I878208

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I878208 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 04 月 01 日

(21)申請案號：107115281 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 05 月 04 日

(51)Int. Cl.： ***B05D3/10*** ***(2006.01)*** ***C12Q1/68*** ***(2018.01)***

C09D7/00 ***(2018.01)***

(30)優先權：2017/05/11 美國 62/504,977

(71)申請人：美商伊路米納有限公司 (美國) ILLUMINA, INC. (US)

美國

英商伊路米納劍橋有限公司 (英國) ILLUMINA CAMBRIDGE LIMITED (GB)

英國

新加坡商伊路米納新加坡私人有限公司 (新加坡) ILLUMINA SINGAPORE PTE. LTD. (SG)

新加坡

(72)發明人：瑞曼尼茲 尚恩M RAMIREZ, SEAN M. (US)；馬瑟 布萊恩D MATHER, BRIAN D. (US)；李 艾德文 LI, EDWIN (US)；文 昭晶 MOON, SOJEONG (US)；金 銀蘇 丹尼爾 KIM, INNSU DANIEL (US)；瑞奇茲 亞歷山大 RICHEZ, ALEXANDRE (FR)；米森 盧達維克 VINCENT, LUDOVIC (US)；韋恩 哈頓 澤維爾 VON HATTEN, XAVIER (US)；陳 海權 TRAN, HAI QUANG (US)；齊默利 麥克斯韋爾 ZIMMERLEY, MAXWELL (US)；莫里斯恩 茱莉亞 MORRISON, JULIA (GB)；阿爾蒂奧利 詹盧卡 安德里亞 ARTIOLI, GIANLUCA ANDREA (IT)；史萊 克里斯塔爾 SLY, KRYSTAL (US)；布萊克 海登 BLACK, HAYDEN (US)；克雷夫特 路易斯 J KRAFT, LEWIS J. (US)；謝 虹 XIE, HONG (SG)；韋瑋 WEI, WEI (CN)；桑福德 萊恩 SANFORD, RYAN (US)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

US 2006/0254916A1 WO 2016019026A1

WO 2016/075204A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：40 項 圖式數：22 共 105 頁

(54)名稱

用於流通槽的保護性表面塗層

(57)摘要

本發明揭示一種方法之實施例，其包括提供基板，該基板具有包含第一化學基團之暴露表面，其中該提供視情況包含改質該基板之暴露表面以併入該第一化學基團；使該第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應以形成共價鍵結該基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；藉由使引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使該引子接枝於該官能化聚合物塗層；及在該引子及該官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。本文亦揭示併入有水溶性保護性塗層之實施例的流通槽之實施例。

An example of a method includes providing a substrate with an exposed surface comprising a first chemical group, wherein the providing optionally comprises modifying the exposed surface of the substrate to incorporate the first chemical group; reacting the first chemical group with a first reactive group of a functionalized polymer molecule to form a functionalized polymer coating layer covalently bound to the exposed surface of the substrate; grafting a primer to the functionalized polymer coating layer by reacting the primer with a second reactive group of the functionalized polymer coating layer; and forming a water-soluble protective coating on the primer and the functionalized polymer coating layer. Examples of flow cells incorporating examples of the water-soluble protective coating are also disclosed herein.

指定代表圖：

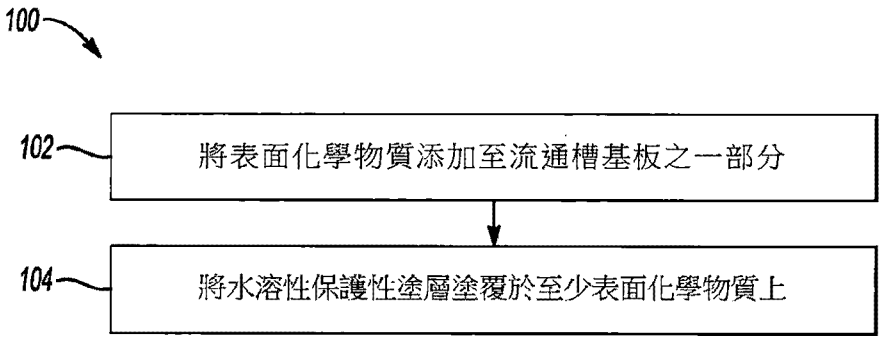


圖1

符號簡單說明：

100・・・方法

102・・・將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分

104・・・將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上

公告本

I878208

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於流通槽的保護性表面塗層

【英文發明名稱】 PROTECTIVE SURFACE COATINGS FOR FLOW CELLS

【中文】

本發明揭示一種方法之實施例，其包括提供基板，該基板具有包含第一化學基團之暴露表面，其中該提供視情況包含改質該基板之暴露表面以併入該第一化學基團；使該第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應以形成共價鍵結該基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；藉由使引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使該引子接枝於該官能化聚合物塗層；及在該引子及該官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。本文亦揭示併入有水溶性保護性塗層之實施例的流通槽之實施例。

【英文】

An example of a method includes providing a substrate with an exposed surface comprising a first chemical group, wherein the providing optionally comprises modifying the exposed surface of the substrate to incorporate the first chemical group; reacting the first chemical group with a first reactive group of a functionalized polymer molecule to form a functionalized polymer coating layer covalently bound to the exposed surface of the substrate; grafting a primer to the functionalized polymer coating layer by reacting the primer with a second reactive group of the functionalized polymer coating layer; and forming a water-soluble protective coating on the primer and the functionalized polymer coating layer. Examples of flow cells incorporating examples of the water-soluble protective coating are also disclosed herein.

【指定代表圖】　　圖1

【代表圖之符號簡單說明】

100　方法

102　將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分

104　將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上

【特徵化學式】

無

107年08月16日修正替換頁

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於流通槽的保護性表面塗層

【英文發明名稱】 PROTECTIVE SURFACE COATINGS FOR FLOW CELLS

相關申請案之交叉參考

【0001】 本申請案主張2017年5月11日申請之美國臨時申請案第62/504,977號之優先權，其以全文引用的方式併入本文中。

【技術領域】

【0002】 本發明係關於用於流通槽的保護性表面塗層。

【先前技術】

【0003】 生物陣列包括於用於偵測及分析分子，包括去氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid；DNA）及核糖核酸（ribonucleic acid；RNA）之各種工具中。在此等申請案中，該等陣列經工程改造而包括用於人類及其他生物體中之基因中所存在的核苷酸序列的探針。在某些應用中，舉例而言，個別DNA及RNA探針可附著於陣列載體上之幾何柵格中（或任意）的較小位置處。可使例如來自已知個人或生物體之測試樣品暴露於該柵格，以使得互補片段與探針在陣列中之個別位點雜交。接著可藉由在該等位點上掃描特定頻率之光以鑑別何種片段存在於樣品中，藉由片段雜交所處之位點的螢光來檢查陣列。

【0004】 生物陣列可用於基因定序。一般而言，基因定序涉及測定一定長度之遺傳物質中的核苷酸或核酸，諸如DNA或RNA之片段的序列。分析不斷增長之鹼基序列，且所得序列資訊可用於多種生物資訊方法中以在邏輯上將片

段裝配在一起以便可靠地測定出衍生出該等片段的遺傳物質之具有廣泛長度之序列。已研發出自動化的基於計算機之特徵性片段之檢查，且已用於基因組繪圖、基因及其功能之鑑別、一些病狀及疾病病況之風險評估等。除此等應用以外，生物陣列可用於偵測及評估各種分子、分子家族、基因表現量、單核苷酸多形現象及基因分型。

【發明內容】

【0005】 在一個態樣中，流通槽包含：基板；結合至基板之結合區之蓋板，其中蓋板及基板至少部分界定流動通道；及位於基板上及流動通道中之表面化學物質。水溶性保護性塗層覆蓋基板上之表面化學物質。

【0006】 在一個態樣中，流通槽包含：包含暴露表面之基板；經由暴露表面上之化學基團共價鍵結基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；接枝於官能化聚合物塗層之引子；及引子及官能化聚合物塗層上之水溶性保護性塗層。在一些實施例中，流通槽進一步包含結合至基板之結合區之蓋板，其中蓋板及基板至少部分界定流動通道。

【0007】 在本文所述之流通槽之一些態樣中，由於暴露表面上之化學基團與官能化聚合物塗層之第一反應性基團之反應，官能化聚合物塗層共價鍵結暴露表面。在一些實施例中，由於引子與官能化聚合物塗層之第二反應性基團之反應，引子接枝於官能化聚合物塗層。

【0008】 本文所揭示之流通槽之實施例包括圖案化之基板。圖案化之基板包括藉由間隙區域分隔開之凹陷及位於凹陷中之表面化學物質。在一些實施例中，蓋板結合至圖案化之基板之結合區域，其中蓋板至少部分界定與凹陷選擇性連通之流動通道。水溶性保護性塗層覆蓋凹陷中之表面化學物質。在一些實施例中，使暴露表面上之化學基團連接於凹陷中之基板。

【0009】 本文所揭示之流通槽之另一實施例包括非圖案化之基板。在一些實施例中，蓋板結合至非圖案化之基板之結合區域，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定包括暴露表面之流動通道。表面化學物質位於非圖案化之基板上及流動通道中。水溶性保護性塗層覆蓋表面化學物質。在一些實施例中，暴露表面上之化學基團連接於非圖案化之基板。

【0010】 在另一態樣中，使用如本文所述之流通槽之方法包含：將流通槽插入至定序儀器中；及藉由使水溶性保護性塗層暴露於水（視情況呈水性緩衝劑形式）來移除水溶性保護性塗層。在一些態樣中，移除藉由執行流通製程以移除水溶性保護性塗層來實現。移除水溶性保護性塗層展現引子，其接著可用以與包含與引子之至少一部分互補之序列的目標寡核苷酸雜交。

【0011】 在本文所揭示之方法之一實施例中，將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分，且將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上。

【0012】 在另一態樣中，方法包含：提供基板，該基板具有包含第一化學基團之暴露表面，其中該提供視情況包含改質該基板之暴露表面以併入該第一化學基團；使該第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應以形成共價鍵結該基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；藉由使引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使該引子接枝於該官能化聚合物塗層；及在該引子及該官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。

【圖式簡單說明】

【0013】 參考以下實施方式及圖式，本發明之實施例之特徵將變得顯而易見，在以下實施方式及圖式中，類似的元件符號對應於類似但或許不相同的組件。出於簡潔起見，具有先前所描述功能之元件符號或特徵可以或不可結合出現該等元件符號或特徵之其他圖式來描述。

【0014】 圖1為說明本文所揭示之方法之實施例的流程圖；

【0015】 圖2為說明圖1中所示方法之更詳細實施例的流程圖；

【0016】 圖3為由圖2中所示之方法形成之實施例流通槽之橫截面視圖；

【0017】 圖4為說明本文所揭示之方法之另一實施例的流程圖；

【0018】 圖5A至圖5H為一起說明圖4中所示方法之實施例的橫截面視圖；

【0019】 圖5A至圖5D及圖5I至圖5L為一起說明圖4中所示方法之另一實施例的橫截面視圖；

【0020】 圖6A至圖6E為一起說明本文所揭示之方法之另一實施例的橫截面視圖；

【0021】 圖7為描繪其上有不同保護性塗層實施例之流通槽在30℃下儲存7天後之髮夾-TET（HP-TET）保持率之條形圖；

【0022】 圖8為描繪其上具有保護性塗層之實施例的流通槽及未經塗佈之對照之HP-TET保持力之繪圖；

【0023】 圖9為封裝於不同濕度條件中之具有實施例流動通路及比較流動通路之流通槽在第一或初始定序循環後之螢光強度之繪圖；

【0024】 圖10為暴露於溫度斜坡分佈持續2天至19天範圍內之不同時段之具有實施例流動通路及比較流動通路之流通槽在第一定序循環後之螢光強度之繪圖；

【0025】 圖11A為實施例流通槽及在60℃下老化6天之比較流通槽在第一初始定序循環（C1）後之讀取1（R1）螢光強度之繪圖；

【0026】 圖11B包括實施例流通槽及在室溫下老化7天之比較流通槽之通過過濾器（頂部)之團簇之百分比之繪圖及在第一定序循環（C1）之後讀取1（R1）螢光強度之繪圖；

【0027】 圖12A為在不同溫度下培育一小時之實施例流通槽之中值強度之繪圖；

【0028】 圖12B為在不同溫度下培育一小時之比較流通槽之中值強度之繪圖；

【0029】 圖13為在不同溫度下儲存不同時段之具有實施例流動通路及比較流動通路之流通槽在第一定序循環後之讀取1（R1）螢光強度之繪圖；

【0030】 圖14為描繪以mm計之跨越圖案化之晶圓上之保護性塗層之距離（x軸）相對於以μm計之塗層厚度之距離（y軸）之圖表(亦即塗層厚度（μm）隨跨越晶圓表面之距離（mm）而變）；

【0031】 圖15為在室溫下儲存28天、35天及71天後之實施例流通槽及比較流通槽在表面引子可接近性測試（CFR分析）後之螢光強度之繪圖；

【0032】 圖16為在30℃下乾式儲存0週、2週及6週後之實施例流通槽、在30℃下乾式儲存2週及6週後之比較流通槽及在4℃下濕式儲存6週後之實施例流通槽在第一定序循環後之螢光強度之繪圖；

【0033】 圖17為描繪不同儲存條件下儲存11天後之卡爾氟紅（Cal Fluor Red，CFR）保持力分析之結果的繪圖，CFR保持力意謂第0天之CFR信號相對於儲存後之CFR信號；

【0034】 圖18為描繪實施例流通槽及比較實施例流通槽在0時（T0）及第1天及第2天之CFR保持力（%，第X天之CFR信號/第0天之信號之比率））之條形圖；

【0035】 圖19為例如與乾燥對照相比流通槽部分之強度增加百分比相對於各別實施例流通槽部分之保護性塗層之厚度之繪圖；

【0036】 圖20為包括實施例通路及比較實施例通路之流通槽在第一定序循環（C1）後之兩次讀取之螢光強度之繪圖；

【0037】 圖21為CFR（相對信號）相對於與引子接枝同時形成之保護性塗層之百分比的圖表；及

【0038】 圖22為實施例保護性塗層及若干比較實施例保護性塗層之強度（以任意螢光單元，AFU計）相對於濃度之圖表。

【實施方式】

【0039】 流通槽之第一態樣包含圖案化之基板，包括藉由間隙區域分隔開之凹陷及位於凹陷中之表面化學物質（例如官能化聚合物塗層及接枝於其上之引子）；結合至圖案化之基板之結合區之蓋板，其中蓋板至少部分界定與凹陷選擇性連通之流動通道；及覆蓋凹陷中之表面化學物質及圖案化之基板之至少一部分之水溶性保護性塗層。

【0040】 在一個態樣中，流通槽包含：包含暴露表面之基板；共價鍵結基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；接枝於官能化聚合物塗層之引子；及引子及官能化聚合物塗層上之水溶性保護性塗層。在一些實施例中，流通槽進一步包含結合至基板之結合區之蓋板，其中蓋板及基板至少部分界定流動通道。

【0041】 在一些實施例中，由於暴露表面上之化學基團與官能化聚合物塗層之第一反應性基團之反應，官能化聚合物塗層共價鍵結暴露表面。在一些實施例中，由於引子與官能化聚合物塗層之第二反應性基團之反應，引子接枝於官能化聚合物塗層。在一些實施例中，引子包含用於與第二反應性基團反應之炔基。在一些實施例中，連接於暴露表面之化學基團為烯基、環烯基或降冰片烯基。在一些實施例中，化學基團為連接子之一部分，諸如矽烷或矽烷衍生物，其連接於基板之暴露表面。

【0042】 在一些實施例中，基板為圖案化之基板。圖案化之基板包括藉由間隙區域分隔開之凹陷。在一些實施例中，蓋板結合至圖案化之基板之結合

區域，其中蓋板至少部分界定與凹陷選擇性連通之流動通道。在一些實施例中，水溶性保護性塗層覆蓋凹陷中之官能化聚合物塗層及引子。在一些實施例中，暴露表面上之化學基團視情況經由連接子連接於凹陷中之基板。

【0043】 在其他實施例中，流通槽基板為非圖案化之基板。在一些實施例中，蓋板結合至非圖案化之基板之結合區域，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定包括暴露表面之流動通道。官能化聚合物塗層及引子位於非圖案化之基板上及流動通道中。水溶性保護性塗層覆蓋官能化聚合物塗層及引子。在一些實施例中，暴露表面上之化學基團視情況經由連接子連接於基板。因此，在一些態樣中，流通槽包含非圖案化之基板；結合至非圖案化之基板之結合區之蓋板，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定流動通道；位於非圖案化之基板上及流動通道中之表面化學物質（例如官能化聚合物塗層及接枝於其上之引子）；及水溶性保護性塗層覆蓋物表面化學物質。

【0044】 在第一態樣中，方法包含將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分，及將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上。在該方法之此第一態樣之一實施例中，添加表面化學物質涉及形成官能化聚合物塗層，及將引子接枝於官能化聚合物塗層；及在引子接枝之後塗覆水溶性保護性塗層。此外，在此第一態樣之此實施例中，在水溶性保護性塗層形成之後，將水溶性保護性塗層圖案化以界定流通槽基板之結合區；且該方法進一步包含使蓋板結合至界定之流通槽基板之結合區以形成流動通道。

【0045】 在該方法之此第一態樣之另一實施例中，添加表面化學物質涉及形成官能化聚合物塗層，且在官能化聚合物塗層形成之後塗覆水溶性保護性塗層。此外，在此第一態樣之此實施例中，水溶性保護性塗層選自由以下組成之群：聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、聚丙烯醯胺及聚乙二醇。此外，在此第一態樣之此實施例中，在水溶性保護性塗層形成之後，將水溶性保護性

塗層圖案化以界定流通槽基板之結合區；且該方法進一步包含使蓋板結合至界定之流通槽基板之結合區以形成流動通道。在結合之後，該方法進一步包含移除水溶性保護性塗層，從而使官能化聚合物塗層及基板之另一部分暴露；將引子接枝於官能化聚合物塗層；及在引子、官能化聚合物塗層及流通槽基板之其他部分上形成第二水溶性保護性塗層。在此態樣之一實施例中，移除水溶性保護性塗層涉及溶解製程。此外，在此態樣中，第二水溶性保護性塗層選自由以下組成之群：非陽離子型合成聚合物；天然多醣或其衍生物；天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇、丙三醇及環糊精；及其組合。

【0046】 在一個態樣中，為一種方法，其中在基板之暴露表面上形成官能化聚合物塗層。將引子接枝於官能化聚合物塗層。在官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。在一些實施例中，暴露表面包含連接其之連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）。在一些態樣中，該方法包含使連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）連接至暴露表面。在一些態樣中，基板為非圖案化基板。在其他態樣中，基板為圖案化基板，且連接提供衍生化（例如矽烷化）凹陷及衍生化（例如矽烷化）間隙區域。

【0047】 在一個態樣中，方法包含：改質基板之暴露表面以併入第一化學基團；使第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應以形成共價鍵結基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；藉由使引子與官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使引子接枝於官能化聚合物塗層；及在引子及官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。

【0048】 在本文所揭示之方法之另一實施例中，暴露表面之改質包含使連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）連接至基板之暴露表面。在一些實施例中，連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）包含第一化學基團。在一些實施例中，連接

子為矽烷或矽烷衍生物。在一些實施例中，暴露表面之改質包含電漿灰化。在一些實施例中，改質包含電漿灰化以形成電漿灰化之表面及使連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）與其連接。

【0049】 在一些實施例中，基板為非圖案化之基板。在一些實施例中，第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應形成經由連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）共價鍵結基板之暴露表面的官能化聚合物塗層。在一些實施例中，在暴露表面改質之後，該方法進一步包含使蓋板結合至非圖案化之基板之結合區，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定包括一些暴露表面之流動通道。

【0050】 在其他實施例中，基板為非圖案化之基板。在一些實施例中，暴露表面之改質包含電漿灰化，且在暴露表面改質之後，該方法進一步包含使蓋板結合至非圖案化之基板之結合區，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定包括一些暴露表面之流動通道。

【0051】 在一些實施例中，基板為圖案化之基板（包含藉由間隙區域分隔開之凹陷）。在一些實施例中，在凹陷中形成官能化聚合物塗層以形成官能化凹陷，且在官能化凹陷上形成水溶性保護性塗層。在一些態樣中，化學基團連接於凹陷中之基板，且流動通道與凹陷選擇性連通。在一些實施例中，水溶性保護性塗層處於凹陷中及間隙區域之至少一部分上。

【0052】 在一些實施例中，圖案化之基板包含連接於暴露表面之連接子（例如矽烷或矽烷衍生物）。在一些實施例中，連接子連接於凹陷中之暴露表面，且在一些實施例中，連接子連接於凹陷及間隙區域中之暴露表面，以形成衍生化（例如矽烷化）凹陷及衍生化（例如矽烷化）間隙區域。在一些實施例中，暴露表面之改質涉及使包含第一化學基團之連接子（例如矽烷或矽烷衍生物)連接至暴露表面，以形成衍生化（例如矽烷化)凹陷及視情況存在之衍生化

（例如矽烷化）間隙區域。在一些實施例中，反應在衍生化（例如矽烷化）凹陷及間隙區域中形成官能化聚合物塗層。在一些實施例中，在引子接枝之前，該方法進一步包含自衍生化（例如矽烷化）間隙區域移除官能化聚合物塗層。在一些實施例中，移除藉由自間隙區域磨光官能化聚合物塗層來實現。將引子接枝於衍生化（例如矽烷化）凹陷中之官能化聚合物塗層，以形成官能化凹陷。在一些此等實施例中，接枝使引子連接於衍生化（例如矽烷化）凹陷中之官能化聚合物塗層，從而形成官能化凹陷。在官能化凹陷及間隙區域之至少一部分上形成水溶性保護性塗層。在一些實施例中，形成在官能化凹陷及至少一些間隙區域上產生水溶性保護性塗層。在一些實施例中，在官能化聚合物塗層移除之後，該方法進一步包含使蓋板結合至圖案化之基板之結合區，其中蓋板及非圖案化之基板至少部分界定包括其上具有官能化聚合物塗層之矽烷化凹陷之流動通道。

【0053】 因此，在一些實施例中，該方法包含使矽烷或矽烷衍生物連接於包括藉由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板之表面，從而形成矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域；在矽烷化凹陷中及矽烷化間隙區域上形成官能化聚合物塗層；自矽烷化間隙區域磨光官能化聚合物塗層；使引子接枝於矽烷化凹陷中之官能化聚合物塗層，以形成官能化凹陷；及在官能化凹陷及間隙區域之至少一部分上形成水溶性保護性塗層。

【0054】 在該方法之一些態樣中，在接枝引子之後形成水溶性保護性塗層；將水溶性保護性塗層圖案化，以使得圖案化之基板之結合區在水溶性保護性塗層形成之後仍保持暴露；且該方法進一步包含使蓋板結合至圖案化之基板之結合區，以形成與至少一些官能化凹陷選擇性流體連通之流動通道。

【0055】 在該方法之其他態樣中，在自圖案化之基板之間隙區域移除（例如藉由磨光）官能化聚合物塗層之後及在i）引子接枝及ii）水溶性保護性

塗層形成之前，該方法進一步包含：將官能化聚合物塗層上之初始水溶性保護性塗層圖案化，以使得圖案化之基板之結合區仍保持暴露；使蓋板結合至圖案化之基板之結合區以形成與至少一些凹陷選擇性流體連通之流動通道；及移除初始水溶性保護性塗層。

【0056】 在一些實施例中，暴露表面之改質、第一化學基團與第一反應性基團之反應、引子之接枝及/或水溶性保護性塗層之形成涉及各別流通製程。在一些實施例中，引子之接枝及水溶性保護性塗層之形成涉及各別流通製程。在一些實施例中，塗覆水溶性保護性塗層涉及流通沈積、浸塗、旋塗、噴塗、超音波噴塗、刮刀塗佈、氣霧劑列印或噴墨列印。

【0057】 在一些實施例中，該方法進一步包含使蓋板結合至流通槽基板之結合區以形成流動通道，且接著添加表面化學物質（例如官能化聚合物塗層及引子）及塗覆水溶性保護性塗層。

【0058】 在一些實施例中，在引子接枝之後，該方法進一步包含至少部分移除水溶性保護性塗層，及執行基於染料之分析以偵測引子之任何降解（例如耗損或功能缺失）。

【0059】 在一些實施例中，在官能化聚合物塗層形成之後及在引子接枝及水溶性保護性塗層形成之前，該方法進一步包含：將官能化聚合物塗層上之初始水溶性保護性塗層圖案化，以使得基板之結合區仍保持暴露；使蓋板結合至基板之結合區，以形成與初始水溶性保護性塗層選擇性流體連通之流動通道；及移除初始水溶性保護性塗層。在一些實施例中，初始水溶性保護塗層藉由噴塗或流通製程塗覆。在一些實施例中，初始水溶性保護性塗層及水溶性保護性塗層由相同材料形成，且在其他實施例中，其由不同材料形成。

【0060】 在一些實施例中，水溶性保護性塗層之形成涉及將水溶性材料之水溶液塗覆於基板之暴露表面。在一些實施例中，水溶性材料之水溶液接著

在暴露表面上乾燥（例如藉由升溫、加熱、蒸發、真空暴露或其類似方式）。在一些實施例中，水溶液包括多達約15%、或約1至15%、或約1至10%、或約1至5%、或約2至5%、或約4至8%、或約5至7.5%、或約5%、或約7.5%（質量/體積）之水溶性材料。在一些實施例中，水溶液包含約5至約7.5%、或約5%、或約7.5%（質量/體積）之水溶性材料。在一些實施例中，水溶液中水溶性材料之百分比基於引子之引子密度來調整。在一些實施例中，水溶液亦包含共溶劑，諸如乙醇。在一些實施例中，水溶液為於10%乙醇水溶液中之約5至約7.5%、或約5%、或約7.5%之水溶性材料。

【0061】 在本文所述之方法及流通槽之一些實施例中，水溶性保護性塗層包含水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；或選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇、丙三醇及環糊精；或其組合。在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含水溶性非陽離子型合成聚合物。在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含：

(a) 非陽離子型合成聚合物，視情況包含聚丙烯醯胺、聚(丙烯酸)或聚丙烯酸酯（例如聚丙烯酸鈉）、聚(甲基丙烯酸)、聚(乙烯基吡咯啶酮)、聚(乙烯醇)、聚(甲基丙烯醯胺)、聚(N-烷基丙烯醯胺)、聚(N-二烷基丙烯醯胺)、聚(N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺)、聚(二乙烯醚-順丁烯二酸酐)、聚(磷酸酯)、聚(2-烷基-2-噁唑啉)、聚(甲基丙烯酸羥基乙酯)、聚(丙烯酸2-羥基乙酯)、聚乙二醇、聚(磺基甜菜鹼甲基丙烯酸酯)、聚醚（例如聚乙烯醚、聚乙二醇、聚(環氧乙烷)、及其類似物)、聚(乙烯基醚-順丁烯二酸)、羥基官能性聚合物（例如PEG或PVA）、非天然多肽（例如聚(麩胺酸)或其鹽)、或聚矽氧、或其組合；包括例如無規、嵌段及接枝共聚物及分支類似物；或

(b) 天然多醣或其衍生物，視情況選自由以下組成之群：澱粉、羧甲基纖

維素、黃原膠、果膠、葡聚糖、角叉菜膠、瓜爾膠、纖維素、羥丙基甲基纖維素（hydroxypropylmethyl cellulose，HPMC）、羥丙基纖維素（hydroxypropyl cellulose，HPC）、羥乙基纖維素（hydroxyethyl cellulose，HEC）、甲基纖維素、羧甲基羥乙基纖維素（carboxymethylhydroxyethyl cellulose，CMHEC）、玻尿酸、磷酸澱粉、羥丙基澱粉、羥乙基澱粉、瓊脂糖、瓊脂及海藻酸鹽及其組合；或

(c) 天然蛋白質或其衍生物，視情況選自酪蛋白及白蛋白；或

(d) 水溶性鹽，視情況選自由以下組成之群：氯離子、溴離子、硫酸根、磷酸根、碳酸根、乙酸根及檸檬酸根之鈉或鉀鹽，諸如氯化鈉、溴化鈉、硫酸鈉、磷酸鈉、碳酸鈉、乙酸鈉、檸檬酸鈉、氯化鉀、溴化鉀、硫酸鉀、磷酸鉀、碳酸鉀、乙酸鉀、檸檬酸鉀或生理食鹽水檸檬酸鈉（saline sodium citrate）或其組合；或

(e) 緩衝劑（例如弱酸及其共軛鹼之水溶液），其中弱酸或共軛鹼為視情況選用之生理食鹽水檸檬酸鈉、視情況具有EDTA之參(羥基甲基)胺基甲烷（例如Tris或Tris Base）、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸（4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid，HEPES），3-[[1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-基]胺基]-2-羥基丙烷-1-磺酸（3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]-2-hydroxypropane-1-sulfonic acid，TAPSO）、N-(2-羥基-1,1-雙(羥基甲基)乙基)甘胺酸（麥黃酮）、3-(N-(N-嗎啉基))丙磺酸（3-(N-morpholino)propanesulfonic acid，MOPS）或3-(N,N-雙([2-羥乙基]胺基)-2-羥基丙磺酸（3-(N,N-bis([2-hydroxyethyl]amino)-2-hydroxypropanesulfonic acid，DIPSO）；或

(f) 水溶性界面活性劑，其視情況為陰離子或非離子型界面活性劑，或視情況為十二烷基硫酸鈉、烷基乙氧基化物、乙氧基化油、脂肪或磺基丁二酸鹽；或

(g) 糖（例如蔗糖）、抗氧化劑、乙二醇、丙三醇或環糊精；或

(h) 螯合劑，其視情況為乙二胺四乙酸鈉鹽、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、（參(2-羧基乙基)膦）或岩基啡啉二磺酸二鈉鹽；或

(i) 其組合。

【0062】 適合的非陽離子型合成聚合物之實例為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物（其中之一個實例包括KOLLICOAT® IR，獲自巴斯夫公司（BASF Corp.））。適合的羥基官能性聚合物之一實例可以商標KOLLICOAT® IR購自巴斯夫公司。包括酸基之水溶性非陽離子型合成聚合物中之任一者可以鹼金屬鹽形式使用。

【0063】 在一些本文所揭示之實施例中，當在引子接枝之後塗覆時，保護性塗層可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物（例如KOLLICOAT® IR，兩者獲自巴斯夫公司)、蔗糖、葡聚糖（例如分子量為200,000 Da）、聚丙烯醯胺（例如分子量為40,000 Da、200,000 Da等）、聚乙二醇、乙二胺四乙酸鈉鹽(亦即EDTA）、具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉。在一些其他本文所揭示之實施例中，當在官能化聚合物塗層形成之後或期間塗覆時，保護性塗層可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、聚丙烯醯胺或聚乙二醇。對於至少蔗糖及聚丙烯醯胺，應瞭解官能化聚合物塗層應在塗覆此等材料之保護性塗層之前固化。

【0064】 在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含非陽離子型合成聚合物；天然多醣或其衍生物；天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇、丙三醇或環糊精；或其組合。在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、乙二醇、

參(羥基甲基)胺基甲烷或其鹽、乙二胺四乙酸或其鹽、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺或其鹽、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉或其混合物。在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖或其混合物。在一些實施例中，水溶性保護性塗層包含聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物。在一些實施例中，接枝共聚物包含約75%之聚乙烯醇及約25%之聚乙二醇。

【0065】 在本文所述之方法或流通槽之一些實施例中，官能化聚合物塗層包含聚(N-(5-疊氮基乙醯胺基戊基)丙烯醯胺-共-丙烯醯胺（PAZAM）。

【0066】 在本文所述之方法或流通槽之一些實施例中，水溶性保護性塗層以與官能化聚合物塗層之混合物形式存在於（或塗覆至）流通槽上。在此等實施例中，流通槽包含：包含暴露表面之基板；共價鍵結基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；接枝於官能化聚合物塗層之引子；及與官能化聚合物塗層混合之水溶性保護性塗層。相關方法包含：改質基板之暴露表面以併入第一化學基團；使第一化學基團與水溶性保護性塗層及包含第一反應性基團之官能化聚合物分子之混合物反應，以形成共價鍵結基板之暴露表面且與水溶性保護性塗層混合之官能化聚合物塗層；及藉由使引子與官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使引子接枝於官能化聚合物塗層。在此等實施例中，接著同時塗覆官能化聚合物塗層及水溶性保護層。在此等實施例中，官能化聚合物塗層在塗覆官能化聚合物分子及水溶性保護塗層之混合物之後固化。在一些實施例中，相對於官能化聚合物分子，混合物為5重量%至約95重量%之水溶性塗層，或約10重量%至約80重量%、或約25重量%至約75重量%、或約25重量%、50重量%或75重量%。在固化步驟期間水溶性保護塗層可保護表面。在一些實施例中，塗覆包含水溶性塗層前驅體及官能性聚合物分子之混合物。在一些實施例中，混合物進一步包含溶劑，諸如乙醇。在一些實施例中，水溶性塗層前驅體為

KOLLICOAT® IR，且官能化聚合物分子為PAZAM。在一個實施例中，在官能化聚合物塗層步驟期間塗覆5% w/v KOLLICOAT® IR、0.25% w/v PAZAM及5%乙醇於水中之混合物會改良CFR強度及讀取1第1循環之強度，且相對於對照（於水中之0.25% w/v PAZAM及5%乙醇），維持負載濃度為0.8、1.1、1.5及5 μM之所得接枝引子通過過濾器之百分比。在一些實施例中，混合物為5% w/v水溶性塗層前驅體（例如 IR）、0.25% w/v官能性聚合物分子（例如PAZAM）及5%乙醇。在此等實施例中，在引子接枝步驟期間，水溶性塗層可保留於適當位置。對於圖案化之基板，水溶性塗層可在後續磨光步驟期間（其採用水溶液條件）或在接枝（在固化期間官能化聚合物塗層脫水）前之流通槽復水期間移除。

【0067】 在本文所述之方法或流通槽之一些實施例中，併入基板之暴露表面上之化學基團為視情況經取代之烯基、視情況經取代之烯基、視情況經取代之環烯基、視情況經取代之降冰片烯基、視情況經取代之環辛炔基、視情況經取代之雙環壬炔基、視情況經取代之炔基、疊氮基、視情況經取代之四嗪基、腙基、視情況經取代之四唑基、甲醯基或羥基。在一些實施例中，化學基團為降冰片烯基或經取代之降冰片烯基。在一些實施例中，化學基團經由連接子共價連接至基板之暴露表面。連接子可包含例如伸烷基、乙二醇、丙二醇、乙醯基、羰基、乙醯胺基、醯胺基、矽烷、矽、矽烷基醚或其他分隔子單元或其組合。在一些實施例中，連接子包含矽烷或矽烷衍生物，且在本文中稱為矽烷連接子。在一些實施例中，矽烷連接子包含-$Si(X)_2$-C_{2-6}烷基-，其中各X為-OH、-O-烷基或-O-SiR_3衍生物（例如矽氧烷）。在一些實施例中，連接子為-$Si(OR)_2$-CH_2-。在一些實施例中，連接子包含矽烷基醚及伸烷基。

【0068】 在本文所述之流通槽或方法之一些實施例中，第一及第二反應性基團獨立地為視情況經取代之烯基、視情況經取代之環烯基、視情況經取代

之降冰片烯基、視情況經取代之環辛炔基、視情況經取代之雙環壬炔基、視情況經取代之炔基、疊氮基、視情況經取代之四嗪基、腙基、視情況經取代之四唑基、甲醯基或羥基。在一些實施例中，第一及第二反應性基團相同。在一些實施例中，第一與第二反應性基團均為疊氮基。

【0069】 在本文所述之流通槽或方法之一些實施例中，引子在一個末端經用於與第二反應性基團反應之部分改質。舉例而言，引子包含用於與第二反應性基團反應之炔基。

【0070】 在本文所述之流通槽或方法之一些實施例中，引子為包括兩群官能性引子之複數個引子。在一些實施例中，引子為一群官能性引子（其可包括兩個亞群之官能性引子，例如引子A及引子B）及一群非官能性引子。在一些態樣中，引子包含引子序列。在使用兩個亞群之官能性引子之情況下，其包括不同引子序列。目標寡核苷酸與引子雜交（經由與引子序列互補之序列），且引子在聚合酶存在下延伸以形成鍵結基板之目標寡核苷酸之互補複本。

【0071】 應瞭解，本文所述之流通槽及流通槽製造方法之任何特徵可以任何需要方式及/或組態組合於一起。此外，應瞭解，來自任一方法及/或來自流通槽之特徵之任何組合可一起使用，及/或來自任何或所有此等態樣之任何特徵可與本文所揭示之實施例之特徵中之任一者組合。

【0072】 本文所揭示之方法之實施例涉及在流通槽製造工作流程期間塗覆保護性塗層。保護性塗層可直接塗覆於沈積於基板上之化學及/或生物學活性表面化學物質（例如官能化聚合物塗層、引子）上。在後續處理技術（例如裝配技術，諸如蓋板結合、晶圓切割等）期間及/或在流通槽運送期間及/或在流通槽之短及/或長期儲存期間，保護性塗層可保護表面化學物質。在一實施例中，儲存時段可為長達120天或更長。在另一實施例中，儲存時段可在約1天至約75天範圍內。在另一實施例中，儲存時段可在約1天至約2年範圍內，或可為

約12個月、18個月或24個月。儘管已提供實施例，但應瞭解儲存時段可在已塗覆保護性塗層之後直至需要使用流通槽之任何時間之範圍內。舉例而言，保護性塗層可保護表面化學物質以避免化學或物理降解，例如在蓋板結合或其他裝配製程期間可以其他方式接觸表面化學物質之碎屑及/或污染物。作為另一實施例，保護性塗層可保護表面化學物質以避免在運送期間可產生之刮痕或其他處理相關缺陷。作為另一實施例，保護性塗層可保護表面化學物質以避免製造、運送及/或短及/或長期儲存（例如在約4℃至約80℃範圍內之溫度下，或在一些情況下，在低溫，降至約-25℃下）期間之環境因素（例如溫度、濕度等）。保護性塗層有助於維持表面化學物質之固有穩定性，且因此改良流通槽之儲存壽命、溫度耐受性、耐久性及環境儲存能力。表面化學物質之穩定化為有效製程，且表面化學物質接著隨時間推移保持穩定。

【0073】 本文所揭示之方法可完全在晶圓級、完全在晶粒級、部分在晶圓級及/或部分在晶粒級執行。作為部分在晶圓級及晶粒級執行之方法之實施例，該方法可使用晶圓起始，接著將其切割以形成若干晶粒，且可使用晶粒中之各者繼續該方法。至少在一些實施例中，進行開放晶圓處理（例如在蓋板結合之前進行之化學或物理步驟）之能力使得多種計量/分析技術能夠用於品質控制及特性化。在結合以形成流通槽之前，圖案化及表面改質之晶圓/基板可暴露於例如原子力顯微法（atomic force microscopy；AFM）、掃描電子顯微術（scanning electron microscopy；SEM）、橢率測量術、測角法、散射術及/或螢光技術。或者，結合之流通槽可暴露於此等技術。在晶粒級下，可對開口晶粒或對裝配之流通槽（具有封閉流動通道）進行該方法。

【0074】 應理解，除非另外規定，否則本文所用之術語將採用其在相關領域中之普通含義。本文所用之若干術語及其含義闡述於下文中。

【0075】 除非上下文另有明確規定，否則單數形式「一（a/an）」及

「該（the）」包括複數個指示物。

【0076】 術語包含（comprising）、包括（including）、含有（containing）及此等術語之各種形式彼此為同義的且意謂同等廣義。

【0077】 術語頂部、底部、下部、上部、之上等在本文中用以描述流通槽及/或流通槽之各個組件。應理解，此等方向性術語不意欲暗示特定取向，但用於指示組件之間的相對取向。方向性術語之使用不應解釋為將本文所揭示之實施例限制於任何特定取向。

【0078】 如本文所用，「烷基（alkyl）」係指完全飽和（亦即不含雙鍵或參鍵）之直鏈或分支鏈烴鏈。烷基可具有1至20個碳原子。實例烷基包括甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、異丁基、第三丁基、戊基、己基及其類似基團。舉例而言，名稱「C1-4烷基」指示在烷基鏈中一至四個碳原子，亦即烷基鏈選自由以下組成之群：甲基、乙基、丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第二丁基及第三丁基。

【0079】 如本文所用，「烯基」係指含有一或多個雙鍵之直鏈或分支鏈烴鏈。烯基可具有2至20個碳原子。實例烯基包括乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基及其類似基團。烯基可命名為例如「C2-4烯基」，其指示烯基鏈中存在兩至四個碳原子。

【0080】 如本文所用，「炔基（alkynyl）」係指含有一或多個參鍵之直鏈或分支鏈烴鏈。炔基可具有2至20個碳原子。炔基可命名為例如「C2-4炔基」，其指示在炔基鏈中存在兩至四個碳原子。

【0081】 「胺基（amino）」官能基係指-NR_aR_b基團，其中R_a及R_b各自獨立地選自氫、C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基、C3-7碳環基、C6-10芳基、5至10員雜芳基及5至10員雜環基，如本文所定義。

【0082】 如本文所用，「芳基（aryl）」係指在環主鏈中僅含有碳之芳族

環或環系統（亦即共用兩個相鄰碳原子之兩個或更多個稠合環）。當芳基為環系統時，該系統中之各環為芳族環。芳基可具有6至18個碳原子，其可表示為C6-18。芳基之實例包括苯基、萘基、蒽基及蔥基。

【0083】 如本文所用，術語「連接（attached）」係指兩個事物彼此接合、緊固、黏著、相連或結合之狀態。舉例而言，核酸可藉由共價或非共價鍵連接至官能化聚合物塗層。共價鍵之特徵在於原子之間電子對共用。非共價鍵為不涉及電子對共用之物理鍵，且可包括例如氫鍵、離子鍵、范德華力（van der Waals force）、親水相互作用及疏水相互作用。

【0084】 「疊氮（azide）」或「疊氮基（azido）」官能基係指-N_3。

【0085】 如本文所用，「碳環基（carbocyclyl）」意謂環系統主鏈中僅含有碳原子的非芳族環或環系統。當碳環基為環系統時，兩個或更多個環可以稠合、橋連或螺連接方式接合在一起。碳環基可具有任何飽和度，其限制條件為環系統中之至少一個環不為芳族環。因此，碳環基包括環烷基、環烯基及環炔基。碳環基可具有3至20個碳原子（亦即C3-20）。碳環基環之實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環己烯基、2,3-二氫-茚、雙環[2.2.2]辛基、金剛烷基及螺[4.4]壬基。

【0086】 如本文所用，術語「羧酸（carboxylic acid）」或「羧基（carboxyl）」如本文所用係指-C(O)OH。

【0087】 如本文所用，「環烷基（cycloalkyl）」意謂完全飽和碳環基環或環系統。實例包括環丙基、環丁基、環戊基及環己基。

【0088】 如本文所用，「伸環烷基（cycloalkylene）」意謂經由兩個連接點連接於分子之其餘部分的完全飽和碳環基環或環系統。

【0089】 如本文所用，「環烯基（cycloalkenyl）」或「環烷（cycloalkane）」意謂具有至少一個雙鍵之碳環基環或環系統，其中環系統中

並無環為芳族環。實例包括環己烯基或環己烯及降冰片烯或降冰片烯基。亦如本文所用，「雜環烯基（heterocycloalkenyl）」或「雜環烯（heterocycloalkene）」意謂在環主鏈中具有至少一個雜原子之碳環基環或環系統，其具有至少一個雙鍵，其中環系統中並無環為芳族環。

【0090】 如本文所用，「環炔基（cycloalkynyl）」或「環炔（cycloalkyne）」意謂具有至少一個參鍵之碳環基環或環系統，其中環系統中並無環為芳族環。實例為環辛炔。另一實例為雙環壬炔。亦如本文所用，「雜環炔基（heterocycloalkynyl）」或「雜環炔（heterocycloalkyne）」意謂在環主鏈中具有至少一個雜原子之碳環基環或環系統，其具有至少一個參鍵，其中環系統中並無環為芳族環。

【0091】 如本文所用，術語「沈積（depositing）」係指任何適合的塗覆技術，其可為手動或自動化塗覆技術，且導致改變表面特性。一般而言，可使用氣相沈積技術、塗佈技術、接枝技術或其類似者進行沈積。一些特定實例包括化學氣相沈積（chemical vapor deposition；CVD）、噴塗（例如超音波噴塗）、旋塗、浸塗（dunk/dip coating）、刮刀塗佈、覆液施配（puddle dispensing）、流通塗佈、氣霧劑列印、噴墨列印或其類似技術。網版印刷或微接觸印刷。在一些態樣中，水溶性保護性塗層藉由噴塗塗覆。在其他態樣中，水溶性保護塗層藉由流通塗佈塗覆。

【0092】 如本文所用，術語「凹陷（depression）」係指具有由圖案化之基板表面的間隙區域完全包圍之表面開口的圖案化之基板中之分散凹面特徵。凹陷在表面中其開口處可具有多種形狀中之任一者，包括例如圓形、橢圓形、正方形、多邊形、六邊形、星形（具有許多頂點）等。與表面正交獲得之凹陷的橫截面可為曲線、正方形、多邊形、雙曲線、錐形、角形等。舉例而言，凹陷可為孔。亦如本文所用，「官能化凹陷（functionalized depression）」係指連

接官能化聚合物塗層及引子之離散凹面特徵。

【0093】 當提及條項之集合使用時，術語「各（each）」意欲鑑別該集合中之單獨條項，但未必指代該集合中之每一條項。若清楚的揭示內容或上下文另外明確規定，則可存在例外狀況。

【0094】 如本文所用，術語「流通槽（flow cell）」欲意謂具有可實施反應之腔室(亦即流動通道）、將試劑遞送至腔室之入口及自腔室移除試劑之出口之容器。在一些實施例中，腔室使得能夠偵測腔室中發生之反應。舉例而言，腔室可在腔室中包括一或多個允許光學偵測陣列之透明表面、光學標記分子或其類似物。

【0095】 如本文所用，「流動通道（flow channel）」可為兩個結合組件之間界定的區域，其可選擇性地接受液體樣品。在一些實施例中，流動通道可能界定於圖案化之基板與蓋板之間，且因此可與圖案化之基板中所界定之一或多個凹陷流體連通。在其他實施例中，流動通道可界定於非圖案化之基板與蓋板之間。

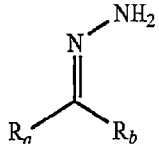
【0096】 本文所提及之「官能化聚合物塗層（functionalized polymer coating layer）」欲意謂可滲透液體及氣體之半剛性材料。官能化聚合物塗層可為可在吸收液體（例如水）時膨脹且可在藉由脫水移除液體時收縮之水凝膠。通常，儘管水凝膠可吸收水，但其不具水溶性。在一實施例中，官能化聚合物塗層為聚(N-(5-疊氮基乙醯胺基戊基)丙烯醯胺-共-丙烯醯胺)（poly(N-(5-azidoacetamidylpentyl)acrylamide-co-acrylamide)；PAZAM）。官能化聚合物塗層亦可包括其他分子，其包括一或多個選自由以下組成之群的官能基：視情況經取代之烯基、疊氮/疊氮基、視情況經取代之胺基、羧基、視情況經取代之脒、視情況經取代之肼、羥基、視情況經取代之四唑、視情況經取代之四嗪、氧化腈、硝酮或硫醇。在一些態樣中，官能基為反應性基團，該等基團用以連

接官能化聚合物塗層與基板表面及/或引子以在此等組件之間形成共價鍵。

【0097】 如本文所用，「雜芳基（heteroaryl）」係指在環主鏈中含有一或多個雜原子之芳族環或環系統（亦即共用兩個相鄰原子之兩個或更多個稠合環），該等雜原子為除碳外之元素，包括(但不限於)氮、氧及硫。當雜芳基為環系統時，該系統中之每一環為芳族環。雜芳基可具有5至18個環成員。

【0098】 如本文所用，「雜環基（heterocyclyl）」意謂在環主鏈中含有至少一個雜原子之非芳族環或環系統。雜環基可以稠合、橋連或螺連接方式接合在一起。雜環基可具有任何飽和度，其限制條件為環系統中之至少一個環不為芳族環。在環系統中，雜原子可存在於非芳族環或芳族環中。雜環基可具有3至20個環成員（亦即構成環主鏈之原子的數目，包括碳原子及雜原子）。雜環基可命名為「3至6員雜環基」或類似名稱。在一些實施例中，雜原子為O、N或S。

【0099】 如本文所用，術語「肼（hydrazine）」或「肼基（hydrazinyl）」係指-$NHNH_2$基團。

【0100】 如本文所用，術語「腙（hydrazone）」或「腙基（hydrazonyl）」如本文所用係指基團 ，其中R_a及R_b在本文中定義。

【0101】 如本文所用，「羥基(hydroxy/hydroxyl)」係指-OH基團。

【0102】 如本文所用，術語「間隙區域（interstitial region）」係指基板中或表面上分隔凹陷之區域。舉例而言，間隙區域可將陣列之一個特徵與陣列之另一特徵分隔開。彼此分隔開之兩個特徵可為離散的，亦即彼此不物理接觸。在另一實施例中，間隙區域可將特徵之第一部分與特徵之第二部分隔開。在許多實施例中，間隙區域為連續的，然而特徵為離散的，例如如同原本連續的表面中所界定之複數個孔之情況一般。由間隙區域提供之分隔可為部分分隔

開或完全分隔開。間隙區域可具有與表面上界定之特徵之表面材料不同的表面材料。舉例而言，陣列之特徵可具有一定量或濃度之塗層及引子，該量或濃度超過間隙區域中所存在之量或濃度。在一些實施例中，塗層及引子可不存在於間隙區域。

【0103】 如本文所用，「氧化腈（nitrile oxide）」意謂「$R_aC{\equiv}N^+O^-$」，其中R_a為本文所定義。製備氧化腈之實例包括藉由用氯醛甲醯胺-T（chloramide-T）處理或經由基於醯亞胺基氯化物[RC(Cl)=NOH]之作用由醛肟原位生成。

【0104】 如本文所用，「硝酮（nitrone）」意謂「$R_aR_bC{=}NR_c^+O^-$」基團，其中R_a及R_b為本文所定義且R_c選自C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基、C3-7碳環基、C6-10芳基、5至10員雜芳基及5至10員雜環基，如本文中所定義。

【0105】 如本文所用，「核苷酸」包括含氮雜環鹼基、糖及一或多種磷酸根基團。核苷酸為核酸序列之單體單元。在RNA中，糖為核糖，且在DNA中，糖為脫氧核糖，亦即不具有存在於核糖中之2'位處之羥基的糖。含氮雜環鹼基（亦即核鹼基）可為嘌呤鹼基或嘧啶鹼基。嘌呤鹼基包括腺嘌呤（A）及鳥嘌呤（G）及其經修飾之衍生物或類似物。嘧啶鹼基包括胞嘧啶（C）、胸腺嘧啶（T）及尿嘧啶（U）以及其經修飾之衍生物或類似物。脫氧核糖之C-1原子鍵結至嘧啶之N-1或嘌呤之N-9。

【0106】 如本文所用，術語「開放晶圓處理（open wafer processing）」係指在任何裝配（例如結合）製程之前用以改質具有表面化學物質及保護性塗層之基板晶圓之表面的一系列依序製程。

【0107】 術語「流通槽基板（flow cell substrate）」或「基板（substrate）」係指上面可添加表面化學物質之支撐物。術語「圖案化之基板（patterned substrate）」係指中間或上面界定凹陷之支撐物。術語「非圖案化

之基板（non-patterned substrate）」係指大體上平坦支撐物。基板可為晶圓、板件、矩形薄片、晶粒或任何其他適合的組態。基板一般為剛性的且不可溶於水性液體中。基板對於用以改質凹陷之化學物質可為惰性的。舉例而言，基板對於用以形成官能化聚合物塗層、形成保護性塗層、使引子連接於官能化聚合物塗層等之化學物質可為惰性的。適合的基材之實例包括環氧矽氧烷、互補金屬氧化物半導體（complementary metal-oxide semiconductor，CMOS）材料、倍半矽氧烷（例如多面體倍半矽氧烷或POSS材料）、玻璃（諸如來自Corning之EAGLE XG®玻璃）及改質或官能化玻璃、塑膠（包括丙烯酸聚合物、聚苯乙烯及苯乙烯及其他材料之共聚物、聚丙烯、聚乙烯、聚丁烯、聚胺基甲酸酯、聚四氟乙烯(諸如來自Chemours之TEFLON®）、環狀烯烴/環烯烴聚合物（COP）（諸如來自Zeon之ZEONOR®）、聚醯亞胺等）耐綸、陶瓷/陶瓷氧化物、二氧化矽、熔融二氧化矽或基於二氧化矽之材料、矽酸鋁、矽及改質矽（例如摻硼之p+矽）、氮化矽（Si_3N_4）、氧化矽（SiO_2）、五氧化鉭（TaO_5）或其他氧化鉭（TaO_x）、氧化鉿（HaO_2）、碳、金屬、無機玻璃或其類似物。基板亦可為在表面具有氧化鉭或另一陶瓷氧化物塗層之玻璃或矽。基板可為剛性或可撓性的。

【0108】 如本文所用，「電漿灰化（plasma ashing）」係指藉由氧電漿自基板移除有機物之過程。可用真空泵/系統移除由電漿灰化產生之產物。電漿灰化可藉由引入反應性羥基來活化基板。在一些態樣中，連接基團接著可連接於羥基。

【0109】 如本文所用，「引子」定義為充當或RNA合成之起始點的單股核酸序列（例如單股DNA或單股RNA）。引子之5'末端可經修飾以允許與官能化聚合物塗層進行偶合反應。在一些態樣中，引子之5'末端經炔烴基團修飾。引子長度可為任何數目之鹼基長且可包括多種非天然核苷酸。在一實施例中，

定序引子為短股，例如包括20至40個鹼基之範圍內。在一些態樣中，將濃度（在本文中稱為「引子密度」）為約5至50 μM、或約10至40 μM、或約15至30 μM之於溶液中之引子塗覆至基板。如本文所用，「引子密度（primer density）」不為表面上接枝引子之量度，但為基於接枝混合物中引子之濃度的推斷密度。在一些態樣中，引子密度為約1至約20 μM（使用1-20 μM引子溶液得到之接枝於表面上之引子）。在一些態樣中，引子為官能性引子（能夠充當寡核苷酸合成之起始點）及非官能性引子之混合物。非官能性引子為不充當引子之寡核苷酸，諸如截短引子序列或用可偵測且視情況可裂解的標籤標記之短寡核苷酸序列。非官能性引子允許獨立（個別）控制總寡核苷酸/引子密度以及接枝基板上之官能性引子密度。在一些實施例中，引子密度為12 μM引子及6 μM非官能性引子（例如連接有品質控制示蹤劑之寡核苷酸）。在一些實施例中，總引子密度為約18 μM。在一些實施例中，總引子密度為約22 μM。接枝引子可以約10,000至約50,000、或約25,000個引子/平方微米存在於表面上。

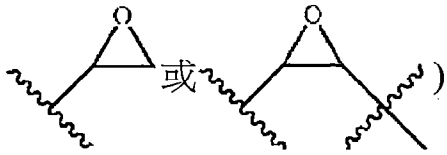
【0110】 如本文所用，術語「保護性塗層（protective coating）」係指塗覆於表面化學物質上，例如圖案化之基板之凹陷中或至少大體上平坦基板（亦即非圖案化之基板）之流動通道區域上之呈固體（例如薄膜）、液體或凝膠形式之水溶性材料。保護性塗層可為不有害影響底層表面化學物質或基板且用以保護及/或保留表面化學物質之功能的任何水溶性材料。根據定義，水溶性保護性塗層可與水凝膠區分開來，因為保護性塗層在暴露於水時溶解且可以此方式洗掉，而水凝膠為水不溶性的。舉例而言，保護性塗層可使官能化層脹大且至少大體上防止該層在處理及/或運送及/或儲存期間經歷有害變化。舉另一個實施例而言，保護性塗層可保留引子之可接近性，且至少大體上防止官能化層降解。

【0111】 儘管已提供若干實施例，但應瞭解其他水溶性非陽離子型合成

聚合物及小分子可用於形成保護性塗層，只要所選材料不有害影響底層表面化學物質或基板即可。此外，亦可需要選擇可容易移除、不干擾隨後執行之製程（例如引子連接、洗滌等）及/或不干擾隨後執行之定序技術之材料。在一實施例中，保護性塗層不為自動螢光材料。

【0112】 在一實施例中，水溶性保護性塗層之厚度或深度為至少約25 nm。在一實施例中，水溶性保護性塗層之厚度或深度在約50 nm至約100 nm之範圍內。在另一實例中，水溶性保護性塗層之厚度或深度在約1 μm至約15 μm之範圍內。在另一實施例中，水溶性保護性塗層之厚度或深度在約1.5 μm至約12 μm之範圍內。厚度之上限可至少部分取決於流動通道及形成之流通槽之架構及尺寸。在一實施例中，厚度範圍之上端可在約10 μm至約15 μm之範圍內。

【0113】 如本文所用，術語「矽烷（silane）」及「矽烷衍生物（silane derivative）」係指含有一或多個矽原子之有機或無機化合物。無機矽烷化合物之一實例為SiH4或鹵化SiH_4，其中氫經一或多個鹵素原子置換。有機矽烷化合物之實例為$X\text{-}R^B\text{-}Si(OR^C)_3$，其中X為非水解有機基團，諸如胺基、乙烯基、環氧基



、甲基丙烯酸酯基、硫、烷基、烯基、炔基；R^B為間隔子，例如$-(CH_2)_n-$，其中n為0至1000；R^C係選自氫、視情況經取代之烷基、視情況經取代之烯基、視情況經取代之炔基、視情況經取代之碳環基、視情況經取代之芳基、視情況經取代之5至10員雜芳基及視情況經取代之5至10員雜環基，如本文所定義。如本文所用，術語「矽烷」及「矽烷衍生物」可包含不同矽烷及/或矽烷衍生物之混合物。

【0114】 在一些實施例中，矽烷或矽烷衍生物包括能夠與官能化聚合物塗層之官能基反應的不飽和部分。如本文所用，術語「不飽和部分」係指包括

以下之化學基團：包括至少一個雙鍵或一個參鍵之環烯、環如本文所用，術語「不飽和部分（unsaturated moiety）」係指包括以下之化學基團：包括至少一個雙鍵或一個參鍵之環烯、環炔、雜環烯、雜環炔或其視情況經取代之變體。不飽和部分可為單價或二價的。當不飽和部分為單價的時，環烯、環炔、雜環烯及雜環炔可分別與環烯基、環炔基、雜環烯基及雜環炔基互換使用。當不飽和部分為二價的時，環烯、環炔、雜環烯及雜環炔可分別與伸環烯基、伸環炔基、伸雜環烯基及伸雜環炔基互換使用。

【0115】 不飽和部分可直接共價連接於矽烷或矽烷衍生物之矽原子，或經由連接基團間接連接。適合的連接子之實例包括視情況經取代之伸烷基（亦即視為自烯烴藉由打開雙鍵或自烷烴藉由自不同碳原子移除兩個氫原子衍生之二價飽和脂族自由基（諸如乙烯））、經取代之聚乙二醇或其類似物。

【0116】 如本文所用，「分隔層」係指使兩種組分結合於一起之材料。在一些實施例中，分隔層可為有助於結合之輻射吸收材料，或可與有助於結合之輻射吸收材料接觸。

【0117】 如本文所用，術語「表面化學物質（surface chemistry）」係指併入至流通槽腔室中之化學及/或生物學活性組分。本文所揭示之表面化學物質之實例包括連接於該基板之表面之至少一部分的官能化聚合物塗層，及/或及連接於官能化聚合物塗層之至少一部分的引子。

【0118】 「硫醇（thiol）」官能基係指-SH。

【0119】 如本文所用，術語「四嗪（tetrazine）」及「四嗪基（tetrazinyl）」係指包含四個氮原子之六員雜芳基。四嗪可視情況經取代。

【0120】 如本文所用，「四唑（tetrazole）」係指包括四個氮原子之五員雜環基。四唑可視情況經取代。

【0121】 如本文所用，術語「YES方法（YES method）」係指一種由

Illumina公司研發之化學氣相沈積方法，其使用由產量工程系統（「YES」）提供之化學氣相沈積工具。該工具包括三個不同氣相沈積系統。自動化YES-VertaCoat矽烷蒸氣系統經設計用於批量生產，其具有可容納200 mm或300 mm晶圓之可撓性晶圓處理模組。人工加載YES-1224P矽烷蒸氣系統經設計用於多功能批量生產，其具有可組態之大容量腔室。Yes-LabKote為針對可行性研究及R&D理想的低成本桌面形式。

【0122】 本文所闡述及技術方案中所列舉之態樣及實施例可鑒於以上定義進行理解。

【0123】 現將參考圖式描述包括保護性塗層之流通槽及其製造及使用方法之實例。

【0124】 方法100之實施例描繪於圖1中。方法100包括將表面化學物質添加至基板之一部分（如元件符號102所示），且將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上（如元件符號104所示）。在一實施例中，方法100包括將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分，其中表面化學物質為定序引子或連接定序引子之官能化聚合物塗層，或定序引子及官能化聚合物塗層；及將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上。方法100之兩個實例示於圖2中，如方法100'及100"。

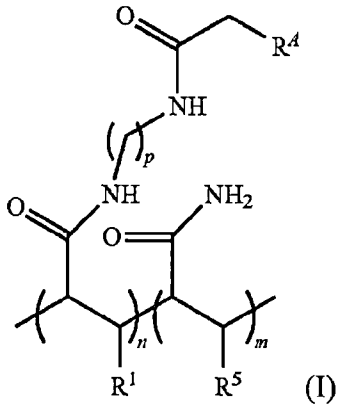
【0125】 方法100'、100"可涉及如圖2中之元件符號101所示之圖案化之基板，或非圖案化之基板。參考圖6A至6E進一步描述涉及非圖案化之基板12'的方法100之另一實施例。圖案化之基板可為圖案化之晶圓或圖案化之晶粒或本文所揭示之其他圖案化之基板中之任一者。可使用本文所述之基板之任何實施例。圖案化之基板（如圖3中之元件符號12所示）包括界定於該基板之暴露層或表面上或中之凹陷及分隔開相鄰凹陷之間隙區域。凹陷可使用多種技術於基板中或基板上製成，該等技術包括例如光微影術、奈米壓印微影術、衝壓技

術、壓花技術、模製技術、微蝕刻技術、印刷技術等。如熟習此項技術者所瞭解，所用技術將視基板之組成及形狀而定。可設想許多不同凹陷佈局，如下文參考圖5A所論述。

【0126】 儘管圖2中未示，在添加表面化學物質之前，方法100'、100"中之各者可涉及使圖案化之基板暴露於清潔製程及/或製備用於表面化學物質之後續沈積的圖案化之基板之表面（例如凹陷及，在一些情況下為相鄰間隙區域）之另一製程。下文參考圖4及5A且5L進一步論述清潔製程及表面製備製程之實施例。

【0127】 在實施例方法100'中，表面化學物質可為官能化聚合物塗層及引子，且可使用單一保護性塗層。在此實施例中，添加表面化學物質涉及在凹陷中形成官能化聚合物塗層（元件符號102'）及使引子接枝於官能化聚合物塗層（元件符號102"），且在接枝引子之後形成水溶性保護性塗層（元件符號104'）。

【0128】 在方法100'中之元件符號102'處，形成官能化聚合物塗層。官能化聚合物塗層之實例包括式（I）之重現單元：



(I)

其中：

R^1為H或視情況經取代之烷基；

R^A選自由以下組成之群：疊氮基、視情況經取代之胺基、視情況經取代之烯基、視情況經取代之脒、視情況經取代之肼、羧基、羥基、視情況經取代之

四唑、視情況經取代之四嗪、氧化膦、硝酮及硫醇；

R^5選自由以下組成之群：H及視情況經取代之烷基；

各-$(CH_2)_p$-可視情況經取代；

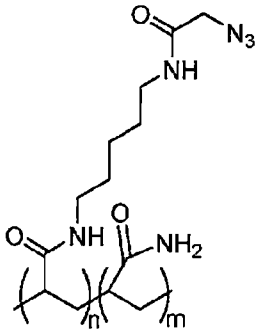
p為1至50範圍內之整數；

n為1至50,000範圍內之整數；及

m為1至100,000範圍內之整數。

在式（I）結構中，一般熟習此項技術者將理解「n」及「m」個次單元為以無規次序存在於聚合物中之重現次單元。

【0129】 官能化聚合物塗層之特定實例為聚(N-(5-疊氮基乙醯胺基戊基)丙烯醯胺-共-丙烯醯胺，PAZAM（參見例如美國專利公開案第2014/0079923 A1號或第2015/0005447 A1號，各文獻以全文引用的方式併入本文中），其包含以下所示結構：



其中n為1至20,000範圍內之整數，且m為1至100,000範圍內之整數。如同式（I）一般，一般熟習此項技術者將認識到，「n」及「m」個次單元為以無規次序存在於聚合物結構中之重現單元。

【0130】 式（I）或PAZAM聚合物之分子量可在約10 kDa至約1500 kDa範圍內，或在具體實施例中，可為約312 kDa。

【0131】 在一些實施例中，式（I）或PAZAM聚合物為線性聚合物。在一些其他實施例中，式（I）或PAZAM聚合物為輕度交聯聚合物。在其他實施例中，式（I）或PAZAM聚合物包含分支。

【0132】 適合的聚合物材料之其他實例包括具有膠態結構之彼等聚合物材料，諸如瓊脂糖；或具有聚合物網狀結構之彼等聚合物材料，諸如明膠；或具有交聯聚合物結構之彼等聚合物材料，諸如聚丙烯醯胺聚合物及共聚物、無矽烷丙烯醯胺（silane free acrylamide；SFA，參見例如美國專利公開案第2011/0059865號，其以全文引用的方式併入本文中）或SFA之疊氮化形式。適合的聚丙烯醯胺聚合物之實例可由丙烯醯胺及丙烯酸或含有乙烯基之丙烯酸形成，如例如WO 2000/031148（以全文引用的方式併入本文中）中所述，或由形成[2+2]光致環加成反應之單體形成，例如如WO 2001/001143或WO 2003/0014392（各文獻以全文引用的方式併入本文中）中所述。其他適合之聚合物為SFA與衍生有溴-乙醯胺基團之SFA（例如BRAPA）的其他適合的聚合物為SFA與衍生有溴-乙醯胺基團之SFA（例如BRAPA）的共聚物或SFA與衍生有疊氮基-乙醯胺基團之SFA的共聚物。

【0133】 應瞭解，可使用其他官能化分子以形成官能化聚合物塗層，只要其經官能化與圖案化之基板及隨後塗覆之引子相互作用即可。適合用於形成官能化聚合物塗層之分子之其他實例包括具有膠態結構之彼等聚合物塗層，諸如瓊脂糖；或具有聚合物網狀結構之彼等聚合物塗層，諸如明膠；或具有交聯聚合物結構之彼等聚合物塗層，諸如聚丙烯醯胺聚合物及共聚物、無矽烷丙烯醯胺（SFA）或SFA之疊氮化形式。適合的聚丙烯醯胺聚合物之實例可由丙烯醯胺及丙烯酸或含有乙烯基之丙烯酸合成，或由形成[2+2]光致環加成反應之單體合成。

【0134】 官能化聚合物分子（例如PAZAM）可使用旋塗、或浸漬或浸塗、或官能化分子在正或負壓下流動、或其他合適技術沈積於圖案化之基板之表面上。官能化分子可存在於溶液中。在一實施例中，溶液包括乙醇與水混合物中之PAZAM。在一些態樣中，在完全聚合之前將官能化聚合物分子塗覆至基

板，且於基板表面上聚合以形成塗層。

【0135】 在經塗佈之後，亦可使官能化分子暴露於固化過程以在整個圖案化之基板上形成官能化聚合物塗層（亦即在凹陷及間隙區域上）。在一實施例中，固化官能化分子可在室溫（例如約25℃）至約60℃範圍內之溫度下進行約5分鐘至約2小時範圍內之時間。在一些情況下，官能化聚合物塗層在塗覆保護性塗層之前固化。

【0136】 為在圖案化之基板之凹陷中而不在間隙區域上形成官能化聚合物塗層，可使用i）pH值約7.5至約11範圍內且包括研磨顆粒之鹼性含水漿料或ii）拋光墊及不含研磨顆粒之溶液拋光掉間隙區域之官能化聚合物塗層。

【0137】 在方法100'之此實施例中，引子接著接枝於保留於凹陷中之官能化聚合物塗層，如元件符號102"之引子連接所示。適合的引子之實例包括正向擴增引子或反向擴增引子。適合的引子之特定實例包括P5或P7引子，其用於由Illumina公司出售之市售流通槽的表面上以用於HiSeq™、HiSeqX™、MiSeq™、MiSeqX™、NextSeq™、NovaSeq™、Genome Analyzer™及其他儀器平台上進行定序。

【0138】 接枝可藉由浸塗、噴塗、覆液分配或藉由將引子連接於凹陷中之至少一些中的官能化聚合物塗層的另一適合方法實現。此等實施例技術中之各者可利用引子溶液或混合物，其可包括引子、水、緩衝劑及催化劑。

【0139】 浸塗可涉及將圖案化之基板（在其凹陷中具有官能化聚合物塗層）浸沒於一系列溫度控制浴液中。該等浴液亦可流動控制及/或覆蓋有氮氣層。該等浴液可包括引子溶液或混合物。在多種浴液中，引子將連接於凹陷中之至少一些中的官能化聚合物塗層。在一實施例中，將經塗佈且經拋光之圖案化之基板引入至包括引子溶液或混合物之第一浴液中，在該第一浴中發生反應以連接引子，且接著將圖案化之基板移動至用於洗滌之其他浴液。圖案化之基

板可由機器人臂或手動地在浴液間移動。浸塗中亦可使用乾燥系統。

【0140】 噴塗可藉由將引子溶液或混合物直接噴霧於經塗佈且經拋光之圖案化之基板上實現。可在約0℃至約70℃範圍內之溫度下將經噴塗之晶圓培育持續約4分鐘至約60分鐘範圍內之時間。培育之後，可稀釋且使用例如旋塗機移除引子溶液或混合物。

【0141】 覆液分配可根據彙集及旋離法（pool and spin off method）進行，且覆液分配可根據彙集及旋離法（pool and spin off method）進行，且因此可用旋塗器實現。引子溶液或混合物可塗覆（手動地或經由自動化程序）至經塗佈且經拋光之圖案化之基板。可將塗覆之引子溶液或混合物塗覆於或分散於經塗佈且經拋光之圖案化之基板之整個表面上。可在約0℃至約80℃範圍內之溫度下將經引子塗佈之圖案化之基板培育持續約2分鐘至約60分鐘範圍內之時間。培育之後，可稀釋且使用例如旋塗機移除引子溶液或混合物。

【0142】 在一個實施例中，在引子接枝於凹陷中之官能化聚合物塗層之後，方法100'之此實施例進一步包括將水溶性保護性塗層塗覆於表面化學物質上及基板之至少一部分上（如元件符號104'之保護性塗層形成所示）。在另一實施例中，引子溶液或混合物可包括形成保護性塗層之水溶性成膜材料，且因此可同時進行引子接枝及保護性塗層形成。

【0143】 當引子接枝及保護性塗層形成為個別製程時，水溶性保護性塗層可選擇性沈積或圖案化，以使得覆蓋表面化學物質（在此實施例中，官能化塗層及其上之引子）且以使得圖案化之基板之結合區保持暴露。圖案化之基板之結合區一般位於圖案化之基板之一些間隙區域上，在其中蓋板將結合至圖案化之基板。當圖案化之基板為晶圓時，結合區可界定由晶圓形成之若干流通槽之邊界。當圖案化之基板為晶粒時，結合區可界定形成之一個流通槽之外部邊界。應瞭解，不為結合區之一部分的圖案化之基板之其他部分可用水溶性保護

性塗層塗佈。

【0144】 在方法100'之此實施例中，選擇性沈積或圖案化水溶性保護性塗層可經由浸塗、旋塗、噴塗、超音波噴塗、刮刀塗佈、氣霧劑列印或噴墨列印來實現。可使用遮罩覆蓋圖案化之基板之結合區，以致不將水溶性保護性塗層塗覆於結合區上。

【0145】 用於水溶性保護性塗層之實施例選擇性沈積或圖案化技術中之各者可利用水溶液，其可包括水及多達約15%（質量/體積）之水溶性材料。在一些實施例中，水溶性材料佔水溶液之15%或更少。在其他實施例中，水溶液包括約2%至約13%之水溶性材料，約2.5%至約10%之水溶性材料。應瞭解，水溶液之濃度可視流通槽架構（例如流動通道、輸入及輸出孔口等之尺寸）而變化。舉例而言，當利用流通沈積時，濃度可經選擇以致水溶液可流經流通槽而不堵塞孔口、流動通道等。因此，濃度亦可大於約15%。為獲得需要厚度，濃度之下限可為約2 wt%（質量/體積）。在方法100'之此實施例中，水溶性材料（及所得保護性塗層）可為任何本文所揭示之實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。在一實施例中，水溶性材料可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物（此水溶性材料之實施例可以KOLLICOAT® IR購得，獲自巴斯夫公司）、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、聚乙二醇、乙二胺四乙酸二鈉鹽（ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt，EDTA）、具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉。

【0146】 水溶液亦可包括添加劑，諸如水溶性共溶劑、抗氧化劑、染

料、紫外光穩定劑、加工助劑或其類似物。此等添加劑可包括於水溶液中，其量並不有害影響水溶性成膜材料之流動性或溶解或成膜能力。舉例而言，可存在視情況量在約1%至約10%或約2.5%至約7.5%範圍內之諸如乙醇之共溶劑。在另一實施例中，水溶液可包括約5%之水溶性材料、約5%之共溶劑且其餘（約90%）為水。在其他實施例中，水溶液可包括約5至約7.5%之水溶性材料及約5至約10%共溶劑，其餘為水（例如於10%乙醇水溶液中之7.5% w/v KOLLICOAT® IR）。

【0147】 在塗覆水溶液之後，其可乾燥以形成固體或凝膠形式之水溶性保護性塗層。乾燥可能經由空氣暴露、氮氣暴露、真空、加熱（例如在烘箱中）或旋塗（亦即自旋直至乾燥）實現。

【0148】 保護性塗層之一些實例可仍保持液體形式，諸如氯化鈉-檸檬酸鈉（sodium chloride-sodium citrate，SSC）。液體形式之保護性塗層構成濕式儲存，因為溶液可至少大體上填充流動通道且覆蓋表面化學物質。舉例而言，當流動通道在保護性塗層塗覆之前形成時（例如在圖2或圖6A至6E中之步驟104'''），可使用液體形式之保護性塗層，以致其中可含有液體。在一實施例中，以0.75 M NaCl、0.075M檸檬酸鈉混合物塗覆SSC。

【0149】 方法100'之此實施例接著包括裝配，如元件符號106所示。在任何裝配製程期間，保護性塗層保護表面化學物質。在一實施例中，裝配涉及使蓋板結合至圖案化之基板之結合區以形成與凹陷選擇性流體連通之流動通道。當圖案化之基板為晶圓時，蓋板之不同區域可至少部分界定使用晶圓形成之各別流動通道。當圖案化之基板為晶粒時，蓋板可界定一或多個形成之流動通道。

【0150】 蓋板可為對朝向凹陷中之表面化學物質導引之激發光透明的任何材料。作為實施例，蓋板可為玻璃（例如硼矽酸鹽、熔融二氧化矽等）、塑

膠或其類似物。適合的硼矽酸鹽玻璃之可購得實例為D 263®，其可自Schott North America公司獲得。適合的塑膠材料、即環烯烴聚合物之可購得實例為ZEONOR®產品，其可自Zeon Chemicals L.P.獲得。

【0151】 在一些實施例中，蓋板可與對應於結合區之形狀且結合至結合區之側壁一體地形成。舉例而言，可將凹槽蝕刻至透明塊體中，以形成大體上平坦的部分及自大體上平坦的部分延伸之側壁。當將經蝕刻塊體安裝至圖案化之基板區域結合區時，凹槽可變為流動通道。

【0152】 在其他實施例中，側壁及蓋板可為彼此耦接之個別組件。舉例而言，蓋板可為大體上矩形的塊體，至少大體上平坦的外部表面及界定流動通道之一部分（例如頂部部分）之至少大體上平坦的內部表面（一旦結合至圖案化之基板）。可將塊體安裝至（例如結合至）結合至圖案化之基板之結合區且形成流動通道之側壁的側壁上。在此實施例中，側壁可包括本文針對分隔層（下文所述）所闡述之材料中之任一者。

【0153】 可使用任何適合的技術使蓋板結合至圖案化之基板之結合區，該技術為諸如雷射結合、擴散結合、陽極接合、共晶接合、電漿活化結合、玻璃料結合或其他此項技術中已知之方法。在一實施例中，可使用分隔層以使蓋板結合至圖案化之基板之結合區。分隔層可為將圖案化之基板之至少一些間隙區域（例如結合區）及蓋板密封於一起之任何材料。

【0154】 在一個實施例中，分隔層可為吸收藉由蓋板及/或圖案化之基板發射之波長的輻射之輻射吸收材料。吸收之能量又在分隔層與蓋板之間及在分隔層與圖案化之基板之間形成鍵。此輻射吸收材料之一實例為來自杜邦公司（DuPont，美國）之黑KAPTON®（含有碳黑之聚醯亞胺），其在約1064 nm下吸收。應瞭解，可在不添加碳黑下使用聚醯亞胺，但其中必須將波長改變為由天然聚醯亞胺材料顯著吸收之波長（例如480 nm）。作為另一實施例，聚醯亞

胺CEN JP可在用532 nm下的光輻照時結合。當分隔層為輻射吸收材料時，分隔層可位於蓋板與圖案化之基板之間的界面處，以致分隔層接觸所需結合區。可施加壓縮（例如大致100 PSI之壓力），同時以適合之波長將雷射能量施加至界面（亦即輻照輻射吸收材料）。可將雷射能量施加至來自頂部與底部之界面，以便達成適合的結合。

【0155】 在另一實施例中，分隔層可包括與其接觸之輻射吸收材料。可在分隔層與蓋板之間的界面以及在分隔層與圖案化之基板之間的界面塗覆輻射吸收材料。舉例而言，分隔層可為聚醯亞胺且個別輻射吸收材料可為碳黑。在此實施例中，個別輻射吸收材料吸收雷射能量，該能量在分隔層與蓋板之間及分隔層與圖案化之基板之間形成鍵結。在此實施例中，可將壓縮施加於各別界面處，同時以適合的波長將雷射能量施加至界面（亦即輻照輻射吸收材料）。

【0156】 當圖案化之基板為晶圓時，（蓋板或連接至蓋板之）分隔層及側壁可以物理方式分隔一個流動通道與相鄰流動通道，且可位於晶片之周邊。當圖案化之基板為晶粒且形成之流通槽包括單一流動通道或通路時，（蓋板或連接至蓋板之）分隔層及側壁可位於晶粒之周邊以界定流動通道且密封流通槽。當圖案化之基板為晶粒且形成之流通槽包括多個分離之流動通道（例如八個流動通道或四個流動通路）時，（蓋板或連接至蓋板之）分隔層及側壁可以物理方式分隔一個流動通道/通路與相鄰流動通道/通路，且可位於晶粒之周邊。然而，應理解，分隔層及側壁可視實施而定位於任何所需區域中。

【0157】 當圖案化之基板為晶粒時，方法100'之裝配106涉及形成流通槽之蓋板之結合。當圖案化之基板為晶圓時，方法100'之裝配106可涉及其他處理，諸如切割。在一個實施例中，蓋板可結合至圖案化晶圓且切割形成個別流通槽。如本文中所提及，在晶圓上，側壁可以物理方式分隔一個流動通道與相鄰流動通道，且因此可經由至少一些側壁進行切割，以致各個別流通槽包括所

需數目之流動通道，該等流動通道各者有一部分原始側壁圍繞於其周邊。在另一實施例中，可將圖案化之晶圓切割以形成不帶蓋模具，其可結合有各別蓋板以形成個別流通槽。

【0158】 在一個實施例中，在裝配106之後，形成一或多個流通槽。

【0159】 現參考圖2中之實施例方法100"，表面化學物質可為官能化聚合物塗層與引子，且可使用兩種不同保護性塗層。類似於方法100'，在方法100"期間添加表面化學物質涉及在凹陷中形成官能化聚合物塗層（元件符號102'）及使引子接枝於官能化聚合物塗層（元件符號102"'）。然而，不同於方法100'，在方法100"期間，初始水溶性保護性塗層在官能化聚合物塗層形成之後形成（元件符號104"）且另一水溶性保護性塗層在接枝引子之後形成（元件符號104"'）。

【0160】 在方法100"之元件符號102'及104"中，添加表面化學物質涉及在凹陷中形成官能化聚合物塗層（102'），及在官能化聚合物塗層形成之後形成初始水溶性保護性塗層（104"）。應瞭解，用於形成如本文所述之官能化聚合物塗層之材料及方法可用於方法100"中。在一實施例中，可能需要在拋光官能化聚合物塗層約5小時內沈積初始水溶性保護性塗層。此時間範圍可降低官能化聚合物塗層之表面衰減率且亦可提供較大熱處理窗口。

【0161】 初始水溶性保護性塗層可選擇性沈積或圖案化，以使得覆蓋表面化學物質（在此實施例中，官能化聚合物塗層），且以使得圖案化之基板之結合區仍保持暴露。結合區一般位於圖案化之基板之一些間隙區域上，其中蓋板將結合至圖案化之基板。

【0162】 水溶性保護性塗層之選擇性沈積或圖案化可經由浸塗、旋塗、噴塗、超音波噴塗、刮刀塗佈、氣霧劑列印或噴墨列印實現。如上所述，可使用遮罩以覆蓋圖案化之基板區域結合區，以致不將初始水溶性保護性塗層塗覆

於結合區上。

【0163】 用於初始水溶性保護性塗層之實施例選擇性沈積或圖案化技術中之各者可利用水溶液，其可包括水及多達約15%（質量/體積）之水溶性材料。如本文中所提及，水溶液之濃度可視流通槽架構（例如流動通道、輸入及輸出孔口等之尺寸）而變化，且因此可大於15%或小於15%。為獲得需要厚度，濃度之下限可為約2 wt%（質量/體積）。在方法100"之此實施例中，水溶性材料（及所得保護性塗層）可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、聚丙烯醯胺或聚乙二醇。在此實施例中，水溶液亦可包括添加劑，諸如抗氧化劑、染料、紫外光穩定劑、加工助劑或其類似物。

【0164】 如元件符號106'所示，方法100"涉及在初始保護性塗層形成之後流通槽之裝配。在此實施例中，初始保護性塗層在任何裝配製程期間保護官能化聚合物塗層。當圖案化之基板為晶圓時，裝配涉及使蓋板結合至結合區以形成與各別組凹陷選擇性流體連通之各別流動通道，且接著切割結合蓋板及基板以形成各別流通槽。當圖案化之基板為晶粒時，裝配涉及使蓋板結合至結合區以形成具有一或多個流動通道之單一流通槽。結合及/或切割製程可如本文所述執行。

【0165】 在裝配106'之後（亦即結合、或結合及切割），形成一或多個流通槽。方法100'接著涉及移除初始水溶性保護性塗層，從而使官能化聚合物塗層及圖案化之基板之至少部分暴露(元件符號108，展示為IPC移除）；使引子接枝於官能化聚合物塗層（元件符號102'''，示為引子連接）；及在引子、官能化聚合物塗層及之圖案化之基板至少部分上形成第二水溶性保護性塗層（元件符號104'''，示為保護性塗層形成）。

【0166】 製程108、102'''及104'''可能在由於裝配106'形成之流通槽中之各者或任何一或多者中進行。

【0167】 因為初始保護性塗層為水溶性的，所以其移除可涉及溶解製程。水及緩衝劑、或水、或水性緩衝劑可經由蓋板或圖案化之基板中形成之各別輸入孔口引入至流通槽之流動通道中，可維持於流動通道中持續足以溶解初始保護性塗層之時間，且接著可自蓋板或圖案化之基板中形成之各別輸出孔口移除。因此，溶解可以流通製程執行。當保護性塗層溶解時，形成之溶液之水溶性材料濃度相對低（在一些情況下，例如約15%或更少，質量/體積），其使得流動通道及孔口能夠保持不堵塞。在初始保護性塗層溶解且溶液自流通槽移除時，使官能化聚合物塗層及已藉由初始保護性塗層塗佈之圖案化之基板中之任一者暴露。

【0168】 在方法100"之此實施例中，引子接著接枝於凹陷中之官能化聚合物塗層，如元件符號102'''所示。可使用本文所述引子中之任一者。在方法100"之此實施例中，接枝可藉由流通製程實現。在流通製程中，本文所述之引子溶液或混合物可經由各別輸入孔口引入至流通槽之流動通道中，可維持於流動通道中持續足以使引子連接於凹陷中之一或多者中之官能化聚合物塗層之時間（亦即培育期），且接著可自各別輸出物孔口移除。在引子連接之後，可導引其他流體穿過流動通道以洗滌現官能化之凹陷及流動通道。

【0169】 在一實施例中，在引子接枝於凹陷中之官能化聚合物塗層之後，方法100"之此實施例進一步包括在表面化學物質上（在此實施例中為連接引子之官能化聚合物塗層）及在圖案化之基板之至少一部分上形成（第二）水溶性保護性塗層（元件符號104'''）。

【0170】 在此實施例方法100"中，（第二）水溶性保護性塗層可藉由流通製程沈積。在流通製程中，水溶液（包括水及在一些情況下多達約15%（質量/體積）之水溶性材料）可經由各別輸入孔口引入至流通槽之流動通道中，且可維持於流動通道中。可引入足夠水溶液以覆蓋流動通道內之表面化學物質及

圖案化之基板之任何暴露之表面。儘管溶液處於流動通道中，但流通槽可暴露於乾燥製程，在其中經由輸入孔口進行空氣、氮氣或真空沖洗持續設定時間量，以乾燥在表面化學物質及基板之任何經暴露部分上之（第二）水溶性保護性塗層。在其他實施例中，可不執行乾燥製程，且可於流通槽流動通道中形成液體保護性塗層。

【0171】 在此實施例方法100"中，（第二）水溶性保護性塗層可為任何本文所揭示之實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。在一實施例中，水溶性材料可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物（例如KOLLICOAT® IR，獲自巴斯夫公司）、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、乙二醇、乙二胺四乙酸二鈉鹽、具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉。

【0172】 在另一實施例中，在表面化學物質20、22上之引子接枝及（第二）水溶性保護性塗層可經由流通製程同時發生。在此實施例中，單一溶液包括引子及水溶性材料。

【0173】 在一個實施例中，在保護性塗層形成104'"之後，形成一或多個流通槽。

【0174】 由方法100'或100"形成之流通槽10之一實施例示於圖3中。流通槽10包括圖案化之基板12，其可為已暴露於方法100'或100"之製程的晶粒，或已暴露於方法100'或100"之製程且作為裝配106或106'之一部分切割的晶圓。

【0175】 一般而言，圖案化之基板12包括藉由間隙區域16分隔開之凹陷14，及位於凹陷14中之表面化學物質20、22。表面化學物質包括官能化聚合物

塗層20及引子22。儘管圖中未示，但應瞭解凹陷14亦可具有位於基板12與官能化聚合物塗層之間的表面製備化學物質（例如矽烷或矽烷衍生物）。此表面製備化學物質亦可位於間隙區域16上。

【0176】 流通槽10亦包括結合至圖案化之基板12之結合區25之蓋板26，其中蓋板26至少部分界定與凹陷14選擇性連通之流動通道30A、30B等。在圖3中所示之實施例中，蓋板26包括連接至若干側壁29之頂部部分27，且此等組件27、29界定六個流動通道30A、30B、30C、30D、30E、30F中之各者之一部分。各別側壁29分離一個流動通道30A、30B、30C、30D、30E、30F與各相鄰流動通道30A、30B、30C、30D、30E、30F，各流動通道30A、30B、30C、30D、30E、30F與各別組凹陷14選擇性流體連通。

【0177】 儘管圖中未示，但26或圖案化之基板12可包括以流體方式接合其他孔口（圖中未示）之入口及出口孔口，該等其他孔口用於將流體引入各別流動通道30A、30B、30C、30D、30E、30F（自例如試劑筒或其他流體儲存系統引入）中及引出流動通道（例如引入至廢棄物移除系統中）。

【0178】 水溶性保護性塗層24覆蓋凹陷14中之表面化學物質20、22及圖案化之基板12之至少一部分（例如亦不結合區25之彼等間隙區域16）。在實施例流動槽10中，保護性塗層24已由方法100'中元件符號104'所示之製程或方法100"中元件符號104'"所示之製程形成。因此，保護性塗層24可為任何本文所揭示之實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。

【0179】 流通槽10可在適當位置具有保護性塗層24下運送、儲存等。當應用（例如定序操作）中需要利用流通槽10時，保護性塗層可至少部分經由參

考元件符號108所述之溶解製程移除。移除可作為定序操作之一部分進行。或者，為進行定序可不進行移除。

【0180】 圖3中所示之流通槽10可使用非圖案化之基板而非圖案化之基板形成。在非圖案化之基板之情況下，連續表面將包括見於圖3之孔14'中之相同表面化學物質20、22。參考圖6A至6E展示且進一步描述實施例。

【0181】 方法200之另一實施例描繪於圖4中。方法200之此實施例為方法100之變化形式，且詳細描述可涉及之一些其他製程，諸如製備用於表面化學物質20、22之後續沈積的圖案化之基板12之表面（亦即凹陷14及一些情況下之相鄰間隙區域16）的製程。

【0182】 方法200包括將矽烷或矽烷衍生物連接至包括由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板之表面，從而形成矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域（如元件符號202所示）；在矽烷化凹陷中及矽烷化間隙區域上形成官能化聚合物塗層（如元件符號204所示）；自矽烷化間隙區域拋光官能化聚合物塗層（如元件符號206所示）；使引子接枝於矽烷化凹陷中之官能化聚合物塗層以形成官能化凹陷（如元件符號208所示）；及在官能化凹陷及圖案化之基板之至少一部分上形成水溶性保護性塗層（如元件符號210所示）。

【0183】 參考圖5A至經由5H（與方法100'類似）或圖5A至5D及5I至5L（與方法100"類似）進一步描述方法200之實施例。方法200之任何詳述亦可與方法100'或100"組合或包括於其中。

【0184】 圖5A為圖案化之基板12之橫截面視圖。圖案化之基板12可為圖案化之晶圓或圖案化之晶粒或任何其他圖案化之基板（例如板件、矩形薄片等）。可使用本文所述之基板12之任何實施例。可使用圖案化晶圓以形成若干流通槽，且可使用圖案化之晶粒以形成單一流通槽。在一實施例中，基板可具有約2 mm至約300 mm範圍內之直徑，或其最大尺寸高達10尺（約3公尺）之矩

形薄片或板件。在一實施例中，基板晶圓之直徑在約200 mm至約300 mm範圍內。在另一實施例中，基板晶粒之寬度在約0.1 mm至約10 mm範圍內。儘管已提供實施例尺寸，但應瞭解可使用具有任何適合尺寸之基材。

【0185】 圖案化之基板12包括界定於基板12之暴露之層或表面上或中之凹陷14，及分隔開相鄰凹陷14之間隙區域16。在本文所揭示之實施例中，凹陷14用表面化學物質（例如20、22）官能化，儘管可使用間隙區域16用以結合，但其上不存在引子（圖5E及5K中所示）。

【0186】 凹陷14可使用多種技術於基板中或基板12上製成，該等技術包括例如光微影術、奈米壓印微影術、衝壓技術、壓花技術、模製技術、微蝕刻技術、印刷技術等。如熟習此項技術者所瞭解，所用技術將視基板12之組成及形狀而定。

【0187】 可設想凹陷14之多種不同佈局，其包括有規則、重複及非規則圖案。在一實施例中，為緊密堆積及改良密度，將凹陷14安置於六邊形柵格中。其他佈局可包括例如直線（亦即長方體）佈局、三角佈局等。在一些實施例中，佈局或圖案可為成列及成行的x-y格式之凹陷14。在一些其他實施例中，佈局或圖案可為凹陷14及/或間隙區域16之重複排列。在另外其他實施例中，佈局或圖案可為凹陷14及/或間隙區域16之無規則排列。圖案可包括點、小片、孔、柱、條帶、漩渦、線、三角形、矩形、圓形、弧線、方格、格子花、對角線、箭頭、方形及/或交叉影線。

【0188】 佈局或圖案可根據所界定區域中凹陷14之密度（亦即凹陷14之數量）來特性化。舉例而言，凹陷14可以大約2百萬個/平方毫米之密度存在。該密度可調整為不同密度，包括例如至少約100個/平方毫米、約1,000個/平方毫米、約十萬個/平方毫米、約1百萬個/平方毫米、約2百萬個/平方毫米、約5百萬個/平方毫米、約1千萬個/平方毫米、約5千萬個/平方毫米或更大之密度。或者

或另外，密度可經調整而不超過約5千萬個/平方毫米、約1千萬個/平方毫米、約5百萬個/平方毫米、約2百萬個/平方毫米、約1百萬個/平方毫米、約10萬個/平方毫米、約1,000個/平方毫米、約100/平方毫米或更小。應進一步理解，基板12上之凹陷14的密度可介於選自以上範圍之下限值中之一者與上限值中之一者之間。作為實施例，高密度陣列可特性化為使凹陷14分隔開小於約100 nm，中等密度陣列可特性化為使凹陷14分隔開約400 nm至約1 μm，且低密度陣列可特性化為使凹陷14分隔開大於約1 μm。儘管已提供實施例密度，但應瞭解可使用具有任何適合密度之基材。

【0189】 佈局或圖案亦可或者根據平均間距（亦即凹陷14之中心與相鄰間隙區域16之中心之間距，中心距）特性化。圖案可為有規則的，以使得關於平均間距之變化係數較小，或圖案可為不規則的，在此情況下，變化係數可能相對較大。在任一情況下，平均間距可為例如至少約10 nm、約0.1 μm、約0.5 μm、約1 μm、約5 μm、約10 μm、約100 μm或更大。或者或另外，平均間距可為例如至多約100 μm、約10 μm、約 5 μm、約1 μm、約0.5 μm、約0.1 μm或更小。位點16之特定圖案的平均間距可在選自以上範圍的下限值中之一者與上限值中之一者之間。在一實施例中，凹陷14之間距（中心距）為約1.5 μm。儘管已提供實施例平均間距值，但應瞭解可使用其他平均間距值。

【0190】 在圖5A至5L中所示之實施例中，凹陷14為孔14'，且因此圖案化之基板12在其表面中包括一陣列之孔14'。孔14'可為微孔或奈米孔。各孔14'之特徵可為其容積、孔開口面積、深度及/或直徑。

【0191】 各孔14'可具有能夠限制液體之任何容積。可選擇最小或最大容積，例如以適應流通槽10（參見圖5G及5K）之後續使用所期望的輸送量（例如多路傳輸量（multiplexity））、解析度、分析物組成或分析物反應性。舉例而言，容積可為至少約1×10^{-3} μm^3、約1×10^{-2} μm^3、約0.1 μm^3、約1 μm^3、約10

μm^3、約100 μm^3或更大。或者或另外，容積可為至多約1×10^4 μm^3、約1×10^3 μm^3、約100 μm^3、約10 μm^3、約1 μm^3、約0.1 μm^3或更小。應瞭解，官能化聚合物塗層可填充孔14'之容積之全部或一部分。單獨孔14'中之塗佈層之體積可大於、小於以上指定之值，或介於該等值之間。

【0192】 可根據如上文關於孔容積所闡述之類似準則選擇表面上之各孔開口所佔之面積。舉例而言，表面上之各孔開口的面積可為至少約1×10^{-3} μm^2、約1×10^{-2} μm^2、約0.1 μm^2、約1 μm^2、約10 μm^2、約100 μm^2或更大。或者或另外，面積可為至多約1×10^3 μm^2、約100 μm^2、約10 μm^2、約1 μm^2、約0.1 μm^2、約1×10^{-2} μm^2或更小。各孔打開所佔之面積可大於、小於以上指定之值，或介於該等值之間。

【0193】 各孔14'之深度可為至少約0.1 μm、約1 μm、約10 μm、約100 μm或更大。或者或另外，深度可為至多約1×10^3 μm、約100 μm、約10 μm、約1 μm、約0.1 μm或更小。各孔14'之深度可大於、小於以上指定之值，或介於該等值之間。

【0194】 在一些情況下，各孔14'之直徑可為至少約50 nm、約0.1 μm、約0.5 μm、約1 μm、約10 μm、約100 μm或更大。或者或另外，直徑可為至多約1×10^3 μm、約100 μm、約10 μm、約1 μm、約0.5 μm、約0.1 μm或更小（例如約50 nm）。各孔14'之直徑可大於、小於以上指定之值，或介於該等值之間。

【0195】 圖案化之基板12可暴露於一系列製程以在凹陷14中添加表面化學物質20、22及在表面化學物質20、22上及圖案化之基板12之至少一部分上形成水溶性保護性塗層24。圖5B至5H一起說明在保護性塗層24形成之前添加表面化學物質20、22之實施例；且圖5B至5D及5I至5L一起說明在方法200之不同階段形成若干保護性塗層24'、24以保護不同表面化學物質20、22之實施例。

【0196】 儘管圖中未示，但應理解，圖案化之基板12可暴露於電漿灰化

以清潔及活化表面。舉例而言，電漿灰化製程可移除有機材料並引入表面羥基。可部分視基板12之類型而定使用其他適合的清潔製程以清潔基板12。舉例而言，化學清潔可由氧化劑或苛性鹼溶液執行。

【0197】 接著圖案化之基板12（圖5A中所示）可暴露於製備用於沈積官能化聚合物塗層20（圖5C）之表面12之製程，其為本文所揭示之表面化學物質之一個實施例。在一實施例中，圖案化之基板12可暴露於矽烷化，其將矽烷或矽烷衍生物18（圖5B）附著至圖案化晶圓表面。矽烷化在表面上，包括在凹陷14、14'中（例如，在底表面上及沿側壁）及在間隙區域16上引入矽烷或矽烷衍生物18。

【0198】 矽烷化可使用任何矽烷或矽烷衍生物18來實現。矽烷或矽烷衍生物18之選擇可部分地視待用於形成官能化聚合物塗層20（圖5C中所示）之官能化分子而定，因為可能需要在矽烷或矽烷衍生物18與官能化聚合物塗層20之間形成共價鍵。用於將矽烷或矽烷衍生物18連接至基板12之方法可視正使用的矽烷或矽烷衍生物18而變化。本文闡述若干實例。

【0199】 在一實施例中，矽烷或矽烷衍生物18為(3-胺丙基)三乙氧基矽烷（(3-aminopropyl)triethoxysilane；APTES）或(3-胺丙基)三甲氧基矽烷（(3-aminopropyl)trimethoxysilane；APTMS）（亦即$X\text{-}R^{B}\text{-}Si(OR^{C})_3$，其中X為胺基，$R^{B}$為$-(CH_2)_3-$，且$R^{C}$為乙基或甲基）。在此實施例中，基板12表面可用(3-胺丙基)三乙氧基矽烷（APTES）或(3-胺丙基)三甲氧基矽烷（APTMS）預處理以將矽共價連接至表面上之一或多個氧原子（且不意欲藉由機構保持，各矽可鍵結至一個、兩個或三個氧原子）。將此以化學方式處理之表面烘烤以形成胺基單層。胺基接著與磺基-HSAB反應以形成疊氮基衍生物。在21℃下具有1 J/cm^2至30 J/cm^2之能量的UV激活產生活性氮烯物種，其可容易地進行多種與PAZAM（例如官能化分子）之插入反應。

【0200】 亦可使用其他矽烷化方法。適合的矽烷化方法之實例包括氣相沈積、YES方法、旋塗或其他沈積法。本文描述可用以使基板12矽烷化方法及材料之一些實例，但應瞭解可使用其他方法及材料。

【0201】 在利用YES CVD烘箱之一實施例中，圖案化之基板12置放於CVD烘箱中。腔室可排氣且接著開始矽烷化循環。在循環期間，矽烷或矽烷衍生物容器可保持在適合的溫度（例如針對降冰片烯矽烷為約120℃），矽烷或矽烷衍生物蒸汽管線保持在適合的溫度（例如針對降冰片烯矽烷為約125℃），且真空管線保持在適合的溫度（例如約145℃）。

【0202】 在另一實施例中，矽烷或矽烷衍生物18（例如液體降冰片烯矽烷）可沈積於玻璃瓶內且置放於具有圖案化之基板12之玻璃真空乾燥器內。乾燥器接著可抽空至範圍為約15 mTorr至約30 mTorr的壓力，且置放於溫度範圍為約60℃至約125℃之烘箱內。允許繼續進行矽烷化，且接著自烘箱移除乾燥器、冷卻且排氣到空氣中。

【0203】 氣相沈積、YES方法及/或真空乾燥器可與多種矽烷或矽烷衍生物18，諸如包括本文所揭示之不飽和部分之實例的彼等矽烷或矽烷衍生物18一起使用。作為實例，此等方法可在矽烷或矽烷衍生物18包括環烯不飽和部分時使用，該環烯不飽和部分如降冰片烯、降冰片烯衍生物（例如(雜)降冰片烯，包括代替碳原子中之一者的氧或氮）、反式環辛烯、反式環辛烯衍生物、反式環戊烯、反式環庚烯、反式環壬烯、雙環[3.3.1]壬-1-烯、雙環[4.3.1]癸-1(9)-烯、雙環[4.2.1]壬-1(8)-烯及雙環[4.2.1]壬-1-烯。此等環烯中之任一者可例如經R基團取代，該R基團為諸如氫、烷基、烯基、炔基、環烷基、環烯基、環炔基、芳基、雜芳基、雜脂環基、芳烷基或(雜脂環基)烷基。降冰片烯衍生物之實例包括[(5-雙環[2.2.1]庚-2-烯基)乙基]三甲氧基矽烷。作為其他實施例，此等方法可在矽烷或矽烷衍生物18包括環炔不飽和部分時使用，該環炔不飽和部分

為諸如環辛炔、環辛炔衍生物或雙環壬炔（例如雙環[6.1.0]壬-4-炔或其衍生物、雙環[6.1.0]壬-2-炔或雙環[6.1.0]壬-3-炔）。此等環炔可經本文所述之R基團中之任一者取代。

【0204】 如圖5B中所示，矽烷或矽烷衍生物18之連接形成矽烷化圖案化之基板，包括矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域。

【0205】 矽烷化圖案化晶圓接著可暴露於將在矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域上形成官能化聚合物塗層20之製程。

【0206】 如本文中所描述，官能化聚合物塗層20之實例包括PAZAM，或任何其他分子，官能化以與圖案化之晶圓12及隨後塗覆之引子22相互作用。官能化聚合物塗層20可使用參考元件符號102'所述之技術中之任一者在矽烷化圖案化之晶圓之表面上（亦即在矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域上）形成。所得塗層20示於圖5C中。

【0207】 官能化聚合物塗層20與矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域（亦即18）之連接可經由共價結合實現。官能化聚合物塗層20與矽烷化凹陷之共價連接有助於在多次使用期間在整個最終形成之流通槽之壽命中維持凹陷14、14'中之官能化聚合物塗層20。之後為可在矽烷或矽烷衍生物18與官能化聚合物塗層20之間進行的一些反應實例。

【0208】 當矽烷或矽烷衍生物18包括作為不飽和部分之降冰片烯或降冰片烯衍生物時，降冰片烯或降冰片烯衍生物可：i）與PAZAM之疊氮/疊氮基團進行1,3-偶極環加成反應；ii）與連接於PAZAM之四嗪基團進行偶合反應；與連接於PAZAM之腙基團進行環加成反應；與連接於PAZAM之四唑基團進行光點擊反應；或與連接於PAZAM之氧化腈基團進行環加成。

【0209】 當矽烷或矽烷衍生物18包括作為不飽和部分之環辛炔或環辛炔衍生物時，環辛炔或環辛炔衍生物可：i）與PAZAM之疊氮/疊氮基進行應力促

進的疊氮-炔1,3-環加成（strain-promoted azide-alkyne 1,3-cycloaddition；SPAAC）反應，或ii）與連接至PAZAM之氧化腈基團進行應力促進的炔-氧化腈環加成反應。

【0210】 當矽烷或矽烷衍生物18包括作為不飽和部分之雙環壬炔時，雙環壬炔可由於雙環系統中之菌株而與附著至PAZAM之疊氮化物或氧化腈進行類似SPAAC的炔環加成。

【0211】 雖然圖中未示，但應理解，在方法之一些實施例中，圖案化之基板12可不暴露於矽烷化。相反地，圖案化之基板12可暴露於電漿灰化，且接著聚合物塗層20可直接旋塗（或以其他方式沈積）於電漿灰化之圖案化之基板12上。在此實施例中，電漿灰化可產生可使官能化聚合物塗層20黏著於圖案化之基板12之表面活化劑（例如-OH基團）。在此等實例中，選擇官能化聚合物塗層20以致其與由電漿灰化產生之表面基團反應。

【0212】 此外，儘管圖中未示，但應瞭解矽烷化且經塗佈之圖案化之基板（圖5C中所示）可暴露於清潔製程。此製程可利用水浴及音波處理。水浴可維持在約22℃至約45℃範圍內之相對較低溫度下。在另一實例中，水浴溫度在約25℃至約30℃範圍內。

【0213】 矽烷化且經塗佈之圖案化之基板接著暴露於拋光以自矽烷化間隙區域移除官能化聚合物塗層20之部分。矽烷化、經塗佈及經拋光圖案化之基板示於圖5D中。與間隙區域16相鄰之矽烷或矽烷衍生物18之部分可因拋光而移除或可不移除。因此，在圖5D至5L中，與間隙區域16相鄰之矽烷或矽烷衍生物18之部分以陰影所示，因為其在拋光之後可至少部分保留或在拋光之後其可移除。當此等矽烷化部分完全移除時，應瞭解使底層基板12暴露。因此，在一些實施例中，分隔層28可在結合區25直接接觸基板12（例如圖5G及5J中）且保護性塗層24'、24可在一或多個間隙區域16直接接觸基板12（例如圖5F、5J及5L

中）。當在拋光之後保留此等矽烷化部分至少部分時，隨後結合之蓋板及隨後形成之保護性塗層24、24'在結合區25及間隙區域16直接接觸矽烷或矽烷衍生物18。

【0214】 拋光製程可由柔和化學漿料（包括研磨劑）執行，由此可自間隙區域16移除薄官能化聚合物塗層20，且在一些情況下為矽烷或矽烷衍生物18之至少一部分，而不有害影響彼等區域之底層基板12。或者，可用不包括磨料顆粒之溶液進行拋光。

【0215】 柔和化學漿料為pH值在約7.5至約11範圍內且包括研磨顆粒之鹼性含水漿料。研磨顆粒之實例包括碳酸鈣（$CaCO_3$）、瓊脂糖、石墨、聚(甲基丙烯酸甲酯）（poly(methyl methacrylate)，PMMA）、二氧化矽、氧化鋁（亦即礬土）、二氧化鈰、聚苯乙烯及其組合。在一些實施例中，研磨顆粒選自由碳酸鈣（$CaCO_3$）、瓊脂糖及石墨組成之群。研磨顆粒之平均粒度可在約15 nm至約5 μm之範圍內，且在一個實施例中為約700 nm。

【0216】 除研磨顆粒以外，鹼性含水漿料亦可包括緩衝劑、螯合劑、界面活性劑及/或分散劑。緩衝劑之一實例包括參鹼基（亦即參(羥基甲基)胺基甲烷），其可存在於pH約為9之溶液中。螯合劑之一實例為乙二胺四乙酸（ethylenediaminetetraacetic acid；EDTA），其可存在於pH約為8之溶液中。界面活性劑之一實例為陰離子界面活性劑，諸如十二烷基硫酸鈉。可使用具有不同分子量之聚丙烯酸酯分散劑。分散劑之一實例為聚(丙烯酸鈉鹽）。分散劑可有助於維持研磨顆粒之尺寸，且至少大體上防止研磨顆粒之沈降。

【0217】 在化學機械拋光系統中可使用鹼性含水漿料以拋光圖5C中所示之矽烷化且經塗佈之圖案化之基板之表面。拋光頭/襯墊或其他拋光工具能夠自間隙區域16拋光官能化聚合物塗層20，同時留下凹陷14、14'中之官能化聚合物塗層20且使底層基板12至少大體上完整。舉例而言，拋光頭可為Strasbaugh

ViPRR II拋光頭。

【0218】 如上文所提及，拋光可用拋光墊及溶液來進行，而不需任何研磨劑。舉例而言，拋光墊可與不含研磨顆粒之溶液（亦即不包括研磨顆粒之溶液）一起使用。

【0219】 拋光自間隙區域16移除官能化聚合物塗層20之部分（且在一些情況下為矽烷或矽烷衍生物18之至少一部分）且留下矽烷化凹陷中之官能化聚合物塗層20之部分，如圖5D中所示。此外，如上文所提及，間隙區域16在拋光完成後仍可矽烷化。換言之，矽烷化間隙區域在拋光後仍可保持完整。或者（如由18之陰影部分指示），矽烷或矽烷衍生物18可因拋光而自間隙區域16移除。

【0220】 儘管圖中未示，但應瞭解矽烷化、經塗佈且經拋光之圖案化之基板（圖5D中所示）可暴露於清潔製程。此製程可利用水浴及音波處理。水浴可維持在約22℃至約30℃範圍內之相對較低溫度下。矽烷化、經塗佈且經拋光之圖案化之基板亦可旋轉乾燥，或經由另一適合的技術乾燥。

【0221】 圖5D中所示之矽烷化、經塗佈且經拋光之圖案化之基板接著可暴露於圖5E至5H中所示之製程或圖5I至5L中所示之製程。在圖5E至5H中，形成單一水溶性保護性塗層24，且在圖5I至5L中，形成多個水溶性保護性塗層24'、24。

【0222】 現將描述圖5E至5H中所示之實施例。在圖5E中，將引子22接枝於凹陷14、14'中之官能化聚合物塗層20。可使用本文所述引子中之任一者。在此實施例中，接枝可藉由浸塗、噴塗、覆液分配或藉由將引子連接至凹陷14、14'中之至少一些中的官能化聚合物塗層20的另一適合的方法實現。此等實施例技術中之各者可利用本文所述之引子溶液或混合物，其可包括引子、水、緩衝劑及催化劑。

【0223】 如圖5F中所示，在引子22接枝於凹陷14、14'中之官能化聚合物塗層20之後，在表面化學物質20、22上及在圖案化之基板之至少一部分上形成水溶性保護性塗層24。可在圖案化之基板12之不為結合區25之一部分的暴露表面上形成水溶性保護性塗層24。在此實施例中，水溶性保護性塗層24選擇性沈積於相鄰凹陷14、14'之間的間隙區域16上或在其上圖案化，但在安置結合區25之圖案化之基板12之邊緣/周邊不沈積或圖案化。水溶性保護性塗層24之選擇性沈積/圖案化可使用水溶液實現，如本文所述。在此實施例中，水溶液中之材料可為任何本文所揭示實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。在一實施例中，可為水溶性材料。在水溶液沈積之後，可將其乾燥以形成水溶性保護性塗層24。

【0224】 如圖5G中所描繪，蓋板26接著可結合至結合區25。蓋板26可為任何材料且呈本文所述之任何組態。蓋板26亦可經由本文所述技術中之任一者結合至結合區25。

【0225】 在圖5G中所示之實施例中，蓋板26包括與側壁29一體形成之頂部部分27。側壁29經由分隔層28結合至圖案化之基板12之結合區25。

【0226】 總之，蓋板26及圖案化之基板12（具有表面化學物質20、22）界定與凹陷14、14'選擇性流體連通之流動通道30。流動通道30可用以例如將流體選擇性引入至保護性塗層24中以移除塗層24，且將反應組分或反應物選擇性引入至表面化學物質20、22中（在保護性塗層24移除之後）以起始凹陷14、14'中/處之指定反應。

【0227】 當蓋板26結合至矽烷化、經塗佈、經拋光且接枝之圖案化之基板時，形成流通槽10'之實施例，如圖5G中所示。在此實施例中，保護物24保留

於表面化學物質20、22及一些圖案化之基板表面上之適當位置。流通槽10'可在適當位置具有保護性塗層24下運送、儲存等。

【0228】 當在應用（例如定序操作）中需要利用流通槽10'時，保護性塗層24可經由參考元件符號108所述之溶解製程移除。保護性塗層24之水溶性使其能夠經由溶解於水溶液中而移除，該水溶液對底層表面化學物質20、22或圖案化之基板12無害。圖5H描述保護性塗層24移除後之流通槽10'。

【0229】 現將描述圖5I至5L中所示之實施例。在圖5I中，初始水溶性保護性塗層24'可選擇性沈積或圖案化，以使得覆蓋官能化聚合物塗層20且使得圖案化之基板12之結合區25仍保持暴露。在此實施例中，初始水溶性保護性塗層24'選擇性沈積於相鄰凹陷14、14'之間的間隙區域16上或在其上圖案化，但在安置結合區25之圖案化之基板12之邊緣/周邊不沈積或圖案化。初始水溶性保護性塗層24'之選擇性沈積/圖案化可如本文所述使用參考元件符號104"所述之水溶液（其包括水及在一些情況下高達約15%（質量/體積）之聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖或聚乙二醇）來實現。

【0230】 初始保護性塗層24在隨後執行之任何裝配製程期間保護官能化聚合物塗層20。如圖5J中所描繪，裝配製程可包括使蓋板26結合至結合區25。儘管圖中未示，但當使用基板晶圓時，裝配製程可包括結合及切割。蓋板26可為任何材料且可具有本文所述之任何組態。蓋板26可經由本文所述技術中之任一者結合至結合區25。

【0231】 在圖5J中所示之實施例中，蓋板26包括與側壁29一體形成之頂部部分27。側壁29經由分隔層28結合至圖案化之基板12之結合區25。在蓋板26結合之後，在蓋板26與圖案化之基板12之間形成流動通道30。流動通道30可用以將各種流體選擇性引入至流通槽10'中。

【0232】 接著可移除初始水溶性保護性塗層24'，如圖5K中所示。因為初

始保護性塗層為水溶性的，所以其移除可涉及水溶液溶解，如參看元件符號108所描述。在初始保護性塗層24'溶解及自流動通道30移除溶液時，使官能化聚合物塗層20及已經初始保護性塗層24'塗佈之任何圖案化之基板12（例如不結合至蓋板26之間隙區域16）暴露。

【0233】 此外，圖5K中所示，在初始保護性塗層24'移除之後，引子22可接枝於凹陷14、14'中之官能化聚合物塗層20。可使用本文所述引子22中之任一者。在此實施例中，接枝可使用流通製程（元件符號102'''）及本文所述之引子溶液或混合物實現，其可包括引子、水、緩衝劑及催化劑。在引子22接枝之後，形成流通槽10'。

【0234】 若將流通槽10'運送或儲存一些時段，則可將（第二）水溶性保護性塗層24塗覆至表面化學物質20、22及圖案化之基板12之至少一部分（亦即暴露於通道30內之間隙區域16）上，如圖5L中所示。（第二）水溶性保護性塗層24之沈積可使用參考元件符號104'''所描述之流通製程及水溶液來實現。重申一下，在此實施例中，水溶液中之水溶性材料可為任何本文所揭示實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。在一實施例中，水溶性材料可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、乙二醇、乙二胺四乙酸鈉鹽、具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉。

【0235】 方法（例如方法100或200）之另一實施例涉及非圖案化之基板12'，如圖6A至6E中所示。

【0236】 本文所揭示之基板中之任一者及非圖案化之基板12'不包括凹陷

14或間隙區域16。在此實施例方法中，蓋板26在開始時結合至非圖案化之基板12'以形成流動通道30。蓋板26可為任何材料且呈本文所述之任何組態。蓋板26亦可經由任何本文所述之技術結合至非圖案化之基板12'。

【0237】 在圖6B中所示之實施例中，蓋板26包括與側壁29一體形成之頂部部分27。側壁29經由分隔層28結合至非圖案化之基板12'之結合區。結合區可在非圖案化之基板12'之周邊或在需要形成流動通道30之邊界的任何區域。在其他實施例中，分隔層28可形成側壁且可連接於至少大體上平坦的蓋板26。

【0238】 總之，蓋板26（包括側壁29）及非圖案化之基板12界定流動通道30。流動通道30可用以例如選擇性引入流體以形成表面化學物質20、22及保護性塗層24，移除塗層24及將反應組分或反應物選擇性引入至表面化學物質20、22中（在保護性塗層24移除之後），以在流動通道30內起始指定反應。

【0239】 在形成官能化聚合物塗層20（圖6C所示）之前，該方法可涉及使非圖案化之基板（經由流通製程）暴露於清潔製程及/或製備用於官能化分子後續沈積之非圖案化之基板之暴露表面的另一製程（例如矽烷化）。

【0240】 非圖案化之基板12'之矽烷化示於圖6B中。在此實施例中，矽烷化使矽烷或矽烷衍生物18連接至流動通道30中存在之非圖案化之晶圓表面12'之經暴露部分。

【0241】 矽烷化可使用任何矽烷或矽烷衍生物18來實現。矽烷或矽烷衍生物18之選擇可部分地視待用於形成官能化聚合物塗層20（圖6C中所示）之官能化分子而定，因為可能需要在矽烷或矽烷衍生物18與官能化聚合物塗層20之間形成共價鍵。用以連接矽烷或矽烷衍生物18與基板12'之方法可為流通製程。

【0242】 如圖6C中所示，在此實施例中，接著在矽烷或矽烷衍生物18上或在已沈積以製備流動通道30內非圖案化之基板12'之暴露表面的其他化學物質上形成官能化聚合物塗層20。

【0243】 可使用本文所述之官能化分子中之任一者。在此實施例中，官能化聚合物塗層形成可藉由流通製程來實現。在流通製程中，官能化分子可經由各別輸入孔口引入至流動通道30中且可固化。官能化聚合物塗層20將在非圖案化之基板12'之暴露表面上形成且不進行拋光。

【0244】 如圖6D中所示，引子22接枝於流動通道30中之官能化聚合物塗層20。可使用本文所述引子中之任一者。在此實施例中，接枝可藉由流通製程實現。在流通製程中，本文所述之引子溶液或混合物可經由各別輸入孔口引入至流動通道30中，可維持於流動通道中足以使引子連接至官能化聚合物塗層20之時間（亦即培育時段），且接著可能自各別輸出孔口移除。在引子連接之後，其他流體可經導引穿過流動通道以洗滌現官能化之流動通道30。

【0245】 在此實施例中，所得流通槽10"示於圖6D中。此流通槽10"可用於定序操作中，或可用用於運送及/或儲存之保護性塗層24塗佈。

【0246】 如圖6E中所示，在一實施例中，在引子22接枝於流動通道30中之官能化聚合物塗層20之後，在表面化學物質20、22上形成水溶性保護性塗層24。在此實施例中，水溶性保護性塗層24形成可藉由流通製程實現。在流通製程中，水溶液（包括水及在一些情況下多達約15%（質量/體積）之水溶性成膜材料）可經由各別輸入孔口引入至流動通道30中，且可維持於流動通道中。可引入足夠之水溶液以覆蓋流動通道30內之表面化學物質20、22。儘管在流動通道30中，流通槽可暴露於乾燥製程，在其中經由輸入孔口進行空氣、氮氣或真空沖洗持續設定時間量，以乾燥在表面化學物質20、22上之（第二）水溶性保護性塗層。

【0247】 在此實施例中，水溶液中之水溶性材料可為任何本文所揭示實施例（亦即水溶性非陽離子型合成聚合物；水溶性天然多醣或其衍生物；水溶性天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；選自由以下組成之群的水溶性小分子化

合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇；或環糊精）。在一實施例中，水溶性材料可為聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、乙二醇、乙二胺四乙酸鈉鹽、具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉中之任一者。

【0248】 應瞭解，在一些實施例中可同時發生引子接枝及水溶性保護性塗層24形成。

【0249】 當在應用（例如定序操作或基因分型操作）中需要利用流通槽10"（在化學物質20、22之表面上具有保護性塗層24）時，保護性塗層24可經由參考元件符號108所述之溶解製程移除。保護性塗層24之水溶性使其得能夠經由溶解於水溶液中移除，其對底層表面化學物質20、22無害。

【0250】 此外，本文所揭示之方法可涉及執行品質控制分析。在一實施例中，分析可為CFR或HP-TET分析或另一適合的基於染料之分析。可在引入保護性塗層24之前（但在引子接枝之後）且接著又在保護性塗層24移除（及引子再暴露）之後執行分析。分析資料可指示是否已發生任何引子降解。在一實施例中，該方法涉及移除水溶性保護性塗層；及執行基於染料之分析以偵測引子之任何降解。在一實施例中，本文所揭示之流通槽10、10'、10"在其上有保護性塗層下儲存2天之後可展現小於15%之CFR保持力下降，且在另一實施例中，在其上有保護性塗層下儲存2天之後小於10%之CFR保持力下降。在另一實施例中，流通槽10、10'、10"可不展現CFR保持力下降，但可展現增加之保持力（例如約1%至約25%或對於另一實例約5%至約20%之範圍）。在另一實施例中，在引子接枝之後但在塗覆水溶性塗層之前，引子接枝效率可藉由接枝引子與標記之品質控制寡核苷酸之雜交來偵測。偵測雜交之品質控制寡核苷酸且接

著自接枝引子去雜交。接著塗覆水溶性塗層。

【0251】 本文所揭示之實施例說明不在結合區25上形成保護性塗層24。然而，在其他實施例中，保護性塗層24可在整個基板12、12'表面上（亦即在化學物質20、22之表面上，在一些實施例中在間隙區域16上，及在結合區25上）形成，且蓋板26可經由保護性塗層24結合至基板12、12'。

【0252】 儘管圖中未示，但應瞭解流通槽10、10'、10"之一些實例可經由一或多個緊固機構（例如黏著劑、鍵、固定件及其類似物）直接黏附於，且因此實體接觸於偵測裝置(圖中未示)。偵測裝置可包括CMOS裝置（其包括複數個堆疊層。包括例如矽層、電介質層、金屬電介質層、金屬層等）及光學組件。光學組件經排列以使得偵測裝置之光學感應器與偵測裝置之單一光波導及流通槽10、10'、10"之單一凹陷14、14'內之表面化學物質20、22至少大體上對準且因此可操作地關聯。

【0253】 此外儘管圖中未示，但應瞭解，代替結合至蓋板26，官能化基板（其上或在凹陷14中具有表面化學物質20、22）可結合至其上或在凹陷14中具有表面化學物質20、22之另一官能化基板。兩個官能化表面可彼此面向且其間可界定有流動通道。分隔層及適合的結合方法可用以將兩個官能化基板結合於一起。

【0254】 本文所揭示之流量槽10、10'、10"可用於多種定序方法或技術中，包括通常稱為合成定序（sequencing-by-synthesis SBS）、循環陣列定序、接合定序、焦磷酸定序等技術。在此等技術中之任一者下及在使用圖案化之基板之實施例中，因為官能性分子層20及連接之定序引子22存在於官能化凹陷（亦即14、14'，其上具有表面化學物質20、22）中且不存在於間隙區域16上，擴增將限於官能化凹陷中。在其他實施例中，擴增可在整個流通槽通路上進行。

【0255】 作為一個實施例，合成定序（SBS）反應可在諸如來自Illumina（San Diego, CA）之HiSeq™、HiSeqX™、MiSeq™、NovaSeq™或NextSeq™定序器系統之系統上運作。在SBS中，監測核酸引子沿著核酸模板之延伸以測定模板中之核苷酸的序列。基本化學方法可為聚合（例如藉由聚合酶之催化）或接合（例如藉由接合酶之催化）。在特定基於聚合酶之SBS製程中，以模板依賴性方式向引子22中添加經螢光標記之核苷酸（從而延伸引子22），以使得可使用添加至引子22中之核苷酸之次序及類型的偵測來測定模板之序列。舉例而言，為起始第一SBS循環，可遞送一或多種標記之核苷酸、DNA聚合酶等至/穿過容納引子22陣列之流動通道30、30A等。引子延伸致使併入有標記之核苷酸之官能化凹陷（亦即14、14'，其上具有表面化學物質20、22）可經由成像事件偵測。在成像事件期間，照明系統（圖中未示）可為官能化凹陷（亦即14、14'其上具有表面化學物質20、22）提供激發光。

【0256】 .在一些實施例中，核苷酸可進一步包括可逆終止特性，一旦核苷酸已添加至引子22中，則該特性會進一步終止引子延伸。舉例而言，可將具有可逆終止子部分之核苷酸類似物添加至引子22中，以使得後續延伸不能進行，直至遞送去阻斷劑（deblocking agent）移除該部分為止。因此，對於使用可逆終止之實施例，可將去阻斷試劑遞送至流動通道30、30A等中（在偵測進行之前或之後）。

【0257】 在各種流體傳遞步驟之間可進行洗滌。SBS循環接著可重複n次以使引子22延伸n個核苷酸，從而偵測長度n之序列。

【0258】 儘管已詳細描述SBS，但應瞭解，本文所述之流量槽10、10'、10"可與其他定序方案一起用於基因分型或用於其他化學及/或生物學應用中。

【0259】 為進一步說明本發明，本文給出實施例。應瞭解，提供此實施例以達成說明之目的，且不視為限制本發明之範疇。

【0260】 在一些此等實施例中，將保護性塗層乾燥且一些保護性塗層為潤濕的。潤濕塗層稱為「濕式儲存（wet storage/wet stored）」。儘管暴露於乾燥製程之塗層可見地乾燥且呈固體，但應瞭解可存在痕量水分。潤濕塗層呈液體形式。

非限制性實施例

【0261】 ***實施例1***

【0262】 實施例流通槽（1A及1B）包括圖案化之矽及/或氧化鉭基板上界定之若干流動通道/通路，其中各通路與複數個孔流體連通。在各孔中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。最終在表面化學物質上形成保護性塗層（如下文所述）。將一些保護性塗層乾燥且保護性塗層中之一者為潤濕的。

【0263】 測試比較流通槽。表面化學物質與實施例流通槽相同。在比較流通槽之表面化學物質上不形成保護性塗層。

【0264】 在將保護性塗層添加至實施例流通槽之前，在各實施例及比較流通槽之各通路中執行第一HP-TET品質控制分析。HP或髮夾界定用以探測接枝流通槽表面上之引子的DNA分子之二級結構部分，且TET（TET+DNA）為具有所用引子之互補序列的染料標記之寡核苷酸。TET與引子雜交，洗掉過量TET，且連接之染料的螢光藉由螢光偵測來量測。

【0265】 在第一HP-TET分析之後，製備聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物（在此實施例中為KOLLICOAT® IR）之若干水溶液。各溶液具有0.10%至10%（質量/體積）範圍內之不同濃度之共聚物。使用流通製程以將水溶液中之一者引入至各流通槽之通路中之一者中，及各別通路內之PAZAM層及引子上。將水溶液乾燥以形成保護性塗層。各乾燥保護性塗層具有不同濃度之共聚物。使用氮氣乾燥此等實施例槽及比較槽。

【0266】 在適當的位置具有保護性塗層下，乾燥實施例流通槽接著在60℃下乾式儲存3天（等效於在25℃或環境條件下乾式儲存1個月）。

【0267】 使比較未經塗佈之流通槽（「未經塗佈」）暴露於相同乾式儲存條件。

【0268】 另一保護性塗層由使用流通製程引入液態氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑形成。因此，使此實施例流通槽暴露於濕式儲存條件，其中在4℃下在流通槽表面化學物質上用氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑浸泡。

【0269】 在儲存之後，在洗滌期間經由水溶液溶解自各別實施例流通槽之通路移除保護性塗層，沖洗乾淨濕式儲存之流通槽。另一HPTET品質控制分析在各實施例及比較流通槽之各通路中執行。

【0270】 使用塗佈前及儲存後之HP-TET結果計算HP-TET保持率結果。保持率示於圖7中。如所描述，對於流通槽1A與1B，HP-TET保持力一般隨共聚物濃度之增加而增加。處於或低於1%，共聚物塗層不如比較實施例或濕式儲存有效。此實施例說明在約2.5%至約10%範圍內之共聚物濃度下，保護性塗層相比於在相同乾式條件下儲存之未經塗佈之表面化學物質會改良表面化學物質之乾式儲存穩定性，且接近濕式儲存條件之穩定性。

【0271】 ***實施例2***

【0272】 實施例流通槽（各2A至2H中之兩者）包括一個經氧化鉭塗佈之矽基板上界定之通路。在通路中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。最終在表面化學物質上形成保護性塗層。如下所述，測試兩個實施例流通槽之各類型之保護性塗層，且圖8中之結果為兩個具有相同類型之保護性塗層的流通槽之平均值。將一些保護性塗層乾燥（2A至2H）且保護性塗層中之一者為潤濕的。

【0273】 測試比較流通槽。表面化學物質與實施例流通槽相同。在比較

流通槽之表面化學物質上不形成保護性塗層。

【0274】 在將保護性塗層添加至實施例流通槽之前，在實施例及比較流通槽之各通路中執行第一HP-TET品質控制分析。

【0275】 在第一HP-TET分析之後，製備不同可能保護性塗層材料之若干水溶液。溶液由以下製備：乙二胺四乙酸鈉鹽（EDTA）（0.1 wt%）、丙三醇（1 wt%）、對苯二酚（0.1 wt%）、KOLLICOAT® IR（1%）、聚乙二醇3000（1%）、（參(2-羧基乙基)膦）（TCEP）（0.1 wt%）、Tris Base（pH 7-8）（100 mM）及TWEEN® 20（非離子型乳化劑)（1%）。

【0276】 使用流通製程將水溶液中之一者引入至實施例流通槽中之兩者中（亦即EDTA溶液處於兩個流通槽中（統稱為2A），丙三醇溶液處於另兩個流通槽中（統稱為2B），對苯二酚溶液處於另兩個流通槽中（統稱為2C），KOLLICOAT® IR溶液處於另兩個流通槽中（統稱為2D），聚乙二醇3000溶液處於另兩個流通槽（統稱為2E），TCEP溶液處於另兩個流通槽中（統稱為2F），Tris Base溶液處於另外兩個流通槽中（統稱為2G）且TWEEN® 20溶液處於另兩個流通槽中（統稱為2H））及各別流通槽內之PAZAM層及引子上。將水溶液乾燥以形成保護性塗層。使用氮氣執行實施例槽及比較槽之乾燥。

【0277】 接著在適當的位置具有保護性塗層下，在60℃下將實施例流通槽乾式儲存3天（等效於在25℃或環境條件下乾式儲存1個月）。

【0278】 使比較未經塗佈之流通槽（C1）暴露於相同乾式儲存條件。

【0279】 另一保護性塗層由使用流通製程引入液態氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑形成。因此，使此實施例流通槽（WC）暴露於濕式儲存條件，其中在4℃下在流通槽表面化學物質上用氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑浸泡。

【0280】 在儲存之後，在洗滌期間經由水溶液溶解自實施例流通槽之通

路移除保護性塗層，沖洗乾淨濕式儲存之流通槽（WC）。另一HP-TET品質控制分析在各實施例及比較流通槽之各通路中執行。

【0281】 使用塗佈前及儲存後之HP-TET結果計算HP-TET保持力結果。保持力資料示於圖8中。如所描述，具有丙三醇（2B）、共聚物（2D）、聚乙二醇（2E）、及TCEP（2F）塗層之流通槽的HP-TET保持力與在類似條件下儲存之乾式儲存比較實施例（C1）相當或較佳。塗層2A、2C、2G及2H之結果指示此等濃度及/或藉由流通製程塗覆之此等塗層可阻礙引子之可接近性及/或可能不阻止表面化學物質以及塗層2B及2D-2F之降解。咸信，塗層2A、2C、2G及2H可較佳在不同濃度下及/或當藉由不同塗佈製程塗覆時進行。

【0282】 ***實施例3***

【0283】 此實施例中所用之流通槽各包括其上界定有4個通路之非圖案化之玻璃基板。在流通槽中之一者中，使用通路中之兩者（統稱為3A）作為實施例通路，且使用通路中之兩者（統稱為C2A）作為比較實施例通路。在另一流通槽中，使用通路中之兩者（統稱為3B）作為實施例通路，且使用通路中之兩者（統稱為C2B）作為比較實施例通路。在第三流通槽中，使用通路中之兩者（統稱為3C）作為實施例通路，且使用通路中之兩者（統稱為C2C）作為比較實施例通路。

【0284】 在各通路中形成PAZAM層，且使引子接枝於PAZAM層上。在實施例通路（3A、3B、3C）中，使用流通製程在表面化學物質上形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。在比較實施例通路（C2A、C2B、C2C）中，不形成保護性塗層。藉由使氮氣流過各通路30秒對實施例通路及比較實施例通路進行乾燥。

【0285】 具有實施例流動通路3A及比較流動通路C2A之流通槽在84%相對濕度下在封裝中儲存7天及14天。具有實施例流動通路3B及比較通路C2B之

流通槽在5%相對濕度下在封裝中儲存7天及14天。

【0286】 自儲存處移出此等流通槽且用於定序。使實施例通路3A、3B及比較實施例通路C2A、C2B暴露於定序期間之洗滌步驟。咸信洗滌至少部分自實施例通路3A、3B移除保護性塗層。然而，定序亦可在不移除保護性塗層下執行。

【0287】 圖9展示通路（3A、3B、C2A、C2B）在第一定序循環後之螢光強度之繪圖。資料展示與不使用保護性塗層時相比，保護性塗層處於適當的位置時，第1循環強度受潮濕儲存條件影響最小（亦即比較3A與C2A且比較3B與C2B）。未經塗佈之通路C2A、C2B之第1循環強度指示表面化學物質由於潮濕暴露而衰減。對5%濕度（流動通路3B）之強度的作用亦小於在84%濕度（流動通路3A）下觀察到之作用。

【0288】 具有實施例流動通路3CA及比較流動通路C2C之流通槽在外部溫度波動下儲存2天與19天之間。相比於各別時段，在各24小時時段期間，溫度分佈斜坡在約-23℃至約60℃範圍內。在第0小時至約第8小時，溫度維持在約-23℃至-25℃之間。溫度接著上升至約60℃且維持約8小時。溫度接著降回約-23℃至-25℃之間，且在約第18小時至第24小時，溫度維持在約-23℃至-25℃之間。

【0289】 自儲存處移出此流通槽且用於定序。在定序期間使實施例通路3C及比較實施例通路C2C暴露於洗滌步驟，且咸信此等步驟至少部分自實施例通路3C移除保護性塗層（但定序可在不移除保護性塗層之前進行）。

【0290】 圖10展示通路（3C、C2C）在第一定序循環後之螢光強度之繪圖。資料展示與不使用保護性塗層時相比，保護性塗層處於適當的位置時，第1循環強度受外部溫度波動影響最小（亦即比較3C與C2C。未經塗佈之通路C2C之第1循環強度指示表面化學物質由於外部溫度波動而衰減。

【0291】 *實施例4*

【0292】 在此實施例中使用兩個開放流通槽（亦即不附著蓋板）。各開放流通槽包括圖案化之矽基板上所界定之單一通路（4A、4B），其中各通路與複數個孔流體連通。在各孔中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。

【0293】 在形成任何保護性塗層之前，使兩個開放流通槽暴露於定序。

【0294】 接著使用浸塗製程在各開放流通槽之一半表面化學物質上形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。開放流通槽在氮氣中乾燥。因此，在此實施例中，經塗佈之半邊稱為實施例4A及4B，且未經塗佈之半邊稱為比較實施例C3及C4。

【0295】 在保護性塗層形成之後，使包括經塗佈之側面4A及比較未經塗佈之側面C3之樣品流通槽暴露於60℃下之開放儲存6天。在開放儲存中，使保護性塗層及未經塗佈之側面之暴露之表面化學物質直接暴露於60℃溫度。使包括經塗佈側面4B及比較未經塗佈側面C4之樣品流通槽暴露於室溫下之開放儲存7天。

【0296】 自儲存處移出整個流通槽（亦即先前經塗佈之半邊4A及4B）及未經塗佈之半邊（C3及C4），用於定序。咸信在洗滌步驟期間經由水溶液溶解自經塗佈之半邊4A及4B至少部分移除保護性塗層。

【0297】 圖11A展示包括4A及C3之流通槽在T0時（亦即在4A上預塗佈）及在儲存之後在T1時之第一定序循環後之螢光強度之繪圖。資料展示與不使用保護性塗層時相比，保護性塗層處於適當的位置時，第1循環強度受60℃下之開放儲存影響最小（亦即比較4A與C3）。未經塗佈之一半C3之第1循環強度指示表面化學物質由於開放儲存而衰減。

【0298】 圖11B展示兩個繪圖：上圖說明通過過濾器之團簇之百分比

（通過過濾器%（PF）），且下圖說明包括4B及C4之流通槽在T0時（亦即在4B上預塗佈）及在儲存之後在T1時獲得之兩個操作之第一定序循環後之螢光強度。通過過濾器%（PF）為用以描述通過純度閾值且用於進一步處理及分析定序資料之團簇之度量。較高通過過濾器%致使用於定序資料之特有團簇之產率增加。圖11B中之資料展示，當使用保護性塗層時通過過濾器%有所改良（在T0時及兩個T1資料點比較4B與C4）。圖11B中之資料亦展示，與不使用保護性塗層時相比，保護性塗層處於適當的位置時，第1循環強度受室溫下開放儲存影響最小（亦即在T0時及兩個T1資料點比較4B與C4）。未經塗佈一半C4之第1循環強度指示表面化學物質由於甚至室溫下之開放儲存而衰減。

【0299】 ***實施例5***

【0300】 開放圖案化之玻璃晶圓在其各孔中形成PAZAM層。在拋光之後，將晶圓切割，且在一個經切割槽上噴霧塗佈KOLLICOAT® IR保護性塗層。比較經切割槽以類似方式形成（具有PAZAM塗層），但其中改為不形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。

【0301】 實施例及比較經切割槽在20℃、60℃及80℃下儲存1小時。在儲存之後，在洗滌期間經由水溶液溶解自實施例經切割槽移除保護性塗層。1 μm引子接著接枝於實施例及比較經切割槽之PAZAM層以分別形成實施例流通槽及比較流通槽。

【0302】 執行CFR分析以確定引子之接枝是否受不同儲存條件影響。在CFR分析期間，使引子接枝表面暴露於緩衝溶液中之螢光標記（卡爾氟紅）之互補寡核苷酸。此等寡核苷酸結合至表面結合引子且洗掉過量CFR。接著用螢光偵測器掃描表面以量測表面上之CFR強度，以提供表面上之引子濃度及健康狀況之定量量度。在量度之後，用弱鹼溶液移除寡核苷酸且再掃描表面以確定所有CFR均移除。

【0303】 實施例流通槽之中值強度結果示於圖12A中且比較流通槽之中值強度結果示於圖12B中。明顯地，在暴露於60℃或更高溫度下有害影響比較流通槽之未經塗佈之PAZAM層接枝引子之能力（圖12B）。與比較經切割槽之未經塗佈之PAZAM層相比，實施例流通槽之經塗佈之PAZAM層較佳在所有測試溫度下均能夠接枝引子（比較圖12A及12B）。儘管在80℃下實施例與比較流通槽之中值強度降低，但與比較流通槽相比，實施例流通槽似乎較慢降解。

【0304】 ***實施例6***

【0305】 此實施例中所用之流通槽各包括其上界定有4個通路之非圖案化之玻璃基板。在各流通槽中，通路中之兩者為其上形成有保護性塗層之實施例通路，且通路中之兩者為其上不形成有保護性塗層之比較通路。

【0306】 在各槽之各通路中，形成PAZAM層，且使用流通製程使引子接枝於PAZAM層上。在各流通槽之兩個實施例通路中之各者中，使用流通製程在表面化學物質上形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。在各流通槽之兩個比較實施例通路中之各者中，不形成保護塗佈。藉由使氮氣流過各通路30秒對實施例通路及比較通路進行乾燥。

【0307】 各流通槽（包括兩個實施例通路及兩個比較實施例通路）儲存於特定溫度，亦即25℃、40℃、60℃或80℃下。各槽儲存天數在1天至120天間變化。

【0308】 流通槽自儲存處移出且用於定序。在定序期間使實施例通路及比較實施例通路暴露於洗滌步驟，且咸信此等步驟自實施例通路至少部分移除保護塗層（但定序可在無此類移除下進行）。

【0309】 圖13展示各組通路（實施例（亦即6）或比較（亦即C5））在第一定序循環後之平均螢光強度之繪圖。展示實施例通路及比較實施例通路之強度資料，且資料藉由槽之儲存溫度及槽之儲存天數繪製。資料明顯展示與不

使用保護性塗層時相比，保護性塗層處於適當的位置時，與儲存天數無關，第1循環強度受高溫儲存條件影響最小（亦即比較標記為「6」之資料與標記為「C5」之比較資料）。未經塗佈之比較實施例通路之第1循環強度指示表面化學物質由於溫度暴露而衰減。

【0310】 ***實施例7***

【0311】 將KOLLICOAT® IR噴霧塗佈於具有TaO_x表面之圖案化之CMOS晶圓上。圖案化之CMOS晶圓上之噴霧通路數不同，以確定對所得塗佈之厚度的作用。結果以晶圓上之保護性塗層上之以mm計之距離（x軸）相對於以μm計之保護性塗層厚度之距離（y軸）示於圖14中。當在晶圓上之通路數增加時，共聚物塗佈之厚度略增加，且接著當通路數降低時，略降低。此資料指示可使用噴塗以獲得厚度控制之保護性塗層。

【0312】 ***實施例8***

【0313】 開放圖案化之CMOS晶圓在其各孔中形成PAZAM層。在拋光之後，將晶圓切割成700 nm槽，且將KOLLICOAT® IR保護性塗層噴霧塗佈於三個經切割槽上。比較經切割槽以類似方式形成（具有PAZAM塗層），但其中改為不形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。

【0314】 一個實施例經切割槽及一個比較經切割槽在室溫（亦即約25℃）下儲存28天、或35天或71天。在儲存之後，在洗滌期間經由水溶液溶解自實施例經切割槽移除保護性塗層。接著將1 μm引子接枝於實施例及比較經切割槽之PAZAM層，以分別形成實施例流通槽（9A（28天儲存）、9B（35天儲存）、9C（71天儲存））及比較流通槽（C7A（28天儲存）、C7B（35天儲存）、C7C（71天儲存））。

【0315】 接著對各槽進行定序。洗滌步驟自實施例流通槽移除保護性塗層。

【0316】 圖15展示第一定序循環後之螢光強度之繪圖。在各儲存時段，與實施例流通槽9A、9B、9C（在有保護性塗層下儲存）相比時，比較流通槽C7A、C7B、C7C（在無保護性塗層下儲存）展示強度降低。未經塗佈之流通槽C7A、C7B、C7C之第1循環強度指示表面化學物質由於甚至室溫下之暴露而衰減。

【0317】 ***實施例9***

【0318】 開放圖案化之矽晶圓在其各孔中形成PAZAM層。在拋光之後，將晶圓切割以形成槽，且將初始KOLLICOAT® IR保護性塗層選擇性噴霧塗佈於兩個經切割槽上，以致結合區仍保持暴露。比較經切割槽以類似方式形成（具有PAZAM塗層），但其中改為不形成KOLLICOAT® IR保護性塗層。蓋板結合至實施例及比較經切割槽之各別結合區以形成流通槽。接著經由水溶液溶解使用流通製程自實施例流通槽內之PAZAM層移除初始KOLLICOAT® IR保護性塗層。

【0319】 接著使用流通製程使引子接枝於各實施例及比較實施例流通槽內之PAZAM層。

【0320】 在引子接枝之後，經由流通製程及乾燥在實施例流通槽內之引子及PAZAM層上形成另一KOLLICOAT® IR保護性塗層。

【0321】 實施例流通槽（10A及10B）接著在適當的位置具有保護性塗層下在30℃下乾式儲存2週或6週。使兩個比較未經塗佈之流通槽（C8A、C8B）暴露於相同乾式儲存條件（在30℃下儲存2週或儲存6週），且使另一實施例流通槽（WC2）濕式濕式儲存條件6週，在此期間在4℃下在流通槽表面化學物質上用氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑浸泡。

【0322】 在儲存之後，接著對各細胞進行定序。在洗滌步驟期間，咸信自實施例流通槽10A、10B至少部分移除保護性塗層，且自濕式儲存之流通槽

WC2沖洗SSC緩衝劑。

【0323】 圖16展示第一定序循環後之螢光強度之繪圖。在各儲存時段，與實施例流通槽10A、10B（在有保護性塗層下儲存）相比時，比較流通槽C8A、C8B（在無保護性塗層下儲存）展示強度降低。在第6週，提供對於表面化學物質之保護如濕式儲存保護性塗層一般之乾燥保護性塗層（比較10B與WC2）。

【0324】 ***實施例10***

【0325】 表面開放之圖案化氧化鉭塗佈之基板在各孔中形成有PAZAM層，且使用流通製程使引子接枝於PAZAM層。亦測試比較流通槽。表面化學物質與實施例流通槽相同。在比較流通槽之表面化學物質上不形成保護性塗層。

【0326】 在實施例流通槽上形成任何保護性塗層之前執行第一CFR分析。

【0327】 在第一CFR分析之後，製備不同可能保護性塗層材料之若干水溶液。溶液由以下製備：乙二胺四乙酸鈉鹽（EDTA）、聚乙二醇、（參(2-羧基乙基)膦）（TCEP）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺（THPTA）、具有EDTA之參(羥基甲基)胺基甲烷（TE緩衝劑）及岩基啡啉二磺酸二鈉（Bath）。各溶液之濃度如表1中所示。水溶液藉由將溶液覆於實施例流通槽之表面上塗覆，且使溶液蒸發，以形成塗層。接著在4℃下或在室溫下乾式儲存實施例流通槽11天。另一實施例流通槽為濕式儲存槽。以下表1鑑別所測試之各個槽及其測試條件。

表1

		儲存條件	
標識符	保護性塗層	4℃	室溫（RT）
WC3	濕式儲存	是	否
C11 （比較實施例）	無	是	否
11A	0.5M EDTA	是	否
11B	4.4 wt% PEG	是	否
11C	0.8 wt% TCEP	是	否
11D	1.0 wt% THPTA	是	否
11E	1x TE緩衝劑	是	否
C12 （比較實施例）	無	否	是
11F	1x TE緩衝劑	否	是
11G	1.6 wt% Bath	否	是
11H	0.5M EDTA	否	是
11I	4.4 wt% PEG	否	是
11J	0.8 wt% TCEP	否	是
11K	1.0 wt% THPTA	否	是

【0328】 比較未經塗佈之流通槽C11及C12暴露於相同乾式儲存條件，分別作為在4℃下乾式及在室溫下乾式儲存之實施例槽。使其他流通槽WC3暴露於濕式儲存條件，其中在4℃下在流通槽表面化學物質上用氯化鈉-檸檬酸鈉（SSC）緩衝劑浸泡。

【0329】 在各別條件下儲存之後，在洗滌期間經由水溶液溶解自各實施例流通槽（11A至11K）移除保護性塗層，且沖洗乾淨濕式儲存之流通槽WC3。在各實施例及比較流通槽中執行另一CFR品質控制分析。

【0330】 圖17中所示之結果為各實施例及比較實施例之11天CFR結果除以T0 CFR結果。如所描述，具有各乾燥保護性塗層之流通槽的CFR保持力比在類似條件下儲存之乾式儲存比較實施例更佳，且與濕式儲存條件相似。

【0331】 ***實施例11***

【0332】 表面開放之圖案化之矽基板在其各孔中形成PAZAM層。在拋光之後，1 μm引子接著接枝於PAZAM層。比較實施例以類似方式形成。

【0333】 在表面開放之實施例流通槽上形成任何保護性塗層之前執行第一CFR分析。此資料以T0示於圖18中。

【0334】 在第一CFR分析之後，製備KOLLICOAT® IR之水溶液且用以在表面開放之實施例槽上形成噴霧塗佈之保護塗層。

【0335】 接著在60℃下乾式儲存表面開放之實施例流通槽1天或2天。

【0336】 接著各表面開放之槽在其各別儲存時段之後進行定序，且在洗滌步驟期間移除保護塗層。

【0337】 圖18展示在儲存1天及儲存2天之後執行第一定序循環後之CFR保持力（%，第X天C之FR信號（X=1或2）除以第0天之信號之比率）之條形圖。在各儲存時段，與實施例流通槽12（在有保護性塗層下儲存）相比時，比較流通槽C13（在無保護性塗層下儲存）展示CFR保持力顯著降低。在儲存一天之後，比較流通槽之CFR下降40%。

【0338】 ***實施例12***

【0339】 圖案化之CMOS晶圓在其各孔中形成PAZAM層。在拋光之後，將不同厚度之KOLLICOAT® IR塗層噴霧塗佈於圖案化之CMOS晶圓上及圖案化之CMOS晶圓之各別孔（及其中之PAZAM層）中。用以選擇性噴霧KOLLICOAT® IR塗層之溶液包括約5% KOLLICOAT® IR、約5%乙醇及約90%水。各個塗層之厚度在1.708 μm至11.73 μm範圍內。晶圓之另一部分保持未經塗佈且用為比較實施例。

【0340】 晶圓（包括實施例部分及比較實施例部分）接著在40℃下乾式儲存2天。

【0341】 經由水溶液溶解自晶圓移除各別塗層，且引子接著浸沒接枝於孔中之PAZAM層上。接著執行CFR分析。

【0342】 展示相對於比較實施例部分，已經KOLLICOAT® IR塗層塗佈

之晶圓的各實施例部分之強度增加%。結果示於圖19中且標記已使用之KOLLICOAT®IR塗層之厚度。結果指示保護性塗層之厚度似乎不影響在保護性塗層移除之後仍保留PAZAM層對接枝引子之效能的功能。

【0343】 ***實施例13***

【0344】 實施例流通槽包括圖案化之矽基板上界定之八個通路，其中各通路與複數個孔流體連通。在各孔中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。

【0345】 最終在八個通路中之四者中之表面化學物質上形成保護性塗層。更特定言之，八個通路中之四者經包括約5% KOLLICOAT® IR、約5%乙醇及約90%水之溶液塗佈。槽使用真空，之後30秒氮氣暴露來乾燥。流通槽在60℃下儲存2天。

【0346】 其他四個通路為比較流動通路。比較流動通路中之表面化學物質與實施例流動通路相同，但其中改在比較流動通路之表面化學物質上形成保護性塗層。

【0347】 在儲存之後，在各實施例流動通路（統稱為13）及比較實施例流動通路（統稱為C14）中執行定序。使用水溶液洗滌作為定序之一部分來移除保護性塗層。

【0348】 圖20展示實施例通路（13）及比較實施例通路（C14）在第一定序循環後之兩次讀取之平均螢光強度之繪圖。如所描述，保護性塗層保護流通槽之實施例通路以免C1強度顯著下降。

【0349】 ***實施例14***

【0350】 實施例流通槽包括圖案化之矽基板上界定之八個通路，其中各通路與複數個孔流體連通。在各孔中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。

【0351】 引子接枝混合物用5%至0.1%範圍內之不同量之KOLLICOAT® IR製備，且隨機分組於流通槽上之八個通路之中。使此接枝混合物培育且接著在各孔洞/孔口中使用真空，之後30秒氮氣暴露使槽乾燥。

【0352】 保護性塗層經由水溶液溶解移除，且執行CFR分析。

【0353】 圖21展示相對CFR相對於KOLLICOAT® IR百分比之繪圖。相對一致的CFR資料指示引子可在保護性塗層沈積同時接枝。此實施例證明塗層不有害影響此實施例中所用之引子沈積化學物質。

【0354】 ***實施例15***

【0355】 此實施例中之三個流通槽包括圖案化之矽基板上所界定之八個通路，其中各通路與複數個孔流體連通。在各孔中形成PAZAM層，且使1 μm引子接枝於PAZAM層上。

【0356】 在八個通路中之一者中之表面化學物質上形成聚丙烯醯胺保護性塗層。在八個通路中之五者中之表面化學物質上形成比較塗層（不同水溶性陽離子型聚合物），且八個通路中之一者未經塗佈。比較塗層為不同陽離子型聚合物。以下表2鑑別所測試之各個槽及其測試濃度。

表2

		濃度（%）		
標識符	**保護性塗層**	**FC1**	**FC2**	**FC3**
無塗層（比較實施例）	無	NA	NA	NA
14	聚丙烯醯胺	0.01	0.1	1
C15A（比較實施例）	Luviquat® HOLD	0.01	0.1	1
C15B（比較實施例）	Luviquat® FC 370	0.01	0.1	1
C15C（比較實施例）	Luviquat® FC 550	0.01	0.1	1
C15D（比較實施例）	聚四級銨-10	0.01	0.1	1
C15E（比較實施例）	聚(乙烯亞胺)（PEI）	0.01	0.1	1

【0357】 塗層經由流通製程形成，且使用30秒氮氣暴露乾燥。洗滌各槽。

【0358】 在各流通槽通路中執行成簇。將定序文庫裝載於各流動通路

中，且片段藉由互補引子捕獲。各片段擴增成獨特純系團簇。量測強度，且圖22說明呈任意螢光單元之結果，其使存在於流通槽通路表面上之雙股DNA之量量化。如所描述，保護性塗層保護實施例通路，而陽離子型聚合物阻礙成簇（比較14與C15A至C15E中之各者）。陽離子型聚合物可能鍵結至PAZAM及/或引子表面化學物質。

其他注意事項

【0359】 應瞭解，前述概念及下文更詳細地論述之額外概念的所有組合（限制條件為此等概念並不彼此不相容）經涵蓋作為本文中所揭示之本發明主題的一部分。特定言之，在本發明結尾處出現之所主張主題的全部組合預期為本文所揭示之本發明主題的一部分。亦應瞭解，本文中明確採用的亦可出現在以引用的方式併入之任何揭示案中的術語應符合與本文所揭示之特定概念大部分一致的含義。

【0360】 在整個說明書中提及「一個實施例（一個實施例）」、「另一實施例（another example）」、「一實施例（an example）」等意謂結合實施例描述之特定要素（例如特性、結構及/或特徵）包括於本文所述之至少一個實例中，且可不存在於其他實施例中。另外，應瞭解，除非上下文另外明確規定，否則關於任何實施例所述之要素可在各種實施例中以任何適合的方式組合。

【0361】 應瞭解，本文所提供之範圍包括所陳述範圍及在所陳述範圍內的任何值或子範圍，如同明確地列舉所陳述範圍內的值或子範圍一般。舉例而言，約200 mm至約300 mm之範圍應解釋為不僅包括明確所列舉之約200 mm至約300 mm之限值，且亦包括諸如約208 mm、約245 mm、約275.5 mm等之單獨的值及如約225 mm至約290 mm、約235 mm至約280 mm等之子範圍。此外，當「約（about）」及/或「大體上（substantially）」用以描述值時，其意謂涵蓋所陳述值之較小變化(達至+/-10%)。

【0362】 儘管已詳細描述若干實施例，但應瞭解，所揭示之實施例可加以修改。因此，前述描述應被視為非限制性的。

【符號說明】

【0363】

10：流通槽

10'：流通槽

10"：流通槽

12：圖案化之基板

12'：非圖案化之基板

14：凹陷

14'：孔

16：間隙區域

18：矽烷或矽烷衍生物

20：表面化學物質/官能化聚合物塗層

22：表面化學物質/引子

24：保護性塗層

24'：保護性塗層

25：結合區

26：蓋板

27：蓋板之頂部部分

28：分隔層

29：側壁

30：流動通道

30A：流動通道

30B：流動通道

30C：流動通道

30D：流動通道

30E：流動通道

30F：流動通道

100：方法

100'：方法

100"：方法

101：圖案化之基板

102：將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分

102'：官能化塗層形成

102"：引子連接

102"'：引子連接

104：將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上

104'：保護性塗層形成

104"：初始保護性塗層形成

104"'：保護性塗層形成

106：裝配

106'：裝配

108：IPC移除

200：方法

202：將矽烷或矽烷衍生物連接至包括由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板之表面，從而形成矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域

204：在矽烷化凹陷中及矽烷化間隙區域上形成官能化聚合物塗層

206：自矽烷化間隙區域拋光官能化聚合物塗層

208：使引子接枝於矽烷化凹陷中之官能化聚合物塗層以形成官能化凹陷

210：在官能化凹陷及圖案化之基板之至少一部分上形成水溶性保護性塗層

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種用於基因定序之流通槽，其包含：

基板，其包含暴露表面；

官能化聚合物塗層，其經由該暴露表面上之化學基團共價鍵結該基板之暴露表面；

引子，其接枝於該官能化聚合物塗層，該引子為用作用於DNA或RNA合成之起始點的單股核酸序列；及

水溶性保護性塗層，其位於該引子及該官能化聚合物塗層上。

【第2項】如請求項1所述之流通槽，其中由於該暴露表面上之該化學基團與該官能化聚合物塗層之第一反應性基團之反應，該官能化聚合物塗層共價鍵結該暴露表面。

【第3項】如請求項1或請求項2所述之流通槽，其中由於該引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團之反應，該引子接枝於該官能化聚合物塗層。

【第4項】如請求項1或請求項2所述之流通槽，其進一步包含結合至該基板之結合區之蓋板，其中該蓋板及該基板至少部分界定流動通道。

【第5項】如請求項4所述之流通槽，其中該基板為包含藉由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板，且其中該流動通道與該等凹陷選擇性連通。

【第6項】如請求項1或請求項2所述之流通槽，其中該基板為包含藉由間隙區域分隔開的凹陷的圖案化之基板。

【第7項】如請求項5或請求項6所述之流通槽，其中該水溶性保護性塗層處於該等凹陷中及該等間隙區域中之至少一部分上。

【第8項】如請求項1或請求項2所述之流通槽，其中該基板為非圖案化之基板。

【第9項】一種製備如請求項1至8中任一項所述之流通槽的方法，其包

含：

提供具有包含第一化學基團之暴露表面的基板，其中該提供視情況包含改質該基板之暴露表面以併入該第一化學基團；

使該第一化學基團與官能化聚合物分子之第一反應性基團反應以形成共價鍵結該基板之暴露表面的官能化聚合物塗層；

藉由使引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團反應使該引子接枝於該官能化聚合物塗層；及

在該引子及該官能化聚合物塗層上形成水溶性保護性塗層。

【第10項】如請求項9所述之方法，其中該基板為非圖案化之基板，且其中該方法進一步包含使蓋板結合至該非圖案化之基板之結合區，其中該蓋板及該非圖案化之基板至少部分界定包括該暴露表面之流動通道。

【第11項】如請求項10所述之方法，其中該暴露表面之改質、該第一化學基團與該第一反應性基團之反應、該引子之接枝及該水溶性保護性塗層之形成涉及各別流通製程。

【第12項】如請求項9所述之方法，其中：

該基板為非圖案化之基板；

該暴露表面之改質包含電漿灰化；及

在該暴露表面改質之後，該方法進一步包含使蓋板結合至該非圖案化之基板之結合區，其中該蓋板及該非圖案化之基板至少部分界定包括一些該暴露表面之流動通道。

【第13項】如請求項9所述之方法，其中：

該基板為包含藉由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板；

該暴露表面之改質涉及使包含該第一化學基團之矽烷或矽烷衍生物連接至該暴露表面以形成矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域；

該反應在該等矽烷化凹陷中及該等矽烷化間隙區域上形成該官能化聚合物塗層；及

在該引子接枝之前，該方法進一步包含自該等矽烷化間隙區域移除該官能化聚合物塗層。

【第14項】如請求項13所述之方法，其中：

該接枝使該引子連接於該等矽烷化凹陷中之該官能化聚合物塗層，從而形成官能化凹陷；及

該形成水溶性保護性塗層在該等官能化凹陷及至少一些該等間隙區域上產生該水溶性保護性塗層。

【第15項】如請求項13所述之方法，其中在該官能化聚合物塗層移除之後，該方法進一步包含使蓋板結合至該圖案化之基板之結合區，其中該蓋板及該圖案化之基板至少部分界定包括其上具有該官能化聚合物塗層之該等矽烷化凹陷之流動通道。

【第16項】如請求項15所述之方法，其中該引子之接枝及該水溶性保護性塗層之形成涉及各別流通製程。

【第17項】如請求項9所述之方法，其中在該官能化聚合物塗層形成之後且在該引子接枝及該水溶性保護性塗層形成之前，該方法進一步包含：

將該官能化聚合物塗層上之初始水溶性保護性塗層圖案化，以使得該基板之結合區仍保持暴露；

使蓋板結合至該基板之結合區，以形成與該初始水溶性保護性塗層選擇性流體連通之流動通道；及

移除該初始水溶性保護性塗層。

【第18項】如請求項9所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括多達約15%（質量/體積）之水溶性材料。

【第19項】如請求項18所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約1至15%（質量/體積）之水溶性材料。

【第20項】如請求項19所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約1至10%（質量/體積）之水溶性材料。

【第21項】如請求項20所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約1至5%（質量/體積）之水溶性材料。

【第22項】如請求項21所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約2至5%（質量/體積）之水溶性材料。

【第23項】如請求項22所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約4至8%（質量/體積）之水溶性材料。

【第24項】如請求項23所述之方法，其中該水溶性保護性塗層之形成涉及塗覆水溶液，該水溶液包括約5至7.5%（質量/體積）之水溶性材料。

【第25項】如請求項18所述之方法，其中該水溶液中該水溶性材料之百分比基於該引子之引子密度來調整。

【第26項】一種流通槽，其如請求項1至8中任一項所定義或如請求項9至25中任一項所述之方法所製造，其中該水溶性保護性塗層包含非陽離子型合成聚合物；天然多醣或其衍生物；天然蛋白質或其衍生物；水溶性鹽；或選自由以下組成之群的小分子化合物：水溶性界面活性劑、糖、抗氧化劑、螯合劑、緩衝劑、乙二醇、丙三醇及環糊精；或其組合。

【第27項】如請求項26所述之流通槽，其中該水溶性保護性塗層包含：

(a) 該非陽離子型合成聚合物，其包含聚丙烯醯胺、聚(丙烯酸)、聚丙烯酸酯、聚(甲基丙烯酸)、聚(乙烯基吡咯啶酮)、聚(乙烯醇)、聚(甲基丙烯醯胺)、聚(N-烷基丙烯醯胺)、聚(N-二烷基丙烯醯胺)、聚(N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺)、聚(二乙烯醚-順丁烯二酸酐)、聚(磷酸酯)、聚(2-烷基-2-噁唑啉)、聚(甲基

丙烯酸羥基乙酯)、聚(丙烯酸2-羥基乙酯)、聚乙二醇、聚醚、聚(磺基甜菜鹼甲基丙烯酸酯)、聚(乙烯基醚-順丁烯二酸)、羥基官能性聚合物、非天然多肽、或聚矽氧、或其組合；

(b) 該天然多醣或其衍生物，其包含澱粉、羧甲基纖維素、黃原膠、果膠、葡聚糖、角叉菜膠、瓜爾膠、纖維素、羥丙基甲基纖維素（hydroxypropylmethyl cellulose，HPMC）、羥丙基纖維素（hydroxypropyl cellulose，HPC）、羥乙基纖維素（hydroxyethyl cellulose，HEC）、甲基纖維素、羧甲基羥乙基纖維素（carboxymethylhydroxyethyl cellulose，CMHEC）、玻尿酸、磷酸澱粉、羥丙基澱粉、羥乙基澱粉、瓊脂糖、瓊脂或海藻酸鹽或其組合；

(c) 該天然蛋白質或其衍生物，其包含酪蛋白或白蛋白；

(d) 該水溶性鹽，其包含氯化鈉、溴化鈉、硫酸鈉、磷酸鈉、碳酸鈉、乙酸鈉、檸檬酸鈉、氯化鉀、溴化鉀、硫酸鉀、磷酸鉀、碳酸鉀、乙酸鉀或檸檬酸鉀或生理食鹽水檸檬酸鈉（saline sodium citrate）或其組合；

(e) 該緩衝劑，其包含生理食鹽水檸檬酸鈉、視情況具有乙二胺四乙酸之參(羥基甲基)胺基甲烷（Tris）、4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸（4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid，HEPES），3-[[1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-基]胺基]-2-羥基丙烷-1-磺酸（3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]-2-hydroxypropane-1-sulfonic acid，TAPSO）、N-(2-羥基-1,1-雙(羥基甲基)乙基)甘胺酸（麥黃酮）、3-(N-(N-嗎啉基))丙磺酸（3-(N-morpholino)propanesulfonic acid，MOPS）或3-(N,N-雙([2-羥乙基]胺基)-2-羥基丙磺酸（3-(N,N-bis([2-hydroxyethyl]amino)-2-hydroxypropanesulfonic acid，DIPSO）之水溶液；

(f) 該水溶性界面活性劑，其包含陰離子或非離子型界面活性劑，或包含

十二烷基硫酸鈉、烷基乙氧基化物、乙氧基化油、脂肪或磺基丁二酸鹽；或

(g) 該糖、該抗氧化劑、該乙二醇、丙三醇或該環糊精；

(h) 該螯合劑，其包含乙二胺四乙酸鈉鹽、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺、（參(2-羧基乙基)膦）或岩基啡啉二磺酸二鈉鹽；或

(i) 其組合。

【第28項】如請求項26所述之流通槽，其中該水溶性保護性塗層包含聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖、葡聚糖、聚丙烯醯胺、乙二醇、參(羥基甲基)胺基甲烷或其鹽、乙二胺四乙酸或其鹽、（參(2-羧基乙基)膦）、參(3-羥丙基三唑基甲基)胺或其鹽、岩基啡啉二磺酸二鈉鹽、羥基官能性聚合物、丙三醇或生理食鹽水檸檬酸鈉或其混合物。

【第29項】如請求項26所述之流通槽，其中該水溶性保護性塗層包含聚乙烯醇/聚乙二醇接枝共聚物、蔗糖或其混合物。

【第30項】如請求項26所述之流通槽，其中該官能化聚合物塗層為聚(N-(5-疊氮基乙醯胺基戊基)丙烯醯胺-共-丙烯醯胺（PAZAM）。

【第31項】如請求項26所述之流通槽，其中該水溶性保護性塗層以與該官能化聚合物塗層之混合物形式存在於該流通槽上。

【第32項】如請求項26所述之流通槽，其中該化學基團或該第一化學基團為視情況經取代之烯基、視情況經取代之環烯基、視情況經取代之降冰片烯基、視情況經取代之環辛炔基、視情況經取代之雙環壬炔基、視情況經取代之炔基、疊氮基、視情況經取代之四嗪基、腙基、視情況經取代之四唑基、甲醯基或羥基。

【第33項】如請求項26所述之流通槽，其中該化學基團或該第一化學基團經由矽烷連接子共價連接至該基板之暴露表面。

【第34項】如請求項33所述之流通槽，其中該化學基團或該第一化學基團

為降冰片烯基或經取代之降冰片烯基。

【第35項】如請求項26所述之流通槽，其中該第一反應性基團及該第二反應性基團列舉時各自獨立地為視情況經取代之烯基、視情況經取代之環烯基、視情況經取代之降冰片烯基、視情況經取代之環辛炔基、視情況經取代之雙環壬炔基、視情況經取代之炔基、疊氮基、視情況經取代之四嗪基、腙基、視情況經取代之四唑基、甲醯基或羥基。

【第36項】如請求項35所述之流通槽，其中該等第一及第二反應性基團均為疊氮基。

【第37項】如請求項26所述之流通槽，其中由於該引子與該官能化聚合物塗層之第二反應性基團之反應，該引子接枝於該官能化聚合物塗層，且該引子包含用於與該第二反應性基團反應之炔基。

【第38項】如請求項26所述之流通槽，其中該引子為包括一群官能性引子及一群非官能性引子之複數個引子。

【第39項】一種使用如請求項1至8或26至38中任一項所述之流通槽的方法，其包含：

將該流通槽插入至定序儀器中；及

藉由使該流通槽上之該水溶性保護性塗層暴露於水來移除該水溶性保護性塗層。

【第40項】如請求項39所述之方法，其中該移除藉由執行流通製程以移除該水溶性保護性塗層來實現。

【發明圖式】

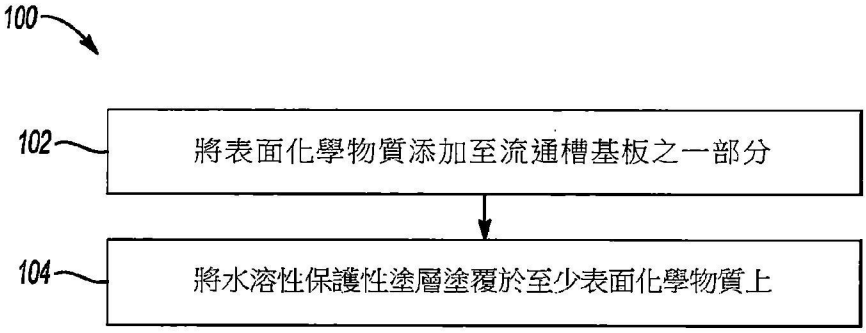

100
102
將表面化學物質添加至流通槽基板之一部分
104
將水溶性保護性塗層塗覆於至少表面化學物質上

圖1

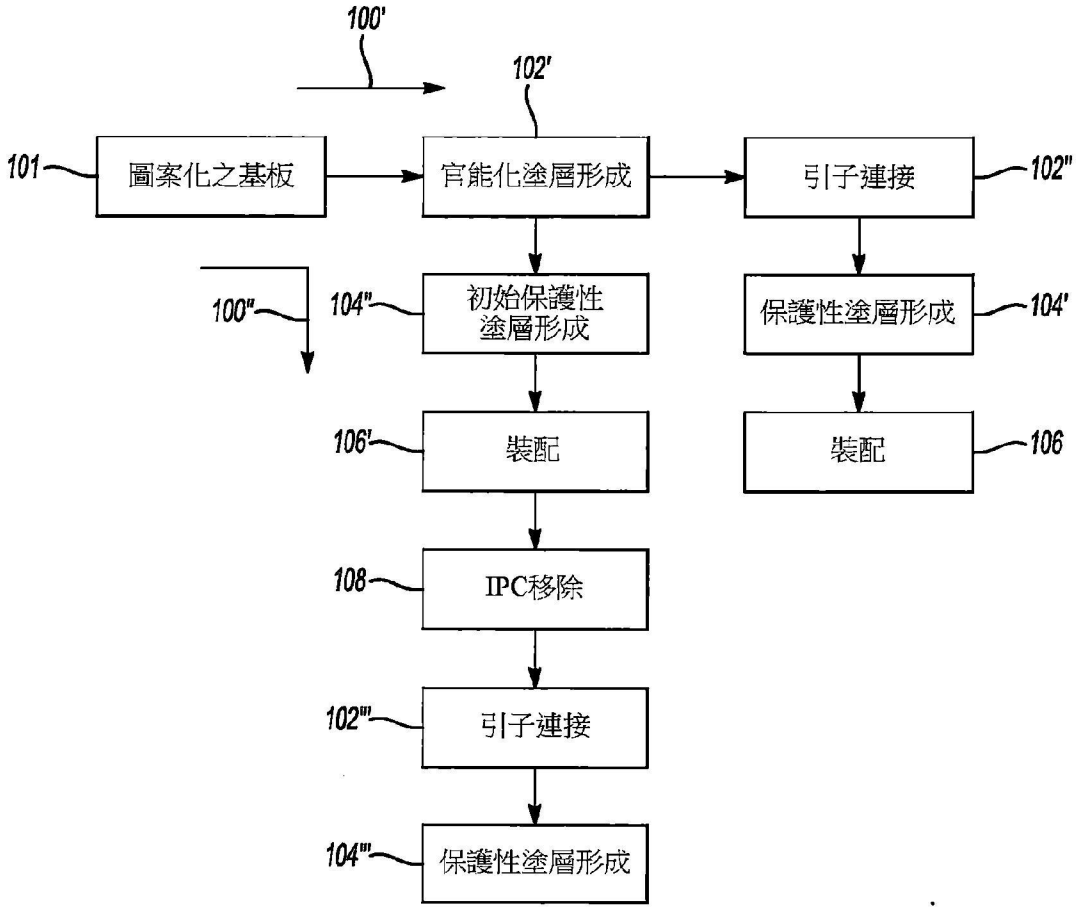

100'
102'
101
圖案化之基板
官能化塗層形成
引子連接
102"
100"
104"
初始保護性塗層形成
保護性塗層形成
104'
106'
裝配
裝配
106
108
IPC移除
102'''
引子連接
104'''
保護性塗層形成

圖2

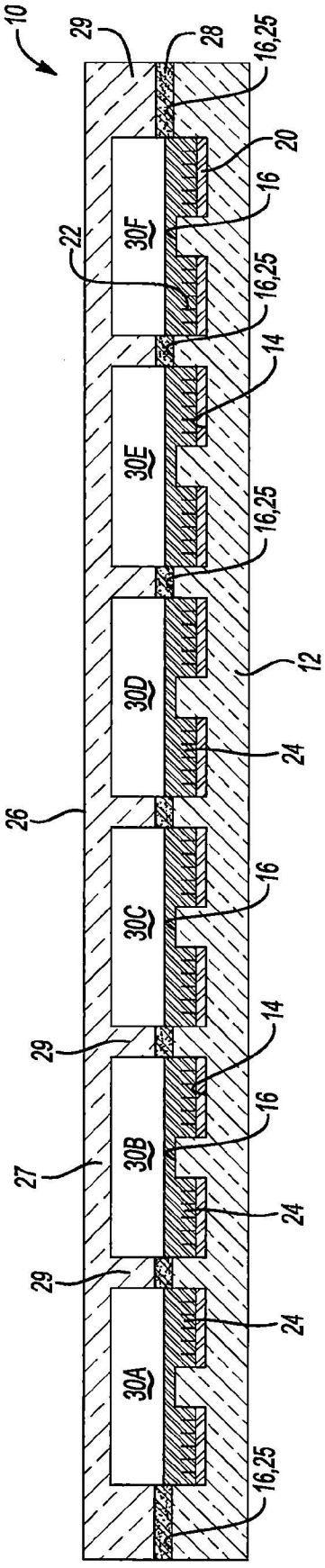

10
29
28
16,25
20
16
22
30F
16,25
14
30E
16,25
12
30D
24
26
30C
16
14
29
16
27
30B
24
29
24
30A
16,25

圖3

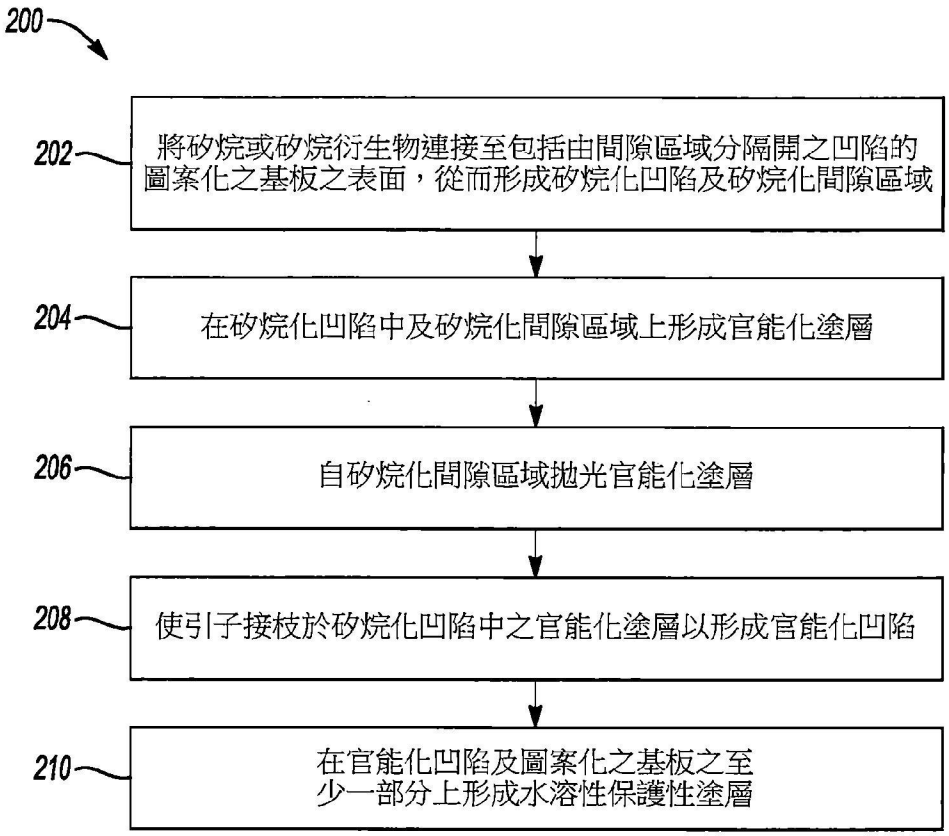

200
202
將矽烷或矽烷衍生物連接至包括由間隙區域分隔開之凹陷的圖案化之基板之表面，從而形成矽烷化凹陷及矽烷化間隙區域
204
在矽烷化凹陷中及矽烷化間隙區域上形成官能化塗層
206
自矽烷化間隙區域拋光官能化塗層
208
使引子接枝於矽烷化凹陷中之官能化塗層以形成官能化凹陷
210
在官能化凹陷及圖案化之基板之至少一部分上形成水溶性保護性塗層

圖4

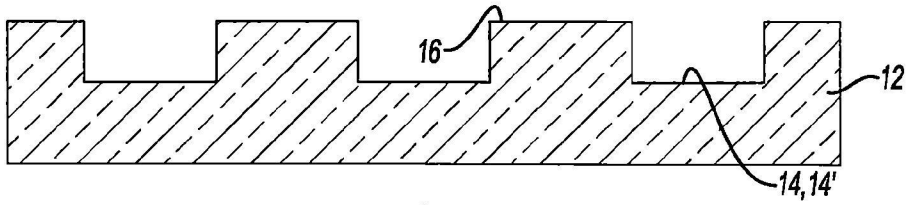


圖5A

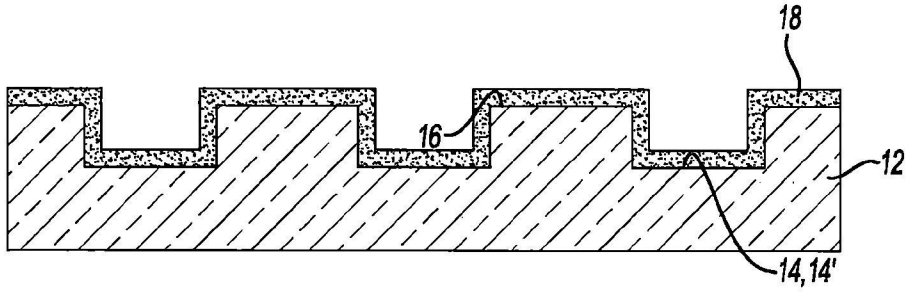


圖5B

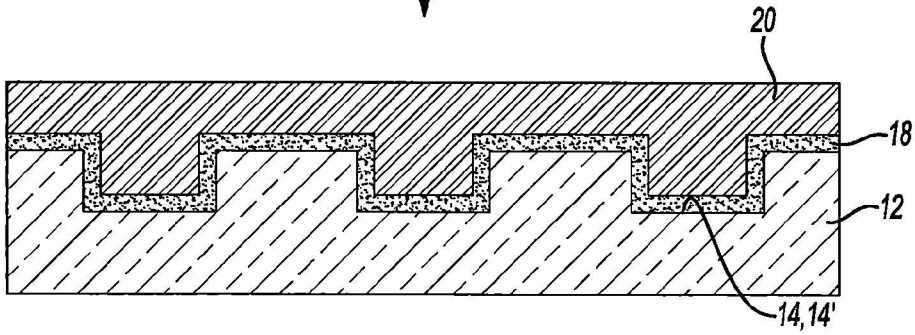


圖5C

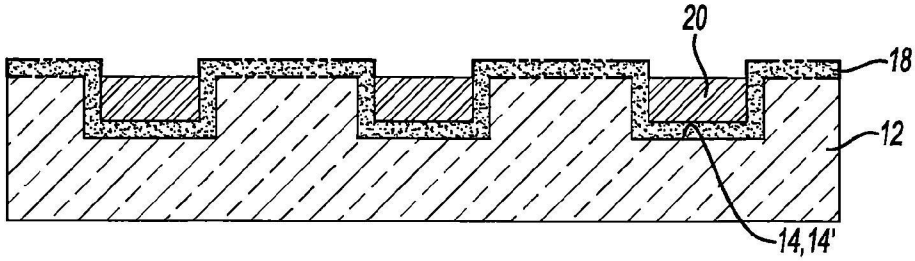


圖5D

至圖5E　　至圖5I

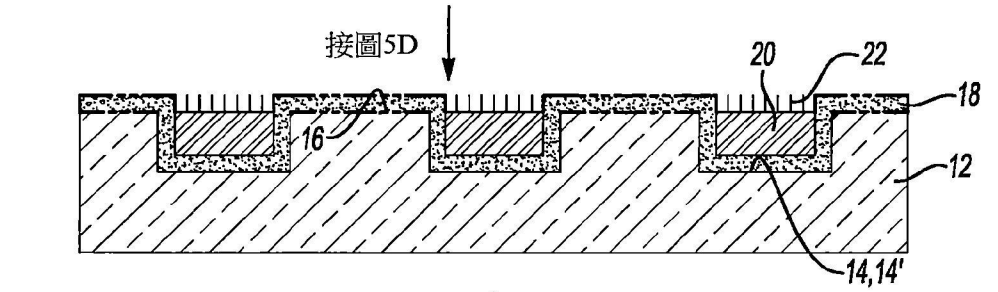


圖5E

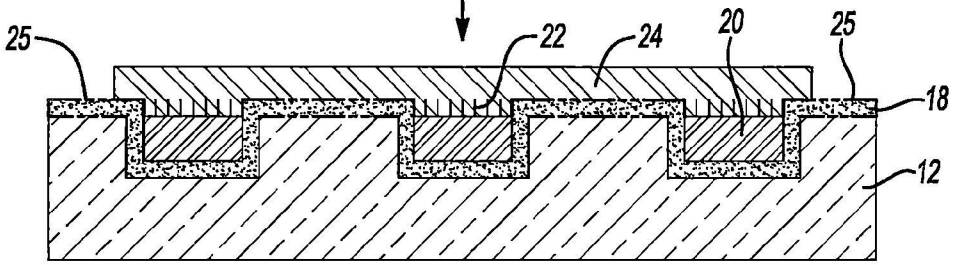


圖5F

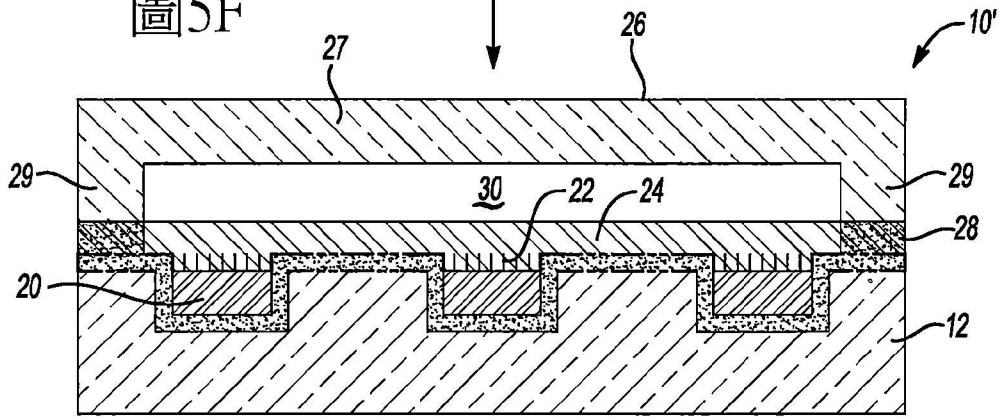


圖5G

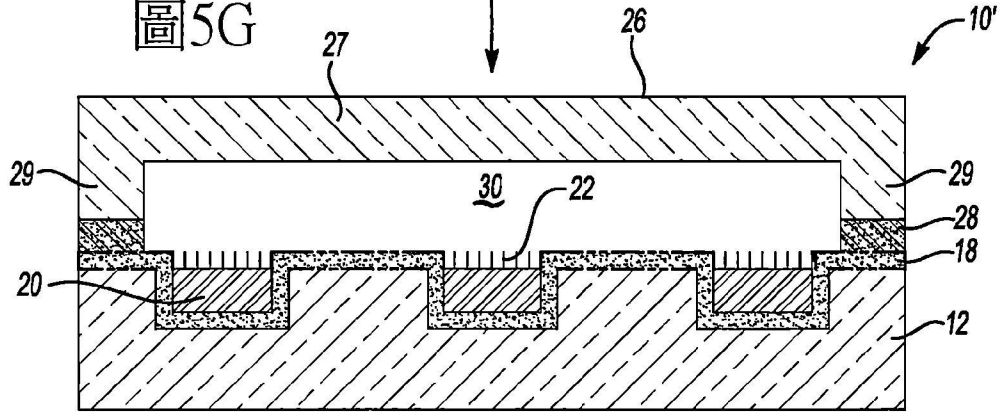


圖5H

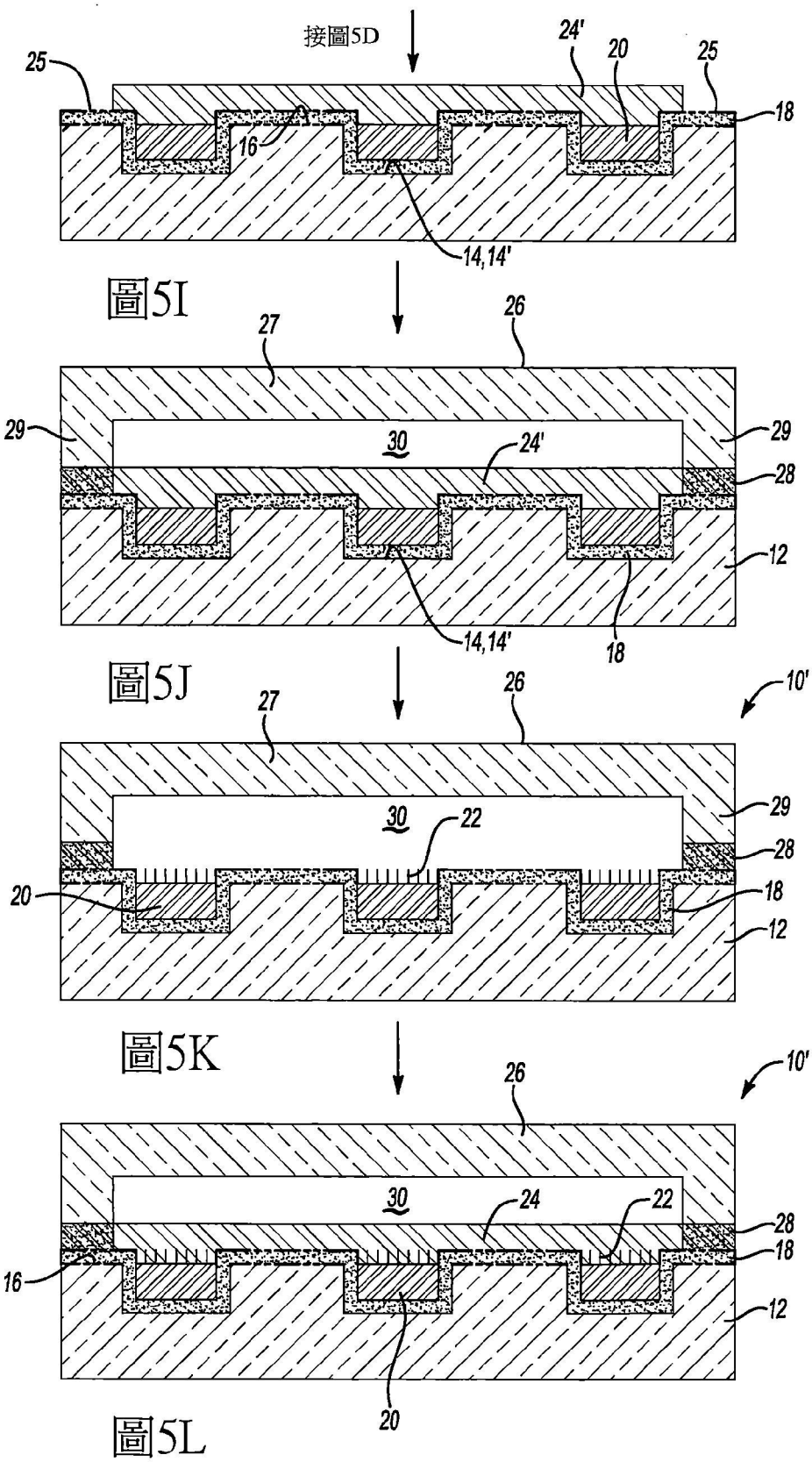


圖5I

圖5J

圖5K

圖5L

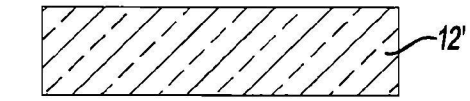


圖6A

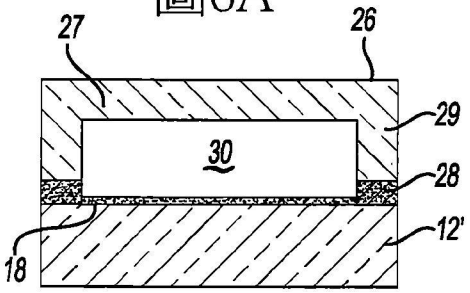


圖6B

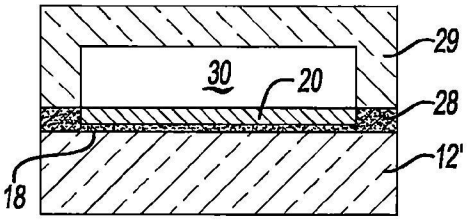


圖6C

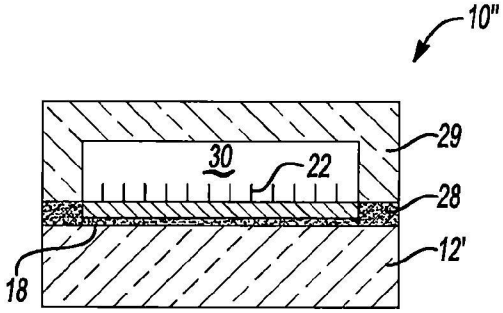


圖6D

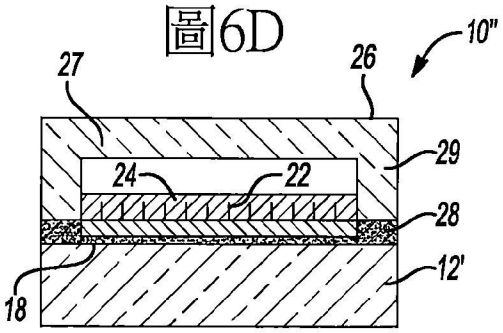


圖6E

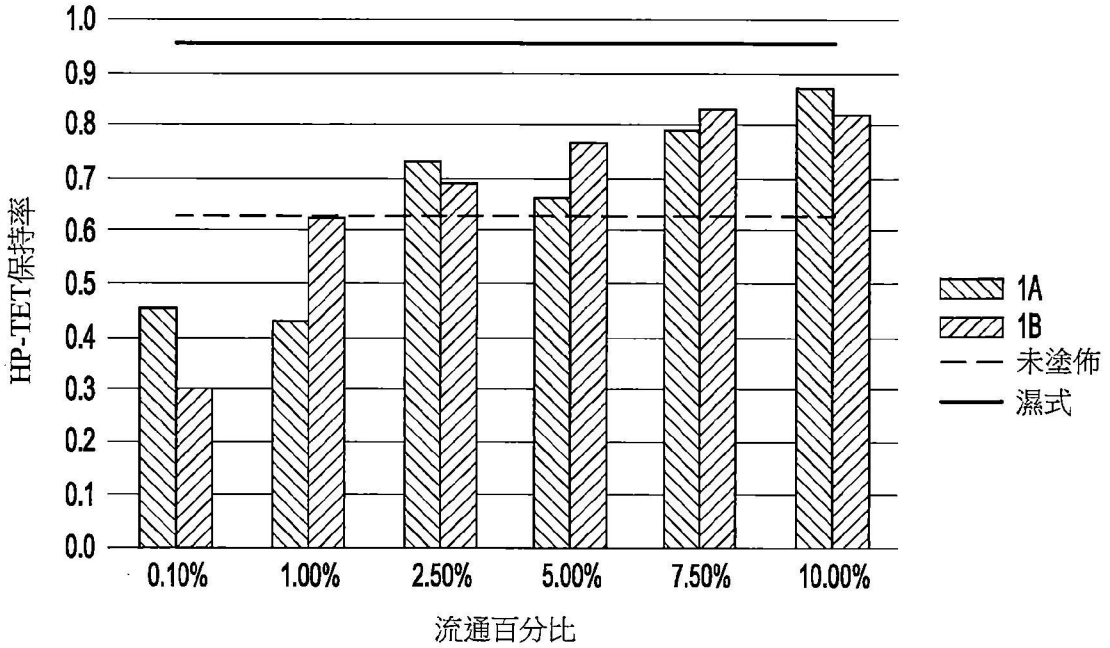


圖7

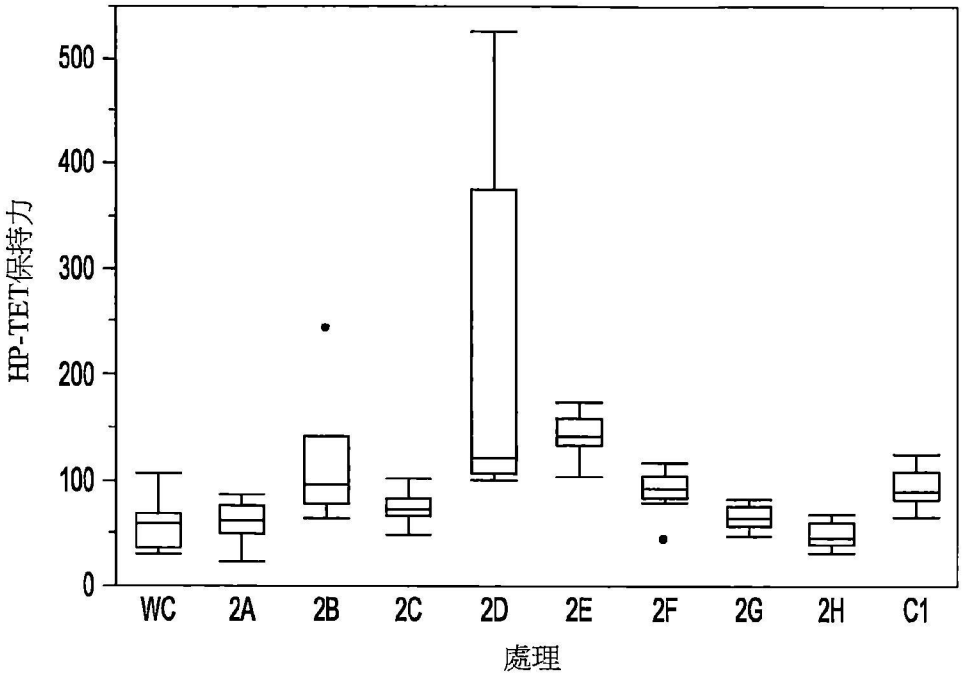

HP-TET保持力
500
400
300
200
100
0
WC
2A
2B
2C
2D
2E
2F
2G
2H
C1
處理

圖8

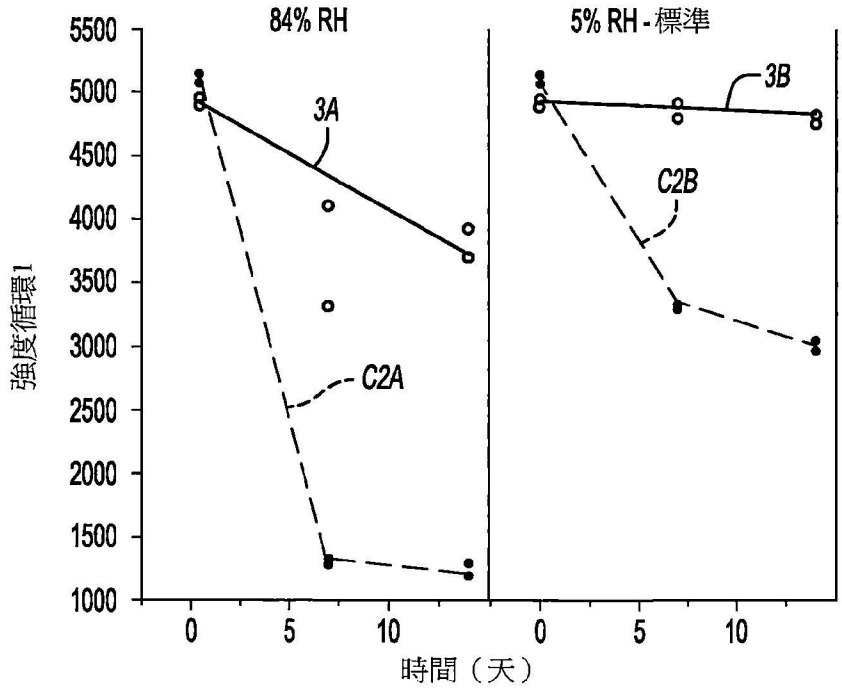

84% RH
5% RH - 標準
3A
C2A
3B
C2B
強度循環1
5500
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
0
5
10
時間（天）

圖9

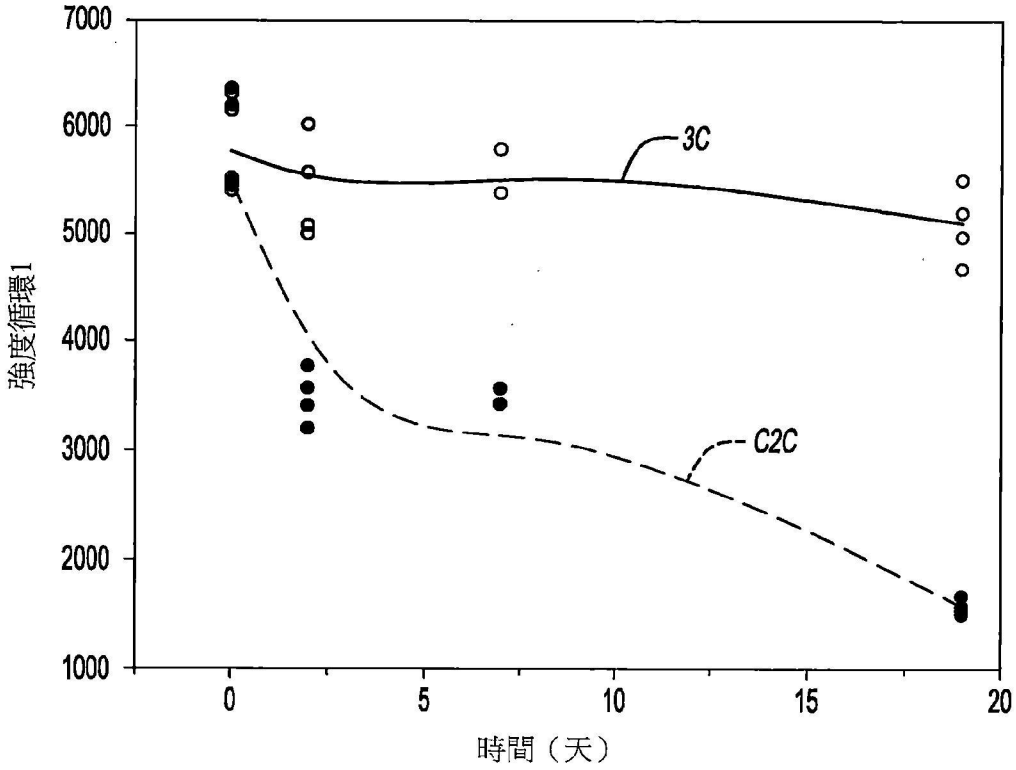

7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
強度循環1
0
5
10
15
20
時間（天）
3C
C2C

圖10

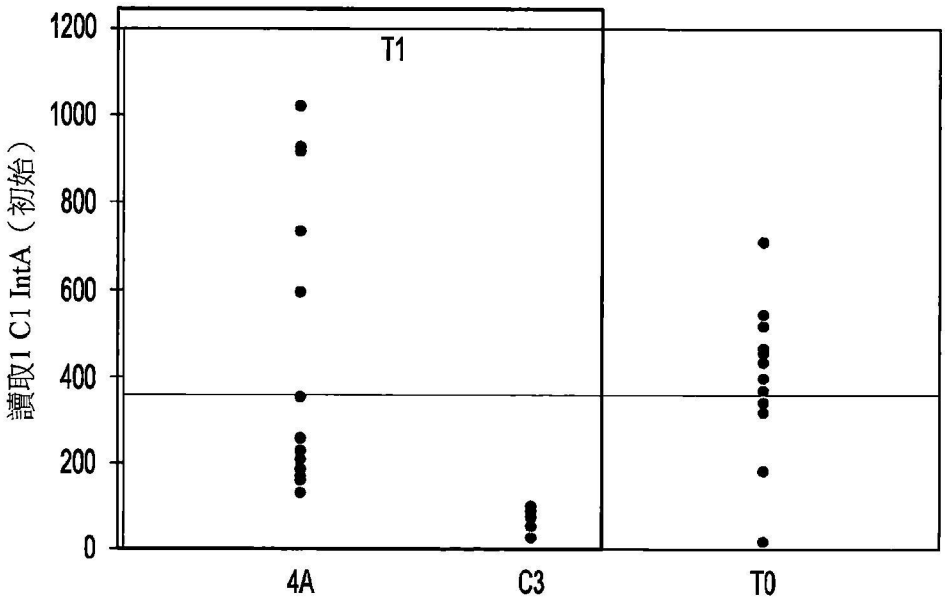

1200
1000
800
600
400
200
0
讀取1 C1 IntA（初始）
T1
4A
C3
T0

圖11A

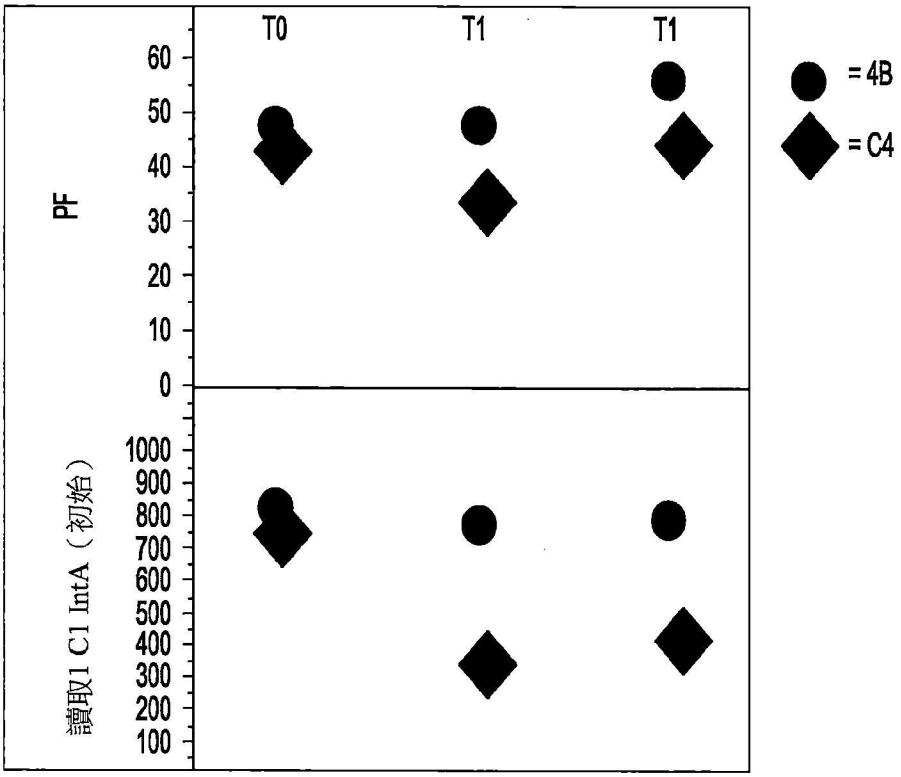

T0
T1
T1
= 4B
= C4
PF
60
50
40
30
20
10
0
讀取1 C1 IntA（初始）
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100

圖11B

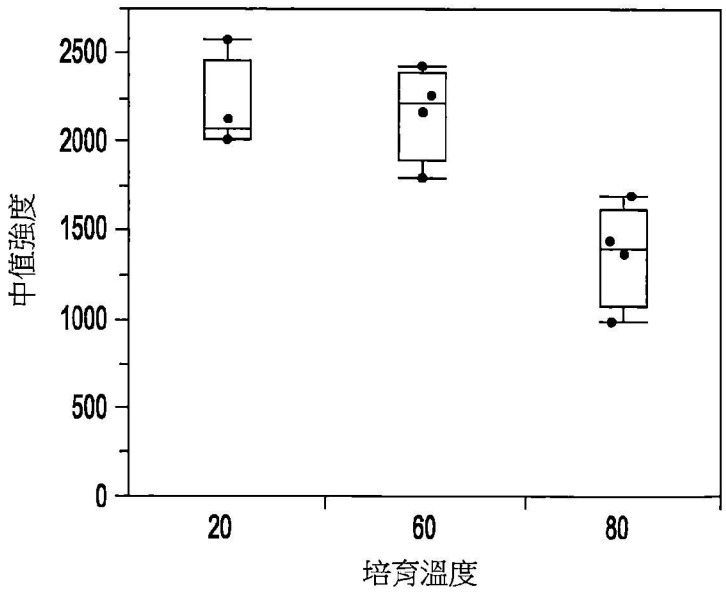

中值強度
2500
2000
1500
1000
500
0
20
60
80
培育溫度

圖12A

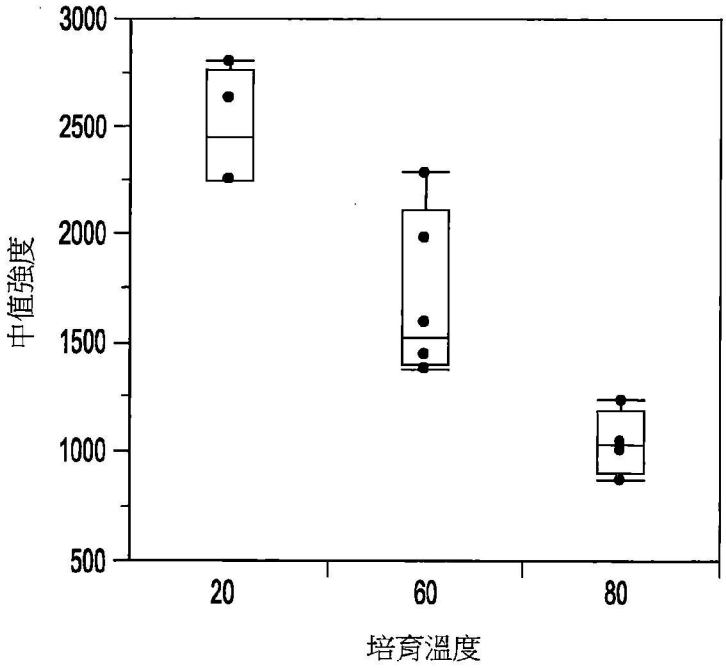

3000
2500
2000
1500
1000
500
中值強度
20
60
80
培育溫度

圖12B

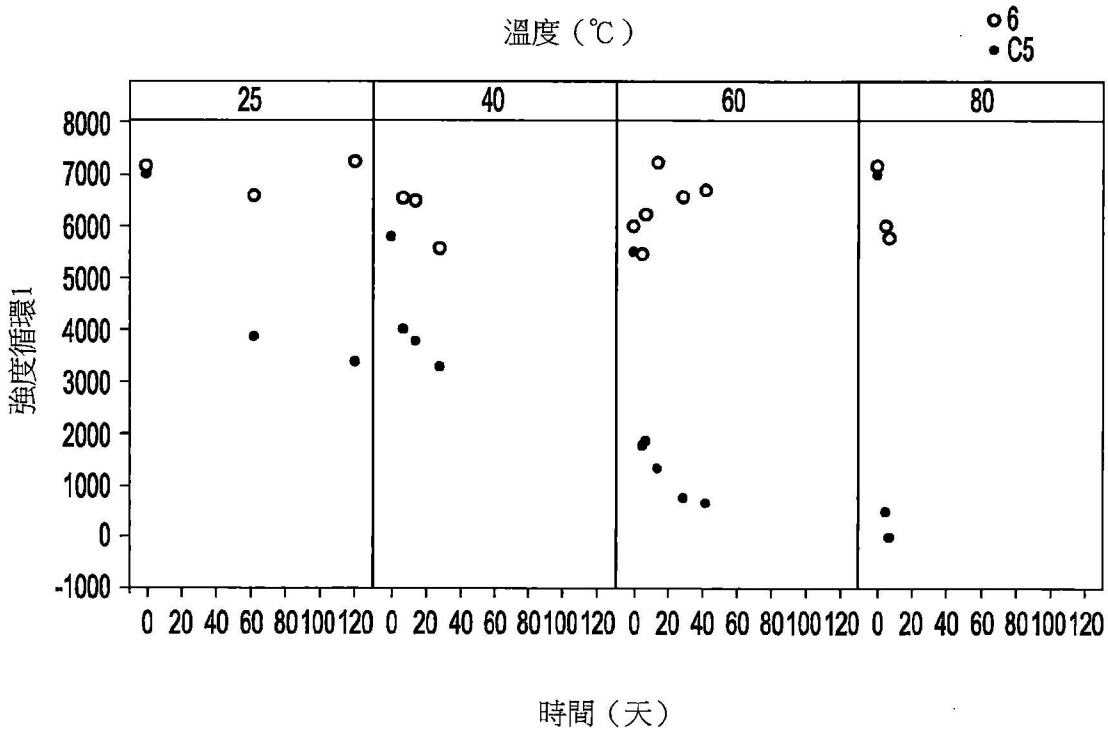

溫度（℃）
6
C5
25
40
60
80
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
-1000
強度循環1
0 20 40 60 80100120
時間（天）

圖13

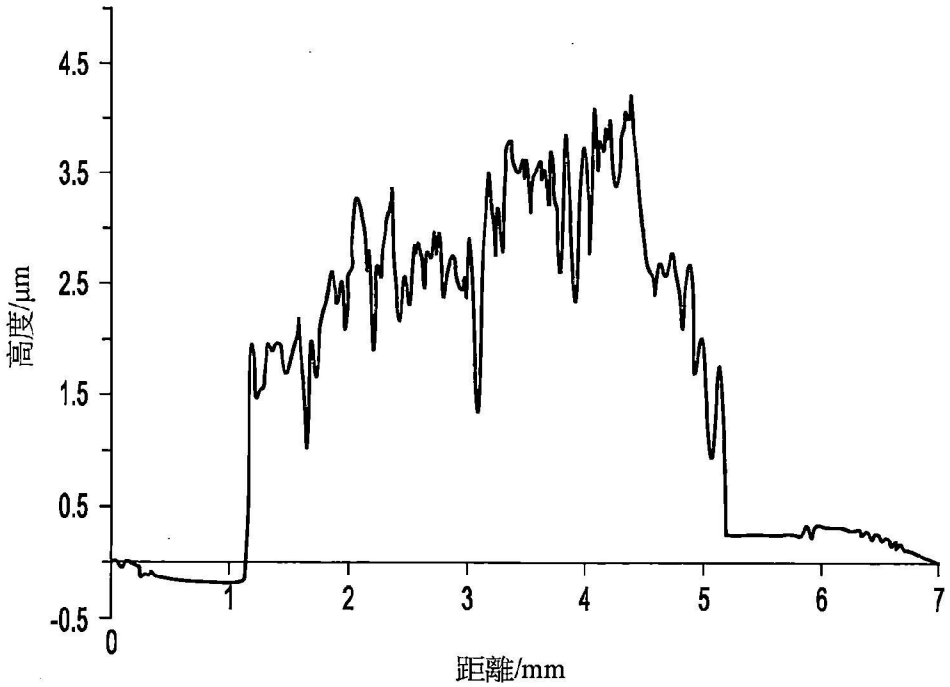

4.5
3.5
2.5
1.5
0.5
-0.5
0
1
2
3
4
5
6
7
高度/μm
距離/mm

圖14

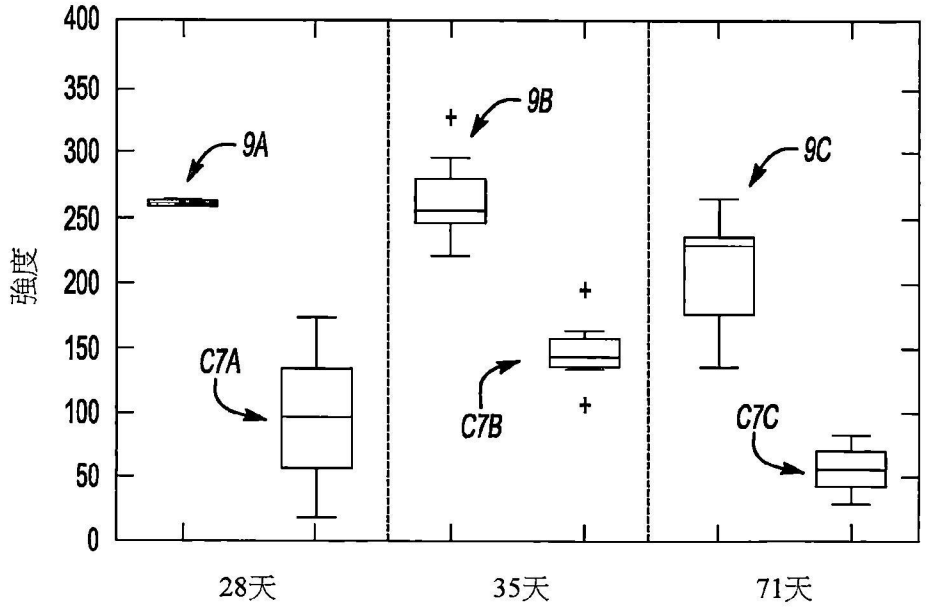

400
350
300
250
200
150
100
50
0
強度
9A
9B
9C
C7A
C7B
C7C
28天
35天
71天

圖15

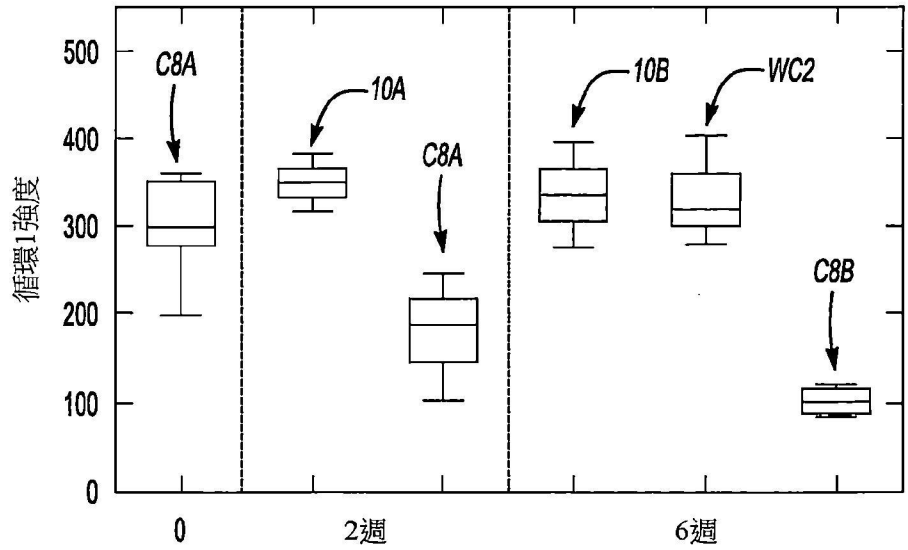

循環1強度
500
400
300
200
100
0
C8A
10A
C8A
10B
WC2
C8B
0
2週
6週

圖16

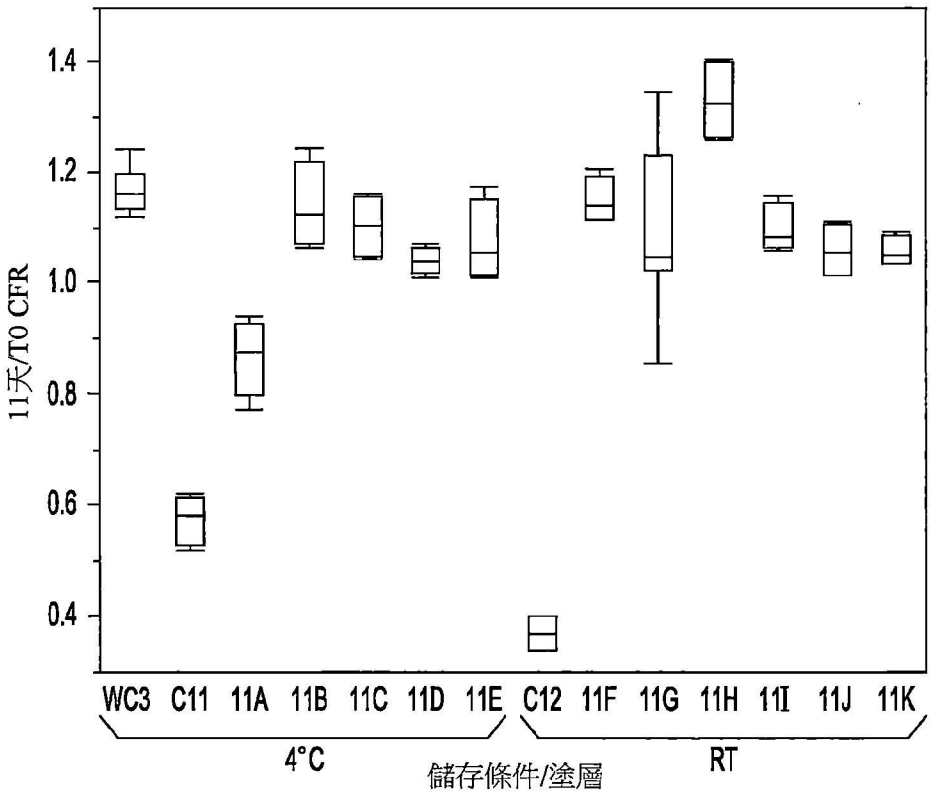

11天/T0 CFR
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
WC3
C11
11A
11B
11C
11D
11E
C12
11F
11G
11H
11I
11J
11K
4°C
RT
儲存條件/塗層

圖17

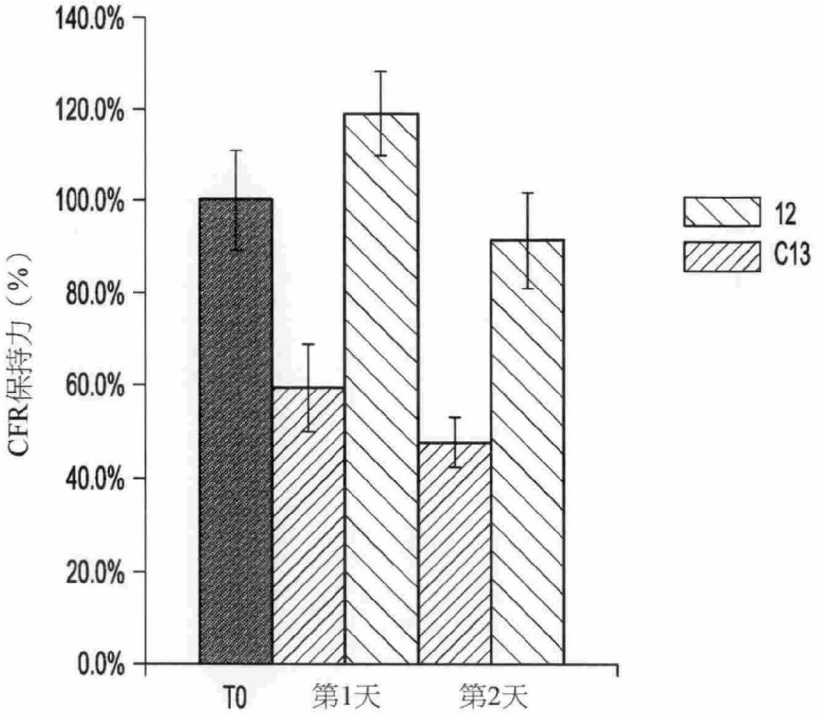

140.0%
120.0%
100.0%
80.0%
60.0%
40.0%
20.0%
0.0%
CFR保持力（%）
T0
第1天
第2天
12
C13

圖18

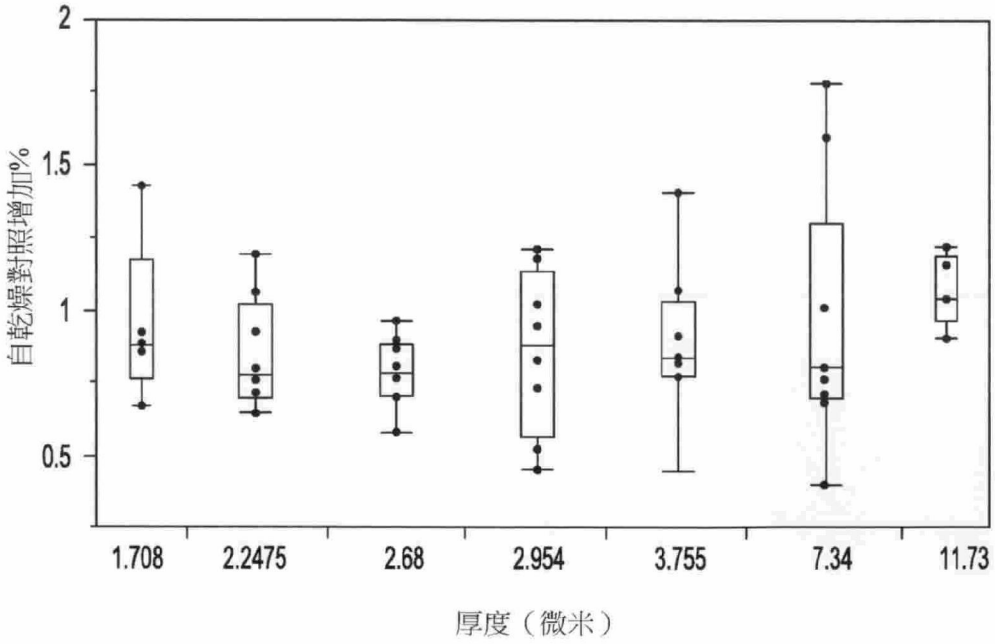

2
1.5
1
0.5
自乾燥對照增加%
1.708
2.2475
2.68
2.954
3.755
7.34
11.73
厚度（微米）

圖19

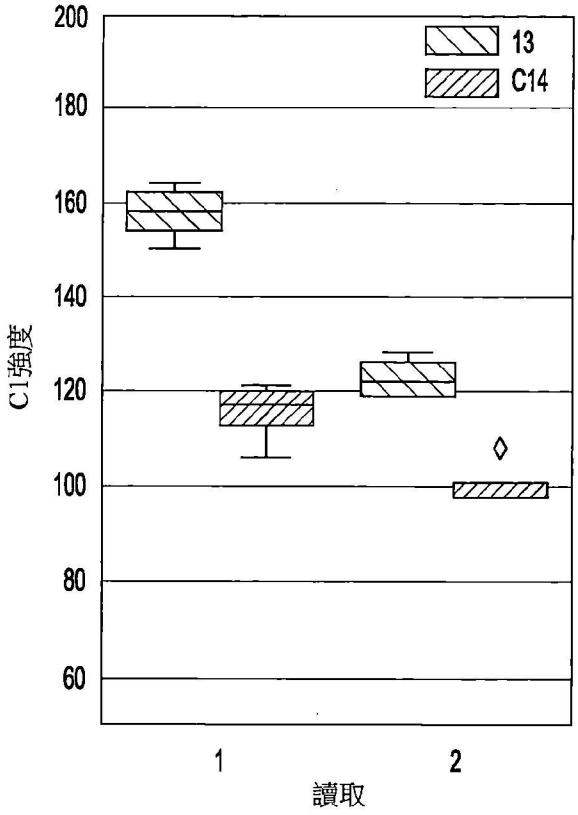

200
180
160
140
120
100
80
60
C1強度
13
C14
1
2
讀取

圖20

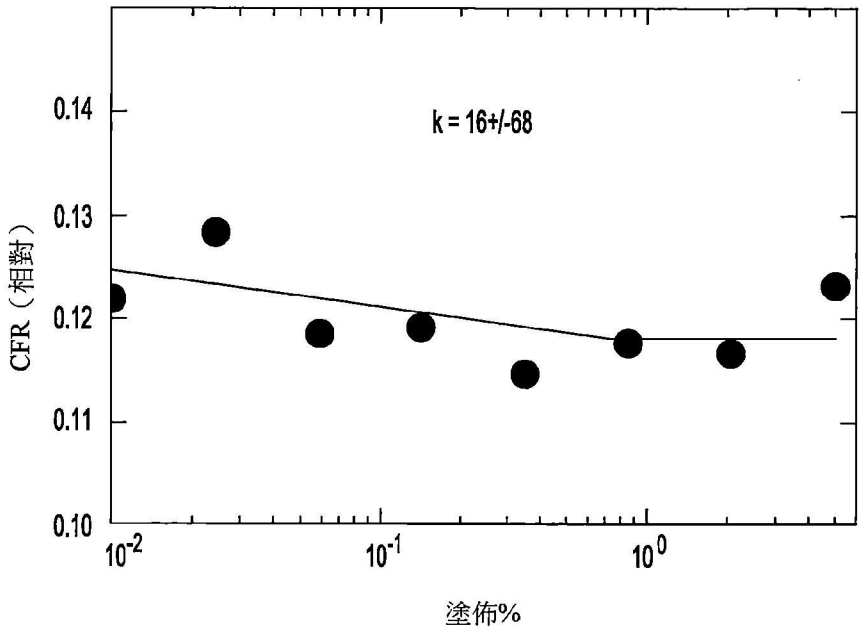

k = 16+/-68
0.14
0.13
0.12
0.11
0.10
CFR（相對）
10^{-2}
10^{-1}
10^{0}
塗佈%

圖21

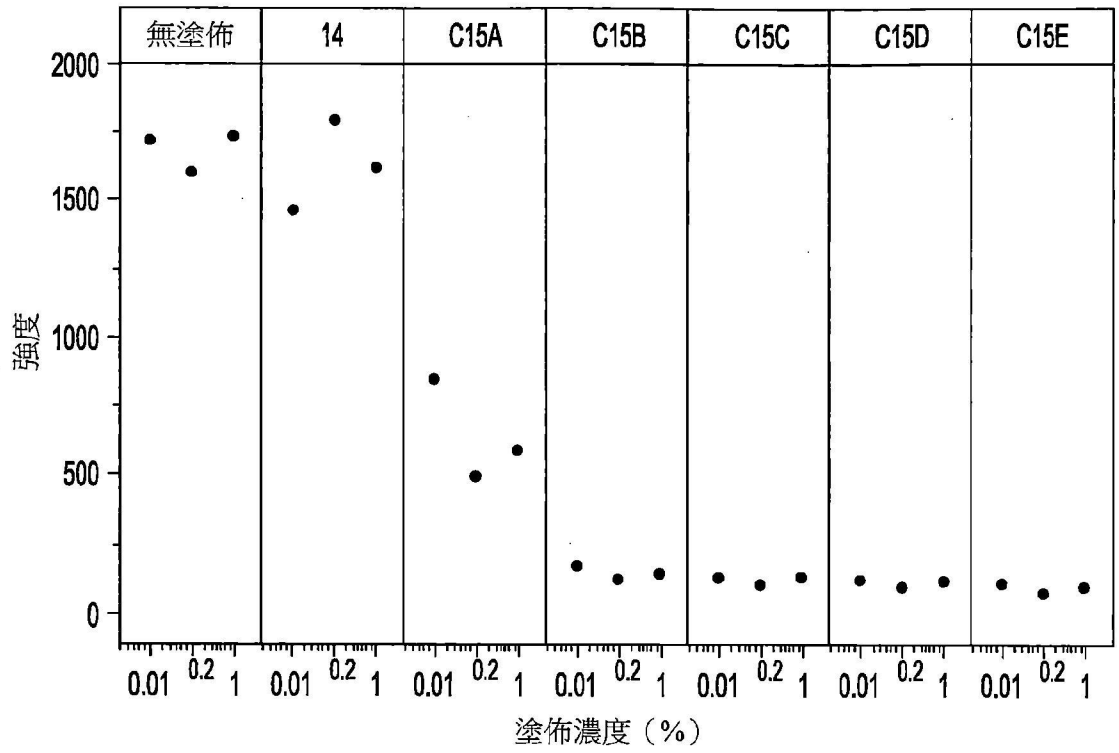

無塗佈
14
C15A
C15B
C15C
C15D
C15E
2000
1500
1000
500
0
強度
0.01
0.2
1
塗佈濃度（%）

圖22