

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015101761, 22.07.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.07.2013Дата регистрации:  
25.09.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
24.07.2012 ЕР 12177718.9

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2016 Бюл. № 22

(45) Опубликовано: 25.09.2017 Бюл. № 27

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 21.01.2015(86) Заявка РСТ:  
ЕР 2013/065442 (22.07.2013)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2014/016262 (30.01.2014)Адрес для переписки:  
105062, Москва, ул. Покровка, д. 33, стр. 1,  
Агентство "ИНТЭЛС"

(72) Автор(ы):

ТОРНЭЙ Рафаэл (CH),  
ДЕМАЙЕРРИ Николас (CH),  
ГАМПЕР Стефан (CH),  
РЕНАУД Филипп (CH)(73) Патентообладатель(и):  
МАЙКАРТИС ЭнВи (BE)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO 2011044708 A1, 21.04.2011. WO  
2010072011 A1, 01.07.2010. WO 2000063695  
A1, 26.10.2000. US 20050244955 A1, 03.11.2005.  
US 20090149340 A1, 11.06.2009.

(54) Способ производства микроносителей

(57) Реферат:

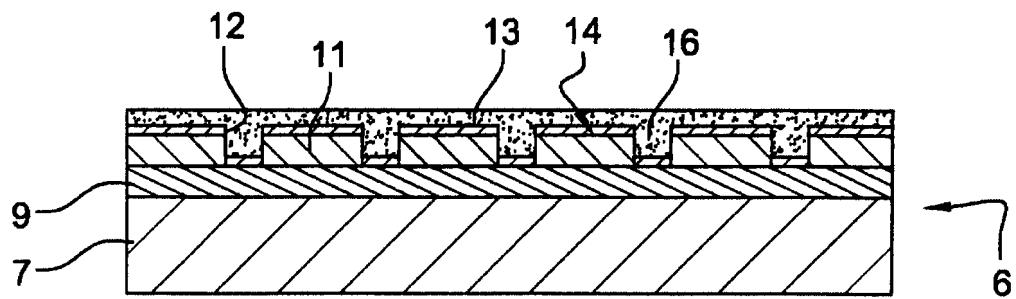
Использование: для производства микроносителей. Сущность изобретения заключается в том, что способ включает следующие шаги: получение пластины, имеющей структуру сэндвича, состоящего из нижнего слоя, верхнего слоя и изолирующего слоя, расположенного между упомянутым нижним и верхним слоями, стравливание верхнего слоя с целью разграничения боковых стенок тел

микроносителей, нанесение первого активного слоя как минимум на верхнюю поверхность тел, нанесение сплошного полимерного слоя поверх первого активного слоя, стравливание нижнего слоя и изолирующего слоя, удаление полимерного слоя для освобождения микроносителей. Технический результат: обеспечение возможности получения точной количественной информации. 2 н. и 10 з.п. ф-лы, 18 ил.

RU 2631526 C2

RU 2631526 C2

R U 2 6 3 1 5 2 6 C 2



ФИГ. 9

R U 2 6 3 1 5 2 6 C 2

RU 2631526 C2

RUSSIAN FEDERATION



(19) RU (11)

2 631 526<sup>(13)</sup> C2

(51) Int. Cl.  
B81C 1/00 (2006.01)

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2015101761, 22.07.2013

(24) Effective date for property rights:  
22.07.2013

Registration date:  
25.09.2017

Priority:

(30) Convention priority:  
24.07.2012 EP 12177718.9

(43) Application published: 10.08.2016 Bull. № 22

(45) Date of publication: 25.09.2017 Bull. № 27

(85) Commencement of national phase: 21.01.2015

(86) PCT application:  
EP 2013/065442 (22.07.2013)

(87) PCT publication:  
WO 2014/016262 (30.01.2014)

Mail address:  
105062, Moskva, ul. Pokrovka, d. 33, str. 1, Agentstvo  
"INTELS"

(72) Inventor(s):

TORNEJ Rafael (CH),  
DEMAJERRI Nikolas (CH),  
GAMPER Stefan (CH),  
RENAUD Filipp (CH)

(73) Proprietor(s):

MAJKARTIS EnVi (BE)

R U 2 6 3 1 5 2 6 C 2

(54) METHOD OF MANUFACTURING MICROCARRIERS

(57) Abstract:

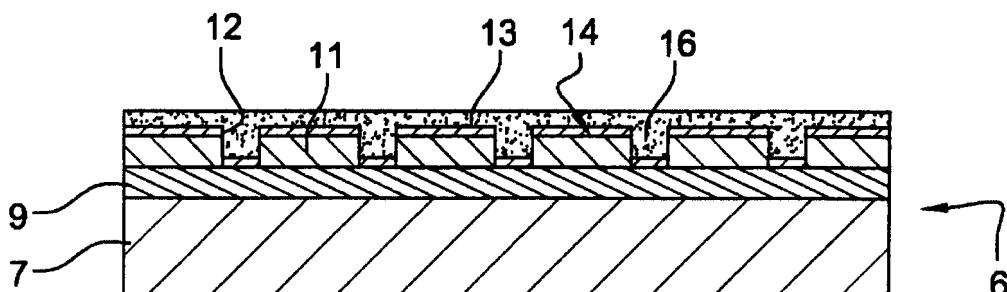
FIELD: measuring equipment.

SUBSTANCE: method includes the following steps: obtaining a plate having a sandwich structure consisting of a bottom layer, a top layer, and an insulating layer located between mentioned lower and upper layers, bleeding the top layer to distinguish the side walls of the microcarriers' bodies, applying the first active layer

at least on the upper surface of the bodies, applying a continuous polymer layer over the first active layer, bleeding the lower layer and the insulating layer, removing the polymer layer to release the microcarriers.

EFFECT: ensuring the possibility of obtaining accurate quantitative information.

12 cl, 18 dwg



ФИГ. 9

Изобретение относится к способу производства микроносителей и к микроносителям. Изобретение, в частности, касается микроносителей, пригодных для выполнения биологических и/или химических анализов для исследовательских и химических лабораторий.

5 В рамках объема настоящего изобретения микроноситель или микрочастица означает любой тип частиц, относящийся к любому типу носителей микроскопического размера, обычно самый большой размер составляет от 100 нм до 300 мкм, предпочтительно - от 1 до 200 мкм.

В соответствии с настоящим изобретением, термин «микроноситель» означает 10 микро частицу, функционализированную или адаптированную для функционализации, то есть содержащую или адаптированную для содержания одного или нескольких лигандов или функциональных единиц, связанных с поверхностью микроносителя или внедренных в его массу. В качестве лигандов к микроносителю может крепиться большой ряд химических или биологических молекул. Микроноситель может иметь 15 множество функций и/или лигандов. Для целей настоящего документа термин «функциональная единица» предназначен для определения любого вида, который модифицирует поверхность указанного микроносителя, закрепляется к ней, присоединяется к ней или является ковалентно или нековалентно связанным с поверхностью указанного микроносителя или внедряется в его массу. Эти функции 20 включают в себя все функции, обычно используемые в технологиях скрининга и диагностики с высокой пропускной способностью.

Создание новых лекарств или скрининг и секвенирование ДНК обычно предполагает 25 проведение анализов на очень большом количестве соединений или молекул. Эти анализы обычно включают в себя, например, скрининг библиотек химических веществ по исследуемым соединениям или конкретным целевым молекулам или проведение испытаний на рассматриваемое химическое или биологическое взаимодействие между молекулами. Эти анализы часто требуют проведения тысяч отдельных химических и/или биологических реакций.

Обработка большого количества отдельных реакций связана с возникновением 30 большого количества практических проблем. Наиболее значительной проблемой является, вероятно, необходимость маркирования и отслеживания каждой отдельной реакции.

Один из традиционных способов отслеживания идентичности реакций достигается 35 путем физического разделения каждой из реакций в титрационном микропланшете (микроматрице). Использование титрационных микропланшетов, однако, связано с рядом недостатков, например, в частности, с физическим ограничением размера используемых титрационных микропланшетов, и, как следствие, количества различных реакций, которые можно провести на микропланшетах.

В свете ограничения использования микроматриц в настоящее время их успешно 40 заменяют функционализированные кодированные микрочастицы для проведения химических и/или биологических реакций. Каждая функционализированная кодированная микрочастица снабжается кодом, который уникально идентифицирует конкретные лиганды, связанные с ее поверхностью. Использование таких функционально кодированных микрочастиц позволяет проводить произвольную 45 обработку, что означает, что тысячи уникально функционализированных кодированных микрочастиц можно смешать и подвергнуть анализу одновременно. Примеры функционализированных кодированных микрочастиц описаны в международной патентной заявке WO 00/63695 и изображены на фигуре 1.

В международной патентной заявке WO 2010/072011 описывается матрица, имеющая как минимум микрофлюидный канал, который служит реакционной камерой, в которую можно поместить множество функционализированных кодированных микрочастиц или микроносителей 1 (фигура 1). Микрофлюидный канал снабжен средствами останова, 5 выполняющими роль фильтров, которые позволяют раствору жидкости, содержащему химические и/или биологические реагенты, проходить через них, блокируя при этом микроносители 1 внутри. Геометрическая высота указанных микрофлюидных каналов и размеры указанных микроносителей 1 выбираются так, чтобы указанные микроносители 1 обычно организовывались в монослои внутри каждого из 10 микрофлюидных каналов, препятствуя наложению указанных микроносителей 1 друг на друга.

Эти функционализированные кодированные микроносители 1 демонстрируют благоприятную рассматриваемую реакцию между прикрепленными к ним лигандами и химическими и/или биологическими реагентами, проходящими через канал, коды 15 которых затем можно считать, что ведет к идентификации лиганда, который дает благоприятную реакцию.

Код может включать в себя четкий рисунок множества пересекающихся отверстий 2, а также он может включать метку асимметричной ориентации, такую, например, как L-образная метка 3 (как показано на фигуре 1) или треугольник. Эта метка 20 асимметричной ориентации позволяет дифференцировать верхнюю поверхность 4 и нижнюю поверхность 5 микроносителя 1.

Термин «микрофлюидный канал» означает закрытый канал, т.е. удлиненный проток для жидкостей с поперечным сечением микроскопического размера, т.е. с наименьшим размером поперечного сечения от ок. 1 до ок. 500 микрометров, предпочтительно - от 25 ок. 10 до ок. 200 микрометров. Микрофлюидный канал имеет продольное направление, не обязательно прямое, которое совпадает по направлению с направлением потока жидкостей в микрофлюидном канале, т.е., предпочтительно, в значительной степени в направлении, соответствующем вектору средней скорости жидкости при условии допущения о ламинарном режиме потока.

30 При использовании устройства матрицы, описанной в патентной заявке WO 2010/072011, обнаружение исследуемой реакции может основываться на непрерывном считывании показаний интенсивности флуоресценции каждого кодированного микроносителя 1, имеющегося в микрофлюидном канале, как изображено на фигуре 2. Другими словами, присутствие целевой молекулы в матрице инициирует заданный 35 флуоресцентный сигнал. Однако с обнаружением заданного флуоресцентного сигнала могут возникнуть большие сложности в силу наличия сильного флуоресцентного фона.

Известно, что покрытие микроносителей оптическим слоем повышает флуоресценцию, выделяемую во время анализа на поддающемся обнаружению уровне. Например, на 40 фигуре 2 изображена группа покрытых микроносителей 1, полученная по способу, описанному в документе WO 2011/044708, в которых оптический слой наносится на микроносители 1.

Однако результат биологического анализа, изображенный на фигуре 2, показывает различные структуры флуоресцентного сигнала, эмитируемого с микроносителями 1. В частности, некоторые микроносители 1a эмитируют однородный и поддающийся 45 обнаружению флуоресцентный сигнал, а другие микроносители 1b эмитируют частичный или неоднородный флуоресцентный сигнал, который в течение большей части времени имеет форму полумесяца (в дальнейшем это явление именуется «эффектом затенения»). Кроме того, некоторые микроносители не эмитируют какой-либо поддающейся

обнаружению флуоресценции, так как на их поверхности отсутствует оптический слой.

Такие дефекты затрудняют выделение точной количественной информации при проведении анализа.

Отсутствие или частичное нанесение оптического слоя на некоторых микроносителях

5 1b является следствием процесса, рассматриваемого в документе WO 2011/044708.

Действительно, при этом процессе невозможно избежать полного или частичного наложения между несколькими микроносителями 1 до и во время нанесения оптического слоя. Такое наложение изображено на фигуре 3, на которой область А верхней поверхности 4 микроносителя 1 покрыта оптическим слоем, а область В верхней 10 поверхности 4 указанного микроносителя 1, спрятанная другим микроносителем 1', не покрыта указанным оптическим слоем.

Далее, во время процесса, описанного в документе WO 2011/044708, несколько микроносителей могут переворачиваться перед покрытием, вследствие чего покрытой окажется не та поверхность.

15 Более того, невозможно отделить частично покрытые микроносители 1b или непокрытые микроносители от хорошо покрытых микроносителей 1a перед проведением флуоресцентного анализа. Действительно, наличие оптического слоя на микроносителе различается только при помощи флуоресцентного сигнала, эмитируемого при флуоресцентном анализе.

20 Целью настоящего изобретения является частичное или полное устранение указанных выше недостатков.

С этой целью в изобретении предлагается способ производства микроносителей, включающий в себя следующие шаги:

(a) получение пластины, имеющей структуру сэндвича, состоящей из нижнего слоя, 25 верхнего слоя и изолирующего слоя, расположенного между указанными верхним и нижним слоями,

(b) стравливание верхнего слоя с целью разграничения боковых стенок тел микроносителей,

(c) нанесение первого активного слоя, как минимум на верхнюю поверхность тел,

30 (d) нанесение сплошного полимерного слоя поверх первого активного слоя,

(e) стравливание нижнего слоя и изолирующего слоя,

(f) удаление полимерного слоя для освобождения микроносителей.

Таким образом, в способе, предлагаемом настоящим изобретением, нанесение первого активного слоя производится в то время, пока микроносители еще связаны с пластиной, 35 что необходимо для предотвращения явлений переворачивания или наложения, описанных выше. Первый активный слой наносится равномерно по всей верхней поверхности тел во избежание вышеупомянутого «эффекта затенения» при проведении анализа. Как следствие, обеспечивается сохранность данных для получения точной количественной информации относительно лигандов и целевых молекул, проходящих 40 через микроканал.

Микроносители также связаны друг с другом до их освобождения, в силу чего микроносители не диспергируются в чувствительных деталях оборудования, используемого для их приготовления, например в турбонасосах.

Как вариант, шаг (c) - нанесение первого активного слоя - осуществляется между 45 вышеупомянутыми шагами (a) и (b). В другом варианте последовательно осуществляются шаги (a)-(f).

В соответствии с одним из воплощений, шаг (e) осуществляется путем сначала селективного травления нижнего слоя с сохранением изолирующего слоя, например,

путем использования травильной ванны и путем повторного травления для стравливания изолирующего слоя, например, путем сухого травления.

Если нижний слой состоит из монокристаллического кремния, травильная ванна может представлять собой калий-гидроксидную ванну. Кроме того, если в состав изолирующего слоя входит диоксид кремния, сухое травление может осуществляться путем плазменного травления  $\text{CHF}_3$  (фотореформом) или плазменного травления  $\text{CF}_4$ .

Полимерный слой также можно удалить путем сухого травления. Например, если в состав полимерного слоя входит диараксилен, его можно травить кислородной плазмой.

Кроме того, на микроносителях можно выгравировать отличительную метку, например код; его можно нанести, например, между шагами (b) и (c).

Одна и та же отличительная метка может относиться к множеству микроносителей, например ко всем микроносителям, принадлежащим к одной партии.

Таким образом, во время анализа можно одновременно использовать различные типы микроносителей и смешивать их, при этом каждый тип будет иметь свою собственную отличительную метку и поддерживать один или несколько конкретных лигандов. В этом случае конкретная метка при проведении анализа позволяет идентифицировать тип каждого микроносителя и прикрепленный к нему лиганд.

Если отличительная метка гравируется перед нанесением первого активного слоя (шаг с), толщина указанного слоя и размер указанной отличительной метки выбираются так, чтобы отличительную метку можно было прочитать через первый активный слой.

Кроме того, в состав нижнего или верхнего слоя может входить монокристаллический кремний, в состав изолирующего слоя может входить диоксид кремния, а в состав полимерного слоя - диараксилен. В соответствии с другим воплощением слой полимера представляет собой слой клея, связывающего подложку с пластиной.

Травление слоев монокристаллического кремния можно легко и эффективно осуществить при помощи известных способов травления, например, травлением в калий-гидроксидной ванне.

Изолирующий слой, в состав которого входит диоксид кремния, может защищать микроносители при травлении нижнего слоя при помощи травильной ванны.

Слой диараксилена отличается большой устойчивостью, за счет чего он способен удерживать микроносители до их освобождения.

Использование подложки, связанной с пластиной, обеспечивает улучшенные механические характеристики, что облегчает обработку пластины во время изготовления микроносителей.

В соответствии с одним из воплощений изобретения второй активный слой наносится как минимум на нижнюю поверхность тел микроносителей, например, между шагами (e) и (f).

Микроносители, изготавливаемые таким способом, состоят из двух активных слоев, соответственно, из первого активного слоя на верхней поверхности тела и второго активного слоя на нижней поверхности тела.

В состав первого активного слоя и/или второго активного слоя может входить материал, обладающий оптическими или магнитными свойствами, поликристаллический кремний и/или политетрафторэтилен, или металлический слой, обладающий высоким коэффициентом отражения.

При использовании материала, обладающего оптическими свойствами, значительно повышается флуоресцентный сигнал, эмитируемый с соответствующей поверхности микроносителя. Материал, обладающий магнитными свойствами, может использоваться

для, например, ориентации микроносителя в нужном направлении. Использование поликристаллического кремния повышает пористость соответствующей поверхности тела с целью повышения эффективной площади покрытия, наносимого на указанную поверхность. Наконец, политетрафторэтилен можно использовать для снижения трения

5 между микроносителем и поверхностью, на которой он находится во время анализа.

В состав первого активного слоя и/или второго активного слоя может входить оксид или нитрид, например диоксид кремния, или слой металла.

Диоксид кремния можно использовать для сглаживания соответствующей поверхности тела и повышения скольжения неспецифических молекул по указанной

10 поверхности. Специфический сигнал, эмитируемый молекулами, связанными с указанной поверхностью, таким образом, усиливается, а помехи, эмитируемые неспецифическими молекулами, значительно снижаются.

Изобретение также относится к микроносителям, получаемым по способу, соответствующему указанному изобретению; в состав микроносителя входит тело,

15 состоящее из верхней поверхности, покрытой первым активным слоем, и нижней поверхности, покрытой вторым активным слоем.

Когда верхняя и нижняя поверхности покрыты активным слоем, в состав которого входит материал, обладающий оптическими свойствами (оптический слой), можно провести достоверный анализ при любой ориентации микроносителя.

20 Изобретение можно лучше понять, а другие детали, свойства и преимущества изобретения станут ясны после прочтения следующего описания, выполненного путем неограничивающих примеров со ссылкой на сопроводительные чертежи, на которых:

на фигуре 1 изображен вид микроносителей в перспективе сверху в соответствии с достигнутым уровнем техники;

25 на фигуре 2 изображены флуоресцентные излучения на микроносителях в соответствии с достигнутым уровнем техники, наблюдаемые при анализе;

на фигуре 3 изображен вид партии микроносителей в перспективе сверху до нанесения оптического слоя при изготовлении способом в соответствии с достигнутым уровнем техники;

30 на фигурах 4-12 изображены последовательные шаги способа изготовления микроносителей в соответствии с одним из воплощений изобретения;

на фигурах 13-17 изображено еще одно воплощение изобретения;

на фигуре 18 изображены флуоресцентные излучения на микроносителях в соответствии с изобретением, наблюдаемые при анализе.

35 Способ изготовителя микроносителей в соответствии с изобретением описан со ссылками на фигуры 6-17. Этот способ включает в себя следующие последовательные шаги.

Первый шаг, изображенный на фигуре 4, заключается в получении пластины 6, имеющей структуру сэндвича, состоящего из нижнего слоя 7, верхнего слоя 8 и

40 изолирующего слоя 9, расположенного между указанным нижним и верхним слоями 7, 8.

Например, указанная пластина 6 представляет собой пластину со структурой КНД (кремний на диэлектрике), имеющую диаметр 100 мм, нижний слой 7 толщиной 380 мкм, изолирующий слой 9 толщиной 1 мкм и верхний слой 8 толщиной 10 мкм. В состав

45 верхнего слоя 8 и нижнего слоя 7 входит монокристаллический кремний, а в состав изолирующего слоя 9 - диоксид кремния.

Второй шаг, изображенный на фигуре 5, заключается в нанесении слоя фоторезиста 10 поверх слоя 8. С целью разграничения расположенных на поверхности

5 микроносителей слой фоторезиста 10 освещается ультрафиолетовым излучением через светофильтр (на изображении отсутствует), например через хромированный/стеклянный фильтр. Открытые участки фильтра, соответствующие строению микроносителя, обеспечивают пространственно-избирательное УФ освещение. Фотоэлектрические

10 возбудители вступают в реакцию и начинают полимеризацию слоя резиста 10, при которой резист подвергся пространственно-избирательному освещению. Затем для удаления не подвергшегося воздействию освещения и не вступившего в реакцию резиста используются специфические химические реакции. Оставшаяся структура отвердевшего резиста определяет внешнюю форму микроносителей.

15 В предпочтительном воплощении изобретения, изложенном в настоящем документе, оставшаяся часть отвердевшего резиста дополнительно определяет код, например двоичный код, состоящий из ряда сквозных отверстий в телах 11 микроносителей, аналогично отверстиям 2 и 3, изображенным на фигуре 1.

Фоторезист 10 может быть положительным или отрицательным. Одним из примеров

20 положительного резиста является материал MICROPOSIT S 1805 PHOTO RESIST, поставляемый компанией «Шипли Компани», а одним из примеров отрицательного фоторезиста является материал GM1040 SU-8 PHOTO EPOXY, поставляемый компанией «Джерстлtek Инжинииринг Солюшонз». Слой фоторезиста 10 можно наносить на пластины 6 при помощи различных способов, известных в достигнутом уровне техники,

25 например путем нанесения напылением или, предпочтительнее, способом центрифугирования.

Третий шаг, изображенный на фигуре 6, заключается в стравливании верхнего слоя 8 с целью разграничения боковых стенок 12 тел 11 микроносителей. Это можно осуществить путем глубинного реактивного кремниевого травления (DRIE), например 30 разработанного компанией «Бош» процесса глубинного реактивного кремниевого травления, основанного на технологии DRIE (глубинного кремниевого ионного травления).

Процесс «Бош» раскрывается в документе “J.K. Bhardwaj, H. Ashraf, Proc. SPIE, 2639, 224 (1995); A. Schilp, M. Hausner, M. Puech, N. Launay, H. Karagoezoglu, F. Laermer, Advanced etch tool for high etch rate deep reactive ion etching in silicon micromachining production environment, Proceeding MST 2001, Dusseldorf”. Процесс глубинного реактивного ионного травления раскрывается в документе “Madou MJ, 2002, Fundamentals of microfabrication, CRC Press”.

Четвертый шаг, изображенный на фигуре 7, состоит в удалении фоторезиста 10 в

35 жидкостной химической ванне. Таким образом, остается слой чистого монокристаллического кремния, определяющий ряд тел 11, организованных в соответствии с конструкцией микроносителей.

Пятый шаг, изображенный на фигуре 8, состоит в нанесении первого активного слоя 13 на верхнюю поверхность 14 тел 11. Во время нанесения первый активный слой 13 40 также наносится в нижнюю часть углублений 15, образующихся между боковыми стенками 12.

Первый активный слой 13 представляет собой слой, обладающий оптическими свойствами, например оксидный слой, в состав которого входит диоксид кремния. Толщина первого слоя 13 составляет примерно 90-120 нм при работе с красными 45 флуоресцентными метками. Также можно использовать любой другой диэлектрик, например нитрид или слой металла.

Можно использовать различные способы нанесения оксида, например PECVD (плазмохимическое осаждение из паровой фазы), испарение или металлизацию

напылением (Madou MJ, 2002, Fundamentals of microfabrication, CRC Press). Для нанесения диоксида кремния по способу PECVD можно использовать смесь газов, например дихлорсилана или силана и кислорода, обычно под давлением от нескольких сотен мТорр до нескольких Торр. Нанесение диоксида кремния производится при температуре в диапазоне от комнатной температуры до 300°C.

Шестой шаг, изображенный на фигуре 9, заключается в нанесении слоя полимера 16 поверх первого активного слоя 13, например дипараксилена, изготовленного из материала, известного под обозначениями ProTEK, AZ PC 520D или SX AR-PC 5000/40, поставляемых, соответственно, компаниями «Брюэр Сайенс», «Майкрокемикал» и «Олрезист». Толщина указанного полимерного слоя 16 может быть от 1 до 100 мкм. Этот полимерный слой наносится, например, путем химического осаждения из паровой фазы (CVD) или путем центрифугирования.

Седьмой шаг, изображенный на фигуре 10, состоит в стравливании нижнего слоя 7 и изолирующего слоя 9.

Стравливание нижнего слоя 7 осуществляется путем шлифования основной части нижнего слоя 7 и травлении оставшейся части нижнего слоя 7 путем травления в ванне, заключающемся в погружении пластины, изготовленной по способу КНД, в калий-гидроксидную ванну. Затем изолирующий слой 9 полностью стравливается путем плазменного травления  $\text{CHF}_3$  (фтороформом) или путем плазменного травления  $\text{CF}_4$ .

При этом осуществляется управление скоростью травления изолирующего слоя. В целях получения двухслойных микроносителей в способ, соответствующий первому воплощению изобретения, включен восьмой шаг, изображенный на фигуре 11; этот шаг состоит в нанесении второго активного слоя 17 на нижнюю поверхность 18 тел 11 микроносителей. Второй активный слой 17 также обладает оптическими свойствами, например, он может представлять собой слой, в состав которого входит диоксид кремния. Толщина второго слоя 17 составляет около 90-120 нм при работе с красными флуоресцентными метками. Также можно использовать любой другой диэлектрик, например, нитрид или слой металла.

Второй активный слой 17 может наноситься тем же способом, который используется для нанесения первого активного слоя 13.

Затем с целью разделения и освобождения двухслойных микроносителей 19 производится стравливание полимерного слоя 16, как показано на фигуре 12а, например, кислородной плазмой. При этом осуществляется управление скоростью травления.

Микроносители 19, получаемые таким способом, состоят из тела 11, имеющего первый активный слой 13 на верхней поверхности 14 и второй активный слой 17 на нижней поверхности 18. Каждый активный слой 13, 17 равномерно и полностью покрывает соответствующую поверхность 14, 18 тела 11.

На фигурах 13-17 изображено еще одно воплощение способа в соответствии с настоящим изобретением.

В данном воплощении пластину 6, изображенную на фигуре 8, получают за те же пять шагов.

Затем, при выполнении шестого шага (фигура 13), подложка 21 покрывается слоем клея 22. Подложка 21 представляет собой, например, пластину, изготовленную из кремния, кварца или стекла и имеющую толщину около 300-700 мкм. Клеем может служить, например, смола WaferBOND HT10.10 или CR200, поставляемая компанией «Брюэр Сайенс». Толщина слоя клея 22 составляет около 10-100 мкм, предпочтительно - около 50 мкм.

В седьмом шаге, изображенном на фигуре 14, подложка 21 связывается с пластиной

6 при помощи слоя клея 22, который контактирует с первым активным слоем 13 и прилипает к нему. Такое связывание предпочтительно осуществлять путем прессования и нагрева пластины 6, подложки 21 и слоя клея 22.

В одном из вариантов слой клея 22 наносится непосредственно на первый активный

5 слой 13, а подложка 21 наносится на слой клея 22.

Восьмой шаг, изображенный на фигуре 15, заключается в стравливании нижнего слоя 7 и изолирующего слоя 9. Этот шаг травления аналогичен шагу, иллюстрируемому фигурой 10.

Нанесение второго активного слоя 17 может осуществляться на нижнюю поверхность

10 тел 11 микроносителей (фигура 16).

Затем подложка 21 отделяется от пластины 6 путем удаления слоя клея 22. Такое удаление может осуществляться путем нагрева слоя клея 22 или путем использования растворителя. Таким образом производится разделение и освобождение двухслойных микроносителей 19, как показано на фигуре 17.

15 Подложка 21 обеспечивает улучшение механических характеристик для облегчения обработки пластины 6 при производстве микроносителей.

Как показано на фигуре 18, при проведении анализа функционализированная поверхность каждого микроносителя 19 будет излучать однородный флуоресцентный сигнал, что позволит избежать вышеупомянутого «эффекта затенения». Таким образом, 20 использование таких микроносителей 19 позволяет получить при анализе точную количественную информацию.

Применение двухслойных микроносителей 19 полезно в тех случаях, когда трудно управлять ориентацией микроносителей во время анализа.

Напротив, если ориентацией микроносителя можно управлять, активным слоем 13 25 можно покрывать только верхнюю поверхность 14 тел 11.

С этой целью еще в одном воплощении способа в соответствии с изобретением предлагается травить полимерный слой непосредственно после седьмого шага, изображенного на фигуре 10 или удалить слой клея 22 (с целью отделения подложки 21 от пластины 6) непосредственно в шаге, изображенном на фигуре 15.

30 В этом воплощении, как показано на фигуре 12b, освобождаются только те микроносители 20, у которых есть всего один активный слой 13. Это воплощение предполагает менее сложный способ, позволяющий использовать менее дорогостоящие микроносители 20.

В каждом из воплощений освобожденные микроносители 19, 20 могут храниться в 35 сусpenзии в жидкостных контейнерах или емкостях до проведения анализа. Желательно, чтобы каждый микроноситель 19, 20 имел форму диска диаметром от 1 до 200 мкм, например 40 мкм.

Другие воплощения изобретения очевидны для специалистов отрасли исходя из рассмотрения характеристик и практики изобретения, раскрываемого в настоящем 40 документе. Предполагается, что рассматриваемые характеристики и пример носят примерный характер, а истинный масштаб и дух изобретения иллюстрируются следующими пунктами формулы изобретения.

#### (57) Формула изобретения

45 1. Способ изготовления микроносителей (19, 20), включающий в себя следующие шаги:

(а) получение пластины (6), имеющей структуру сэндвича, состоящего из нижнего слоя (7), верхнего слоя (8) и изолирующего слоя (9), расположенного между упомянутым

нижним и верхним слоями (7, 8),

(b) стравливание верхнего слоя (8) с целью разграничения боковых стенок (12) тел (11) микроносителей (19, 20),

(c) нанесение первого активного слоя (13) как минимум на верхнюю поверхность

5 (14) тел (11),

(d) нанесение сплошного полимерного слоя (16, 22) поверх первого активного слоя (13),

(e) стравливание нижнего слоя (7) и изолирующего слоя (9),

(f) удаление полимерного слоя (16, 22) для освобождения микроносителей (19, 20).

10 2. Способ по п. 1, в котором шаг (e) осуществляется путем первого травления для селективного травления нижнего слоя (7), например, путем использования травильной ванны, и путем второго травления для селективного травления изолирующего слоя (9), например, путем сухого травления.

3. Способ по п. 1, в котором полимерный слой (16) удаляется путем сухого травления.

15 4. Способ по п. 1, в котором дополнительно, например, между шагами (b) и (c) гравируются на микроносителях (19, 20) отличительная метка, например код (2, 3).

5. Способ по п. 1, в котором в состав нижнего слоя (7) и/или верхнего слоя (8) входит монокристаллический кремний.

6. Способ по п. 1, в котором в состав изолирующего слоя (9) входит диоксид кремния.

20 7. Способ по п. 1, в котором в состав полимерного слоя (16) входит дипараксилен.

8. Способ по п. 1, в котором полимерный слой представляет собой слой клея (22), который связывает подложку (21), например пластину, изготавливаемую из кремния, кварца или стекла, с пластиной (6).

9. Способ по п. 1, в котором дополнительно, например, между шагами (e) и (f)

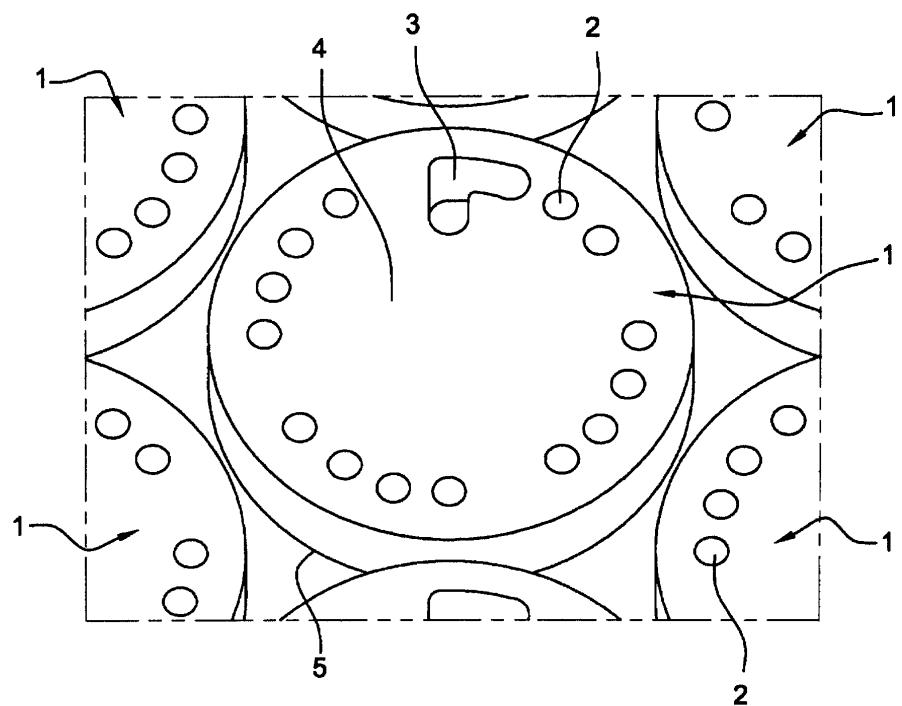
25 наносится второй активный слой (17) как минимум на нижнюю поверхность (18) тел (11) микроносителей (19).

10. Способ по пп. 1 или 9, в котором в состав первого активного слоя (13) и/или второго активного слоя (17) входит материал, обладающий оптическими или магнитными свойствами, поликристаллический кремний и/или политетрафторэтилен

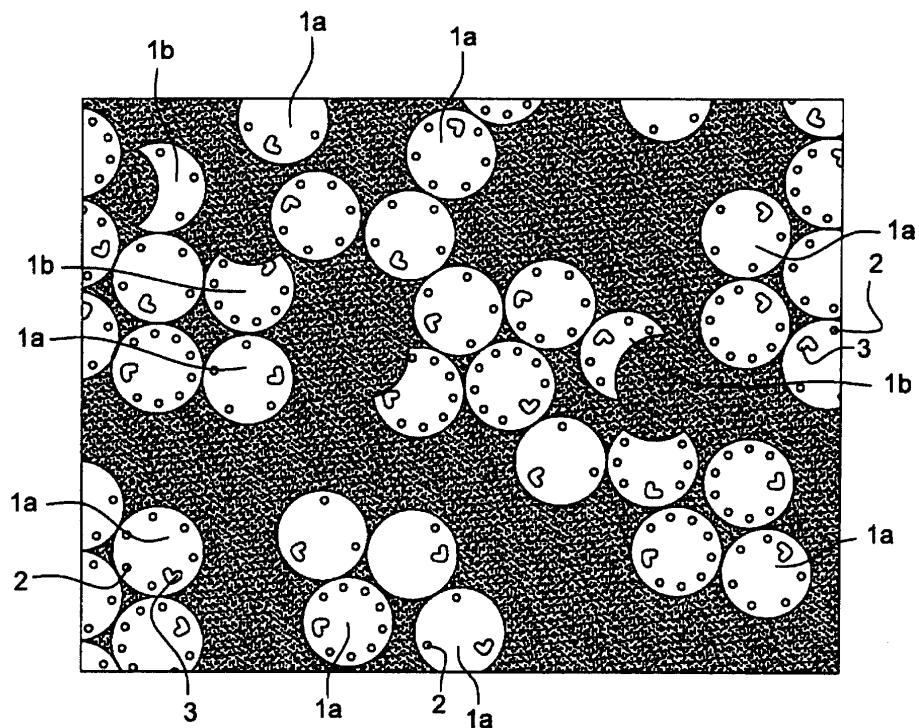
30 или слой металла с высоким коэффициентом отражения.

11. Способ по пп. 1 или 9, в котором в состав первого активного слоя (13) и/или второго активного слоя (17) входит оксид или нитрид, например диоксид кремния, или слой металла.

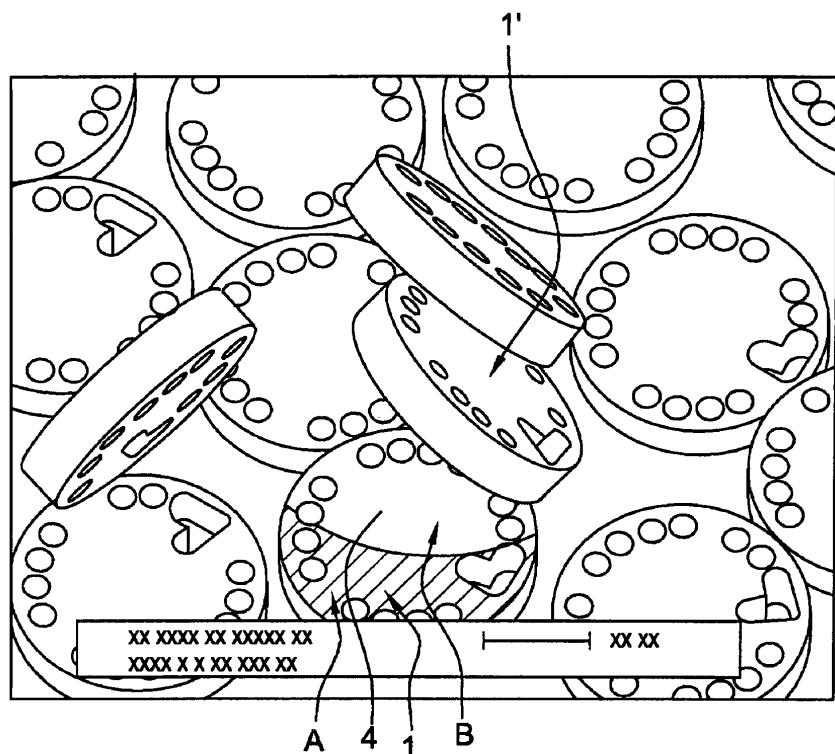
12. Микроноситель (19), изготавливаемый способом по п. 9, включающий в себя тело (11), имеющее верхнюю поверхность (14), покрытую первым активным слоем (13), и нижнюю поверхность (18), покрытую вторым активным слоем (17).



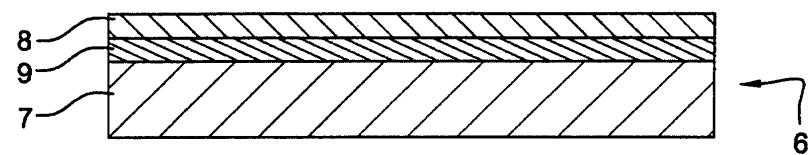
ФИГ. 1



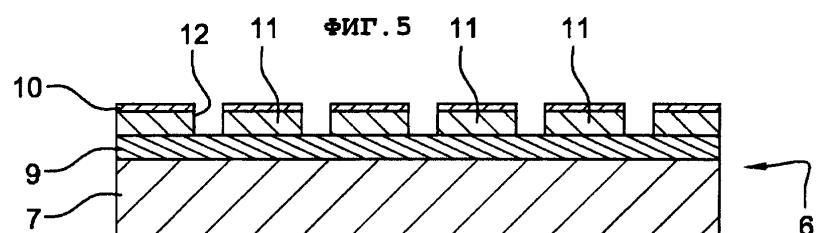
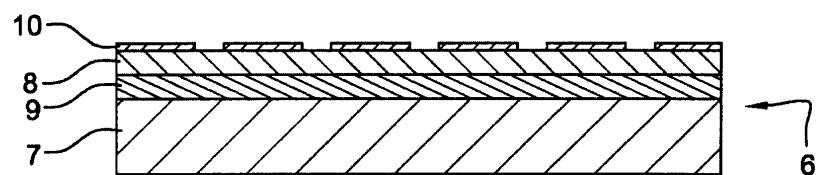
ФИГ. 2



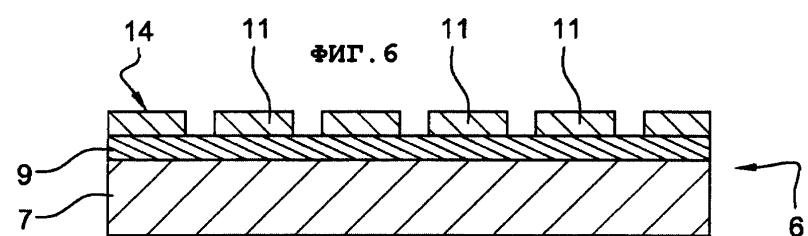
ФИГ. 3



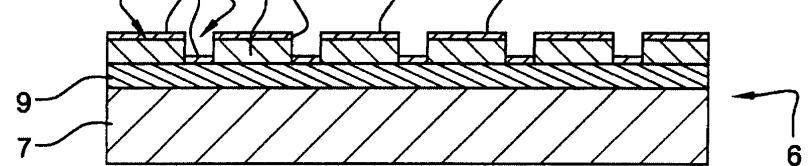
ФИГ. 4



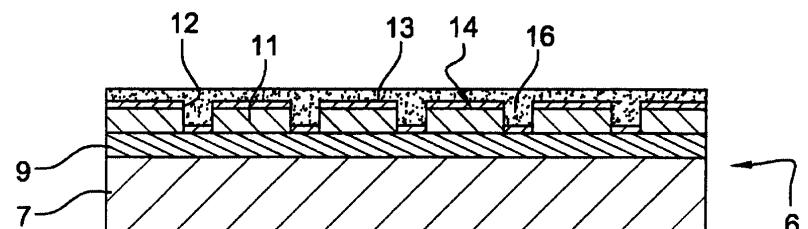
ФИГ. 6



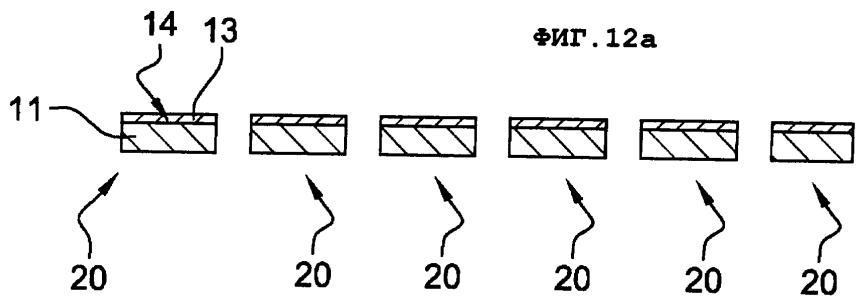
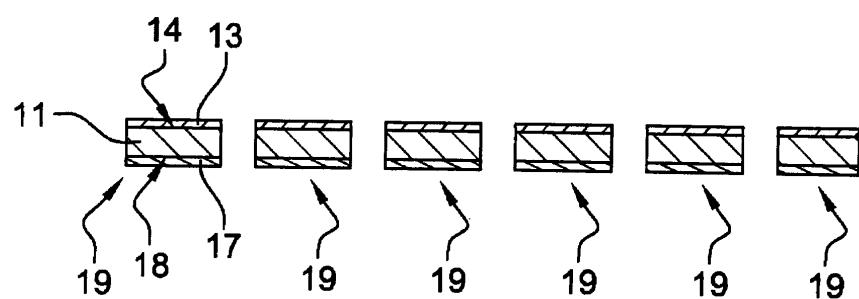
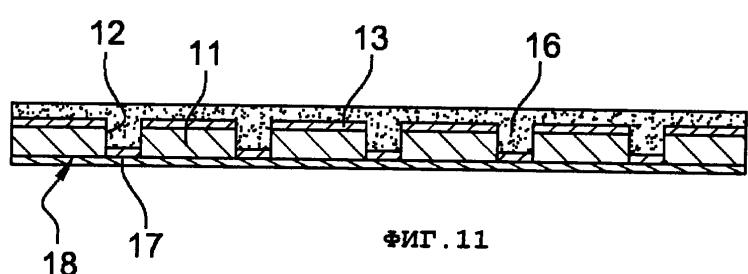
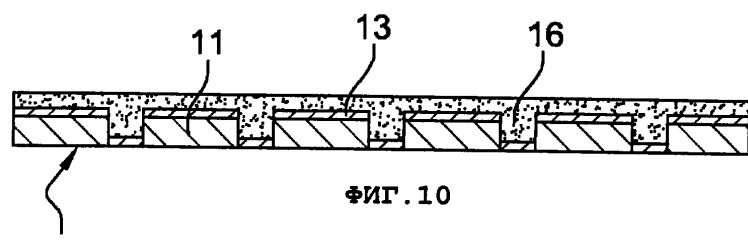
ФИГ. 7



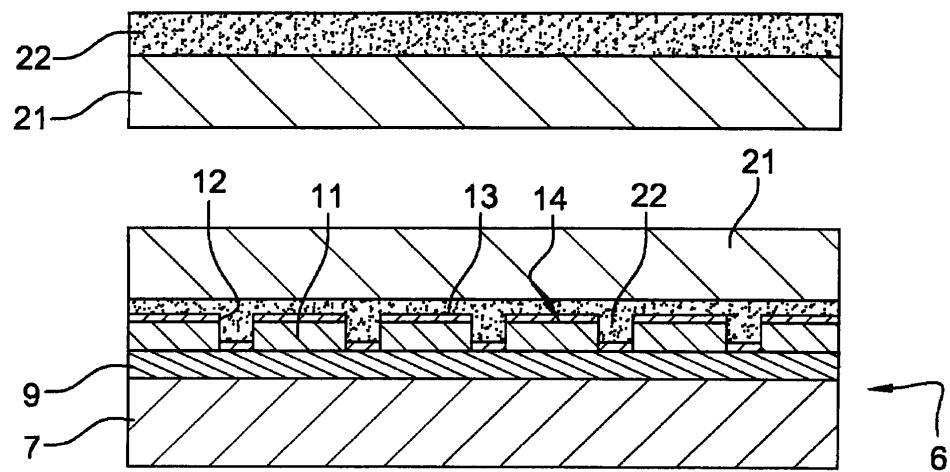
ФИГ. 8



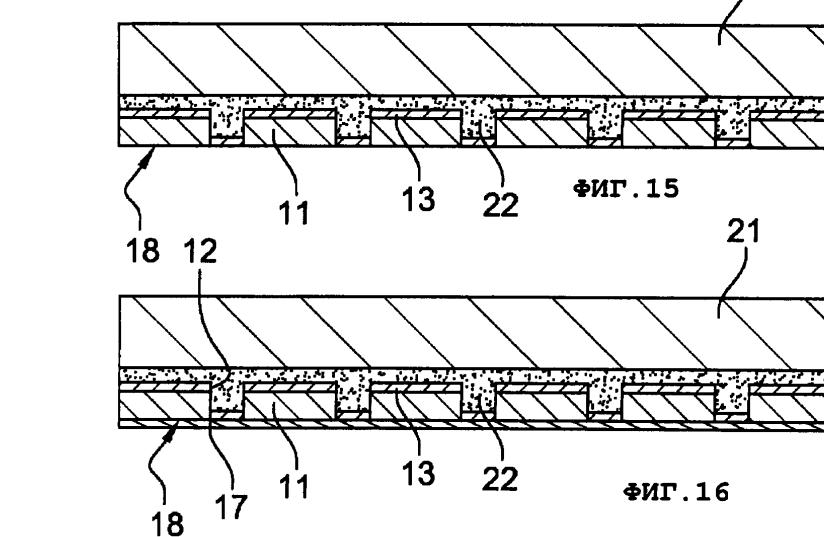
ФИГ. 9



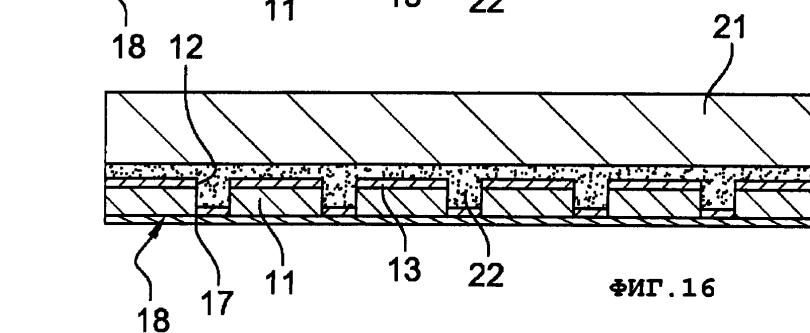
ФИГ. 13



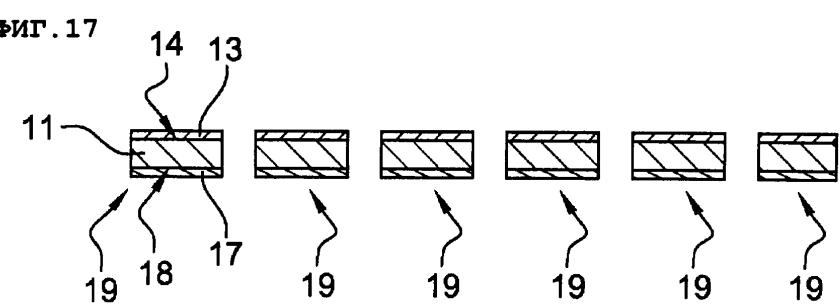
ФИГ. 14



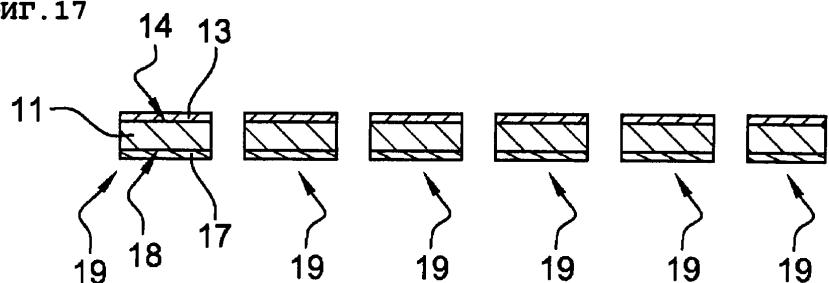
ФИГ. 15

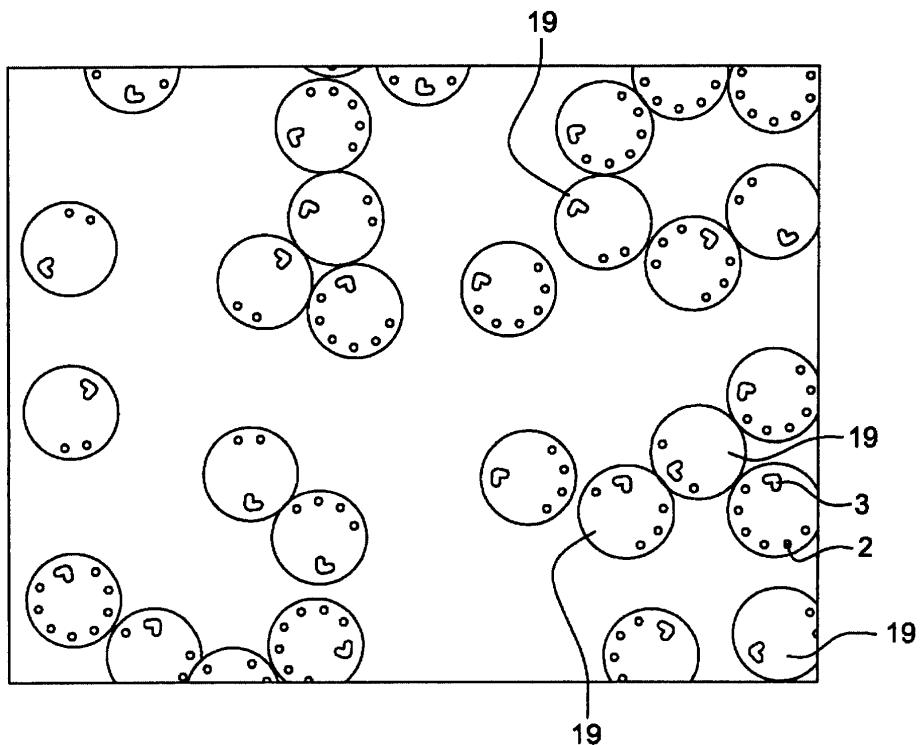


ФИГ. 16



ФИГ. 17





ФИГ. 18