(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0097103
(43) 공개일자 2023년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) *G01N 21/27* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/6428 (2013.01)
G01N 21/274 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7017790
(22) 출원일자(국제) 2021년10월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/056707
(87) 국제공개번호 WO 2022/093861
국제공개일자 2022년05월05일
(30) 우선권주장
63/106,325 2020년10월27일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
퀀텀-에스아이 인코포레이티드
미국 06437 코네티컷주 길포드 올드 화이트필드 스트리트 530
(72) 발명자
프레스톤, 카일
미국 06437 코네티컷 길포드 마우파스 로드 461
리드, 브라이언
미국 06443 코네티컷 매디슨 헐 로드 94
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 백만기

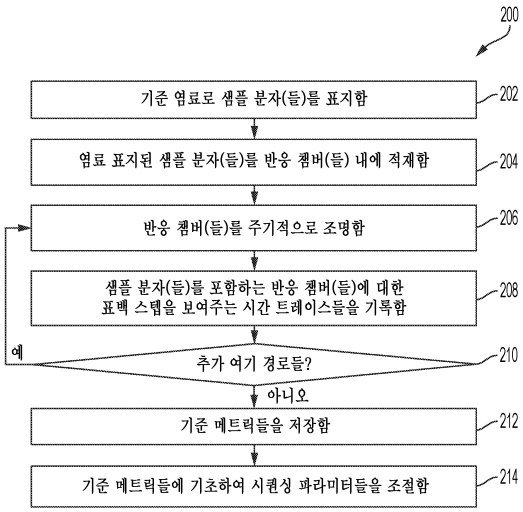
전체 청구항 수 : 총 81 항

(54) 발명의 명칭 **광표백 정보를 이용한 단일 분자 검출 시스템**

(57) 요 약

본 개시내용의 양태들을 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 기술들에 관한 것이다. 일부 실시예들에 따르면, 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 방법이 제공되며, 이 방법은 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 기준 염료 분자를 여기시키는 단계; 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계 - 신호는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타내는 정보를 포함함 -; 및 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 시스템의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
G01N 21/6408 (2013.01)
G01N 21/6452 (2013.01)
G01N 21/6454 (2013.01)
G01N 21/648 (2013.01)
G01N 33/6806 (2013.01)
G01N 2021/6439 (2013.01)
(72) 발명자
슈미드, 제라드
미국 06437 코네티컷 길포드 와일드로즈 애비뉴 140
스, 싱화
미국 06443 코네티컷 매디슨 라일 드라이브 9
황, 하이동
미국 06443 코네티컷 매디슨 시닉 로드 71

(30) 우선권주장
63/165,798 2021년03월25일 미국(US)
63/252,906 2021년10월06일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정(calibrating)하기 위한 방법으로서,

상기 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 기준 염료 분자(reference dye molecule)를 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 여기시키는 단계;

상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계 - 상기 신호는 상기 기준 염료 분자의 표백 시간(bleaching time)을 나타내는 정보를 포함함 -; 및

상기 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 상기 시스템의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 하나 이상의 특성은 상기 적어도 하나의 여기 소스의 전력을 포함하는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 조절하는 단계는 상기 기준 염료 분자의 표백 시간이 임계 시간 미만일 때 상기 적어도 하나의 여기 소스의 전력을 감소시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 염료 분자를 여기시키는 단계는, 적어도 상기 기준 염료 분자가 광표백(photobleaching)을 겪을 때까지 상기 통합 디바이스의 챔버에 광을 전달하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 결정하는 단계는 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호의 강도가 임계 강도를 초과하는 지속시간을 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 시스템의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계에 후속하여, 상기 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 샘플에 의해 방출되는 신호를 획득하기 위해 상기 통합 디바이스를 작동시키는 단계를 추가로 포함하고, 상기 샘플에 의해 방출되는 신호는 상기 샘플의 적어도 하나의 특성을 나타내는 정보를 포함하는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 샘플의 적어도 하나의 특성에 기초하여 상기 샘플을 식별하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 샘플은 폴리펩티드를 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 샘플을 식별하는 단계는 상기 샘플의 적어도 하나의 특성을 나타내는 정보에 적어도 부분적으로 기초하여 상기 샘플의 하나 이상의 아미노산을 식별하고, 상기 하나 이상의 아미노산에 적어도 부분적으로 기초하여 상기 폴리펩티드를 식별하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 샘플은 핵산 가닥을 포함하는, 방법.

청구항 12

제8항에 있어서, 상기 샘플을 식별하는 단계는 상기 샘플의 적어도 하나의 특성을 나타내는 정보에 적어도 부분적으로 기초하여 핵산 가닥의 하나 이상의 뉴클레오티드를 식별하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 챔버는 복수의 챔버를 포함하고;

상기 기준 염료 분자는 상기 복수의 챔버 중의 각자의 챔버들 내에 배치된 복수의 기준 염료 분자를 포함하고;

상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계는 상기 복수의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 복수의 신호를 획득하는 단계를 포함하고;

상기 시스템의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계는 상기 복수의 기준 염료 분자의 표백 시간들을 나타내는 정보에 기초하는, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 복수의 기준 염료 분자는 동일한 분자를 포함하는, 방법.

청구항 15

통합 디바이스로서,

기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버;

적어도 하나의 여기 소스로부터의 광에 의해 여기될 때 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역 - 상기 신호는 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타내는 정보를 포함함 -; 및

상기 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 상기 통합 디바이스를 포함하는 시스템의 하나 이상의 특성의 조절을 제어하도록 구성되는 적어도 하나의 제어기

를 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 하나 이상의 특성은 상기 적어도 하나의 여기 소스의 전력을 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 적어도 하나의 제어기는, 상기 기준 염료 분자의 표백 시간이 임계 시간 미만일 때 상기 적어도 하나의 여기 소스의 전력을 감소시키는 것에 의해 적어도 부분적으로 상기 시스템의 하나 이상의 특성의 조절을 제어하도록 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 제어기는 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 결정하도록 추가로 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 19

제18항에 있어서, 적어도 하나의 제어기는, 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호의 강도가 임계 강도를 초과하는 지속시간을 결정하는 것에 의해 적어도 부분적으로 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 결정하도록 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 20

통합 디바이스를 제조하는 방법으로서,

상기 통합 디바이스의 기판 상에 챔버를 제공하는 단계 - 상기 챔버는 기준 염료 분자를 수용하도록 구성되고, 상기 기준 염료 분자가 적어도 하나의 광원으로부터 광을 수신하도록 상기 기판 상에 위치됨 -;

상기 적어도 하나의 광원으로부터의 광이 상기 기준 염료 분자에 전달될 때 광 검출 영역이 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하도록 상기 챔버에 인접하게 위치되는 상기 광 검출 영역을 제공하는 단계; 및

적어도 하나의 제어기가 상기 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 의해 포함된 정보를 수신하도록 상기 적어도 하나의 제어기를 상기 광 검출 영역에 결합하는 단계 - 상기 정보는 상기 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타냄 -

를 포함하는, 방법.

청구항 21

통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재(quantitative loading)의 척도를 결정하기 위한 방법으로서,

적어도 하나의 여기 소스로부터의 여기 광으로, 상기 여기 광에 의한 여기 동안 상기 통합 디바이스의 하나 이상의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩되는 샘플의 각자의 생체분자들(biomolecules)에 부착되는 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계;

상기 여기 광에 응답하여 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계; 및

상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 상기 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 신호는 기간에 걸쳐 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 광의 강도를 표현하는, 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계는 상기 하나 이상의 기준 염료 분자를 광표백하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에서 광표백 스텝들의 수를 결정하고, 상기 광표백 스텝들의 수에 기초하여 상기 챔버의 표면에 바인딩된 각자의 생체분자들의 수를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 25

제21항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 하나 이상의 챔버의 단일 챔버의 표면에 바인딩되는 각자의 생체분자들의 수를 포함하는, 방법.

청구항 26

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 샘플의 단일 생체분자를 포함하는 상기 하나 이상의 챔버의 백분율을 포

함하는, 방법.

청구항 27

제21항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 상기 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계는 상기 샘플 내의 생체분자들의 농도를 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계는 자신의 표면에 바인딩되는 단일 생체분자를 포함하는 상기 하나 이상의 챔버의 수를 최대화하도록 상기 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 31

제27항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 후속 분석으로부터 상기 하나 이상의 챔버 중 적어도 일부로부터의 신호들을 제외하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 32

제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 최적의 수의 상기 하나 이상의 챔버 각각이 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때까지 상기 하나 이상의 챔버에 추가 샘플을 재적재하는(reloading) 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도를 사용하여, 상기 최적의 수의 하나 이상의 챔버 각각이 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 최적의 수의 하나 이상의 챔버 각각이 상기 샘플의 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때 적재를 종료하는 단계를 추가로 포함하고, 상기 적재를 종료하는 단계는 바인딩되지 않은 생체분자들을 상기 통합 디바이스로부터 제거하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 적재를 종료하는 단계에 후속하여:

상기 하나 이상의 챔버에 여기 광을 전달하고;

상기 여기 광에 응답하여 상기 하나 이상의 챔버로부터 방출되는 신호들을 획득하고;

상기 신호들에 기초하여 상기 샘플의 하나 이상의 생체분자를 식별하는 것

에 의해 적어도 부분적으로 상기 샘플을 시퀀싱하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 36

제21항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자 각각은 상기 각자의 생체분자에 부착될 때, 상기 각자의 생체분자로부터 적어도 1 ㎚만큼 분리되는, 방법.

청구항 37

제21항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 각자의 생체분자는 펩티드 또는 핵산 중 하나인, 방법.

청구항 38

제21항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 각자의 생체분자에 공유 결합되는, 방법.

청구항 39

제21항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 각자의 생체분자에 비공유 결합되는(non-covalently linked), 방법.

청구항 40

제21항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 각자의 2차 생체분자에 바인딩되고, 상기 각자의 2차 생체분자는 상기 샘플의 각자의 생체분자들에 부착되는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 올리고뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 42

제40항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 N-말단 아미노산 인식기(N-terminal amino acid recognizer)를 포함하는, 방법.

청구항 43

제40항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 상기 각자의 생체분자에 가역적으로 바인딩하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 하나 이상의 기준 염료 분자 중의 각자의 기준 염료 분자가 상기 각자의 생체분자에 바인딩될 때에만 방출 광을 방출하도록 펄싱 패턴을 나타내는, 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자들의 수를 포함하고, 상기 방법은 상기 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴에 기초하여 상기 챔버 내의 생체분자들의 수를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 46

제21항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자 중 적어도 일부는 상기 각자의 생체분자가 바인딩되는 각자의 링커(linker)에 부착되고, 상기 각자의 링커는 상기 챔버의 표면에 바인딩되는, 방법.

청구항 47

샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하도록 구성되는 통합 디바이스로서,

하나 이상의 기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버 - 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 적어도 하나의 여기 소스로부터 전달된 여기 광으로 상기 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기하는 동안 상기 샘플의 각자의 생체분자들에 부착되고, 상기 각자의 생체분자들은 상기 적어도 하나의 챔버의 표면에 바인딩됨 -;

상기 적어도 하나의 여기 소스로부터의 여기 광에 응답하여 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역; 및

상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 상기 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하

도록 구성되는 적어도 하나의 제어기

를 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 신호는 기간에 걸쳐 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 광의 강도를 표현하는, 통합 디바이스.

청구항 49

제47항 또는 제48항에 있어서, 상기 적어도 하나의 제어기는, 적어도 상기 하나 이상의 기준 염료 분자가 광표백될 때까지 상기 적어도 하나의 챔버에 여기 광을 전달하기 위해 적어도 하나의 여기 소스를 제어하도록 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 50

제49항에 있어서, 적어도 하나의 제어기는 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에서 광표백 스텝들의 수를 결정하고, 상기 광표백 스텝들의 수에 기초하여 상기 챔버의 표면에 바인딩된 각자의 생체분자들의 수를 결정하도록 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 51

제47항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 적어도 하나의 챔버의 단일 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 각자의 생체분자들의 수를 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 52

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 적어도 하나의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 샘플의 단일 생체분자를 포함하는 상기 적어도 하나의 챔버의 챔버들의 백분율을 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 53

제47항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 제어기는 상기 정량적 적재의 척도를 사용하여, 상기 적어도 하나의 챔버 중 최적의 수의 챔버들 각각이 상기 적어도 하나의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때를 결정하도록 추가로 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 54

제47항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 제어기는 상기 신호에 기초하여 상기 각자의 생체분자를 식별하도록 추가로 구성되는, 통합 디바이스.

청구항 55

제47항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 각자의 생체분자는 펩티드 또는 핵산 중 하나인, 통합 디바이스.

청구항 56

제47항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 각자의 생체분자들에 공유 결합되는, 통합 디바이스.

청구항 57

제47항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 각자의 생체분자들에 비공유 결합되는, 통합 디바이스.

청구항 58

제47항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 각자의 2차 생체분자에 바인딩되고, 상기 각자의 2차 생체분자는 상기 샘플의 각자의 생체분자들에 부착되는, 통합 디바이스.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 올리고뉴클레오티드를 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 60

제58항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 N-말단 아미노산 인식기를 포함하는, 통합 디바이스.

청구항 61

제58항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자는 상기 각자의 생체분자에 가역적으로 바인딩하는, 통합 디바이스.

청구항 62

통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 방법으로서,

적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계 - 상기 하나 이상의 기준 염료 분자는 상기 샘플의 각자의 생체분자들에 가역적으로 바인딩하는 각자의 2차 생체분자들에 부착되고, 상기 각자의 생체분자들은 상기 통합 디바이스의 복수의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩됨 -;

여기 광에 응답하여 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계;

상기 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴을 결정하는 단계; 및

상기 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴에 기초하여 상기 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서,

상기 각자의 2차 생체분자들은 펄싱 주기당 한번씩 상기 샘플의 각자의 생체분자들에 바인딩하고;

상기 펄싱 패턴은 하나 이상의 펄스를 포함하거나 펄스들을 포함하지 않고;

상기 정량적 적재의 척도는 펄싱 주기 동안 수신되는 상기 하나 이상의 펄스의 수에 기초하여 결정되는, 방법.

청구항 64

제62항 또는 제63항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자들은 올리고뉴클레오티드를 포함하는, 방법.

청구항 65

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 각자의 2차 생체분자들은 N-말단 아미노산 인식기들을 포함하는, 방법.

청구항 66

제63항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 샘플의 각자의 생체분자들의 수를 포함하는, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계는 상기 펄싱 패턴에 펄스들이 존재하지 않을 때 상기 챔버가 생체분자들을 포함하지 않는 것으로 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 68

제62항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신호는 기간에 걸쳐 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 광의 강도를 표현하는, 방법.

청구항 69

제62항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계는 상기 하나 이상의 기준 염료 분자를 광표백하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에서 광표백 스텝들의 수를 결정하고, 상기 광표백 스텝들의 수에 기초하여 상기 챔버의 표면에 바인딩되는 각자의 생체분자들의 수를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 71

제62항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 하나 이상의 챔버의 단일 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 각자의 생체분자들의 수를 포함하는, 방법.

청구항 72

제62항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플의 정량적 적재의 척도는 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 상기 샘플의 단일 생체분자를 포함하는 상기 하나 이상의 챔버의 백분율을 포함하는, 방법.

청구항 73

제62항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 상기 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계는 상기 샘플 내의 생체분자들의 농도를 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 76

제74항에 있어서, 상기 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계는 자신의 표면에 바인딩되는 단일 생체분자를 포함하는 상기 하나 이상의 챔버의 수를 최대화하도록 상기 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 77

제74항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도에 기초하여 상기 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 후속 분석으로부터 상기 하나 이상의 챔버 중 적어도 일부로부터의 신호들을 제외하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 78

제62항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 최적의 수의 상기 하나 이상의 챔버 각각이 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때까지 상기 하나 이상의 챔버에 추가 샘플을 재적재하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 상기 정량적 적재의 척도를 사용하여, 상기 최적의 수의 하나 이상의 챔버 각각이 상기 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때를 결정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 80

제78항에 있어서, 상기 최적의 수의 하나 이상의 챔버 각각이 상기 샘플의 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때 적재를 종료하는 단계를 추가로 포함하고, 상기 적재를 종료하는 단계는 바인딩되지 않은 생체분자들을 상기 통합 디바이스로부터 제거하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 적재를 종료하는 단계에 후속하여:

상기 하나 이상의 챔버에 여기 광을 전달하고;

상기 여기 광에 응답하여 상기 하나 이상의 챔버로부터 방출되는 신호들을 획득하고;

상기 신호들에 기초하여 상기 샘플의 하나 이상의 생체분자를 식별하는 것

에 의해 적어도 부분적으로 상기 샘플을 시퀀싱하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원들에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 35 U.S.C.§119(e) 하에서, 대리인 문서번호 R0708.70114US00으로 2020년 10월 27일에 출원되고 발명의 명칭이 "광표백 정보를 이용한 단일 분자 검출 시스템(SINGLE-MOLECULE DETECTION SYSTEM USING PHOTOBLEACHING INFORMATION)"인 미국 가특허 출원 제63/106,325호, 대리인 문서번호 R0708.70114US01로 2021년 3월 25일에 출원되고 발명의 명칭이 "광표백 정보를 이용한 단일 분자 검출 시스템 교정(SINGLE-MOLECULE DETECTION SYSTEM CALIBRATION USING PHOTOBLEACHING INFORMATION)"인 미국 가특허 출원 제63/165,798호, 및 대리인 문서번호 R0708.70114US02로 2021년 10월 6일에 출원되고 발명의 명칭이 "통합 디바이스의 정량적 적재를 결정하기 위한 시스템들 및 방법들(SYSTEMS AND METHODS FOR DETERMINING QUANTITATIVE LOADING OF AN INTEGRATED DEVICE)"인 미국 가특허 출원 제63/252,906호의 혜택을 주장하며, 그것들 각각의 전체내용은 여기에 참조로 포함된다.

[0003] **기술분야**

[0004] 본 개시내용은 샘플 분석을 위해 수만 개 이상의 반응 챔버에 짧은 광학 펄스들을 동시에 제공하고 반응 챔버들로부터 형광 신호들을 수신함으로써 샘플들의 대규모 병렬 분석을 수행할 수 있는 통합 디바이스들 및 관련 기기들에 관한 것이다. 기기들은 현장 진단 유전자 시퀀싱(point-of-care genetic sequencing) 및 개인 맞춤형 의료에 유용할 수 있다.

배 경 기 술

[0005] 광 검출기들은 다양한 응용들에서 광을 검출하기 위해 사용된다. 입사 광의 강도를 나타내는 전기 신호를 생성하는 통합 광 검출기들이 개발되었다. 이미징 응용들을 위한 통합 광 검출기들은 장면 전체로부터 수신된 광의 강도를 검출하기 위한 픽셀들의 어레이를 포함한다. 통합 광 검출기들의 예들은 전하 결합 소자(CCD) 및 상보성 금속 산화물 반도체(CMOS) 이미지 센서를 포함한다.

[0006] 생물학적 또는 화학적 샘플들의 대규모 병렬 분석을 할 수 있는 기기들은 전형적으로 큰 크기, 휴대성 부족, 기기를 작동시키기 위한 숙련된 기술자의 요구, 전력 요구, 통제된 동작 환경의 필요성, 및 비용을 포함할 수 있는 여러 요인들로 인해 실험실 세팅들로 제한된다. 샘플이 이러한 장비를 사용하여 분석되어야 할 때, 일반적인 패러다임은 진단 현장(point of care) 또는 현장(field)에서 샘플을 추출하고, 샘플을 실험실로 보내고, 분석 결과를 기다리는 것이다. 결과를 기다리는 시간은 몇 시간 내지 며칠의 범위일 수 있다.

발명의 내용

[0007] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정(calibrating)하기 위한 방법으로서, 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 기준 염료 분자(reference dye molecule)를 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 여기시키는 단계; 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계 - 신호는 기준 염료 분자의 표

백 시간(bleaching time)을 나타내는 정보를 포함함 -; 및 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 시스템의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0008] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스로서, 기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버; 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광에 의해 여기될 때 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역 - 신호는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타내는 정보를 포함함 -; 및 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 통합 디바이스를 포함하는 시스템의 하나 이상의 특성의 조절을 제어하도록 구성되는 적어도 하나의 제어기를 포함하는 통합 디바이스에 관한 것이다.

[0009] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스를 제조하는 방법으로서, 통합 디바이스의 기판 상에 챔버를 제공하는 단계 - 챔버는 기준 염료 분자를 수용하도록 구성되고, 기준 염료 분자가 적어도 하나의 광원으로부터 광을 수신하도록 기판 상에 위치됨 -; 적어도 하나의 광원으로부터의 광이 기준 염료 분자에 전달될 때 광 검출 영역이 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하도록 챔버에 인접하게 위치되는 광 검출 영역을 제공하는 단계; 및 적어도 하나의 제어기가 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 포함된 정보를 수신하도록 적어도 하나의 제어기를 광 검출 영역에 결합하는 단계 - 정보는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타냄 -를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0010] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재(quantitative loading)의 척도를 결정하기 위한 방법으로서, 적어도 하나의 여기 소스로부터의 여기 광으로, 여기 광에 의한 여기 동안 통합 디바이스의 하나 이상의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩되는 샘플의 각자의 생체분자들(biomolecules)에 부착되는 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계; 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계; 및 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0011] 본 개시내용의 일부 양태들은 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하도록 구성되는 통합 디바이스로서, 하나 이상의 기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버 - 하나 이상의 기준 염료 분자는 적어도 하나의 여기 소스로부터 전달된 여기 광으로 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기하는 동안 샘플의 각자의 생체분자들에 부착되고, 각자의 생체분자들은 적어도 하나의 챔버의 표면에 바인딩됨 -; 적어도 하나의 여기 소스로부터의 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역; 및 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하도록 구성되는 적어도 하나의 제어기를 포함하는 통합 디바이스에 관한 것이다.

[0012] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 방법으로서, 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계 - 하나 이상의 기준 염료 분자는 샘플의 각자의 생체분자들에 가역적으로 바인딩하는 각자의 2차 생체분자들에 부착되고, 각자의 생체분자들은 통합 디바이스의 복수의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩됨 -; 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계; 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴을 결정하는 단계; 및 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0013] 본 개시내용의 특징들 및 장점들은 도면들과 관련하여 취해질 때 아래에 제시된 상세한 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다. 도면들을 참조하여 실시예들을 설명할 때, 방향 참조들("위", "아래", "최상부", "최하부", "좌측", "우측", "수평", "수직" 등)이 사용될 수 있다. 이러한 참조들은 독자가 정상적인 배향으로 도면을 보는 데 도움을 주기 위한 것으로서만 의도된다. 이러한 방향 참조들은 구현된 디바이스의 특징들의 선호되는 또는 유일한 배향을 설명하도록 의도된 것이 아니다. 디바이스는 다른 배향들을 사용하여 구현될 수 있다.

도 1-1A는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스 및 기기의 블록도이다.

도 1-1B는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스의 개략도이다.

도 1-1C는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스의 픽셀의 개략도이다.

도 1-1D는 일부 실시예들에 따른 도 1-1C의 픽셀의 회로도이다.

도 1-1E는 일부 실시예들에 따른 도 1-1C의 픽셀의 상면도이다.

도 1-1F는 일부 실시예들에 따른 도 1-1C 및 도 1-1D의 픽셀의 평면도이다.

도 1-1G는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스의 대안적인 픽셀의 개략도이다.

도 1-1H는 일부 실시예들에 따른 도 1-1G의 픽셀의 회로도이다.

도 1-1I는 일부 실시예들에 따른 도 1-1C 및 도 1-1D의 픽셀의 평면도이다.

도 2는 일부 실시예들에 따라 광표백 정보를 사용하여 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 예시적인 프로세스를 도시한다.

도 3-1은 일부 실시예들에 따라 표면에 부착된 염료-표지된 샘플을 도시한다.

도 3-2는 일부 실시예들에 따라 반응 챔버에 부착된 염료-표지된 샘플을 도시한다.

도 4는 일부 실시예들에 따라 시간 경과에 따른 광원 여기 전력을 도시하는 예시적인 그래프를 도시한다.

도 5-1은 일부 실시예들에 따라 시간 경과에 따른 기준 염료로부터의 측정된 신호를 도시하는 예시적인 그래프를 도시한다.

도 5-2는 일부 실시예들에 따라 반응 챔버들에서의 단일 분자들의 수집에 대해 측정된 표백 시간 및 염료 강도의 예시적인 히스토그램을 도시한다.

도 6은 일부 실시예들에 따라 반응 챔버에서의 시퀀싱 반응을 도시한다.

도 7은 일부 실시예들에 따라 하나 이상의 반응 챔버의 적재를 정량화하기 위한 예시적인 프로세스를 도시한다.

도 8-1은 일부 실시예들에 따라 단일 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스를 도시한다.

도 8-2는 일부 실시예들에 따라 이중 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스를 도시한다.

도 8-3은 일부 실시예들에 따라 다중 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스를 도시한다.

도 9는 일부 실시예들에 따라 생체분자에 가역적으로 바인딩된 형광 분자들의 주기적인 펄싱 패턴을 도시한다.

도 10은 일부 실시예들에 따라 퍼센트 적재를 도시하는 반응 챔버들의 예시적인 히트맵을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] I. 서론

[0015] 본 개시내용의 양태들은 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 기술들에 관한 것이다. 일부 실시예들에 따르면, 교정 기술들은 광표백 정보를 사용하여 통합 디바이스 및/또는 통합 디바이스와 상호작용하는 컴포넌트들의 양태들(예를 들어, 레이저 전력, 칩 구성 등)을 교정한다.

[0016] 형광 방출에 의해 생물학적 또는 화학적 샘플들의 분석을 수행하는 기기들은 광 손상(photodamage)에 취약할 수 있다. 예를 들어, 통합 디바이스의 반응 챔버들에 여기 광을 전달하는 광원은 통합 디바이스로 신호 수집 및 분석을 수행하기에는 지나치게 강력한 여기 광을 제공할 수 있다. 염료의 광표백은 염료가 더 이상 형광을 발할 수 없도록 광화학적으로 변경될 때(예를 들어, 일정 기간 동안 고전력 레이저 광에 노출된 후에) 발생한다. 고출력 여기 광은 통합 디바이스의 반응 챔버들 내의 형광 분자들이 더 빨리 표백되게 할 수 있으며, 이는 형광 분자들의 방출들로부터 획득될 수 있는 유용한 정보의 양을 감소시킬 수 있다. 본 발명자들은 통합 디바이스에 적용되는 교정 기술들이 광 손상이 다르게 발생하는 것을 방지할 수 있음을 인식했다.

[0017] 예를 들어, 발명자들은 표백 정보(예를 들어, 기준 분자의 표백 시간)가 본 명세서에 설명된 광 손상을 방지하기 위해 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하는 데 사용될 수 있음을 인식했다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 통합 디바이스로 임의의 샘플링 및 분석을 수행하기 전에 교정 프로세스가 수행될 수 있다. 교정 프로세스는 반응 챔버들을 여기 광으로 조명함으로써 반응 챔버들에 적재된 기준 염료들에 관한 표백 정보를 수집할 수 있다. 표백 정보는 레이저 전력 및/또는 칩 구성을 포함하여, 통합 디바이스 및/또는 통합 디바이스와 상호작용하는 컴포넌트의 양태들을 조절할지를 결정하는 데 사용될 수 있는 각각의 반응 챔버 내의 분자들에 대한

기준 여기 강도를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0018] 발명자들은 통합 디바이스의 반응 챔버들 사이의 차이들로 인해 여기 강도를 포함하는 인자들이 통합 디바이스의 상이한 반응 챔버들 사이에서 달라질 수 있음을 추가로 인식했다. 따라서, 일부 실시예들에서, 동일한 기준 염료가 통합 디바이스의 반응 챔버들 각각에 적재되고, 반응 챔버들 사이의 여기 강도의 차이들이 평가될 수 있다. 어떤 반응 챔버도 통합 디바이스에 광 손상을 일으킬 수 있는 여기 광을 수신하지 않을 것을 보장하기 위해, 반응 챔버 사이의 여기 강도의 결정된 차이들에 기초하여, 통합 디바이스에 대해, 예를 들어 여기 광을 반응 챔버들에 전달하는 광원의 전력에 대해 조절들이 이루어질 수 있다.

[0019] 따라서, 일부 양태들은 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 방법으로서, 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 기준 염료 분자를 적어도 하나의 여기 소스(예를 들어, 레이저)로부터의 광으로 여기시키는 단계; 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계 - 신호는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타내는 정보를 포함함 -; 및 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 시스템의 하나 이상의 특성(예를 들어, 적어도 하나의 여기 소스의 전력)을 조절하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0020] 일부 실시예들에서, 조절하는 단계는 기준 염료 분자의 표백 시간이 임계 시간 미만일 때 적어도 하나의 여기 소스의 전력을 감소시키는 단계를 포함한다. 일부 실시예들에서, 기준 염료 분자를 여기시키는 단계는 적어도, 기준 염료 분자가 광표백을 겪을 때까지 통합 디바이스의 챔버에 광을 전달하는 단계를 포함한다.

[0021] 일부 실시예들에서, 방법은 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여, 예를 들어 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호의 강도가 임계 강도를 초과하는 지속시간을 결정함으로써, 기준 염료 분자의 표백 시간을 결정하는 단계를 추가로 포함한다.

[0022] 일부 실시예들에서, 방법은 통합 디바이스의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계에 후속하여, 통합 디바이스의 챔버 내에 배치된 샘플에 의해 방출되는 신호를 획득하기 위해 통합 디바이스를 작동시키는 단계를 추가로 포함하고, 여기서 샘플에 의해 방출되는 신호는 샘플의 적어도 하나의 특성(예를 들어, 신호 강도, 형광 파장, 형광 수명, 펄스 지속시간 및/또는 펄스 간 지속시간)을 나타내는 정보를 포함한다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스를 작동시키는 단계는 샘플이 적어도 하나의 광자를 방출하도록 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 샘플을 여기시키는 단계; 및 샘플에 의해 방출된 적어도 하나의 광자를 통합 디바이스의 광 검출 영역으로 수집하는 단계를 포함한다.

[0023] 일부 실시예들에서, 방법은 샘플의 적어도 하나의 특성에 기초하여 샘플을 식별하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시예들에서 샘플은 폴리펩티드(예를 들어, 단백질, 및/또는 데옥시리보핵산 및/또는 리보핵산과 같은 핵산 가닥)를 포함한다. 샘플을 식별하는 단계는 샘플의 적어도 하나의 특성을 나타내는 정보에 적어도 부분적으로 기초하여 샘플의 하나 이상의 아미노산(예를 들어, 적어도 5개의 아미노산, 50개 이하의 아미노산, 폴리펩티드의 일부 이하)을 식별하고, 하나 이상의 아미노산에 적어도 부분적으로 기초하여 폴리펩티드를 식별하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플을 식별하는 단계는 샘플의 적어도 하나의 특성을 나타내는 정보에 적어도 부분적으로 기초하여 DNA 및/또는 RNA 가닥의 하나 이상의 뉴클레오티드를 식별하는 단계를 포함한다.

[0024] 일부 실시예들에서, 기준 염료 분자는 통합 디바이스의 챔버에 부동화된(immobilized) 형광 분자를 포함한다.

[0025] 일부 실시예들에서, 챔버는 복수의 챔버를 포함하고; 기준 염료 분자는 복수의 챔버 중의 각자의 챔버들 내에 배치된 복수의 기준 염료 분자를 포함하고; 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계는 복수의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 복수의 신호를 획득하는 단계를 포함하고; 통합 디바이스의 하나 이상의 특성을 조절하는 단계는 복수의 기준 염료 분자의 표백 시간들을 나타내는 정보에 기초한다. 일부 실시예들에서, 복수의 기준 염료 분자는 동일한 분자를 포함한다.

[0026] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스로서, 기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버; 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광에 의해 여기될 때 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역 - 신호는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타내는 정보를 포함함 -; 및 기준 염료 분자의 표백 시간에 기초하여 통합 디바이스를 포함하는 시스템의 하나 이상의 특성의 조절을 제어하도록 구성되는 적어도 하나의 제어기를 포함하는 통합 디바이스에 관한 것이다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스의 적어도 하나의 제어기는 본 명세서에 기술된 방법들을 적어도 부분적으로 수행하도록 구성된다.

[0027] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스를 제조하는 방법으로서, 통합 디바이스의 기판 상에 챔버를 제공하는 단계 - 챔버는 기준 염료 분자를 수용하도록 구성되고, 기준 염료 분자가 적어도 하나의 광원으로부터 광을

수신하도록 기판 상에 위치됨 -; 적어도 하나의 광원으로부터의 광이 기준 염료 분자에 전달될 때 광 검출 영역이 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하도록 챔버에 인접하게 위치되는 광 검출 영역을 제공하는 단계; 및 적어도 하나의 제어기가 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 포함된 정보를 수신하도록 적어도 하나의 제어기를 광 검출 영역에 결합하는 단계 - 정보는 기준 염료 분자의 표백 시간을 나타냄 -를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0028] 본 개시내용의 추가 양태들은 또한 통합 디바이스의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 기술들에 관한 것이다. 예를 들어, 통합 디바이스는 본 명세서에 설명된 바와 같이 복수의 반응 챔버를 포함할 수 있다. 통합 디바이스에 의해 처리되는 샘플은 복수의 생체분자(예를 들어, 펩티드들, 핵산들)를 포함할 수 있다. 적재될 때, 각각의 반응 챔버는 생체분자를 포함하지 않거나(비어 있음), 단일 생체분자를 포함하거나(단일 적재됨), 두 개의 생체분자를 포함하거나(이중 적재됨) 두 개 초과의 생체분자를 포함할 수 있다(다중 적재됨).

[0029] 본 발명자들은 반응 챔버들이 적재되는 방식에 대한 척도를 획득하는 것이 유리할 것이라는 점을 인식했다. 특히, 척도는 특정 반응 챔버가 비어 있는지, 단일 적재되어 있는지, 이중 적재되어 있는지, 또는 다중 적재되어 있는지를 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 척도는 전체 통합 디바이스의 적재된 백분율을 나타낼 수 있다.

[0030] 정량적 적재 정보는 적어도 하나의 여기 소스로부터 전달된 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자로부터 방출된 신호들에 기초하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 각각의 기준 염료 분자는 반응 챔버 내에 존재하는 각자의 생체분자 각각에 부착될 수 있다. 반응 챔버 내에 존재하는 기준 염료 분자들의 수를 결정함으로써, 반응 챔버 내에 존재하는 생체분자들의 수가 추론될 수 있다.

[0031] 일부 실시예들에서, 기준 염료 분자는 광표백될 수 있고, 광표백 스텝들(photobleaching steps)의 수는 반응 챔버 내에 존재하는 기준 염료 분자들의 수를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 염료 분자는 광표백 없이 여기 광에 의해 여기될 수 있고, 반응 챔버로부터 획득된 신호들의 상대 강도는 반응 챔버 내에 존재하는 기준 염료 분자들의 수를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 염료 분자는 2차 생체분자(예를 들어, 올리고뉴클레오티드, N-말단 아미노산 인식기(N-terminal amino acid recognizer))에 바인딩될 수 있다. 2차 생체분자는 생체분자에 바인딩될 수 있다. 일부 실시예들에서, 2차 생체분자는 생체분자에 가역적으로 바인딩할 수 있다. 기준 염료 분자는 기준 염료 분자가 (예를 들어, 2차 생체분자를 통해) 생체분자에 바인딩되고 여기 광에 의해 여기될 때만 신호를 방출할 수 있다. 기준 염료 분자의 특징적인 펄스 패턴은 반응 챔버 내에 존재하는 기준 염료 분자들의 수를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0032] 이러한 정보는 통합 디바이스의 사용을 최적화하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 정량적 적재 정보는 적재 프로세스 동안 (예를 들어, 통합 디바이스의 적재를 지속적으로 모니터링하기 위해) 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재 정보는 (예를 들어, 많은 수의 웰이 비어 있는 채로 남아있다고 결정될 때) 통합 디바이스에 추가 샘플을 계속 적재할지 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재 정보는 적재가 수행되는 방식을 조절(예를 들어, 적재되는 샘플 내의 생체분자들의 농도를 조절)하기 위해 사용될 수 있다.

[0033] 일부 실시예들에서, 정량적 적재 정보는 적재 단계를 완료한 후 통합 디바이스의 사용을 최적화하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 정량적 적재 정보는 통합 디바이스의 추후의 적재들을 수행할 때 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재 정보는 어느 반응 챔버들로부터 신호들을 처리할지를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0034] 따라서, 발명자들은 통합 디바이스 상에 적재된 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 기술들을 개발했다. 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 방법(예를 들어, 하나 이상의 챔버 중의 단일 챔버 내에 존재하는 생체분자들의 수, 샘플의 단일 생체분자를 포함하는 하나 이상의 챔버의 백분율)으로서, 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로, 여기 광에 의한 여기 동안 통합 디바이스의 하나 이상의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩되는 샘플의 각자의 생체분자들(예를 들어, 펩티드, 핵산)에 (예를 들어, 공유적으로, 비공유적으로) 부착되는 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계; 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호(예를 들어, 기간 동안 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 광의 강도를 표현하는 신호)를 획득하는 단계; 및 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0035] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자 중 적어도 일부는 각자의 생체분자가 바인딩되는 각자의 링커(linker)에 부착되고, 여기서 각자의 링커는 챔버의 베이스에 바인딩된다.

[0036] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계는 하나 이상의 기준 염료 분자를 광표백하는 단계를 포함한다. 방법은 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에서 광표백 스텝들의 수를 결정하고, 광표백 스텝들의 수에 기초하여 챔버의 표면에 바인딩된 생체분자들의 수를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0037] 일부 실시예들에서, 방법은 정량적 적재의 척도에 기초하여 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 정량적 적재의 척도에 기초하여 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 (예를 들어, 샘플 내의 생체분자들의 농도를 조절함으로써) 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계는 표면에 바인딩되는 단일 생체분자를 포함하는 하나 이상의 챔버의 수를 최대화하도록 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하는 단계를 포함한다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도에 기초하여 통합 디바이스의 동작을 최적화하는 단계는 후속 분석으로부터 하나 이상의 챔버 중 적어도 일부로부터의 신호들을 제외하는 단계를 포함한다.

[0038] 일부 실시예들에서, 방법은 (예를 들어, 최적의 수의 하나 이상의 챔버가 단일 생체분자를 포함하는 때를 결정하기 위해 정량적 적재의 척도를 사용함으로써) 최적의 수의 하나 이상의 챔버 각각이 하나 이상의 챔버 중의 각자의 챔버의 표면에 바인딩되는 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때까지 하나 이상의 챔버에 추가 샘플을 재적재하는 단계를 추가로 포함한다.

[0039] 일부 실시예들에서, 방법은 최적의 수의 하나 이상의 챔버가 샘플의 생체분자를 적어도 하나, 그리고 하나를 초과하지 않게 포함할 때 (예를 들어, 바인딩되지 않은 기준 염료 분자들을 통합 디바이스로부터 제거함으로써) 적재를 종료하는 단계를 추가로 포함한다.

[0040] 일부 실시예들에서, 방법은 적재를 종료하는 단계에 후속하여, 적어도 부분적으로: (1) 하나 이상의 챔버에 여기 광을 전달하고; (2) 여기 광에 응답하여 하나 이상의 챔버로부터 방출되는 신호들을 획득하고; (3) 신호들에 기초하여 샘플의 하나 이상의 생체분자를 식별하는 것에 의해, 샘플을 시퀀싱하는 단계를 추가로 포함한다.

[0041] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자 각각은 각자의 생체분자에 부착될 때, 각자의 생체분자로부터 적어도 1 nm만큼 분리된다.

[0042] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자는 2차 생체분자(예를 들어, 올리고뉴클레오티드, N-말단 아미노산 인식기)를 통해 각자의 생체분자에 부착된다. 즉, 2차 생체분자는 각자의 생체분자에 바인딩될 수 있고, 기준 염료 분자는 2차 생체분자에 바인딩될 수 있다.

[0043] 일부 실시예들에서, 2차 생체분자는 각자의 생체분자에 가역적으로 바인딩될 수 있다. 예를 들어, 각각의 2차 생체분자는 각각의 생체분자에 주기적으로 바인딩할 수 있다. 하나 이상의 기준 염료 분자는 여기 광에 의해 여기되는 하나 이상의 기준 염료 분자 중의 각자의 기준 염료 분자가 (각자의 2차 생체분자를 통해) 각자의 생체분자에 바인딩될 때에만 방출 광을 방출하도록 펄싱 패턴을 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플의 정량적 적재의 척도는 챔버 내에 존재하는 생체분자들의 수를 포함할 수 있고, 방법은 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴에 기초하여 챔버 내에 존재하는 생체분자들의 수를 결정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0044] 본 개시내용의 일부 양태들은 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하도록 구성되는 통합 디바이스로서, 하나 이상의 기준 염료 분자를 수용하기 위한 적어도 하나의 챔버 - 하나 이상의 기준 염료 분자는 샘플의 각자의 생체분자들에 부착됨 -; 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 수신하기 위한 적어도 하나의 광 검출 영역 - 신호는 기간에 걸쳐 적어도 하나의 여기 소스로부터의 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 광의 강도를 표현함 - ; 및 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하도록 구성되는 적어도 하나의 제어기를 포함하는 통합 디바이스에 관한 것이다.

[0045] 본 개시내용의 일부 양태들은 통합 디바이스에서 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 방법으로서, 적어도 하나의 여기 소스로부터의 광으로 하나 이상의 기준 염료 분자를 여기시키는 단계 - 하나 이상의 기준 염료 분자는 샘플의 각자의 생체분자들에 가역적으로 바인딩하는 각자의 2차 생체분자들(예를 들어, 올리고뉴클레오티드, N-말단 아미노산 인식기)에 부착되고, 각자의 생체분자들은 통합 디바이스의 복수의 챔버 중의 챔버의 표면에 바인딩됨 -; 여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득하는 단계; 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴을 결정하는 단계; 및 하나 이상의 기준 염료 분자의 펄싱 패턴에 기초하여 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0046] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자는 각자의 생체분자들에 주기적으로 바인딩할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자는 펄싱 주기당 한번씩 각자의 생체분자에 바인딩할 수 있고; 펄싱 패턴은 하나 이상의 펄스를 포함하거나 펄스를 포함하지 않고; 정량적 적재의 척도는 펄싱 주기 동안 수신되는 하나 이상의 펄스의 수에 기초하여 결정된다.

[0047] 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 챔버 내에 존재하는 생체분자들의 수를 포함한다. 일부 실시예들에서, 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계는 펄싱 패턴에 펄스가 존재하지 않을 때 챔버가 생체분자를 포함하지 않는 것으로 결정하는 단계를 포함한다.

[0048] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 기준 염료 분자는 각자의 생체분자에 바인딩할 때에만 방출 광을 방출할 수 있다.

[0049] 일부 실시예들에서, 샘플의 정량적 적재의 척도는 챔버의 표면에 바인딩된 샘플의 각각의 생체분자들의 수를 포함한다. 샘플의 정량적 적재의 척도를 결정하는 단계는 펄싱 패턴에 펄스가 존재하지 않을 때 챔버가 생체분자를 포함하지 않는 것으로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0050] 위에서 설명된 양태들 및 실시예들은 물론, 추가적인 양태들 및 실시예들은 아래에서 추가로 설명된다. 이러한 양태들 및/또는 실시예들은 개별적으로, 모두 함께, 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있는데, 이는 본 출원이 이 점에서 제한되지 않기 때문이다.

[0051] Ⅱ. 통합 디바이스 개요

[0052] 본 명세서에 설명된 바와 같이, 본 명세서에 설명된 기술들은 통합 디바이스의 정량적 적재를 결정하는 것을 용이하게 할 수 있다. 통합 디바이스는 통합 디바이스의 픽셀 어레이로부터 분리되어 위치된 하나 이상의 여기 소스로부터 샘플을 포함하는 반응 챔버로 여기 광을 제공하는 것을 용이하게 할 수 있다. 여기 광은 반응 챔버 내의 조명 영역을 조명하기 위해, 적어도 부분적으로 통합 디바이스의 요소들에 의해 하나 이상의 픽셀을 향해 지향될 수 있다. 반응 챔버 내에 배치된 샘플, 또는 (예를 들어, 형광 표지와 같은) 샘플에 부착된 반응 컴포넌트는 반응 챔버의 조명 영역 내에 위치될 때 여기 광에 의해 조명되는 것에 응답하여 방출 광을 방출할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 여기 소스는 통합 디바이스를 포함하는 시스템의 일부이다.

[0053] 하나 이상의 반응 챔버(예를 들어, 일부 실시예들에서는 적어도 2개의 반응 챔버)로부터 방출된 방출 광은 통합 디바이스의 픽셀 내의 하나 이상의 광 검출기에 의해 검출될 수 있다. 본 명세서에서 설명되는 바와 같이, 통합 디바이스는 복수의 픽셀(예를 들어, 픽셀들의 어레이)을 갖도록 구성될 수 있고, 따라서 복수의 반응 챔버, 및 대응하는 광 검출기를 가질 수 있다. 검출된 방출 광의 특성들은 방출 광에 연관된 표지를 식별하기 위한 표시를 제공할 수 있다. 그러한 특성들은 광 검출기에 의해 검출된 광자들의 도달 시간, 광 검출기에 의해 시간 경과에 따라 축적된 광자들의 양, 및/또는 둘 이상의 광 검출기에 걸친 광자의 분포를 포함하는 임의의 적합한 유형의 특성을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 광 검출기는 타이밍 특성들(예를 들어, 형광 수명, 펄스 지속시간, 인터펄스 지속시간), 파장, 및/또는 강도와 같이, 방출 광에 연관된 하나 이상의 특성의 검출을 허용하는 구성을 가질 수 있다. 일례로서, 하나 이상의 광 검출기는 여기 광의 펄스가 통합 디바이스를 통해 전파된 후 광자 도달 시간들의 분포를 검출할 수 있고, 도달 시간들의 분포는 방출 광의 타이밍 특성의 표시(예를 들어, 형광 수명, 펄스 지속시간, 및/또는 인터펄스 지속시간에 대한 프록시)를 제공할 수 있다. 그러한 정보는 예를 들어 대리인 문서번호 R0708.70042US02로 2019년 11월 15일에 출원되고 발명의 명칭이 "단백질 시퀀싱을 위한 방법들 및 조성들(METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING)"인 미국 특허 출원 제16/686,028호, 대리인 문서번호 R0708.70042WO00으로 2019년 11월 15일에 출원되고 발명의 명칭이 "단백질 시퀀싱을 위한 방법들 및 조성들(METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING)"인 PCT 출원 번호 PCT/US19/61831, 대리인 문서번호 R0708.70090US00으로 2020년 3월 2일에 출원되고 발명의 명칭이 "다차원 신호 분석을 위한 통합 센서(INTEGRATED SENSOR FOR MULTI-DIMENSIONAL SIGNAL ANALYSIS)"인 미국 특허 출원 제62/984,229호, 대리인 문서번호 R0708.70018US02로 2017년 5월 22일에 출원되고 발명의 명칭이 "핵산 시퀀싱을 위한 표지된 핵산 조합들 및 방법들(LABELED NUCLEOTIDE COMBINATIONS AND METHODS FOR NUCLEIC ACID SEQUENCING)"인 미국 특허 출원 제15/600,979호, 및 대리인 문서번호 R0708.70020US00으로 2016년 5월 20일에 출원되고 발명의 명칭이 "핵산 시퀀싱을 위한 방법들(METHODS FOR NUCLEIC ACID SEQUENCING)"인 미국 특허 출원 제15/161,125호에 설명된 것들을 포함하여, 샘플 내의 분자들의 검출 및/또는 식별을 위한 기술들에서 사용될 수 있고, 이들 각각의 전체내용은 여기에 참조로 포함된다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 광 검출기는 형광 표지들에 의해 방출되는 방출 광의 확률의 표시(예를 들어, 형광 강도)를 제공한다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 광 검출기는 방출 광의 공간적 분포(예를 들어, 파장)를 포착하도록 크기가 정해지고 배열될 수 있

다. 하나 이상의 광 검출기로부터의 출력 신호들은 복수의 표지 중에서 형광 표지를 구별하기 위해 사용될 수 있으며, 여기서 복수의 표지는 본 명세서에 설명되는 바와 같이 샘플 또는 그것의 구조를 식별하기 위해 사용될 수 있다.

[0054] 예를 들어, 예시적인 시스템(1-100)의 개략적인 개요가 도 1-1A에 도시된다. 시스템은 기기(1-104)와 인터페이스하는 통합 디바이스(1-102)를 모두 포함한다. 일부 실시예들에서, 기기(1-104)는 기기(1-104)의 일부로서 통합된 하나 이상의 여기 소스(1-116)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 소스는 기기(1-104) 및 통합 디바이스(1-102) 둘 다의 외부에 있을 수 있고, 기기(1-104)는 여기 소스로부터 여기 광을 수신하는 것 및 여기 광을 통합 디바이스로 지향시키는 것 둘 다를 위해 구성될 수 있다. 통합 디바이스는 통합 디바이스를 수용하고 그것을 여기 소스와의 정확한 광학적 정렬 상태로 유지하기 위해 임의의 적합한 소켓을 사용하여 기기와 인터페이스할 수 있다. 여기 소스(1-116)는 여기 광을 통합 디바이스(1-102)에 제공하도록 구성될 수 있다. 도 1-1A에 개략적으로 도시된 바와 같이, 통합 디바이스(1-102)는 복수의 픽셀(1-112)을 가지며, 여기서 픽셀들의 적어도 일부는 관심 샘플의 독립적인 분석을 수행할 수 있다. 이러한 픽셀들(1-112)은 픽셀이 픽셀과 별개인 여기 소스(1-116)로부터 여기 광을 수신하기 때문에 "수동 소스 픽셀들"로 지칭될 수 있으며, 여기서 소스로부터의 여기 광은 픽셀들(1-112)의 일부 또는 전부를 여기시킨다. 여기 소스(1-116)는 임의의 적절한 광원일 수 있다. 적합한 여기 소스들의 예들은 대리인 문서번호 R0708.70004US02로 2015년 8월 7일자로 출원되고 발명의 명칭이 "분자들을 프로빙, 검출 및 분석하기 위한 통합 디바이스(INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES)"인 미국 특허 출원 제14/821,688호에 설명되며, 그것의 전체 내용이 본 명세서에 참조로 포함된다. 일부 실시예들에서, 여기 소스(1-116)는 여기 광을 통합 디바이스(1-102)에 전달하기 위해 결합되는 복수의 여기 소스를 포함한다. 복수의 여기 소스는 복수의 여기 에너지 또는 파장을 생성하도록 구성될 수 있다.

[0055] 도 1-1B를 참조하면, 픽셀(1-112)은 적어도 하나의 관심 샘플을 수용하도록 구성된 반응 챔버(1-108), 및 여기 소스(1-116)에 의해 제공된 여기 광으로 샘플 및 반응 챔버(1-108)의 적어도 일부를 조명하는 것에 응답하여 반응 챔버로부터 방출되는 방출 광을 검출하기 위한 광 검출기(1-110)를 갖는다. 일부 실시예들에서, 반응 챔버(1-108)는 통합 디바이스(1-102)의 표면에 근접하게 샘플을 유지할 수 있으며, 이는 여기 광을 샘플에 전달하는 것 및 샘플 또는 반응 컴포넌트(예를 들어, 형광 표지)로부터의 방출 광을 검출하는 것을 용이하게 할 수 있다. 도 1-1B의 도시된 실시예에 보여진 바와 같이, 반응 챔버(1-108)와 광 검출기(1-110)는 일대일 대응을 갖는다. 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 바와 같이, 각각의 픽셀은 광 검출기 당 복수의 반응 챔버를 포함할 수 있다.

[0056] 여기 광원(1-116)으로부터의 여기 광을 통합 디바이스(1-102)에 결합하고 여기 광을 반응 챔버(1-108)로 안내하기 위한 광학 요소들은 통합 디바이스(1-102)와 기기(1-104) 중 하나 또는 둘 다에 위치될 수 있다. 소스-대-챔버 광학 요소들은 여기 광을 통합 디바이스에 결합하기 위해 통합 디바이스(1-102)에 위치된 하나 이상의 격자 결합기, 및 여기 광을 기기(1-104)로부터 픽셀들(1-112) 내의 반응 챔버들에 전달하기 위한 도파관들을 포함할 수 있다. 하나 이상의 광학 분할기 요소가 격자 결합기와 도파관들 사이에 위치될 수 있다. 광학 분할기는 격자 결합기로부터의 여기 광을 결합하고, 여기 광을 도파관들 중 적어도 하나에 전달할 수 있다. 일부 실시예들에서, 광학 분할기는 여기 광의 전달이 모든 도파관에 걸쳐 실질적으로 균일하여 도파관들 각각이 실질적으로 유사한 양의 여기 광을 수신하는 것을 허용하는 구성을 가질 수 있다. 이러한 실시예들은 통합 디바이스의 반응 챔버들에 의해 수신된 여기 광의 균일성을 개선함으로써 통합 디바이스의 성능을 향상시킬 수 있다.

[0057] 반응 챔버(1-108), 여기 소스-대-챔버 광학계의 일부, 및 반응 챔버-대-광 검출기 광학계는 통합 디바이스(1-102) 상에 위치된다. 여기 소스(1-116), 및 소스-대-챔버 컴포넌트들의 일부는 기기(1-104) 상에 위치된다. 일부 실시예들에서, 단일 컴포넌트는 여기 광을 반응 챔버(1-108)에 결합하는 것, 및 방출 광을 반응 챔버(1-108)로부터 광 검출기(1-110)로 전달하는 것 둘 다에서 역할을 할 수 있다. 여기 광을 반응 챔버에 결합하는 것 및/또는 방출 광을 광 검출기로 지향시키는 것을 위한, 통합 디바이스에 포함시킬 적합한 컴포넌트들의 예들은 대리인 문서번호 R0708.70004US02로 2015년 8월 7일자로 출원되고 발명의 명칭이 "분자들을 프로빙, 검출 및 분석하기 위한 통합 디바이스(INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES)"인 미국 특허 출원 제14/821,688호, 및 대리인 문서번호 R0708.70005US00으로 2014년 11월 17일자로 출원되고 발명의 명칭이 "분자들을 프로빙, 검출 및 분석하기 위한 외부 광원을 갖는 통합 디바이스(INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING, DETECTING, AND ANALYZING MOLECULES)"인 미국 특허 출원 제14/543,865호에 설명되고, 그들의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0058] 픽셀(1-112)은 그 자신의 개별 반응 챔버(1-108) 및 적어도 하나의 광 검출기(1-110)에 연관된다. 통합 디바이

스(1-102)의 복수의 픽셀은 임의의 적합한 형상, 크기 및/또는 치수를 갖도록 배열될 수 있다. 통합 디바이스(1-102)는 임의의 적절한 수의 픽셀을 가질 수 있다. 통합 디바이스(1-102)의 픽셀의 수는 대략 100,000 픽셀 내지 64,000,000 픽셀의 범위, 또는 그 범위 내의 임의의 값 또는 값 범위일 수 있다. 일부 실시예들에서, 픽셀들은 1024 픽셀 × 2048 픽셀의 어레이로 배열될 수 있다. 통합 디바이스(1-102)는 임의의 적절한 방식으로 기기(1-104)와 인터페이스할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기기(1-104)는 통합 디바이스(1-102)에 분리가능하게 결합하는 인터페이스를 가질 수 있고, 그에 의해 사용자는 현탁액 내의 적어도 하나의 관심 샘플을 분석하기 위해 통합 디바이스(1-102)를 사용하도록 통합 디바이스(1-102)를 기기(1-104)에 부착할 수 있고, 다른 통합 디바이스가 부착되는 것을 허용하기 위해 통합 디바이스(1-102)를 기기(1-104)로부터 제거할 수 있다. 기기(1-104)의 인터페이스는 하나 이상의 광 검출기로부터의 판독 신호들이 기기(1-104)로 전송되는 것을 허용하기 위해, 통합 디바이스(1-102)를 기기(1-104)의 회로와 결합하도록 위치시킬 수 있다. 통합 디바이스(1-102) 및 기기(1-104)는 대형 픽셀 어레이들(예를 들어, 10,000 픽셀 초과)에 연관된 데이터를 다루기 위한 멀티채널 고속 통신 링크들을 포함할 수 있다.

[0059] 기기(1-104)는 기기(1-104) 및/또는 통합 디바이스(1-102)의 동작을 제어하기 위한 사용자 인터페이스를 포함할 수 있다. 사용자 인터페이스는 사용자가 기기의 기능을 제어하기 위해 사용되는 커맨드들 및/또는 세팅들과 같은 정보를 기기에 입력하는 것을 허용하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 사용자 인터페이스는 버튼, 스위치, 다이얼, 및 음성 커맨드를 위한 마이크로폰을 포함할 수 있다. 사용자 인터페이스는 사용자가 적절한 정렬, 및/또는 통합 디바이스의 광 검출기들로부터의 판독 신호들에 의해 획득된 정보와 같은, 기기 및/또는 통합 디바이스의 성능에 관한 피드백을 수신하는 것을 허용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 사용자 인터페이스는 가청 피드백을 제공하기 위해 스피커를 사용하여 피드백을 제공할 수 있다. 일부 실시예들에서, 사용자 인터페이스는 사용자에게 시각적 피드백을 제공하기 위한 표시등 및/또는 디스플레이 스크린을 포함할 수 있다.

[0060] 일부 실시예들에서, 기기(1-104)는 컴퓨팅 디바이스와 연결하도록 구성된 컴퓨터 인터페이스를 포함할 수 있다. 컴퓨터 인터페이스는 USB 인터페이스, FireWire 인터페이스, 또는 임의의 다른 적절한 컴퓨터 인터페이스일 수 있다. 컴퓨팅 디바이스는 랩톱 또는 데스크탑 컴퓨터와 같은 임의의 범용 컴퓨터일 수 있다. 일부 실시예들에서, 컴퓨팅 디바이스는 적절한 컴퓨터 인터페이스를 경유하여 무선 네트워크를 통해 액세스가능한 서버(예를 들어, 클라우드 기반 서버)일 수 있다. 컴퓨터 인터페이스는 기기(1-104)와 컴퓨팅 디바이스 사이의 정보 통신을 용이하게 할 수 있다. 기기(1-104)를 제어 및/또는 구성하기 위한 입력 정보는 컴퓨팅 디바이스에 제공되고 컴퓨터 인터페이스를 통해 기기(1-104)에 전송될 수 있다. 기기(5-104)에 의해 생성된 출력 정보는 컴퓨터 인터페이스를 통해 컴퓨팅 디바이스에 의해 수신될 수 있다. 출력 정보는 기기(1-104)의 성능, 통합 디바이스(1-102)의 성능, 및/또는 광 검출기(1-110)의 판독 신호들로부터 생성된 데이터에 관한 피드백을 포함할 수 있다.

[0061] 일부 실시예들에서, 기기(1-104)는 통합 디바이스(1-102)의 하나 이상의 광 검출기로부터 수신된 데이터를 분석하고/하거나 제어 신호들을 여기 소스(들)(1-116)에 전송하도록 구성되는 처리 디바이스를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스는 범용 프로세서, 특별히 적응된 프로세서(예를 들어, 하나 이상의 마이크로프로세서 또는 마이크로컨트롤러 코어와 같은 중앙 처리 장치(CPU), 필드 프로그래밍가능한 게이트 어레이(field-programmable gate array)(FPGA), 주문형 집적 회로(application-specific integrated circuit)(ASIC), 커스텀 집적 회로, 디지털 신호 프로세서(DSP), 또는 이들의 조합)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 광 검출기로부터의 데이터의 처리는 기기(1-104)의 처리 디바이스 및 외부 컴퓨팅 디바이스 둘 다에 의해 수행될 수 있다. 다른 실시예들에서, 외부 컴퓨팅 디바이스는 생략될 수 있고, 하나 이상의 광 검출기로부터의 데이터의 처리는 통합 디바이스(1-102)의 처리 디바이스에 의해서만 수행될 수 있다.

[0062] 픽셀들(1-112)의 행을 도시하는 통합 디바이스(1-102)의 단면 개략도가 도 1-1B에 도시된다. 통합 디바이스(1-102)는 결합 영역(1-201), 라우팅 영역(1-202) 및 픽셀 영역(1-203)을 포함할 수 있다. 픽셀 영역(1-203)은 여기 광(점선 화살표로 보여짐)이 통합 디바이스(1-102)에 결합되는 장소인 결합 영역(1-201)으로부터 분리된 위치의 표면에 위치된 반응 챔버들(1-108)을 갖는 복수의 픽셀(1-112)을 포함할 수 있다. 반응 챔버들(1-108)은 금속 층(들)(1-106)을 통해 형성될 수 있다. 점선 직사각형으로 도시된 하나의 픽셀(1-112)은 반응 챔버(1-108), 및 하나 이상의 광 검출기(1-110)를 갖는 광 검출 영역을 포함하는 통합 디바이스(1-102)의 영역이다. 도시된 실시예에서, 픽셀은 단일 반응 챔버(1-108)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 각각의 픽셀은 2개 이상의 반응 챔버를 포함할 수 있다.

[0063] 도 1-1B는 여기 광 빔을 결합 영역(1-201) 및 반응 챔버들(1-108)에 결합함으로써 (점선으로 보여진) 여기 경로를 도시한다. 도 1-1B에 보여진 반응 챔버들(1-108)의 행은 도파관(1-220)과 광학적으로 결합하도록 위치될 수 있다. 여기 광은 반응 챔버 내에 위치된 샘플을 조명할 수 있다. 샘플 또는 반응 컴포넌트(예를 들어, 형광

표지)는 여기 광에 의해 조명되는 것에 대한 응답으로 여기 상태에 도달할 수 있다. 샘플 또는 반응 컴포넌트가 여기 상태에 있을 때, 샘플 또는 반응 컴포넌트는 방출 광을 방출할 수 있으며, 이는 반응 챔버에 연관된 하나 이상의 광 검출기에 의해 검출될 수 있다. 도 1-1B는 반응 챔버(1-108)로부터 픽셀(1-112)의 광 검출기(들)(1-110)까지의 방출 광(실선으로 보여짐)의 광학 축을 개략적으로 도시한다. 픽셀(1-112)의 광 검출기(들)(1-110)는 반응 챔버(1-108)로부터의 방출 광을 검출하도록 구성 및 위치될 수 있다. 적합한 광 검출기들의 예들은 대리인 문서번호 R0708.70002US02로 2015년 8월 7일에 출원되고 발명의 명칭이 "수신된 광자들의 시간적 비닝을 위한 통합 디바이스(INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS)"인 미국 특허 출원 제14/821,656호에 설명되며, 그것의 전체 내용이 참조로 포함된다. 개별 픽셀(1-112)에 대해, 반응 챔버(1-108) 및 그 각자의 광 검출기(들)(1-110)는 (도 1-1A에 보여진 y 방향을 따르는) 공통 축을 따라 정렬될 수 있다. 이러한 방식으로, 광 검출기(들)는 픽셀(1-112) 내의 반응 챔버와 중첩될 수 있다.

[0064] 반응 챔버(1-108)로부터의 방출 광의 방향성은 금속 층(들)(1-106)에 대한 반응 챔버(1-108) 내의 샘플의 위치 지정에 의존할 수 있는데, 왜냐하면 금속 층(들)(1-106)이 방출 광을 반사하는 역할을 할 수 있기 때문이다. 이러한 방식으로, 금속 층(들)(1-106)과 반응 챔버(1-108) 내에 위치된 형광 마커 사이의 거리는 반응 챔버와 동일한 픽셀 내에 있는 광 검출기(들)(1-110)가 형광 마커에 의해 방출되는 광을 검출하는 효율에 영향을 미칠 수 있다. 동작 동안 샘플이 위치될 수 있는 장소에 근접한 반응 챔버(1-108)의 바닥 표면과 금속 층(들)(1-106) 사이의 거리는 100nm 내지 500nm의 범위 내에 있거나, 그 범위 내의 임의의 값 또는 값 범위일 수 있다. 일부 실시예들에서, 금속 층(들)(1-106)과 반응 챔버(1-108)의 바닥 표면 사이의 거리는 대략 300nm이다.

[0065] 샘플과 광 검출기(들) 사이의 거리는 또한 방출 광을 검출하는 효율성에 영향을 미칠 수 있다. 광이 샘플과 광 검출기(들) 사이에서 이동해야 하는 거리를 줄임으로써, 방출 광의 검출 효율이 향상될 수 있다. 추가로, 샘플과 광 검출기(들) 사이의 더 작은 거리들은 통합 디바이스의 더 작은 영역의 풋프린트를 차지하는 픽셀들을 허용할 수 있으며, 이는 더 많은 수의 픽셀이 통합 디바이스에 포함되는 것을 허용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 반응 챔버(1-108)의 바닥 표면과 광 검출기(들) 사이의 거리는 1㎛ 내지 15㎛ 범위 내에 있거나, 그 범위 내의 임의의 값 또는 값 범위일 수 있다. 일부 실시예들에서, 방출 광은 여기 광원 및 반응 챔버가 아닌 다른 수단을 통해 제공될 수 있음을 이해해야 한다. 따라서, 일부 실시예들은 반응 챔버(1-108)를 포함하지 않을 수 있다.

[0066] 포토닉 구조물(들)(1-230)은 반응 챔버들(1-108)과 광 검출기들(1-110) 사이에 위치될 수 있고, 여기 광이 광 검출기들(1-110)에 도달하는 것을 감소시키거나 방지하도록 구성될 수 있는데, 그렇지 않으면 여기 광은 방출 광을 검출할 때의 신호 잡음에 기여할 수 있다. 도 1-1B에 보여진 바와 같이, 하나 이상의 포토닉 구조물(1-230)은 도파관(1-220)과 광 검출기들(1-110) 사이에 위치될 수 있다. 포토닉 구조물(들)(1-230)은 스펙트럼 필터, 편광 필터, 및 공간 필터를 포함하는 하나 이상의 광학적 제거 포토닉 구조물을 포함할 수 있다. 포토닉 구조물(들)(1-230)은 공통 축을 따라 개별 반응 챔버들(1-108) 및 그들 각자의 광 검출기(들)(1-110)와 정렬되도록 위치될 수 있다. 또한, 일부 실시예들에 따라, 통합 디바이스(1-102)에 대한 회로부로서 작용할 수 있는 금속 층들(1-240)은 공간 필터 또는 편광 필터로서 작용할 수 있다. 그러한 실시예들에서, 하나 이상의 금속 층(1-240)은 여기 광의 일부 또는 전부가 광 검출기(들)(1-110)에 도달하는 것을 차단하도록 위치될 수 있다.

[0067] 결합 영역(1-201)은 외부 여기 소스들, 예를 들어 도 1-1A에 도시된 여기 소스(들)(1-116)로부터의 여기 광을 결합하도록 구성된 하나 이상의 광학 컴포넌트를 포함할 수 있다. 결합 영역(1-201)은 여기 광 빔의 일부 또는 전부를 수신하도록 위치된 격자 결합기(1-216)를 포함할 수 있다. 적합한 격자 결합기들의 예들은 대리인 문서번호 R0708.70021US01로 2017년 12월 15일에 출원되고 발명의 명칭이 "광학 결합기 및 도파관 시스템(OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM)"인 미국 특허 출원 제15/855,403호, 및 대리인 문서번호 R0708.70071US01로 2020년 4월 29일에 출원되고 발명의 명칭이 "빔 정렬 감도가 증가된 슬라이스 격자 결합기(SLICED GRATING COUPLER WITH INCREASED BEAM ALIGNMENT SENSITIVITY)"인 미국 특허 출원 제16/861,399호에 설명되며, 이들 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다. 격자 결합기(1-216)는 여기 광을 도파관(1-220)에 결합할 수 있고, 도파관은 여기 광을 하나 이상의 반응 챔버(1-108)에 가깝게 전파하도록 구성될 수 있다. 대안적으로, 결합 영역(1-201)은 광을 도파관 내로 결합하기 위한 다른 널리 공지된 구조물들을 포함할 수 있다.

[0068] 여기 소스(1-116)를 위치시키고 통합 디바이스에 정렬하기 위해, 통합 디바이스로부터 떨어져서 위치되는 컴포넌트들이 사용될 수 있다. 이러한 컴포넌트들은 렌즈들, 미러들, 프리즘들, 창들, 애퍼처들, 감쇠기들 및/또는 광섬유들을 포함하는 광학 컴포넌트들을 포함할 수 있다. 하나 이상의 정렬 컴포넌트의 제어를 허용하기 위해, 추가의 기계적 컴포넌트들이 기기에 포함될 수 있다. 그러한 기계적 컴포넌트들은 액추에이터들, 스테퍼 모터들 및/또는 손잡이들(knobs)을 포함할 수 있다. 적절한 여기 소스들 및 정렬 메커니즘들의 예들은 대리인 문서

번호 R0708.70010US02로 2016년 5월 20일에 출원되고 발명의 명칭이 "펄스 레이저 및 시스템(PULSED LASER AND SYSTEM)"인 미국 특허 출원 제15/161,088호에 설명되며, 그것의 전체 내용이 참조로 포함된다. 빔 조향 모듈의 다른 예는 대리인 문서번호 R0708.70024US01로 2017년 12월 14일에 출원되고 발명의 명칭이 "컴팩트 빔 성형 및 조향 어셈블리(COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY)"인 미국 특허 출원 제15/842,7720호에 설명되며, 그것의 전체 내용이 참조로 포함된다.

[0069] 분석될 샘플은 픽셀(1-112)의 반응 챔버(1-108)에 도입될 수 있다. 샘플은 생물학적 샘플, 또는 화학적 샘플과 같은 임의의 다른 적절한 샘플일 수 있다. 샘플은 복수의 분자를 포함할 수 있고, 반응 챔버는 단일 분자를 고립시키도록 구성될 수 있다. 일부 경우들에서, 반응 챔버의 치수들은 단일 분자를 반응 챔버 내에 속박하는 작용을 할 수 있고, 그에 의해 측정이 단일 분자에 대해 수행되는 것을 허용한다. 여기 광은 반응 챔버(1-108) 내로 전달되어, 샘플, 또는 샘플에 부착되거나 다르게 샘플에 연관된 적어도 하나의 형광 마커가 반응 챔버(1-108) 내의 조명 영역 내에 있는 동안 그것을 여기시킬 수 있다.

[0070] 동작 시에, 반응 챔버들 내의 샘플들의 병렬 분석들은 여기 광을 사용하여 웰들 내의 샘플들의 일부 또는 전부를 여기시키고 샘플 방출으로부터의 신호들을 광 검출기들로 검출함으로써 수행된다. 샘플로부터의 방출 광은 대응하는 광 검출기에 의해 검출되고 적어도 하나의 전기 신호로 변환될 수 있다. 방출 광의 다양한 특성들에 관한 정보(예를 들어, 파장, 형광 수명, 강도, 펄스 지속시간 및/또는 임의의 다른 적합한 특성)는 본 명세서에 설명된 바와 같이 후속 분석을 위해 수집되고 사용될 수 있다. 전기 신호들은 통합 디바이스와 인터페이스되는 기기에 연결될 수 있는 통합 디바이스의 회로부에서 전도성 라인들(예를 들어, 금속 층들(1-240))을 따라 전송될 수 있다. 전기 신호들은 후속하여 처리 및/또는 분석될 수 있다. 전기 신호들의 처리 또는 분석은 기기 상에 또는 기기 외부에 위치된 적절한 컴퓨팅 디바이스 상에서 발생할 수 있다.

[0071] 도 1-1C는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스(1-102)의 픽셀(1-112)의 단면도를 도시한다. 도 1-1D는 픽셀(1-112)의 회로도를 도시한다. 도 1-1E는 일부 실시예들에 따라 통합 디바이스(1-102)에 포함될 수 있는 픽셀들(1-112)의 예시적인 어레이 및 처리 회로(1-114)를 도시한다.

[0072] 도 1-1C 및 도 1-1D에서, 픽셀(1-112)은 고정된 포토다이오드(pinned photodiode)(PPD)일 수 있는 광 검출 영역, 저장 다이오드들(SD0 및 SD1)일 수 있는 2개의 전하 저장 영역, 및 부동 확산(floating diffusion)(FD) 영역일 수 있는 판독 영역을 포함한다. 또한 도시된 바와 같이, 픽셀(1-112)은 또한 드레인 영역(D) 및 전송 게이트들(ST0, TX0, TX1 및 REJ)을 포함한다.

[0073] 일부 실시예들에서, 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0, SD1) 및 판독 영역(FD)은 집적 회로 기판의 일부분들을 도핑함으로써 기판 상에 형성될 수 있다. 예를 들어, 기판은 약하게 도핑될 수 있고, 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0, SD1) 및 판독 영역(FD)은 더 강하게 도핑될 수 있다. 이 예에서, 기판은 p형으로 약하게 도핑될 수 있고, 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 판독 영역(FD)은 n형으로 도핑될 수 있다. 본 명세서에 설명된 실시예들은 이와 같이 제한되지 않으므로, 대안적으로, 기판은 약하게 n형 도핑될 수 있고, 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 판독 영역(FD)은 p형으로 도핑될 수 있다.

[0074] 일부 실시예들에서, 광 검출 영역(PPD)은 입사 광자들이 내부에 수신될 때 전하 캐리어들(예를 들어, 광-전자들(photo-electrons))을 생성하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)은 광 검출 영역(PPD)에 및/또는 서로에 전기적으로 결합될 수 있다. 예를 들어, 픽셀(1-112)은 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)을 광 검출 영역(PPD)에 및/또는 서로에 전기적으로 결합하는 하나 이상의 전송 채널을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 전송 채널들은 영역들 사이에 배치된 집적 회로 기판의 부분들을 도핑함으로써 형성될 수 있다. 예를 들어, 부분들은 영역들(예를 들어, n형 도핑된 PPD와 SD0 사이에 배치된 n형 도핑된 채널)과 동일한 전도성 유형으로 도핑될 수 있다. 예를 들어, 도 1-1D를 참조하면, 광 검출 영역(PPD)과 전하 저장 영역(SD0) 사이에 결합되는 트랜지스터의 채널은 광 검출 영역(PPD)을 전하 저장 영역(SD0)에 전기적으로 결합하는 전송 채널이다. 마찬가지로, 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 사이에 결합되는 트랜지스터의 채널은 전하 저장 영역(SD0)을 전하 저장 영역(SD1)에 전기적으로 결합하는 전송 채널이고, 전하 저장 영역(SD1)과 판독 영역(FD) 사이에 결합되는 트랜지스터의 채널은 전하 저장 영역(SD1)을 판독 영역(FD)에 전기적으로 결합하는 전송 채널이다. 광 검출 영역(PPD)과 드레인 영역(D) 사이에 결합되는 트랜지스터의 채널은 광 검출 영역(PPD)과 드레인 영역(D) 사이의 전송 채널이다.

[0075] 일부 실시예들에서, 전송 게이트들(ST0, TX0, TX1 및 REJ)은 광 검출 영역(PPD)으로부터 저장 영역들(SD0 및 SD1)로, 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 사이에서, 및/또는 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)과 판독 영역(FD) 사이

에서 전하 캐리어들의 전송을 제어하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 전송 게이트들(ST0, TX0, TX1 및 REJ)은 픽셀(1-112)의 영역들을 전기적으로 결합하는 전송 채널들에 전기적으로 결합될 수 있고, 전송 게이트들에 적절한 제어 신호들이 인가될 때 그러한 영역들 간에서 전하 캐리어들을 전송하기 위해 전송 채널들을 바이어싱하도록 구성될 수 있다. 다양한 실시예들에 따라, 전송 게이트들은 전송 채널들에 전도성으로(conductively)(예를 들어, 물리적으로) 결합될 수 있고, 그리고/또는 전송 채널들에 충분히 가깝게 위치되고/거나 전송 채널들에 용량성으로 결합되기에 충분히 얇은 절연체에 의해 분리될 수 있다. 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 전송 게이트들은 금속과 같은 전도성 재료를 사용하여 형성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 전송 게이트들은 폴리실리콘과 같은 반도체 재료를 사용하여 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 전송 게이트들을 형성하는 데 사용되는 재료들은 적어도 부분적으로 불투명할 수 있다.

[0076] 일부 실시예들에서, 전송 게이트에서 제어 신호가 수신될 때, 전송 게이트는 제어 신호를 전송 채널에 전기적으로 결합하고 전송 채널을 바이어스함으로써 전송 채널의 전도도를 증가시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 전송 채널은 전송 채널에 의해 전기적으로 결합된 픽셀(1-112)의 영역들보다 낮은 도펀트 농도를 가지지만 동일한 전도성 유형으로 도핑될 수 있고, 그에 의해, 영역들 사이에 고유 전위 장벽을 생성한다. 고유 전위 장벽은 전송 게이트 또는 전송 채널에 외부 전기장이 인가되지 않을 때에도 영역들 사이에 존재할 수 있다. 예를 들어, 광 검출 영역(PPD)과 전하 저장 영역(SD0) 사이의 전송 채널의 도펀트 농도는 광 검출 영역(PPD)과 전하 저장 영역(SD0) 사이에 고유 전위 장벽을 생성할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제어 신호가 전송 게이트에 인가될 수 있으며, 제어 신호는 전송 채널에 의해 전기적으로 결합된 영역들 사이의 고유 전위 장벽을 낮추도록 구성되어, 전송 채널의 전도도를 증가시키고, 영역들 간에서의 전하 캐리어들의 전송을 야기한다. 예를 들어, n형 도핑된 전송 채널에 대해, 제어 신호는 영역들 중 하나(예를 들어, 전송 채널의 소스 단자)에서의 전압보다 적어도 전송 채널의 임계 전압만큼 큰 전압을 가질 수 있고, 임계 전압은 전송 채널의 크기, 전송 채널에 근접한 통합 디바이스(1-102)의 기판 전압, 및 다른 그러한 파라미터들에 의존한다. 마찬가지로, p형 도핑된 전송 채널에 대해, 제어 신호는 영역들 중 하나에서의 전압보다 적어도 임계 전압만큼 낮은 전압을 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스(1-102)의 제어 회로는 본 명세서에서 더 설명되는 바와 같이 이러한 제어 신호들을 생성하여 전송 게이트들에 제공하도록 구성될 수 있다.

[0077] 도 1-1C에서, 픽셀(1-112)은 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 판독 영역(FD)이 전송 게이트들(REJ, ST0, TX0 및 TX1)로부터 이격되는 방향으로 입사 광자들을 수신하도록 구성된 구성으로 보여진다(예를 들어, 전면 조명). 그러나, 일부 실시예들에서, 광 검출 영역(PPD)은 전송 게이트들(REJ, ST0, TX0 및 TX1)이 광 검출 영역(PPD), 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1), 및 판독 영역(FD)으로부터 이격되는 방향으로 입사 광자들을 수신하도록 구성될 수 있음을 이해해야 한다(예를 들어, 후면 조명). 일부 실시예들에서, 그러한 구성은 전송 게이트의 전기적 특성들을 개선할 수 있는데, 왜냐하면 전송 게이트들의 광학적 특성들이 입사 광자들에 미치는 영향이 감소되기 때문이다.

[0078] 도 1-1D에서, 픽셀(1-112)은 판독 영역(FD)에 결합되고 고전압(VDDP)에 결합하도록 구성된 리셋(RST) 전송 게이트, 및 판독 영역(FD)과 비트라인 사이에 결합되는 행 선택(RS) 전송 게이트를 추가로 포함한다. 통합 디바이스(1-102)가 전원(예를 들어, 적어도 DC 전원)에 결합될 때, 전송 게이트(RST)는 전원에 의해 공급되고/되거나 통합 디바이스(1-102)의 전압 조정기에 의해 조정되는 고전압(VDDP)에 결합될 수 있다.

[0079] 일부 실시예들에서, 전송 게이트(RST)는 판독 영역(FD)의 전압을 리셋하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 리셋 신호가 전송 게이트(RST)에 인가될 때, 전송 게이트(RST)는 판독 영역(FD)을 고전압(VDDP)에 전기적으로 결합하는 전송 채널을 바이어스함으로써, 전송 채널의 전도도를 증가시키고 전하 캐리어들을 판독 영역(FD)으로부터 고전압(VDDP)에 전송할 수 있다. 일부 실시예들에서, 리셋 전송 게이트(RST)는 전하 저장 영역(SD0 및/또는 SD1)의 전압을 리셋하도록 추가로 구성될 수 있다. 예를 들어, 리셋 전송 게이트(RST)에 리셋 신호가 인가되고 전송 게이트(TX1)에 제어 신호가 인가될 때, 전송 게이트(TX1)는 전하 저장 영역(SD1) 내의 전하 캐리어들을 판독 영역(FD)으로 전송할 수 있고, 전송 게이트(RST)는 전하 캐리어들을 고전압(VDDP)에 전송할 수 있다. 마찬가지로, 리셋 전송 게이트(RST)에 리셋 신호가 인가되고, 전송 게이트들(TX1 및 TX0)에 제어 신호들이 인가될 때, 전송 게이트(TX0)는 전하 저장 영역(SD0) 내의 전하 캐리어들을 전하 저장 영역(SD1)으로 전송할 수 있고, 전송 게이트(TX1)는 전하 저장 영역(SD1) 내의 전하 캐리어들을 판독 영역(FD)에 전송할 수 있고, 전송 게이트(RST)는 전하 캐리어들을 고전압(VDDP)으로 전송할 수 있다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스(1-102)는 전하 캐리어들을 수집 및 판독하기 전에 판독 영역(FD) 및 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)을 리셋하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 통합 디바이스(1-102)는 전하 캐리어들을 수집하고 판독하기 전에, 판독 영역(FD)을 리셋한 다

음, 전하 저장 영역(SD1)을 리셋한 다음, 전하 저장 영역(SD0)을 리셋하도록 구성될 수 있다.

[0080] 일부 실시예들에서, 비트라인은 통합 디바이스(1-102) 상의 처리 회로, 및/또는 판독 영역(FD)으로 판독되는 전하 캐리어들을 나타내는 전압 레벨을 수신하도록 구성된 외부 회로에 결합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 회로(1-114)는 아날로그-디지털 변환기(ADC)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스(1-102)는 전하 캐리어들을 판독하기 전에 각각의 픽셀의 판독 영역(FD)의 전압을 리셋하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 통합 디바이스(1-102)는 판독 영역(FD)의 전압을 리셋하고, 전압을 샘플링하고, 전하 캐리어들을 판독 영역(FD)으로 전송하고, 전압을 다시 샘플링하도록 구성될 수 있다. 이 예에서, 제2의 샘플링된 전압은 제1의 샘플링된 전압과 비교될 때, 판독 영역(FD) 내로 전송된 전하 캐리어들의 수를 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스(1-102)는 전하 캐리어들을 예컨대 행 단위로 및/또는 열 단위로, 순차적으로 각각의 픽셀(1-112)로부터 비트 라인으로 판독하도록 구성될 수 있다. 픽셀들(1-112)의 일부 어레이들은 픽셀들(1-112) 중 상이한 것들 및/또는 그것들의 그룹들에 전기적으로 결합된 복수의 비트라인을 가질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 일부 실시예들에서, 복수의 열의 픽셀들은 각각의 처리 회로에 동시에 판독될 수 있다. 예를 들어, 각각의 열의 제1 픽셀(예를 들어, 픽셀들 (1,1) 및 (1,2) 등)이 각각의 처리 회로에 동시에 판독될 수 있고, 다음으로, 각각의 열의 제2 픽셀(예를 들어, 픽셀들 (2,1) 및 (2,2) 등)이 각각의 처리 회로에 동시에 판독될 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 열에 대한 대안으로서, 또는 그에 추가하여, 어레이의 각각의 행에 대해 처리 회로가 제공될 수 있음을 이해해야 한다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스(1-102)는 각각이 비트라인에 전기적으로 결합되는 것과 같은 처리 회로의 복수의 유닛을 포함할 수 있다.

[0081] 다양한 실시예들에 따르면, 여기에 설명된 전송 게이트들은 반도체 재료(들) 및/또는 금속을 포함할 수 있고, 전계 효과 트랜지스터(FET)의 게이트, 바이폴라 접합 트랜지스터(BJT)의 베이스, 및/또는 이와 유사한 것을 포함할 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 다양한 전송 게이트들에 인가되는 본 명세서에 설명된 제어 신호들은 예컨대 반도체 영역, 및 반도체 영역에 전기적으로 결합된 영역들(예를 들어, 이웃 영역들)의 전위에 의존하여, 형상 및/또는 전압이 달라질 수 있음을 이해해야 한다.

[0082] 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 픽셀들은 2개보다 많은 전하 저장 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 도 1-1G 내지 도 1-1I와 관련하여 본 명세서에서 설명된 픽셀(2-112)은 3개의 전하 저장 영역을 포함한다.

[0083] 도 1-1E는 일부 실시예들에 따른 대안적인 픽셀(1-112')의 평면도이다. 일부 실시예들에서, 픽셀(1-112')은 픽셀(1-112)에 대해 설명된 방식으로 구성될 수 있다. 도 1-1E에서, 픽셀(1-112')의 드레인 영역(D)은 광 검출 영역(PPD)에서 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 판독 영역(FD)과 동일한 측에 위치된다. 또한 도 1-1E에 도시된 바와 같이, 광 검출 영역(PPD)은 삼각형 개구를 갖는 마스크를 포함할 수 있고, 삼각형 개구의 베이스는 광 검출 영역에서 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 드레인 영역(D)에 근접한 측에 있고, 삼각형 개구의 대응하는 정점은 광 검출 영역(PPD)에서 드레인 영역(D) 및 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)에 반대되는 측에 있다.

[0084] 일부 실시예들에서, 광 검출 영역(PPD)은 광 검출 영역(PPD)으로부터 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1) 및 드레인 영역(D)을 향하는 방향으로 고유 전기장을 유도하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 광 검출 영역(PPD)은 개구를 통해 통합 디바이스(1-102)의 기판을 도핑하여, 도핑 동안 마스크에 의해 커버된 영역보다 개구를 통해 노출된 기판 영역에서 더 높은 도펀트 농도를 초래함으로써 형성될 수 있다. 이 예에서, 삼각형 개구의 베이스 단부에서의 더 많은 양의 도펀트(예를 들어, n형 도펀트들)는 드레인 영역(D) 및 전하 저장 영역(SD0)에 근접한 광 검출 영역(PPD)의 베이스 단부에서의 전위가 광 검출 영역(PPD)의 반대 측 상의 광 검출 영역(PPD)의 정점 단부에서의 전위보다 낮아지게 할 수 있다. 광 검출 영역(PPD) 내의 고유 전기장은 픽셀(1-112)에 인가되는 외부 전기장의 부재 시에도 존재할 수 있다. 발명자들은 광 검출 영역(PPD)의 고유 전기장이 광 검출 영역(PPD)으로부터 드레인 영역(D) 및/또는 저장 영역들(SD0 및 SD1)로의 전하 전송의 속도를 증가시켜, 픽셀(1-112)의 동작 동안 전하 캐리어들이 드레인되고/거나 수집되는 효율을 증가시킨다는 것을 인식했다. 도 1-1E의 예에서, 고유 전기장은 드레인 영역과 전하 저장 영역(SD0) 사이에서 점선 화살표를 따라 지향될 수 있다. 예를 들어, 고유 전기장은 점선 화살표를 따라 전하 캐리어들이 흐르게 할 수 있고, 전송 게이트(REJ 또는 ST0)에 인가되는 제어 신호에 의해 유도되는 외부 전기장은 각각 전하 캐리어들이 드레인 영역(D) 또는 전하 저장 영역(SD0)으로 흐르게 할 수 있다.

[0085] 도 1-1F는 일부 실시예에 따른 픽셀(1-112')의 상부 개략도이다. 도 1-1F에 도시된 바와 같이, 컨택트들은 픽셀(1-112')의 일부분들에 걸쳐 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 컨택트들은 입사 광자들이 광 검출 영역(PPD) 이외의 픽셀(1-112')의 부분에 도달하는 것 및/또는 경사진 입사각들에서 이웃 픽셀들의 광 검출 영역들에 도달하는 것을 차단하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 컨택트들은 광 검출(PPD)이 입사 광자들을 수신하도

록 구성되는 광학 축에 평행한 방향으로 연장될 수 있다. 일부 실시예들에서, 컨택트들은 텅스텐과 같은 불투명한 재료를 사용하여 형성될 수 있다. 발명자들은 본 명세서에 설명된 컨택트들이 많은 또는 모든 입사 광자가 광학 축 이외의 광학 경로들을 따라 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)에 도달하는 것을 방지함으로써, 입사 광자들이 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)에서 잡음 전하 캐리어들을 생성하는 것을 방지한다는 것을 인식하였다.

[0086] 도 1-1F에서, 한 쌍의 컨택트가 광 검출 영역(PPD)의 양측에 배치되며, 한 쌍 중의 제1 컨택트는 마스크의 삼각형 개구의 정점에 더 가깝게 배치되고, 한 쌍 중의 제2 컨택트는 마스크의 삼각형 개구의 베이스에 더 가깝게 배치된다. 제2 컨택트는 입사 광자들이 전하 저장 영역들(SD0 및 SD1)에 도달하는 것을 차단하도록 구성될 수 있다. 제3 컨택트는 광 검출 영역(PPD)이 배치된 단부 반대 측의 픽셀(1-112) 단부에 배치된다. 제1 및 제3 컨택트는 픽셀(1-112)과 각각의 이웃 픽셀들 사이에 배치되고, 제2 컨택트는 광 검출 영역(PPD)과 전송 게이트들(ST0 및 REJ) 사이에 위치된다. 일부 실시예들에서, 광 검출 영역(PPD)의 양측에 있는 한 쌍의 컨택트는 단일의 원통형 컨택트 월(contact wall)과 같이 광 검출 영역(PPD)을 적어도 부분적으로 둘러싸는 적어도 하나의 컨택트 월로 대체될 수 있다는 것을 이해해야 한다.

[0087] 도 1-1G는 일부 실시예들에 따른 통합 디바이스(1-102)에 포함될 수 있는 대안적인 예시적인 픽셀(2-112)의 단면도이다. 일부 실시예들에서, 픽셀(2-112)은 도 1-1A 내지 도 1-1F와 관련하여 픽셀(1-112)에 대해 설명된 방식으로 구성될 수 있다. 예를 들어, 도 1-1G에 도시된 바와 같이, 영역(FD) 및 드레인 영역(D), 및 전송 게이트들 각각은 픽셀(1-112)에 대해 설명된 방식으로 구성될 수 있다. 픽셀(2-112)은 전하 저장 영역(SD1)과 판독 영역(FD) 사이에 전기적으로 결합된 전하 저장 영역(SD2)을 추가로 포함한다. 전송 게이트(ST1)는 전하 저장 영역(SD0)을 전하 저장 영역(SD1)에 전기적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 전송 채널들은 전하 저장 영역(SD1)을 전하 저장 영역(SD2)에 전기적으로 결합하고, 전하 저장 영역(SD2)을 판독 영역(FD)에 전기적으로 결합할 수 있다. 도 1-1G에서, 전송 게이트(TX0)는 전하 저장 영역(SD1)으로부터 전하 저장 영역(SD2)으로의 전하 캐리어들의 전송을 제어하도록 구성되고, 전송 게이트(TX1)는 전하 저장 영역(SD2)으로부터 판독 영역(FD)으로의 전하 캐리어들의 전송을 제어하도록 구성된다.

[0088] 도 1-1H는 일부 실시예들에 따른 픽셀(2-112)의 회로도이다. 도 1-1H에 도시된 바와 같이, 전하 저장 영역(SD1)을 전하 저장 영역(SD2)에 전기적으로 결합하는 전송 채널은 전송 게이트(TX0)를 갖는 트랜지스터의 채널이고, 전하 저장 영역(SD2)을 판독 영역(FD)에 전기적으로 결합하는 전송 채널은 전송 게이트(TX1)를 갖는 트랜지스터의 채널이다. 리셋 게이트(RST)를 갖는 트랜지스터 및 행 선택 전송 게이트(RS)를 갖는 트랜지스터와 같은, 도 1-1H에 도시된 픽셀(2-112)의 다른 트랜지스터들은 도 1-3A 및 도 1-3B와 관련하여 픽셀(1-112)에 대해 설명된 방식으로 구성될 수 있다. 예를 들어, 픽셀들(2-112)의 어레이는 도 1-3B 및 도 1-3C와 관련하여 픽셀(1-112)에 대해 본 명세서에서 설명된 처리 회로를 갖는 구성으로 배열될 수 있다.

[0089] 도 1-1I는 일부 실시예들에 따라 통합 디바이스(1-102)에 포함될 수 있는 픽셀(2-112')의 평면도이다. 일부 실시예들에서, 픽셀(2-112')은 픽셀(1-112')에 대해 본 명세서에서 설명된 방식으로 구성될 수 있다. 예를 들어, 픽셀(2-112')의 광 검출 영역(PPD)은 광 검출 영역(PPD)으로부터 전하 저장 영역(SD0) 및 드레인 영역(D)을 향하는 방향으로 고유 전기장을 유도하도록 구성될 수 있다.

[0090] Ⅲ. 광표백 정보를 사용한 통합 디바이스 교정

[0091] 본 명세서에 설명된 기술의 양태들은 기준 염료로부터 획득된 광표백 정보를 사용하여 통합 디바이스 및/또는 통합 디바이스와 상호작용하는 하나 이상의 컴포넌트를 교정하기 위한 기술들에 관한 것이다. 예를 들어, 통합 디바이스는 적어도 하나의 여기 소스를 추가로 포함하는 시스템의 일부일 수 있다. 본 명세서에 설명된 교정 기술들은 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위해 사용될 수 있다. 도 2는 일부 실시예들에 따라 광표백 정보를 사용하여 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위한 예시적인 프로세스(200)를 도시한다.

[0092] 동작(202)에서, 샘플 분자는 기준 염료로 표지될 수 있다. 예를 들어, 기준 염료는 적어도 하나의 광원으로부터의 광에 의한 여기에 응답하여 방출 광을 방출하는 형광 분자를 포함할 수 있다. 기준 염료 분자는 특정 샘플 분자에 바인딩하는 유형일 수 있고, 그에 의해 기준 염료 분자에 의해 방출되는 방출 광의 특성들은 기준 염료 분자가 바인딩된 샘플 분자를 식별하는 데 사용될 수 있다.

[0093] 동작(204)에서, 염료-표지된 샘플은 하나 이상의 반응 챔버 내에 적재된다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 복수의 반응 챔버로부터 수신된 신호들에서의 차이들을 평가하기 위해, 동일한 유형의 복수의 기준 염료가 복수의 반응 챔버 내에 적재된다. 일부 실시예들에서, 샘플 분자가 반응 챔버들에 적재된 후 샘플 분자는 기준 염료로 표지될 수 있는데, 이는 본 명세서에 설명된 기술의 양태들이 이러한 면에서 제한되지 않기 때문이다.

[0094] 도 3-1은 일부 실시예들에 따라 표면(306)에 부착된 기준 염료(310)로 표지된 샘플 분자(309)를 도시한다. 도 3-2는 일부 실시예들에 따라 반응 챔버에 부착된 염료-표지된 샘플을 도시한다. 특히, 도 3-2에서, 아미노산 사슬(페닐알라닌(F), 트립토판(W), 티로신(Y), 류신(L) 및 세린(S))을 포함하는 샘플 분자(309)가 반응 챔버(308) 내에 적재된다. 샘플 분자(309)는 기준 염료 분자(310)로 표지된다. 통합 디바이스 개요를 참조하여 본 명세서에 설명된 바와 같이, 기준 염료 분자(310)에 의해 방출된 신호들을 수집하기 위한 광자 컴포넌트들(312)을 포함하는 CMOS 칩(314)이 제공될 수 있다.

[0095] 동작(204)은 반응 챔버(들)가 여기 광으로 조명되지 않는 동안 수행될 수 있다. 일부 실시예들에서, 동작(204)에서, 복수의 염료-표지된 샘플 분자가 복수의 반응 챔버에 적재될 수 있음을 이해해야 한다.

[0096] 일부 실시예들에서, 기준 염료를 갖는 샘플 분자는 반응 챔버에 단독으로 적재될 수 있고, 그 후에 시퀀싱될 분자가 반응 챔버에 적재될 수 있다. 일부 실시예들에서, 교정 프로세스를 수행하는 것에 후속하여, 기준 염료를 갖는 분자는 시퀀싱될 분자와 함께 반응 챔버 내에 적재될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 염료는 시퀀싱될 분자 자체에 부착될 수 있고, 기준 염료는 시퀀싱을 수행하기 전에 절단될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 염료는 반응 챔버에 부착되거나 달리 부동화될 필요가 없는 자유 확산 염료 분자일 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 염료는 칩의 표면 화학 준비의 일부로서 반응 챔버 내에 적재될 수 있다. 따라서, 기술의 양태들은 반응 챔버 내의 기준 염료의 특정 구성에 제한되지 않는다. 일부 실시예들에 따르면, 동작(202)은 대리인 문서 번호 R0708.70077US01로 2020년 10월 28일에 출원되고 발명의 명칭이 "멀티플렉스 폴리펩티드 시퀀싱을 위해 샘플들을 준비하는 방법들(METHODS OF PREPARING SAMPLES FOR MULTIPLEX POLYPEPTIDE SEQUENCING)"인 미국 특허 출원 제17/082,906호에 설명된 기술들을 포함할 수 있으며, 그것의 전체내용은 여기에 참조로 포함된다.

[0097] 동작(206)에서, 반응 챔버(들)는 광원(예를 들어, 레이저)으로부터의 여기 광으로 조명된다. 특히, 동작(206)에서, 반응 챔버(들)는 (예를 들어, 광원을 차단해제하는 것, 광원을 칩에 재결합하는 것, 및/또는 시스템의 특성 표백 시간에 비해 빠른 시간 내에 광원에 의해 전달되는 전력을 증가시키는 것에 의해) 여기 광으로 주기적으로 조명될 수 있다. 예를 들어, 도 4는 일부 실시예들에 따라 시간에 따른 광원 여기 전력을 도시하는 예시적인 그래프(400)를 도시한다. 일부 실시예들에서, 여기 광은 기준 염료가 표백될 때까지 반응 챔버들에 전달될 수 있다. 일부 실시예들에서, 반응 챔버들로의 여기 광의 전달은 기준 염료 분자들의 표백을 방지하기 위해 제어될 수 있다. 기준 염료 분자들의 광표백에 대한 추가 논의가 여기에서 제공된다.

[0098] 동작(208)에서, 동작(206)에서 조명된 샘플 분자(들)를 포함하는 반응 챔버들에 대한 표백 스텝을 보여주는 시간 트레이스들이 기록된다. 예를 들어, 도 5-1은 일부 실시예들에 따라 시간 경과에 따른 기준 염료로부터의 측정된 신호를 도시하는 예시적인 그래프(500)를 도시한다. 도 5-1에 도시된 바와 같이, 측정된 신호는 강도가 증가하고, 후속하여, 일정 기간 후에 강도가 떨어진다. 측정된 신호의 강도 상승 및 하강 사이의 기간은 기준 염료 분자의 표백 시간과 동일할 수 있다.

[0099] 동작(210)에서, 여기를 위한 추가 여기 경로들이 존재하는지가 결정된다. 동작(210)에서, 여기를 위한 추가 여기 경로들이 존재한다고 결정되면, 프로세스(200)는 "예" 분기를 통해 동작(206)으로 복귀하여, 추가 여기 경로들로 추가 반응 챔버들을 조명한다. 동작(210)에서, 추가 여기 경로가 존재하지 않는다고 결정되면, 프로세스(200)는 "아니오" 분기를 통해 동작(212)으로 진행할 수 있다.

[0100] 동작(212)에서, 기준 메트릭들이 저장될 수 있다. 예를 들어, 기준 메트릭들은 동작(208)에서 획득된 표백 스텝을 보여주는 시간 트레이스들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 도 5-2는 일부 실시예들에 따라 반응 챔버들에서의 단일 분자들의 컬렉션에 대해 측정된 표백 시간 및 염료 강도의 예시적인 히스토그램들을 도시한다. 그래프(502)는 통합 디바이스의 반응 챔버들에 적재된 단일 분자 기준 염료들의 컬렉션에 대해 측정된 표백 시간들의 히스토그램을 도시한다. 도 5-2에 도시된 바와 같이, 단일 분자 기준 염료들의 컬렉션에 대한 중간 표백 시간은 5.8초이다. 그래프(504)는 통합 디바이스의 반응 챔버들에 적재된 단일 분자 기준 염료들의 컬렉션에 대해 측정된 기준 염료 신호 강도의 히스토그램을 도시한다. 일부 실시예들에서, 표백 시간들은 측정된 신호 강도들에 적어도 부분적으로 기초하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 측정된 신호 강도는 피크를 나타낼 수 있고, 피크 강도에 도달하는 것과 피크 강도로부터 떨어지는 것 사이의 기간은 표백 시간과 동일할 수 있다.

[0101] 기준 메트릭들은 동작(208)에서 획득된 정보로부터 유도된 정보를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기준 메트릭들은 특성 표백 시간에 기초하여 결정될 수 있는 반응 챔버(들) 내의 분자(들)에 대한 기준 여기 강도를 포함할 수 있다. 예를 들어, 표백 시간의 지수 분포는 $\exp(-t/\tau)$를 따르며, 여기서 τ는 특성 표백 시간이다. 단일 분자들의 컬렉션에 대해, 중간 표백 시간을 $\ln(2)$로 나눈 것은 특성 표백 시간 τ의 추정치를 제공한다.

더 빠른 특성 표백 시간은 더 높은 여기 강도로 인해 발생할 수 있으며, 그 반대의 경우도 마찬가지이다.

[0102] 동작(214)에서, 시퀀싱 파라미터들은 기준 메트릭들(예를 들어, 특성 표백 시간, 여기 강도)에 기초하여 조절될 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 광을 반응 챔버들에 전달하는 레이저의 전력이 조절될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 상대적으로 빠른 특성 표백 시간의 관점에서 레이저 전력이 감소될 수 있다. 일부 실시예들에서, 레이저 전력은 후속 시퀀싱 응용들 동안의 여기 강도가 목표 값을 초과하지 않을 것을 보장하도록 감소될 수 있다. 이와 같이, 광 손상이 시퀀싱 반응의 수명에 인자가 될 수 있는 시퀀싱 응용들에 대해 판독 길이가 개선될 수 있다.

[0103] 일부 실시예들에서, 통합 디바이스의 구성은 기준 메트릭들에 기초하여 조절될 수 있다. 예를 들어, 발명자들은 반응 챔버들의 차이들로 인해 기준 염료의 특성 표백 시간들이 상이한 반응 챔버들 사이에서 달라질 수 있음을 인식했다. 이와 같이, 반응 챔버들, 광 검출기들, 및/또는 픽셀들에 여기 광을 전달하는 광원의 구성은 기준 메트릭들에 기초하여 조절될 수 있다. 예를 들어, 비교적 빠른 표백 시간들을 갖는 반응 챔버들에 대해, 반응 챔버들에 전달되는 여기 광의 강도 및/또는 지속시간이 감소될 수 있다.

[0104] 일부 실시예들에서, 표백 정보는 반응 챔버 내의 기준 염료 분자들의 수를 식별하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 기준 염료 분자들이 광표백될 때까지 여기 광이 하나 이상의 기준 염료 분자에 전달되는 실시예들에서, 표백 스텝은 시간의 경과에 따라 (예를 들어, 하나 이상의 기준 염료 분자로부터 방출된) 반응 챔버로부터 수집된 신호의 강도 변화를 살펴보는 것에 의해 관찰될 수 있다. 하나의 기준 염료 분자의 광표백은 단일 강도 스텝(예를 들어, 한 시점에서의 신호 강도의 특징적인 강하)에 의해 나타낼 수 있다. 일부 실시예들에서, 신호 강도의 특징적인 강하는 표백 전에 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호 강도와 실질적으로 동일할 수 있다. 구체적으로, 표백 후에, 기준 염료 분자는 더 이상 신호를 방출하지 않고, 그 결과 강도의 단일 스텝 감소는 표백 전의 기준 염료 분자에 의해 방출된 신호의 강도와 실질적으로 동일하다.

[0105] 단일 표백 스텝이 관찰되는 경우(예를 들어, 시간 경과에 따라 관찰되는 신호 강도의 변화에 의해 나타남), 단일 기준 염료 분자가 표백되었으며, 따라서 신호가 수집되는 반응 챔버 내에 단일 기준 염료 분자가 존재하는 것으로 결정될 수 있다. 2 이상의 표백 스텝이 관찰되는 경우, 반응 챔버 내에 복수의 기준 염료 분자가 적재된 것으로 결정될 수 있다. 반응 챔버 내에 적재된 것으로 결정된 기준 염료 분자들의 수는 반응 챔버 내에 존재하는 샘플의 생체분자들의 수를 결정하기 위한 프록시로 고려될 수 있다. 일부 실시예들에서, 반응 챔버 내의 샘플 분자들의 수의 척도는 후속 분석으로부터 특정 반응 챔버들을 제외하거나 포함시키기 위해 사용될 수 있다. 정량적 적재의 척도를 결정하기 위해 광표백을 사용하는 것에 대한 추가 설명이 본 명세서에 제공된다.

[0106] 교정 프로세스(200)를 수행하는 것에 후속하여, 통합 디바이스는 반응 챔버(들) 내에 배치된 분자들로부터 신호들을 수집하고 분석하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 도 6은 일부 실시예들에 따라 교정 프로세스(200)에 후속하여 수행될 수 있는 반응 챔버에서의 시퀀싱 반응을 도시한다. 도 6에 도시된 시퀀싱 반응은 반응 챔버(308) 내의 샘플(309)에 대한 기준 염료 분자들(310A, 310B)의 부착을 포함할 수 있다. 본 명세서에 설명된 바와 같이, 기준 염료 분자들은 특정 유형을 가질 수 있는데, 예를 들면 특정 유형의 샘플 분자에 바인딩할 수 있다. 예를 들어, 기준 염료 분자(310A)는 제1 유형의 아미노산(예를 들어, 도 4-1에서 L로 표기된 류신)에만 선택적으로 바인딩하는 반면, 기준 염료 분자(310B)는 제2 유형의 아미노산(예를 들어, 도 4-1에서 각각 F, Y, 및 W로 표기된 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판)에 선택적으로 바인딩한다. (예를 들어, 여기 광을 반응 챔버(308)에 전달하고 바인딩된 기준 염료 분자(310A, 310B)로부터 방출된 신호들을 수집함으로써) 샘플 분자(309)를 샘플링하는 것에 후속하여, 샘플 분자 및/또는 그에 바인딩된 기준 염료 분자들(310A, 310B)의 절단이 분자 절단들(316)로 수행될 수 있다. 샘플 분자들은 기준 분자들에 의해 방출된 신호들에 기초하여 식별될 수 있다. 바인딩, 방출 신호들의 수신, 및 절단의 프로세스는 단일 샘플 분자 및/또는 반응 챔버에 대해 복수 회 반복될 수 있다. 일부 실시예들에서, 본 명세서에 설명된 교정 기술들은 단백질 및/또는 DNA/RNA 시퀀싱 응용들에서 사용하도록 구성된 통합 디바이스를 포함하는 시스템을 교정하기 위해 사용될 수 있다.

[0107] 본 명세서에 설명된 교정 기술들은 교정에 후속하여 수행될 임의의 적합한 샘플링 기술과 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 본 명세서에 기술된 교정 기술들은 대리인 문서번호 R0708.70112US00으로 2020년 10월 23일에 출원되고 발명의 명칭이 "샘플 프로세스 스케일링을 위한 시스템들 및 방법들(SYSTEMS AND METHODS FOR SAMPLE PROCESS SCALING)"인 미국 특허 출원 제63/105,185호에 설명된 것과 같은 샘플 멀티플렉싱을 위한 기술들과 조합하여 사용될 수 있으며, 그것의 전체 내용이 참조로 포함된다.

[0108] Ⅳ. 정량적 적재

[0109] 본 명세서에 설명된 바와 같이, 일부 양태들은 통합 디바이스의 하나 이상의 반응 챔버의 정량적 적재의 척도를 결정하기 위한 시스템들 및 방법들에 관한 것이다. 예를 들어, 발명자들은 통합 디바이스의 하나 이상의 반응 챔버의 정량적 적재의 척도를 실시간으로(예를 들어, 적재 프로세스 동안) 결정하는 것이 유리할 것임을 인식하였다. 정량적 적재의 척도는 얼마나 많은 생체분자들이 반응 챔버 내에 존재하는지(예를 들어, 반응 챔버가 비어 있는지, 단일 적재되어 있는지, 이중 적재되어 있는지, 또는 2개 초과의 생체분자로 다중 적재되어 있는지)의 표시를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 반응 챔버들이 단일 적재되어 있는 백분율(또는 원하는 임의의 다른 적재 정도)의 표시를 포함할 수 있다.

[0110] 도 7은 일부 실시예들에 따라 하나 이상의 반응 챔버의 적재를 정량화하기 위한 예시적인 프로세스(700)를 도시한다. 프로세스(700)는 통합 디바이스에 샘플이 적재되는 동작(702)에서 시작할 수 있다. 샘플은 복수의 생체분자를 포함할 수 있다. 복수의 생체분자는 임의의 적합한 유형을 가질 수 있다. 예를 들어, 복수의 생체분자는 시퀀싱을 통해 식별되도록 요구되는 생체분자들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 생체분자는 펩티드들을 포함한다. 일부 실시예들에서, 복수의 생체분자는 핵산들(예를 들어, 리보핵산, 데옥시리보핵산)을 포함한다.

[0111] 복수의 생체분자는 형광 표지 분자들(본 명세서에서 기준 염료 분자들이라고도 지칭됨)로 표지될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 생체분자는 샘플을 통합 디바이스에 적재하기 전에 표지될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 생체분자는 적재 시에 표지되지 않을 수 있고, 이전에 또는 후속하여 통합 디바이스에 적재되는 형광 표지 분자들은 복수의 생체분자에 바인딩할 수 있다.

[0112] 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 생체분자 자체에 직접 부착될 수 있다. 형광 표지 분자는 생체분자에 공유적으로 부착될 수 있거나, 생체분자에 (예를 들어, 링커 또는 스트렙타비딘을 통해) 비-공유적으로 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 칩의 표면 화학 준비의 일부로서 반응 챔버에 적재될 수 있다. 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 본 명세서에 추가로 설명되는 바와 같이 생체분자에 가역적으로 바인딩된다. 따라서, 기술의 양태들은 반응 챔버 내의 형광 표지 분자의 특정 구성에 제한되지 않는다. 일부 실시예들에 따르면, 동작(702)은 대리인 문서번호 R0708.70077US01로 2020년 10월 28일에 출원되고 발명의 명칭이 "멀티플렉스 폴리펩티드 시퀀싱을 위해 샘플들을 준비하는 방법들(METHODS OF PREPARING SAMPLES FOR MULTIPLEX POLYPEPTIDE SEQUENCING)"인 미국 특허 출원 제17/082,906호에 설명된 기술들을 포함할 수 있으며, 그것의 전체내용은 여기에 참조로 포함된다.

[0113] 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 올리고뉴클레오티드는 생체분자에 공유적으로 부착될 수 있다. 일부 실시예들에서, 올리고뉴클레오티드는 생체분자에 공유적으로 부착된 상보적 올리고뉴클레오티드에 혼성화된다(hybridized).

[0114] 형광 표지 분자는 최소 거리(예를 들어, 1nm 초과, 2nm 초과, 5nm 초과, 5-10nm, 10nm 초과, 10-15nm, 15nm 초과, 15-20nm, 20nm 초과)만큼 생체분자로부터 (예를 들어, 하나 이상의 스페이서를 통해) 분리될 수 있다. 형광 표지 분자를 생체분자로부터 최소 거리만큼 분리시키면 정량적 적재 결정 동안(예를 들어, 광표백 동안) 생체분자에 발생하는 손상을 방지할 수 있다.

[0115] 동작(704)에서, 여기 광이 통합 디바이스의 하나 이상의 반응 챔버에 전달될 수 있다. 여기 광은 본 명세서에 설명된 바와 같이 적어도 하나의 여기 소스(예를 들어, 레이저)를 통해 생성될 수 있다. 여기 광은 통합 디바이스의 모든 반응 챔버 또는 그 일부에 전달될 수 있다.

[0116] 여기 광은 반응 챔버들 내의 생체분자들에 바인딩된 임의의 형광 표지 분자들이 여기되어 여기 광을 방출하게 한다. 동작(706)에서, 여기 광에 응답하여 각자의 반응 챔버들로부터 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호가 획득될 수 있다.

[0117] 예를 들어, 방출 광은 통합 디바이스의 하나 이상의 광 검출 영역에 의해 수집될 수 있다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스는 각각의 반응 챔버에 대해 하나의 광 검출 영역을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 단일 반응 챔버에 대해 복수의 광 검출 영역이 제공될 수 있다. 일부 실시예들에서, 복수의 반응 챔버는 단일 광 검출 영역에 대응할 수 있다.

[0118] 동작(708)에서, 정량적 적재의 척도는 동작(706)에서 획득된 방출된 신호에 기초하여 결정될 수 있다. 본 명세서에 설명된 바와 같이, 정량적 적재의 척도는 얼마나 많은 생체분자들이 반응 챔버 내에 존재하는지(예를 들어, 반응 챔버가 비어 있는지, 단일 적재되어 있는지, 이중 적재되어 있는지, 또는 2개 초과의 생체분자로 다중 적재되어 있는지)의 표시를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 반응 챔버들이 단일

적재되어 있는 백분율(또는 원하는 임의의 다른 적재 정도)의 표시를 포함할 수 있다.

[0119] 일부 실시예들에서, 여기 광을 통합 디바이스의 하나 이상의 반응 챔버에 전달하는 것은 하나 이상의 형광 표지 분자를 광표백하는 것을 포함하고, 정량적 적재의 척도는 방출된 신호에 나타난 광표백 스텝들의 수(예를 들어, 방출된 신호에서 관찰될 수 있는 광표백 스텝들의 수)에 기초하여 결정된다. 예를 들어, 반응 챔버(들)는 (예를 들어, 광원을 차단해제하는 것, 광원을 칩에 재결합하는 것, 및/또는 시스템의 특성 표백 시간에 비해 빠른 시간 내에 광원에 의해 전달되는 전력을 증가시키는 것에 의해) 계단 함수로서 여기 광으로 조명될 수 있다. 여기 광은 기준 염료가 표백될 때까지 반응 챔버들에 전달될 수 있다. 도 8-1, 도 8-2, 및 도 8-3은 동작(704)에서 광표백되는 형광 표지 분자들을 갖는 챔버들로부터 획득된 예시적 트레이스들을 도시한다. 다른 실시예들에서, 반응 챔버들 내의 하나 이상의 기준 염료에 의해 방출되는 신호들은 광표백을 수행하지 않고서 획득될 수 있다.

[0120] 도 8-1은 일부 실시예들에 따라 단일 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스(800A)를 도시한다. 도 8-1에 도시된 바와 같이, 일정 기간 동안의 신호 강도가 플로팅된다. 여기 광이 반응 챔버에 처음 전달될 때, 반응 챔버로부터 수신되는 신호의 강도는 피크로 상승할 수 있다. (예를 들어, 레이저와 같은 광원을 켜는 것에 의해) 반응 챔버에 여기 광을 전달하는 것에 후속하여, 도 8-1에서 강도의 단일 스텝(예를 들어, 한 시점에서의 신호 강도의 특징적인 강하)을 볼 수 있다. 일부 실시예들에서, 도 8-1에 도시된 바와 같이, 신호 강도의 특징적인 강하는 표백 전에 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호 강도와 실질적으로 동일할 수 있다. 표백 후, 기준 염료 분자는 더 이상 신호를 방출하지 않고, 그 결과 도 5-1에 보여진 강도의 단일 스텝 감소를 초래한다. 따라서, 도 8-1에 보여진 신호는 반응 챔버 내의 단일 형광 표지의 존재를 나타내고, 따라서 단일 생체분자의 존재를 나타낸다.

[0121] 도 8-2는 일부 실시예들에 따라 이중 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스(800B)를 도시한다. 도 8-2에 도시된 바와 같이, 신호는 2개의 형광 표지 분자의 존재를 나타내고 따라서 반응 챔버 내의 2개의 생체분자를 나타내는, 신호 강도의 2개의 스텝을 포함한다.

[0122] 도 8-3은 일부 실시예들에 따라 다중 적재된 웰을 나타내는 칩 적재 프로세스로부터의 예시적인 트레이스(800C)를 도시한다. 도 8-3에 도시된 바와 같이, 신호는 3개의 형광 표지 분자의 존재를 나타내고 따라서 반응 챔버 내의 3개의 생체분자를 나타내는, 신호 강도의 3개의 스텝(수신된 신호의 강도의 3개의 특징적인 강하)을 포함한다.

[0123] 일부 경우들에서, 광표백 스텝이 관찰되지 않을 수 있다. 따라서, 관찰된 광표백의 결핍에 기초하여, 반응 챔버 내에 생체분자가 존재하지 않는다는 것이 결정될 수 있다.

[0124] 일부 실시예들에서, 신호는 반응 챔버 내에 존재하는 광표백 형광 표지 분자 없이 반응 챔버로부터 획득될 수 있다. 이러한 실시예들에서, 반응 챔버 내에 존재하는 형광 표지 분자들의 수, 및 그에 따른 생체분자들의 수는 반응 챔버로부터 획득된 신호의 상대 강도에 의해 결정될 수 있다.

[0125] 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 생체분자 또는 그에 부착된 2차 생체분자에 가역적으로 바인딩할 수 있다. 예를 들어, 2차 생체분자는 N-말단 아미노산 인식기(예를 들어, ClpS, UBR 박스 등)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 2차 생체분자는 올리고뉴클레오티드이다. 일부 실시예들에서, 올리고뉴클레오티드는 생체분자 또는 그에 부착된 올리고뉴클레오티드에 가역적 혼성화(reversible hybridization)할 수 있다.

[0126] 형광 표지 분자가 생체분자에 바인딩 및 바인딩 해제되는 것은 형광 표지 분자의 온 및 오프 펄싱에 의해 표현될 수 있다. 특히, 형광 표지 분자가 생체분자에 바인딩되고 여기 광으로 여기될 때, 형광 표지 분자는 하나 이상의 광 검출 영역에 의해 수집될 수 있는 방출 광을 방출한다. 바인딩되지 않은 경우, 형광 표지 분자는 방출 광을 방출하지 않을 수 있다. 형광 표지 분자는 생체분자에 대한 주기적인 바인딩 패턴을 따를 수 있다. 이와 같이, 형광 표지 분자는 생체분자에 바인딩될 때 형광 표지 분자로부터 방출된 광을 수집함으로써 검출될 수 있는 주기적인 펄싱 패턴을 생성한다.

[0127] 도 9는 일부 실시예들에 따라 생체분자에 가역적으로 바인딩된 형광 분자들의 주기적인 펄싱 패턴을 도시한다. 플롯들(902 및 904)은 단일 펄싱 기간 T 동안 하나 이상의 광 검출 영역에 의해 검출된 펄스들의 예들을 도시한다.

[0128] 플롯들(902 및 904)은 2개의 생체분자, 및 그에 가역적으로 바인딩된 각자의 형광 표지들을 갖는 이중 적재된 웰의 예들을 도시한다. 따라서, 펄싱 기간 T 동안 2개의 펄스가 검출된다. 플롯(902)의 도시된 실시예에서, 2개의 형광 표지 분자는 기간 T 동안 실질적으로 동시에 각자의 생체분자들에 바인딩한다. 따라서, 2개의 형광

표지 분자 각각으로부터의 각자의 펄스들로 이루어진 단일 복합 펄스가 강도 2I를 갖고서 기간 T에서 검출된다. 플롯(904)의 도시된 실시예에서, 2개의 형광 표지 분자는 기간 T 동안 이산 시간들에 각자의 생체분자에 바인딩한다. 따라서, 강도 I를 갖는 2개의 펄스가 기간 T에서 검출된다.

[0129] 도시된 실시예들은 반응 챔버가 2개의 생체분자로 이중 적재되는 예들을 제공하지만, 본 명세서에 설명된 기술들은 펄싱 기간 T 동안 반응 챔버로부터 방출되는 펄스들의 강도를 결정함으로써 반응 챔버 내의 단일 생체분자, 2개 초과의 생체분자의 존재, 또는 임의의 생체분자의 결핍을 검출하기 위해 마찬가지로 사용될 수 있다. 펄싱 기간 및 펄스들의 강도는 생체분자들에 가역적으로 바인딩되는 형광 표지 분자의 특징적인 펄스 폭 및 강도에 기초하여 결정될 수 있다.

[0130] 도 9는 각자의 펄싱 기간 T 동안 생체분자에 바인딩되는 반응 챔버 내의 형광 표지 분자들의 수를 결정하고, 따라서 반응 챔버 내에 현재 존재하는 생체분자들의 수를 결정하기 위해 펄스들의 타이밍 및 강도가 어떻게 검출되고 사용될 수 있는지를 도시한다. 따라서, 프로세스(700)의 동작(708)은 본 명세서에 설명된 것과 같은 가역적 바인딩 분자들을 사용하여 수행될 수 있다.

[0131] 프로세스(700)로 되돌아가서, 프로세스(700)는 방출된 신호에 기초하여 정량적 적재의 척도를 결정한 후에 동작(710)으로 진행할 수 있다. 동작(710)에서, 적재를 계속할지가 결정된다. 적재를 계속하거나 종료하기 위한 결정은 동작(710)에서 결정된 정량적 적재의 척도에 기초하여 결정될 수 있다.

[0132] 예를 들어, 일부 실시예들에서, 통합 디바이스의 동작은 정량적 적재의 척도에 기초하여 최적화될 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 통합 디바이스로의 샘플의 적재가 수행되는 방식을 조절하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 최적의 수의 반응 챔버에 원하는 수의 생체분자가 적재되었는지를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 원하는 생체분자의 수는 하나이고, 따라서 정량적 적재의 척도는 최적의 수(예를 들어, 최대)의 반응 챔버가 단일 적재되는지를 결정하기 위해 사용된다.

[0133] 정량적 적재의 척도에 의해 나타난 대로, 적재된 반응 챔버들의 최적의 수에 도달하지 않은 경우, 추가 적재가 수행될 수 있다. 예를 들어, 프로세스(700)는 추가 샘플이 통합 디바이스에 적재되는 동작(702)으로 루프백할 수 있다.

[0134] 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 후속 적재 단계들에서 통합 디바이스에 적재되는 추가 샘플의 양을 조절하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 샘플은 특정 농도의 생체분자를 포함할 수 있다. 정량적 적재의 척도는 생체분자들의 농도를 증가시킬 것인지 또는 감소시킬 것인지를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 단일 적재된 반응 챔버들의 최적 개수가 충족되지 않은 것으로 결정되는 경우, 초기 샘플보다 높은 생체분자들의 농도를 갖는 추가 샘플로 추가 적재가 수행될 수 있다.

[0135] 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 후속 분석을 위해 반응 챔버들로부터의 신호들이 처리되는 방식을 조절하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 반응 챔버가 비어 있거나, 이중 적재되거나, 다중 적재된 것으로 결정될 때, 이러한 반응 챔버들에서 시퀀싱을 수행하지 않거나 이러한 반응 챔버들로부터 수신된 신호들을 처리하지 않음으로써 이러한 반응 챔버들로부터의 신호들을 무시하도록 결정될 수 있다.

[0136] 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 통합 디바이스에게 향후 동작을 알리기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 정량적 적재의 척도는 향후에 통합 디바이스에 대한 샘플의 적재가 수행되는 방식(예를 들어, 어떤 농도의 생체분자들이 샘플 내에 존재하는지, 적재가 얼마나 오래 수행되는지, 어떤 속도로 적재를 수행할지 등)을 조절하기 위해 사용될 수 있다.

[0137] 동작(710)에서 적재를 계속하지 않기로 결정되면, 프로세스(700)는 적재가 종료되는 동작(712)으로 진행할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 종료는 부동화되지 않은(예를 들어, 바인딩 해제된) 폡티드를 함유하는 용액을 제거, 세척 및/또는 교체함으로써 수행될 수 있다. 일부 실시예들에서, 종료는 자율적으로 수행될 수 있다.

[0138] 일부 실시예들에서, 적재를 종료하는 것은 반응 챔버로부터 형광 표지 분자를 제거하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 화학적 절단 프로세스에 의해 제거될 수 있다. 일부 실시예들에서, 형광 표지 분자는 효소 절단 프로세스에 의해 제거될 수 있다.

[0139] 본 명세서에 설명된 바와 같이, 프로세스(700)는 연속적으로 수행될 수 있다. 일부 실시예들에서, 프로세스(700)는 예를 들어 소프트웨어를 사용하여 자율적으로 수행될 수 있다. 이는 각각의 반응 챔버 내의 표지된 생체분자들의 수를 지속적으로 모니터링하는 것을 허용할 수 있다. 소프트웨어 분석 프로세스는 적재를 실시간으

로 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 소프트웨어 분석은 본 명세서에 설명된 바와 같이 신호 펄스들/광표백 스텝들을 검출할 수 있다.

[0140] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 상이한 유형의 형광 표지 분자가 생체분자들에 제공된다. 예를 들어, 제1 유형의 형광 표지 분자 및 제2 유형의 형광 표지 분자가 생체분자들에 바인딩하기 위해 제공될 수 있다.

[0141] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 생체분자로 적재된 통합 디바이스의 백분율(예를 들어, 반응 챔버들의 백분율)을 시각적으로 도시하기 위해 반응 챔버들의 "히트맵"을 생성할 수 있다. 도 10은 일부 실시예들에 따라 퍼센트 적재를 도시하는 반응 챔버들의 예시적인 히트맵을 도시한다.

[0142] 일부 실시예들에서, 정량적 적재의 척도는 통합 디바이스의 일부(예를 들어, 통합 디바이스의 모든 반응 챔버의 일부)에 대해서만 획득될 수 있다. 정량적 적재의 척도는 전체 통합 디바이스(또는, 따라서 다른 부분들)에 대한 정량적 적재의 외삽된 척도를 획득하기 위해 통합 디바이스의 나머지 반응 챔버들로 외삽될 수 있다.

[0143] 일부 실시예들에서, 샘플의 시퀀싱은 본 명세서에 설명된 교정 및 정량적 적재 기술들을 수행한 후에(예를 들어, 프로세스(700)의 동작(714)에서) 수행될 수 있다. 예를 들어, 교정 및 정량적 적재 기술들은 예를 들어 대리인 문서번호 R0708.70063US01로 2020년 6월 12일에 출원되고 발명의 명칭이 "머신 러닝 및 관련 시스템들 및 방법들을 사용한 단백질 식별 기술들(TECHNIQUES FOR PROTEIN IDENTIFICATION USING MACHINE LEARNING AND RELATED SYSTEMS AND METHODS)"인 미국 특허 출원 제16/900,582호에 설명된 바와 같이, 머신 러닝을 이용한 샘플 식별을 위한 기술들과 함께 사용될 수 있다.

[0144] Ⅴ. 등가물들 및 범위

[0145] 이와 같이, 본 개시내용의 기술의 수 개의 양태들 및 실시예들을 설명하였지만, 본 기술분야의 통상의 기술자에게는 다양한 변경, 수정 및 개선이 쉽게 떠오를 수 있다는 것을 알아야 한다. 이러한 변경들, 수정들 및 개선들은 본 명세서에 설명된 기술의 사상 및 범위 내에 있도록 의도된다. 따라서, 전술한 실시예들은 단지 예로서 제시된 것이며, 첨부된 청구항들 및 그 균등물의 범위 내에서, 본 발명의 실시예들은 구체적으로 설명된 것과 달리 실시될 수 있다는 것을 이해해야 한다. 추가로, 본 명세서에 설명된 2개 이상의 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트, 및/또는 방법이 상호 불일치하지 않는 경우, 그러한 특징, 시스템, 물품, 재료, 키트, 및/또는 방법의 임의의 조합이 본 개시내용의 발명의 범위 내에 포함된다.

[0146] 또한, 설명되는 바와 같이, 일부 양태들은 하나 이상의 방법으로서 실시될 수 있다. 방법의 일부로서 수행되는 동작들은 임의의 적절한 방식으로 순서가 정해질 수 있다. 따라서, 예시적인 실시예들에서 순차적인 동작들로 보여지더라도, 설명된 것과 상이한 순서로 동작들이 수행되는 실시예들이 구성될 수 있고, 이는 일부 동작들을 동시에 수행하는 것을 포함할 수 있다.

[0147] 본 명세서에 정의되고 사용된 모든 정의들은 사전적 정의, 참조로 통합된 문서들에서의 정의, 및/또는 정의된 용어들의 일반적인 의미에 우선하는 것으로 이해되어야 한다.

[0148] 본 명세서 및 청구항들에서 사용될 때의 단수 표현(부정 관사 "a" 및 "an")은 반대로 명확하게 표시되지 않는 한, "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0149] 본 명세서 및 청구항들에서 사용될 때의 문구 "및/또는"은 이렇게 결합된 요소들 중 "어느 하나 또는 둘 다"를 의미하는 것으로서, 즉 일부 경우들에서는 결합적으로 존재하고 다른 경우들에서는 분리되어 존재하는 요소들을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

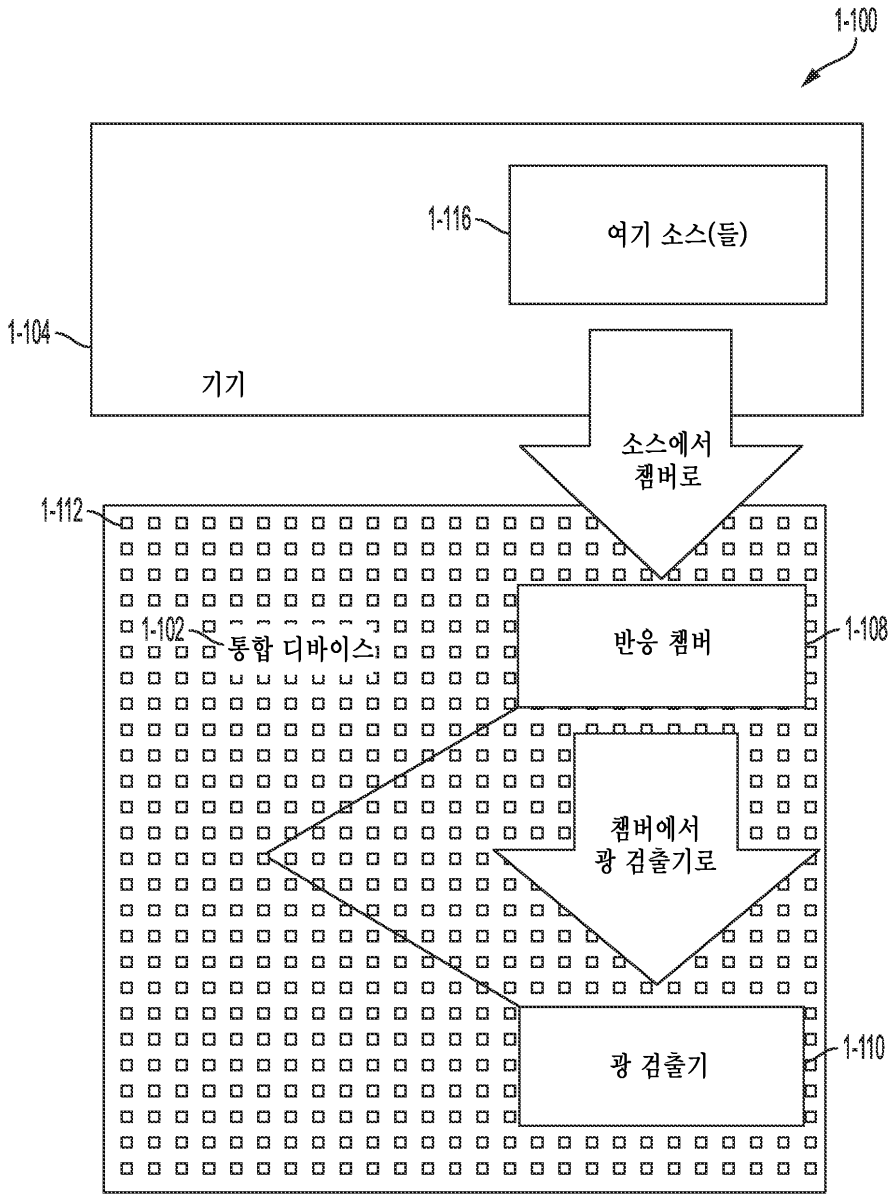
[0150] 본 명세서 및 청구항들에서 사용될 때, 하나 이상의 요소의 목록을 참조하는 문구 "적어도 하나"는 요소들의 목록 내의 요소들 중 임의의 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 요소를 의미하지만, 요소들의 목록 내에 구체적으로 나열된 각각의 모든 요소 중 적어도 하나를 반드시 포함하지는 않고, 요소들의 목록 내의 요소들의 임의의 조합들을 배제하지 않음을 이해해야 한다. 이러한 정의는 또한 문구 "적어도 하나"가 참조하는 요소들의 목록 내에서 구체적으로 식별되는 요소들에 관련이 있는지 여부에 관계없이, 구체적으로 식별되는 그러한 요소들 외의 요소들이 임의적으로 존재하는 것을 허용한다.

[0151] 청구항들에서는 물론, 상기 명세서에서, "포함하는(comprising, including)", "지니는(carrying)", "갖는(having)", "함유하는(containing)", "수반하는(involving)", "보유하는(holding)", "이루어진(composed of)" 등과 같은 모든 전이 문구들은 개방형인 것으로, 즉 포함하지만 제한되지 않음을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 전이 문구들 "구성된(consisting of)" 및 "본질적으로 구성된(consisting essentially of)"은 각각 폐

쇄형 또는 반-폐쇄형 전이 문구들일 것이다.

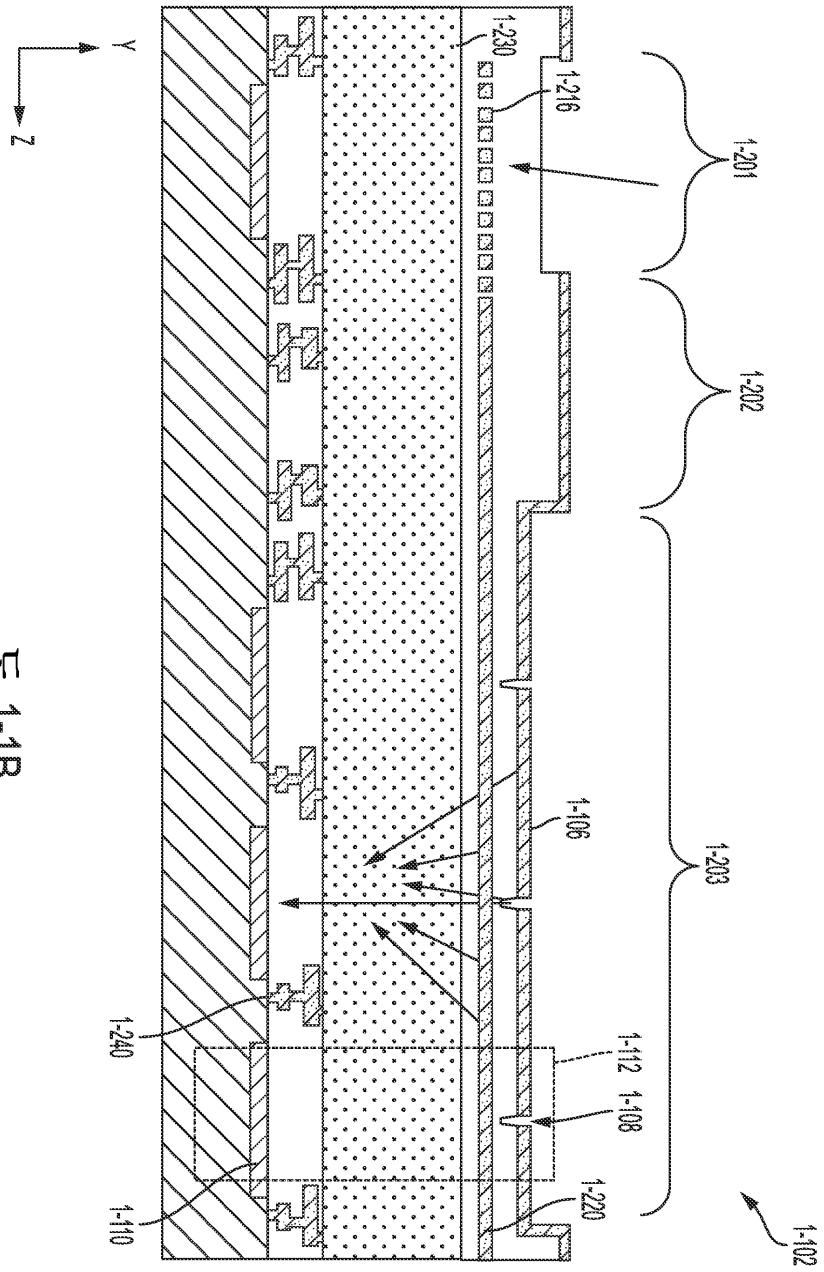
도면

도면1i



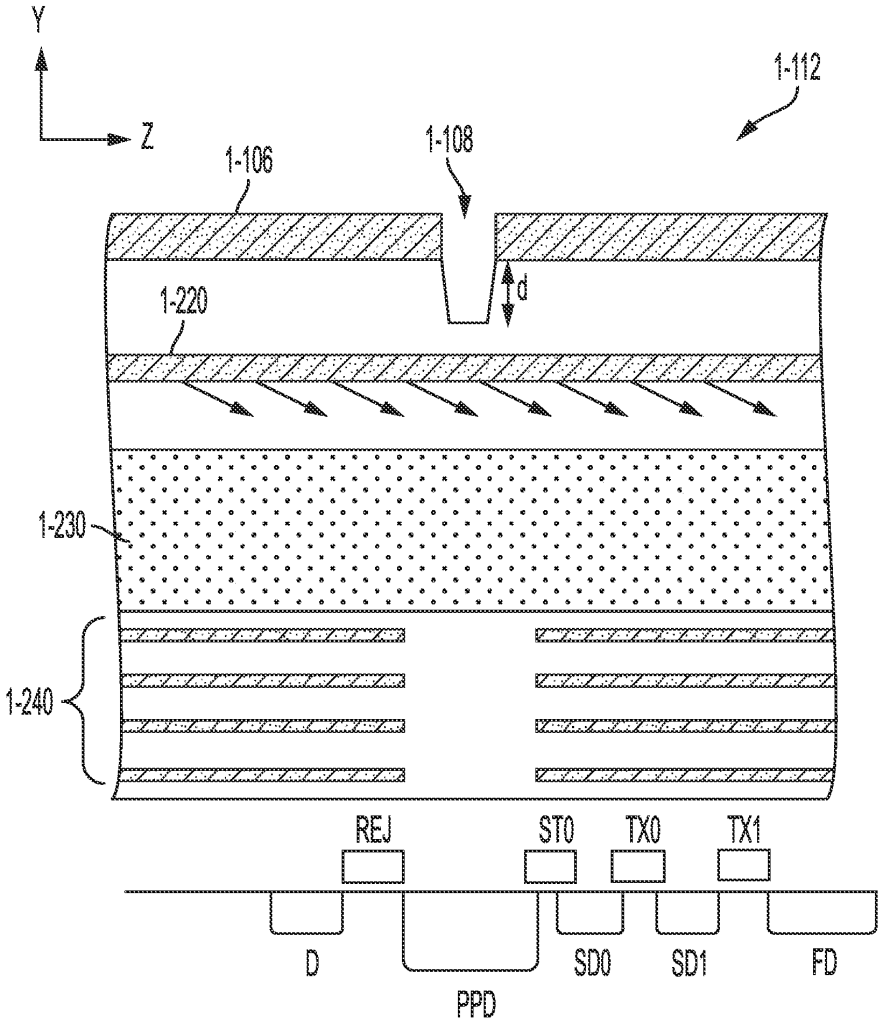
도 1-1A

도면1ii


Y
Z
1-230
1-216
1-201
1-202
1-203
1-106
1-240
1-112
1-108
1-110
1-220
1-102

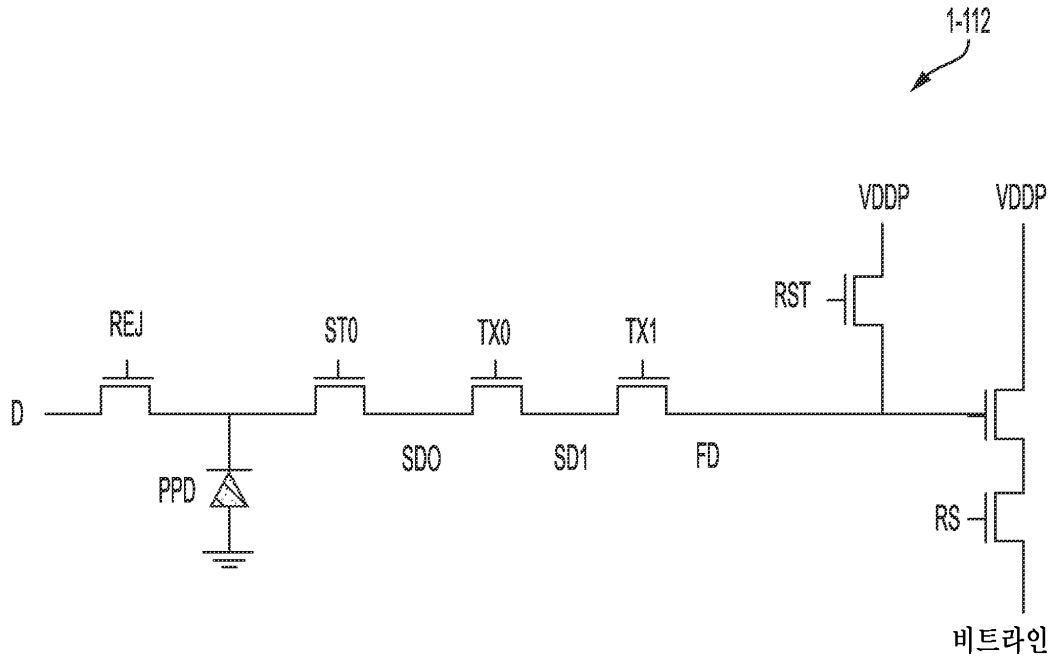
도 1-1B

도면1iii


Y
Z
1-112
1-108
1-106
d
1-220
1-230
1-240
REJ
ST0
TX0
TX1
D
PPD
SD0
SD1
FD

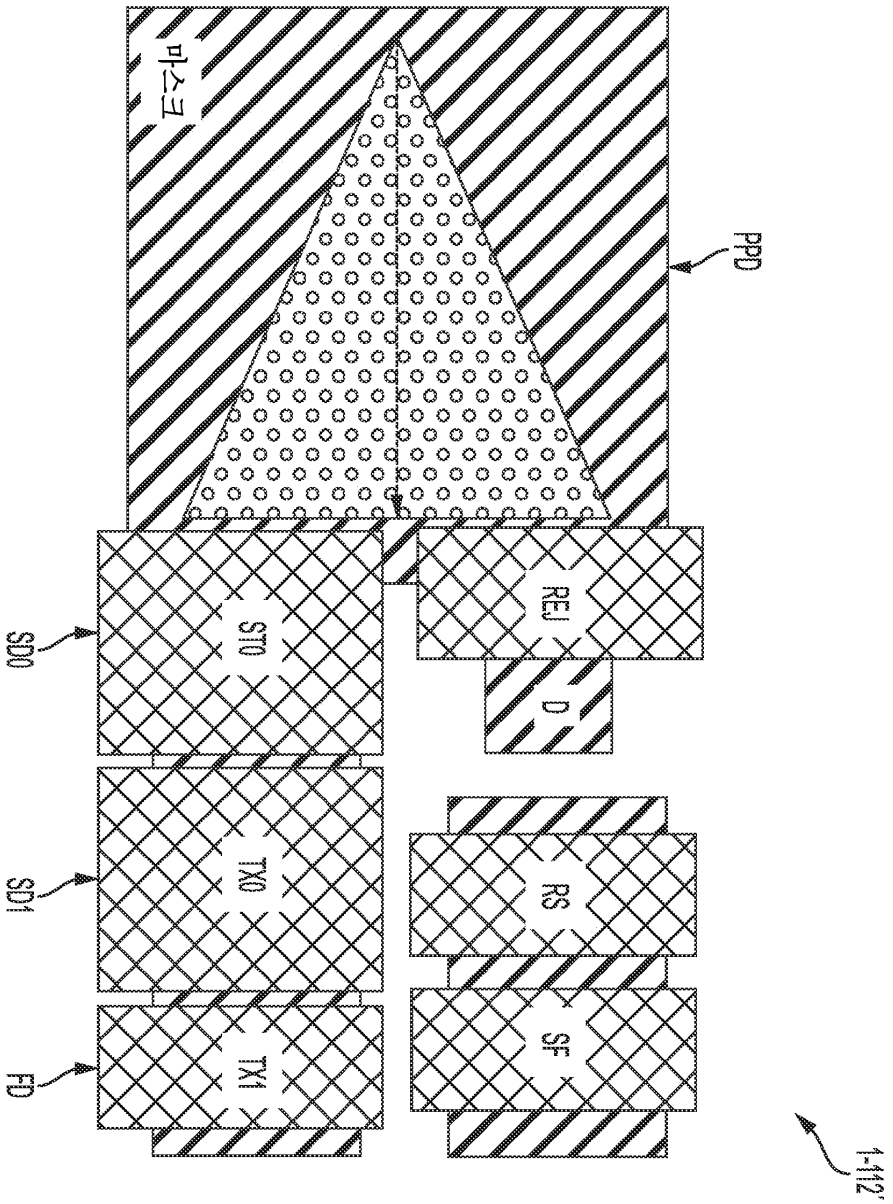
도 1-1C

도면1iv



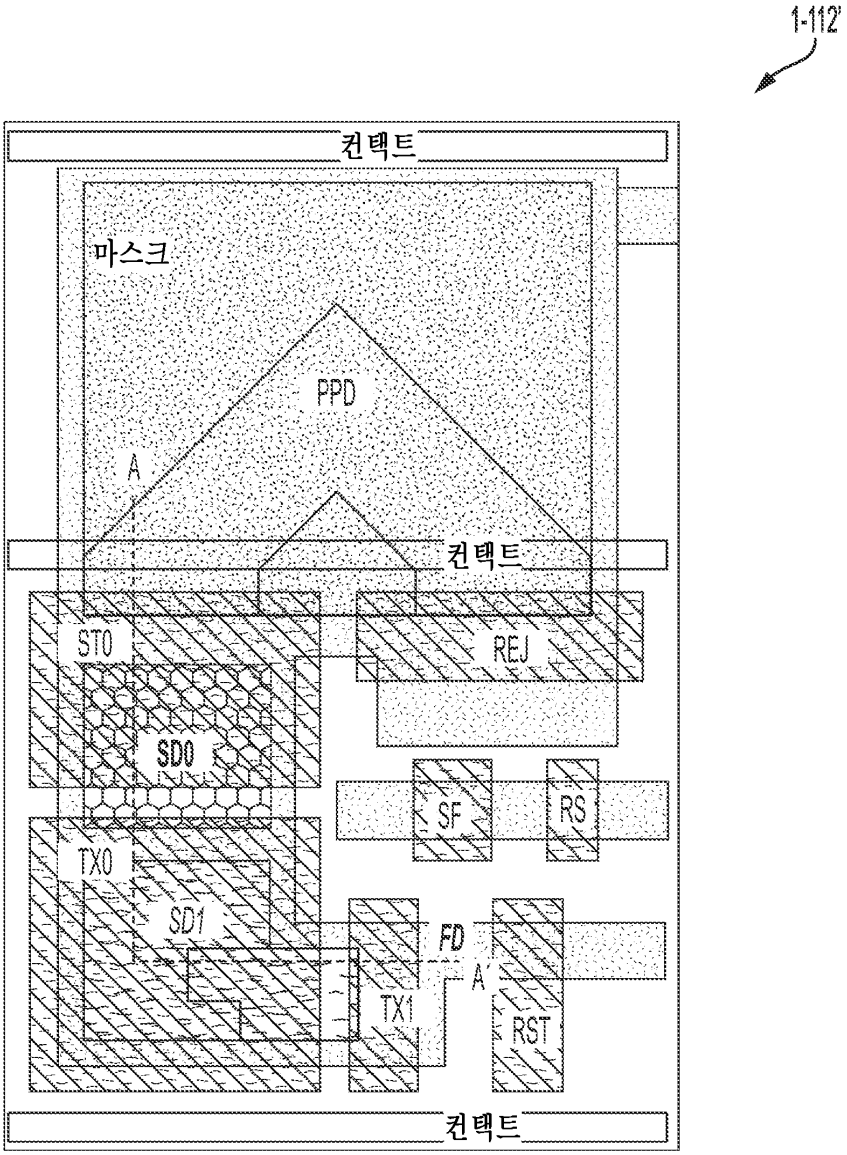
도 1-1D

도면1v



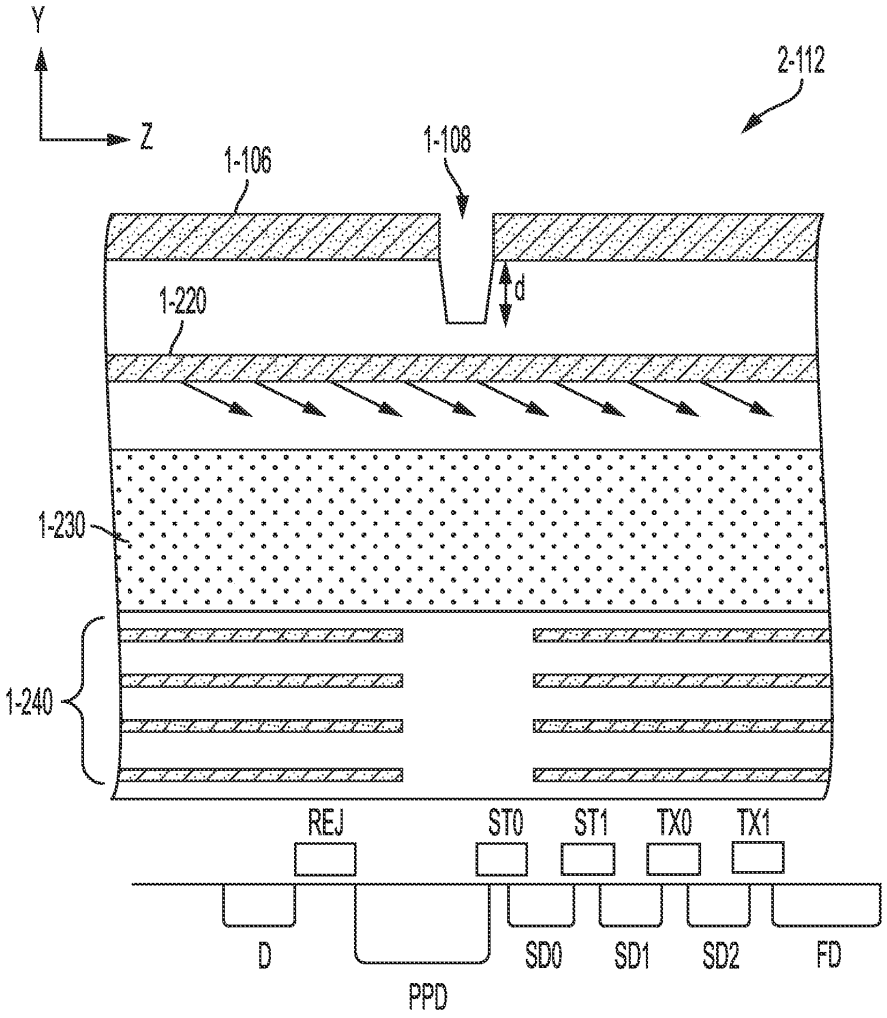
도 1-1E

도면1vi



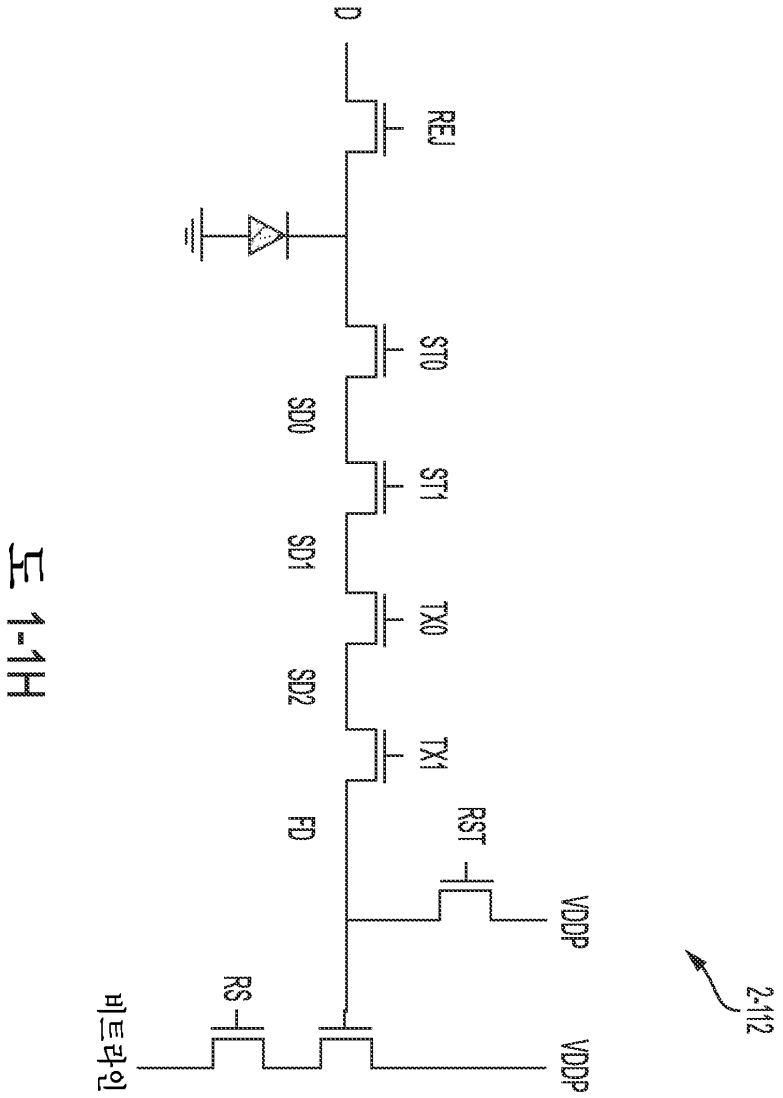
도 1-1F

도면1vii


Y
Z
2-112
1-108
1-106
d
1-220
1-230
1-240
REJ
ST0
ST1
TX0
TX1
D
PPD
SD0
SD1
SD2
FD

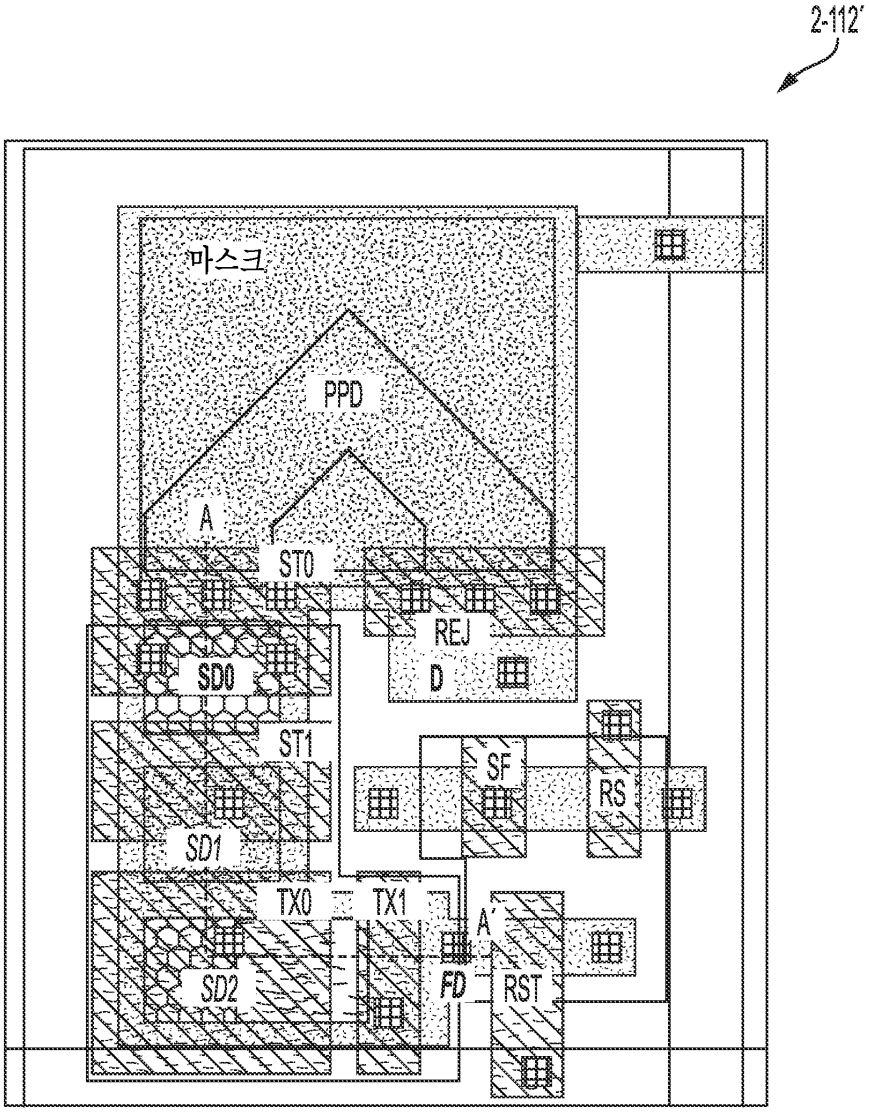
도 1-1G

도면1vvi



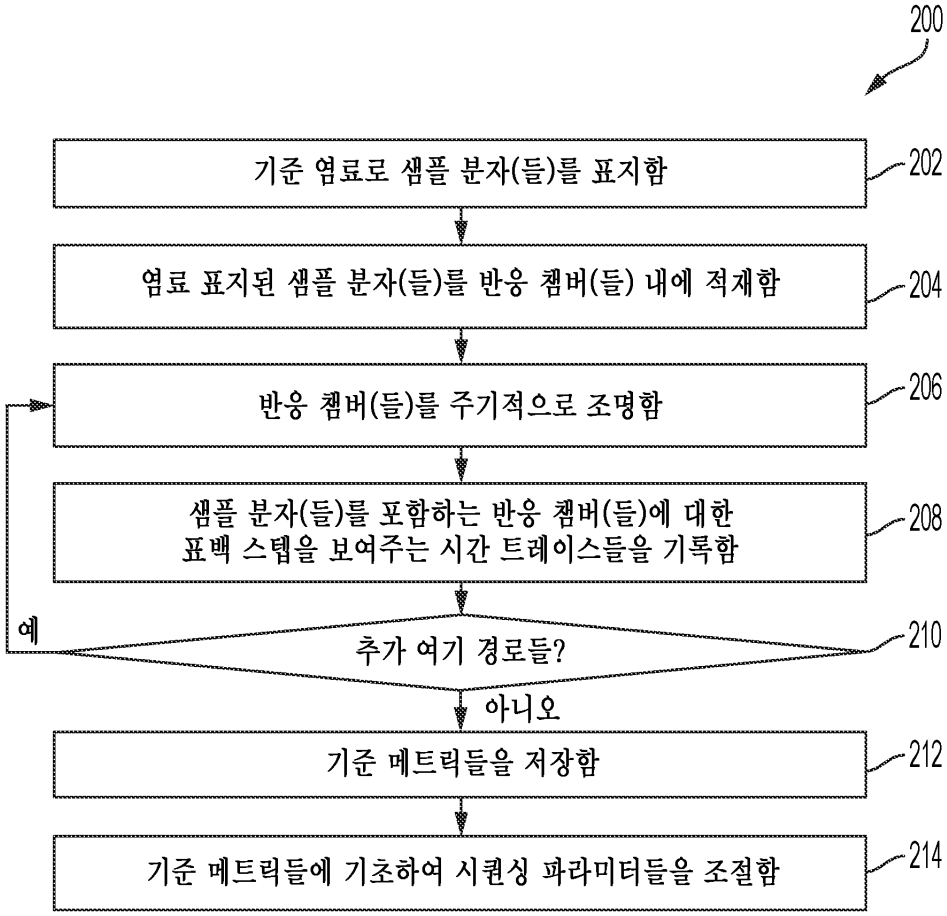
도 1-1H

도면1vx

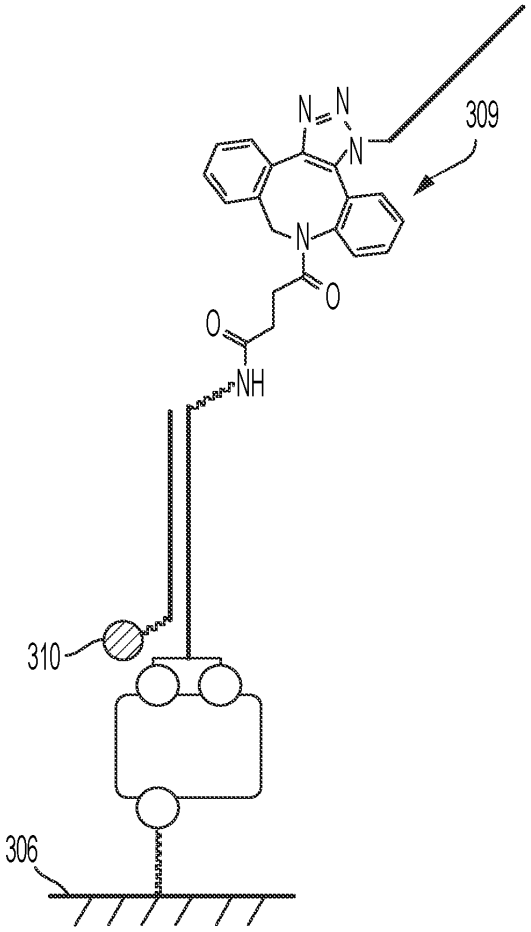


도 1-1l

도면2

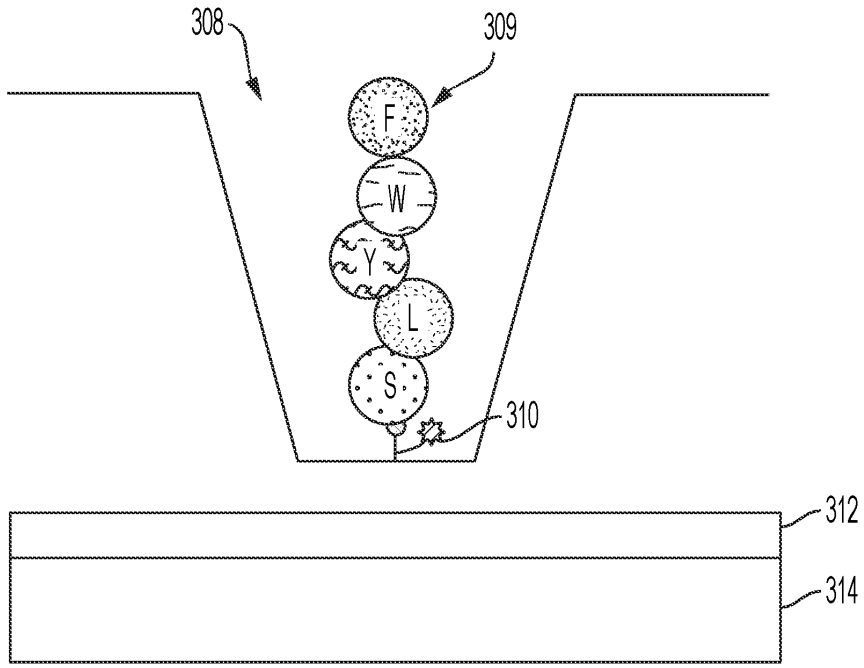

200
기준 염료로 샘플 분자(들)를 표지함
202
염료 표지된 샘플 분자(들)를 반응 챔버(들) 내에 적재함
204
반응 챔버(들)를 주기적으로 조명함
206
샘플 분자(들)를 포함하는 반응 챔버(들)에 대한
표백 스텝을 보여주는 시간 트레이스들을 기록함
208
추가 여기 경로들?
210
예
아니오
기준 메트릭들을 저장함
212
기준 메트릭들에 기초하여 시퀀싱 파라미터들을 조절함
214

도면3i



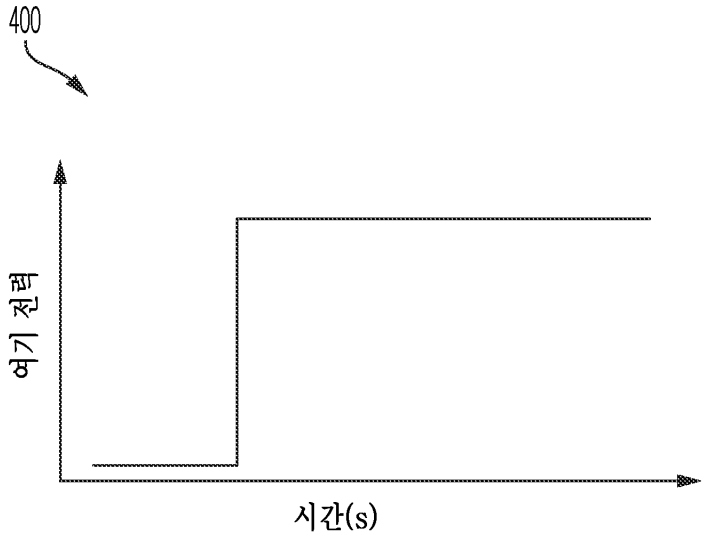
도 3-1

도면3ii

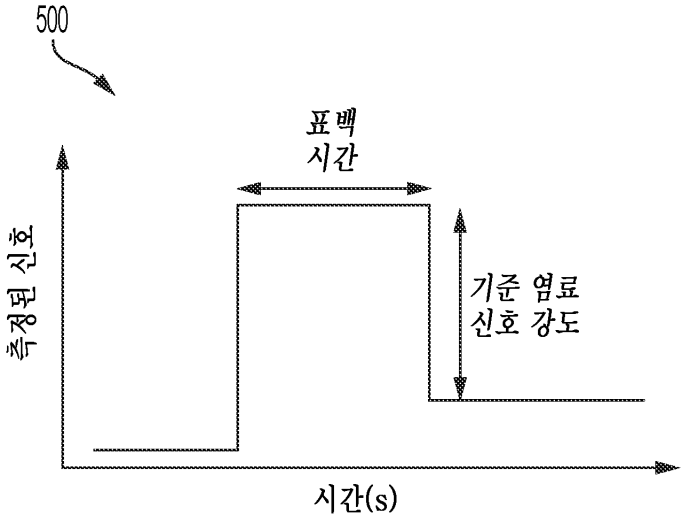


도 3-2

도면4

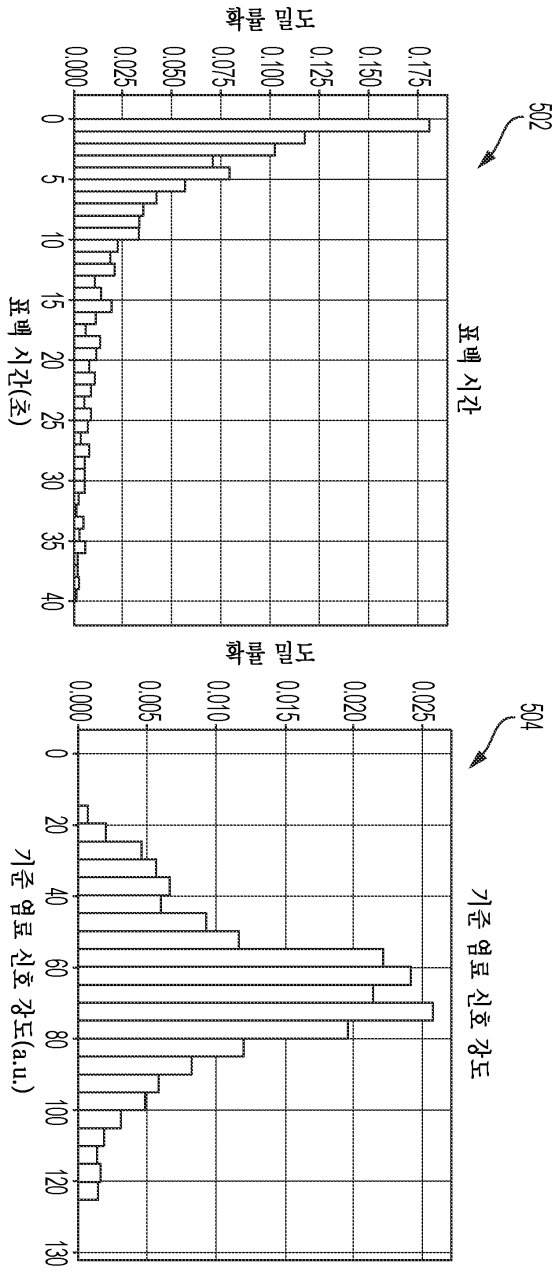


도면5i



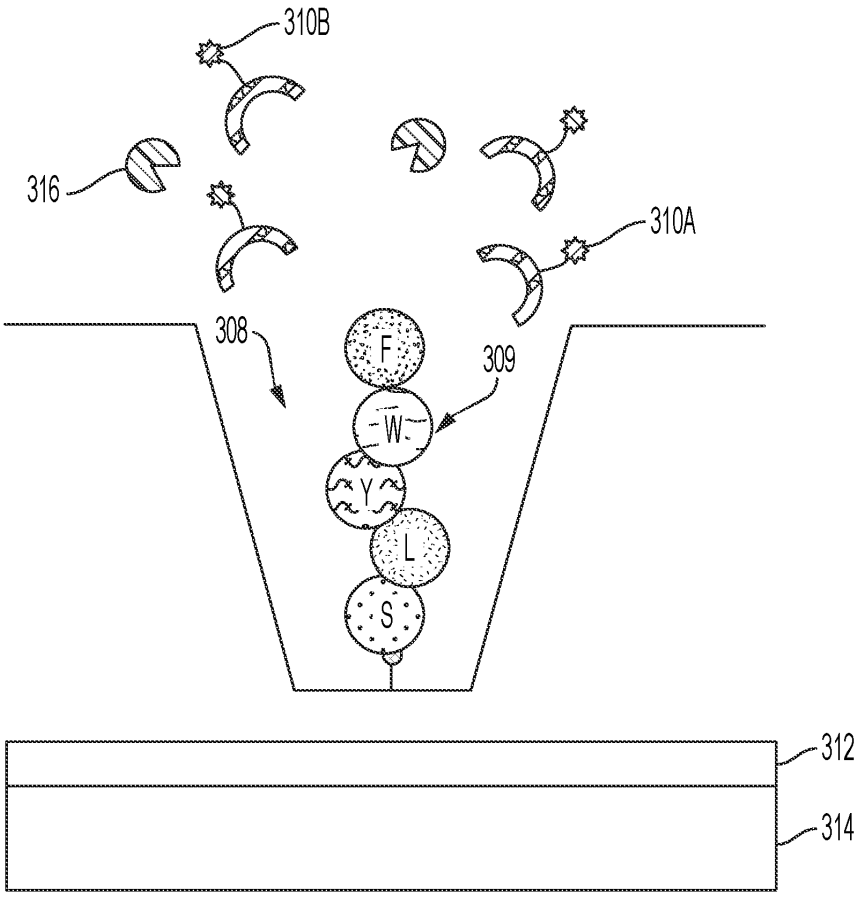
도 5-1

도면5ii

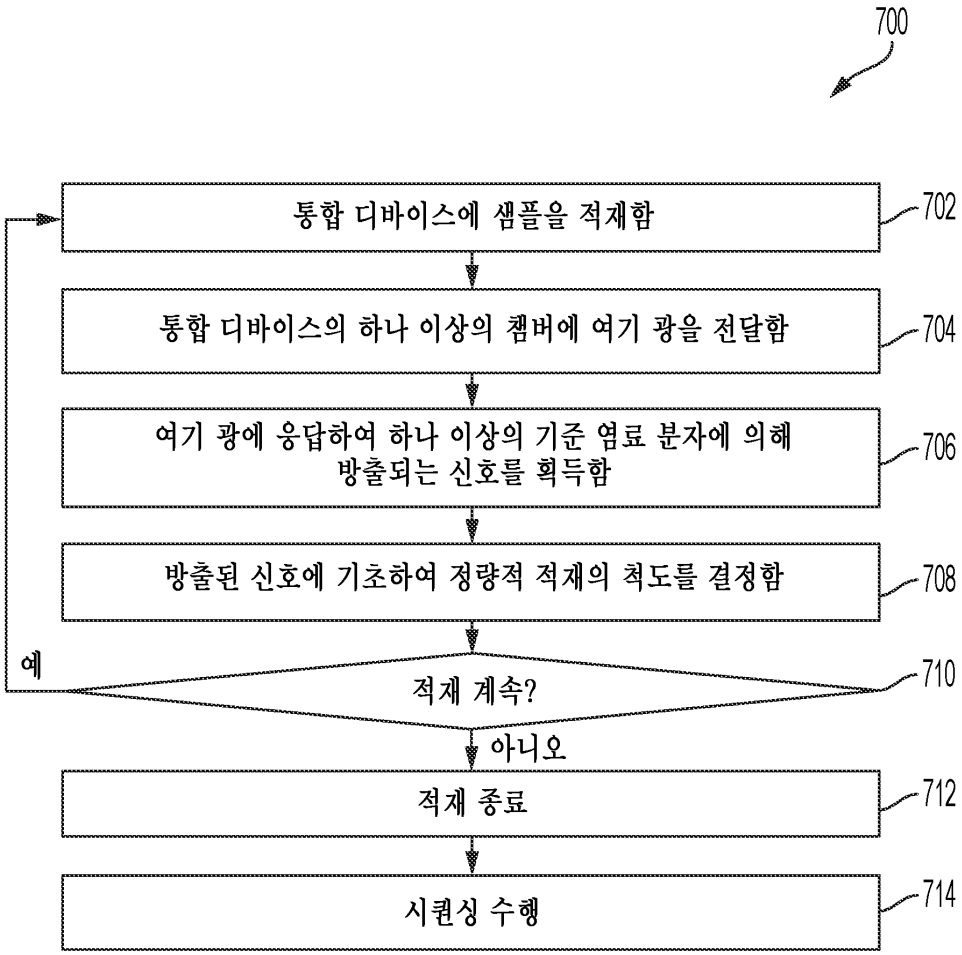

확률 밀도
0.000
0.025
0.050
0.075
0.100
0.125
0.150
0.175
502
표백 시간
표백 시간(초)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
확률 밀도
0.000
0.005
0.010
0.015
0.020
0.025
504
기준 염료 신호 강도
기준 염료 신호 강도(a.u.)
0
20
40
60
80
100
120
130

도 5-2

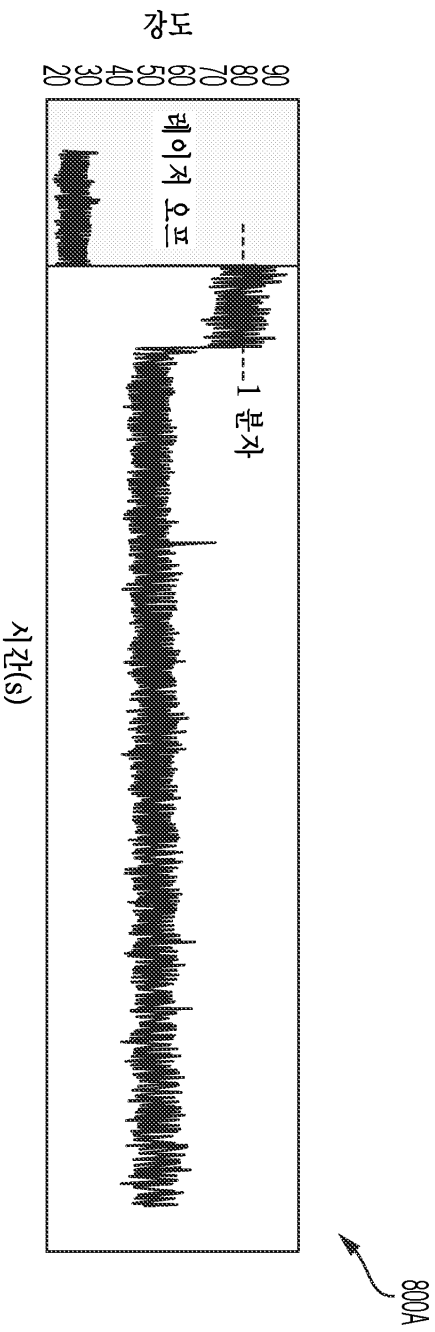
도면6



도면7

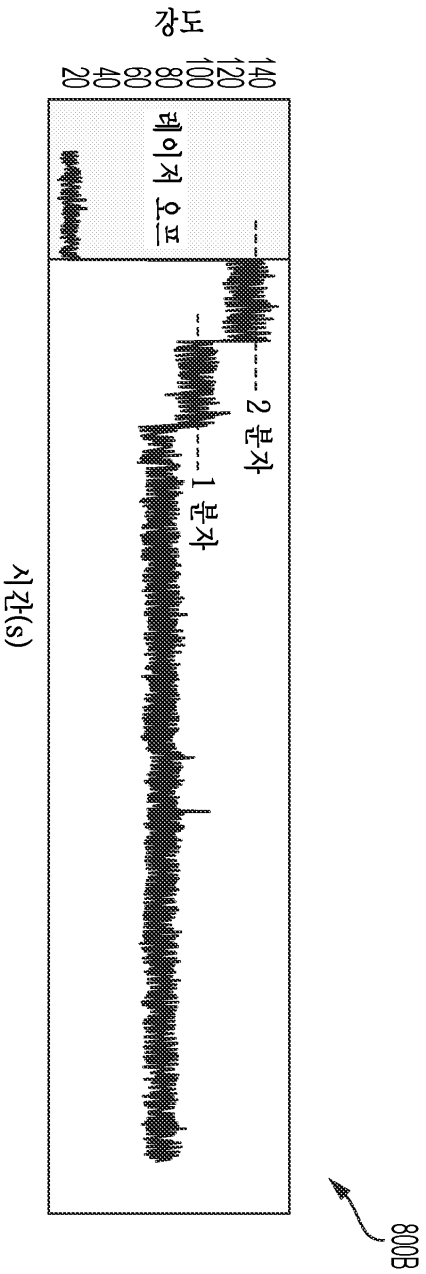

700
통합 디바이스에 샘플을 적재함
702
통합 디바이스의 하나 이상의 챔버에 여기 광을 전달함
704
여기 광에 응답하여 하나 이상의 기준 염료 분자에 의해 방출되는 신호를 획득함
706
방출된 신호에 기초하여 정량적 적재의 척도를 결정함
708
적재 계속?
710
예
아니오
적재 종료
712
시퀀싱 수행
714

도면8i



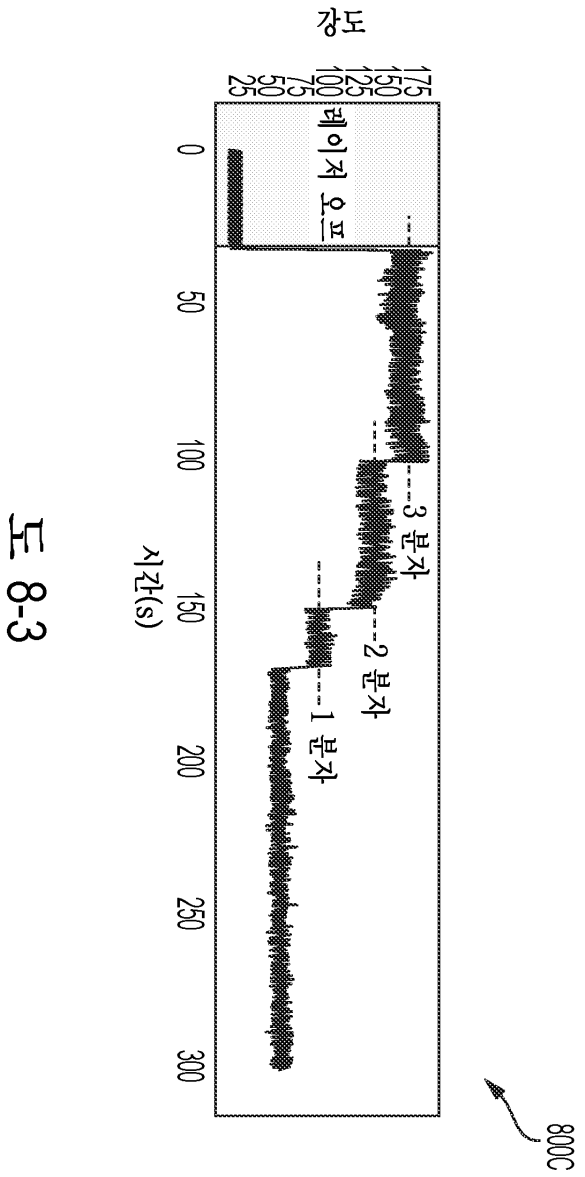
도 8-1

도면8ii



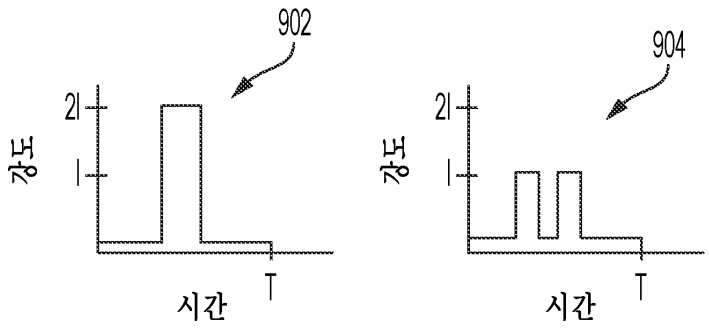
도 8-2

도면8iii



도 8-3

도면9



도면10

