(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7324835号
(P7324835)

(45)発行日　令和5年8月10日(2023.8.10)

(24)登録日　令和5年8月2日(2023.8.2)

(51)国際特許分類
Ｇ０１Ｎ　27/00　(2006.01)

ＦＩ
Ｇ０１Ｎ　27/00　Ｚ

請求項の数　22　（全49頁）

(21)出願番号　特願2021-510203(P2021-510203)
(86)(22)出願日　令和1年8月26日(2019.8.26)
(65)公表番号　特表2021-535381(P2021-535381A)
(43)公表日　令和3年12月16日(2021.12.16)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/072684
(87)国際公開番号　WO2020/043653
(87)国際公開日　令和2年3月5日(2020.3.5)
審査請求日　令和3年3月23日(2021.3.23)
(31)優先権主張番号　62/723,871
(32)優先日　平成30年8月28日(2018.8.28)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　591003013
エフ．ホフマン－ラ ロシュ アーゲー
Ｆ．ＨＯＦＦＭＡＮＮ－ＬＡ ＲＯＣＨＥ ＡＫＴＩＥＮＧＥＳＥＬＬＳＣＨＡＦＴ
スイス・シーエイチ－４０７０バーゼル・グレンツアーヘルストラツセ１２４
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100196243
弁理士　運 敬太

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ルテニウム含有電極を備えるナノポアシーケンシングデバイス

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ナノポアシーケンシングデバイスであって、
（ｉ）ルテニウム含有材料からなる電極と、
（ｉｉ）参照電極または対電極のうちの少なくとも１つと
を備え、
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、前記ナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項２】
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項３】
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項２に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項４】
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項２に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項５】
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とす

る、請求項１～４のいずれか１項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項６】
前記電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項５に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項７】
前記電極の表面に配置された誘電体材料をさらに備える、請求項１～６のいずれか１項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項８】
複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるチップであって、
各個別にアドレス指定可能なナノポアは、ルテニウム含有材料からなる作用電極と流体連通しており、
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、前記チップ。
【請求項９】
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項８に記載のチップ。
【請求項１０】
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項９に記載のチップ。
【請求項１１】
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項９に記載のチップ。
【請求項１２】
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項８～１１のいずれか１項に記載のチップ。
【請求項１３】
前記作用電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項８～１２のいずれか１項に記載のチップ。
【請求項１４】
請求項８～１３のいずれか一項に記載のチップを備えるナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項１５】
ナノポアシーケンシングデバイスであって、
ルテニウム含有材料からなる作用電極と、
誘電体層であって、前記誘電体層の一部が前記作用電極に隣接して水平に配置され、前記誘電体層の一部が前記作用電極の上に配置され、前記作用電極の一部を覆い、前記誘電体層が、前記作用電極の覆われていない部分の上に開口部を有するウェルを形成する、前記誘電体層を備え、
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、前記ナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項１６】
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項１５に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項１７】
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項１６に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項１８】
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項１６に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項１９】

前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項１５～１８のいずれか１項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項２０】
前記電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項１９に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項２１】
前記誘電体層の上の表面をさらに含み、膜が前記表面の上部に形成され、前記作用電極の前記覆われていない部分の上の前記ウェルの前記開口部にまたがることがある、請求項１５～２０のいずれか一項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【請求項２２】
前記作用電極のベース表面積が、前記作用電極の前記覆われていない部分の上の前記開口部のベース表面積よりも大きい、請求項２１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１８年８月２８日に出願された、「ＲＵＴＨＥＮＩＵＭ－ＣＯＮＴＡＩＮＩＮＧ　ＥＬＥＣＴＲＯＤＥ」と題する米国仮特許出願第６２／７２３，８７１号に対する優先権を主張するものであり、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。
【０００２】
参照による援用
本明細書で述べられるすべての刊行物、および特許出願は、各々の個々の刊行物、または特許出願が参照によって組み込まれることが具体的かつ個別に示されるかのように、参照によって同様に本明細書に組み込まれる。
【０００３】
本発明の実施形態は、一般に電極、特に、核酸シーケンシングに使用するための電極に関する。
【背景技術】
【０００４】
ＤＮＡシーケンシングの重要性は４０年前の始まりから劇的に高まっている。これは、生物学および医学のほとんどの分野で重要な技術として、またパーソナライズされた精密医学の新しいパラダイムの基盤として認識されている。個人のゲノムとエピゲノムに関する情報は、病気の傾向、臨床的予後、治療への反応を明らかにするのに役立つが、医学におけるゲノムシーケンシングの日常的な適用には、タイムリーで費用効果の高い方法で提供される包括的なデータが必要である。
【０００５】
ナノポアベースの核酸シーケンシングは、広く研究されてきたアプローチである。過去２０年間で、ポリマーの特性評価や低コストで迅速な単一分子の方法でヌクレオチドを区別するためにナノポアを利用することに大きな関心が寄せられてきた。例えば、Ｋａｓｉａｎｏｗｉｃｚらは、脂質二重層に埋め込まれたアルファ溶血素ナノポアを介して電気的に移動した一本鎖ポリヌクレオチドの特性を記述した（例えば、Ｋａｓｉａｎｏｗｉｃｚ，Ｊ．（１９９６），Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌ Ｐｏｌｙｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｕｓｉｎｇ ａ Ｍｅｍｂｒａｎｅ Ｃｈａｎｎｅｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９３，１３７７０－３を参照）。ポリヌクレオチド転座の間、ナノポア開口の部分的遮断は、イオン電流の減少として測定できることが実証された。同様に、Ｇｕｎｄｌａｃｈらは、マイコバクテリウム・スメグマチス（「ＭｓｐＡ」）に由来する低ノイズのナノポアを、二重中断シーケンシングと呼ばれるプロセスと組み合わせて使用するＤＮＡのシーケンシング方法を示した（例えば、Ｄｅｒｒｉｎｇｔｏｎ，Ｉ．ｅｔ ａｌ．（２０１０），Ｎａｎｏｐｏｒｅ ＤＮＡ

Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｗｉｔｈ ＭｓｐＡ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１０７（３７），１６０６０－１６０６５を参照）。ここでは、二本鎖を使用して、ＭｓｐＡくびれ部に核酸の一本鎖部分を一時的に保持した。Ａｋｅｓｏｎら（例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ／２０１５０３４４９４５を参照）は、隣接して配置された分子モータを利用して、ナノポア開口部を通ってまたは隣接してポリヌクレオチドの転座速度を制御する、ナノポア内のポリヌクレオチドを特徴付けるための方法を開示する。

【０００６】

一般に、３つのナノポアシーケンシングアプローチが追求されてきた。ＤＮＡの塩基がナノポアを順次通過するときに同定されるストランドシーケンシングと、ヌクレオチドがＤＮＡ分子から１つずつ酵素的に切断され、それらがナノポアによって捕捉されて通過するときに監視されるエキソヌクレアーゼベースのナノポアシーケンシングと、識別可能なポリマータグがヌクレオチドに付着し、酵素触媒ＤＮＡ合成中にナノポアに登録される合成によるナノポアシーケンシング（ＳＢＳ）アプローチである。これらすべての方法に共通するのは、各塩基が順番に決定されるように、反応速度を正確に制御する必要があることである。鎖シーケンシングには、ナノポアを通るＤＮＡの通過を遅くし、チャネル内の複数の塩基を解読する方法が必要であり、この目的のために、分子モータを利用したラチェットアプローチが開発された。エキソヌクレアーゼベースのシーケンシングでは、有効なイオン電流信号を取得するのに十分遅い速度での捕捉とポアを通過することを保証するために、ポアに十分近い各ヌクレオチドの放出が必要である。さらに、これらの方法は両方とも、４つの天然塩基、２つの比較的類似したプリンと２つの類似したピリミジンの違いに依存している。ナノポアＳＢＳアプローチは、シーケンシングのためのユニークで容易に区別できるイオン電流遮断シグネチャを生成するように特別に設計されたヌクレオチドに取り付けられた合成ポリマータグを利用する。

【発明の概要】

【０００７】

本開示の一態様は、（ｉ）ルテニウム含有材料からなる電極と、（ｉｉ）参照電極または対電極のうちの少なくとも１つと

を備える、ナノポアシーケンシングデバイスである。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ルテニウム、酸素、および窒素のうちの少なくとも２つを含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、窒化ルテニウムおよび酸窒化ルテニウムのうちの少なくとも１つを含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．０の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．２の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２．１～約２．４の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約５％以上であるが約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、電極は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を含む。いくつかの実施形態では、ナノポアシーケンシングデバイスは、電極の表面に配置された誘電体材料をさらに含む。いくつかの実施形態では、電極は金属層上に配置される。いくつかの実施形態では、ナノポアシーケンシングデバイスは、チップ上に配置された複数の電極を含む。

【０００８】

本開示の別の態様は、複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるチップであり、各個別にアドレス指定可能なナノポアは、ルテニウム含有材料からなる作用電極と流体連通している。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ルテニウム、酸素、および窒素を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの

実施形態では、ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．０の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．２の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２．１～約２．４の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約５％以上であるが約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、作用電極は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される柱状構造を含む。いくつかの実施形態では、作用電極は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を含む。

【０００９】

本開示の別の態様は、複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるチップまたはバイオチップを含むナノポアシーケンシングデバイスであり、各個別にアドレス指定可能なナノポアは、ルテニウム含有材料からなる作用電極と流体連通している。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。

【００１０】

本開示の別の態様は、ナノポアシーケンシングデバイスであり、ルテニウム含有材料からなる作用電極と、誘電体層であって、誘電体層の一部が作用電極に隣接して水平に配置され、誘電体層の一部が作用電極の上に配置され、作用電極の一部を覆い、誘電体層が、作用電極の覆われていない部分の上に開口部を有するウェルを形成する、誘電体層とを備える（例えば、米国特許第１０，０３６，７３９号を参照し、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．０の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．２の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２．１～約２．４の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約５％以上であるが約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、電極は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を含む。いくつかの実施形態では、ナノポアシーケンシングデバイスは誘電体層の上の表面をさらに含み、膜が表面の上部に形成され、作用電極の覆われていない部分の上のウェルの開口部にまたがることがある。いくつかの実施形態では、作用電極のベース表面積が、作用電極の覆われていない部分の上の開口部のベース表面積よりも大きい。

【００１１】

本開示の別の態様は、ルテニウムターゲット（例えば、純度９５％、純度９７％、または純度９９％のルテニウム金属ターゲット）を使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行するプロセスに従って調製されたルテニウム含有膜であり、スパッタ堆積またはプラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）約１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）約１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを堆積チャンバに導入することとを含み、堆積中に堆積チャンバ内の堆積圧力が約５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持され、堆積が、約５０ワット～約２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される。いくつかの実施形態では、堆積圧力が約２０ｍＴｏｒｒであり、窒素の流量が約９０ｓｃｃｍであり、電力が約２００ワットである。いくつかの実施形態では、堆積プロセスは室温で行われる。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約２２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を含む。

【００１２】

いくつかの実施形態では、プロセスは、堆積されたルテニウム含有膜を１２０℃を超え

る温度で加熱することをさらに含む。いくつかの実施形態では、加熱は、１４０℃～約３４０℃の範囲の温度で行われる。いくつかの実施形態では、Ｘ線光電子分光法によって測定される、ルテニウム含有膜の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比は、約１．５～約３．５の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．２の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、膜の総重量の最大１５％の窒素を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜が、膜の総重量の最大１０％の窒素を含むが、膜の総重量の５％以上の窒素を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、約２６０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、面心立方構造を含む。

【００１３】

本開示の別の態様は、基板上に堆積されたスタック、基板の表面上に少なくとも部分的に配置された金属層、金属層の表面上に配置された活性層、および該活性層の表面上に少なくとも部分的に配置されたキャップ層であり、活性層が、ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行するプロセスに従って調製されたルテニウム含有膜を含み、スパッタ堆積またはプラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）約１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）約１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを堆積チャンバに導入することとを含み、堆積中に堆積チャンバ内の堆積圧力が約５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持され、堆積が、約５０ワット～約２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される。いくつかの実施形態では、活性層は、誘電体材料によって少なくとも部分的に囲まれている。いくつかの実施形態では、キャップ層は誘電体材料から構成される。いくつかの実施形態では、スタックは熱処理され得る。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有する。いくつかの実施形態において、基板は半導体である。いくつかの実施形態では、基板は、少なくとも２００ウェル／ｍｍ^{2}の密度で複数のウェルを含み、各ウェルは、スタックを含む。いくつかの実施形態では、密度は少なくとも３００ウェル／ｍｍ^{2}である。いくつかの実施形態では、密度は少なくとも４００ウェル／ｍｍ^{2}である。いくつかの実施形態では、密度は少なくとも５００ウェル／ｍｍ^{2}である。いくつかの実施形態では、スタックは、含まれた、例えば、リザーバに収容され得る。

【００１４】

本開示の別の態様は、上記で特定されたスタックを含むナノポアシーケンシングデバイスである。いくつかの実施形態では、スタックは、対電極の近くに配置され得る。いくつかの実施形態では、スタックは、リザーバ内に配置され得る。

【００１５】

本開示の別の態様は、複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるバイオチップであり、各個別にアドレス指定可能なナノポアは、ルテニウム含有材料からなる作用電極と流体連通しており、ルテニウム含有材料は、ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行するプロセスに従って調製され、スパッタ堆積またはプラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）約１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）約１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを堆積チャンバに導入することとを含み、堆積中に堆積チャンバ内の堆積圧力が約５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持され、堆積が、約５０ワット～約２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有する。

【００１６】

本開示の別の態様は、基板上に堆積された薄膜であり、薄膜は、窒化ルテニウム、酸化ルテニウム、酸窒化ルテニウム、またはそれらの混合物を含み、薄膜は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有し、薄膜の窒素含有量は約５％以上約１５％以下である。いくつかの実施形態では、二層静電容量は、約２６０ｐＦ／ｕ

ｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。いくつかの実施形態では、二層静電容量は、約２８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３００ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。いくつかの実施形態では、Ｘ線光電子分光法によって測定される、薄膜の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比は、約１．５～約３．５の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．２の範囲である。いくつかの実施形態では、薄膜は、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を含む。

【００１７】

本開示の別の態様は、上記のルテニウム含有薄膜を含む電極である。

【００１８】

本開示の別の態様は、電極を作製する方法であり、導電層上に配置された第１の誘電体層内に穴をエッチングすることであって、穴が導電層の露出面を備える、エッチングすることと、ルテニウム含有膜を含む作用電極を、少なくとも、穴内の導電層の露出面上に堆積させることと、作用電極の表面にキャップ層を堆積させることとを含む。いくつかの実施形態では、作用電極の堆積が、（ｉ）ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行して、ルテニウム含有膜を提供することと、（ｉｉ）提供されたルテニウム含有膜を少なくとも約１５０℃の温度で加熱することとを含む。

【００１９】

いくつかの実施形態では、作用電極が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の薄膜の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、比率は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、作用電極は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、作用電極が、約５％以上であるが約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とし、さらに、横断面の走査型電子顕微鏡法によって観察されるような柱状構造または樹枝状構造のうちの１つを有することを特徴とする。

【００２０】

いくつかの実施形態では、作用電極の堆積が、（ｉ）ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行することであって、スパッタ堆積またはプラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）約１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）約１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを堆積チャンバに導入することとを含み、堆積中に堆積チャンバ内の堆積圧力が約５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持され、堆積が、約５０ワット～約２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される、実行することと、（ｉｉ）提供されたルテニウム含有膜を少なくとも約１５０℃の温度で加熱することとを含む。いくつかの実施形態では、加熱は少なくとも約２００℃で行われる。

【００２１】

本開示の別の態様は、（ｉ）１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有する電極と、（ｉｉ）参照電極または対電極のうちの少なくとも１つとを備える、ナノポアシーケンシングデバイスである。いくつかの実施形態では、電極は、ルテニウム、酸素、および窒素からなり、電極は、約５％以上約１５％以下の窒素を含む。いくつかの実施形態では、電極は金属窒化物からなる。いくつかの実施形態では、金属窒化物は窒化ルテニウムである。いくつかの実施形態では、電極は、窒化ルテニウムおよび酸窒化ルテニウムを含む。

【００２２】

本開示の別の態様は、ナノポアと、ナノポアに近接した電極とを含むナノポアシーケンシングデバイスであり、電極は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有するルテニウム含有材料を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ルテニウム、酸素、および窒素のうちの少なくとも２つを含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、窒化ルテニウムおよび酸窒化ルテニウムのうちの少なくとも１つを含む。いくつかの実施形態では、ナノポアは、ナノポアシーケンシング

複合体の一部である。

【００２３】

本開示の別の態様は、（ａ）少なくとも２５０ウェル／ｍｍ２の密度で複数のウェルを有する半導体基板と、（ｂ）複数のウェルのそれぞれに配置された電極であって、ルテニウム含有材料からなる、電極とを備える、バイオチップである。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．０の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約５％以上であるが、約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、バイオチップは、各個別の電極の表面に配置された疎水性コーティングをさらに含む。いくつかの実施形態では、バイオチップは、バイオチップの上に配置されたカバーをさらに含む。いくつかの実施形態では、カバーは、脂質コーティングへの１つまたは複数の流体の送達を容易にするために、少なくとも１つの流体入口を含む。

【００２４】

本開示の別の態様は、バイオチップ（例えば、（ａ）少なくとも２５０ウェル／ｍｍ２の密度で複数のウェルを有する半導体基板と、（ｂ）複数のウェルのそれぞれに配置された電極であって、ルテニウム含有材料からなる、電極とからなるバイオチップ）と、第２の構成要素とを含むキットである。いくつかの実施形態では、第２の構成要素は脂質溶液である。他の実施形態では、第２の構成要素は緩衝剤である。いくつかの実施形態では、第２の構成要素は、ナノポアシーケンシング複合体を形成するために使用される構成要素（例えば、ポア、酵素、鋳型など）を含む。

【００２５】

本開示の別の態様は、バイオチップを作製する方法であって、（ａ）半導体基板を取得することと、（ｂ）少なくとも２５０ウェル／ｍｍ^{2}の密度で半導体基板内に複数のウェルを形成することと、（ｃ）複数のウェルの個々のウェルのそれぞれに電極を形成することであって、電極が、ルテニウム含有材料からなる、形成することとを含む、方法である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．０の範囲である。いくつかの実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料が、約５％以上であるが約１５％以下である窒素含有量を有することを特徴とする。いくつかの実施形態では、方法は、電極の表面を疎水性材料でコーティングすることをさらに含む。

【００２６】

本開示の別の態様は、（ｉ）リザーバと、（ｉｉ）バイオチップ（例えば、（ａ）少なくとも２５０ウェル／ｍｍ２の密度で複数のウェルを有する半導体基板と、（ｂ）複数のウェルのそれぞれに配置された電極であって、ルテニウム含有材料からなる、電極とからなるバイオチップ）と、（ｉｉｉ）リザーバのバイオチップに面する表面に配置された対電極とを含むアセンブリである。いくつかの実施形態では、対電極は、バイオチップに面する表面に印刷される。リザーバ、対電極、および他のアセンブリ構成要素は、米国特許第９，６５８，１９０号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。アセンブリに含めるためのさらに追加の構成要素は、米国特許出願公開第２０１７／０３５０８５９号および２０１７／０３２６５５０号に開示されており、それらの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００２７】

出願人は、驚くべきことに、二層静電容量が改善されたルテニウム含有材料が信号減衰率の低減を可能にし、最終的に、異なるタイプのタグがナノポアの筒内に保持されるときの信号の解像度の改善を可能にすることを発見した。

【図面の簡単な説明】

【００２８】

本開示の特徴の一般的な理解のために、図面を参照する。図面では、同一の要素を識別するために、全体を通して同様の参照番号が使用されている。

【００２９】

【図１Ａ】二層静電容量に対するスパッタ電力の影響を示している。

【００３０】

【図１Ｂ】堆積された膜厚に対するスパッタ電力の影響を示している。

【００３１】

【図１Ｃ】５０Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３２】

【図１Ｄ】１００Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３３】

【図１Ｅ】２００Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３４】

【図１Ｆ】５０Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３５】

【図１Ｇ】１００Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３６】

【図１Ｈ】２００Ｗでスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３７】

【図２Ａ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について２０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３８】

【図２Ｂ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００３９】

【図２Ｃ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について２０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４０】

【図２Ｄ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４１】

【図２Ｅ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４２】

【図２Ｆ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜の横断面の走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４３】

【図２Ｇ】２００Ｗ、１０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について２０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４４】

【図２Ｈ】２００Ｗ、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００４５】

【図３Ａ】アルゴンについて１０ｓｃｃｍ、アルゴンについて２０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のエネルギー分散型Ｘ線分光法の結果を示している。データは、２０ｓｃｃｍ（低窒素流量）で、生成された膜の大部分が主にルテニウムであり、膜が５％未満の窒素を含むことを示唆している。

【００４６】

【図３Ｂ】アルゴンについて１０ｓｃｃｍ、アルゴンについて９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜のエネルギー分散型Ｘ線分光法の結果を示している。データは、９０ｓｃｃｍ（高窒素流量）で、生成された膜の大部分が主にルテニウムであり、膜が約１５％の窒素を含むことを示唆している。

【００４７】

【図３Ｃ】アルゴンについて１０ｓｃｃｍ、アルゴンについて２０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされ、その後に熱処理されたルテニウム含有膜のエネルギー分散型Ｘ線分光法の結果を示している。データは、図３Ａと比較して、酸素含有量の有意な増加が観察されることを示唆する。

【００４８】

【図３Ｄ】アルゴンについて１０ｓｃｃｍ、アルゴンについて９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされ、その後に熱処理されたルテニウム含有膜のエネルギー分散型Ｘ線分光法の結果を示している。データは、図３Ｂおよび３Ｃと比較して、酸素含有量のわずかな増加のみが観察されることを示唆する。

【００４９】

【図４Ａ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタ堆積され、その後に１５０℃で熱処理されたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００５０】

【図４Ｂ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタ堆積され、その後に２００℃で熱処理されたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００５１】

【図４Ｃ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタ堆積され、その後に２６０℃で熱処理されたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００５２】

【図４Ｄ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタ堆積され、その後に３２０℃で熱処理されたルテニウム含有膜のトップダウン走査型電子顕微鏡画像を提供する。

【００５３】

【図５Ａ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜上での様々な温

度での二層静電容量への熱処理の影響を示すグラフを提供する。
【００５４】
【図５Ｂ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜上での様々な温度でのルテニウム、窒素および酸素の原子比への熱処理の影響を示すグラフを提供する。
【００５５】
【図５Ｃ】２００Ｗ、室温、２０ｍＴｏｒｒ、アルゴンについて１０ｓｃｃｍの流量、窒素について９０ｓｃｃｍの流量でスパッタリングされたルテニウム含有膜上での様々な温度でのルテニウム、窒素および酸素の原子パーセントへの熱処理の影響を示すグラフを提供する。
【００５６】
【図６Ａ】４つのルテニウム含有サンプルのＸ線光電子分光法データを示している（本明細書の表１も参照）。
【００５７】
【図６Ｂ】４つのルテニウム含有サンプルのＸ線光電子分光法データ（Ｃ１ｓ）を示している。
【００５８】
【図６Ｃ】４つのルテニウム含有サンプルのＸ線光電子分光法データ（Ｎ１ｓ）を示している。
【００５９】
【図６Ｄ】４つのルテニウム含有サンプルのＸ線光電子分光法データ（Ｏ１ｓ）を示している。
【００６０】
【図７Ａ】ルテニウム含有材料からなる（作用電極容量が高い）電極を含むセルと窒化チタンからなる（作用電極容量が比較的低い）電極との間の信号減衰率の違いを示す図を示す。信号減衰率は、ＡＤＣへのスイッチがオンになっているときの時間の関数としてＡＤＣ（アナログ－デジタルコンバータ）（図１０Ａ～１０Ｄを参照）の信号変化をプロットすることによって測定された。その間、Ｎｃａｐは、図１０Ａに示されるように、$C_{二層}$および$C_{二層}$を含む回路を通って放電する。測定はチップ上のＡＳＩＣ回路で行われた。
【００６１】
【図７Ｂ】ゆっくりと起こる減衰を示し（図７Ｂおよび図７Ｃの曲線の傾きを比較する）、さらに、４つの異なるヌクレオチドに関連する４つの異なるタグのそれぞれの減衰を示す。異なる信号減衰曲線の間に良好な分離が示され、これは、図７Ｃに示される減衰曲線と比較して、より良い信号分離および増加した信号分解能を提供する。
【００６２】
【図７Ｃ】（図７Ｂと比較して）速く発生する減衰を示している。図７Ｂと比較して、より低い信号分解能が観察される。
【００６３】
【図８】ポリマータグ付きヌクレオチドを有するナノポアによる単一分子ＤＮＡシーケンシングを示している（１４０）。４つのヌクレオチドのそれぞれが異なるタグを有している。ナノポアシーケンシング中に、ヌクレオチドの５’－リン酸を介して付着したこれらのタグは、一度に１つずつナノポア（１３０）に放出され、そこで固有の電流遮断シグネチャ（１５０）が生成される。
【００６４】
【図９】ナノポアベースのシーケンシングチップ内のセル１００の実施形態を示している。
【００６５】
【図１０Ａ】ナノポアベースのシーケンシングチップのセル内の回路の実施形態を示し、ナノポアに印加される電圧は、ナノポアが特定の検出可能な状態にある期間にわたって変化するように構成することができる。
【００６６】

【図１０Ｂ】スイッチ「１」（ＰＲＥ）が閉じられ、スイッチ「２」（ＴＲＳ）が開かれる回路を示している。この構成で電圧を印加すると、ＮＣＡＰ（電荷の蓄積および放電のためのキャパシタ）が作用電極（Ｖｐｒｅ）に充電される。
【００６７】
【図１０Ｃ】スイッチ「１」（ＰＲＥ）が開かれ、スイッチ「２」（ＴＲＳ）が閉じられる回路を示している。この構成では、ＮＣＡＰが放電し、放電はＮＣＡＰから対電極（Ｖｌｉｑ）まで発生する（矢印を参照）。放電率は、二重層静電容量に対する電極の二重静電容量に依存する。電極の二重容量の値が高いほど、減衰が遅くなる（これにより、最終的に、シーケンシング中などの信号が改善される）。高い作用電極容量（$C_{二層}$）は、Ｖｐｒｅ－Ｖｌｉｑの減衰が遅いことを意味する。タグが異なるナノポアは抵抗が異なり（Ｒｐｏｒｅ）、減衰率に差が生じるため、信号分解能が向上すると考えられる（図７Ｂおよび図７Ｃを参照）。
【００６８】
【図１０Ｄ】スイッチ「１」（ＰＲＥ）が開かれ、スイッチ「２」（ＴＲＳ）が開かれる回路を示している。この構成では、ＡＤＣ（アナログ－デジタルコンバータ）はノードＡの電圧を読み取ることができ、データポイントの収集を可能にする。
【００６９】
【図１１Ａ】導電性電極と隣接する液体電解質との間の任意の界面に形成される二層を示している。示されている例では、電極表面が負に帯電しているため、電解質に正の帯電種が蓄積する。別の例では、示されているすべての電荷の極性は、示されている例と反対であり得る。
【００７０】
【図１１Ｂ】図１１Ａのように、導電性電極と隣接する液体電解質との間の界面において、二層の形成と同時に形成することができる疑似容量効果を示している。
【００７１】
【図１２】ナノポアが膜に挿入されている、ナノポア内の分子を分析するためのプロセス８００の実施形態を示している。
【００７２】
【図１３】プロセス８００が実行され、３回繰り返されたときの時間に対するナノポアに印加された電圧のプロットの実施形態を示している。
【００７３】
【図１４】ナノポアが異なる状態にあるときの時間に対するナノポアに印加された電圧のプロットの実施形態を示す。
【００７４】
【図１５】電気化学容量が増加したＴｉＮ作用電極を含む、ナノポアベースのシーケンシングチップの非ファラデー電気化学セル１１００の実施形態を示している。
【００７５】
【図１６Ａ】ルテニウム含有材料を含むナノポアベースのシーケンシングチップの電極を製造するプロセスの実施形態を示す。
【図１６Ｂ】ルテニウム含有材料を含むナノポアベースのシーケンシングチップの電極を製造するプロセスの実施形態を示す。
【図１６Ｃ】ルテニウム含有材料を含むナノポアベースのシーケンシングチップの電極を製造するプロセスの実施形態を示す。
【図１６Ｄ】ルテニウム含有材料を含むナノポアベースのシーケンシングチップの電極を製造するプロセスの実施形態を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７６】
反対に明確に示されない限り、複数のステップまたは行為を含む本明細書で請求される方法において、方法のステップまたは行為の順序は、必ずしも方法のステップまたは行為が記載されている順序に限定されないことも理解されたい。

【００７７】
本明細書で使用される場合、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、文脈が別途明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。同様に、「または」という単語は、文脈が明確に別のことを示さない限り、「および」を含むことを意図している。「含む」という用語は、「ＡまたはＢを含む」がＡ、Ｂ、またはＡおよびＢを含むことを意味するように、包括的に定義される。
【００７８】
本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、「または」は、上記で定義された「および／または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、リスト内の項目を区切る場合、「または」または「および／または」は包括的であると解釈されるものとする。つまり、要素の数またはリストの少なくとも１つ、および、オプションで、追加のリストされていないアイテムを含むが、複数を含むと解釈される。「ただ１つまたは「正確に１つ」、または特許請求の範囲で使用される場合、「からなる」など、反対に明確に示される用語のみが、数または要素のリストの正確に１つの要素を含むことを指す。一般に、本明細書で使用される「または」という用語は、「いずれか」、「いずれか」、「のみ」、「正確にいずれか」などの排他性の用語が前に付いている場合、排他的な代替案を示すものとしてのみ解釈されるものとする（すなわち、「一方または他方であるが両方ではない」）。「本質的にからなる」は、特許請求の範囲で使用される場合、特許法の分野で使用される通常の意味を有するものとする。
【００７９】
「備えている」、「含んでいる」、「有している」などの用語は、交換可能に使用され、同じ意味を有する。同様に、「備える」、「含む」、「有する」などは同じ意味で使用され、同じ意味を有する。具体的には、各用語は、「含む」という一般的な米国特許法の定義と一致して定義されているため、「少なくとも以下を」を意味するオープンな用語として解釈され、また追加の特徴、制限、側面などを排除しないものとして解釈される。したがって、例えば、「構成要素ａ、ｂ、およびｃを有するデバイス」は、デバイスが少なくとも構成要素ａ、ｂ、およびｃを含むことを意味する。同様に、「ステップａ、ｂ、およびｃを含む方法」という句は、その方法が少なくともステップａ、ｂ、およびｃを含むことを意味する。さらに、ステップおよびプロセスは、本明細書において特定の順序で概説され得るが、当業者は、順序付けのステップおよびプロセスが変化し得ることを認識するであろう。
【００８０】
本明細書の明細書および特許請求の範囲で使用される場合、１つまたはそれ以上の要素のリストに関連する「少なくとも１つ」という句は、要素のリストの任意の１つまたはそれ以上の要素から選択される少なくとも１つの要素を意味すると理解されるべきである。ただし、要素のリスト内に具体的にリストされているすべての要素の少なくとも１つを含む必要はなく、要素のリスト内の要素の組み合わせを除外するものではない。この定義はまた、「少なくとも１つ」という句が参照する要素のリスト内で具体的に識別される要素以外の要素が、具体的に識別される要素に関連するかどうかにかかわらず、任意選択で存在し得ることを可能にする。したがって、非限定的な例として、「ＡおよびＢの少なくとも１つ」（または、同等に、「ＡまたはＢの少なくとも１つ」、または同等に「Ａおよび／またはＢの少なくとも１つ」）は、一実施形態では、少なくとも１つ、任意選択で２つまたはそれ以上のＡを含み、Ｂが存在しない（および任意選択でＢ以外の要素を含む）ことを指すことができ、別の実施形態では、少なくとも１つ、任意選択で２つまたはそれ以上のＢを含み、Ａが存在しない（および任意選択でＡ以外の要素を含む）ことを指し、さらに別の実施形態では、少なくとも１つ、任意選択で２つまたはそれ以上のＡを含み、少なくとも１つ、任意選択で２つまたはそれ以上のＢを含む（および任意選択で他の要素を含む）、等を指すことができる。
【００８１】
本明細書で使用される場合、「二層静電容量」という用語は、電気二層効果による電気

エネルギーの貯蔵を指す。この電気現象は、導電性電極と隣接する液体電解質との間の界面に現れる。この境界では、電圧を印加すると、極性が反対の２層のイオンが形成される。２層のイオンは、電極の表面に付着し、従来のキャパシタの誘電体のように機能する溶媒分子の単層によって分離されている。

【００８２】

本明細書で使用される場合、「導入」という用語は、ガス（またはガスの混合物）の濃度の追加または変更を意味する。ガスは、当技術分野で知られている任意の手段によって導入され得る。例えば、追加量の反応性ガスは、スパッタチャンバまたはガス流へのその特定の反応性ガス（またはガスの混合物）の流れを増加させることによって、スパッタチャンバまたは不活性ガス流に加えられることができる（例えば、追加されたガスの量は、付属の流量計または他の流量コントローラを監視することによって決定され得る）。

【００８３】

本明細書で使用される場合、「スパッタチャンバ」という用語は、スパッタチャンバ全体、その一部、またはスパッターゲットの特定の領域を取り囲む領域を指し得る。

【００８４】

本明細書で使用される場合、「ナノポア」という用語は、膜に形成された、またはそうでなければ提供された孔、チャネル、または通路を指す。ナノポアは、膜内の分子（タンパク質など）によって定義され得る。膜は、脂質二重層などの有機膜、または高分子材料で形成された膜などの合成膜であり得る。ナノポアは、例えば相補型金属酸化膜半導体（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｙ ｍｅｔａｌ－ｏｘｉｄｅ ｓｅｍｉｃｏｎｄｕｃｔｏｒ：ＣＭＯＳ）回路もしくは電界効果トランジスタ（ｆｉｅｌｄ ｅｆｆｅｃｔ ｔｒａｎｓｉｓｔｏｒ：ＦＥＴ）回路などのセンシング回路に隣接してまたは近接して配置され得る。ナノポアは、０．１ナノメートル（ｎｍ）から約１０００ｎｍのオーダーの特徴的な幅または直径を有し得る。いくつかのナノポアはタンパク質である。アルファ溶血素はタンパク質ナノポアの一例である。

【００８５】

本明細書で使用される場合、「ナノポアシーケンシング複合体」という用語は、酵素、例えば、ポリメラーゼに連結または結合されたナノポアを指し、これは、次に、ポリマー、例えば、ポリヌクレオチド鋳型と関連している。ナノポアシーケンシング複合体は、膜、例えば脂質二重層に配置され、そこでポリマー成分、例えばヌクレオチドまたはアミノ酸を同定するように機能する。

【００８６】

本明細書で使用される場合、「ナノポアシーケンシング」または「ナノポアベースのシーケンシング」という用語は、ナノポアの助けを借りてポリヌクレオチドの配列を決定する方法を指す。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドの配列は、鋳型依存的に決定される。本明細書に開示される方法は、ナノポアシーケンシング方法、システム、またはデバイスに限定されない。

【００８７】

本明細書で使用される場合、「核酸」という用語は、１つまたは複数の核酸サブユニットを含む分子を指す。核酸は、アデノシン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、グアニン（Ｇ）、チミン（Ｔ）およびウラシル（Ｕ）から選択される１つまたは複数のサブユニット（塩基）を含むことができる。これらの塩基の誘導体は、ＰＣＲシステム、試薬および消耗品（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ Ｃａｔａｌｏｇ １９９６－１９９７、Ｒｏｃｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｉｎｃ．、Ｂｒａｎｃｈｂｕｒｇ、Ｎ．Ｊ．、ＵＳＡ）に例示されており、これは参照により全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの例において、核酸は、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）、あるいはそれらの誘導体である。核酸は、例えば、一本鎖または二本鎖であり得る。核酸は、ＤＮＡ、ＲＮＡ、およびそれらのハイブリッドまたは変異体を含むがこれらに限定されない、任意の核酸分子を含むことができる。

【００８８】

本明細書で使用される場合、「シーケンシング」という用語は、核酸中の塩基の順序および位置の決定を指す。

【００８９】

本明細書で使用される場合、「タグ」という用語は、原子もしくは分子、または原子もしくは分子の集合体であり得る検出可能な部分を指す。タグは、光学的、電気化学的、磁気的、または静電的（例えば、誘導性、容量性）シグネチャを提供することがあり、これは、ナノポアの助けを借りて検出され得る。

【００９０】

本明細書で使用される場合、「タグ付きヌクレオチド」という用語は、その末端リン酸にタグが付いているヌクレオチドを指す。

【００９１】

出願人は、従来技術の電極と比較して予想外に優れた二層静電容量を有する電極を含む改良されたナノシーケンシングデバイスを開発し、比較的速い信号減衰を可能にした。これらおよび他の実施形態は、本明細書に開示されている。

【００９２】

ルテニウム含有材料

【００９３】

本開示の一態様は、ルテニウム含有材料である。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ルテニウム、窒素、および酸素のうちの少なくとも２つを含む。いくつかの実施形態において、ルテニウム含有材料は、酸化ルテニウム、窒化ルテニウム、酸窒化ルテニウムなど、ならびにそれらの任意の複合体または混合物（例えば、窒化ルテニウムおよび酸窒化ルテニウムを含む複合体、または窒化ルテニウムおよび酸窒化ルテニウムを含む混合物）を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料を電極に使用し得る。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、複数の個別にアドレス指定可能なウェルなどの複数のウェルを含むチップまたはバイオチップの電極として使用され得る。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ナノポアシーケンシングデバイスなどのシーケンシングデバイスで使用するために電極に取り込まれ得る。本明細書でさらに詳細に説明するように、本開示のルテニウム含有材料は、窒化チタンなどの他の金属窒化物と比較して、改善された物理的および／または化学的特性を有し、例えば、ルテニウム含有材料は、窒化チタン材料と比較して増加した二層静電容量を提供し、また、比較的増強された信号減衰率を可能にする。

【００９４】

いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料は、ルテニウム含有材料を基板上に堆積させることによって調製される。スパッタ堆積、プラズマ蒸着、化学蒸着、中間周波数反応性スパッタリング、ＤＣスパッタリング、および磁気スパッタリングを含むがこれらに限定されない適切な堆積システムを利用し得る。スパッタリングは、基板上に材料の薄膜を堆積するために広く使用されている。一般に、このようなプロセスには、イオン化ガス雰囲気でスパッタリングされる材料（「ターゲット」）の平面または回転可能なプレートにイオンボンバード処理を与えることが含まれる。プラズマから出るガスイオンは、堆積される材料で構成されるターゲットに向かって加速される。材料はターゲットから分離（「スパッタリング」）され、その後、近くの基板に堆積される。このプロセスは、堆積が始まる前に真空ベース圧力までポンプダウンされる密閉チャンバ内で実現される。プロセス中は真空が維持され、ターゲット材料の粒子が移動され、コーティングされる基板上に薄膜として堆積される。

【００９５】

いくつかの実施形態では、基板上にスパッタリングされる材料は、ターゲットプレート上のコーティングとして存在する（プレート自体は、回転するターゲットプレートまたは平面のターゲットプレートであり得る）。他の実施形態では、ターゲット全体は、基板上にスパッタリングされる材料から構成され得る。この目的には、純金属や混合金属など、任意の材料を使用し得る。

【００９６】
適切なスパッタシステムは、（ｉ）平面または回転ターゲット（例えば、ルテニウムターゲット）をスパッタリングするように構成されたチャンバと、（ｉｉ）チャンバと流体連通している１つまたは複数のガスマニホールド（または混合ガスマニホールド）（例えば、窒素を導入するための第１のガスマニホールド、およびアルゴンなどの不活性ガスを導入するための第２のガスマニホールド）と、（ｉｉｉ）混合ガスマニホールドと流体連通する反応性ガスおよび不活性ガス源とを含む。いくつかの実施形態では、反応性ガスは、第１のガスマニホールドによってチャンバの一部に導入される。いくつかの実施形態では、反応性ガスは窒素である。いくつかの実施形態では、不活性ガスはアルゴンである。いくつかの実施形態では、導入された反応性ガスと導入された不活性ガスとの比は、約９：１～約１：１の範囲である。いくつかの実施形態では、反応性ガスは、スパッタチャンバ内の大気全体に加えられる。他の実施形態では、反応性ガスは、スパッタチャンバの特定の領域にわたって、またはターゲットの特定の部分を取り囲む領域に導入される。
【００９７】
いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料を基板上に堆積するプロセスは、第１のステップとして、基板およびターゲット（例えば、ルテニウムターゲット）をスパッタチャンバに導入することを含む。いくつかの実施形態では、基板は金属、例えばアルミニウムである。他の実施形態では、基板は、金属基板（例えば、チタン膜）上に堆積された薄膜などの既存の薄膜である。いくつかの実施形態では、既存の薄膜は、ルテニウム含有材料の成長のための種層として機能する。いくつかの実施形態では、既存の薄膜は、リチウムまたはリチウム含有材料を含み得る。
【００９８】
いくつかの実施形態では、堆積中に供給される電力は、５０ワット～約２５０ワットの範囲である。他の実施形態では、堆積中に供給される電力は、５０ワット～約２００ワットの範囲である。さらに他の実施形態では、堆積中に供給される電力は、１００ワット～約２００ワットの範囲である。いくつかの実施形態では、出願人は、窒化ルテニウムの膜などのルテニウム含有膜の二層静電容量が、スパッタ電力が増加するにつれて直線的に増加することを発見した（図１Ａを参照）。例えば、二層静電容量は、５０ワットのスパッタ電力での４５００ｕＦ／ｃｍ2から２００ワットのスパッタ電力での１５０００ｕＦ／ｃｍ^{2}に増加した。いくつかの実施形態では、出願人は、窒化ルテニウムの膜などのルテニウム含有膜の厚さが、スパッタ電力が増加するにつれて直線的に増加することを発見した（図１Ｂを参照）。図１Ｃ、図１Ｄ、および図１Ｅはさらに、スパッタ電力が増加するにつれて（例えば、５０ワット（図１Ｃ）から１００ワット（図１Ｄ）、次いで２００ワット（図１Ｅ））、ルテニウム含有膜が増加した。（より薄い膜と比較して）より厚い膜が堆積された場合、二層静電容量の劣化はないと考えられる。
【００９９】
さらに、出願人は、スパッタ電力が増加すると（例えば、５０ワット（図１Ｆ）から１００ワット（図１Ｇ）、次いで２００ワット（図１Ｈ））、膜の構造が変化することを発見し、例えばスパッタ電力が増加するにつれて、構造は本質的により円柱状になった（スパッタチャンバの全圧ならびに導入された反応性および不活性ガスの分圧を一定に保つ）。いくつかの実施形態では、樹枝状構造は、一般に、柱状構造よりもコンパクトでなく、配向性が低いと考えられる。
【０１００】
いくつかの実施形態では、堆積は、窒素の存在下で行われる。いくつかの実施形態では、窒素は、約５ｓｃｃｍ～約１５０ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約５ｓｃｃｍ～約１２０ｓｃｃｍの速度で導入される。さらに他の実施形態では、窒素は、約５ｓｃｃｍ～約１００ｓｃｃｍの速度で導入される。別の実施形態では、窒素は、約５ｓｃｃｍ～約９０ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約５ｓｃｃｍ～約８０ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約１０ｓｃｃｍ～約５０ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約１０ｓｃｃ

ｍ～約２０ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約５０ｓｃｃｍ～約１００ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、窒素は、約８０ｓｃｃｍ～約１００ｓｃｃｍの速度で導入される。さらに他の実施形態では、窒素は約９０ｓｃｃｍの速度で導入される。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、不活性ガス（例えば、アルゴン）がスパッタチャンバに導入される。いくつかの実施形態では、不活性ガスは、窒素と同じマニホールドを通して（すなわち、混合ガスマニホールドを使用して）導入される。他の実施形態では、不活性ガスは、別個のマニホールド、すなわち、窒素を導入するために使用されるマニホールドとは別の別個のマニホールドを通して導入される。いくつかの実施形態では、不活性ガスは、約１～約１５ｓｃｃｍの速度で導入される。他の実施形態では、不活性ガスは、約５～約１０ｓｃｃｍの速度で導入される。さらに他の実施形態では、不活性ガスは約５ｓｃｃｍの速度で導入される。別の実施形態では、不活性ガスは約１０ｓｃｃｍの速度で導入される。

【０１０２】

いくつかの実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、５ｍＴｏｒｒ～約３０ｍＴｏｒｒに維持される。他の実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持される。他の実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、１０ｍＴｏｒｒ～約２０ｍＴｏｒｒに維持される。さらに他の実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、約１０ｍＴｏｒｒに維持される。さらに他の実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、約１５ｍＴｏｒｒに維持される。さらに他の実施形態では、スパッタチャンバ内の圧力は、約２０ｍＴｏｒｒに維持される。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約１５０℃に維持される。いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約１００℃に維持される。いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約８０℃に維持される。いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約６０℃に維持される。いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約５０℃に維持される。いくつかの実施形態では、スパッタリング中の温度は、約２５℃～約４０℃に維持される。

【０１０４】

いくつかの実施形態では、堆積は、約２ｍＴｏｒｒ～約３０ｍＴｏｒｒの範囲の全圧、約０ｓｃｃｍ～約２００ｓｃｃｍの範囲の窒素流量、約０ｓｃｃｍ～約２００ｓｃｃｍの範囲のアルゴン流量、約５０ワット～約３００ワットの範囲のスパッタ電力、および約２５℃～約１５０℃の範囲の温度の処理パラメータを利用することを含む。いくつかの実施形態では、堆積は、１０ｍＴｏｒｒの全圧、２０ｓｃｃｍの窒素流量、および１００ワットのスパッタ電力処理パラメータを利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、２０ｍＴｏｒｒの全圧、２０ｓｃｃｍの窒素流量、および１００ワットのスパッタ電力の処理パラメータを利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、１０ｍＴｏｒｒの全圧、９０ｓｃｃｍの窒素流量、および１００ワットのスパッタ電力の処理パラメータを利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、２０ｍＴｏｒｒの全圧、９０ｓｃｃｍの窒素流量、および１００ワットのスパッタ電力の処理パラメータを利用することを含む。いくつかの実施形態では、堆積は、１０ｍＴｏｒｒの全圧、２０ｓｃｃｍの窒素流量、および２００ワットのスパッタ電力の処理パラメータを利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、２０ｍＴｏｒｒの全圧、２０ｓｃｃｍの窒素流量、および２００ワットのスパッタ電力の処理パラメータを利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、１０ｍＴｏｒｒの全圧、９０ｓｃｃｍの窒素流量、および２００ワットのスパッタ電力を利用することを含む。他の実施形態では、堆積は、２０ｍＴｏｒｒの全圧、９０ｓｃｃｍの窒素流量、および２００ワットのスパッタ電力を利用することを含む。

【０１０５】

出願人は、導入された窒素の分圧が、導入された不活性ガス（例えば、アルゴン）の分圧に対して増加するにつれて、形成された膜の構造が柱状構造から樹枝状構造に変化することを予期せず発見した。出願人はまた、導入された窒素の分圧が、導入された不活性ガスの分圧に対して増加するにつれて、形成された膜の多孔性が増加することを予期せず発見した。図２Ａ、図２Ｂ、図２Ｃ、および図２Ｄは、導入された窒素の分圧が不活性ガスの分圧に対して増加するときの、多孔性の増加および柱状構造から樹枝状構造への変化を示す（スパッタチャンバ内のスパッタ電力および全圧チャンバは一定に保たれる）。具体的には、図２Ａおよび図２Ｂは、横断面の走査型電子顕微鏡法による、多孔性の増加および柱状構造から樹枝状構造への変化を比較して示している。同様に、図２Ｃおよび図２Ｄは、横断面の走査型電子顕微鏡法による、多孔性の増加および柱状構造から樹枝状構造への変化を再び比較して示している。

【０１０６】

さらに、出願人は、スパッタチャンバの全圧が、例えば、１０ｍＴｏｒｒから２０ｍＴｏｒｒまで増加するにつれて、膜の樹枝状構造がさらに増加し、同時に膜の多孔性が増加する（図２Ｅ、図２Ｆ、図２Ｇ、および図２Ｈを参照）。特定の理論に拘束されることを望まないが、ルテニウムおよび窒素からの窒化ルテニウムの形成は、エネルギー的に好ましいプロセスではないと考えられる。いくつかの実施形態では、２０ｍＴｏｒｒでのより高い窒素の分圧は（１０ｍＴｏｒｒなどのより低い全圧に対して）、窒化ルテニウムの形成に有利に働く。いくつかの実施形態では、これは、より多くの樹枝状構造および／またはより高い多孔性を有する形成を可能にすると考えられる。例えば、図２Ｅおよび図２Ｆは、全圧が１０ｍＴｏｒｒから２０ｍＴｏｒｒに増加するにつれて、（走査型電子顕微鏡法に基づいて）構造の樹枝状の性質の増加が観察される２つの膜の断面を比較する。図２Ｇおよび図２Ｈは、同じ２つの膜の上面図を示しており、全圧が増加した後の膜の構造の樹枝状の性質の増加を再び示す。

【０１０７】

いくつかの実施形態では、堆積されたルテニウム含有膜は、約１重量％～約２０重量％の窒素を含む。他の実施形態では、堆積されたルテニウム含有膜は、約５重量％～約１５重量％の窒素を含む。他の実施形態では、堆積されたルテニウム含有膜は、約１０重量％～約１５重量％の窒素を含む。出願人は、低窒素流量、例えば２０ｓｃｃｍの流量で、堆積された膜の大部分がルテニウムを含み、膜の５％未満が窒素を構成することを発見した（図３Ａを参照）。しかし、窒素の流量が、例えば９０ｓｃｃｍの流量まで増加するにつれて、堆積された膜の大部分が依然としてルテニウムを含んでいる間に、窒素の量は約１５％に増加したと考えられる（図３Ｂを参照）。

【０１０８】

いくつかの実施形態では、形成されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約１７０ｐＦ／ｕｍ^2～約２２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。他の実施形態では、形成されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約２２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。他の実施形態では、形成されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約２００ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。

【０１０９】

ルテニウム含有膜を基板上に堆積させた後、ルテニウム含有膜を熱処理し得る。いくつかの実施形態では、熱処理ステップは、１２０℃～約４００℃の範囲の温度でルテニウム含有膜をベーク処理することを含む。他の実施形態では、熱処理ステップは、１５０℃～約３５０℃の範囲の温度でルテニウム含有膜をベーク処理することを含む。他の実施形態では、熱処理ステップは、１５０℃～約３００℃の範囲の温度でルテニウム含有膜をベーク処理することを含む。他の実施形態では、熱処理ステップは、１５０℃～約２５０℃の範囲の温度でルテニウム含有膜をベーク処理することを含む。他の実施形態では、熱処理ステップは、１８０℃～約２００℃の範囲の温度でルテニウム含有膜をベーク処理することを含む。さらに他の実施形態では、熱プロセスは、約２００℃の温度で実施される。４つのルテニウム含有膜の形態に対する温度の影響を図４Ａ（１５０℃）、図４Ｂ（２００

℃）、図４Ｃ（２６０℃）、および図４Ｄ（３２０℃）に示す。特に、約１５０℃の温度での熱処理は、約５５％の原子状酸素および約４５％の原子状窒素を示す表面を提供する。比較すると、その後のより高い温度（例えば、２６０℃および３２０℃）での熱処理は、酸素原子パーセントの増加および窒素原子パーセントの減少を示した。いくつかの実施形態では、熱処理は、熱処理されていないルテニウム含有材料と比較して、熱処理された材料の二層静電容量が増加するような温度および期間で行われる。いくつかの実施形態では、二層静電容量のパーセンテージ増加は、約１１０％～約１６０％の範囲である（例えば、図５Ａを参照のこと）。いくつかの実施形態では、パーセンテージの増加は、約１２０％～約１５０％の範囲である。いくつかの実施形態では、熱処理は、材料の二層静電容量が約２００ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲であるように、１４０℃を超える温度で十分な時間（例えば、１５分～１２０分）にわたって行われる。他の実施形態では、熱処理されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約２００ｐＦ／ｕｍ^2～約３００ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。他の実施形態では、熱処理されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約２００ｐＦ／ｕｍ^2～約２８０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。他の実施形態では、熱処理されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約２００ｐＦ／ｕｍ^2～約２６０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。他の実施形態では、熱処理されたルテニウム含有膜の二層静電容量は、約２２０ｐＦ／ｕｍ^2～約２４０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である。

【０１１０】

いくつかの実施形態では、熱処理後のルテニウム含有材料は、ルテニウム、酸素、および窒素を含む。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料の後処理に取り込まれる酸素の量は、膜成長中に導入される窒素の量に依存する。例えば、大量の窒素（例えば、約１５％）を含むそれらの膜は、少量の窒素（例えば、約５％）を有するそれらの膜よりも、熱処理時に少ない酸素を取り込んだ。図３Ｃは、初期窒素量が少ないルテニウム含有膜の熱処理前後のエネルギー分散型Ｘ線分光法（ＥＤＳ）データを比較する（図３Ｃを、熱処理前のスペクトルを示す図３Ａと比較する）。他方、図３Ｄは、初期窒素量が多いルテニウム含有膜の熱処理前後のＥＤＳデータを比較する（図３Ｄを、熱処理前のスペクトルを示す図３Ｂと比較する）。

【０１１１】

いくつかの実施形態では、熱処理されたルテニウム含有膜が、Ｘ線光電子分光法（ＸＰＳ）によって測定されるように、約１．５～約３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有する。他の実施形態では、表面組成比は、約１．８～約３．２の範囲である。さらに他の実施形態では、表面組成比は、約２～約３の範囲である。さらに他の実施形態では、表面組成比は、約２～約２．５の範囲である。さらに他の実施形態では、表面組成比は、約２．１～約２．４の範囲である。

【０１１２】

以下の表１は、４つの異なる熱処理されたサンプルの（ＸＰＳ）データ（図６Ａから図６Ｄを参照）を要約している。サンプル１、２、および３では、窒素は主に窒化物の形であり、酸窒化物の量は少ないと考えられる。比較すると、サンプル４のＮ１ｓスペクトルの窒化物成分は、サンプル１、２、および３の表面の窒化物成分よりも少なかった。一方、ＸＰＳデータは、酸素が主に酸化ルテニウム、水酸化物、および酸窒化物として存在することを示している。酸化物の相対的寄与は、一般に、より高いアニーリング温度のサンプルでより高かったが、より低いアニーリング温度のサンプルは、酸窒化物およびおそらく水酸化物により大きく寄与したと考えられる。図５Ｂおよび図５Ｃは、アニーリング温度の関数としての１つの特定のサンプルのルテニウム、窒素、および酸素の相対量をさらに示す（２００ワット、２０ｍＴｏｒｒ、１０ｓｃｃｍ　Ａｒ、および９０ｓｃｃｍ窒素で堆積されたサンプルを使用）。

【表１】

表１：熱処理後の４つの異なるルテニウム含有サンプルのＸＰＳ表面成分分析。

サンプル	Ｃ	Ｎ	Ｏ	Ｓｉ	Ｒｕ	（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕ
サンプル＃１　１５０Ｃ／５分	４９．７	１５．０	１７．４	－	１７．９	１．８１
サンプル＃２　２００Ｃ／５分	４８．２	９．７	２５．４	－	１６．６	２．１１
サンプル＃３　２６０Ｃ／５分	４８．２	５．２	３１．３	－	１５．３	２．３９
サンプル＃４　３２０Ｃ／５分	５６．９	２．０	２９．４	１．９	９．７	３．２

【０１１３】

ナノポアシーケンシングの概要

【０１１４】

ポリヌクレオチドのナノポアシーケンシング、例えばＤＮＡまたはＲＮＡは、ポリヌクレオチド配列の鎖シーケンシングおよび／またはエキソシーケンシングによって達成し得る。いくつかの実施形態において、鎖シーケンシングは、ポリヌクレオチド鋳型のヌクレオチドがナノポアに通されるときに、サンプルポリヌクレオチド鎖のヌクレオチド塩基が直接決定される方法を含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチドは、それを膜の微細な細孔に通すことによってシーケンシングされ得る。塩基は、膜の一方の側からもう一方の側に細孔を通って流れるイオンに影響を与える方法によって同定され得る。いくつかの実施形態では、１つのタンパク質分子は、ＤＮＡらせんを２つの鎖に「展開」することができる。第２のタンパク質は、膜に細孔を作り、「アダプタ」分子を保持することができる。細孔を通るイオンの流れは電流を生成することができ、それによって各塩基はイオンの流れを異なる程度に遮断し、電流を変化させ得る。アダプタ分子は、塩基を電子的に同定するのに十分な長さの位置に保つことができる（ＰＣＴ公開第ＷＯ／２０１８／０３４７４５号、および米国特許出願公開第２０１８／００４４７２５号および２０１８／０２０１９９２号を参照し、それらの開示は、全体が参照により本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態において、シーケンシングは、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｎａｎｏｐｏｒｅ（オックスフォード、英国）、Ｉｌｌｕｍｉｎａ（サンディエゴ、カリフォルニア）のヘリカーゼおよびエキソヌクレアーゼベースの方法、またはＳｔｒａｔｏｓ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ（シアトル、ワシントン）のナノポアｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ－ｂｙ－ｅｘｐａｎｓｉｏｎ方法に従って実行され得る。

【０１１５】

いくつかの実施形態において、ナノポアは、核酸分子を間接的に配列決定するために使用され得る、すなわち、間接シーケンシングは、重合された核酸分子がシーケンシング中にナノポアを通過しない任意の方法を含み得る。これらの実施形態において、核酸分子は、ナノポアの前庭に少なくとも部分的に位置し得るが、ナノポアのポア（すなわち、最も狭い部分）には位置し得ない。核酸分子は、ナノポアから任意の適切な距離内および／またはナノポアに近接して通過することができ、任意選択で、ヌクレオチド取り込みイベントから放出される副産物（例えば、以下に記載されるようにタグ付けされたヌクレオチドから切断されるタグ）がナノポアで検出されるような距離内を通過し得る。

【０１１６】

いくつかの実施形態において、ナノポアベースのシーケンシングは、成長中のポリヌクレオチド鎖にヌクレオチドを取り込む、ナノポアの近くに位置する酵素などの酵素を利用し、成長中のポリヌクレオチド鎖は、対応する鋳型核酸鎖に相補的である。ヌクレオチド取り込みイベントは、ＤＮＡポリメラーゼまたはその突然変異体もしくは変異体などの酵素によって触媒され、鋳型分子との塩基対相互作用を使用して、各位置での取り込みに利用可能なヌクレオチドの中から選択する。「ヌクレオチド取り込みイベント」は、成長中のポリヌクレオチド鎖へのヌクレオチドの取り込みである。ヌクレオチド取り込みイベントの副産物は、ナノポアによって検出される場合がある。いくつかの実施形態では、副産物は、所与のタイプのヌクレオチドの取り込みと相関し得る。いくつかの実施形態では、副産物は、ナノポアを通過し、および／またはナノポアで検出可能な信号を生成する。放出されたタグ分子（以下に説明）は、ヌクレオチド取り込みイベントの副産物の例である。例として、図８は、ナノポア（１３０）に近接して結合したＤＮＡポリメラーゼ（１２０）を示している。シーケンシングされるポリヌクレオチド鋳型（１７０）がプライマーとともに加えられる（鋳型は酵素に関連している）。このナノポアシーケンシング複合体（プライマーを含む）に、４つの異なるタグが付けられたヌクレオチド（１４０）がバルク水相に追加される。ポリメラーゼが触媒する正しいヌクレオチドの取り込み後、タグは解放され、ナノポア（１３０）を通過して、固有のイオン電流遮断信号（１５０）を生成し、これにより、タグのそれぞれが異なる化学構造を持っているため、追加された塩基を電子的に識別する。そのようなナノポアベースのシーケンシングシステムおよび方法に関する追加の詳細は、米国特許第９，６０５，３０９号および第９，５５７，２９４号に記載されており、それらの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、核酸分子を配列決定するための方法は、（ａ）タグ付きヌクレオチドを重合すること（例えば、鋳型として第１の核酸分子を使用して、一度に１つのタグ付きヌクレオチドを取り込む酵素を使用する）を含み、タグは個々のヌクレオチドに関連する重合時に放出され、（ｂ）ナノポアの助けを借りて放出されたタグを検出することを含む。いくつかの実施形態では、酵素は、タグ付けされたヌクレオチドのプールから引き出す。本明細書に記載されるように、各タイプのヌクレオチドは、タグが放出されてナノポアの近くまたはナノポアを通過するときに、生成される信号に基づいて互いに区別され得るように、異なるタグ分子に結合される（例えば、図８を参照）。いくつかの実施形態では、各タグは、例えば、異なる信号強度、異なる信号振幅など異なる検出可能な信号を有することがあり、これらは、塩基呼び出しアルゴリズムなどによって解釈される場合がある。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、取り込まれたヌクレオチドはタグ付けされたヌクレオチドである。タグ付けされたヌクレオチドの例は、米国特許出願公開第２０１５／０３６８７１０号および２０１８／００７３０７１号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる（Ｋｕｍａｒら、ＰＥＧ－Ｌａｂｅｌｅｄ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｎａｎｏｐｏｒｅ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｆｏｒ Ｓｉｎｇｌｅ Ｍｏｌｅｃｕｌｅ ＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｂｙ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｓｃｉ Ｒｅｐ．２０１２；２：６８４もまた参照）。いくつかの実施形態では、ヌクレオチド取り込みイベントは、タグ付けされたヌクレオチドからタグを放出し、放出されたタグが検出される（図８を参照）。このようにして、特有のタグが各タイプのヌクレオチドから放出されるため（すなわち、アデニン、シトシン、グアニン、チミン、またはウラシル）、取り込まれた塩基を同定し得る（すなわち、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｔ、またはＵ）。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、放出されたタグは、ナノポアを通過するか、またはナノポアの近くを通過するときに、感知回路がタグに関連する電気信号を検出するように、ナノポアを通ってまたはナノポアに近接して流れる（図８を参照）。検出された信号（すなわち、シーケンシングデータ）は、収集され、メモリ位置に保存されることがあり、後で、核

酸の配列を構築するために使用され得る。収集された信号は、エラーなど、検出された信号の異常を説明するために処理される場合がある。適切なナノポア検出器は、米国特許出願公開第２０１１／０１９３５７０号および２０１８／００７３０７１号に記載されており、それらの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。同様に、米国特許第９，３７７，４３７号および第８，３２４，９１４号は、ナノポアベースのシーケンシングシステムからの電気信号の収集および分析を記載しており、その開示もまた、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、ナノポアに結合または接合された酵素には、ポリヌクレオチドプロセシング酵素、例えば、ＤＮＡおよびＲＮＡポリメラーゼ、逆転写酵素、エキソヌクレアーゼ、およびアンフォールダーゼが含まれる。いくつかの実施形態において、酵素はヘリカーゼである。いくつかの実施形態において、酵素は、野生型酵素であり得るか、または、野生型酵素の変異体であり得る。いくつかの実施形態では、酵素はポリメラーゼ変異体である。例えば、ポリメラーゼ変異体は、配列番号２（Ｐｏｌ６（Ｈｉｓタグ付き）のＨ２２３、Ｎ２２４、Ｙ２２５、Ｈ２２７、Ｉ２９５、Ｙ３４２、Ｔ３４３、Ｉ３５７、Ｓ３６０、Ｌ３６１、Ｉ３６３、Ｓ３６５Ｑ、Ｓ３６６、Ｙ３６７、Ｐ３６８、Ｄ４１７、Ｅ４７５、Ｙ４７６、Ｆ４７８、Ｋ５１８、Ｈ５２７、Ｔ５２９、Ｍ５３１、Ｎ５３５、Ｇ５３９、Ｐ５４２、Ｎ５４５、Ｑ５４６、Ａ５４７、Ｌ５４９、Ｉ５５０、Ｎ５５２、Ｇ５５３、Ｆ５５８、Ａ５９６、Ｇ６０３、Ａ６１０、Ｖ６１５、Ｙ６２２、Ｃ６２３、Ｄ６２４、Ｉ６２８、Ｙ６２９、Ｒ６３２、Ｎ６３５、Ｍ６４１、Ａ６４３、Ｉ６４４、Ｔ６４７、Ｉ６４８、Ｔ６５１、Ｉ６５２、Ｋ６５５、Ｗ６５６、Ｄ６５７、Ｖ６５８、Ｈ６６０、Ｆ６６２、およびＬ６９０に対応する位置に少なくとも１つの改変を含み得る。他の適切なポリメラーゼ変異体は、米国特許出願公開第２０１６／０２２２３６３号に開示されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。さらに他の適切な酵素は、米国特許第９，７９７，００９号に開示されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。さらに適切な酵素は、米国特許出願公開第２０１６／０２５７９４２号に開示されている。

【０１２１】

いくつかの実施形態において、ナノポアシーケンシング複合体のナノポアは、限定されないが、生物学的ナノポア、固体ナノポア、およびハイブリッド生物学的固体ナノポアを含む。ナノポアシーケンシング複合体の生物学的ナノポアには、Ｅ．ｃｏｌｉ菌種、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ菌種、Ｓｈｉｇｅｌｌａ菌種、およびＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ菌種からのＯｍｐＧ、ならびにＳ．ａｕｒｅｕｓ菌種からのアルファ溶血素、Ｍ．ｓｍｅｇｍａｔｉｓ菌種からのＭｓｐＡが含まれる。ナノポアは、野生型ナノポア、変異型ナノポア、または修飾された変異型ナノポアであり得る。これらのステップは、米国特許出願公開第２０１７／００８８５８８号明細書に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、ナノポアシーケンシング複合体の変異体ナノポアは、それが由来するナノポアのイオン電流ノイズを低減するように操作される。さらに他のナノポアは、米国特許出願公開第２０１７／０２６８０５２号、２０１７／０３５６０３７号および２０１８／０２０１９９３号に記載されており、それらの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。現在知られている、または後で発見された任意のナノポア変異体は、１つまたは複数の酵素変異体のスクリーニングと同時に（例えば、望ましい特性を提供するナノポア変異体および酵素変異体の対を同定するために）、本明細書に記載の方法に従ってスクリーニングされ得る。

【０１２２】

ナノポアは、集積回路などの感知回路の感知電極に隣接して配置された膜に形成されるか、そうでなければ埋め込まれ得る。集積回路は、特定用途向け集積回路（ＡＳＩＣ）であり得る。いくつかの例では、集積回路は、電界効果トランジスタまたは相補型金属酸化膜半導体（ＣＭＯＳ）である。感知回路は、ナノポアを有するチップまたは他のデバイス内に、またはオフチップ構成などのチップまたはデバイスの外に配置し得る。半導体は、

第ＩＶ族（例えば、シリコン）および第ＩＩＩ－Ｖ族半導体（例えば、ガリウムヒ素）を含むがこれらに限定されない任意の半導体であり得る。ナノポアシーケンシング複合体を組み立てるための方法は、米国特許出願公開第２０１７／０２６８０５２号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。異なる鋳型のそれぞれをナノポア－酵素複合体に複合体化するための他の適切な方法は、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１４／０７４７２７、ＷＯ２００６／０２８５０８、およびＷＯ２０１２／０８３２４９に記載されている方法を含み、それぞれの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１２３】

核酸サンプルを配列決定するためのチップは、複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを含むことができる。複数の個別にアドレス指定可能なナノポアは、集積回路に隣接して配置された膜に形成された少なくとも１つのナノポアを含むことができる。いくつかの実施形態では、個別にアドレス指定可能な各ナノポアは、個々のヌクレオチドに関連するタグを検出することができることがある。

【０１２４】

複数のナノポアセンサは、チップまたはバイオチップ上に存在するアレイなどのアレイとして提供され得る。ナノポアのアレイは、任意の適切な数のナノポアを有し得る。場合によっては、アレイは、約２００個、約４００個、約６００個、約８００個、約１０００個、約１５００個、約２０００個、約３０００個、約４０００個、約５０００個、約１００００個、約１５０００個、約２００００個、約４００００個、約６００００個、約８００００個、約１０００００個、約２０００００個、約４０００００個、約６０００００個、約８０００００個、約１００００００個などのナノポアを含む。これらのおよび他の方法は、ＰＣＴ公開である国際公開第２０１５／０６１５１１号パンフレットに記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。複数のナノポアを含むさらに適切なバイオチップは、米国特許出願公開第２０１７／０２６８０５２号に記載されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。さらに他の適切なナノポアアレイは、米国特許第８，９８６，９２８号に開示されており、その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０１２５】

ナノポアシーケンシングセルおよび回路

【０１２６】

本開示はまた、少なくとも３００ｐＦ／ｕｍ^{2}の二層静電容量を有する材料を含む電極または作用電極を含む、ナノポアシーケンシングセル、チップ、および／またはナノポアシーケンシングデバイスに関する。出願人は、そのような材料の使用が、例えば、窒化チタン材料などの、より低い二層静電容量を有する従来技術の材料と比較して、改善された信号減衰率を容易にすることを予期せず発見した。実際、高い二層静電容量を有する材料（例えば、ルテニウム含有材料）は、比較的低い二層静電容量を有する材料（例えば、窒化チタン）と比較して、より速い信号減衰を有すると考えられる（図７Ａ～図７Ｃを参照）。改善された信号減衰率により、ナノポアの筒内に様々なタイプのタグを保持した場合に、信号の解像度が向上する。シーケンシングデバイスに含まれる回路は、データ収集中に、二重層のナノポア全体で電圧降下が発生し、電極／電解質界面で電気二層静電容量全体で電圧降下が発生するという意味で機能すると考えられる。より高い電気二層静電容量は、信号のより速い減衰（より短い半減期）を可能にすると考えられる（図７Ａ～図７Ｃを参照）。異なるタグを有するヌクレオチド（Ａ、Ｔ、Ｃ、Ｇ）は、適用された波形Ｖに基づいてナノポアにねじ込むことができるため、信号の高速減衰により、タグに対応する異なる信号レベルの解像度が向上すると考えられる（Ａ、Ｔ、Ｃ、Ｇ）。いくつかの実施形態では、タグは、異なる信号が取得されることを可能にするように、それらが異なる方法でポアを遮断するように設計されている。

【０１２７】

図９は、ナノポアベースのシーケンシングチップ内のセル１６０の実施形態を示す。い

くつかの実施形態では、膜１０２が細胞の表面上に形成される。いくつかの実施形態では、膜１０２は脂質二重層である。タンパク質ナノポア膜貫通分子複合体（ＰＮＴＭＣ）および目的の分析物を含み得るバルク電解質１１４は、セルの表面上に直接配置される。いくつかの実施形態において、単一のＰＮＴＭＣ１０４は、電気穿孔によって膜１０２に挿入される。いくつかの実施形態では、アレイ内の個々の膜は、化学的にも電気的にも互いに接続されていない。したがって、アレイ内の各セルは、独立したシーケンシングマシンであり、ＰＮＴＭＣに関連付けられた単一の重合体分子に固有のデータを生成する。いくつかの実施形態では、ＰＮＴＭＣ１０４は、分析物上で動作し、そうでなければ不浸透性の二重層を介してイオン電流を変調する。

【０１２８】

図９を引き続き参照すると、アナログ測定回路１１２は、電解質１０８の薄膜で覆われた金属電極１７０（例えば、ルテニウム、酸素、および窒素からなる電極）に接続されている。いくつかの実施形態では、電解質１０８の薄膜は、イオン不透過膜１０２によってバルク電解質１１４から隔離されている。ＰＮＴＭＣ１０４は、膜１０２と交差し、イオン電流がバルク液体から作用電極１７０に流れるための唯一の経路を提供する。いくつかの実施形態では、セルはまた、電気化学電位センサである対電極（ＣＥ）１１６を含む。いくつかの実施形態では、セルはまた、参照電極１１７を含むことができる。

【０１２９】

図１０Ａ～図１０Ｄは、ナノポアベースのシーケンシングチップのセル内の回路の実施形態を示し、ナノポアに印加される電圧は、ナノポアが特定の検出可能な状態にある期間にわたって変化するように構成することができる。ナノポアの可能な状態の１つは、タグが取り付けられたポリホスフェートがナノポアの筒に存在しない場合、開放チャネル状態である。ナノポアの別の４つの可能な状態は、タグが取り付けられたポリホスフェートの４つの異なるタイプ（Ａ、Ｔ、Ｇ又はＣ）がナノポアの筒内に保持されるときの状態に対応する。ナノポアのさらに別の可能な状態は、膜が断裂するときである。図１０Ｂ～図１０Ｃは、ナノポアベースのシーケンシングチップのセル内の回路の追加の実施形態を示し、ナノポアに印加される電圧は、ナノポアが特定の検出可能な状態にある期間にわたって変化するように構成することができる。

【０１３０】

図１０Ａ～図１０Ｄはさらに、膜に挿入されるナノポアを示し、ここで、ナノポアおよび膜は、電圧がナノポア全体に印加され得るように、作用電極（Ｖｐｒｅ）と対電極（Ｖｌｉｑ）との間に位置する。いくつかの実施形態では、ナノポアはまた、バルク液体／電解質と接触している。本明細書で使用される場合、「セル」という用語は、少なくとも膜、ナノポア、作用セル電極、および関連する回路を含むことを意味する。いくつかの実施形態では、対電極（Ｖｌｉｑ）は、複数のセル間で共有され、したがって、共通電極とも呼ばれる。いくつかの実施形態では、共通電極は、測定セル内のナノポアと接触しているバルク液体に共通電位を印加するように構成され得る。いくつかの実施形態では、共通電位および共通電極は、すべての測定セルに共通である。いくつかの実施形態では、各測定セル内に作用電極が存在し、共通電極とは対照的に、作用セル電極は、他の測定セルの作用セル電極から独立した明確な電位を適用するように構成可能である。

【０１３１】

図１０Ａ～図１０Ｄにさらに示されるように、回路は、膜（$C_{二重層}$）に関連する静電容量をモデル化するキャパシタ（ＮＣＡＰ）と、異なる状態（例えば、開放チャネル状態またはナノポア内に異なるタイプのタグまたは分子を有することに対応する状態）のナノポアに関連する抵抗をモデル化する抵抗とを含む。この回路は、作用電極に関連する静電容量をモデル化するキャパシタを含む。作用電極に関連する静電容量は、電気化学的静電容量（$C_{二層}$）とも呼ばれる。作用電極に関連する電気化学的静電容量$C_{二層}$は、二層静電容量を含み、さらに疑似静電容量を含み得る。

【０１３２】

図１１Ａは、導電性電極と、隣接する液体電解質との間の任意の界面に形成される二層

を示している。電圧が印加されると、導電性電極と、隣接する液体電解質との間の界面で、電荷（正または負）が電極に蓄積する。電極内の電荷は、双極子の再配向と、界面近くの電解質における反対の電荷のイオンの蓄積とによってバランスが取られる。電極と電解質の間の界面の両側に蓄積された電荷は、電解質中の帯電種と溶媒分子のサイズが有限であるためにわずかな距離で分離され、従来のキャパシタの誘電体のように機能する。「二層」という用語は、電極と電解質との間の界面の近くでの電子およびイオン電荷分布の集合を指す。

【０１３３】

図１１Ｂは、図１０Ａ～１０Ｄのように、導電性電極と隣接する液体電解質との間の界面において、二層の形成と同時に形成され得る疑似容量効果を示している。疑似キャパシタは、電極と電解質との間の電子電荷移動によって電気エネルギーを広範囲に蓄積する。これは、電気吸着、還元－酸化反応、またはインタカレーションプロセスによって実現される。

【０１３４】

図１２は、ナノポアが膜に挿入されている、ナノポア内の分子を分析するためのプロセス８００の実施形態を示している。プロセス８００は、図１０Ａ～図１０Ｄに示される回路を使用して実行され得る。図１３は、プロセス８００が実行され、３回繰り返されたときの時間に対するナノポアに印加された電圧のプロットの実施形態を示している。いくつかの実施形態では、ナノポアの両端の電圧は時間とともに変化する。電圧減衰の速度（つまり、ナノポア全体の電圧の傾きの急峻さ対時間のプロット）は、セルの抵抗に依存する。より詳しくは、異なる状態（例えば、ナノポア内に異なるタイプの分子を有することに対応する状態）のナノポアに関連付けられた抵抗が、分子の別個の化学構造に起因して異なるので、異なる対応する電圧減衰率は、観察され得るようになり、したがってナノポアの分子を識別するために用いられ得る。

【０１３５】

図１４は、ナノポアが異なる状態にあるときの時間に対するナノポアに印加された電圧のプロットを示している。曲線１００２は、開放チャネル状態の間の電圧減衰の速度を示している。いくつかの実施形態では、開放チャネル状態にあるナノポアに関連付けられた抵抗は、１００Ｍオーム～２０Ｇオームの範囲内にある。曲線１００４、１００６、１００８、および１０１０は、４つの異なるタイプのタグ付きポリリン酸塩（Ａ、Ｔ、Ｇ、またはＣ）がナノポアの筒に保持されているとき、４つの捕捉状態に対応する異なる電圧減衰率を示している。いくつかの実施形態では、捕捉状態にあるナノポアに関連付けられた抵抗は、２００Ｍオーム～４０Ｇオームの範囲内にある。いくつかの実施形態では、プロットのそれぞれの傾きは、互いに区別可能である。

【０１３６】

ナノポアベースのシーケンシングチップのセル性能の向上は、作用電極に関連する電気化学的静電容量（図１０Ａ～図１０Ｄの$C_{二層}$を参照）を最大化することによって達成できる。いくつかの実施形態では、$C_{二層}$を最大化することによって、図１０Ａ～図１０Ｄに示される回路によって測定された情報信号がより安定し、情報信号の上の複雑なスプリアス信号が最小限に抑えられる。いくつかの実施形態では、$C_{二層}$に関連するインピーダンスが、$C_{二重層}$に関連するインピーダンスと比較して、ＡＣ（交流）短絡に近くなるように、$C_{二層}$が最大化される（$C_{二重層}$図１０Ａ～図１０Ｄを参照）。

【０１３７】

図１５は、ＴｉＮと比較して電気化学容量が増加した作用電極を含む、ナノポアベースのシーケンシングチップの電気化学セル１１００の実施形態を示している。いくつかの実施形態では、ＴｉＮと比較して電気化学容量が増加した作用電極は、ルテニウム、酸素、および窒素のうちの少なくとも２つを含む材料である。いくつかの実施形態では、材料は、窒化ルテニウム、酸窒化ルテニウム、酸化ルテニウム、またはそれらの任意の複合体もしくは混合物を含む。７７ｐＦ／ｕｍ２の二層静電容量を有するＴｉＮと比較して、本開示のルテニウム含有材料は、約１８０ｐＦ／$ｕｍ^2$～約３２０ｐＦ／$ｕｍ^2$の範囲の二層

静電容量を有する。これは、ＴｉＮ材料と比較して、ルテニウム含有材料の二層静電容量が少なくとも４倍増加することを表している。本明細書でさらに詳細に記載されるように、ルテニウム含有作用電極は、高い二層静電容量、高い多孔性、面心立方構造、および／または樹枝状構造を含む望ましい特性を有するように形成され得る。実際、これらの特性は、ルテニウム含有材料の堆積パラメータを変えることによって調整し得る。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有材料の多孔質構造は、以下に記載されるように、電解質と接触して大きな有効表面積を作り出す（図２Ｆおよび図２Ｈも参照）。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、セル１１００は、導電性または金属層１１０１を含む。金属層１１０１は、セル１１００をナノポアベースのシーケンシングチップの残りの部分に接続する。いくつかの実施形態では、金属層１１０１は、アルミニウムまたはアルミニウムの合金である。セル１１００は、ルテニウム含有材料１１０２と、金属層１１０１の上の誘電体層１１０３とからなる作用電極をさらに含む。いくつかの実施形態では、作用電極１１０２は、形状が円形または八角形であり、誘電体層１１０３は、作用電極１１０２を取り囲む壁を形成する。セル１１００は、作用電極１１０２および誘電体層１１０３の上の誘電体層１１０４をさらに含む。いくつかの実施形態では、誘電体層１１０４は、ウェル１１０５を取り囲む絶縁壁を形成する。いくつかの実施形態では、誘電体層１１０３および誘電体層１１０４は一緒に単一の誘電体片を形成する。いくつかの実施形態では、誘電体層１１０３は、作用電極１１０２に隣接して水平に配置される部分であり、誘電体層１１０４は、作用電極の一部の上に配置され、それを覆う部分である。いくつかの実施形態では、誘電体層１１０３および誘電体層１１０４は、別個の誘電体片であり、それらは別々に成長させることができる。ウェル１１０５は、作用電極の覆われていない部分の上に開口部を有する。

【０１３９】

ウェル１１０５の内部で、食塩水／電解質１１０６の膜が作用電極１１０２の上に堆積される。食塩水１１０６は、塩化リチウム（ＬｉＣｌ）、塩化ナトリウム（ＮａＣｌ）、塩化カリウム（ＫＣｌ）、グルタミン酸リチウム、グルタミン酸ナトリウム、グルタミン酸カリウム、酢酸リチウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、塩化カルシウム（$CaCl_2$）、塩化ストロンチウム（$SrCl_2$）、塩化マンガン（$MnCl_2$）、および塩化マグネシウム（ＭｇＣｌ２）のうちの１つを含み得る。いくつかの実施形態では、食塩水１１０６の膜は、約３ミクロン（μｍ）の厚さを有する。食塩水１１０６の膜の厚さは、０～５ミクロンの範囲であり得る。

【０１４０】

誘電体層１１０３および１１０４を形成するために使用される誘電体材料には、ガラス、酸化物、一窒化ケイ素（ＳｉＮ）などが含まれる。誘電体層１１０４の上面はシリル化され得る。シリル化は、誘電体層１１０４の上面の上に疎水性層１１２０を形成する。いくつかの実施形態では、疎水性層１１２０は、約１．５ナノメートル（ｎｍ）の厚さを有する。あるいは、酸化ハフニウムなどの疎水性である誘電体材料を使用して、誘電体層１１０４を形成し得る。

【０１４１】

図１５に示されているように、膜は、誘電体層１１０４の上に形成され、ウェル１１０５にまたがることがある。例えば、膜は、疎水性層１１２０の上に形成された脂質単層１１１８を含み、膜がウェル１１０５の開口部に到達すると、脂質単層は、ウェルの開口部にまたがる脂質二重層１１１４に移行する。疎水性層１１２０は、誘電体層１１０４上の脂質単層１１１８の形成、および脂質単層から脂質二重層への移行を容易にする。タンパク質ナノポア膜貫通分子複合体（ＰＮＴＭＣ）および目的の分析物を含むバルク電解質１１０８は、ウェルの真上に配置される。単一のＰＮＴＭＣ／ナノポア１１１６は、電気穿孔によって脂質二重層１１１４に挿入される。ナノポア１１１６は、脂質二重層１１１４と交差し、バルク電解質１１０８から作用電極１１０２へのイオン流のための唯一の経路を提供する。バルク電解質１１０８は、塩化リチウム（ＬｉＣｌ）、塩化ナトリウム（Ｎ

ａＣｌ）、塩化カリウム（ＫＣｌ）、グルタミン酸リチウム、グルタミン酸ナトリウム、グルタミン酸カリウム、酢酸リチウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、塩化カルシウム（$CaCl_2$）、塩化ストロンチウム（$SrCl_2$）、塩化マンガン（$MnCl_2$）、および塩化マグネシウム（$MgCl_2$）のうちの１つをさらに含み得る。

【０１４２】

セル１１００は、対電極（ＣＥ）１１１０を含む。セル１１００はまた、電気化学電位センサとして作用する参照電極１１１２を含む。いくつかの実施形態では、対電極１１１０は、複数のセル間で共有され、したがって、共通電極とも呼ばれる。共通電極は、測定セル内のナノポアと接触しているバルク液体に共通電位を印加するように構成され得る。共通電位および共通電極は、すべての測定セルに共通である。

【０１４３】

図１６Ａ～図１６Ｅは、本開示のいくつかの実施形態による作用電極を形成する方法を示す。第１のステップでは、誘電体層（例えばSiO_2）が導電層（例えば、金属６アルミニウムを含む金属層）の表面に堆積される。導電層自体は、セルからチップの残りの部分に信号を送達する回路を含み得る。いくつかの実施形態では、誘電体層の厚さは、約４００ｎｍ～約８００ｎｍの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、誘電体層をエッチングして穴を作成し、それによって金属層の表面を露出させる。穴は、ルテニウム含有膜を堆積または成長させるためのスペースを提供する。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、本明細書に記載のスパッタリングプロセスまたは物理蒸着プロセスを使用して、穴に、すなわち露出した金属層の表面に堆積され得る。図１６Ａは、金属層と通信するエッチングされた誘電体層を示している。

【０１４４】

次に、ルテニウム含有薄膜が、露出した金属層の表面上の穴に堆積される。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有膜は、約１８０ｐＦ／ｕｍ^2～約３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有して提供される。ルテニウム薄膜の堆積は、本明細書に記載のプロセスのいずれかに従って実行し得る。例えば、ルテニウム含有膜は、ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行することによって堆積されることがあり、スパッタ堆積またはプラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）約１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）約１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを堆積チャンバに導入することとを含み、堆積中に堆積チャンバ内の堆積圧力が約５ｍＴｏｒｒ～約２５ｍＴｏｒｒに維持され、堆積が、約５０ワット～約２００ワットの範囲の電力を使用して実行される。いくつかの実施形態では、ルテニウム薄膜は、約１時間～約２時間の範囲の期間成長する。いくつかの実施形態では、ルテニウム含有薄膜の厚さは、約５００ｎｍ～約１０００ｎｍの範囲である。いくつかの実施形態では、ルテニウム薄膜は、図１６Ｂに示されるように、穴を満たし、また、酸化物層を少なくとも部分的に覆う。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、種層は、ルテニウム含有薄膜の堆積の前に、最初に金属層の露出面に導入される。いくつかの実施形態では、種層は、チタンなどの金属を含む。いくつかの実施形態では、任意の種層の厚さは、約１５ｎｍ～約３０ｎｍの範囲である。いくつかの実施形態では、種層はスパッタ堆積される。

【０１４６】

ルテニウム含有薄膜の堆積に続いて、SiO_2からなる誘電体キャップまたはチタンからなる金属キャップなどのキャップ層が堆積される。いくつかの実施形態では、キャップは、さらなる処理ステップ中にルテニウム含有薄膜を保護することを目的としている。いくつかの実施形態では、キャップ層は、化学的蒸着、スパッタ堆積、または物理蒸着によって堆積され得る。図１６Ｃは、キャップ層の堆積後の中間電極を示している。

【０１４７】

最後に、バイオチップ内のある電極を別の電極から分離するために、フォトリソグラフィ技術が採用されている。例えば、レジストをキャップ層上に堆積させることがあり、そ

れによってキャップの一部が露出され、次にレジストが現像される。露光なしのレジストパターンは、現像液で現像される。次に、セルは、プラズマエッチングプロセスで、またはＣｌ$_2$、ＢＣｌ$_3$、または他の塩素ベースの試薬を使用したエッチング化学を使用してエッチングされる。ルテニウムは塩素および酸素と反応して揮発性のＲｕＣｌおよび／またはＲｕＯ生成物を形成し、これらはスパッタチャンバ内にポンプで送られる。キャップ層を含む最終的なパターン化された電極の例が図１６Ｄに示されている。

【０１４８】

本明細書中で言及される、および／または出願データシートにリスト化されたすべての米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、および非特許刊行物は、参考によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。実施形態の態様は、必要に応じて、様々な特許、出願、および刊行物の概念を使用してさらに別の実施形態を提供するように修正することができる。

【０１４９】

本開示は、いくつかの例示的な実施形態を参照して説明されてきたが、本開示の原理の精神および範囲内に入るであろう多くの他の修正および実施形態が当業者によって考案され得ることを理解されたい。より具体的には、合理的な変形および修正は、開示の精神から逸脱することなく、前述の開示、図面、および添付の特許請求の範囲内の主題の組み合わせ配置の構成部品および／または配置において可能である。構成部品および／または配置の変形および修正に加えて、代替の使用法も当業者には明らかであろう。

【０１５０】

本明細書において、特徴または要素が他の特徴または要素上に「ある」と称される場合、それは、他の特徴または要素上に直接存在してもよく、または、介在する特徴および／または要素も存在してもよい。対照的に、ある特徴または要素が他の特徴または要素の上に「直接」あると言及されている場合、介在する特徴または要素は存在しない。また、特徴または要素が他の特徴または要素に「接続されている」、「取り付けられている」、または「結合されている」と言及される場合、他の特徴または要素に直接接続、取り付け、または結合されていてもよく、または介在する特徴または要素が存在していてもよいことが理解されるであろう。対照的に、特徴または要素が、別の特徴または要素に「直接接続されている」、「直接取り付けられている」、または「直接結合されている」と称される場合、介在する特徴または要素は存在しない。一実施形態に関して記載または示されているが、そのように記載または示された特徴および要素は、他の実施形態にも適用することができる。別の特徴に「隣接して」配置された構造または特徴への言及は、隣接する特徴と重複するか、またはその下にある部分を有し得ることも当業者には理解されるであろう。

【０１５１】

本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明することのみを目的としており、本発明を限定することを意図していない。例えば、本明細書で使用されるように、単数形「一つ」および「この」は、文脈が明確に別のことを示さない限り、複数形も含むことが意図されている。本明細書で使用される場合、「含む」および／または「含んでいる」という用語は、記載された特徴、工程、操作、要素、および／または構成要素の存在を規定するが、１つ以上の他の特徴、工程、操作、要素、構成要素、および／またはそれらのグループの存在または追加を排除するものではないことが、さらに理解されるべきである。本明細書で使用されるように、用語「および／または」は、関連する記載事項のうちの１つ以上の任意のおよびすべての組み合わせを含み、「／」と略されることがある。

【０１５２】

空間的相対性を表す用語、「下方」、「その下」、「より下」、「上方」、「より上」などは、図示されているように、１つの要素または特徴と他の要素または特徴との関係を説明するために、説明を容易にするために、本明細書で使用されてもよい。空間的相対性を表す用語は、図に描かれている向きに加えて、使用中または操作中のデバイスの異なる向きを包含することが意図されていることが理解すべきである。例えば、図中のデバイスが反転されている場合、他の要素または特徴の「下方」または「下に」と記載された要素

は、その後、他の要素または特徴の「上方」に配向されることになる。したがって、例示的な用語「下」は、上方の方向と下方の方向の両方を包含することができる。デバイスは、他の方法で方向付けられ（例えば、９０度回転または他の方向に）、本明細書で使用される空間的に相対的な記述子がそれに応じて解釈され得る。同様に、「上向き」、「下向き」、「垂直」、「水平」等の用語は、特に断りのない限り、本明細書では説明の目的でのみ使用される。

【０１５３】

本明細書では、「第１」および「第２」という用語が、様々な特徴／要素（工程を含む）を説明するために使用されることがあるが、これらの特徴／要素は、文脈が別段のことを示さない限り、これらの用語によって限定されるべきではない。これらの用語は、ある特徴／要素と別の特徴／要素を区別するために使用されることがある。したがって、以下で説明される第１の特徴／要素は、第２の特徴／要素と呼ばれることができ、同様に、以下でで説明される第２の特徴／要素は、本発明の教示から逸脱することなく、第１の特徴／要素と呼ばれることができる。

【０１５４】

本明細書およびそれに続く特許請求の範囲全体を通して、文脈が他に要求しない限り、「含む」という語、および「含む」および「含んでいる」の変形型は、様々な構成要素が、方法および物品（例えば、デバイスおよび方法を含む組成物および装置）に共役で採用され得ることを意味する。例えば、用語「含んでいる」は、記載された任意の要素または工程を含むことを意味するが、他の要素または工程を除外することを意味しないと理解されるべきである。

【０１５５】

実施例で使用されるものを含め、本明細書で本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、特に明示的に指定されない限り、すべての番号は、その用語が明示的に表示されない場合でも、「約」または「およそ」という単語で始まるかのように読むことができる。「約」または「およそ」という句は、大きさおよび／または位置を説明するときに使用され、説明される数値および／または位置が、値および／または位置の合理的に予想される範囲内にあることを示すために使用されてもよい。例えば、数値は、記載値（または値の範囲）の±０．１％、記載値（または値の範囲）の±１％、記載値（または値の範囲）の±２％、記載値（または値の範囲）の±５％、記載値（または値の範囲）の±１０％などの値を有していてもよい。本明細書で与えられる数値はまた、文脈が別段の指示をしない限り、おおよそまたはほぼその値を含むと理解されるべきである。例えば、値「１０」が開示されている場合、「約１０」も開示されている。本明細書に記載されている任意の数値範囲は、そこに含まれるすべての副範囲を含むことを意図している。また、当業者が適切に理解するように、値が「以下」であると開示される場合、「値以上」および値間の可能な範囲もまた開示されることも理解されたい。例えば、値「Ｘ」が開示される場合、「Ｘ以下」ならびに「Ｘ以上」（例えば、Ｘは数値である）もまた開示される。また、本出願全体で、データは様々な形式で提供され、このデータは終点と開始点、およびデータポイントの任意の組み合わせの範囲を表すことも理解されたい。例えば、特定のデータポイント「１０」および特定のデータポイント「１５」が開示される場合、１０～１５と同様に、１０および１５より大きい、以上、より小さい、以下、および等しいことが開示されていると見なされる。２つの特定のユニット間の各ユニットも開示されていることも理解されたい。例えば、１０および１５が開示されている場合、１１、１２、１３、および１４も開示される。

【０１５６】

様々な例示的な実施形態が上に記載されているが、特許請求の範囲に記載されているように、本発明の範囲から逸脱することなく、様々な実施形態にいくつかの変更を加えることができる。例えば、説明された様々な方法工程が実行される順序は、代替的な実施形態ではしばしば変更されてもよく、他の代替的な実施形態では、１つまたは複数の方法工程が完全にスキップされてもよい。様々なデバイスおよびシステムの実施形態のオプション

機能は、いくつかの実施形態に含まれ、他の実施形態には含まれないことがある。したがって、上記の説明は、主に例示的な目的のために提供されるものであり、特許請求で述べられているように本発明の範囲を限定するように解釈されるべきではない。

【０１５７】

本明細書に含まれる例示および図示は、例示のためのものであり、限定するものではないが、主題が実施され得る特定の実施形態を示している。上述したように、他の実施形態は、本開示の範囲から逸脱することなく、構造的および論理的な置換および変更を行うことができるように、利用され、そこから派生し得る。本発明の主題のそのような実施形態は、２つ以上が実際に開示される場合、単に便宜のために、そして本出願の範囲を任意の単一の発明または発明の概念に自発的に限定することを意図することなく、本明細書において個別にまたは集合的に「発明」という用語によって言及され得る。したがって、特定の実施形態が図示され、本明細書に記載されているが、同じ目的を達成するために計算された任意の配置が、示された特定の実施形態に代えられてもよい。本開示は、様々な実施形態の任意のおよびすべての適応または変形をカバーすることを意図している。上記の実施形態、および本明細書に具体的に記載されていない他の実施形態の組み合わせは、上記の説明を検討すると、当業者には明らかであろう。

以下に、出願時の特許請求の範囲の記載を示す。

［請求項１］

ナノポアシーケンシングデバイスであって、

（ｉ）ルテニウム含有材料からなる電極と、

（ｉｉ）参照電極または対電極のうちの少なくとも１つと

を備える、前記ナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項２］

前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、請求項１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項３］

前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項４］

前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項３に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項５］

前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項３に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項６］

前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項７］

前記電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項６に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項８］

前記電極の表面に配置された誘電体材料をさらに備える、請求項１に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項９］

複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるチップであって、各個別にアドレス指定可能なナノポアは、ルテニウム含有材料からなる作用電極と流体連通している、チップ。

［請求項１０］

前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静

電容量を有することを特徴とする、請求項９に記載のチップ。
［請求項１１］
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項９に記載のチップ。
［請求項１２］
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項１１に記載のチップ。
［請求項１３］
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項１１に記載のチップ。
［請求項１４］
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項９に記載のチップ。
［請求項１５］
前記作用電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項９に記載のチップ。
［請求項１６］
請求項９～１５のいずれか一項に記載のチップを備えるナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項１７］
ナノポアシーケンシングデバイスであって、ルテニウム含有材料からなる作用電極と、誘電体層であって、前記誘電体層の一部が前記作用電極に隣接して水平に配置され、前記誘電体層の一部が前記作用電極の上に配置され、前記作用電極の一部を覆い、前記誘電体層が、前記作用電極の覆われていない部分の上に開口部を有するウェルを形成する、誘電体層とを備える、前記ナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項１８］
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、請求項１７に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項１９］
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項１７に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２０］
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項１９に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２１］
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項１９に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２２］
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項１７に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２３］
前記電極が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を備える、請求項２２に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２４］
前記誘電体層の上の表面をさらに含み、膜が前記表面の上部に形成され、前記作用電極の前記覆われていない部分の上の前記ウェルの前記開口部にまたがることがある、請求項１７～２３のいずれか一項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項２５］
前記作用電極のベース表面積が、前記作用電極の前記覆われていない部分の上の前記開口部のベース表面積よりも大きい、請求項２４に記載のナノポアシーケンシングデバイス。

［請求項２６］
ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行するプロセスに従って調製されたルテニウム含有膜であって、前記スパッタ堆積または前記プラズマ蒸着プロセスは、（ｉ）１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を堆積チャンバに導入することと、（ｉｉ）１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを前記堆積チャンバに導入することとを含み、前記堆積中に前記堆積チャンバ内の堆積圧力が５ｍＴｏｒｒ～２５ｍＴｏｒｒに維持され、前記堆積が、５０ワット～２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される、前記ルテニウム含有膜。
［請求項２７］
前記堆積プロセスが室温で行われる、請求項２６に記載のルテニウム含有膜。
［請求項２８］
前記ルテニウム含有膜は、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～２２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を備える、請求項２６に記載のルテニウム含有膜。
［請求項２９］
前記プロセスが、前記堆積されたルテニウム含有膜を１２０℃を超える温度で加熱することをさらに含む、請求項２６に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３０］
加熱が、１４０℃～３４０℃の範囲の温度で行われる、請求項２９に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３１］
Ｘ線光電子分光法によって測定される、前記ルテニウム含有膜の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比が１．５～３．５の範囲である、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３２］
前記表面組成比が１．８～３．２の範囲である、請求項３１に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３３］
前記堆積圧力が２０ｍＴｏｒｒであり、窒素の前記流量が９０ｓｃｃｍであり、前記電力が２００ワットであり、前記加熱が１８０℃～２６０℃で行われる、請求項３２に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３４］
前記ルテニウム含有膜が、前記膜の総重量の最大１５％の窒素を含む、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３５］
前記ルテニウム含有膜が、前記膜の総重量の最大１０％の窒素を含むが、前記膜の総重量の５％以上の窒素を含む、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３６］
前記ルテニウム含有膜は、２６０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を備える、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３７］
前記堆積圧力が２０ｍＴｏｒｒであり、窒素の前記流量が９０ｓｃｃｍであり、前記電力が２００ワットである、請求項３６に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３８］
前記ルテニウム含有膜が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定される樹枝状構造を有する、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項３９］
前記ルテニウム含有膜が、面心立方構造を備える、請求項３０に記載のルテニウム含有膜。
［請求項４０］
基板上に堆積されたスタックであって、前記基板の表面に少なくとも部分的に配置された金属層と、前記金属層の表面に配置された活性層であって、請求項３０～３９のいずれか一項に記載のルテニウム含有膜を備える、活性層と、前記活性層の表面に少なくとも部

分的に配置されたキャップ層とを備える、前記スタック。
［請求項４１］
前記活性層が少なくとも部分的に誘電体材料によって囲まれている、請求項４０に記載のスタック。
［請求項４２］
前記キャップ層が誘電体材料からなる、請求項４０に記載のスタック。
［請求項４３］
複数のウェルを備え、各前記ウェルが請求項４０～４２のいずれか一項に記載のスタックを備える、チップ。
［請求項４４］
請求項４３に記載のチップを備えるシーケンシングデバイス。
［請求項４５］
基板上に堆積された薄膜であって、前記薄膜は、窒化ルテニウム、酸化ルテニウム、酸窒化ルテニウム、またはそれらの複合体または混合物を含み、前記薄膜は、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有し、前記薄膜の窒素含有量は５％以上１５％以下である、前記薄膜。
［請求項４６］
前記二層静電容量が２６０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲である、請求項４５に記載の薄膜。
［請求項４７］
前記二層静電容量が２８０ｐＦ／ｕｍ^2～３００ｐＦ／ｕｍ^{2}である、請求項４６に記載の薄膜。
［請求項４８］
Ｘ線光電子分光法によって測定される、前記薄膜の表面組成比（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕが１．５～３．５の範囲である、請求項４５に記載の薄膜。
［請求項４９］
前記表面組成比が１．８～３．２の範囲である、請求項４８に記載の薄膜。
［請求項５０］
前記薄膜が、横断面の走査型電子顕微鏡法によって決定されるような樹枝状構造を含む、請求項４５に記載の薄膜。
［請求項５１］
請求項４５～５０のいずれか一項に記載の薄膜を含む電極。
［請求項５２］
電極を作製する方法であって、
（ａ）導電層上に配置された第１の誘電体層内に穴をエッチングすることであって、前記穴が導電層の露出面を備える、エッチングすることと、
（ｂ）ルテニウム含有膜を含む作用電極を、少なくとも、前記穴内の前記導電層の前記露出面上に堆積させることと、
（ｃ）前記作用電極の表面にキャップ層を堆積させることと
を含む、前記方法。
［請求項５３］
前記作用電極の前記堆積が、（ｉ）窒素雰囲気中でルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行して、前記ルテニウム含有膜を提供することと、（ｉｉ）前記提供されたルテニウム含有膜を少なくとも１５０℃の温度で加熱することとを含む、請求項５２に記載の方法。
［請求項５４］
前記作用電極が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項５３に記載の方法。
［請求項５５］
前記作用電極が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有

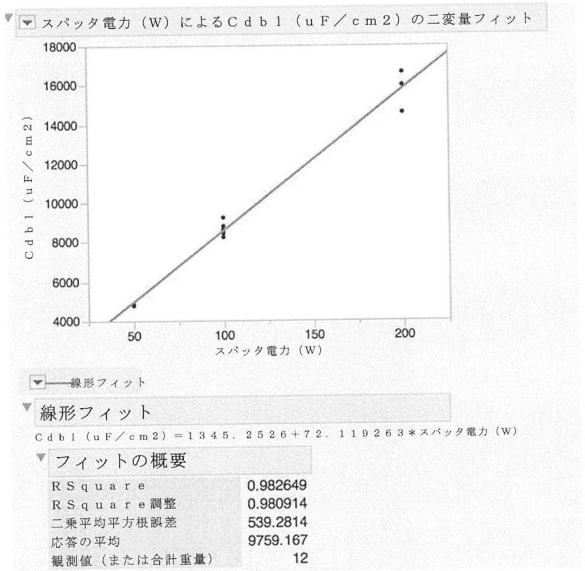
することを特徴とする、請求項５３に記載の方法。
［請求項５６］
前記作用電極が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とし、さらに、横断面の走査型電子顕微鏡法によって観察されるような柱状構造または樹枝状構造のうちの１つを有することを特徴とする、請求項５３に記載の方法。
［請求項５７］
前記作用電極の前記堆積が、
（ｉ）ルテニウムターゲットを使用してスパッタ堆積またはプラズマ蒸着のうちの１つを実行することであって、前記スパッタ堆積または前記プラズマ蒸着プロセスは、
（ｉ）１０ｓｃｃｍ～１００ｓｃｃｍの流量で窒素を前記堆積チャンバに導入することと、
（ｉｉ）１０ｓｃｃｍの流量でアルゴンを前記堆積チャンバに導入することとを含み、前記堆積中に前記堆積チャンバ内の堆積圧力が５ｍＴｏｒｒ～２５ｍＴｏｒｒに維持され、前記堆積が、５０ワット～２５０ワットの範囲の電力を使用して実行される、実行することと、
（ｉｉ）前記提供されたルテニウム含有膜を少なくとも１５０℃の温度で加熱することとを含む、請求項５２に記載の方法。
［請求項５８］
前記加熱が少なくとも２００℃で行われる、請求項５７に記載の方法。
［請求項５９］
ナノポアシーケンシングで使用するためのバイオチップを作製する方法であって、
（ａ）請求項５２～５８のいずれか一項に記載の方法に従って複数の電極を作製することと、
（ｂ）前記複数の電極の各電極を互いに分離することと
を含む、前記方法。
［請求項６０］
（ｉ）少なくとも金属窒化物からなる電極であって、前記金属窒化物が１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有する、電極と、
（ｉｉ）参照電極または対電極のうちの少なくとも１つと
を備える、ナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項６１］
前記電極がルテニウム、酸素、および窒素からなり、前記電極が５％以上１５％以下の窒素を含む、請求項６０および６１のいずれか一項に記載のナノポアシーケンシングデバイス。
［請求項６２］
（ａ）少なくとも２５０ウェル／ｍｍ２の密度で複数のウェルを有する半導体基板と、
（ｂ）前記複数のウェルのそれぞれに配置された電極であって、ルテニウム含有材料からなる、電極と
を備える、バイオチップ。
［請求項６３］
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／ｕｍ^2～３２０ｐＦ／ｕｍ^{2}の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、請求項６２に記載のバイオチップ。
［請求項６４］
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項６２に記載のバイオチップ。
［請求項６５］
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項６４に記載のバイオチップ。
［請求項６６］
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項６４に記載のバイオチップ。

［請求項６７］
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項６２に記載のバイオチップ。
［請求項６８］
各個別の前記電極の表面に配置された疎水性コーティングをさらに備える、請求項６２～６７のいずれか一項に記載のバイオチップ。
［請求項６９］
前記バイオチップの上に配置されたカバーをさらに備える、請求項６２～６８のいずれか一項に記載のバイオチップ。
［請求項７０］
前記カバーが、脂質コーティングへの１つまたは複数の流体の送達を容易にするための少なくとも１つの流体入口を備える、請求項６９に記載のバイオチップ。
［請求項７１］
請求項６２～７０のいずれか一項に記載のバイオチップと、脂質溶液とを含む、キット。
［請求項７２］
請求項６２～７０のいずれか一項に記載のバイオチップと、１つまたは複数の酵素とを含む、キット。
［請求項７３］
バイオチップを調製する方法であって、
（ａ）半導体基板を取得することと、
（ｂ）少なくとも２５０ウェル／mm^2の密度で前記半導体基板内に複数のウェルを形成することと、
（ｃ）前記複数のウェルの個々のウェルのそれぞれに電極を形成することであって、前記電極が、ルテニウム含有材料からなる、形成することと
を含む、前記方法。
［請求項７４］
前記ルテニウム含有材料が、１８０ｐＦ／um^2～３２０ｐＦ／um^2の範囲の二層静電容量を有することを特徴とする、請求項７３に記載の方法。
［請求項７５］
前記ルテニウム含有材料が、Ｘ線光電子分光法によって測定されるように、１．５～３．５の範囲の（Ｎ＋Ｏ）／Ｒｕの表面組成比を有することを特徴とする、請求項７３または７４に記載の方法。
［請求項７６］
前記表面組成比が１．８～３．０の範囲である、請求項７５に記載の方法。
［請求項７７］
前記表面組成比が２～２．５の範囲である、請求項７５に記載の方法。
［請求項７８］
前記ルテニウム含有材料が、５％以上１５％以下の窒素含有量を有することを特徴とする、請求項７３または７４に記載の方法。
［請求項７９］
前記電極の表面を疎水性材料でコーティングすることをさらに含む、請求項７３～７８のいずれか一項に記載の方法。
［請求項８０］
複数の個別にアドレス指定可能なナノポアを備えるバイオチップであって、各個別にアドレス指定可能なナノポアは、請求項３０～３９のいずれか一項に記載のルテニウム含有薄膜からなる作用電極と流体連通している、前記バイオチップ。
［請求項８１］
リザーバと、請求項６２～７０のいずれか一項に記載のバイオチップと、前記リザーバのバイオチップに面する表面上に配置された対電極と、を備えるアセンブリ。
［請求項８２］

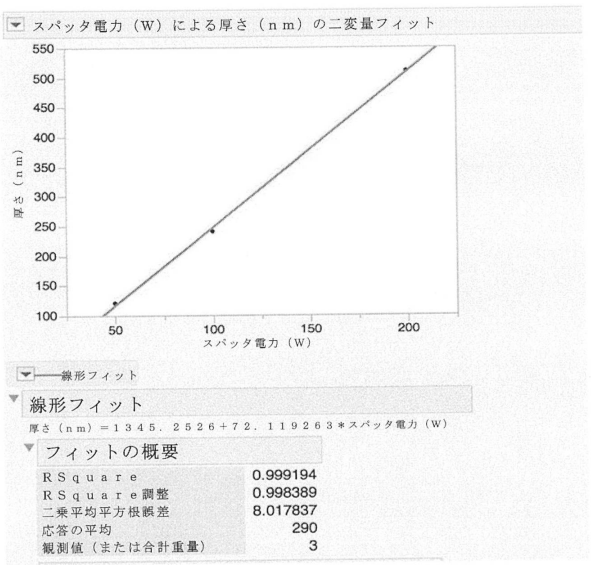
前記対電極が前記バイオチップに面する表面に印刷されている、請求項８１に記載のアセンブリ。

【図面】

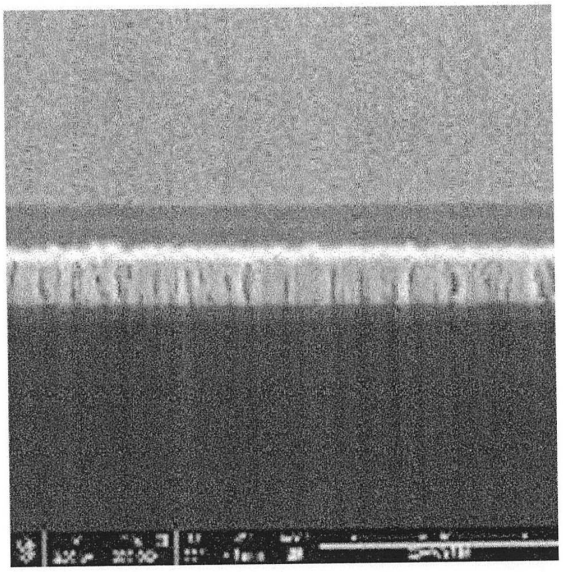
【図１Ａ】



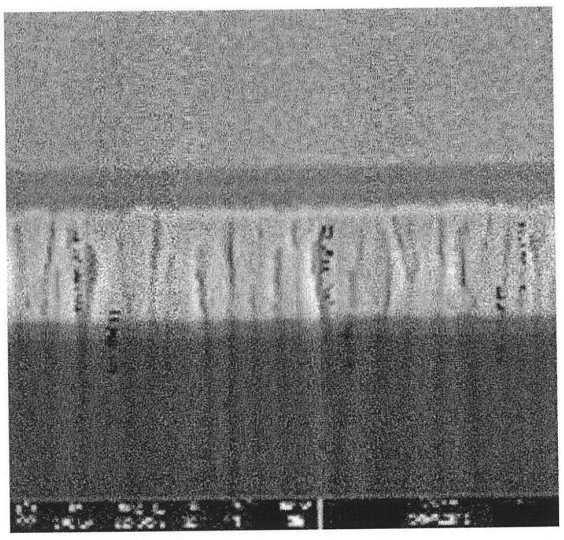
【図１Ｂ】



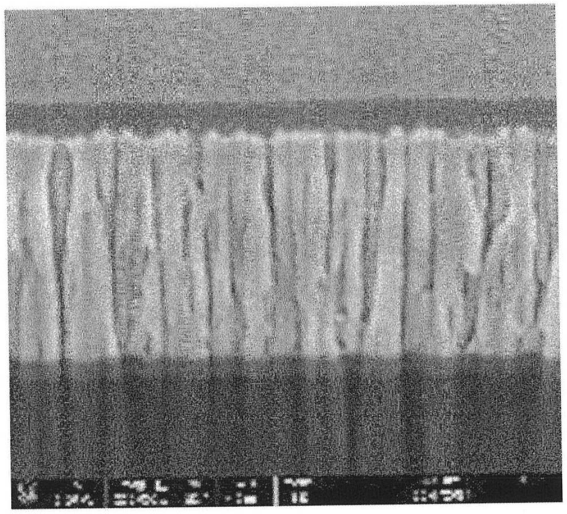
【図１Ｃ】



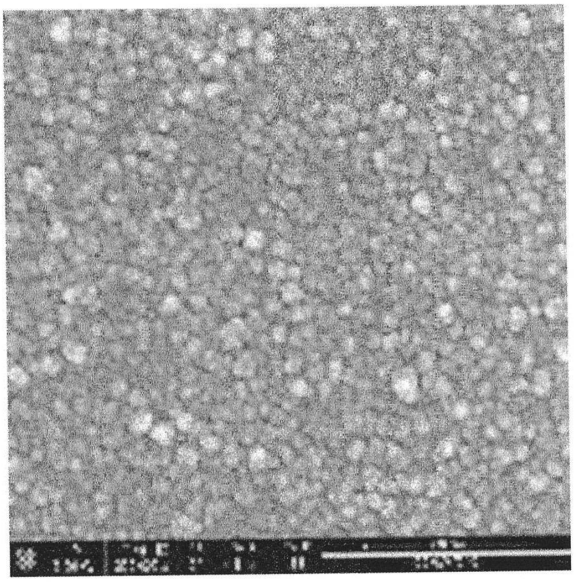
【図１Ｄ】



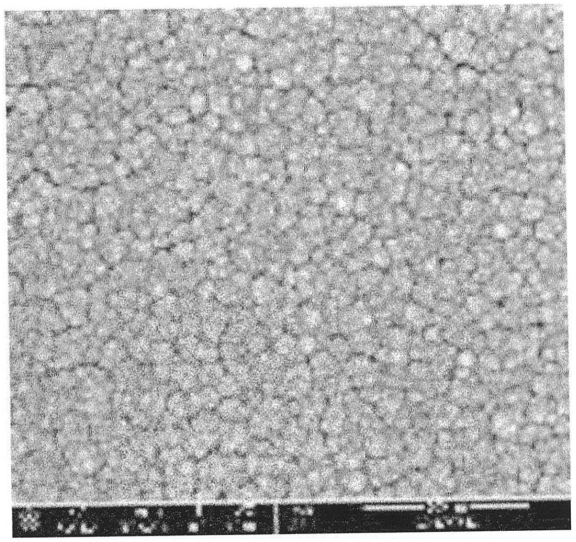
【図１Ｅ】



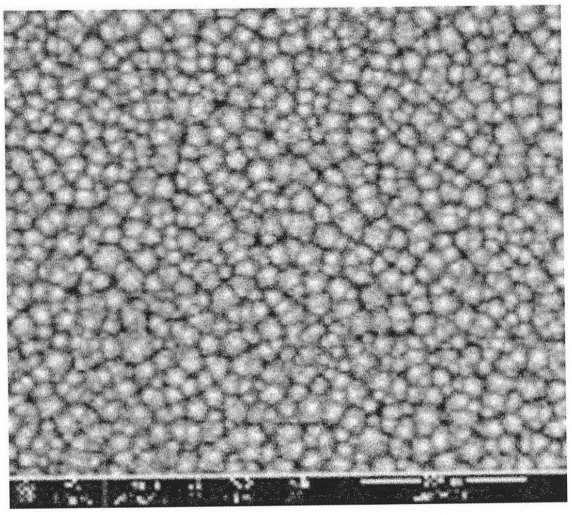
【図１Ｆ】



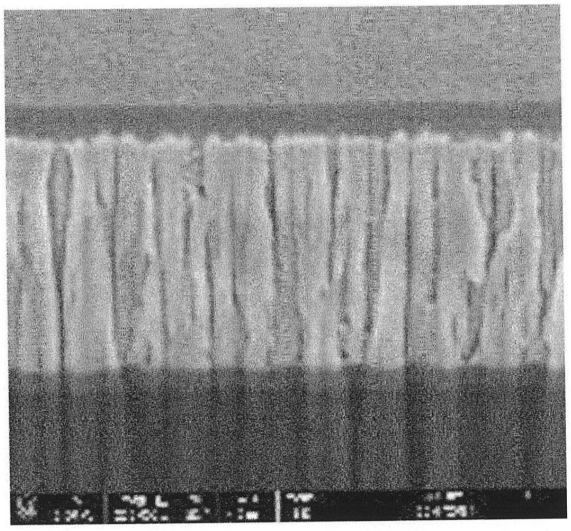
【図１Ｇ】



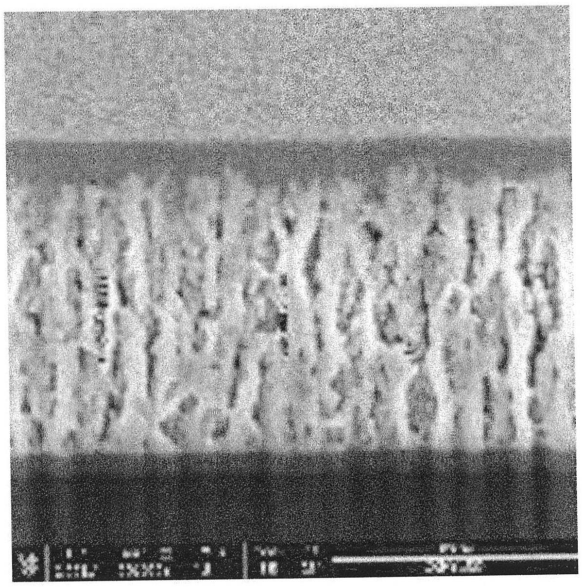
【図１Ｈ】



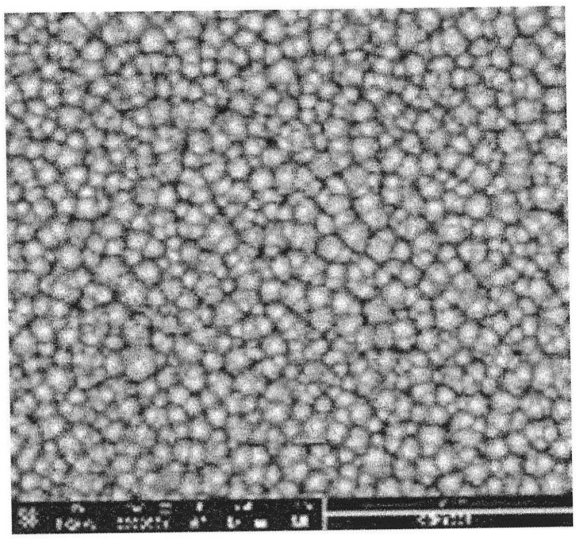
【図２Ａ】



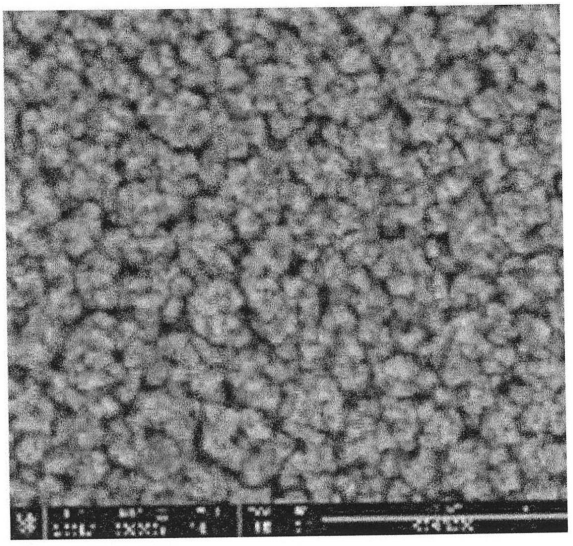
【図２Ｂ】



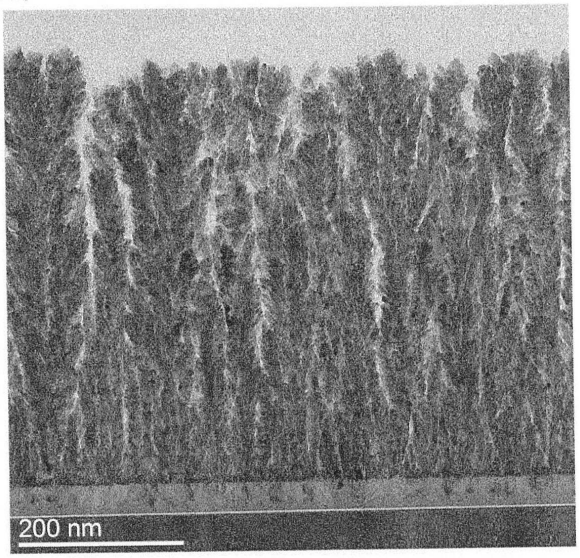
【図２Ｃ】



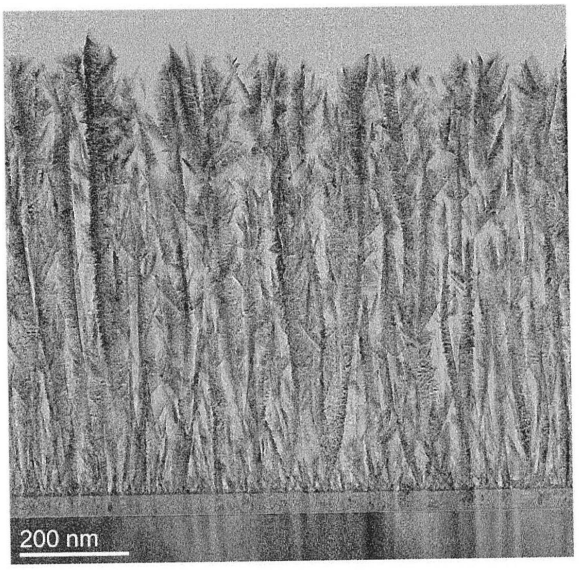
【図２Ｄ】



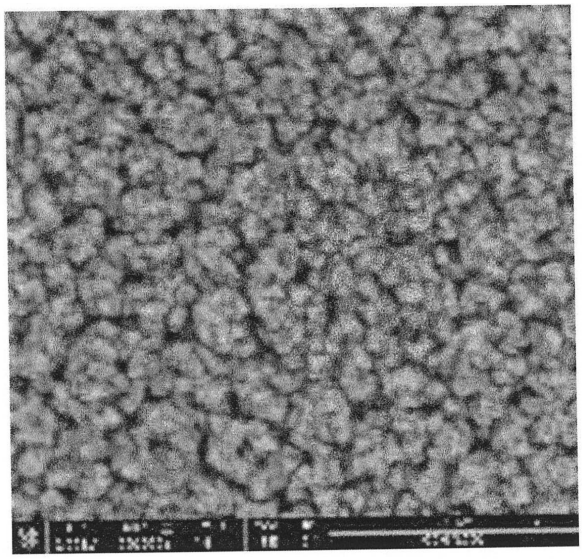
【図２Ｅ】



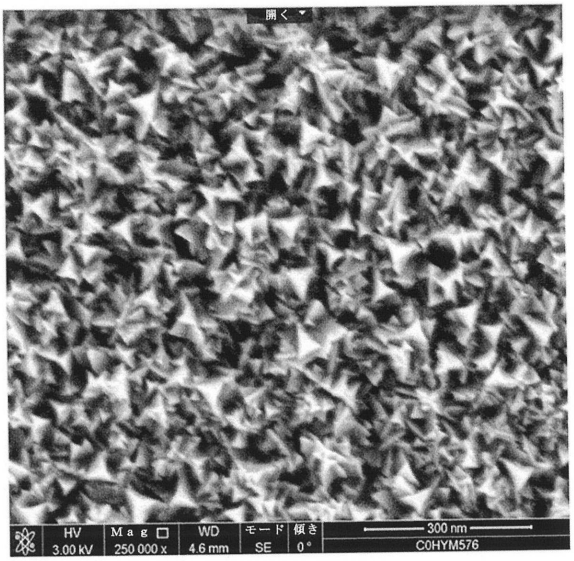
【図２Ｆ】



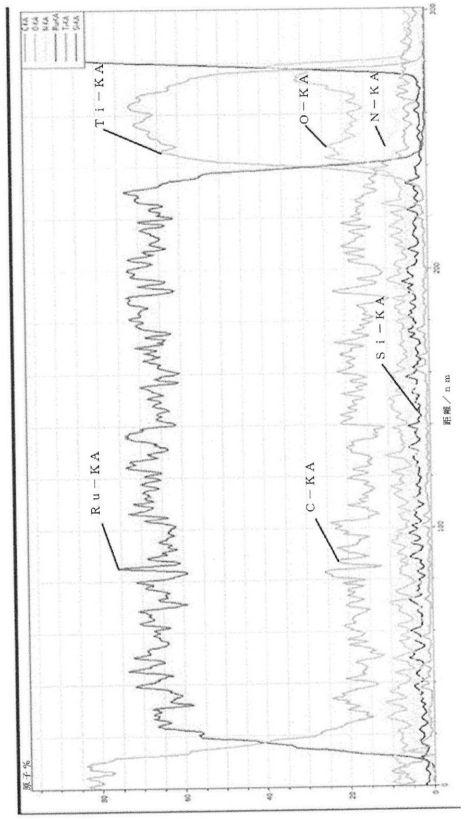
【図２Ｇ】



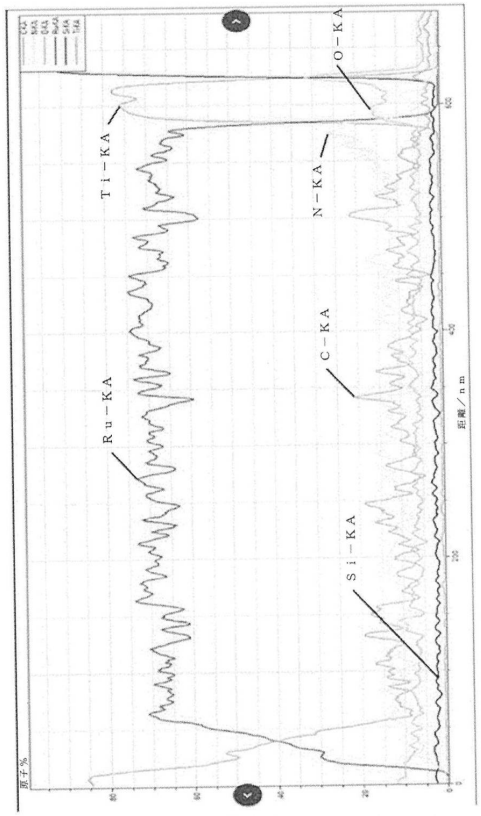
【図２Ｈ】



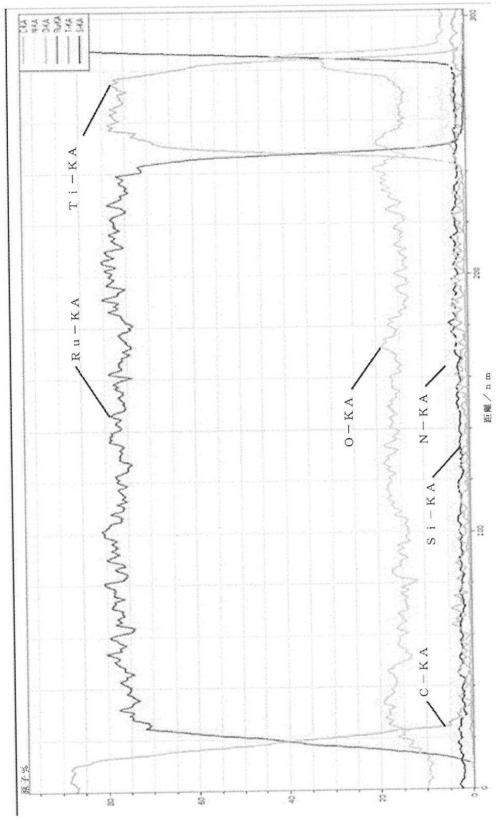
【図３Ａ】



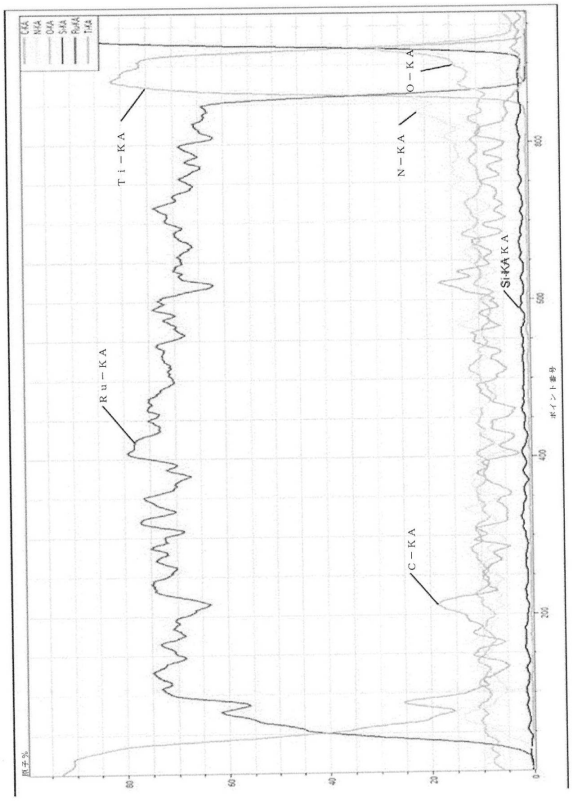
【図３Ｂ】



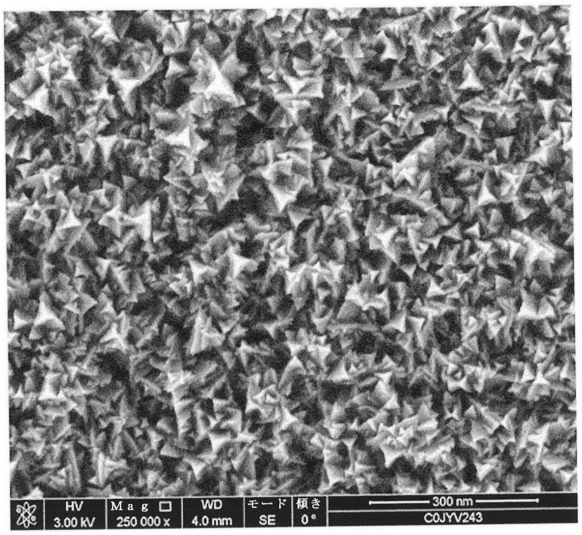
【図３Ｃ】



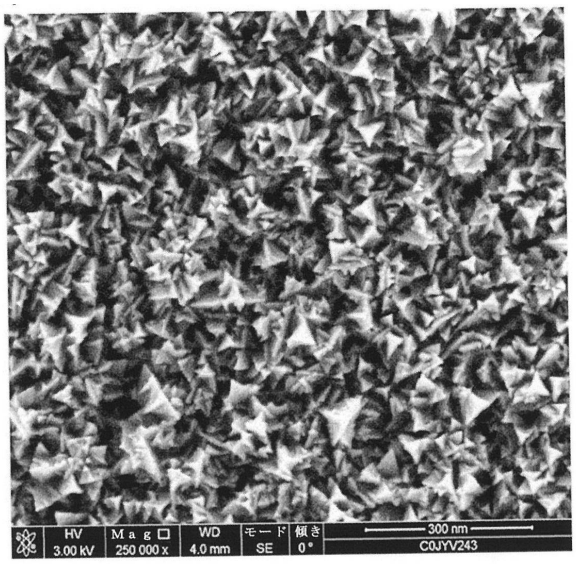
【図３Ｄ】



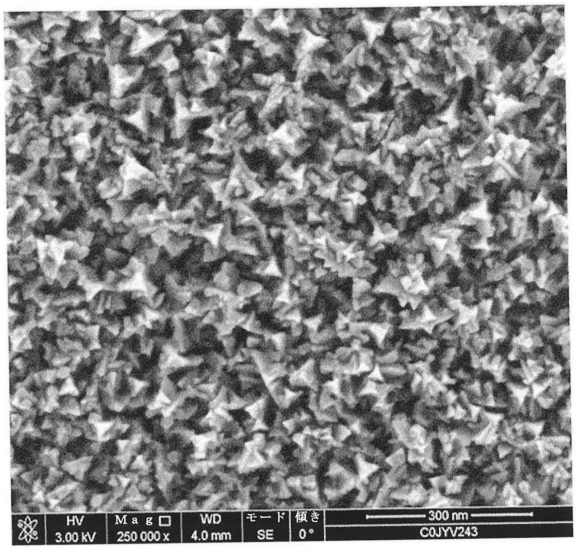
【図４Ａ】



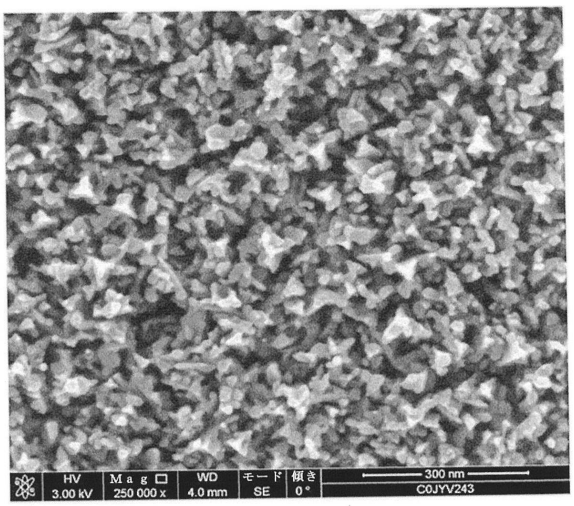
【図４Ｂ】



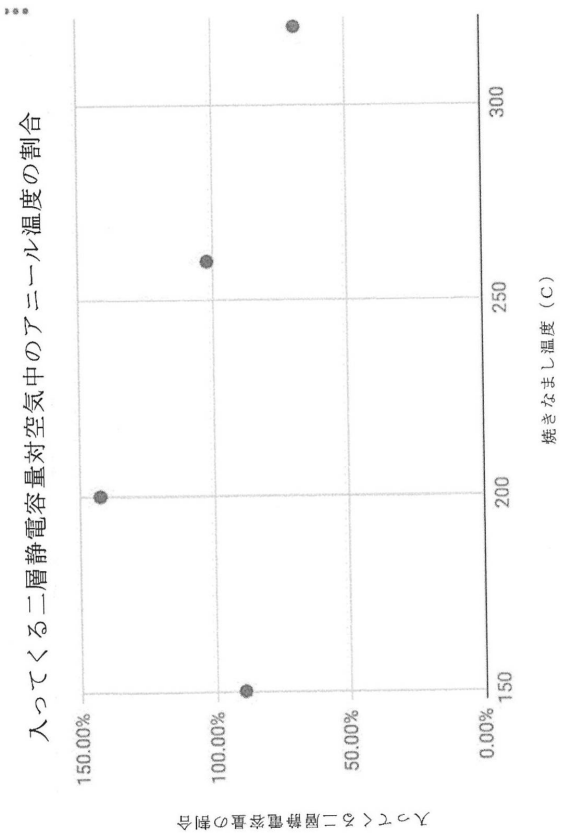
【図４Ｃ】



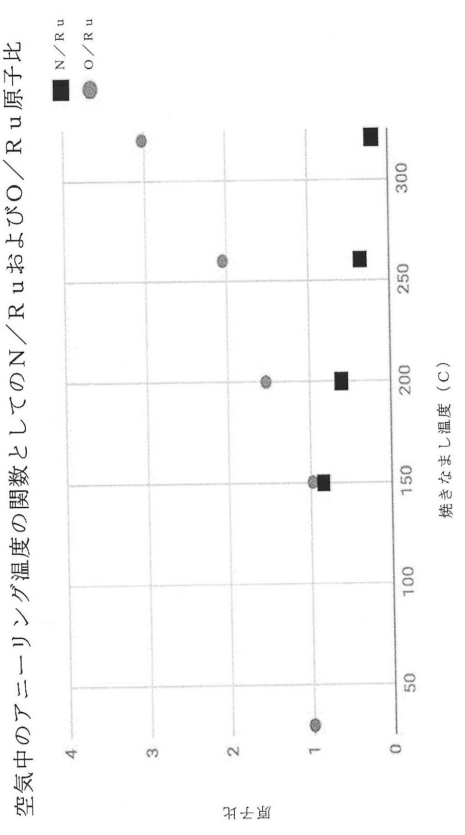
【図４Ｄ】



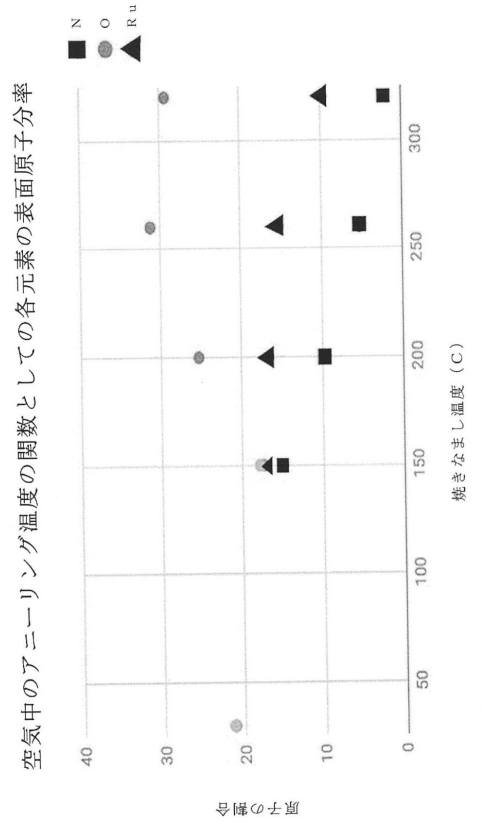
【図５Ａ】



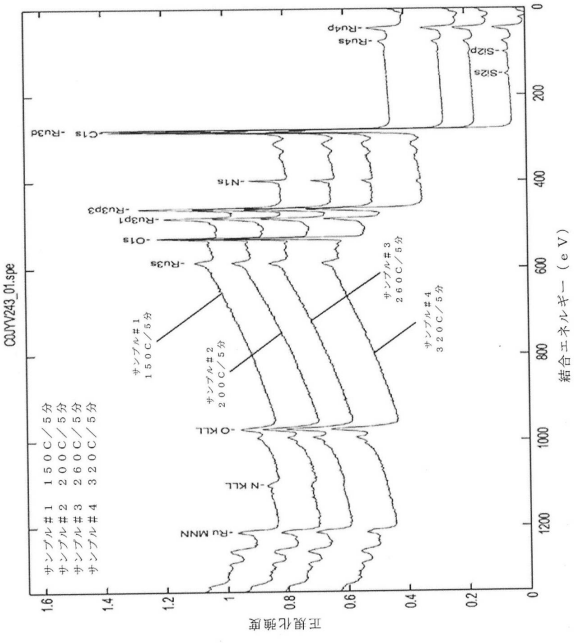
【図５Ｂ】



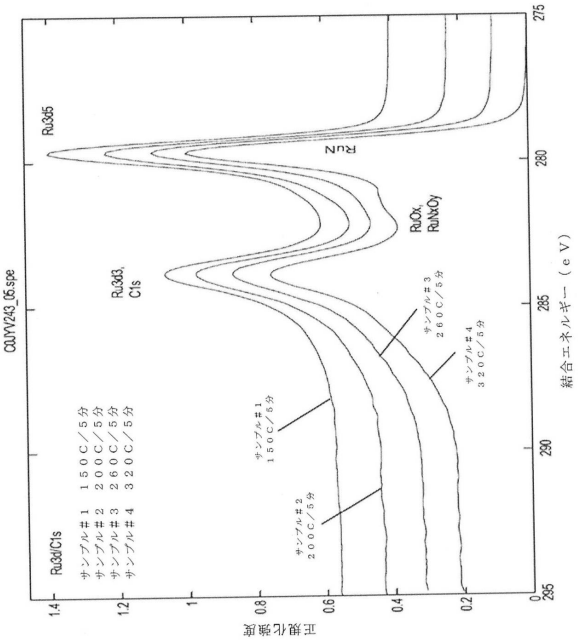
【図５Ｃ】



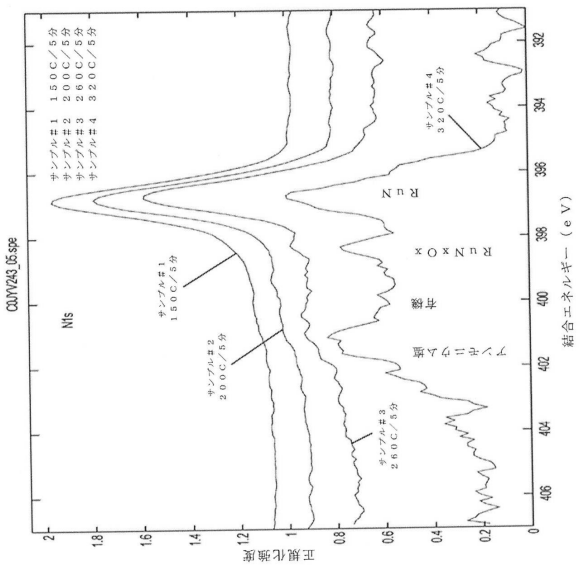
【図６Ａ】



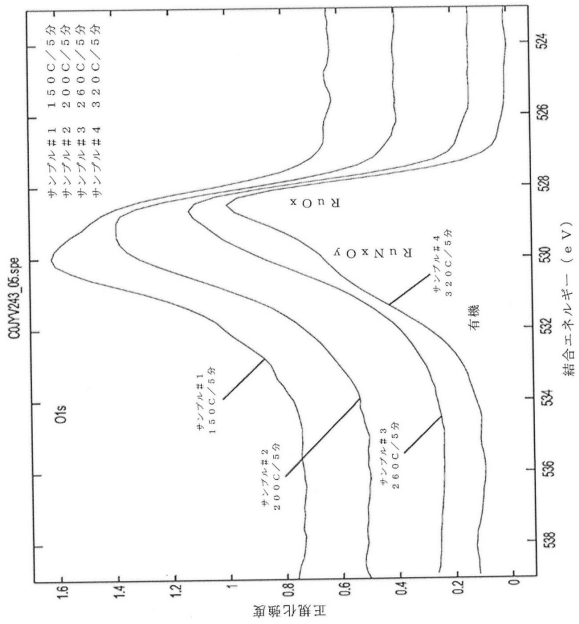
【図６Ｂ】



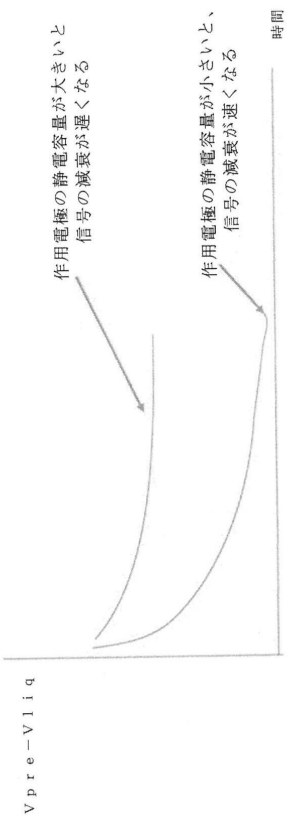
【図６Ｃ】



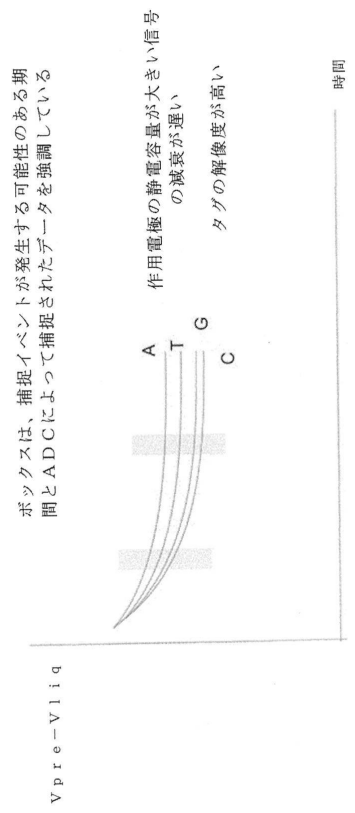
【図６Ｄ】



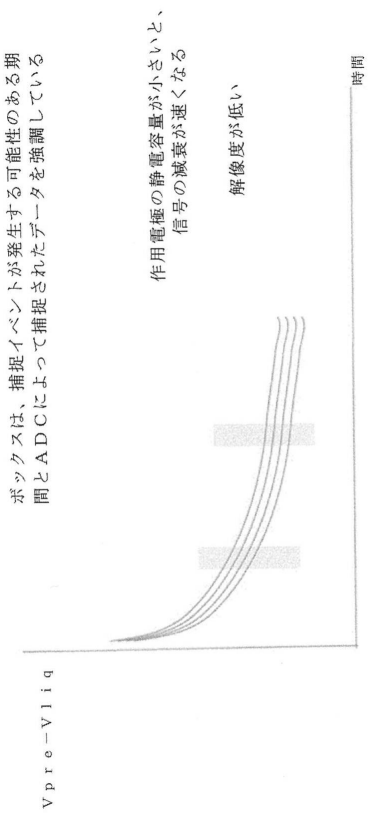
【図７Ａ】



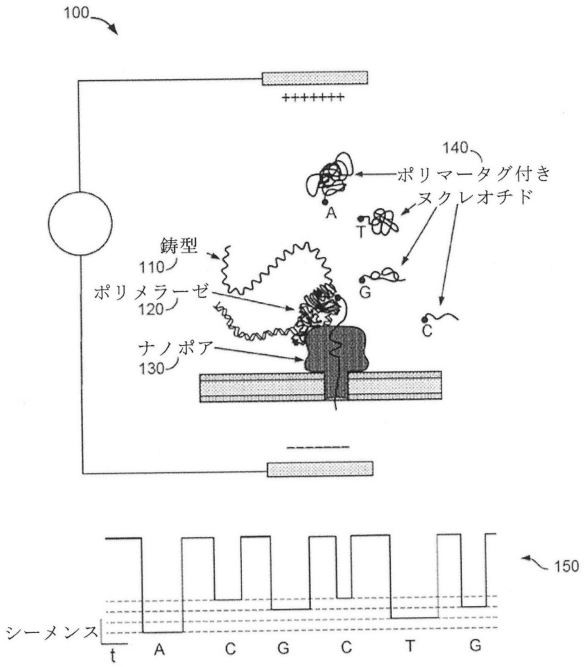
【図７Ｂ】


ボックスは、捕捉イベントが発生する可能性のある期間とＡＤＣによって捕捉されたデータを強調している
作用電極の静電容量が大きい信号の減衰が遅い
タグの解像度が高い
A
T
G
C
時間
Vpre−Vliq

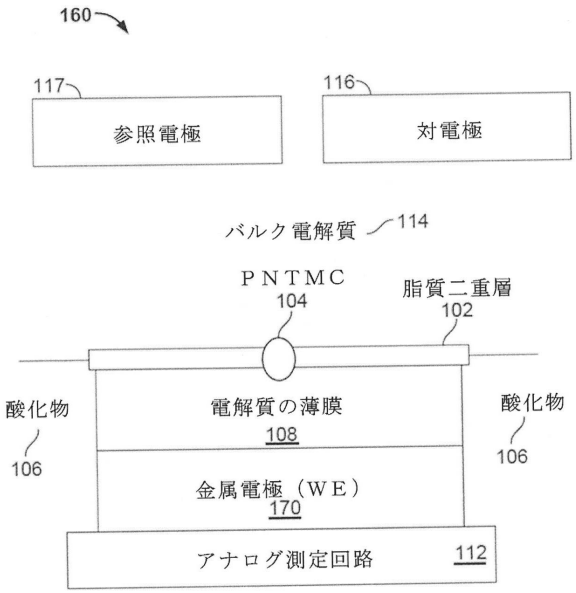
【図７Ｃ】


ボックスは、捕捉イベントが発生する可能性のある期間とＡＤＣによって捕捉されたデータを強調している
作用電極の静電容量が小さいと、信号の減衰が速くなる
解像度が低い
時間
Vpre−Vliq

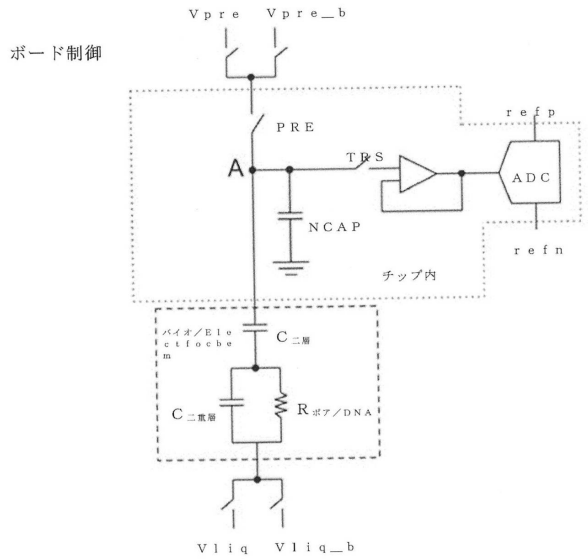
【図８】


100
+++++++
140
ポリマータグ付き
ヌクレオチド
A
T
G
C
鋳型
110
ポリメラーゼ
120
ナノポア
130
150
シーメンス
t
A
C
G
C
T
G

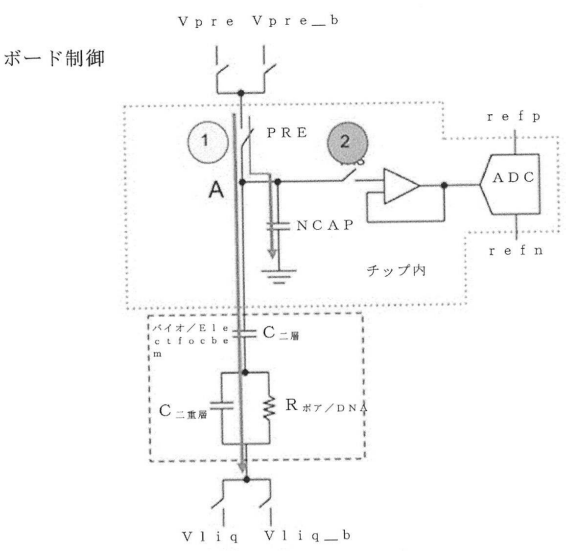
【図９】


160
117
参照電極
116
対電極
バルク電解質
114
ＰＮＴＭＣ
104
脂質二重層
102
酸化物
106
電解質の薄膜
108
酸化物
106
金属電極（ＷＥ）
170
アナログ測定回路
112

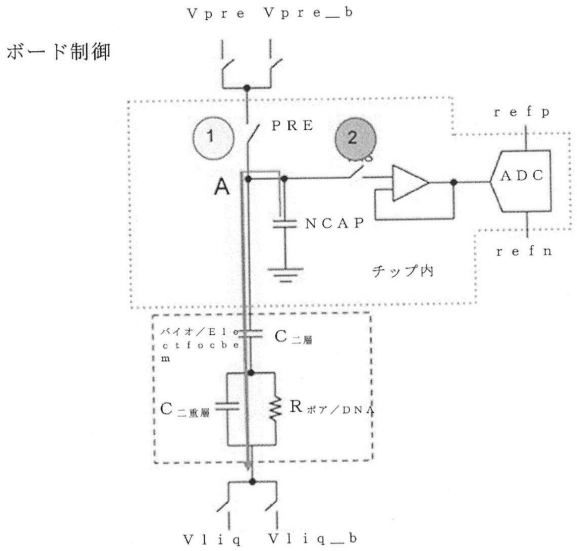
【図１０Ａ】



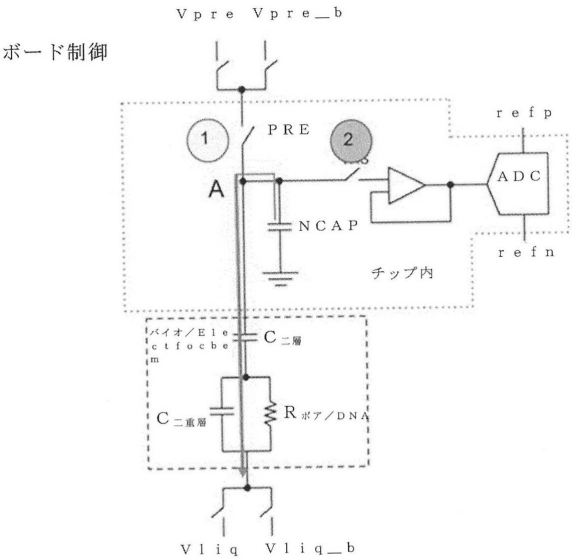
【図１０Ｂ】



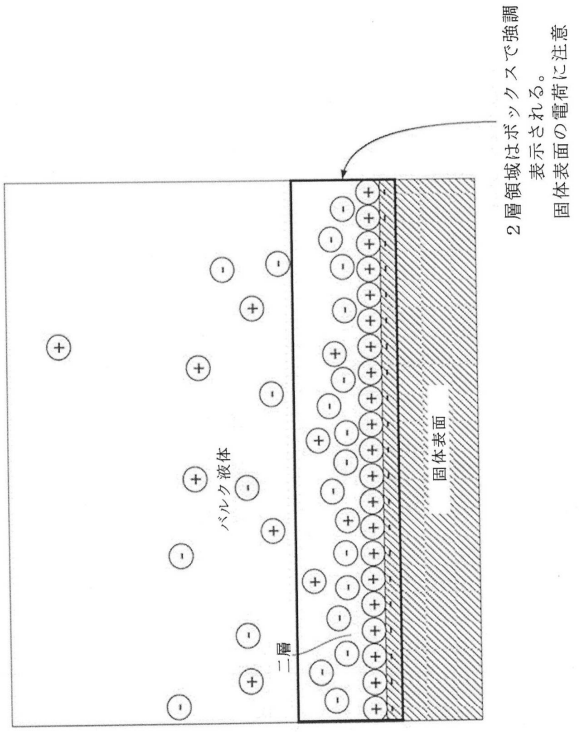
【図１０Ｃ】



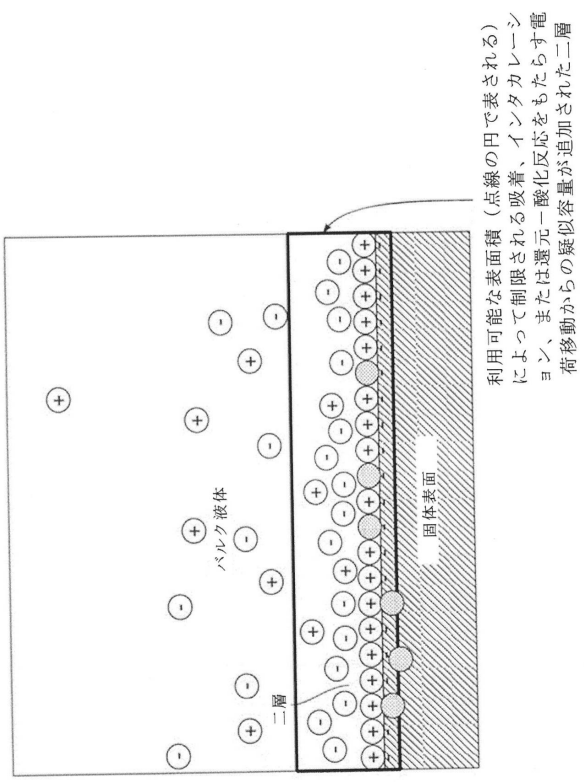
【図１０Ｄ】



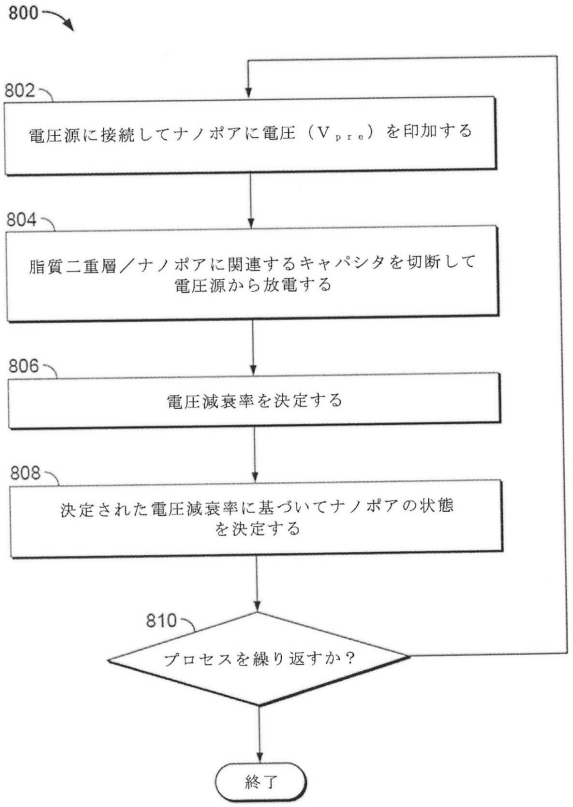
【図１１Ａ】



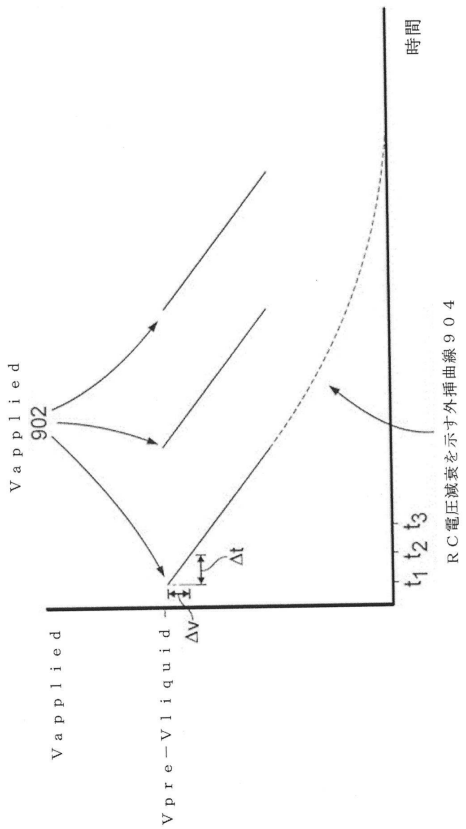
【図１１Ｂ】



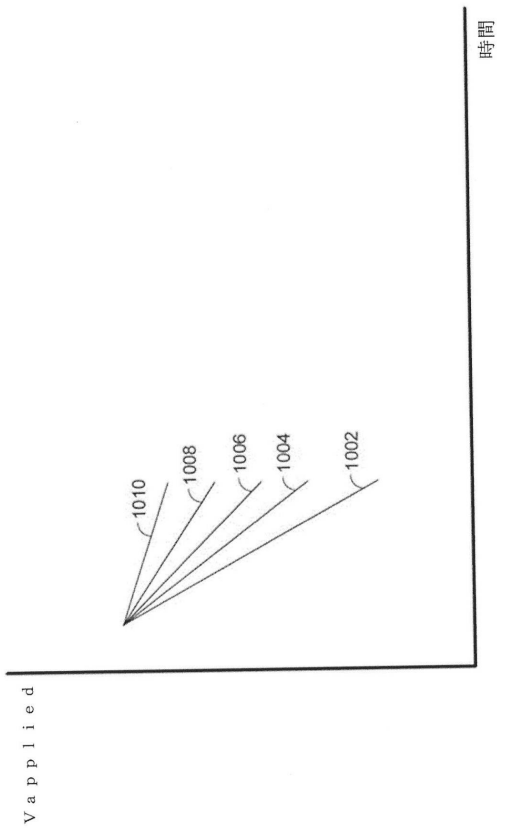
【図１２】



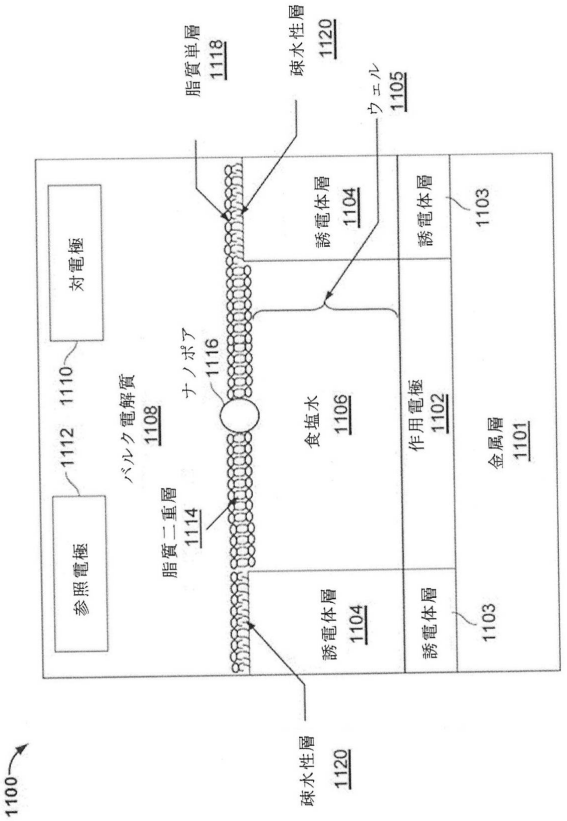
【図１３】



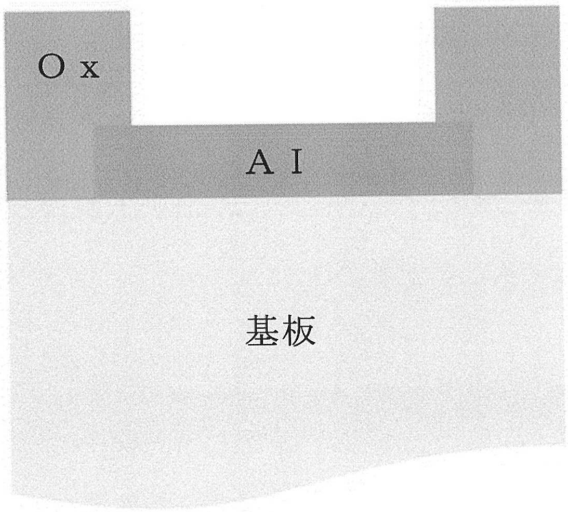
【図１４】



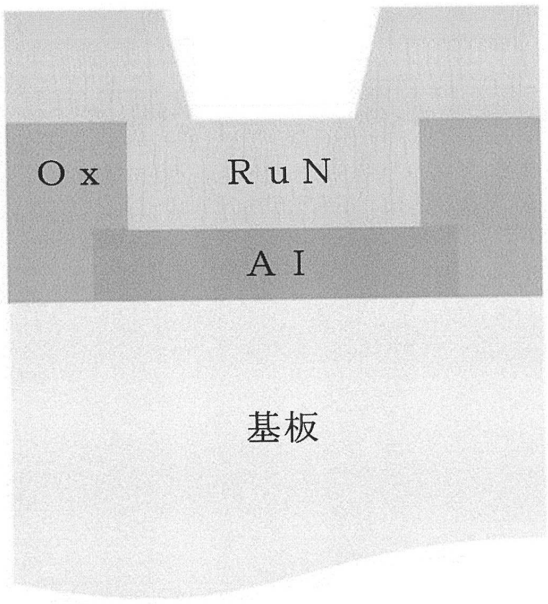
【図１５】



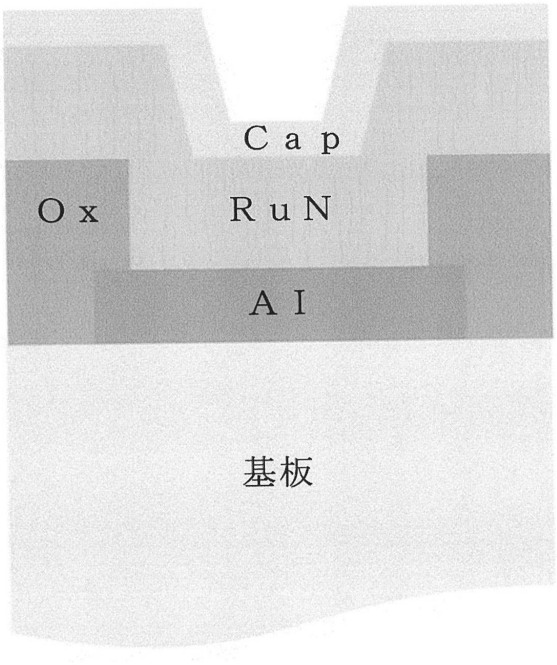
【図１６Ａ】



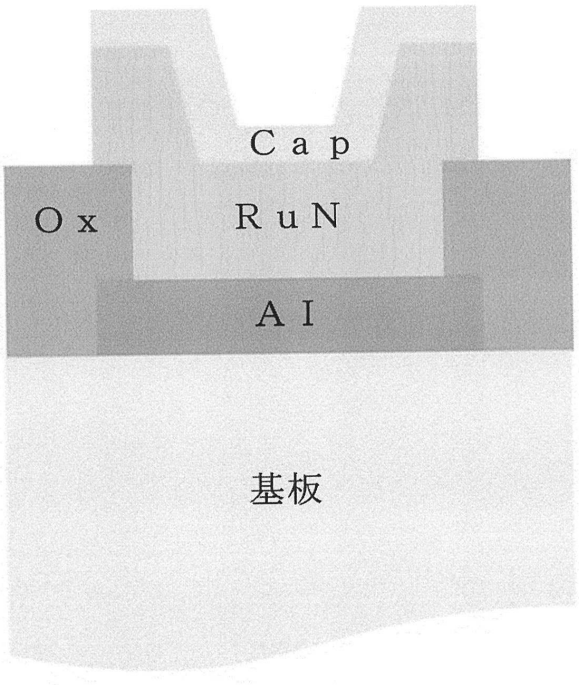
【図１６Ｂ】



【図１６Ｃ】



【図１６Ｄ】



フロントページの続き

(72)発明者　オウ，ウィング・ケイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５８８，プレザントン，ハシエンダ・ドライブ　４３００，
ロシュ・シーケンシング・ソリューションズ，インコーポレーテッド
(72)発明者　コマディナ，ジェイソン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５８８，プレザントン，ハシエンダ・ドライブ　４３００，
ロシュ・シーケンシング・ソリューションズ，インコーポレーテッド
(72)発明者　ウン，マロウェン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４５８８，プレザントン，ハシエンダ・ドライブ　４３００，
ロシュ・シーケンシング・ソリューションズ，インコーポレーテッド

審査官　吉田 将志
(56)参考文献　特開２０１８－０７２３５３（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０１４／０３１２００２（ＵＳ，Ａ１）
米国特許出願公開第２０１８／００１６６２９（ＵＳ，Ａ１）
(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　２７／００　－　Ｇ０１Ｎ　２７／１０
Ｇ０１Ｎ　２７／１４　－　Ｇ０１Ｎ　２７／２４