090] 一旦原材料的接触角 θ 是已知的,则可以计算Wenzel状态的修饰角 θ_w 和Cassie-Baxter状态的修饰角 θ_{CB} 。

$$[0091] \quad \cos\theta_{CB} = \varphi(\cos\theta + 1) - 1$$

$$[0092] \quad \cos\theta_w = r\cos\theta$$

[0093] 其中 φ 定义为井之间的表面面积除以表面的投射面积(计算为:(总面积-井面积)/(总面积)), r 定义为固体表面的真实面积与表面面积(可视面积,apparent area)的比率。

[0094] 照这样,在流体接触角范围内,可以计算两种现象的结果。

[0095] 图4a和4b显示了对于不同‘天然’接触角,隔开(a)63微米间隔和(b)81微米间隔的50微米井阵列预期改进的接触角的图表。这些图表显示,在隔开63或81 μm 间隔的50 μm 微井表面之间的Cassie-Baxter接触角中,存在显著性差异。例如,天然的SU-8具有约76°的接触角,因此,对于63 μm 井,Wenzel状态将具有约65°的改进接触角,同时Cassie-Baxter状态在区域中表现出115°的改进接触角。

[0096] 照这样,阵列的表面特征因此能通过控制表面图案形成适用于具体流体,或者产生期望的表面状态。特别地,它对于形成带有附加井的阵列是合乎需要的,不用于传感,以便修改表面特征。这样的附加井对于传感可能是无活性的,因为它们不包含电极,或者因为电极不与传感电路连接。这个方法拥有一些优势。

[0097] 为了通过在大规模上应用预处理物流动,可以控制表面以促进预处理物困于传感器阵列表面上,以便预处理在两亲分子层形成期间不会移动。另外,优选避免Cassie-Baxter状态,否则预处理物将不填充井。也就是说,优选设计表面具有接触角为:
 $((\varphi-1)/(r-\varphi)) > \cos(\theta)$ 。

[0098] 在形成表面图案的整体表面上使用高密度的井(包括无活性的井)还允许最大柔性至设计。也就是说,如果改变传感井的安排是合乎需要的,例如产生更紧密填充的电子阵列,那么用非活性井通过适当的‘平衡’对所有的表面产生最小的影响。也就是说,非活性的井能在‘活性’井已经形成的本体表面中形成,添加至活性井阵列以实现期望的表面特征。因此,表面特征实际上能保持未改变而同时改变活性阵列的结构,并且因此最佳的流动过程(fluidic procedure)将不需要改变。另外的‘流量调节’井可以不包括电极,或者可以包括不与传感器井的电路连接的电极。

[0099] 控制基于井几何结构和布置的疏水性避免通过化学手段与修改表面特征有关的额外工序的需求。而且,该表面控制的方法适用于所有的材料,不需要特别的化学适应特别材料。

[0100] 此外,已经发现,预处理物的流过也可以通过使用微图案化的表面增强。在存在额外井时,特别是在较大阵列上,观察到预处理器前部能促进更平稳地跨越阵列。也就是说,另外的井增加跨越本体表面的流动的同质性,以使弄湿的均匀性增加。在递送跨本体表面传递时,另外的井能够增加所述预处理器分布的均匀性。该均匀减少在流动期间流体经受大规模阻塞的倾向,其导致流体前方所谓的‘粘/滑’运动。以该粘/滑方式的润湿是不规则的并且可能导致在移动至下一个堵塞位置之前,在一段时间内流体被堵塞。这还能导致已经以润湿的轮廓改变的外形被弄湿的表面的半湿润(de-wetting)。为此,还可以优选使与本体相对盖的内表面粗糙化,以进一步平稳流体的流动。还优选在比传感器井更大的区域上提供另外的井,以确保传感器井阵列的边缘经历预处理器增强的流动。

[0101] 通过使用荧光染料给预处理器油加标签监控预处理器分布。随后在原位使用表面荧光显微镜(epi-fluorescence microscopy)观看染料。

[0102] 在图5a-d中显示的图像显示了,通过在阵列上溶解于己烷的预处理器油的另外相同的射流流表面中引入另外的井获得的分布差异的实施例。图5a示出了有活性的井的处理的阵列的概观,不带有附加井,同时图5b示出了一些井的特写镜头。明亮的区域表明预处理器存在。图5b中特别清楚地是,许多井通过预处理器完全填充,并且表面上有很多过量的预处理器。相比之下,图5c示出了除了活性的井之外包括另外的(更小的)非活性的井的阵列的概观,以及图5d是一些井的特写镜头。在井的周围预处理器均匀地形成‘理想’环状结构并且没有井被完全填充。而且,在预处理器质量上(甚至仅考虑非填充的井),在井之间有更少的变化。需要指出的是,对图5c右手边的更明亮的区域是位于池的窗上不是在阵列表面(焦平面)上的过量的预处理器。

[0103] 这些图像说明通过改变井之间的表面结构可以影响含井表面上的流体流动的行为。所引入的井可以但是不必也用作活性的井。照这样,如果希望保持特定的活性井间隔,但是改进预处理器分布,那么通过引入‘非活性的’井是可能的。在应用阶段,这些非活性的井有助于预处理器流过表面,并且在干燥阶段期间进一步有助于井分布的预处理物的形成。

[0104] 在下面讨论示例性的实验。

[0105] 实验步骤

[0106] 需要的材料:

[0107] 超净室、烘箱、冷藏设备(RIE)、平底锅×2、光刻机、阻力旋转器、显影盘(Develop

dish)×2、氮气供应、晶片镊子、检查显微镜、硅晶片、SU-8 10光致抗蚀剂、SU-8 2光致抗蚀剂、EC显影剂、光刻掩膜第1层:4KCSH51 4201,光刻掩膜第2层:4KCSH41 4149,丙酮(丙-2-酮)、IPA(丙-2-醇/2-丙醇)。

[0108] 用于制备带有井设计的晶片的方法:

[0109] 为了确保从制造和处理的盐和有机润滑脂(grease)中得到的表面是清洁的,硅晶片在使用之前用丙酮、2-丙醇和去离子水漂洗。晶片用温和供给的氮气干燥。随后晶片在预热的烤炉中在150℃放置1个小时。从冷藏中移出SU-8溶液(SU-8 2,和SU-8 10),并且允许在使用之前达到室温。清洁平底锅并且允许其达到80℃和110℃的稳定温度。旋转涂层器(spin coater)和显影盘是准备使用的装置。在2000转/分下,将SU-8 2(9mL)旋涂至氧等离子体处理的晶片上,然后将其在80℃平底锅上首次放置1分钟,之后在设置为110℃的平底锅上处理2分钟。在适当对准(alignment to)晶片之后,随后将软烘的SU-82层暴露于电极掩膜10秒。在80℃实施1分钟的后暴露烘焙以及在110℃实施2分钟的后暴露烘焙。然后在两阶段清洗法中显影晶片,之后使用2-丙醇彻底漂洗。晶片在检查之前用氮气干燥。然后在1600转/分下,用SU-8 2(9mL)再次旋涂晶片。然后将晶片在再在80℃烘焙1分钟后在110℃下烘焙2分钟。然后对齐晶片并且在掩膜下暴露于UV55秒。在80℃实施进一步的后暴露烘焙3分钟,然后在110℃实施第二次7分钟。然后在1分钟的清除残留(de-scumming)氧等离子过程之前彻底显影晶片并且用2-丙醇洗涤。然后将晶片在150℃硬烘1小时。然后处理晶片用于切割和连接。

[0110] 随后,在使用之前,切割好的以及结合的128个碎片进行表面缺陷检查。单纯水洗涤去除表面尘粒,同时在使用之前,用单纯乙醇洗去除表面润滑脂。

[0111] 在具有20μm孔深的SiO₂/SU-8上构造设计。

[0112] 设计1

[0113] ‘活性’井的标准设计,设计1,是75μm井的方形阵列,定位于沿着X轴和Y轴的250μm处。使用在10%异十八烷(2,6,10,14-四甲基十五烷)处于己烷中的预处理溶液中,以大约1mm/s的速度通过浸涂SU-8和硅片将预处理物施用至设计1中。

[0114] 以下列方式制备脂双层。使用处于缓冲液(由在水中的400mM KCl、25mM Tris组成的含有3.6g/L1,2-二棕榈酰基-sn-丙三基-3-磷酸胆碱的缓冲液)中的脂囊泡溶液首先填充微井。然后通过从流动吸收池缓慢地收回过量的类脂溶液实现空气-溶液界面。然后将类脂溶液缓慢地引入流动吸收池涂刷脂双层(以0.01g/L的浓度将光学染料磺基罗丹明101(绿色激发,红色排放)添加至类脂溶液)。引入的溶液的弯月面有效地涂刷在微井的脂双层上。然后通过大量的缓冲液冲刷过量的类脂。

[0115] 此后,通过表面荧光,使用引入至类脂溶液中的光学染料确定脂双层的存在,其以形成的双分子层限制于井中。在图6中显示了代表性的图像,给出了结果的概观(没有井的详细细节),其中较明亮的区域代表预处理物的存在。

[0116] 正如所见,预处理的质量是可变的,一些井根本没有显示任何预处理物的存在。如果它完全覆盖微井计算存在的双分子层,颗粒计算的标准图像处理可以用于分析表面荧光图像。在3次测试之后,发现平均68.5%的双分子层形成,标准偏差为2.7%。

[0117] 为了确定设计参数对双分子层形成质量的影响,实施进一步实验。

[0118] 在下面的实施例中,在流动吸收池中安装井阵列。将预处理物(10%处于己烷中的

异十八烷,100 μ l)以100 μ l/s的流动速度通过阵列芯片。然后用两种方法之一干燥芯片。(1)通过去除连接的工作管(connecting pipe-work),并且在200毫巴压力下(即在低于大气压力下)在真空下将阵列芯片置于干燥器中15分钟。这允许己烷蒸发,使异十八烷留在存储它的位置上。(2)通过以常量但是低流动速率通过阵列芯片推动空气15分钟。这允许在大气压力下己烷蒸发,但是去除的蒸汽驱动干燥过程。

[0119] 设计2

[0120] 设计具有75 μ m井,位于沿着X轴和Y轴在250 μ m处。这些与在X轴和Y轴上偏移125 μ m的同样设计交错,有效地产生75 μ m井方形阵列,位于沿着与X轴和Y轴成45°角的轴177 μ m处。这个设计,设计2,相比于设计1在SU-8阵列上微井密度加倍。

[0121] 在图7a-f中显示了这些结果的代表图像,其中图7a是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图7b是干燥器干燥实验的特写,图7c是泵干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图7d泵干燥实验的特写。

[0122] 使用干燥器干燥干法,如图7a和7b所示,获得可接受的预处理物分布。当以这种方式干燥时,阵列在SU-8(即在微井之间)的表面上不显示任何预处理物的显著标记。然而,需要指出的是,在亮度上阵列似乎没有特别平,并且总体亮度是低的。

[0123] 使用泵干法,如图7c和7d所示,结果显然是不满意的。以预处理物的更大池中覆盖大量的表面,并且许多微井用预处理物填充。

[0124] 虽然这个可以得出结论:在获得良好的预处理物分布中,预处理干燥方法是最重要的因素,但是它不是唯一的考虑因素。如图8a和8b所示,经由浸涂预处理物(而不是在图7a-d中所使用的涂刷技术)产生的样品,产生满意的但不平的分布,即使表面是预处理物清除的。图8a是通过浸涂产生的实施例的概观(并且没有提供井的详细细节),以及图8b是通过浸涂产生的实施例的特写。

[0125] 设计3

[0126] 具有75 μ m井,方形地位于X轴和Y轴上250 μ m处的设计作为设计3。这有效地代表如设计1中的‘活性’井的网格(grid),具有也是75 μ m直径的另外的‘非活性’井阵列并且方形地位于‘活性’井之间的在X和Y轴上的(0,125 μ m),(125 μ m,125 μ m),(125 μ m,0)。相比于设计1,设计3以4倍增加阵列密度。

[0127] 在图9a-d中显示这些结果的代表性图像,其中图9a是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图9b是干燥器干燥实验特写,图9c是泵干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图9d是泵干燥实验特写。贯穿图9c和9d的背景亮度是沉积在观察池(viewing cell)顶面上并且不在芯片表面上的预处理物。

[0128] 正所见,干燥器干燥导致芯片的表面关于预处理物是完全均匀的。几乎没有,如果有,预处理物坐落在微井之间的SU-8表面上。

[0129] 泵干燥提供针对设计2(其具有设计3的一半的井密度)的改进。然而,这个设计仍然导致相对阵列前部的微井的显著填充,相对薄片的后部较少。这也许是由于在芯片表面上的流动速率变化。此外,我们可以看出微井的阻塞效果(pinning effects);在许多情况下,预处理物束缚在SU-8顶部表面上,而不是填充微井(在图9c和9d中,在井之间产生方形斑点)。这是不满意的结果。

[0130] 设计4

[0131] 设计4利用不同形状的微井的井,以调查井形状对预处理物的质量的影响。改变井形状改变覆盖区域的长宽比并探测任何阻塞是否由于微井的形状(和对称)。

[0132] 设计4使用与设计3同样的间距(在X轴和Y轴上的125 μm 方形间距)。然而如图10a所示,替代仅圆井阵列(在设计4中),基于重复的一个圆形井和三个方形井图案的阵列(安排以便这四种井形式在阵列上形成一个方形)用作设计4。每个圆井具有75 μm 的直径,同时方形井具有75 μm 的边长。

[0133] 在这个设计中,圆形井可以被视为代表‘活性’井,同时方形井代表‘非活性’井。因此,设计4相当于设计3,但是具有‘非活性’井外形的改变。

[0134] 在图10b-e中显示这些结果的代表性图像,其中图10b是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图10c是干燥器干燥实验特写,图10d是泵干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图10e是泵干燥实验特写。再次,在图11d和11e的明亮背景是由于沉积在观察池顶面上不是在芯片表面上的预处理器。

[0135] 正如所见,干燥器干燥提供与设计3的“所有圆形的”等价物非常类似的结果。形状似乎不影响仍在表面上的预处理器。也就是说,形状上的改变不使预处理器质量变坏。

[0136] 实际上,泵干燥实验表明形状上的改变具有正面的影响。在泵干燥实施例中(图10d和图10e),保留预处理物的表面的数量是相当高的,如同在“所有圆形”相似物中。然而,仅仅方形的微井已经填充。因此,预处理器质量是可接受的。

[0137] 设计5

[0138] 设计5(在图11a中所示)去除大量的SU-8表面。如同在设计1中,75 μm 圆形的井被安排在X轴和Y轴上的250 μm 方形间距(pitch of)。此外,提供带有5 μm 图廓(boarder)的20 μm 方形的‘背景’图案。使用紧密间隔的方形背景图案提供用于去除尽可能多的表面材料的有效图案,同时提供纹理。

[0139] 在图11b-e中显示这些结果的代表性图像,其中图11b是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,图11c是干燥器干燥实验特写,图11d是泵干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概述,图11e是泵干燥实验特写。再次,在图11d和11e的明亮背景是由于放置在观察池顶面上不是在芯片表面上的预处理器。

[0140] 同预料的一样,鉴于用于设计3和4的结果,设计5的干燥器干燥提供非常均匀的表面并且没有过量的预处理器。小的微井使得难以看见预处理器,但是它在整个表面上非常均匀的。在图11b中,背景亮度的变化,是由于在观察池上的不是在芯片表面的预处理器。而且,发现右下角的明亮区域起因于表面上的灰尘,束缚住更多的预处理器,但是值得注意的是,即使在这个区域不产生填充井。

[0141] 泵干燥实验提供与干燥器干燥实验明显相同的结果(不包括由于在观察池上预处理器存在的变化)。

[0142] 我们盼望我们列入候选名单的设计,即50-81和50-63(其表示微图案化井的尺寸和它们的以 μm 表示的斜间距(pitched spacing))。我们知道,对于两个设计,这个尺寸的干燥器干燥方法运转良好,因此在这些条件下,125 μm 间距的微图案化井良好进行。

[0143] 设计6和7

[0144] 如在设计1中,设计6和7也基于在X轴和Y轴上在250 μm 方形间距上安排的75 μm 圆井的‘活性’阵列。此外,设计6(图12)包含在81 μm 方形间距上,在‘活性’井之间的50 μm 环形‘非

活性’井的背景图案,同时设计7(图13a)包含在 $63\mu\text{m}$ 方形间距上,在‘活性’井之间的 $50\mu\text{m}$ 环形‘非活性’井的背景图案。照这样,在这些设计中,另外的(或‘非活性的’或‘流量控制’)井孔的截面积小于‘活性’或‘传感器’井的面积。

[0145] 对于这些设计,仅仅实施泵干燥实验,因为可以从干燥器干燥会良好运行的设计3的结果推断。

[0146] 在图12b和图12c中示出了设计6的结果的代表性图像,其中图12b是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,并且图12c是干燥器干燥实验特写。在图13b和图13c中显示设计7的这些结果的代表性图像,其中图13b是干燥器干燥实验(并且没有提供井的详细细节)的概观,并且图13c是干燥器干燥实验特写。

[0147] 从设计6中获得满意的结果。大多数的表面是均匀的,(在表面上存在预处理物的一些变化,但是这个可能与芯片的表面化学更相关),不过,相比于预处理物以均匀方式形成的的大多数微井,平均仅有一些微井是被填充的或者是不均匀的。

[0148] 从设计7中获得好的结果。解释明显的观察池变化,没有出现任何填充的微井,并且相比于设计6,分布显得更均匀。

[0149] 上面讨论的设计的结果已经被量化,并且通过分配预处理物分布的质量等级在表2中制表。为此,通过图像分析评估预处理物分布的均匀性,以便测量井中预处理的矩形性和周长。距形性定义为预处理物的截面积与在井内理论上内切的(非旋转式)的矩形的截面积的比率(即,具有最大横截面积的矩形,其可以内切预处理的横截面积内)。对于完美圆形的对象,这个比率是 $\pi/4$,对于非旋转的矩形是一致的。为此,将要分析的图像分为其红色、绿色和蓝色组分。绿色荧光染料(氟硼荧)用于突出预处理物,并且在膜层下红色荧光染料(磺基罗丹明)用于突出缓冲液。随后正好在背景水平上阈值过滤灰度图像。随后将双色调图像经受在每个确认的对象上的形状分析。在这个基础上,定义下列的等级:

[0150] 等级1:

[0151] 表面可见的预处理物覆盖度低于流体池中5%的阵列表面。

[0152] 在阵列(‘活性’和‘非活性’)中填充井的数量小于0.5%。

[0153] 在井中预处理物环状结构的分布均匀性是高的,其通过距形性和周长被量化在平均值的 $\pm 20\%$ 之内。例如,如果对于 $50\mu\text{m}$ 井,周长的平均值是 $140\mu\text{m}$,然后在 $50\mu\text{m}$ 井上测得的所有周长需要在 $112\mu\text{m}$ 至 $168\mu\text{m}$ 的区间中。

[0154] 等级2:

[0155] $5\% < \text{通过预处理物的表面覆盖度} < 15\%$

[0156] $0.5\% < \text{填充井的数量} < 5\%$

[0157] $\text{平均值的} \pm 20\% < \text{用于环状特征的间隔} < \text{平均值的} \pm 40\%$

[0158] 等级3:

[0159] $\text{通过预处理物的表面覆盖度} > 15\%$

[0160] $\text{填充井的数量} > 5\%$

[0161] $\text{用于环状特征的间隔} > \text{平均值的} \pm 40\%$

[0162] 表2设计2-7的结果概述

[0163]

	‘另外的’井直径(μm)	X 间距(μm)	Y 间距(μm)	干燥方法	等级
设计 2	75	250	250	真空	2
设计 2	75	250	250	泵	3
设计 3	75	125	125	真空	1
设计 3	75	125	125	泵	3
设计 4	75 (方形)	125	125	真空	1
设计 4	75 (方形)	125	125	泵	2
设计 5	15 (方形)	5	5	真空	1
设计 5	15 (方形)	5	5	泵	1
设计 6	50	81	81	泵	2
设计 7	50	63	63	泵	1

[0164] 从表2中和省却的讨论可以看出,真空/干燥器干燥用于类似的井几何图形,相对于泵/对流干燥用于较少织化(即具有较大、更多彼此隔开的附加井)表面,提供更好的质量分布。然而,对于高度织化表面,干燥方法不影响获得的预处理的等级(即如设计5所示)。

[0165] 还可以看到,具有更紧密间隔的‘另外的’井是优选的(例如通过比较设计2和3),以获得更好的预处理分布质量。优选地,在125 μm 或者更少间距间隔另外的井,更优选100 μm 间距或者更少,更优选81 μm 或者更少,更优选63 μm 或者更少。可选地,另外的井的间距小于‘传感器’或‘活性’井阵列的间距。

[0166] 可以对于设计1至3计算井的数量密度(井/微米²)、井面积密度(井面积/总面积)、井之间最邻近距离。这些设计代表只具有存在井的一个外形的的设计(就几何形状和尺寸而言)。在表3中量化这些值。

[0167] 表3:设计1-3的体特性

[0168]

	井数量密度 (井/微米 ²)	井面积密度(-)	井最邻近距离(微米)
设计 1	1.6×10^{-5}	0.071	175
设计 2	3.2×10^{-5}	0.141	102
设计 3	6.4×10^{-5}	0.283	50

[0169] 从表2和表3的趋势中,显然优选在表面上具有更高的井密度以产生更好的预处理物分布。可选地,井(无论是活性的还是非活性的)的数量分布至少是 3.2×10^{-5} 井/微米²,更优选地 6.4×10^{-5} 井/微米²。优选地,井面积密度是0.141或者更多,更优选地,0.283或者更多。优选地,形成井以使得到下一个最近的井的距离是102微米外或者更少,更优选50微米或者更少。

[0170] 还设想未来的装置可以进一步减小尺寸,在这种情况下,在设计6和7中提供‘另外的’井,可以实际用作为活性井的连续阵列。在这种情况下,设计将具有在表4中显示的特性。

[0171] 表4:设计6和7的‘另外的’井的体特性

[0172]

	井数量密度(井/微米 ²)	井面积密度(-)	井最邻近距离(微米)
设计 6	1.5×10^{-4}	0.299	31
设计 7	2.5×10^{-4}	0.495	13

[0173] 照这样,井的数量分布是更优选 1.5×10^{-4} 井/微米²或者更多,并且更优选 2.5×10^{-4} 井/微米²或者更多。进一步,井面积密度是更优选0.299或者更多,并且更优选0.495或者更多。另外地,更可选地形成井以使得下一个最近的井是相聚31微米或者更少,并且更优选13微米或者更少。

[0174] 从表1中更加明显的是无论它们是否有活性的,对于井更小的是优选的。优选地,井的直径是75微米或者更小,更优选直径是50微米或者更小。

[0175] 在实践中,使用仅仅部分或者全部活性井构造的阵列可以实现本发明的优点。通过控制通过使用额外的井(无论它们最终是否用于传感或者其它)的表面能量,可以获得预处理物改进的流以及随后预处理物分布的改进。即使缺乏预处理的步骤,改进的流量控制给出可以有助于双分子层形成的更均匀的流。

[0176] 参照具体实施方式以上已近描述了本发明。应当理解的是,上面的描述不是限制在附加的权利要求中限定的本发明。

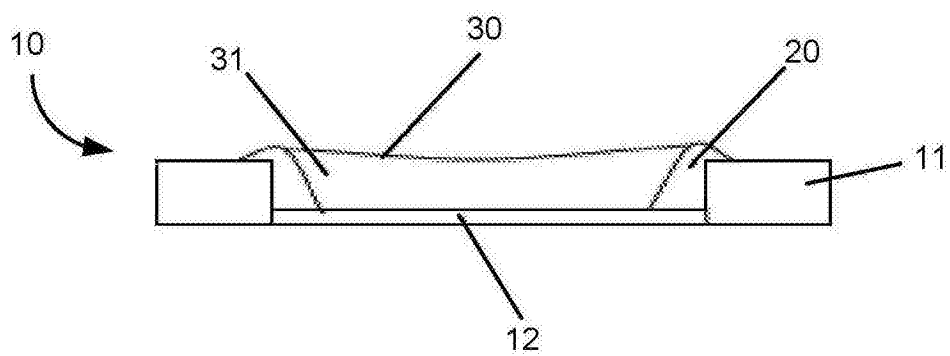


图1

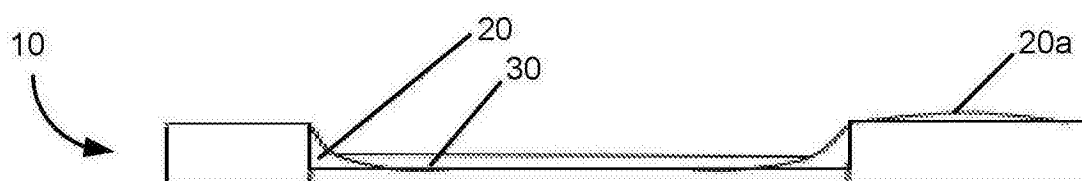


图2

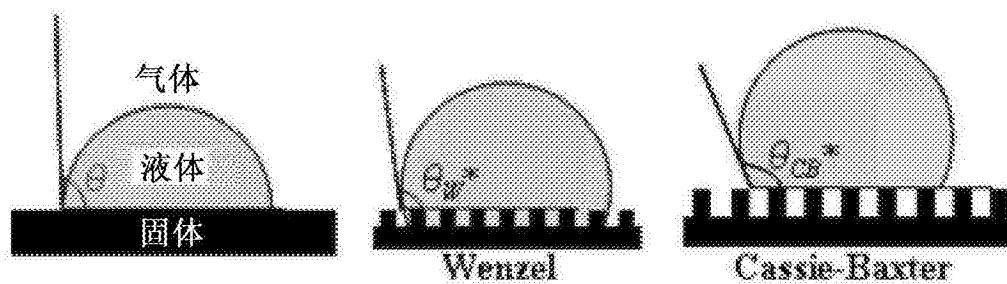


图3

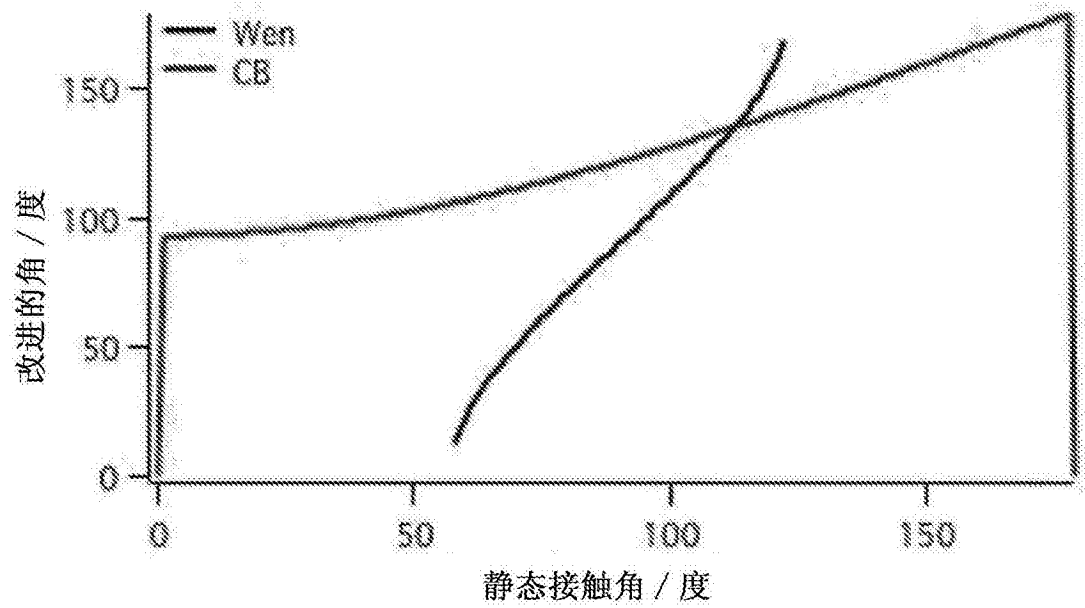


图4a

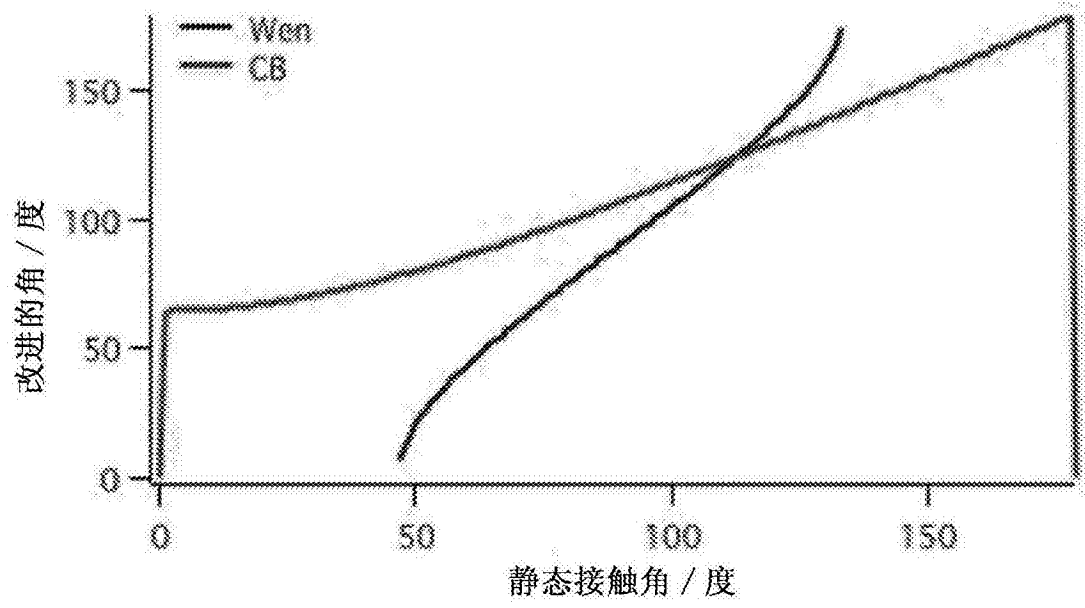


图4b

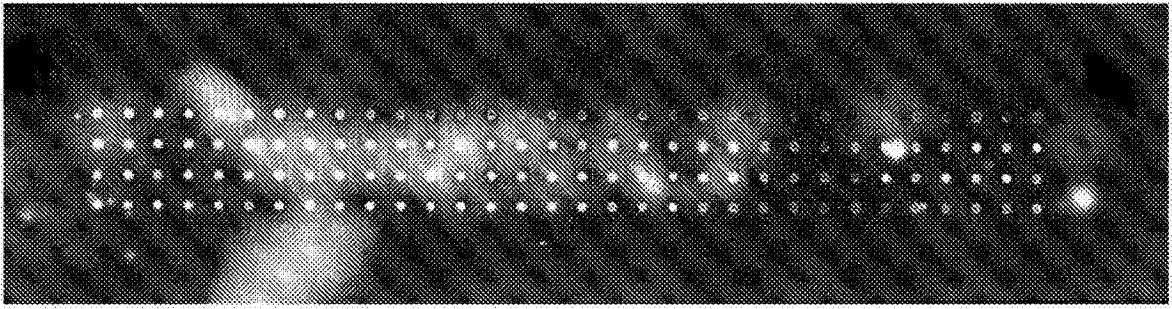


图5a

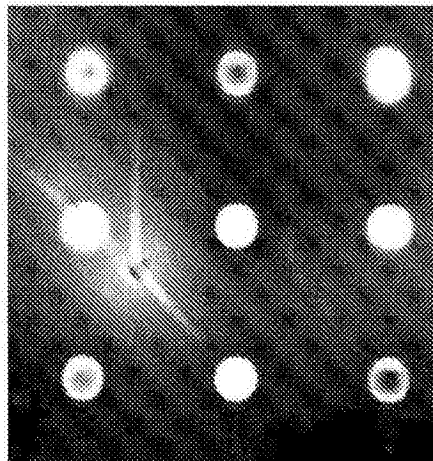


图5b

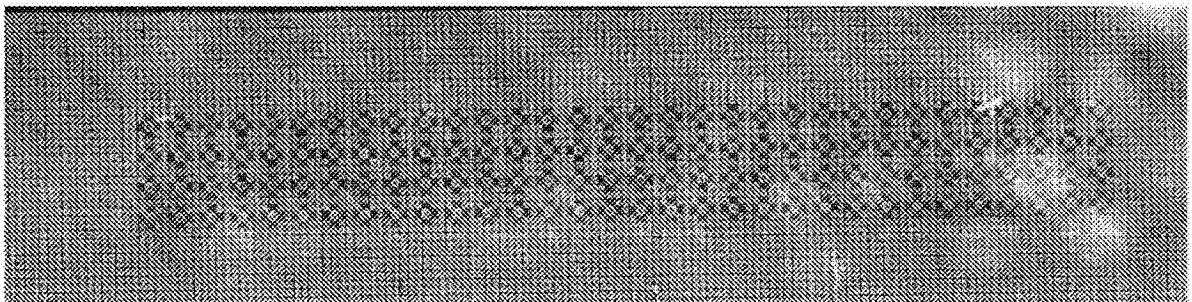


图5c

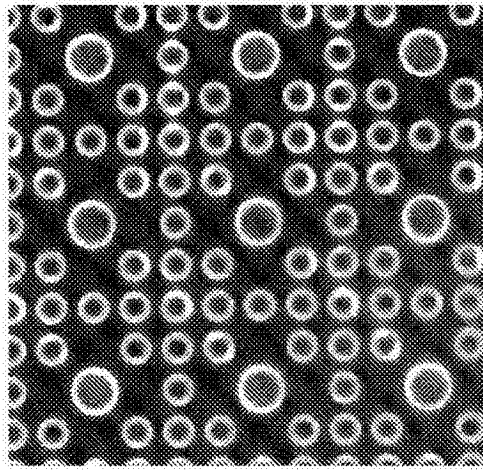


图5d

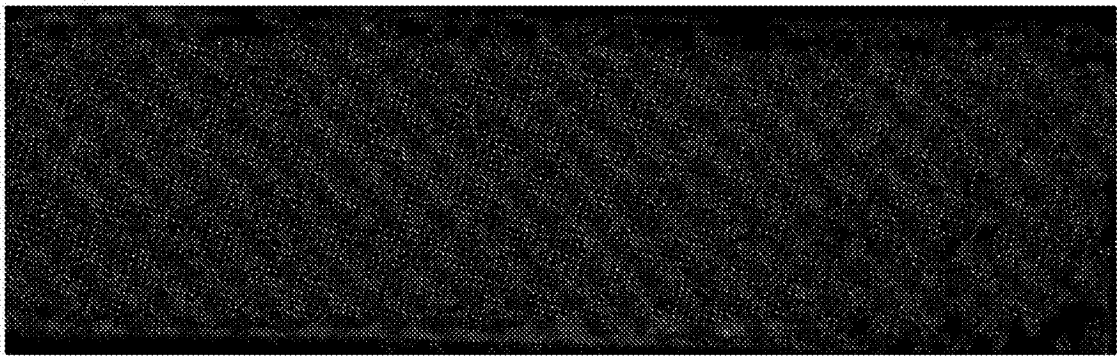


图6

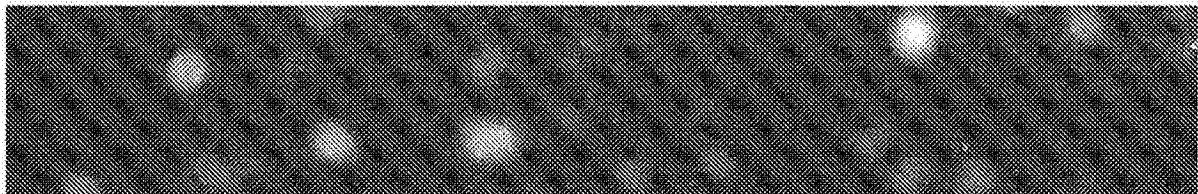


图7a

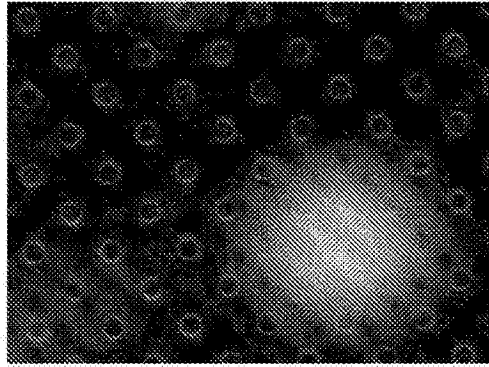


图7b

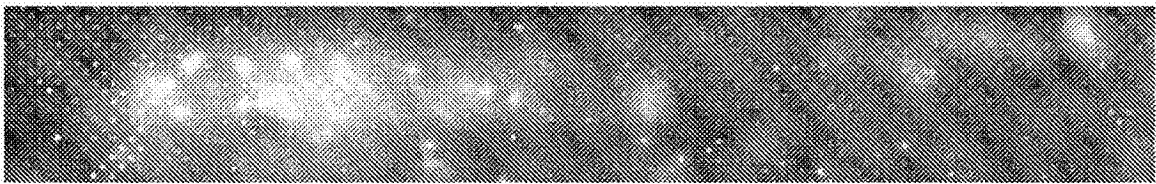


图7c

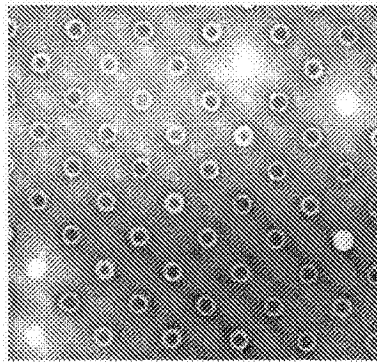


图7d

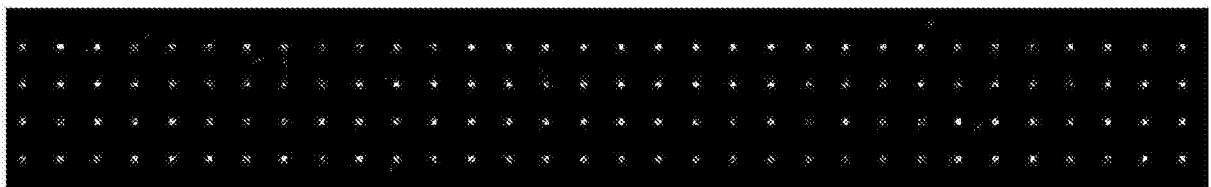


图8a

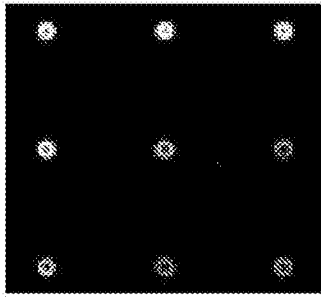


图8b

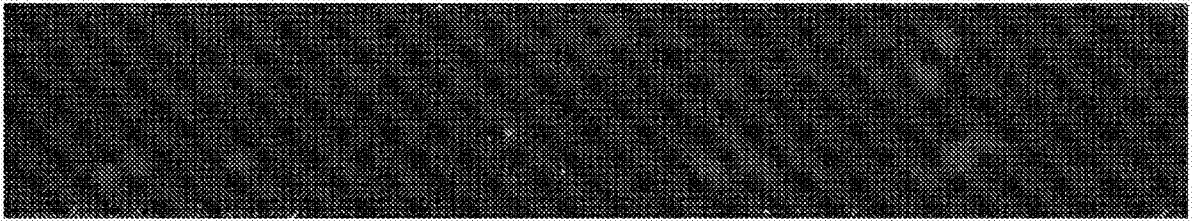


图9a

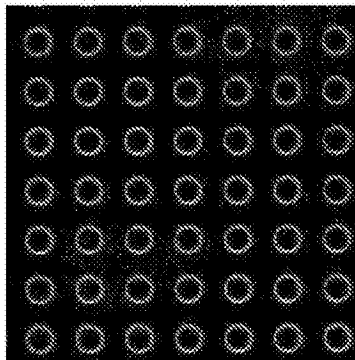


图9b

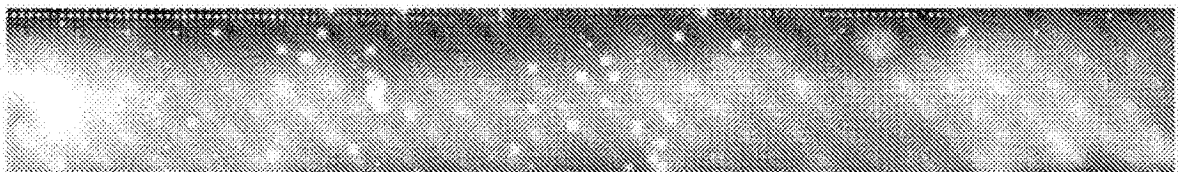


图9c

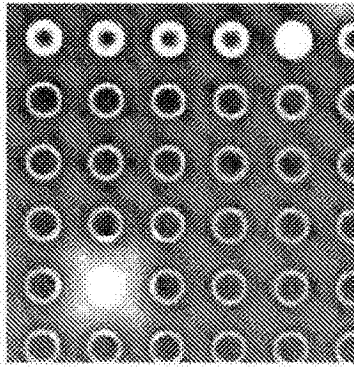


图9d

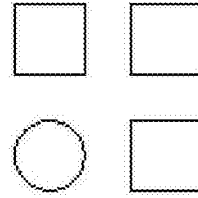


图10a

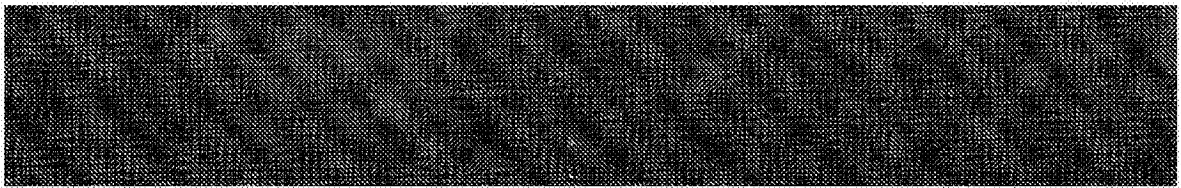


图10b

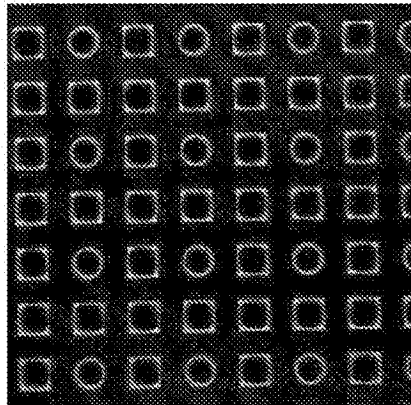


图10c

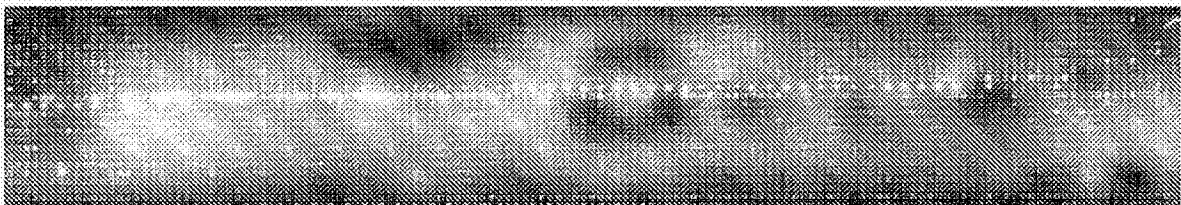


图10d

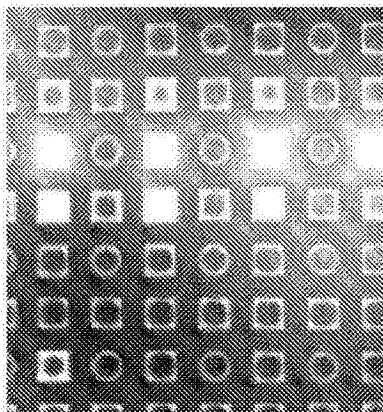


图10e

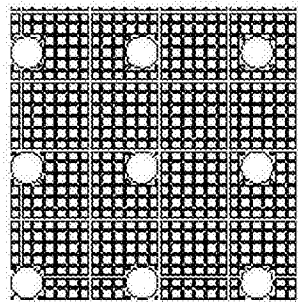


图11a

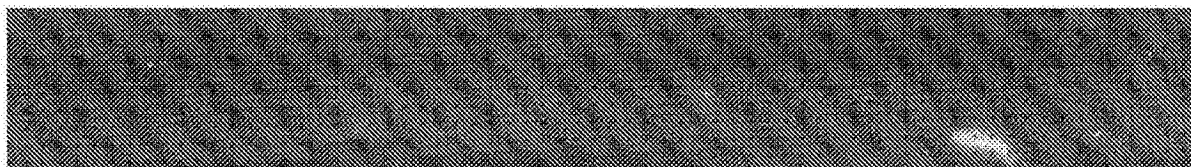


图11b

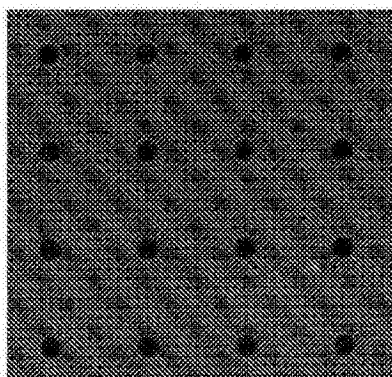


图11c



图11d

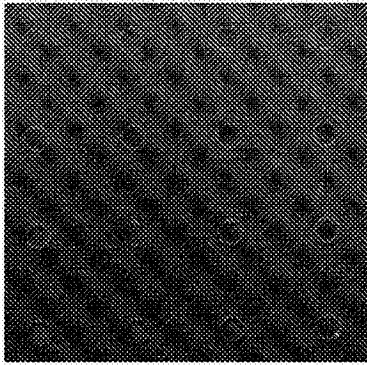


图11e

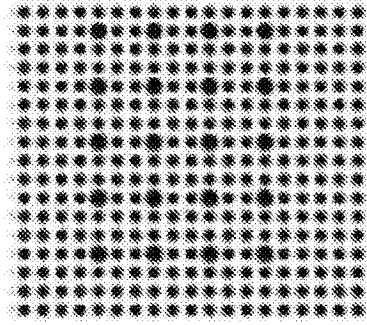


图12a

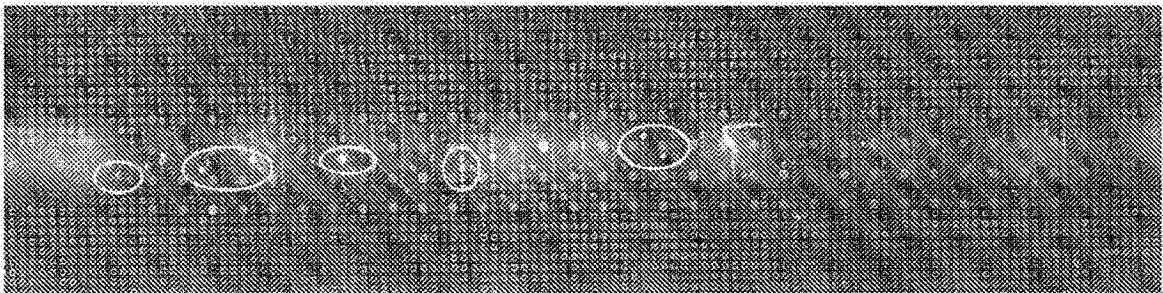


图12b

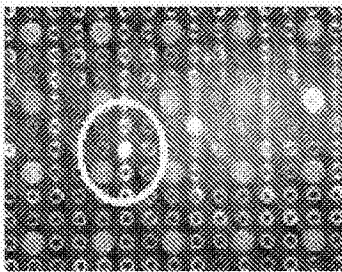


图12c

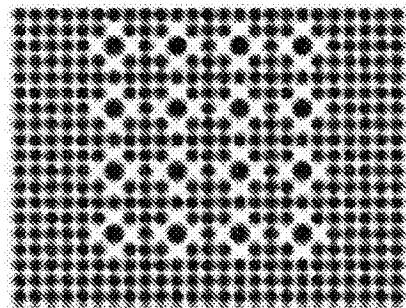


图13a

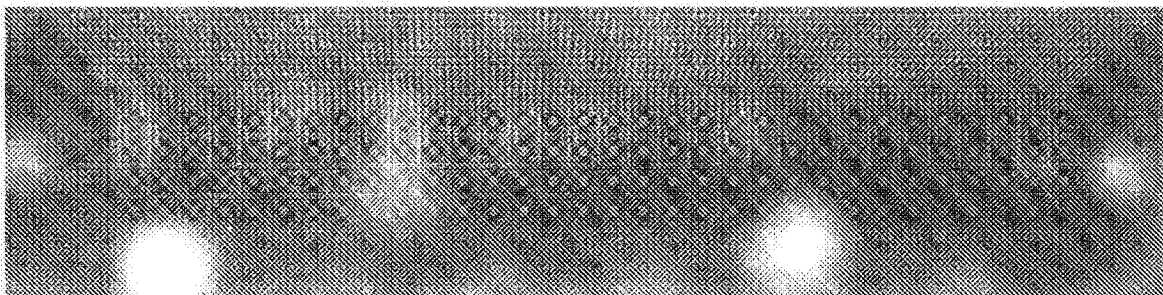


图13b

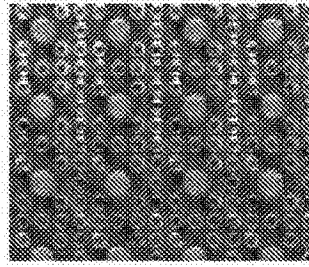


图13c