



등록특허 10-2472061



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년11월29일
(11) 등록번호 10-2472061
(24) 등록일자 2022년11월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) *C12Q 1/68* (2018.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 21/6408 (2013.01)
C12Q 1/6874 (2018.05)
- (21) 출원번호 10-2017-7006555
- (22) 출원일자(국제) 2015년08월07일
심사청구일자 2020년08월07일
- (85) 번역문제출일자 2017년03월08일
- (65) 공개번호 10-2017-0041848
- (43) 공개일자 2017년04월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/044378
- (87) 국제공개번호 WO 2016/023010
국제공개일자 2016년02월11일

(30) 우선권주장
62/035,242 2014년08월08일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌
JP2007248063 A*
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 36 항

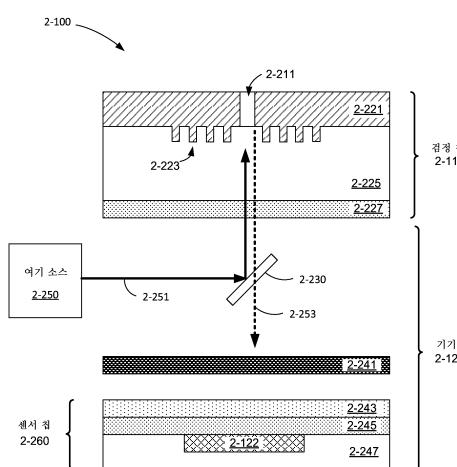
심사관 : 권준형

(54) 발명의 명칭 분자들을 프로빙, 검출 및 분석하기 위한 광학계 및 검정 칩

(57) 요약

단일 분자를 분석하고 해산 서열 분석을 수행하기 위한 장치 및 방법. 이 장치는, 여기될 때 방출 에너지를 방출하는 샘플을 수용하도록 구성된 샘플 우물들을 갖는 다수의 픽셀을 포함하는 검정 칩; 방출 에너지를 특정 방향으로 유도하기 위한 적어도 하나의 엘리먼트; 및 방출 에너지가 샘플 우물로부터 센서 쪽으로 이동하면서 따르는 광 경로를 포함할 수 있다. 이 장치는 또한 검정 칩과 인터페이스하는 기기를 포함한다. 이 기기는 각각의 샘플 우물 내의 샘플을 여기시키기 위한 여기 광원; 샘플 우물에 대응하는 복수의 센서를 포함한다. 각각의 센서는 각각의 샘플 우물 내의 샘플로부터의 방출 에너지를 검출할 수 있다. 이 기기는 각각의 샘플 우물로부터의 방출 에너지를 복수의 센서 중의 각각의 센서 쪽으로 유도하는 적어도 하나의 광학 엘리먼트를 포함한다.

대표도 - 도2c



(52) CPC특허분류

G01N 21/6428 (2013.01)
G01N 21/6452 (2013.01)
G01N 21/648 (2013.01)
G01N 22/6419 (2013.01)
G01N 22/6421 (2013.01)
G01N 22/6439 (2013.01)
G01N 22/01/0446 (2013.01)
G01N 22/01/062 (2013.01)

(72) 발명자

시클러, 제이슨, 더블유.

미국 06443 코네티컷주 매디슨 하이 필드 레인 10
가파스, 브레트, 제이.

미국 06437 코네티컷주 길퍼드 너트 플레인스 로드
164

래키, 제레미

미국 06437 코네티컷주 길퍼드 노턴타운 로드 636

슈미드, 제라드

미국 06437 코네티컷주 길퍼드 와일드로즈 애비뉴
140

글렌, 폴, 이.

미국 02482 매사추세츠주 웰즐리 파인우드 로드 22
웨스트, 로렌스, 씨.

미국 95120 캘리포니아주 산 호세 블레이우드 코트
774

시프리아니, 벤자민

미국 06405 코네티컷주 브랜퍼드 터틀 베이 드라이
브 176

파이프, 키스, 지.

미국 94306 캘리포니아주 팔로 알토 마타데로 애비
뉴 635

(56) 선행기술조사문현

JP2008520975 A*
US06825921 B1*
WO2005073407 A1*
JP2003515163 A
KR1020060024368 A
KR1020090060423 A
KR1020140067165 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문현

명세서

청구범위

청구항 1

복수의 샘플 우물을 포함하는 검정 칩(assay chip)과 인터페이스하도록 구성된 기기로서, 상기 복수의 샘플 우물 중의 각각의 샘플 우물은 샘플을 수용하도록 구성되고, 상기 기기는:

상기 샘플을 여기시키는 여기 에너지의 펄스들을 방출하도록 구성된 적어도 하나의 펄스 여기 광원;

복수의 센서 - 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 복수의 샘플 우물 중의 샘플 우물에 대응하고 제각각의 샘플 우물 내의 상기 샘플로부터의 방출 에너지를 수용하도록 위치되며, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 샘플을 여기 에너지의 복수의 펄스들로 조명하는 것(illuminating)에 응답하여 상기 샘플로부터 방출된 발광의 수용된 광자들에 의해 생성된 전하 캐리어들을 적어도 2개의 빈들 내에 수집함으로써 적어도 하나의 신호를 생성하도록 구성됨 -; 및

상기 복수의 샘플 우물 중의 각각의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 중의 제각각의 센서 쪽으로 유도하도록 구성된 적어도 하나의 광학 엘리먼트

를 포함하는, 기기.

청구항 2

제1항에 있어서,

개구를 갖는 광학 하우징; 및

상기 검정 칩이 상기 기기와 인터페이스할 때 상기 검정 칩을 상기 개구와 중첩하도록 상기 광학 하우징 외부에 기계적으로 위치시키도록 구성된 적어도 하나의 정렬 컴포넌트

를 더 포함하는 기기.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 적어도 하나의 펄스 여기 광원은 상기 광학 하우징의 상기 개구를 통해 여기 에너지를 방출하도록 구성되는 기기.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 적어도 하나의 정렬 컴포넌트는 상기 개구 주위에 위치된 복수의 정렬 컴포넌트를 포함하는 기기.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 적어도 하나의 정렬 컴포넌트는 적어도 하나의 자기 컴포넌트, 적어도 하나의 스프링-로드형 컴포넌트, 및 /또는 적어도 하나의 공압형 컴포넌트를 포함하는 기기.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 적어도 하나의 펄스 여기 광원으로부터의 여기 광을 상기 검정 칩 쪽으로 반사하고 상기 복수의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 쪽으로 투과하도록 구성된 다색성 미러를 추가로 포함하는, 기기.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 적어도 하나의 광학 엘리먼트는 릴레이 렌즈를 포함하는, 기기.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 적어도 하나의 펠스 여기 광원은 복수의 광원을 포함하고, 상기 복수의 광원 중의 각각의 광원은 복수의 파장 중 하나 이상의 파장에서 여기 광을 방출하는, 기기.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 복수의 광원 각각으로부터 방출된 광을 공간적으로 중첩시키기 위한 파장 결합기를 추가로 포함하는, 기기.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 방출 에너지를 투과하고 상기 적어도 하나의 펠스 여기 광원으로부터의 여기 광을 흡수 및/또는 반사하도록 구성된 적어도 하나의 스펙트럼 필터를 추가로 포함하는, 기기.

청구항 11

제1항에 있어서,

제1 파장의 방출 에너지를 제2 파장의 방출 에너지로부터 공간적으로 분리하기 위한 적어도 하나의 스펙트럼 소팅 엘리먼트를 추가로 포함하는, 기기.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 적어도 하나의 스펙트럼 소팅 엘리먼트는 회절 광학 엘리먼트를 포함하는, 기기.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 회절 광학 엘리먼트는 상기 방출 에너지를 채색적으로 확산시키고 상기 방출 에너지를 집중시키는, 기기.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 회절 광학 엘리먼트는 오프셋 프레넬 렌즈를 포함하는, 기기.

청구항 15

제11항에 있어서,

상기 적어도 하나의 스펙트럼 소팅 엘리먼트는 광 필터링 엘리먼트인, 기기.

청구항 16

제1항에 있어서,

(i) 상기 복수의 샘플 우물로 여기 에너지를 유도하고, (ii) 상기 복수의 샘플 우물과 연관된 상기 복수의 센서로부터의 신호들을 검출하고, (iii) 상기 신호들의 시간 분포를 이용하여 상기 샘플 또는 그의 서브 유닛을 식

별하도록 프로그램되는 제어 시스템을 추가로 포함하는, 기기.

청구항 17

장치로서,

복수의 펨셀을 포함하는 검정 칩; 및

상기 검정 칩과 인터페이스하도록 구성된 기기를 포함하고,

상기 복수의 펨셀 각각은:

여기될 때 방출 에너지의 펨스들을 방출하는 샘플을 수용하도록 구성된 샘플 우물;

복수의 샘플 우물 중 하나로부터의 상기 방출 에너지를 특정 방향으로 유도하기 위한 적어도 하나의 엘리먼트 - 상기 적어도 하나의 엘리먼트는 굴절 엘리먼트, 회절 엘리먼트, 플라즈몬 엘리먼트, 및 공진기로 이루어지는 그룹으로부터 선택됨 -; 및

상기 방출 에너지가 상기 샘플 우물로부터 센서 쪽으로 이동하면서 따르는 광 경로를 포함하고;

상기 기기는:

상기 샘플을 여기시키는 여기 에너지를 방출하도록 구성된 적어도 하나의 펨스 여기 광원;

복수의 센서 - 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 제각각의 샘플 우물에 대응하고 상기 제각각의 샘플 우물 내의 상기 샘플로부터의 방출 에너지를 수용하도록 위치하며, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 샘플을 여기 에너지의 복수의 펨스들로 조명하는 것에 응답하여 상기 샘플로부터 방출된 발광의 수용된 광자들에 의해 생성된 전하 캐리어들을 적어도 2개의 빈들 내에 수집함으로써 적어도 하나의 신호를 생성하도록 구성됨 -; 및

각각의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 중의 제각각의 센서 쪽으로 유도하도록 구성된 적어도 하나의 광학 엘리먼트

를 포함하는, 장치.

청구항 18

제17항에 있어서,

개구를 갖는 광학 하우징; 및

상기 검정 칩이 상기 기기와 인터페이스할 때 상기 검정 칩을 상기 개구와 중첩하도록 상기 광학 하우징 외부에 기계적으로 위치시키도록 구성된 적어도 하나의 정렬 컴포넌트

를 더 포함하는 장치.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 검정 칩은 상기 기기에 연결되고 상기 기기로부터 제거되도록 구성되는, 장치.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 검정 칩이 상기 기기에 연결될 때, 상기 복수의 샘플 우물 중의 샘플 우물과 상기 복수의 센서 중의 대응하는 센서 사이의 광학 거리는 30cm 미만인, 장치.

청구항 21

제17항에 있어서,

상기 샘플은 복수의 파장 대역 중 하나의 파장 대역 내에서 상기 방출 에너지를 방출하는 발광성 태그를 포함하고; 그리고

상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 복수의 과장 대역 각각에서 상기 방출 에너지를 검출하도록 구성된 서브-센서를 포함하는, 장치.

청구항 22

제17항에 있어서,

상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 적어도 2개의 서브-센서를 포함하는, 장치.

청구항 23

제22항에 있어서,

상기 기기는 제1 과장의 방출 에너지를 상기 적어도 2개의 서브-센서 중 제1 서브-센서 쪽으로 유도하고 제2 과장의 방출 에너지를 상기 적어도 2개의 서브-센서 중 제2 서브-센서 쪽으로 유도하는 적어도 하나의 과장 의존 엘리먼트를 추가로 포함하는, 장치.

청구항 24

제23항에 있어서,

상기 적어도 하나의 과장 의존 엘리먼트는 회절 광학 엘리먼트 및/또는 스펙트럼 필터인, 장치.

청구항 25

제17항에 있어서, 각각의 샘플은 또 다른 샘플의 적어도 하나의 다른 발광성 태그의 수명과 상이한 수명을 갖는 발광성 태그를 포함하는, 장치.

청구항 26

제17항에 있어서,

제1 샘플과 관련된 제1 발광성 태그는 제1 과장의 광에 의해 여기되지만 제2 과장의 광에 의해서는 여기되지 않고;

제2 샘플과 관련된 제2 발광성 태그는 제2 과장의 광에 의해 여기되지만 제1 과장의 광에 의해서는 여기되지 않는, 장치.

청구항 27

시스템으로서:

복수의 광셀을 포함하는 검정 칩으로서, 상기 복수의 광셀 각각은:

여기될 때 방출 에너지의 펄스들을 방출하는 샘플을 수용하도록 구성된 샘플 우물;

복수의 샘플 우물 중 하나로부터의 상기 방출 에너지를 특정 방향으로 유도하기 위한 적어도 하나의 엘리먼트 - 상기 적어도 하나의 엘리먼트는 굴절 엘리먼트, 회절 엘리먼트, 플라즈몬 엘리먼트, 및 공진기로 이루어지는 그룹으로부터 선택됨 -; 및

상기 방출 에너지가 상기 샘플 우물로부터 센서 쪽으로 이동하면서 따르는 광 경로

를 포함하는, 상기 검정 칩;

상기 검정 칩과 인터페이스하도록 구성된 기기;

상기 샘플을 여기시키는 여기 에너지를 방출하도록 구성된 적어도 하나의 펄스 여기 광원;

복수의 센서 - 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 제각각의 샘플 우물에 대응하고 상기 제각각의 샘플 우물 내의 상기 샘플로부터의 방출 에너지를 수용하도록 위치하며, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 샘플을 여기 에너지의 복수의 펄스들로 조명하는 것에 응답하여 상기 샘플로부터 방출된 발광의 수용된 광자들에 의해 생성된 전하 캐리어들을 적어도 2개의 빈들 내에 수집함으로써 적어도 하나의 신호를 생성하도록 구성됨 -; 및

각각의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 중의 제각각의 센서 쪽으로 유도하도록 구성된 적어도 하나의 광학 엘리먼트를 포함하는 시스템.

청구항 28

제27항에 있어서,

상기 기기는:

개구를 갖는 광학 하우징; 및

상기 검정 칩이 상기 기기와 인터페이스할 때 상기 검정 칩을 상기 개구와 중첩하도록 상기 광학 하우징 외부에 기계적으로 위치시키도록 구성된 적어도 하나의 정렬 컴포넌트

를 더 포함하는 시스템.

청구항 29

제27항에 있어서,

상기 검정 칩은 상기 기기에 연결되고 상기 기기로부터 제거되도록 구성되는, 시스템.

청구항 30

제29항에 있어서,

상기 검정 칩이 상기 기기에 연결될 때, 상기 복수의 샘플 우물 중의 샘플 우물과 상기 복수의 센서 중의 대응하는 센서 사이의 광학 거리는 30cm 미만인, 시스템.

청구항 31

제27항에 있어서,

상기 샘플은 복수의 파장 대역 중 하나의 파장 대역 내에서 상기 방출 에너지를 방출하는 발광성 태그를 포함하고; 그리고

상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 복수의 파장 대역 각각에서 상기 방출 에너지를 검출하도록 구성된 서브-센서를 포함하는, 시스템

청구항 32

제27항에 있어서,

상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 적어도 2개의 서브-센서를 포함하는, 시스템.

청구항 33

제32항에 있어서,

상기 기기는 제1 파장의 방출 에너지를 상기 적어도 2개의 서브-센서 중 제1 서브-센서 쪽으로 유도하고 제2 파장의 방출 에너지를 상기 적어도 2개의 서브-센서 중 제2 서브-센서 쪽으로 유도하는 적어도 하나의 파장 의존 엘리먼트를 추가로 포함하는, 시스템.

청구항 34

제33항에 있어서,

상기 적어도 하나의 파장 의존 엘리먼트는 회절 광학 엘리먼트 및/또는 스펙트럼 필터인, 시스템.

청구항 35

제27항에 있어서, 각각의 샘플은 또 다른 샘플의 적어도 하나의 다른 발광성 태그의 수명과 상이한 수명을 갖는

발광성 태그를 포함하는, 시스템.

청구항 36

제27항에 있어서,

제1 샘플과 관련된 제1 발광성 태그는 제1 파장의 광에 의해 여기되지만 제2 파장의 광에 의해서는 여기되지 않고;

제2 샘플과 관련된 제2 발광성 태그는 제2 파장의 광에 의해 여기되지만 제1 파장의 광에 의해서는 여기되지 않는, 시스템.

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원들

[0002] 이 출원은 "OPTICAL SYSTEM AND ASSAY CHIP FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES"라는 명칭으로 2014년 8월 8일에 출원된 미국 가출원 62/035,242의 우선권을 주장한다.

[0003] 이 출원은 다음의 미국 출원들과 관련이 있다:

[0004] "INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS"라는 명칭으로 2015년 5월 20일에 출원된 미국 가출원 62/164,506;

[0005] "PULSED LASER"라는 명칭으로 2015년 5월 20일에 출원된 미국 가출원 62/164,485;

[0006] "METHODS FOR NUCLEIC ACID SEQUENCING"라는 명칭으로 2015년 5월 20일에 출원된 미국 가출원 62/164,482;

[0007] "INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING DETECTING AND ANALYZING MOLECULES"라는 명칭으로 2015년 5월 20일에 출원된 미국 가출원 62/164,464;

- [0008] 사건 번호가 R0708.70002US02이고, "INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS"라는 명칭으로 이 출원과 동일자로 출원된 미국 정규 특허 출원; 및
- [0009] 사건 번호가 R0708.70004US02이고, "INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING, DETECTING, AND ANALYZING MOLECULES"라는 명칭으로 이 출원과 동일자로 출원된 미국 정규 출원.
- [0010] 상기 나열된 관련 출원들 각각은 그 전체가 참조로서 본 명세서에 통합된다.
- [0011] 분야
- [0012] 본 출원은 일반적으로, 생물학적 및/또는 화학적 샘플들의 빠르고, 대량으로 병렬이며, 정량적인 분석을 수행하기 위한 디바이스들, 방법들 및 기법들과, 상기 디바이스들을 제조하는 방법들에 관한 것이다.

배경 기술

- [0013] 생물학적 샘플들의 검출 및 분석은 생물학적 검정("bioassays")을 이용하여 수행될 수 있다. 생물학적 검정들은 통상적으로 크고 값비싼 실험실 장비를 수반하고 그 장비를 조작하고 검정을 수행하도록 훈련받은 연구 과학자들을 필요로 한다. 또한, 생물학적 검정들은 통상적으로 대량으로(in bulk) 수행되므로 검출 및 정량화를 위해서는 다량의 특정 유형의 샘플이 필요하다.
- [0014] 일부 생물학적 검정들은 특정 파장의 광을 방출하는 발광성 태그들을 샘플들에 부착하는 것에 의해 수행된다. 태그들은 발광을 초래하는 여기 광원으로 조명되고, 태그들에 의해 방출되는 발광성 광의 양을 정량화하기 위해 발광성 광은 광 검출기로 검출된다. 발광성 태그들을 이용하는 검정들은 통상적으로 샘플들을 조명하기 위한 값비싼 레이저 광원들과, 조명된 샘플들로부터의 발광을 수집하기 위한 복잡하고 부피가 큰 발광성 검출 옵틱스(optics) 및 전자 기기들을 수반한다.

발명의 내용

- [0015] 일부 실시예들은 복수의 샘플 우물을 포함하는 검정 칩과 인터페이스하도록 구성된 기기에 관한 것이다. 상기 복수의 샘플 우물 중의 각각의 샘플 우물은 샘플을 수용할 수 있다. 상기 기기는 상기 복수의 샘플 우물 중의 적어도 일부의 샘플을 여기시키기 위한 적어도 하나의 펠스 여기 광원을 포함한다. 상기 기기는 또한 복수의 센서를 포함하며, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 복수의 샘플 우물 중의 샘플 우물에 대응한다. 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 각각의 샘플 우물 내의 샘플로부터의 방출 에너지를 검출한다. 또한, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 상기 방출 에너지의 검출 시간을 검출할 수 있다. 상기 기기는 또한 상기 복수의 샘플 우물 중의 각각의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서 쪽으로 유도하도록 구성된 적어도 하나의 광학 엘리먼트를 포함한다.
- [0016] 일부 실시예들은 검정 칩 및 기기를 포함하는 장치에 관한 것이다. 상기 검정 칩은 복수의 핵셀을 포함한다. 상기 검정 칩의 각각의 핵셀은 샘플을 수용하는 샘플 우물을 포함하며, 상기 샘플은 여기될 때 방출 에너지를 방출한다. 상기 검정 칩의 각각의 핵셀은 또한 상기 방출 에너지를 특정 방향으로 유도하기 위한 적어도 하나의 엘리먼트를 포함한다. 상기 적어도 하나의 엘리먼트는 굴절 엘리먼트, 회절 엘리먼트, 플라즈몬 엘리먼트 또는 공진기일 수 있다. 상기 검정 칩의 각각의 핵셀은 또한 상기 방출 에너지가 상기 샘플 우물로부터 상기 기기의 센서 쪽으로 이동하면서 따르는 광 경로를 포함한다. 상기 기기는 상기 검정 칩과 인터페이스하며 각각의 샘플 우물 내의 샘플을 여기시키는 적어도 하나의 펠스 여기 광원을 포함한다. 상기 기기는 또한 복수의 센서를 포함하며, 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 각각의 샘플 우물에 대응한다. 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서는 각각의 샘플 우물 내의 샘플로부터의 방출 에너지를 검출하고 상기 방출 에너지의 검출 시간을 검출한다. 상기 기기는 또한 각각의 샘플 우물로부터의 상기 방출 에너지를 상기 복수의 센서 중의 각각의 센서 쪽으로 유도하는 적어도 하나의 광학 엘리먼트를 포함한다.

- [0017] 일부 실시예들은 시편을 분석하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 복수의 샘플 우물을 포함하는 검정 칩의 상부 표면상에 상기 시편을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 적어도 하나의 여기 광원 및 적어도 하나의 센서를 포함하는 기기와 상기 칩을 정렬시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 상기 적어도 하나의 펠스 여기 광원으로부터의 펠스 여기 광을 이용하여 상기 복수의 샘플 우물 중 적어도 하나의 샘플 우물 내의 상기 시편으로부터의 샘플을 여기시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한, 상기 적어도 하나의 센서를 이용하여, 상기 여기 광에 의한 여기에 응답하여 상기 적어도 하나의 샘플 우물 내의 상기 샘플에 의해 생성된 방출 에너지를 검출하는 단계를 포함한다. 상기 적어도 하나의 센서는 상기 샘플에 의해 생성된 상기 방출 에너지의

수명을 결정할 수 있다.

[0018] 일부 실시예들은 표적 핵산 분자의 서열을 분석하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 펠스 여기 소스 및 광의 적어도 하나의 시간 특성을 검출할 수 있는 센서를 포함하는 기기에 인접하여 칩을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 칩은 상기 칩이 상기 기기의 감지 위치에 있을 때 상기 여기 소스 및 상기 센서에 작용적으로 결합되는 적어도 하나의 우물을 포함한다. 상기 우물은 상기 표적 핵산 분자, 중합 효소 및 복수의 유형의 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들을 함유한다. 상기 방법은 또한 상기 감지 위치에서의 상기 칩을 이용하여, 상기 중합 효소가 있는 데서 상기 표적 핵산 분자의 프라이밍 위치(priming location)에서 연장 반응(extension reaction)을 수행하여, 상기 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들을 상기 표적 핵산 분자와 상보적인 성장 가닥(growing strand)에 순차적으로 통합하는 단계를 포함한다. 상기 여기 소스로부터의 여기 에너지에 의한 통합 및 여기시에, 상기 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들은 상기 우물에서 신호들을 방출한다. 상기 방법은 또한 상기 센서를 이용하여 상기 복수의 유형의 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들에 대해 구별 가능한 상기 신호들의 공간 및/또는 시간 분포 패턴들을 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 상기 신호들의 상기 공간 및/또는 시간 분포 패턴들에 기초하여 상기 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들을 식별함으로써, 상기 표적 핵산 분자의 서열을 분석하는 단계를 포함한다.

[0019] 일부 실시예들은 핵산 서열 분석을 위한 방법에 관한 것이다. 이 방법은 기기에 인접하여 칩을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 칩은 상기 칩이 상기 기기의 감지 위치에 있을 때 상기 기기의 센서 및 펠스 여기 소스에 각각 작용적으로 결합되는 복수의 우물을 포함한다. 상기 복수의 우물 중의 개개의 우물은 상기 표적 핵산 분자, 중합 효소 및 복수의 유형의 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들을 함유한다. 상기 방법은 또한 상기 감지 위치에서의 칩을 이용하여, 상기 표적 핵산 분자를 중합 반응시켜, 상기 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들 및 상기 중합 효소가 있는 데서 상기 표적 핵산 분자에 상보적인 성장 가닥을 생성하는 단계를 포함한다. 상기 뉴클레오티드들 또는 상기 뉴클레오티드 유사체들은 통합 중에 상기 여기 소스로부터의 여기 에너지에 의한 여기시 상기 개개의 우물에서 신호들을 방출한다. 상기 방법은 또한 상기 센서를 이용하여 상기 복수의 유형의 뉴클레오티드들 또는 뉴클레오티드 유사체들에 대해 구별 가능한 상기 신호들의 시간 분포 패턴들을 검출하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 상기 신호들의 상기 공간 및/또는 시간 분포 패턴들에 기초하여 상기 표적 핵산 분자의 서열을 식별하는 단계를 포함한다.

[0020] 본 교시 내용들의 상기 및 다른 양태들, 실시예들, 및 특징들은 첨부 도면들과 함께 하기의 설명으로부터 더 완전히 이해될 수 있다.

[0021] 용어 "픽셀(pixel)"은 본 개시 내용에서 통합 디바이스의 단위 셀을 언급하기 위해 사용된다. 상기 단위 셀은 샘플 우물 및 센서를 포함할 수 있다. 상기 단위 셀은 여기 소스를 더 포함할 수 있다. 상기 단위 셀은 상기 여기 소스로부터 상기 샘플 우물로의 여기 에너지의 결합을 향상시키도록 구성되는 적어도 하나의 여기-결합 광학 구조물("제1 구조물"로 언급될 수도 있음)을 더 포함할 수 있다. 상기 단위 셀은 상기 샘플 우물로부터 상기 센서로의 방출의 결합을 향상시키도록 구성되는 적어도 하나의 방출-결합 구조물을 더 포함할 수 있다. 상기 단위 셀은 통합 전자 디바이스들(예를 들어, CMOS 디바이스들)을 더 포함할 수 있다. 통합 디바이스상에 아래이로 배열된 복수의 픽셀가 있을 수 있다.

[0022] 용어 "광학(optical)"은 본 개시 내용에서 가시, 근적외선, 및 단파장 적외선 스펙트럼 대역들을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0023] 용어 "태그(tag)"는 본 개시 내용에서 분석될 샘플에 부착된 또는 샘플과 반응될 수 있는 반응물에 부착된 태그, 프로브, 마커, 또는 리포터를 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0024] 문구 "여기 에너지(excitation energy)"는 본 개시 내용에서 샘플 우물 내의 샘플 및/또는 태그에 전달되는 임의의 형태의 에너지(예를 들어, 방사성 또는 비방사성)를 언급하기 위해 사용될 수 있다. 방사성 여기 에너지는 하나 이상의 특성 파장의 광학 방사를 포함할 수 있다.

[0025] 문구 "특성 파장(characteristic wavelength)"은 본 개시 내용에서 방사의 제한된 대역폭 내의 중심의 또는 지배적인 파장을 언급하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에, 그것은 방사의 대역폭의 피크 파장을 언급할 수 있다. 형광단들의 특성 파장들의 예들은 563nm, 595nm, 662nm, 및 687nm이다.

[0026] 문구 "특성 에너지(characteristic energy)"는 본 개시 내용에서 특성 파장과 관련된 에너지를 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0027] 용어 "방출(emission)"은 본 개시 내용에서 태그 및/또는 샘플로부터의 방출을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

이것은 방사성 방출(예를 들어, 광학 방출) 또는 비방사성 에너지 전달(예를 들어, 텍스터 에너지 전달 또는 포스터 공명 에너지 전달)을 포함할 수 있다. 방출은 샘플 우물 내의 샘플 및/또는 태그의 여기를 야기한다.

[0028] 문구 "샘플 우물로부터의 방출(emission from a sample well)" 또는 "샘플로부터의 방출(emission from a sample)"은 본 개시 내용에서 샘플 우물 내의 태그 및/또는 샘플로부터의 방출을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0029] 용어 "자기 정렬된(self-aligned)"은 본 개시 내용에서 제1 리소그래피 패터닝 공정(예를 들어, 포토리소그래피, 이온-빔 리소그래피, EUV 리소그래피)이 제1 엘리먼트의 패턴을 인쇄하고 제2 리소그래피 패터닝 공정이 제1 리소그래피 패터닝 공정에 정렬되어 제2 엘리먼트의 패턴을 인쇄하는 2개의 개별적인 리소그래피 패터닝 공정을 이용하지 않고 적어도 2개의 별개의 엘리먼트(예를 들어, 샘플 우물 및 방출-결합 구조물, 샘플 우물 및 여기-소스)가 제조되어 서로 정렬될 수 있는 마이크로 제조 프로세스를 언급하기 위해 사용될 수 있다. 자기 정렬된 프로세스는 단일 리소그래피 패터닝 공정에 제1 및 제2 엘리먼트 양자의 패턴을 포함시키는 것을 포함할 수 있고, 또는 제1 엘리먼트의 제조된 구조물의 피처들을 이용하여 제2 엘리먼트를 형성하는 것을 포함할 수 있다.

[0030] 용어 "센서(sensor)"는 본 개시 내용에서 샘플 우물로부터의 방출을 감지하고 감지된 방출을 대표하는 적어도 하나의 전기 신호를 생성하도록 구성된 하나 이상의 접적 회로 디바이스들을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0031] 용어 "나노-스케일"은 본 개시 내용에서 대략 150나노미터(nm) 이하이지만, 대략 500nm보다 크지는 않은 적어도 하나의 치수 또는 최소 피처 사이즈를 가진 구조물을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0032] 용어 "마이크로-스케일"은 본 개시 내용에서 대략 500nm와 대략 100미크론 사이의 적어도 하나의 치수 또는 최소 피처 사이즈를 가진 구조물을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

[0033] 문구 "여기 에너지를 향상시키다(enhance excitation energy)"는 본 개시 내용에서 샘플 우물의 여기 영역에서의 여기 에너지의 강도를 증가시키는 것을 언급하기 위해 사용될 수 있다. 강도는, 예를 들어, 샘플 우물에 입사되는 여기 에너지를 집중시키는 것 및/또는 공진시키는 것에 의해 증가될 수 있다. 일부 경우에, 강도는 여기 에너지가 샘플 우물의 여기 영역 내로 더 침투하는 것을 허용하는 반사 방지 코팅(anti-reflective coating)들 또는 손실 층(lossy layer)들에 의해 증가될 수 있다. 여기 에너지의 향상은 샘플 우물의 여기 영역에서의 여기 에너지를 향상시키는 구조물들을 포함하지 않는 실시예에 대한 비교 언급일 수 있다.

[0034] 용어들 "약(about)", "대략(approximately)", 및 "실질적으로(substantially)"는 본 개시 내용에서 값의 언급하기 위해 사용될 수 있고, 본 개시 내용에서 언급된 값에 허용 가능한 편차들을 더하고 뺀 것을 포함하기 위해 의도된 것이다. 편차의 양은 일부 실시예들에서는 5% 미만이고, 일부 실시예들에서는 10% 미만이고, 또 일부 실시예들에서는 20% 미만일 수 있다. 장치가 값들의 큰 범위, 예를 들어, 하나 이상의 자릿수를 포함하는 범위에 걸쳐 제대로 기능할 수 있는 실시예들에서, 편차의 양은 2배일 수 있다. 예를 들어, 장치가 20 내지 350 범위의 값에 대해 제대로 기능한다면, "대략 80"은 40과 160 사이의 값들을 포함할 수 있다.

[0035] 용어 "인접한(adjacent)"은 본 개시 내용에서 서로 아주 근접하여(예를 들어, 픽셀의 가로 또는 수직 치수의 약 1/5 미만인 거리 이내에) 배열된 2개의 엘리먼트를 언급하기 위해 사용될 수 있다. 일부 경우에 인접한 엘리먼트들 사이에 개재하는 구조물들 또는 충들이 있을 수 있다. 일부 경우에 인접한 엘리먼트들은 개재하는 구조물들 또는 엘리먼트들이 없이 서로 바로 인접할 수 있다.

[0036] 용어 "검출하다(detect)"는 본 개시 내용에서 샘플 우물로부터 센서에서 방출을 수신하고 그 방출을 대표하는 또는 그 방출과 관련된 적어도 하나의 전기 신호를 생성하는 것을 언급하기 위해 사용될 수 있다. 용어 "검출하다"는 또한 본 개시 내용에서 샘플 우물로부터의 방출에 기초하여 샘플 우물 내의 특정 샘플 또는 태그의 존재를 결정하는 것, 또는 그 특정 샘플 또는 태그의 특성을 식별하는 것을 언급하기 위해 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 숙련된 기술자는 본 명세서에 설명된 도면들이 단지 예시를 목적으로 한다는 것을 이해할 것이다. 일부 경우에 본 발명의 다양한 양태들은 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위해 과장되거나 확대되어 도시될 수도 있다는 것이 이해되어야 한다. 도면들에서, 유사한 참조 부호들은 일반적으로 다양한 도면 전체에 걸쳐 유사한 특징, 기능적으로 유사한 그리고/또는 구조적으로 유사한 엘리먼트를 지칭한다. 도면들은 반드시 축척에 맞지는 않을 것이며, 대신 본 발명의 원리들을 예시하는 것이 강조된다. 도면들은 어떠한 방식으로도 본 교시 내용들의 범위를 제한하기 위해 의도된 것이 아니다.

도 1a는 일부 실시예들에 따른, 2개의 상이한 마커에 대한 형광 수명 곡선들을 도시한다.

도 1ba는 일부 실시예들에 따른 방출 파장 스펙트럼들을 도시한다.

도 1bb는 일부 실시예들에 따른 흡수 파장 스펙트럼들을 도시한다.

도 1bc는 일부 실시예들에 따른 방출 파장 스펙트럼들을 도시한다.

도 1ca는 방출 파장 및 방출 수명에 대한 위상 공간을 도시한다.

도 1cb는 흡수 파장 및 방출 수명에 대한 위상 공간을 도시한다.

도 1d는 방출 파장, 흡수 파장, 및 방출 수명에 대한 위상 공간을 도시한다.

도 2a는 일부 실시예들에 따른, 생물학 및 화학 시편들의 신속한 모바일 분석을 위해 이용될 수 있는 장치의 블록도 표현이다.

도 2b는 일부 실시예들에 따른, 센서 칩의 광셀들과 검정 칩의 광셀들 사이의 관계의 개략도이다.

도 2c는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩의 단일 광셀 및 센서 칩의 단일 광셀과 관련된 컴포넌트들을 도시한다.

도 2d는 일부 실시예들에 따른, 기기의 컴포넌트들의 일부를 도시한다.

도 3aa는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩 및 칩 홀더 프레임의 상부 사시도이다.

도 3ab는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩 및 칩 홀더 프레임의 하부 사시도이다.

도 3ac는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩 및 칩 홀더 프레임의 단면도이다.

도 3b는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 입사되는 여기 에너지를 도시한다.

도 3c는 일부 실시예들에 따른, 제로-모드 도파관으로서 형성되는 샘플 우물을 따른 여기 에너지의 감쇠를 예시한다.

도 3d는 일부 실시예들에서 샘플 우물과 관련된 여기 영역에서 여기 에너지를 증가시키는, 디봇을 포함하는 샘플 우물을 도시한다.

도 3e는 일부 실시예에 따른, 디봇이 있고 없는 샘플 우물들에 대한 여기 강도들을 비교한다.

도 3f는 일부 실시예들에 따른, 돌출부(protrusion)에 형성된 샘플 우물 및 디봇을 도시한다.

도 3ga는 일부 실시예들에 따른, 테이퍼된 측벽들을 가진 샘플 우물을 도시한다.

도 3gb는 일부 실시예들에 따른, 만곡된 측벽들을 가진 샘플 우물 및 보다 작은 가로 치수를 가진 디봇을 도시한다.

도 3gc는 표면 플라즈몬 구조물들로부터 형성된 샘플 우물의 측면도를 도시한다.

도 3gd는 표면 플라즈몬 구조물들로부터 형성된 샘플 우물의 평면도를 도시한다.

도 3ge는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물의 측벽들을 따라 형성된 여기-에너지-항상 구조물을 포함하는 샘플 우물을 도시한다.

도 3gf는 일부 실시예들에 따른, 다중층 스택에 형성된 샘플 우물을 도시한다.

도 3h는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물의 표면들에 형성된 표면 코팅을 예시한다.

도 3ia 내지 도 3ie는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물을 형성하는 리프트오프 프로세스와 관련된 구조물들을 도시한다.

도 3if는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물을 형성하는 대안적인 리프트오프 프로세스와 관련된 구조물을 도시한다.

도 3ja 내지 도 3jd는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물을 형성하는 직접 에칭 프로세스와 관련된 구조물들을 도시한다.

도 3k는 일부 실시예들에 따른, 리프트오프 프로세스 또는 직접 에칭 프로세스를 이용하여 다수의 층들에 형성

될 수 있는 샘플 우물을 도시한다.

도 31은 일부 실시예들에 따른, 디봇을 형성하기 위해 이용될 수 있는 애칭 프로세스와 관련된 구조물을 도시한다.

도 3ma 내지 도 3mc는 일부 실시예들에 따른, 디봇을 형성하는 대안적인 프로세스와 관련된 구조물들을 도시한다.

도 3na 내지 도 3nd는 일부 실시예들에 따른, 피착체 및 부동태화(passivating) 층들을 퇴적하기 위한 프로세스와 관련된 구조물들을 도시한다.

도 3o는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물 내에 중심에 피착체를 퇴적하기 위한 프로세스와 관련된 구조물을 도시한다.

도 4aa 및 도 4ab는 단 하나의 실시예에 따른, 표면-플라즈몬 구조물을 도시한다.

도 4ac는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접하여 형성된 표면-플라즈몬 구조물을 도시한다.

도 4ad 및 도 4ae는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 형성된 표면-플라즈몬 구조물들을 도시한다.

도 4ba 내지 도 4bc는 일부 실시예들에 따른, 주기적인 표면-플라즈몬 구조물들의 예들을 도시한다.

도 4bd는 일부 실시예들에 따른, 주기적인 표면-플라즈몬 구조물에 인접하여 형성된 샘플 우물에서의 여기 에너지의 수치 시뮬레이션을 도시한다.

도 4be 내지 도 4bg는 일부 실시예들에 따른, 주기적인 표면-플라즈몬 구조물들을 도시한다.

도 4bh 및 도 4bi는 일부 실시예들에 따른, 표면-플라즈몬 구조물들을 포함하는 나노-안테나를 도시한다.

도 4ca 내지 도 4ce는 일부 실시예들에 따른, 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위한 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다.

도 4da 내지 도 4dg는 일부 실시예들에 따른, 표면-플라즈몬 구조물 및 자기 정렬된 샘플 우물을 형성하기 위한 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다.

도 4ea 내지 도 4ee는 일부 실시예들에 따른, 표면-플라즈몬 구조물 및 자기 정렬된 샘플 우물을 형성하기 위한 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다.

도 4fa는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접하여 형성된 얇은 손실막을 도시한다.

도 4fb 및 도 4fc는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물 및 얇은 손실막의 부근에서의 여기 에너지의 수치 시뮬레이션들로부터의 결과들을 도시한다.

도 4fd는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물로부터 이격된 얇은 손실막을 도시한다.

도 4fe는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접하여 형성된 얇은 손실막 스택을 도시한다.

도 4ga는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접하여 공진 공동을 형성하기 위해 이용될 수 있는 반사성 스택을 예시한다.

도 4gb는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 여기 에너지를 집중시키기 위해 이용될 수 있는 유전체 구조물을 도시한다.

도 4gc 및 도 4gd는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접하여 패터닝될 수 있는 광 밴드갭(photonic bandgap) 구조물을 도시한다.

도 4ha 내지 도 4hg는 일부 실시예들에 따른, 유전체 구조물들 및 자기 정렬된 샘플 우물을 형성하기 위한 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다.

도 4ia 및 도 4ib는 일부 실시예들에 따른, 비방사성 프로세스를 통해 샘플에 여기 에너지를 결합하기 위한 구조물들을 도시한다.

도 4ic는 일부 실시예들에 따른, 다수의 비방사성 프로세스에 의해 샘플에 여기 에너지를 결합하기 위한 구조물을 도시한다.

도 4id는 일부 실시예들에 따른, 방사성 또는 비방사성 프로세스에 의해 샘플에 여기 에너지를 결합하기 위해 하나 이상의 에너지-변환 입자를 포함하는 구조물을 도시한다.

도 4ie는 일부 실시예들에 따른, 샘플로의 여기 에너지의 하향 변환과 관련된 스펙트럼을 도시한다.

도 4if는 일부 실시예들에 따른, 샘플로의 여기 에너지의 상향 변환과 관련된 스펙트럼을 도시한다.

도 5a는 일부 실시예들에 따른, 동심의 플라즈몬 원형 격자를 도시한다.

도 5b는 일부 실시예들에 따른, 나선형 플라즈몬 격자를 도시한다.

도 5ca는 일부 실시예들에 따른, 동심의 플라즈몬 원형 격자로부터의 방출 공간 분포 패턴들을 도시한다.

도 5cb는 일부 실시예들에 따른, 비주기적인 및 주기적인 동심의 플라즈몬 원형 격자의 지향성을 도시한다.

도 5da 내지 도 5db는 일부 실시예들에 따른, 플라즈몬 나노-안테나들을 도시한다.

도 5ea 및 도 5eb는 일부 실시예들에 따른, 플라즈몬 나노-안테나들을 도시한다.

도 5ec는 일부 실시예들에 따른, 나노-안테나 어레이로부터의 방출 에너지의 방사 패턴을 도시한다.

도 5fa는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩의 굴절 옵틱스를 도시한다.

도 5fb는 일부 실시예들에 따른, 검정 칩의 프레넬 렌즈를 도시한다.

도 6a는 일부 실시예들에 따른, 기기의 마이크로스코피 컴포넌트들을 도시한다.

도 6ba는 일부 실시예들에 따른, 센서 칩의 원거리장 스펙트럼 소팅 엘리먼트들(far-field spectral sorting elements)를 도시한다.

도 6bb는 일부 실시예들에 따른, 센서 칩의 원거리장 스펙트럼 필터링 엘리먼트들(far-field spectral filtering elements)를 도시한다.

도 6ca 및 도 6cb는 일부 실시예들에 따른, 센서 칩의 얇은 손실막들을 도시한다.

도 6da 및 도 6db는 일부 실시예들에 따른, 기기의 광학 블록을 도시한다.

도 6e는 일부 실시예들에 따른, 광학계를 통한 광학 경로들을 도시한다.

도 7aa는 일부 실시예들에 따른, 센서 칩의 핵심 내의 센서를 정면도로 도시한다.

도 7ab는 일부 실시예들에 따른, 2개의 개별적인 동심의 액티브 영역들을 가진 불스아이 센서(bulls-eye sensor)를 도시한다.

도 7ac는 일부 실시예들에 따른, 4개의 개별적인 액티브 영역들을 가진 스트라이프 센서(stripe sensor)를 도시한다.

도 7ad는 일부 실시예들에 따른, 4개의 개별적인 액티브 영역들을 가진 사분면 센서(quad sensor)를 도시한다.

도 7ae는 일부 실시예들에 따른, 4개의 개별적인 액티브 영역들을 가진 아크-세그먼트 센서(arc-segment sensor)를 도시한다.

도 7af는 일부 실시예들에 따른, 스택형 세그먼트 센서(stacked-segment sensor)를 도시한다.

도 7ba는 일부 실시예들에 따른, 제1 파장에서 방출된 에너지에 대한 소팅 엘리먼트들로부터의 방출 분포를 도시한다.

도 7bb는 일부 실시예들에 따른, 도 7ba에 도시된 방출 분포에 대응하는 불스아이 센서에 의해 수신된 방사 패턴을 도시한다.

도 7bc는 일부 실시예들에 따른, 제2 파장에서 방출된 에너지에 대한 소팅 엘리먼트들로부터의 방출 분포를 도시한다.

도 7bd는 일부 실시예들에 따른, 도 7bc에 도시된 방출 분포에 대응하는 불스아이 센서에 의해 수신된 방사 패턴을 도시한다.

도 7be는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제1 방출 파장에 대해 2개의 액티브 영역을 가진 불스아이 센서

에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7bf는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제2 방출 파장에 대해 도 7be와 관련된 불스아이 센서에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7bg는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제3 방출 파장에 대해 도 7be와 관련된 불스아이 센서에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7bh는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제4 방출 파장에 대해 도 7be와 관련된 불스아이 센서에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7bi는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제1 방출 파장에 대해 4개의 액티브 영역을 가진 불스아이 센서에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7bj는 일부 실시예들에 따른, 샘플로부터의 제2 방출 파장에 대해 도 7bi와 관련된 불스아이 센서에 대한 신호 검출의 수치 시뮬레이션으로부터의 결과들을 나타낸다.

도 7ca는 일부 실시예들에 따른, 2개의 액티브 영역을 포함하는 센서로부터의 신호들을 판독하기 위해 이용될 수 있는 기기상의 회로를 도시한다.

도 7cb는 일부 실시예들에 따른, 신호 축적 및 판독을 위한 센서 칩에 포함될 수 있는 3-트랜지스터 회로를 도시한다.

도 7cc는 일부 실시예들에 따른, 4개의 액티브 영역들을 포함하는 센서로부터의 신호들을 판독하기 위해 이용될 수 있는 기기상의 회로를 도시한다.

도 7da는 일부 실시예들에 따른, 샘플 분석을 위해 이용될 수 있는 2개의 상이한 방사체에 대한 시간 방출 특성들(temporal emission characteristics)을 도시한다.

도 7db는 일부 실시예들에 따른, 여기 소스 및 샘플로부터의 발광의 시간 진화(temporal evolution)를 도시한다.

도 7dc는 일부 실시예들에 따른, 시간 지연 샘플링을 예시한다.

도 7dd는 일부 실시예들에 따른, 2개의 상이한 방사체에 대한 시간 방출 특성들을 도시한다.

도 7de는 일부 실시예들에 따른, 센서의 전하-축적 노드에서의 전압 다이내믹스를 도시한다.

도 7df는 일부 실시예들에 따른, 리셋이 없는 센서 세그먼트의 이중 판독을 도시한다.

도 7dg 및 도 7dh는 일부 실시예들에 따른, 시간적으로 별개의 방출 특성들을 가진 2개의 방사체와 관련된 제1 및 제2 판독 신호 레벨들을 예시한다.

도 7e는 일부 실시예들에 따른, 시간 분해능 능력을 갖는 광셀의 개략도를 도시한다.

도 7f는 일부 실시예들에 따른, 시간 분해능 능력을 갖는 광셀의 개략도를 도시한다.

도 8aa 및 도 8ab는 일부 실시예들에 따른, 여기 소스들의 스펙트럼 여기 대역들을 도시한다.

도 8ba는 일부 실시예들에 따른, 코히런트 광원의 개략도이다.

도 8bb는 일부 실시예들에 따른, 여기 소스의 시간 강도 프로파일들을 도시한다.

도 8c는 일부 실시예들에 따른, 여기 소스으로부터의 이완 진동들 및 광 신호를 도시한다.

도 8d는 일부 실시예들에 따른, 출력 광 펄스에서 테일의 전력을 감소시키기 위한 조정된 전기 펄스의 사용을 도시한다.

도 8e 및 도 8f는 일부 실시예들에 따른, 시간의 함수로서 여기 소스의 광 출력 전력을 도시한다.

도 8g는 일부 실시예들에 따른, 더 많은 수의 와이어 본드를 사용한 결과로 생기는 더 높은 주파수들에서의 더 높은 전류를 도시한다.

도 8ha는 일부 실시예들에 따른, 전송 라인 펄서의 개략도이다.

도 8hb는 일부 실시예들에 따른, 전송 라인으로부터 획득된 광 펄스들의 시간 프로파일들을 도시한다.

도 8i 및 도 8j는 일부 실시예들에 따른, 펄스 여기 광을 생성하기 위한 예시적인 회로의 개략도들이다.

도 8ka는 일부 실시예들에 따른, 출력 펄스로서 조정된 전기 신호를 생성하는 데 사용될 수 있는 하나의 RF 증폭기를 갖는 예시적인 회로를 도시한다.

도 8kb는 도 8ka의 회로로부터 획득된 전기 펄스 프로파일을 도시한다.

도 8la는 일부 실시예들에 따른, 출력 펄스로서 조정된 전기 신호를 생성하는 데 사용될 수 있는 하나의 RF 증폭기를 갖는 예시적인 회로를 도시한다.

도 8lb는 도 8la의 회로로부터 획득된 전기 펄스 프로파일을 도시한다.

도 8ma는 일부 실시예들에 따른, 4개의 상이한 소스를 결합하기 위한 개략도를 도시한다.

도 8mb 일부 실시예들에 따른, 임피던스의 함수로서 4개의 소스에 대한 전류, 전력 효율, 및 전압을 도시한다.

도 9a는 일부 실시예들에 따른, 생물학 및 화학 시편들의 신속한 모바일 분석을 위해 사용될 수 있는 콤팩트한 장치의 동작 방법을 도시한다.

도 9b는 일부 실시예들에 따른, 캘리브레이션 절차를 도시한다.

도 9c는 일부 실시예들에 따른, 데이터 분석 절차를 도시한다.

도 10a는 일부 실시예들에 따른, 단일 분자 핵산 서열 분석의 개략도이다.

도 10b는 시간 경과에 따른 단일 샘플 우물에서의 서열 분석 프로세스를 개략적으로 도시한다.

도 10c는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물 표면을 준비하기 위한 프로세스를 도시한다.

도 10d는 일부 실시예들에 따른, 예시적인 수명 측정들을 도시한다.

도 10e는 일부 실시예들에 따른, 센서와 통합된 프레넬 렌즈를 도시한다.

도 10f는 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 발광 수명들을 도시한다.

도 10g는 도 10f로부터의 마커들을 구별하기 위해 센서에 의해 사용되는 16개의 시간 빈을 도시한다.

도 10h는 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 발광 수명들을 도시한다.

도 10i는 도 10h로부터의 마커들을 구별하기 위해 센서에 의해 사용되는 13개의 시간 빈을 도시한다.

도 10j는 일부 실시예들에 따른, 수명 및 스펙트럼 측정 방식을 도시한다.

도 10k는 일부 실시예들에 따른, 수명 및 방출 파장에 기초한 4개의 마커 사이의 분리를 도시한다.

도 10l은 일부 실시예들에 따른, 3개의 마커의 방출 스펙트럼들을 도시한다.

도 10m은 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 형광 수명들을 도시한다.

도 10n은 일부 실시예들에 따른, 4-세그먼트 센서를 사용하는 도 10l로부터의 3개의 마커의 신호 프로파일들을 도시한다.

도 10o는 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 형광 수명들을 도시한다.

도 10p는 일부 실시예들에 따른, 4-세그먼트 센서를 사용하는 ATRho14의 신호 프로파일들을 도시한다.

도 10q는 일부 실시예들에 따른, 수명 및 흡수 에너지 측정 방식을 도시한다.

도 10r은 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 흡수 스펙트럼들을 도시한다.

도 10s는 일부 실시예들에 따른, 2개의 마커의 수명 측정들을 도시한다.

도 10t는 도 10s로부터의 마커들을 구별하기 위해 센서에 의해 사용되는 8개의 시간 빈을 도시한다.

도 10u는 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 신호 프로파일들을 도시한다.

도 10v는 일부 실시예들에 따른, 4개의 마커의 방출 스펙트럼을 도시한다.

도 10w는 일부 실시예들에 따른, 컴퓨팅 환경을 도시한다.

도 11a는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물을 제조하는 방법을 도시한다.

도 11b는 일부 실시예들에 따른, 리프트오프 방법을 이용하여 샘플 우물을 제조하는 방법을 도시한다.

도 11c는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물을 형성하는 방법을 도시한다.

도 11d는 일부 실시예들에 따른, 동심 격자를 형성하는 방법을 도시한다.

도 11e는 일부 실시예들에 따른, 동심 격자를 형성하는 방법을 도시한다.

도 11f는 일부 실시예들에 따른, 나노 개구를 배치하는 방법을 도시한다.

도 11g는 일부 실시예들에 따른, 렌즈 어레이 제조의 방법을 도시한다.

도 11h는 일부 실시예들에 따른, 굴절 렌즈 어레이를 도시한다.

도 11i는 일부 실시예들에 따른, 굴절 렌즈 어레이를 도시한다.

도 11j는 일부 실시예들에 따른, 렌즈를 형성하는 방법을 도시한다.

도 11k는 일부 실시예들에 따른, 렌즈를 형성하는 방법을 도시한다.

도 11l은 일부 실시예들에 따른, 회절 광학 엘리먼트를 도시한다.

도 11m은 일부 실시예들에 따른, 회절 광학 엘리먼트를 형성하는 데 사용되는 2개의 단위 셀 층을 도시한다.

도 11n은 일부 실시예들에 따른, 회절 렌즈 패턴을 도시한다.

도 11o 및 도 11p는 일부 실시예들에 따른, 회절 광학 엘리먼트를 제조하는 방법을 도시한다.

도 11q 및 도 11r 및 도 11s는 일부 실시예들에 따른, 임베디드 프레넬 렌즈를 제조하는 방법을 도시한다.

본 출원의 실시예들의 특징들 및 이점들은 도면들과 함께 아래에 기술되는 상세한 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 본 발명자들은 생물학적 검정(bioassays)을 수행하기 위한 종래의 장치들은 크고, 값비싸고, 수행하기 위해서는 진보된 실험실 기법들이 필요하다는 것을 인지하고 인식하였다. 많은 유형의 생물학적 검정들은 시편 내의 단일 분자들의 검출에 의존할 수 있다. 통상적으로 단일 분자 검출은 분자들의 여기에 필요한 고강도 광을 생성하기 위해 사용되는 크고 부피가 큰 레이저 시스템을 요구할 수 있다. 또한, 부피가 큰 광학 컴포넌트들을 사용하여 레이저 광을 시편으로 유도할 수 있고 추가적인 광학 컴포넌트들을 사용하여 시편으로부터의 발광 광을 센서로 유도할 수 있다. 이러한 종래의 광학 컴포넌트들은 정밀한 정렬 및 안정화를 요구할 수 있다. 종래의 실험실 장비 및 이 종래의 장비를 사용하기 위해 요구되는 훈련은 복잡하고 값비싼 생물학적 검정을 야기할 수 있다.

[0039] 본 발명자들은 그 구성 부분들의 아이덴티티를 결정하기 위해 생물학 및/또는 화학 시편들을 간단하고 저렴하게 분석할 수 있는 디바이스에 대한 요구가 있다는 것을 인지하고 인식하였다. 이러한 디바이스의 적용은 복수의 아미노산을 가진 폴리펩티드(예를 들어, 단백질) 또는 핵산 분자와 같은 생체 분자의 서열을 분석하기 위한 것일 수 있다. 단일 분자 또는 입자의 검출 및 정량(quantitation)을 수행하기 위한 콤팩트한 고속 장치는 생물학 및/또는 화학 샘플들의 복잡한 정량 측정들을 수행하는 비용을 감소시키고 생화학 기술적 발견들의 속도를 빠르게 발전시킬 수 있다. 또한, 쉽게 운반 가능한 비용 효과적인 디바이스는 발전된 세계에서 생물학적 검정이 수행되는 방법을 변형시킬 수 있을 뿐만 아니라 개발 도상 지역들의 사람들에게, 처음으로, 그들의 건강과 복지를 극적으로 개선할 수 있는 필수적인 진단 검사들에의 빠른 접근을 제공할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 생물학적 검정을 수행하기 위한 장치가 혈액, 소변 및/또는 타액과 같은 생물학 샘플들의 진단 검사들을 수행하는 데 사용된다. 그 장치는 각자의 집에 있는 개인들에 의해, 개발 도상 국가들의 외진 병원들 또는 시골 의사의 사무실과 같은 임의의 다른 장소에 있는 의사에 사용될 수 있다. 이러한 진단 검사들은 핵산 분자 또는 단백질과 같은, 피험체(subject)의 생물학 샘플 내의 생체 분자들의 검출을 포함할 수 있다. 일부 예들에서, 진단 검사들은 피험체의 생물학 샘플 내의 세포 유리(cell free) 데옥시리보핵산(deoxyribonucleic acid) 분자들 또는 발현 산물들(expression products)의 서열 분석과 같은, 피험체의 생물학 샘플 내의 핵산 분자의 서열을 분석하는 것을 포함한다.

[0040]

본 발명자들은 또한 샘플이 복수의 상이한 유형의 발광성 마커로 태깅될 때, 발광성 마커의 임의의 적합한 특성이 통합 디바이스의 특정 픽셀에 존재하는 마커의 유형을 식별하는 데 이용될 수 있음을 인지하고 인식하였다. 예를 들어, 마커들에 의해 방출되는 발광의 특성 및/또는 여기 흡수의 특성이 마커들을 식별하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 발광의 방출 에너지(광의 파장에 직접 관련됨)는 제1 유형의 마커를 제2 유형의 마커와 구별하는 데 이용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 발광 수명 측정들도 특정 픽셀에 존재하는 마커의 유형을 식별하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 발광 수명 측정들은 수명 정보를 얻기에 충분한 분해능으로 광자가 검출되는 시간을 구별할 수 있는 센서를 사용하여 펄스 여기 소스로 이루어질 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 상이한 유형의 마커들에 의해 흡수된 여기 광의 에너지는 특정 픽셀에 존재하는 마커의 유형을 식별하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 제1 마커는 제1 파장의 광을 흡수할 수 있지만, 제2 파장의 광은 균등하게 흡수하지는 않을 수 있고, 한편 제2 마커는 제2 파장의 광을 흡수할 수 있지만 제1 파장의 광은 균등하게 흡수하지 않을 수 있다. 이러한 방식으로, 각각 상이한 여기 에너지를 갖는 둘 이상의 여기 광원이 인터리브 방식으로 샘플을 조명하는 데 이용될 수 있는 경우, 마커들의 흡수 에너지는 어떤 유형의 마커가 샘플에 존재하는지를 식별하는 데 이용될 수 있다. 상이한 마커들은 또한 상이한 발광 강도들을 가질 수 있다. 따라서, 발광의 검출된 강도도 특정 픽셀에 존재하는 마커의 유형을 식별하는 데 이용될 수 있다.

[0041]

본 발명자들에 의해 고려되는 디바이스의 응용의 하나의 비제한적인 예는 복수의 아미노산을 갖는 핵산 또는 폴리펩타이드(예를 들어, 단백질)와 같은 생체 분자의 서열 분석을 수행할 수 있는 디바이스이다. 이러한 디바이스를 사용하여 수행될 수 있는 진단 테스트들은 피험체의 생물학적 샘플에서 세포가 없는 데옥시리보핵산 분자들 또는 발현 산물들의 서열 분석과 같은 피험체의 생물학적 샘플 내의 핵산 분자의 서열을 분석하는 것을 포함한다.

[0042]

본 출원은 핵산 분자들과 같은, 생체 분자들 또는 그의 서브유닛들을 검출하기 위한 디바이스들, 시스템들 및 방법들을 제공한다. 그러한 검출은 서열 분석을 포함할 수 있다. 피험체로부터 획득된 생물학적 샘플로부터 생물학적 샘플이 추출될 수 있다. 생물학적 샘플은 호흡, 타액, 소변 또는 혈액(예를 들어, 전혈 또는 혈장)과 같은, 피험체의 체액 또는 조직으로부터 추출될 수 있다. 피험체는 질병(예를 들어, 암)과 같은 건강 조건을 갖는 것으로 의심될 수 있다. 일부 예들에서, 피험체의 체액 또는 조직으로부터 하나 이상의 핵산 분자가 추출된다. 하나 이상의 핵산 분자는 피험체의 조직의 일부와 같은, 피험체로부터 획득된, 또는 전혈과 같은, 피험체의 세포 유리 체액으로부터 획득된 하나 이상의 세포로부터 추출될 수 있다.

[0043]

서열 분석은 템플릿 생체 분자(예를 들어, 핵산 분자)와 상보적인 또는 유사한 또 다른 생체 분자를 합성하는 것에 그 템플릿 생체 분자의 개개의 서브유닛들을 결정하는 것을 포함할 수 있고, 이는 예를 들어 템플릿 핵산 분자와 상보적인 핵산 분자를 합성하고 시간이 지남에 따라 뉴클레오티드들의 통합을 식별하는 것(즉, 합성에 의한 서열 분석)에 의해 이루어진다. 대안으로서, 서열 분석은 생체 분자의 개개의 서브유닛들의 직접 식별을 포함할 수 있다.

[0044]

서열 분석 중에, 생체 분자의 개개의 서브유닛들을 나타내는 신호들이 메모리에 수집되고 생체 분자의 서열을 결정하기 위해 실시간으로 또는 나중 시점에 처리될 수 있다. 이러한 처리는 개개의 서브유닛들의 식별을 가능하게 하는 참조 신호들과의 신호들의 비교를 포함할 수 있고, 이는 일부 경우에 판독들을 야기한다. 판독들은, 예를 들어, 염색체 또는 계놈 영역 또는 유전자상의 위치에 정렬될 수 있는, 더 큰 서열 또는 영역을 식별하기 위해 이용될 수 있는 충분한 길이(예를 들어, 적어도 약 30 염기 쌍(base pairs)(bp))의 서열들일 수 있다.

[0045]

생체 분자들의 개개의 서브유닛들은 마커들을 사용하여 식별될 수 있다. 일부 예들에서, 발광성 마커들이 생체 분자들의 개개의 서브유닛들을 식별하는 데 사용된다. 일부 실시예들은 발광성 마커들(본 명세서에서 "마커들"이라고도 언급됨)을 사용하는데, 이들은 외인성 또는 내인성 마커들일 수 있다. 외인성 마커들은 발광성 표지를 위한 리포터 및/또는 태그로서 사용되는 외부의 발광성 마커들일 수 있다. 외인성 마커들의 예들은 형광성 분자, 형광단, 형광성 염료, 형광성 염색, 유기 염료, 형광성 단백질, 형광 공명 에너지 전달(fluorescence resonance energy transfer)(FRET)에 참여하는 종, 효소, 및/또는 양자점들을 포함할 수 있지만 이들에 제한되지 않는다. 다른 외인성 마커들이 관련 기술 분야에 공지되어 있다. 이러한 외인성 마커들은 특정 표적 또는 캠포닌트에 특히 결합하는 프로브 또는 관능기(functional group)(예를 들어, 분자, 이온, 및/또는 리간드)에 접합(conjugate)될 수 있다. 외인성 태그 또는 리포터를 프로브에 부착하는 것은 외인성 태그 또는 리포터의 존재의 검출을 통하여 표적의 식별을 가능하게 한다. 프로브들의 예들은 단백질, 핵산(예를 들어, DNA, RNA) 분자, 지질 및 항체 프로브를 포함할 수 있다. 외인성 마커와 관능기의 조합은, 분자 프로브, 표지된 프로브, 혼성화 프로브, 항체 프로브, 단백질 프로브(예를 들어, 비오틴-결합 프로브), 효소 표지, 형광성 프로브, 형광성 태그, 및/또는 효소 리포터를 포함한, 검출에 사용되는 임의의 적합한 프로브, 태그, 및/또는 표지를 형성할

수 있다.

[0046] 본 개시는 발광성 마커들에 대해 언급하지만, 다른 유형의 마커들이 본 명세서에 제공된 디바이스들, 시스템들 및 방법들과 함께 사용될 수 있다. 이러한 마커들은 질량 태그, 정전기 태그, 또는 전기 화학 표지일 수 있다.

[0047] 외인성 마커들이 샘플에 부가될 수 있지만, 내인성 마커들이 이미 샘플의 일부일 수 있다. 내인성 마커들은 여기 에너지가 있을 때 발광하거나 "자가형광(autofluoresce)" 할 수 있는 존재하는 임의의 발광성 마커를 포함할 수 있다. 내인성 형광단들의 자가형광은 외인성 형광단들의 도입을 요구하지 않고 표지 없는 비침습적 표지 (label-free and noninvasive labeling)를 제공할 수 있다. 이러한 내인성 형광단들의 예들은, 제한이 아닌 예로서, 헤모글로빈, 산화 헤모글로빈(oxyhemoglobin), 지질, 콜라겐 및 엘라스틴 교차결합, 환원된 니코틴아마이드 아데닌 다이뉴클레오타이드(reduced nicotinamide adenine dinucleotide)(NADH), 산화 플라빈(FAD 및 FMN), 리포푸신, 케라틴, 및/또는 포르파린을 포함할 수 있다.

[0048] 일부 실시예들은 시료에서 단일 분자를 검출하는 것에 의한 진단 검사에 관한 것일 수 있지만, 본 발명자들은 또한 본 개시의 단일 분자 검출 능력들이, 예를 들어, 유전자들의 하나 이상의 핵산 세그먼트들의 폴리펩티드 (예를 들어, 단백질) 서열 분석 또는 핵산(예를 들어, DNA, RNA) 서열 분석을 수행하는 데 사용될 수 있다는 점을 인식했다. 핵산 서열 분석 기술은 서열 분석 프로세스에서의 속도, 판독 길이, 및 에러의 정도에서 뿐만 아니라 핵산 서열을 결정하는 데 사용되는 방법들에서 다양할 수 있다. 예를 들어, 일부 핵산 서열 분석 방법들은 합성에 의한 서열 분석에 기초하며, 여기서 뉴클레오티드의 아이덴티티는 뉴클레오티드가 표적 핵산에 상보적인 핵산의 최근에 합성된 가닥에 통합된 것으로서 결정된다.

[0049] 단일 분자 검출 및/또는 핵산 서열 분석을 수행하기 위한 단순한, 덜 복잡한 장치들에 대한 필요를 인지하고, 본 발명자들은 상이한 분자들을 표지하기 위해, 광학(예를 들어, 발광성) 태그들과 같은, 태그들의 세트들을 이용하여 상이한 분자들을 표지하기 위해 발광성 태그들의 세트들을 이용하여 단일 분자들을 검출하는 기법들을 대해 구상하였다. 그러한 단일 분자들은 태그들을 가진 뉴클레오티드들 또는 아미노산들일 수 있다. 태그들은 단일 분자들에 결합된 동안, 단일 분자들로부터의 방출시에, 또는 단일 분자들에 결합되고 그로부터 방출시에 검출될 수 있다. 일부 예들에서, 태그들은 발광성 태그들이다. 선택된 세트 내의 각각의 발광성 태그는 각각의 분자와 관련된다. 예를 들어, 4개의 태그의 세트가 DNA에 존재하는 핵염기들을 "표지(label)"하는 데 이용될 수 있다 - 세트의 각각의 태그는 상이한 핵염기와 관련되는데, 예를 들어, 제1 태그는 아데닌(A)과 관련되고, 제2 태그는 시토신(C)과 관련되고, 제3 태그는 구아닌(G)과 관련되고, 제4 태그는 티민(T)과 관련된다. 또한, 태그들의 세트 내의 발광성 태그들 각각은 세트의 제1 태그를 세트 내의 다른 태그들과 구별하기 위해 이용될 수 있는 상이한 특성들을 가진다. 이렇게 하여, 각각의 태그는 이러한 특징적인 특성을 중 하나 이상을 이용하여 고유하게 식별된다. 제한이 아닌 예로서, 하나의 태그를 또 다른 태그와 구별하기 위해 이용될 수 있는 태그들의 특성들은 여기 에너지에 응답하여 태그에 의해 방출되는 광의 방출 에너지 및/또는 파장 및/또는 특정 태그를 여기 상태에 두기 위해 그 태그에 의해 흡수되는 여기 광의 파장을 포함할 수 있다.

[0050] 발광성 마커들은 그들이 방출하는 광의 파장, 그들이 방출하는 광의 시간 특성(예를 들어, 그들의 방출 감쇠 시간 기간들) 및 여기 에너지에 대한 그들의 반응이 달라진다. 따라서, 발광성 마커들은 이를 특성을 검출하는 것에 기초하여 식별되거나 다른 발광성 마커들로부터 구별될 수 있다. 그러한 식별 또는 구별 기법들은 단독으로 또는 임의의 적합한 조합으로 사용될 수 있다.

[0051] 일부 실시예들에서, 본 명세서에 기술된 통합 광검출기는 형광 수명과 같은 휘도 수명을 측정하거나 구별할 수 있다. 수명 측정들은 하나 이상의 마커(예를 들어, 형광 분자)를 여기시키고, 방출된 발광의 시간 변화를 측정하는 것에 기초한다. 마커가 여기 상태에 도달한 후에 마커가 광자를 방출할 확률은 시간이 지남에 따라 기하급수적으로 감소한다. 확률이 감소하는 속도는 마커의 특성일 수 있으며, 상이한 마커들에 대해 상이할 수 있다. 마커들에 의해 방출되는 광의 시간 특성을 검출하는 것은 마커들을 식별하고 및/또는 마커들을 서로에 대해 구별하는 것을 허용할 수 있다.

[0052] 여기 상태에 도달한 후, 마커는 주어진 시간에 특정 확률로 광자를 방출할 수 있다. 여기된 마커로부터 방출되는 광자의 확률은 마커의 여기 후에 시간이 지남에 따라 감소할 수 있다. 시간이 지남에 따라 방출되는 광자의 확률의 감소는 지수 감쇠 함수 $p(t) = e^{(-t/\tau)}$ 로 나타낼 수 있는데, 여기서 $p(t)$ 는 시간 t 에서의 광자 방출의 확률이고, τ 는 마커의 시간 파라미터이다. 시간 파라미터 τ 는 마커가 광자를 방출할 확률이 특정 값일 때 여기 후 시간을 나타낸다. 시간 파라미터 τ 는 그의 흡수 및 방출 스펙트럼 특성들과는 별개일 수 있는 마커의 특성이다. 이러한 시간 파라미터 τ 는 휘도 수명, 형광 수명 또는 간단히 마커의 "수명"으로 지칭된다.

- [0053] 도 1a는 상이한 수명들을 가진 2개의 마커에 대해 시간의 함수로서 방출되는 광자의 확률을 나타낸다. 확률 곡선 B로 나타내어진 마커는 확률 곡선 A로 나타내어진 마커에 대한 방출의 확률보다 더 빠르게 감쇠하는 방출의 확률을 갖는다. 확률 곡선 B로 나타내어진 마커는 확률 곡선 A로 나타내어진 마커보다 짧은 시간 파라미터 τ 또는 수명을 갖는다. 마커들은 일부 실시예들에서 0.1 내지 20ns 범위의 수명을 가질 수 있다. 그러나, 본 명세서에 기술된 기법들은 사용된 마커(들)의 수명에 대해 제한되지 않는다.
- [0054] 마커의 수명은 둘 이상의 마커를 구별하는 데 이용될 수 있고, 및/또는 마커(들)를 식별하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 수명들을 갖는 복수의 마커가 여기 소스에 의해 여기되는 수명 측정들이 수행될 수 있다. 예로서, 각각 0.5, 1, 2 및 3나노초의 수명을 갖는 4개의 마커는 선택된 파장(예를 들어, 예로서, 635nm)을 갖는 광을 방출하는 광원에 의해 여기될 수 있다. 마커들은 마커들에 의해 방출된 광의 수명을 측정하는 것에 기초하여 식별되거나 서로 구별될 수 있다.
- [0055] 수명 측정들은 절대 강도 값들과는 대조적으로, 시간이 지남에 따라 강도가 어떻게 변화하는지를 비교함으로써 상대 강도 측정들을 사용할 수 있다. 결과적으로, 수명 측정들은 절대 강도 측정들의 어려움들 중 일부를 피할 수 있다. 절대 강도 측정들은 존재하는 마커들의 농도에 의존할 수 있으며 다양한 마커 농도들에 대해 캘리브레이션 단계들이 필요할 수 있다. 대조적으로, 수명 측정들은 마커들의 농도에 민감하지 않을 수 있다.
- [0056] 실시예들은 태그 세트 내의 제1 태그를 동일한 세트 내의 다른 태그들과 구별하기 위해 태그 특성들의 임의의 적합한 조합을 사용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들은 태그들을 식별하기 위해 태그들로부터의 방출 광의 타이밍 정보만을 사용할 수 있다. 그러한 실시예들에서, 선택된 태그 세트 내의 각각의 태그는 그 세트 내의 다른 태그들과 상이한 방출 수명을 가지며, 발광성 태그들은 모두 단일 여기 소스로부터의 광에 의해 여기된다. 도 1ba는 4개의 태그가 상이한 평균 방출 수명들(τ)을 나타내는 일 실시예에 따른 4개의 발광성 태그로부터의 방출 타이밍을 도시한다. 태그가 특정 값의 수명을 갖는 것으로 측정되는 확률은 본 명세서에서 태그의 "방출 타이밍"이라고 지칭된다. 제1 발광성 태그로부터의 제1 방출 타이밍(1-101)은 τ_1 에서의 수명을 갖는 피크 확률을 가지며, 제2 발광성 태그로부터의 제2 방출 타이밍(1-102)은 τ_2 에서의 수명을 갖는 피크 확률을 가지며, 제3 발광성 태그로부터의 제3 방출 타이밍(1-103)은 τ_3 에서의 수명을 갖는 피크 확률을 가지며, 제4 발광성 태그로부터의 제4 방출 타이밍(1-104)은 τ_4 에서의 수명을 갖는 피크 확률을 갖는다. 이 실시예에서, 4개의 발광성 태그의 수명 확률 피크들은 $\tau_1 < \tau_2 < \tau_3 < \tau_4$ 의 관계를 만족시키는 임의의 적합한 값들을 가질 수 있다. 도 1ba에 도시된 바와 같이, 4개의 타이밍 방출 그래프는 특정 발광성 태그의 수명의 약간의 변화들로 인해 중첩되거나 중첩되지 않을 수 있다. 이 실시예에서, 4개의 태그들 각각이 여기 소스로부터의 광을 최대로 흡수하는 여기 파장은 실질적으로 동일하지만, 반드시 그럴 필요는 없다. 상기 태그 세트를 사용하여, 4개의 상이한 문자가 태그 세트로부터의 각각의 태그로 라벨링될 수 있고, 태그들은 단일 여기 소스를 사용하여 여기될 수 있고, 태그들은 광학계 및 센서들을 사용하여 태그들의 방출 수명을 검출함으로써 서로 구별될 수 있다. 도 1ba는 4개의 상이한 태그를 도시하지만, 임의의 적합한 수의 태그가 사용될 수 있다는 것을 이해해야 한다.
- [0057] 다른 실시예들은 태그 세트 내의 태그의 아이덴티티를 결정하기 위해 태그 특성들의 임의의 적합한 조합을 사용할 수 있다. 사용될 수 있는 태그 특성들의 예는 여기 파장, 방출 파장, 및 방출 수명을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 태그 특성들의 조합은 위상 공간을 형성하고, 각각의 태그는 이 위상 공간 내의 포인트로서 나타내어질 수 있다. 태그 세트 내의 태그들은 검출 메커니즘이 각각의 태그를 세트 내의 다른 태그들과 구별할 수 있도록 세트 내의 각각의 태그 사이의 "거리"가 충분히 크도록 선택되어야 한다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 태그들의 서브세트가 동일한 방출 파장을 갖지만, 상이한 방출 수명들 및/또는 상이한 여기 파장들을 갖는 태그 세트가 선택될 수 있다. 다른 실시예들에서, 태그들의 서브세트가 동일한 방출 수명을 가지만, 상이한 방출 파장들 및/또는 상이한 여기 파장들을 갖는 태그 세트가 선택될 수 있다. 다른 실시예들에서, 태그들의 서브세트가 동일한 여기 파장을 갖지만, 상이한 방출 파장들 및/또는 상이한 방출 수명들을 갖는 태그 세트가 선택될 수 있다.
- [0058] 제한이 아닌 예로서, 도 1bb는 일 실시예에 따른 4개의 발광성 태그로부터의 방출 스펙트럼을 도시하는 것으로, 이 실시예에서 태그들 중 2개의 태그는 제1 피크 방출 파장을 갖고 다른 2개의 태그는 제2 피크 방출 파장을 갖는다. 제1 발광성 태그로부터의 제1 발광 스펙트럼(1-105)은 λ_1 에서 피크 방출 파장을 가지며, 제2 발광성 태그로부터의 제2 방출 스펙트럼(1-106)도 λ_1 에서 피크 방출 파장을 가지며, 제3 발광성 태그로부터의 제3 방출 스펙트럼(1-107)은 λ_2 에서 피크 방출 파장을 가지며, 제4 발광성 태그로부터의 제4 방출 스펙트럼(1-108)도 λ_2 에서 피크 방출 파장을 갖는다. 이 실시예에서, 4개의 발광성 태그의 방출 피크들은 $\lambda_1 < \lambda_2$ 의 관계를 만족시키는 임의의 적합한 값들을 가질 수 있다. 피크 방출 파장이 둘 이상의 발광성 태그에 대해 동일한 이와 같

은 실시예들에서, 동일한 방출 파장을 갖는 태그들의 개별 특성이 상이해야 한다. 예를 들어, $\lambda 1$ 에서 방출하는 2개의 태그는 상이한 방출 수명들을 가질 수 있다. 도 1ca는 방출 파장 및 방출 수명이 결쳐 있는 위상 공간에서의 이러한 상황을 개략적으로 도시한다. 제1 태그는 방출 파장 $\lambda 1$ 및 발광 수명 $\tau 1$ 을 갖고, 제2 태그는 방출 파장 $\lambda 1$ 및 방출 수명 $\tau 4$ 를 갖고, 제3 태그는 방출 파장 $\lambda 2$ 및 방출 수명 $\tau 1$ 을 가지며, 제4 태그는 방출 파장 $\lambda 2$ 및 발광 수명 $\tau 4$ 를 갖는다. 이러한 방식으로, 도 1ca에 도시된 태그 세트 내의 4개의 태그 모두는 서로 구별 가능하다. 이러한 태그 세트를 사용하는 것은 4개의 염료에 대한 흡수 파장들이 동일한 경우에도 4개의 태그를 구별하는 것을 가능하게 한다. 이것은 광발광의 방출 시간뿐만 아니라 방출 파장도 검출할 수 있는 센서를 사용하여 가능하다.

[0059] 제한이 아닌 예로서, 도 1bc는 또 다른 실시예에 따른 4개의 발광성 태그로부터의 흡수 스펙트럼을 도시한다. 이 실시예에서, 태그들 중 2개의 태그는 제1 피크 흡수 파장을 가지며 다른 2개의 태그는 제2 피크 흡수 파장을 갖는다. 제1 발광성 태그에 대한 제1 흡수 스펙트럼(1-109)은 $\lambda 3$ 에서 피크 흡수 파장을 가지며, 제2 발광성 태그에 대한 제2 흡수 스펙트럼(1-110)은 $\lambda 4$ 에서 피크 흡수 파장을 가지며, 제3 발광성 태그에 대한 제3 흡수 스펙트럼(1-111)은 $\lambda 3$ 에서 피크 흡수 파장을 가지며, 제4 발광성 태그에 대한 제4 흡수 스펙트럼(1-112)은 $\lambda 4$ 에서 피크 흡수 파장을 갖는다. 도 1bc에서 흡수 피크 파장을 공유하는 태그들은 방출 수명과 같은 또 다른 태그 특성을 통해 구별 가능하다. 도 1cb는 흡수 파장 및 방출 수명이 결쳐 있는 위상 공간에서의 이러한 상황을 개략적으로 도시한다. 제1 태그는 흡수 파장 $\lambda 3$ 및 방출 수명 $\tau 1$ 을 가지며, 제2 태그는 흡수 파장 $\lambda 3$ 및 방출 수명 $\tau 4$ 를 가지며, 제3 태그는 흡수 파장 $\lambda 4$ 및 방출 수명 $\tau 1$ 을 가지며, 제4 태그는 흡수 파장 $\lambda 4$ 및 방출 수명 $\tau 4$ 를 갖는다. 이러한 방식으로, 도 1ca에 도시된 태그 세트 내의 4개의 태그 모두는 서로 구별 가능하다.

[0060] 이러한 태그 세트를 사용하는 것은 4개의 염료에 대한 방출 파장들이 구별 불가능한 경우에도 4개의 태그를 구별하는 것을 가능하게 한다. 이것은 상이한 파장들에서 방출하는 2개의 여기 소스 또는 광발광의 방출 시간을 검출할 수 있는 센서와 관련하여 다수의 파장에서 방출할 수 있는 단일 여기 소스를 사용하여 가능하다. 각각의 검출된 방출 이벤트에 대해 여기 광의 파장이 알려지면, 어느 태그가 존재했는지가 결정될 수 있다. 여기 소스(들)는 제1 여기 파장과 제2 여기 파장 사이에 교대할 수 있고, 이는 인터리빙이라고 불린다. 대안적으로, 제1 여기 파장의 2개 이상의 펄스가 사용되고 이어서 제2 여기 파장의 2개 이상의 펄스가 사용될 수 있다.

[0061] 태그들을 구별하기 위해 이용된 여기 소스 또는 여기 파장의 수는 2개로 제한되지 않으며, 일부 실시예들에서는 태그들을 구별하기 위해 3개 이상의 여기 파장 또는 에너지가 사용될 수 있다. 이러한 실시예들에서, 태그들은 다수의 여기 파장에 응답하여 방출된 광자의 강도 또는 수에 의해 구별될 수 있다. 태그는 특정 여기 파장에 태그를 노출시키는 것에 응답하여 방출된 광자의 양을 검출함으로써 다수의 태그 중에서 구별될 수 있다. 일부 실시예들에서, 태그는 다수의 여기 에너지 중에서 태그가 가장 많은 수의 광자를 방출한 여기 에너지를 식별함으로써 구별될 수 있다. 다른 실시예들에서, 상이한 여기 에너지들에 응답하여 태그로부터 방출된 광자의 양이 태그를 식별하는 데 이용될 수 있다. 제2 여기 에너지보다 제1 여기 에너지에 응답하여 광자들을 방출하는 확률이 더 높은 제1 태그가 제1 여기 에너지보다 제2 여기 에너지에 응답하여 광자들을 방출하는 확률이 더 높은 제2 태그와 구별될 수 있다. 이러한 방식으로, 상이한 여기 에너지들에 응답하여 특정 양의 광자를 방출하는 구별 가능한 확률들을 갖는 태그들은 미지의 태그를 상이한 여기 에너지들에 노출시키면서 방사된 광자들을 측정함으로써 식별될 수 있다. 이러한 실시예들에서, 태그는 다수의 여기 에너지에 노출될 수 있고 태그의 식별은 태그가 임의의 광을 방출했는지 여부 및/또는 방출된 광자의 양을 결정함으로써 달성될 수 있다. 임의의 적합한 수의 여기 에너지 소스가 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 태그들(예를 들어, 4개의 상이한 태그들)을 구별하기 위해 4개의 상이한 여기 에너지가 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 태그들을 구별하기 위해 3개의 상이한 여기 에너지가 사용될 수 있다. 방출 수명 및 방출 스펙트럼을 포함하여, 상이한 여기 에너지들에 응답하여 방출된 광자의 양과 결합하여 태그의 존재를 구별하기 위해 태그의 다른 특성들이 사용될 수 있다.

[0062] 다른 실시예들에서, 어느 태그가 존재하는지를 구별하기 위해 태그 세트 내의 태그들의 3개 이상의 특성이 사용될 수 있다. 도 1d는 태그들의 흡수 파장, 방출 파장 및 방출 수명이 결쳐 있는 예시적인 위상 공간을 도시한다. 도 1d에서는, 8개의 상이한 태그가 위상 공간에 분포되어 있다. 8개의 태그 중 4개의 태그는 동일한 방출 파장을 가지며, 상이한 4개의 태그는 동일한 흡수 파장을 가지며, 상이한 4개의 태그는 동일한 방출 수명을 갖는다. 그러나, 태그들의 3개의 특성 모두가 고려될 때 태그들 각각은 다른 모든 태그와 구별될 수 있다. 실시예들은 임의의 수의 태그들로 제한되지 않는다. 이 개념은 적어도 이 3개의 태그 특성을 사용하여 서로 구별될 수 있는 임의의 수의 태그를 포함하도록 확장될 수 있다.

- [0063] 도면들에 예시되어 있지는 않지만, 다른 실시예들은 흡수 주파수에만 기초해서 발광성 태그의 아이덴티티를 결정할 수 있다. 이러한 실시예들은 여기 광이 태그 세트 내의 태그들의 흡수 스펙트럼과 매칭하는 특정 파장들로 조정(tune)될 수 있는 경우에 가능하다. 이러한 실시예들에서, 각각의 태그로부터 방출된 광을 유도하고 검출하는 데 이용되는 광학계 및 센서는 방출된 광의 파장을 검출할 수 있을 필요가 없다. 이것은 일부 실시예들에서 유리할 수 있는데 그 이유는 이러한 실시예들에서는 방출 파장의 검출이 요구되지 않기 때문에 광학계 및 센서들의 복잡성이 감소되기 때문이다.
- [0064] 위에 설명된 바와 같이, 본 발명자들은 상이한 발광성 태그들을, 그 태그들의 다양한 특성들을 이용하여 서로 구별할 수 있을 필요를 인지하고 인식하였다. 태그의 아이덴티티를 결정하는 데 이용되는 특성들의 유형은 이 분석을 수행하는 데 이용되는 물리적 디바이스에 영향을 준다. 본 출원은 이러한 상이한 실험들을 수행하기 위한 장치, 디바이스, 기기 및 방법들의 몇몇 실시예들을 개시한다.
- [0065] 요약하여, 본 발명자들은 다수의 픽셀(예를 들어, 수백, 수천, 수백만 또는 그 이상)을 가진 픽셀화 센서 디바이스(pixelated sensor device)는 복수의 개개의 문자 또는 입자를 병행하여 검출하는 것을 가능하게 한다는 것을 인지하고 인식하였다. 이러한 단일 문자들은 태그들을 갖는 뉴클레오티드들 또는 아미노산들일 수 있다. 태그들은, 단일 문자들에 결합되는 중, 단일 문자들로부터 방출시, 또는 단일 문자들에 결합되는 중 및 이로부터 방출시에 검출될 수 있다. 일부 예들에서, 태그들은 발광성 태그들이다. 문자들은, 제한이 아닌 예로서, 단백질들 및/또는 핵산들(예를 들어, DNA, RNA)일 수 있다. 또한, 초당 100 프레임보다 많이 데이터를 취득할 수 있는 고속 디바이스는 분석되는 샘플 내에서 시간이 지남에 따라 발생하는 동적인 프로세스들 또는 변화들의 검출 및 분석을 가능하게 한다.
- [0066] 본 발명자들은, 여기 광원, 옵틱스, 및 생물학적 샘플들로부터 방출되는 광 신호(예를 들어, 발광성 광)을 측정하기 위한 광 센서를 포함하는 기기와 관련되어 저비용의 일회용 검정 칩(assay chip)이 사용될 수 있다는 점을 인지하고 인식하였다. 저비용 검정 칩을 사용하는 것은 주어진 생물학적 검정(bioassay)을 수행하는 비용을 감소시킨다. 생물학적 샘플이 검정 칩상에 놓이고, 단일의 생물학적 검정이 완료되면, 폐기처분될 수 있다. 일부 실시예들에서는, 다수의 샘플들을 동시에 검정 칩의 상이한 부분들에 배치함으로써, 2개 이상의 유형의 샘플이 동시에 병행하여 분석될 수 있다. 검정 칩은 더 비싼, 다용도 기기와 인터페이스하고, 이는 많은 상이한 일회용 검정 칩들과 반복해서 사용될 수 있다. 콤팩트한 휴대 기기와 인터페이스하는 저비용 검정 칩은, 샘플들을 분석하기 위해 실험실 전문 지식을 요구하는 고비용 생물학적 연구실들의 제약 없이, 세계 어디에서나 사용될 수 있다. 그러므로, 이전에는 생물학적 샘플들의 정량 분석을 수행할 수 없었던 세계의 지역들에 자동화된 생분석학(automated bioanalytics)을 가져올 수 있다. 예를 들어, 유아들을 위한 혈액 검사들은 일회용 또는 재활용 검정 칩 위에 혈액 샘플을 배치하고, 분석을 위한 작은, 휴대용 기기 안에 일회용 검정 칩을 배치하고, 사용자가 즉각 검토할 수 있도록 기기에 연결되는 컴퓨터에 의해 결과들을 처리하는 것에 의해 수행될 수 있다. 데이터는 또한 분석되기 위해, 그리고/또는 차후의 임상 분석용으로 기록 보관되기 위해 데이터 네트워크를 통하여 원격 위치로 송신될 수 있다. 대안적으로, 기기는 기기의 센서들로부터 획득된 데이터를 분석하기 위한 하나 이상의 프로세서를 포함할 수 있다.
- [0067] 다양한 실시예들이 이하에서 더 상세히 설명된다.
- [0068] I. 일부 실시예들에 따른 장치의 개관
- [0069] 장치(2-100)의 개략적인 개관이 도 2a에 도시되어 있다. 시스템은 검정 칩(2-110), 및 여기 소스(2-121)와 적어도 하나의 센서(2-122)를 포함하는 기기(2-120) 양자 모두를 포함한다. 검정 칩(2-110)은 임의의 적합한 검정 칩 인터페이스를 사용하여 기기(2-120)와 인터페이스한다. 예를 들어, 기기(2-120)의 검정 칩 인터페이스는 검정 칩(2-110)을 수용하고 이를 여기 소스(2-110) 및 적어도 하나의 센서(2-122)와 정확한 광학적 정렬로 유지하기 위한 소켓(도시되지 않음)을 포함할 수 있다. 기기(2-120) 내의 외부 여기 소스(2-121)는 검정 칩(2-110)의 샘플 우물(2-111) 내의 샘플을 여기시키기 위해 검정 칩(2-110)에 여기 에너지를 제공하도록 구성된다. 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 다수의 픽셀을 가지며, 각각의 픽셀의 샘플 우물(2-111)은 다른 픽셀들과 독립적인 분석에 사용되는 샘플을 수용하도록 구성된다. 검정 칩(2-110)의 각각의 픽셀은 분석되는 시편으로부터의 샘플을 수용, 보유 및 분석하기 위한 샘플 우물(2-211)을 포함한다. 이러한 픽셀들은 픽셀들이 픽셀과는 별개인 여기 소스로부터 여기 에너지를 수신하기 때문에 "수동 소스 픽셀들(passive source pixels)"로서 언급될 수 있다. 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)상에 존재하는 각각의 픽셀에 대응하는 픽셀이 기기(2-120)에 존재한다. 기기(2-120)의 각각의 픽셀은 샘플이 여기 소스(2-121)로부터의 여기 에너지로 조명되는 것에 응답하여 샘플에 의해 방출된 방출 에너지를 검출하기 위한 적어도 하나의 센서를 포함한다. 일부 실시예들에서,

각각의 센서는 다수의 서브-센서를 포함하고, 각각의 서브-센서는 샘플로부터의 방출 에너지의 상이한 파장을 검출하도록 구성된다. 2개 이상의 서브-센서가 특정 파장의 방출 에너지를 검출할 수 있지만, 각각의 서브-센서가 방출 에너지의 상이한 파장 대역을 검출할 수 있다.

[0070] 일부 실시예들에서는, 여기 에너지를 여기 소스(2-121)로부터 샘플 우물(2-111)로 유도하고 결합하기 위한 광학 엘리먼트들이, 도 2a의 화살표(2-101)에 의해 표시된 바와 같이, 검정 칩(2-110) 및 기기(2-120) 양자 모두상에 위치한다. 이러한 소스-우물 간 엘리먼트는 검정 칩(2-110) 및 검정 칩(1-110)상의 렌즈들, 플라즈몬 엘리먼트들 및 유전체 코팅들에 여기 에너지를 결합하여 기기(2-120)로부터 수신된 여기 에너지를 샘플 우물(2-111)로 유도하기 위해 기기(2-120)상에 위치하는 미러들, 렌즈들, 유전체 코팅들 및 빔 결합기들을 포함할 수 있다. 또한, 일부 실시예들에서, 도 2a에서 화살표(2-102)로 나타낸 바와 같이 샘플 우물(2-111)로부터의 방출 에너지를 센서(2-122)로 유도하기 위한 광학 엘리먼트들이 검정 칩(2-110) 및 기기(2-120)상에 위치한다. 이러한 우물-샘플 간 엘리먼트들은 방출 에너지를 검정 칩(2-110)으로부터 기기(2-120)로 유도하기 위해 검정 칩(2-110)상에 위치하는 렌즈들, 플라즈몬 엘리먼트들 및 유전체 코팅들, 및 검정 칩(2-110)으로부터 수신되는 방출 에너지를 센서(2-111)로 유도하기 위한 기기(1-120)상의 렌즈들, 미러들, 유전체 코팅들, 필터들 및 회절 옵틱스를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서는, 단일 컴포넌트가 여기 에너지를 샘플 우물에 결합하고 샘플 우물로부터의 방출 에너지를 센서로 전달하는 양자 모두에서의 역할을 할 수 있다.

[0071] 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 복수의 광셀을 포함하고, 각각의 광셀은 그 자신의 개개의 샘플 우물(2-111) 및 기기(2-120)상의 그 자신의 관련된 센서(2-122)와 관련된다. 복수의 광셀은 어레이로 배열될 수 있고, 임의의 적합한 수의 광셀들을 가질 수 있다. 예를 들어, 검정 칩은 대략 1,000 광셀들, 10,000 광셀들, 대략 100,000 광셀들, 대략 1,000,000 광셀들, 대략 10,000,000 광셀들, 또는 대략 100,000,000 광셀들을 포함할 수 있다.

[0072] 일부 실시예들에서, 기기(2-120)는 복수의 광셀로서 배열된 복수의 센서(2-122)를 포함하는 센서 칩을 포함한다. 센서 칩의 각각의 광셀은 검정 칩(2-110)에서의 광셀에 대응한다. 복수의 광셀은 어레이로 배열될 수 있고, 임의의 적합한 수의 광셀들을 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서 칩은 검정 칩(2-110)과 동일한 수의 광셀들을 갖는다. 예를 들어, 센서 칩은 대략 10,000 광셀들, 대략 100,000 광셀들, 대략 1,000,000 광셀들, 대략 10,000,000 광셀들, 또는 대략 100,000,000 광셀들을 포함할 수 있다.

[0073] 기기(2-120)는 검정 칩 인터페이스(도시되지 않음)을 통해 검정 칩(2-110)과 인터페이스한다. 검정 칩 인터페이스는 여기 소스(2-121)로부터 검정 칩(2-110)으로의 여기 에너지의 결합을 개선하기 위해 기기(2-120)에 검정 칩(2-110)을 배치 및/또는 정렬시키기 위한 컴포넌트들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 소스(2-121)는 여기 에너지를 검정 칩(2-110)에 전달하기 위해 결합되는 다수의 여기 소스를 포함한다. 다수의 여기 소스는 상이한 파장들의 광에 대응하는, 다수의 여기 에너지를 생성하도록 구성될 수 있다.

[0074] 기기(2-120)는 기기의 동작을 제어하기 위한 사용자 인터페이스(2-125)를 포함한다. 사용자 인터페이스(2-125)는 사용자가 기기의 기능을 제어하는 데 이용되는 명령들 및/또는 설정들과 같은 정보를 기기에 입력할 수 있도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 사용자 인터페이스(2-125)는 버튼, 스위치, 다이얼, 및 음성 명령들을 위한 마이크로폰을 포함할 수 있다. 또한, 사용자 인터페이스(2-125)는 사용자가 적절한 정렬과 같은, 기기 및/또는 검정 칩의 수행에 대한 피드백 및/또는 검정 칩상의 센서들로부터의 판독 신호들에 의해 획득된 정보를 수신하는 것을 가능하게 할 수 있다. 일부 실시예들에서, 사용자 인터페이스(2-125)는 가정 피드백을 제공하는 스피커, 및/또는 시각적 피드백을 제공하는 인디케이터 라이트(indicator lights) 및/또는 디스플레이 스크린을 이용하여 피드백을 제공할 수 있다. 일부 실시예들에서, 기기(2-120)는 컴퓨팅 디바이스(2-130)와 연결하는 데 사용되는 컴퓨터 인터페이스(2-124)를 포함한다. 임의의 적합한 컴퓨터 인터페이스(2-124)와 컴퓨팅 디바이스(2-130)가 사용될 수 있다. 예를 들어, 컴퓨터 인터페이스(2-124)는 USB 인터페이스 또는 파이어와이어 인터페이스일 수 있다. 컴퓨팅 디바이스(2-130)는 랩톱, 테스크톱 또는 태블릿 컴퓨터와 같은, 임의의 범용 컴퓨터, 또는 셀룰러 전화와 같은 모바일 디바이스일 수 있다. 컴퓨터 인터페이스(2-124)는 기기(2-120)와 컴퓨팅 디바이스(2-130) 사이의 정보의 통신을 용이하게 한다. 기기(2-120)를 제어하기 위한 그리고/또는 구성하기 위한 입력 정보가 기기의 컴퓨터 인터페이스(2-124)에 연결된 컴퓨팅 디바이스(2-130)를 통하여 제공될 수 있다. 또한, 출력 정보가 컴퓨터 인터페이스(2-124)를 통하여 컴퓨팅 디바이스(2-130)에 의해 수신될 수 있다. 이러한 출력 정보는 기기(2-120)의 수행에 대한 피드백 및 센서들(2-122)로부터의 판독 신호들로부터의 정보를 포함할 수 있다. 기기(2-120)는 또한 센서들(2-122)로부터 수신된 데이터를 분석하기 위한 처리 디바이스(2-123)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 처리 디바이스(2-123)는 범용 프로세서(예를 들어, CPU(central processing unit), FPGA(field-programmable gate array), 또는 ASIC(application-specific integrated

circuit)과 같은 커스텀 집적 회로(custom integrated circuit))를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서(1-122)로부터의 데이터의 처리는 처리 디바이스(2-123)와 외부 컴퓨팅 디바이스(2-130) 양자 모두에 의해 수행될 수 있다. 다른 실시예들에서는, 컴퓨팅 디바이스(2-130)가 생략될 수 있고, 센서들(2-122)로부터의 데이터의 처리가 처리 디바이스(2-123)에 의해서만 수행될 수 있다.

[0075] 여기 소스(2-121)가 여기 에너지로 검정 칩(2-110)을 조명할 때, 검정 칩(2-110)의 하나 이상의 픽셀들 내의 샘플들이 여기될 수 있다. 일부 실시예들에서, 시편은 다수의 마커로 표지되고, 시편 내에 상이한 샘플과 각각 관련된 다수의 마커는 방출 에너지에 의해 식별 가능하다. 샘플 우물(2-111)로부터 센서(2-122)까지의 경로는 방출 에너지에 기초하여 다수의 마커를 식별하는 데 도움이 되는 하나 이상의 컴포넌트를 포함할 수 있다. 컴포넌트들은 센서(2-122) 쪽으로 방출 에너지를 집중시킬 수 있고, 추가적으로 또는 대안적으로 상이한 특성에 에너지들, 및 이에 따라 상이한 파장들을 갖는 방출 에너지들을 공간적으로 분리할 수 있다. 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 방출 에너지를 센서(2-122) 쪽으로 유도하는 컴포넌트들을 포함할 수 있고, 기기(2-120)는 상이한 파장들의 방출 에너지를 공간적으로 분리하기 위한 컴포넌트들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 방출 에너지의 파장을 공간 자유도(spatial degree of freedom)에 결합하는 데 광학 필터들 또는 회절 옵틱스가 사용될 수 있다. 센서 또는 센서 영역은 방사 패턴에 의존하는 방출 에너지의 공간 분포를 검출하도록 구성되는 다수의 서브-센서를 포함할 수 있다. 상이한 방출 에너지들 및/또는 스펙트럼 범위들을 방출하는 발광성 태그들은 상이한 방사 패턴들을 형성할 수 있다. 센서 또는 센서 영역은 다수의 마커 중에서 마커를 식별하는 데 사용될 수 있는 방출 에너지의 공간 분포에 대한 정보를 검출할 수 있다.

[0076] 샘플 우물(2-110) 내의 샘플로부터의 방출 에너지는 센서(2-122)에 의해 검출되고 적어도 하나의 전기 신호로 변환될 수 있다. 이러한 전기 신호들은 기기(2-120)의 회로에서 도전 라인들을 따라 송신되고 처리 디바이스(2-123) 및/또는 컴퓨팅 디바이스(2-130)에 의해 처리 및/또는 분석될 수 있다.

[0077] 도 2b는 검정 칩(2-110)의 상면도 및 센서 칩(2-260)의 상면도이고, 2개의 칩의 픽셀들 사이의 대응관계를 도시한다. 검정 칩(2-110)은 복수의 픽셀을 포함하며, 각각의 픽셀은 층(2-221)에 형성된 샘플 우물(2-111)을 포함한다. 층(2-221)은 금속, 고도로 축퇴형으로 도핑된(degeneratively-doped) 반도체, 및 그래핀을 포함하는 도전성 재료를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 층(2-221)은 하나 이상의 상이한 유형의 재료들(예를 들어, 금속, 반도체, 유전체, 절연체)로 형성된 복수의 층을 포함할 수 있다. 센서 칩(2-260)은 또한 복수의 픽셀을 포함하고, 각각의 픽셀은 기판(2-247) 내에 또는 그 위에 형성된 센서(2-121)를 포함한다. 도 2b에서의 화살표들은 검정 칩(2-110)의 픽셀들 중 2개와 센서 칩(2-260)의 픽셀들 중 2개 사이의 대응관계를 도시한다. 명확성을 위해 도시되지는 않았지만, 검정 칩(2-110)의 각각의 픽셀은 센서 칩(2-260)의 픽셀과 관련된다.

[0078] 검정 칩(2-110)과 센서 칩(2-260)의 픽셀은 임의의 적합한 사이즈, 형상, 및 배열을 가질 수 있다. 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-100)과 센서 칩(2-260)의 픽셀은 도 2b에 도시된 바와 같이 직사각형 또는 정사각형 구성으로 배열될 수 있다.

[0079] 검정 칩(2-110)의 단일 픽셀 및 센서 칩(2-260)의 단일 픽셀과 관련된 일부 컴포넌트들의 개요가 도 2c에 도시된다. 장치(2-100)는 검정 칩(2-110) 및 기기(2-120) 양자 모두를 포함한다. 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 단일 시편의 분석을 위해 설계된 일회용 칩이다. 검정 칩(2-110)은 하나 이상의 금속층(2-221), 하나 이상의 유전체층(2-225) 및 포커싱 엘리먼트들(2-227)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 금속층(2-221)은 층들의 스택을 포함하고, 그 중 일부는 흡수층들을 포함할 수 있다. 기기(2-120)는 하나 이상의 여기 소스(2-250), 적어도 하나의 다색성 미러(2-230), 및 센서 칩(2-260)을 포함하고, 이 센서 칩은 필터링 엘리먼트들(2-241), 스펙트럼 소팅 엘리먼트들(2-243), 포커싱 엘리먼트들(2-245) 및 기판(2-247) 내의 또는 그 위의 적어도 하나의 센서(2-122)를 포함할 수 있다. 도 2c는 검정 칩(2-110)의 단일 픽셀 및 센서 칩(2-260)의 단일 픽셀만을 도시하지만, 여기 소스(2-250), 다색성 미러(2-230), 및 필터링 엘리먼트들(2-241)과 같은 기기(2-120)의 일부 컴포넌트들은 복수의 픽셀에 공통일 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서, 단일 여기 소스(2-250) 및 다색성 미러(2-230)가 여기 에너지를 검정 칩(2-110)의 모든 픽셀로 유도할 수 있다.

[0080] 금속층(2-221) 내의 샘플 우물(2-211)은 시편으로부터의 샘플이 들어가기 위한 샘플 체적을 형성한다. 일부 실시예들에서, 시편은 혈액, 소변 또는 타액과 같은, 체액을 포함할 수 있다. 샘플 우물(2-211)의 단부에서의 개구들은 나노 개구로서 언급될 수 있다. 나노 개구는 여기 소스(2-250)에 의해 방출된 여기 에너지(2-251)의 파장보다 작은 폭을 가질 수 있다. 샘플로서 언급된, 시편의 일부가 샘플 우물(2-211)에 의해 정의되는 샘플 체적에 들어갈 수 있다. 샘플은 시편에 존재하는 임의의 입자, 문자, 단백질, 유전 재료 또는 임의의 다른 샘플일 수 있다.

- [0081] 여기 소스(2-250)는 여기 에너지(2-251)를 방출하고, 이는 샘플을 조명하기 위해 샘플 우물(2-211) 쪽으로 유도된다. 일부 실시예들에서, 여기 소스(2-251)는 검정 칩(2-110)의 모든 핀에 대해 여기 에너지를 제공하는 단일 광원일 수 있다. 다색성 미러(2-230)는 여기 소스(2-250)으로부터의 광을 반사하고 여기 에너지(2-251)를 검정 칩(2-110)의 하나 이상의 샘플 우물(2-211) 쪽으로 유도한다. 따라서, 일부 실시예들에서, 각각의 핀이 그 자신의 다색성 미러와 관련되기보다는, 모든 샘플 우물 쪽으로 여기 에너지를 유도하는 단일 다색성 미러(2-230)만이 존재할 수 있다. 유사하게, 여기 에너지를 샘플 우물들(2-211) 쪽으로 유도하는 데 사용되는 다른 광학 엘리먼트들 사이에 일 대 다 관계가 존재할 수 있다.
- [0082] 동심 원형 격자(2-223)가 샘플 우물(2-211)의 바닥 나노 개구에 인접하여 형성될 수 있다. 동심 원형 격자(2-223)는 금속층(2-221)의 바닥 표면으로부터 돌출할 수 있다. 샘플 우물(2-211)은 원형 격자(2-223)의 중심에 또는 그 근처에 위치할 수 있다. 동심 원형 격자들(2-223) 및 샘플 우물(2-211)의 나노 개구의 서브-파장 스케일 양자 모두는, 샘플 우물(2-211)에서 여기 에너지의 강도를 증가시키는 장 강화 효과를 생성하여, 샘플 우물(2-211)에 존재하는 샘플로의 여기 에너지의 증가된 결합을 야기한다. 적어도 일부 시간, 샘플은 여기 에너지로부터 광자를 흡수하고, 여기 에너지(2-251)의 것 미만의 에너지를 갖는 광자("방출 에너지"(2-253)으로서 언급됨)를 방출한다. 방출 에너지(2-253)는 하향 방향으로 방출될 수 있다. 원형 격자들(2-223)은 방출 에너지(2-253)의 확산을 감소시키고 방출 에너지(2-253)를 관련된 센서 쪽으로 유도하는 데 사용될 수 있는 플라즈몬 엘리먼트로서 역할을 한다.
- [0083] 방출 에너지(2-253)는 유전체층(2-225)을 통과하고, 이 유전체층은 방출 에너지(2-253)가 일부 거리를 전파하게 하는 데 사용되는 스페이서층일 수 있다. 유전체층(2-225)은 또한 검정 칩(2-110)에 구조적 강도를 제공할 수 있다. 그 후 방출 에너지(2-253)는 기기(2-120) 내의 센서 칩(2-2260)의 관련된 핀에서 방출 에너지(2-253)를 센서(2-122)로 더 유도하는 데 사용되는 하나 이상의 포커싱 엘리먼트들(2-227)을 통과한다.
- [0084] 다색성 미러(2-230)는 방출 에너지(2-253)를 투과하고, 검정 칩(2-110)으로부터 반사된 임의의 여기 에너지(2-251)의 일부를 반사한다. 검정 칩(2-110)에 의해 반사되지 않은 여기 광의 일부는 검정 칩을 통해 전송되거나 또는 검정 칩에 의해 흡수된다. 검정 칩(2-110)에 의해 반사되고 다색성 미러(2-230)에 의해 반사되지 않은 여기 에너지(2-251)의 양을 더욱 감소시키기 위해, 필터링 엘리먼트들(2-241)은 센서 칩(2-260)을 향해서 광학 경로에 배치될 수 있다. 필터링 컴포넌트들(2-241)은 센서(2-122)에 의해 검출된 여기 에너지(2-251)를 감소시키는 역할을 할 수 있다. 필터링 엘리먼트들(2-241)은, 제한이 아닌 예로서, 광대역 필터, 노치 필터, 또는 에지 필터를 포함할 수 있고, 이들은 방출 에너지(2-253)를 투과하지만, 여기 에너지(2-251)를 흡수 및/또는 반사한다.
- [0085] 일부 실시예들에서, 샘플 우물(2-211) 내의 마커의 아이덴티티를 결정하는 데 방출 에너지(2-253)의 스펙트럼 특성을 사용하는 것을 용이하게 하기 위해, 스펙트럼 소팅 엘리먼트들(2-243)은 방출 에너지(2-253)가 이동하는 방향으로 방출 에너지(2-253)의 스펙트럼 자유도를 결합하기 위해 센서 칩(2-260)상에 포함될 수 있다. 예를 들어, 제1 파장의 방출 에너지(2-253)를 제1 방향으로 그리고 제2 파장의 방출 에너지(2-253)를 제2 방향으로 유도하는 데 회절 광학 엘리먼트가 사용될 수 있다. 하나 이상의 포커싱 엘리먼트들(2-245)은 센서(2-122)상에 스펙트럼 소팅된 광을 유도하는 데 사용될 수 있다. 센서(2-122)는 하나 이상의 서브-센서(도시되지 않음)를 포함할 수 있고, 그 각각은 스펙트럼 소팅 엘리먼트(2-243)에 의한 상이한 파장들의 광의 재지향에 기초하는 방출 에너지(2-253)의 상이한 파장과 관련된다. 이러한 방식으로, 하나 이상의 포커싱 엘리먼트(2-245)는 방출 에너지의 특성 파장에 기초한 마커들의 식별을 허용할 수 있는 상이한 특성 파장을 갖는 방출 에너지에 대해 상이한 분포 패턴을 형성할 수 있다.
- [0086] 방출 에너지(2-253)의 수명이 샘플 우물(2-211) 내의 마커의 아이덴티티를 결정하는 데 사용되는 실시예들에서, 센서(2-122)는 방출 에너지의 광자가 센서(2-122)에 의해 흡수되는 때를 검출 할 수 있다. 센서(2-122)는, 예를 들어, 검출된 광자들을 복수의 시간 빈으로 소팅할 수 있는 CMOS 디바이스일 수 있다. 수명은 복수의 여기 필스로부터 생성된 복수의 방출 에너지 광자를 검출함으로써 결정될 수 있다.
- [0087] 도 2c의 상기 설명은 일부 실시예들에 따른, 장치의 컴포넌트들의 일부(반드시 전부는 아님)의 개요이다. 일부 실시예들에서, 도 2c의 하나 이상의 엘리먼트는 없거나 또는 상이한 위치에 있을 수 있다. 검정 칩(2-210) 및 기기(2-220)의 컴포넌트들이 이하 보다 상세히 설명된다.
- [0088] 검정 칩(2-110)과 기기(2-120)는 서로 기계적으로 정렬되고, 탈착 가능하게 결합되고, 분리 가능할 수 있다. 기기(2-120)는 기기 하우징을 포함할 수 있으며, 그 내부에는 마운팅 보드가 배치된다. 도 2d는 기기(2-120)의 마운팅 보드(2-405)상에 포함될 수 있는 컴포넌트들의 적어도 일부를 도시한다. 인쇄 회로 기판을 포함할 수

있는 마운팅 보드(2-405)는 이에 탑재된, 센서 칩(2-260)(도 2d에서는 보이지 않음), 히트 싱크(2-407), 및 광학 하우징(2-401)을 가질 수 있다. 기기(2-120)의 상이한 광학 컴포넌트들이 광학 하우징(2-401) 내에 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기기 하우징 및 마운팅 보드는 임의의 적합한 사이즈 및 형상을 가질 수 있다. 예를 들어, 마운팅 보드는 대략 7-8"의 직경을 갖는 실질적으로 원형일 수 있다. 검정 칩(2-110)은 광학 하우징(2-401) 내의 광학 컴포넌트들과의 정렬을 보장하도록 광학 하우징(2-401)에 결합된다.

[0089] 칩 홀더 프레임(3-102)은 광학 하우징(2-401)의 개구부와 정렬될 수 있다. 검정 칩(2-110)은 칩 홀더 프레임(2-401)에 하우징될 수 있다. 일부 실시예들에서, 기기(2-120)에 대한 칩 홀더 프레임(3-102)의 배치가 기기(2-120)에 근접한 칩 홀더 프레임(3-102)의 측면상에 검정 칩(2-110)을 배치하도록 검정 칩(2-110)이 칩 홀더 프레임(3-102)의 밑면에 위치할 수 있다. 칩 홀더 프레임(3-102)은 임의의 적합한 재료를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 칩 홀더 프레임(3-102)은 칩 홀더 프레임(3-102)을 제자리에 유지하는 역할을 하는 광학 하우징(2-401)의 표면상에 배치된 하나 이상의 자기 컴포넌트에 의해 칩 홀더 프레임(3-102)이 광학 하우징(2-401)의 개구와 정렬되도록 강자성 금속(예를 들어, 강철)을 포함할 수 있다.

[0090] 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 기기(2-120)에 착탈 가능하게 결합될 수 있다. 도 2d에 도시된 바와 같은 자기 실린더와 같은 임의의 적합한 형상 및 크기의 하나 이상의 자기 컴포넌트(2-403a, 2-403b, 및 2-403c)가, 여기 에너지가 광학 하우징(2-401)을 빠져나가는 광학 하우징(3-401)의 개구 둘레에 배치될 수 있다. 또한, 자기 컴포넌트들(2-403a, 2-403b, 및 2-2-403c)은 칩 홀더 프레임(3-102)이 개구와 정렬하여 유지되도록 캘리브레이션될 수 있다. 칩 홀더 프레임(3-102)은 자기 컴포넌트들(2-403a, 2-403b, 및 2-2-403c)을 사용하여 미크론 레벨 정확로 배치될 수 있다. 일부 실시예들에서, 자기 컴포넌트들(2-403a, 2-403b, 및 2-2-403c)은 칩 홀더 프레임 정렬을 생성하는 데 사용된다. 그러나, 실시예들이 이에 제한되는 것은 아니며, 정렬된 구성에서 칩을 제자리에 유지하기 위해 임의의 적합한 수의 자기, 스프링-로드형, 공압형 또는 다른 이러한 컴포넌트들이 사용될 수 있다. 예를 들어, 칩 홀더 프레임(3-102)은 스프링, 공기 압력 또는 전공으로부터의 흡입과 같은, 비자기 엘리먼트로 제자리에 유지될 수 있다. 임의적으로, 칩 홀더 프레임(3-102)은 광학 블록과 정렬하여 칩을 배치하는 데 적합한 임의의 딱딱한 재료를 사용하여 구성될 수 있다.

[0091] 본 출원의 일부 양태들에 따르면, 검정 칩(2-110)이 기기(2-120)에 연결될 때, 기기(2-120)에서 검정 칩(2-110)의 샘플 우물들과 센서 칩(2-260)의 센서들 사이의 거리는 시스템에 대해 충분한 수준의 성능을 달성하기 위해 원하는 거리 내에 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물들과 센서들 사이의 광학 거리는 30cm 미만, 10cm 미만, 5cm 미만 또는 1cm 미만일 수 있다.

II. 검정 칩

[0093] 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 어떠한 능동 전자 컴포넌트들도 포함하지 않는다. 각각의 픽셀에 대해 여기 소스(2-250) 및 센서(2-122) 양자 모두가 기기(2-120)에서의 칩 밖에 위치한다.

[0094] 일부 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 도 3aa에 도시된 바와 같이 칩 홀더 프레임(3-102)에 하우징될 수 있다. 칩 홀더 프레임(3-102)은 일회용일 수 있고, 단일 사용 이후 검정 칩(2-110)과 함께 폐기처분될 수 있다. 검정 칩(2-110)은 도 3ab에 도시된 바와 같이, 칩 홀더 프레임(3-102)의 밑면상에 위치할 수 있다. 칩 홀더 프레임(3-102)은 강철과 같은 임의의 적합한 강자성 금속을 포함할 수 있어, 광학 하우징(2-401)에 고정된 자기 컴포넌트들(2-403a, 2-403b, 및 2-403c)은 칩 홀더 프레임(3-102)을 유지하고, 따라서, 검정 칩(2-110)을 제자리에 유지한다. 일부 실시예들에서, 칩 홀더 프레임(3-102)은 도 2d에 도시된 바와 같이 광학 하우징(2-401)의 상부 표면에 부착될 수 있다.

[0095] 도 3ac에 도시된, 다른 실시예들에서, 검정 칩(2-110)은 칩 홀더 프레임(3-102)의 상부 표면에 부착될 수 있다. 플라스틱 캡(3-103)은 검정 칩(2-110)의 픽셀 어레이가 플라스틱 캡(3-103)에서의 개구부를 통해 노출되도록 검정 칩(2-110)을 둘러싼다. 검정 칩(2-110)의 사용자는 시편을 플라스틱 캡(3-103)의 개구 내에 둘 수 있다. 검정 칩(2-110)의 상부 표면과 접촉하는 것에 의해, 시편 내의 샘플들은 분석을 위해 검정 칩(2-110)의 복수의 픽셀 중 하나 이상에 도입될 수 있다. 일부 실시예들에서는, 강제 유체 흐름을 통해 샘플의 부분들을 픽셀들에 전달하기 위한 디바이스 또는 유동성 채널들이 필요 없다.

[0096] 일부 실시예들에서, 검정 칩은 수직으로 적층된 컴포넌트들의 층들을 포함할 수 있다. 이러한 컴포넌트들은 광학, 전기, 화학, 생화학 및 구조 엘리먼트를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 검정 칩의 각각의 층은 각각의 픽셀에 대해 동일하다. 다음은 단일 픽셀의 설명이지만, 검정 칩상의 픽셀 어레이 내의 모든 픽셀이 일부 실시예들에 따라 정확히 동일한 레이아웃을 가질 수 있다.

[0097]

A. 샘플 우물 층

[0098]

도 2c에, 그리고 도 3b에 더 상세히 도시된 바와 같이, 일부 실시예들은 검정 칩(2-110)의 하나 이상의 굀셀에 형성된 샘플 우물(2-211)을 포함한다. 샘플 우물은 금속층(2-221) 내에 형성되고 검정 칩(2-110) 표면상에 퇴적되는 시편으로부터 샘플 우물의 내외로 샘플들이 확산할 수 있도록 배열되는 작은 체적 또는 영역을 포함할 수 있다. 다양한 실시예들에서, 샘플 우물(2-211)은 여기 소스(2-250)로부터의 여기 에너지를 수신하도록 배열될 수 있다. 샘플 우물 안으로 확산하는 샘플들은, 일시적으로 또는 영구적으로, 피착체(3-211)에 의해 샘플 우물의 여기 영역(3-215) 내에 유지될 수 있다. 여기 영역에서, 샘플은 여기 에너지(예를 들어, 여기 광(3-245))에 의해 여기될 수 있고, 그 후 샘플을 특징화하기 위해 관찰되고 평가될 수 있는 에너지를 방출할 수 있다.

[0099]

동작을 더 상세히 설명하면, 분석될 적어도 하나의 샘플(3-101)이, 예를 들어, 샘플들의 유체 혼탁액을 포함하는 시편(도시되지 않음)로부터, 샘플 우물(2-211)로 도입될 수 있다. 기기(2-120)에서의 여기 소스(2-250)로부터의 여기 에너지(3-245)는, 샘플이 샘플 우물 내의 여기 영역(3-215) 내에 있는 동안 샘플 또는 샘플에 부착된 또는 달리 샘플과 관련된 적어도 하나의 태그(생물학적 마커, 리포터, 또는 프로브로도 언급됨)를 여기시킬 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 태그는 발광성 문자(예를 들어, 발광성 태그 또는 프로브) 또는 양자점일 수 있다. 일부 구현들에서는, 샘플을 분석하는 데 사용되는 2개 이상의 태그가 존재할 수 있다(예를 들어, 참고로 포함되는, *Science* 323, 133 페이지(2009)의, J. Eid 등이 저술한 "Real-Time DNA Sequencing from Single Polymerase Molecules"에 설명된 단일 문자 유전자 서열 분석에 사용되는 별개의 태그들). 여기 동안에 그리고 /또는 여기 후에, 샘플 또는 태그는 방출 에너지를 방출할 수 있다. 다수의 태그들이 사용되는 경우, 이들은 상이한 특성 에너지들에서 방출하고/하거나(그리고 따라서 상이한 파장들을 가짐) 상이한 시간 특성들로 방출할 수 있다. 일부 실시예들에서, 방출 에너지는 임의의 수의 파장, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 상이한 파장을 포함할 수 있다. 샘플 우물(2-211)로부터의 방출들은 기기(2-120)상의 센서(2-122)에 방사될 수 있고, 이들은 검출되어 샘플을 특징하는 데 사용될 수 있는 전기 신호들로 변환된다.

[0100]

일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은, 도 3b에 도시된 바와 같이, 부분적으로 둘러싸인 구조물(partially enclosed structure)일 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플 우물(2-211)은 적어도 하나의 재료층에 형성된 1미크론 미만 사이즈의(sub-micron-sized) 홀 또는 개구(적어도 하나의 가로 치수 D_{sw} 로 특징화됨)(2-221)를 포함한다. 샘플 우물의 가로 치수는 일부 실시예들에 따르면 대략 20 나노미터와 대략 1 미크론 사이일 수 있지만, 일부 구현들에서는 더 크고 더 작은 사이즈들이 사용될 수 있다. 샘플 우물(2-211)의 체적은 일부 구현들에서 약 10-21 리터와 약 10-15 리터 사이일 수 있다. 샘플 우물은 전파 모드를 지원할 수 있는, 또는 지원하지 않을 수 있는 도파관으로서 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물은 직경(또는 최대 가로 치수)이 D_{sw} 인 실린더형 형상(또는 유사 형상)을 갖는 제로-모드 도파관(zero-mode waveguide)(ZMW)으로서 형성될 수 있다. ZMW는 해당 홀을 통하여 전파 광학 모드를 지원하지 않는 나노스케일 홀로서 단일 금속층에 형성될 수 있다.

[0101]

샘플 우물(2-211)은 작은 체적을 갖기 때문에, 샘플들이 자연 환경들에서 발견되는 것들과 유사한 농도로 검사되는 시편에 집중될 수 있을지라도 각각의 굀셀에서 단일 샘플 이벤트들(예를 들어, 단일 문자 이벤트들)의 검출이 가능할 수 있다. 예를 들어, 검정 칩과 접촉하여 배치되는 시편에 마이크로몰 농도(micromolar concentrations)의 샘플이 존재할 수 있지만, 굀셀 레벨에서만이다. 통계적으로, 검정(2-110)의 샘플 우물들은 그들이 대부분 하나의 샘플도 포함하지 않거나 또는 하나의 샘플을 포함하도록 사이징되어, 단일 문자 분석이 가능할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서는 샘플 우물들의 30-40%가 단일 샘플을 포함한다. 그러나, 샘플 우물은 2개 이상의 샘플을 포함할 수 있다. 단일 문자 또는 단일 샘플 이벤트들이 각각의 굀셀에서 분석될 수 있기 때문에, 검정 칩은 그렇지 않으면 양상을 평균화된 측정들(ensemble averaged measurements)에서는 간과될 수도 있는 희귀한 이벤트들의 검출을 가능하게 한다.

[0102]

샘플 우물의 가로 치수 D_{sw} 는 일부 실시예들에서는 약 500나노미터(nm)와 약 1미크론 사이, 일부 실시예들에서는 약 250nm와 약 500nm 사이, 일부 실시예들에서는 약 100nm와 약 250nm 사이, 그리고 또 일부 실시예들에서는 약 20nm와 약 100nm 사이일 수 있다. 샘플 우물의 가로 치수는 대략 100 nm, 대략 130 nm, 또는 대략 190 nm일 수 있다. 일부 구현들에 따르면, 샘플 우물의 가로 치수는 대략 80nm와 대략 180nm 사이, 또는 여기 파장 또는 방출 파장의 대략 1/4과 1/8 사이이다. 다른 구현들에 따르면, 샘플 우물의 가로 치수는 대략 120nm와 대략 170nm 사이이다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물(2-211)의 깊이 또는 높이는 약 50nm와 약 500nm 사이일 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플 우물(2-211)의 깊이 또는 높이는 약 80nm와 약 200nm 사이일 수 있다. 샘플 우물

(2-211)을 형성하는 재료(2-221)의 층은 대략 50 nm, 대략 100 nm, 대략 150 nm, 대략 200 nm, 또는 대략 250 nm의 두께 또는 높이를 가질 수 있다.

[0103] 광장 미만의(sub-wavelength) 가로 치수를 갖는 샘플 우물(2-211)은 적어도 2개의 면에서 검정 칩(2-110)의 꿀셀(2-100)의 동작을 개선할 수 있다. 예를 들어, 시편에 대향하는 측으로부터 샘플 우물에 입사되는 여기 에너지(3-245)는 기하급수적으로 감쇠하는 전력으로 여기 영역(3-215)에 결합되고, 샘플 우물을 통하여 시편에 전파되지 않을 수 있다. 그 결과, 여기 에너지는 여기 영역에서는 증가되어 관심 샘플을 여기시키고, 시편에서는 감소되어 배경 잡음에 기여할 수 있는 다른 샘플들을 여기시킬 수 있다. 또한, 우물의 베이스(base)에 유지된 샘플로부터의 방출이 바람직하게는 기기(2-120)상의 센서 쪽으로 유도되는데, 그 이유는 방출이 샘플 우물을 통하여 위로 전파될 수 없기 때문이다. 이러한 효과들 양자 모두는 꿀셀에서의 신호 대 잡음비를 개선할 수 있다. 본 발명자들은 꿀셀에서의 신호 대 잡음 레벨들을 더 증가시키도록 개선될 수 있는 샘플 우물의 몇몇 양태들을 인식하였다. 이러한 양태들은 우물 형상 및 구조에 관련되고, 여기 에너지를 샘플 우물로의 여기 에너지 및 샘플 우물로부터의 방출된 방사의 결합하는 데 도움을 주는 인접한 광학 및 플라즈몬 구조물들(아래 설명됨)에 대한 배치에도 관련된다.

[0104] 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은 서브-컷오프 나노 개구(sub-cutoff nano-aperture)(SCN)로 형성될 수 있고, 이는 전파 모드를 지원하지 않는다. 예를 들어, 샘플 우물(2-211)은 도전층(2-221)에 실린더형 형상의 훌 또는 보어(bore)를 포함할 수 있다. 샘플 우물의 단면이 원형일 필요는 없고, 일부 실시예들에서는 타원형, 정사각형, 직사각형, 또는 다각형일 수 있다. 도 3b에 도시된 바와 같이, 여기 에너지(3-245)(예를 들어, 가시 또는 근적외 방사)는 샘플 우물의 제1 단부에서 샘플 우물(2-211)의 벽들(3-214)에 의해 정의될 수 있는 입구 개구(3-212)를 통하여 샘플 우물에 들어갈 수 있다. SCN으로서 형성될 때, 여기 에너지(3-245)는 SCN을 따라 기하급수적으로 감쇠할 수 있다. 일부 구현들에서, 도파관은 샘플로부터의 방출된 에너지에 대한 SCN을 포함할 수 있지만, 여기 에너지에 대한 SCN은 아닐 수 있다. 예를 들어, 샘플 우물에 의해 형성된 개구 및 도파관은 여기 에너지에 대한 전파 모드를 지원하기에 충분히 클 수 있는데, 그 이유는 그것이 방출된 에너지보다 짧은 광장을 가질 수 있기 때문이다. 더 긴 광장에서의 방출은 도파관에서의 전파 모드에 대한 차단 광장(cut-off wavelength)을 넘어설 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은 여기 에너지(3-245)에 대한 SCN을 포함할 수 있고, 따라서 여기 에너지의 최대 강도는 샘플 우물(2-211)로의 입구에서 샘플 우물의 여기 영역(3-215)으로 국한(localize)된다(예를 들어, 도 3b에 도시된 바와 같이 층(3-235)과 층(2-221) 사이의 계면 부근에 국한된다). 여기 에너지의 이러한 국한은 샘플로부터의 방출 에너지 밀도를 증가시키고, 여기 에너지를 입구 개구(3-212) 부근에 더 국한시킴으로써, 관찰되는 방출을 단일 샘플(예를 들어, 단일 분자)로 제한할 수 있다.

[0105] SCN을 포함하는 샘플 우물의 입구 부분에서의 여기 국한의 일례가 도 3c에 도시되어 있다. SCN으로 형성된 샘플 우물(2-211) 내의 그리고 그 부분의 여기 에너지의 강도를 결정하기 위해 수치 시뮬레이션이 수행되었다. 결과는 여기 에너지의 강도가 샘플 우물의 입구 개구에서는 입사 에너지의 약 70%이고 샘플 우물 내의 약 100nm 이내에 입사 강도의 약 20%까지 떨어지는 것을 보여준다. 이 시뮬레이션에 대해, 여기 에너지의 특성 광장은 633nm이었고 샘플 우물(2-211)의 직경은 140nm이었다. 샘플 우물(2-211)은 금 금속층에 형성되었다. 그래프에서 각각의 수평 분할은 50nm이다. 그래프에 의해 도시된 바와 같이, 샘플 우물에 수신된 여기 에너지의 1/2 초파가 샘플 우물(2-211)의 입구 개구(3-212) 내의 약 50nm로 국한된다.

[0106] 샘플 우물(2-211)에서 국한되는 여기 에너지의 강도를 개선하기 위해, 본 발명자들에 의해 다른 샘플 우물 구조물들이 개발되고 연구되었다. 도 3d는 샘플 우물(2-211)의 여기 단부에 공동 또는 디봇(3-216)을 포함하는 샘플 우물의 일 실시예를 도시한다. 도 3c의 시뮬레이션 결과에서 알 수 있듯이, 샘플 우물의 입구 개구(2-212)의 바로 앞에 더 높은 여기 강도의 영역이 존재한다. 샘플 우물(2-211)에 디봇(3-216)을 부가하는 것은, 일부 실시예들에 따르면, 샘플이 더 높은 여기 강도의 영역으로 들어가는 것을 가능하게 한다. 일부 구현들에서, 디봇의 형상 및 구조는 국소 여기장(local excitation field)을 변경하고(예를 들어, 층(3-235)과 샘플 우물 내의 시료의 유체 간의 굴절률의 차이 때문에), 디봇에서 여기 에너지의 강도를 더욱 증가시킬 수 있다.

[0107] 디봇은 임의의 적합한 형상을 가질 수 있다. 디봇은 샘플 우물의 가로 형상과 실질적으로 동등한 가로 형상을 가질 수 있다(예를 들어, 원형, 타원형, 정사각형, 직사각형, 다각형, 등등). 일부 실시예들에서, 디봇의 측벽들은, 샘플 우물의 벽들처럼, 실질적으로 곧고 수직일 수 있다. 일부 구현들에서, 디봇의 측벽들은, 도면에 도시된 바와 같이, 경사질 수 있고/있거나 만곡될 수 있다. 디봇의 가로 치수는 일부 실시예들에서는 샘플 우물의 가로 치수와 실질적으로 동일한 사이즈일 수 있고, 일부 실시예들에서는 샘플 우물의 가로 치수보다 작을 수 있고, 또는 일부 실시예들에서는 샘플 우물의 가로 치수보다 클 수 있다. 디봇(3-216)은 샘플 우물의 금속층

(2-221)을 넘어서 대략 10nm 내지 대략 200nm 연장할 수 있다. 일부 구현들에서, 디봇은 샘플 우물의 금속층(2-221)을 넘어서 대략 50nm 내지 대략 150nm 연장할 수 있다. 디봇을 형성함으로써, 여기 영역(3-215)은, 도3d에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 금속층(2-221) 영역 밖으로 연장할 수 있다.

[0108] 도 3e는(왼쪽 시뮬레이션 이미지에 도시된) 디봇을 포함하는 샘플 우물에 대한 여기 영역에서의 여기 에너지의 개선을 도시한다. 비교를 위해, 여기장은 오른쪽에 도시된, 디봇이 없는 샘플 우물에 대해서도 시뮬레이션된다. 장 규모(field magnitude)는 이 플롯들에서 연색(color rendering)으로부터 변환되었고, 디봇의 베이스에 있는 어두운 영역은 샘플 우물 내의 밝은 영역보다 더 높은 강도를 나타낸다. 샘플 우물 위의 어두운 영역들은 가장 낮은 강도를 나타낸다. 알 수 있는 바와 같이, 디봇은 샘플(3-101)이 더 높은 여기 강도의 영역으로 이동하는 것을 가능하게 하고, 디봇은 또한 샘플 우물의 여기 단부에서 가장 높은 강도의 영역의 국한을 증가시킨다. 높은 강도의 영역은 디봇이 없는 샘플 우물에 대해서는 더 많이 분포된다는 점에 주목한다. 일부 실시예들에서, 디봇(3-216)은 여기 영역에서 2배 이상의 여기 에너지의 증가를 제공한다. 일부 구현들에서는, 디봇의 형상 및 깊이에 따라 2배보다 더 많은 증가를 얻을 수 있다. 이러한 시뮬레이션들에서, 샘플 우물은 100nm 두께의 A1의 층과, 50nm 깊이의 디봇을 포함하고, 여기 에너지의 괴장은 635nm이다.

[0109] 도 3f는 디봇(3-216)을 포함하는 샘플 우물이 기판의 표면에 있는 돌출부(3-615) 위에 형성되는 샘플 우물(2-211)의 또 다른 실시예를 도시한다. 샘플 우물에 대한 결과의 구조는 샘플에서의 여기 에너지를 도 3b에 도시된 샘플 우물에 비하여 2배보다 더 많이 증가시킬 수 있고, 샘플 우물로부터의 방출을 기기(2-120) 내의 센서 쪽으로 유도할 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 제1 재료층(3-610)에 돌출부(3-615)가 패터닝된다. 돌출부는 일부 구현들에서 원형 토대(circular pedestal)로서 또는 직사각형 단면을 갖는 리지로서 형성될 수 있고, 제1 층과 돌출부 위에 제2 재료층(3-620)이 퇴적될 수 있다. 돌출부에서, 제2 층은, 도시된 바와 같이, 돌출부 위에 원통형 부분(3-625)과 근사한 형상을 형성할 수 있다. 일부 실시예들에서, 제2 층(3-620) 위에 도전층(3-230)(예를 들어, 반사성 금속)이 퇴적되고 돌출부 위에 도전층에 샘플 우물(3-210)을 형성하도록 패터닝된다. 그 후 제2 층 내로 디봇(3-216)이 예치될 수 있다. 디봇은 도전층(3-230) 아래로 약 50nm 내지 약 150nm 연장할 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 제1 층(3-610)과 제2 층(3-620)은 광학적으로 투명할 수 있고, 동일한 재료로 형성될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 구현들에서, 제1 층(3-610)은 산화물(예를 들어, SiO_2) 또는 질화물(예를 들어, Si_3N_4)로 형성될 수 있고, 제2 층(3-620)은 산화물 또는 질화물로 형성될 수 있다.

[0110] 일부 실시예들에 따르면, 돌출부(3-625) 위의 도전층(3-230)은 대략 구형 반사체(spherical reflector)(3-630)로서 성형(shape)될 수 있다. 구형 부분의 형상은 돌출부 높이 h , 돌출부의 직경 또는 가로 치수 w , 및 제2 층(3-620)의 두께 t 의 선택에 의해 제어될 수 있다. 여기 영역의 위치 및 샘플의 위치는 디봇 깊이 d 의 선택에 의해 원통형 반사체의 광학 초점에 관하여 조절될 수 있다. 구형 반사체(3-630)는 여기 에너지를 여기 영역(3-215)에 집중시킬 수 있고, 또한 샘플로부터 방출된 에너지를 수집하고 그 방사를 반사하여 센서(3-260) 쪽으로 집중시킬 수 있다.

[0111] 전술한 바와 같이, 샘플 우물은 임의의 적합한 형상으로 형성될 수 있고, 원통형 형상으로만 제한되지 않는다. 일부 구현들에서, 샘플 우물은 원주형, 사면체, 오면체, 등등일 수 있다. 도 3ga 내지 도 3gf는 일부 실시예들에서 이용될 수 있는 일부 예시적인 샘플 우물 형상들 및 구조물들을 예시한다. 샘플 우물(2-211)은, 일부 실시예들에 따르면, 여기 에너지에 대한 제2 개구(3-218)보다 큰 제1 개구(3-212)를 갖도록 형성될 수 있다. 샘플 우물의 측벽들은 테이퍼되거나 만곡될 수 있다. 샘플 우물을 이런 식으로 형성하는 것은 더 많은 에너지를 여기 영역에 수용할 수 있지만, 그럼에도 시편 쪽으로 이동하는 여기 에너지를 상당히 감소시킬 수 있다. 또한, 샘플에 의해 방사된 방출은 우선적으로 더 큰 개구를 가진 샘플 우물의 단부 쪽으로 방사될 수 있는데, 그 이유는 그 방향으로의 에너지 전달이 유리하기 때문이다.

[0112] 일부 실시예들에서, 도 3gb에 도시된 바와 같이, 디봇(3-216)은 샘플 우물의 베이스보다 더 작은 가로 치수를 가질 수 있다. 디봇을 예치하기 전에 희생층으로 샘플 우물의 측벽들을 코팅하고, 그 후 희생층을 제거하는 것에 의해 더 작은 디봇이 형성될 수 있다. 더 작은 디봇은 샘플 우물의 도전성 벽들로부터 더 등거리인 영역에 샘플을 유지하기 위해 형성될 수 있다. 샘플 우물의 벽들로부터 등거리에 샘플을 유지하는 것은 방사하는 샘플에 대한 샘플 우물 벽들의 바람직하지 않은 효과들, 예를 들어, 방출의 퀘칭(quenching) 및/또는 방사 수명의 변경을 감소시킬 수 있다.

[0113] 도 3gc 및 도 3gd는 샘플 우물의 또 다른 실시예를 도시한다. 이 실시예에 따르면, 샘플 우물(2-211)은 여기-에너지-향상 구조물들(3-711) 및 여기-에너지-향상 구조물들에 인접하여 형성된 피작체(3-211)를 포함할 수 있다. 여기-에너지-향상 구조물들(3-711)은, 일부 실시예들에 따르면, 광학적으로 투명한 층(3-235)상에 도전성

재료들에 형성된 표면 플라즈몬 또는 나노-안테나 구조물을 포함할 수 있다. 도 3gc는 샘플 우물(2-211) 및 인근의 구조물의 정면도를 도시하고, 도 3gd는 평면도를 도시한다. 여기-에너지-향상 구조물들(3-711)은 작은 국한된 영역에서의 여기 에너지를 향상시키도록 성형 및 배열될 수 있다. 예를 들어, 이 구조물들은 샘플 우물에 여기 영역(3-215) 내의 여기 에너지의 강도를 증가시키는 예각을 가진 뾰족한 도체들을 포함할 수 있다. 도시된 예에서, 여기-에너지-향상 구조물들(3-711)은 나비넥타이의 형태로 이루어져 있다. 영역 내로 확산하는 샘플들(3-101)은, 일시적으로 또는 영구적으로, 피착체(3-211)에 의해 유지될 수 있고 기기(2-120)에 인접하여 위치하는 여기 소스(2-250)로부터 전달될 수 있는 여기 에너지에 의해 여기될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 여기 에너지는 여기-에너지-향상 구조물들(3-711)에서 표면-플라즈몬 전류들을 구동할 수 있다. 결과의 표면-플라즈몬 전류들은 구조물들(3-711)의 뾰족한 점들에서 높은 전기장들을 생성할 수 있고, 이 높은 전기장들은 여기 영역(3-215)에 유지된 샘플을 여기시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 도 3gc에 도시된 샘플 우물(2-211)은 디봇(3-216)을 포함할 수 있다.

[0114] 샘플 우물의 또 다른 실시예가 도 3ge에 도시되어 있고, 샘플 우물(2-211)의 내부 벽들을 따라 형성된 여기-에너지-향상 구조물(3-720)을 보여준다. 여기-에너지-향상 구조물(3-720)은 금속 또는 도체를 포함할 수 있고, 샘플 우물이 형성된 기판이 퇴적 동안에 회전되는 경사진(또는 새도우), 방향성 퇴적을 이용하여 형성될 수 있다. 퇴적 동안에, 샘플 우물(2-211)의 베이스는 우물의 상부 벽들에 의해 가려지고, 따라서 퇴적된 재료는 베이스에서 축적되지 않는다. 결과의 구조물(3-720)은 구조물의 바닥에서 예각(3-722)을 형성할 수 있고, 도체의 이러한 예각은 샘플 우물 내의 여기 에너지를 향상시킬 수 있다.

[0115] 도 3ge에 도시된 바와 같은 일 실시예에서, 샘플 우물이 형성되는 재료(3-232)는 도체일 필요는 없고, 유전체 재료와 같은 임의의 적합한 재료일 수 있다. 일부 구현들에 따르면, 샘플 우물(2-211)과 여기-에너지-향상 구조물(3-720)은 유전체층(3-235) 내로 예칭된 블라인드 홀(blind hole)에 형성될 수 있고, 별도의 층(3-232)이 퇴적될 필요가 없다.

[0116] 일부 구현들에서, 도 3ge에 도시된 구조물에 대해 후속하여 새도우 증발(shadow evaporation)을 수행하여, 파선에 의해 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 베이스에 금속성 또는 도전성 에너지-향상 구조물, 예를 들어, 사다리꼴 구조물 또는 뾰족한 원추를 퇴적할 수 있다. 에너지-향상 구조물은 표면 플라즈몬들을 통해 우물 내의 여기 에너지를 향상시킬 수 있다. 새도우 증발 후에, 평탄화 프로세스(예를 들어, 화학-기계 연마 공정 또는 플라스마 예칭 프로세스)를 수행하여 샘플 우물의 상부에 있는 퇴적된 재료를 제거하거나 에치백하면서, 우물 내에 에너지-향상 구조물을 남길 수 있다.

[0117] 일부 실시예들에서, 샘플 우물(2-211)은 단일 금속층보다 많은 것으로 형성될 수 있다. 도 3gf는 다중층 구조물에 형성된 샘플 우물을 예시하는데, 이 구조물에서는 상이한 층들에 대해 상이한 재료들이 이용될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은(반도전성 또는 도전성 재료일 수 있는) 제1 층(3-232), (절연체 또는 유전체일 수 있는) 제2 층(3-234), 및(도체 또는 반도체일 수 있는) 제3 층(2-221)에 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서는, 축퇴형으로 도핑된(degeneratively-doped) 반도체 또는 그래핀이 샘플 우물의 층으로 이용될 수 있다. 일부 구현들에서는, 샘플 우물이 2개의 층에 형성될 수 있고, 다른 실시예들에서는 샘플 우물이 4개 이상의 층에 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물을 형성하는 데 이용되는 다중층 재료들은 샘플 우물의 베이스에서 표면-플라즈몬 생성을 증가시키거나 우물의 상부에서 표면-플라즈몬 방사를 억제하도록 선택될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물을 형성하는 데 이용되는 다중층 재료들은 여기 에너지가 샘플 우물 및 다중층 구조물을 넘어서 벌크 시편으로 전파되는 것을 억제하도록 선택될 수 있다.

[0118] 일부 실시예들에서, 샘플 우물을 형성하는 데 이용되는 다중층 재료들은 샘플 우물에 입사되는 여기 에너지에 의해 생성될 수 있는 계면 여기자들(interfacial excitons)을 증가 또는 억제하도록 선택될 수 있다. 예를 들어, 이중 여기자들(biexcitons) 및 삼중 여기자들(triexcitons)과 같은 다중 여기자들(multi-excitons)이 샘플 우물에 인접한 2개의 상이한 반도체층 사이의 계면에서 생성될 수 있다. 샘플 우물은 제1 반도체층과 제2 반도체층 사이의 계면이 샘플 우물의 여기 영역(3-215)에 있도록 금속층과 제1 반도체층 양쪽 모두에 형성될 수 있다. 계면 여기자들은 단일 반도체층의 체적 내의 여기자들보다 더 긴 수명을 가질 수 있어, 그 여기자들이 FRET 또는 DET를 통해 샘플 또는 태그를 여기시킬 가능성을 증가시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 다중 여기자들이 여기될 수 있는 적어도 하나의 양자점이 샘플 우물의 바닥에 부착될 수 있다(예를 들어, 연결 분자(linking molecule)에 의해). 양자점에서 여기된 여기자들도 단일 반도체층의 체적 내의 여기자들보다 더 긴 수명을 가질 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 계면 여기자들 또는 양자점에서 생성된 여기자들이 FRET 또는 DET의 속도를 증가시킬 수 있다.

- [0119] 상기 실시예들에서 설명된 샘플 우물들을 형성하기 위해 다양한 재료들이 이용될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은, 도전성 재료, 반도체, 및 절연체 중 어느 하나 또는 이들의 조합을 포함할 수 있는, 적어도 하나의 재료층(2-221)으로 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물(2-211)은 높은 도전성의 금 속층, 예를 들어, 금, 은, 알루미늄, 구리를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 층(2-221)은 금, 은, 알루미늄, 구리, 티타늄, 티타늄 질화물, 및 크롬 중 어느 하나 또는 이들의 조합을 포함하는 다중층 스택을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 다른 금속들이 추가적으로 또는 대안적으로 이용될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물은 AlCu 또는 AlSi와 같은 합금을 포함할 수 있다.
- [0120] 일부 실시예들에서, 상이한 금속들 또는 합금들의 다수의 층이 샘플 우물을 형성하는 데 이용될 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플 우물(2-211)이 형성되는 재료는 금속들 및 비금속들의 교대 층들, 예를 들어, 금속과 하나 이상의 유전체의 교대 층들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 비금속은 폴리비닐 포스폰산 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-티올과 같은 중합체를 포함할 수 있다.
- [0121] 샘플 우물이 형성되는 층(2-221)은, 일부 실시예들에 따르면, 적어도 하나의 광학적으로 투명한 층(3-235)상에 또는 그에 인접하여 퇴적될 수 있고, 따라서(예를 들어, 가시 또는 근적외선 방사 형태의) 여기 에너지와(예를 들어, 가시 또는 근적외선 방사 형태의) 방출 에너지가 현저한 감쇠 없이 샘플 우물(2-211)로 그리고 그로부터 이동할 수 있다. 예를 들어, 여기 소스(2-250)로부터의 여기 에너지는 적어도 하나의 광학적으로 투명한 층(3-235)을 통과하여 여기 영역(3-215)으로 이동할 수 있고, 샘플로부터의 방출은 동일한 층 또는 층들을 통과하여 센서(2-250)로 이동할 수 있다.
- [0122] 일부 실시예들에서, 샘플 우물(2-211)의 적어도 하나의 표면은, 도 3h에 도시된 바와 같이, 샘플 우물 내의 샘플의 작용에 영향을 미치는 하나 이상의 재료층(3-211, 3-280)으로 코팅될 수 있다. 예를 들어, 얇은 유전체층(3-280)(예를 들어, 알루미나, 티타늄 질화물, 또는 실리카)이 샘플 우물의 측벽들상에 부동태화 코팅으로서 퇴적될 수 있다. 이러한 코팅은 여기 영역(3-215) 밖의 샘플의 샘플 부착을 감소시키기 위해, 또는 샘플 우물(2-211)이 형성되는 재료(2-221)와 샘플 사이의 상호 작용을 감소시키기 위해 구현될 수 있다. 샘플 우물 내의 부동태화 코팅의 두께는, 일부 실시예들에 따르면, 약 5nm와 약 50nm 사이일 수 있다.
- [0123] 일부 구현들에서, 코팅 층(3-280)을 위한 재료는 그 재료에 대한 화학적 작용제(chemical agent)의 친화도(affinity)에 기초하여 선택될 수 있고, 따라서 층(3-280)은 층으로의 샘플 종들의 부착을 더 억제하도록 화학 또는 생물학 물질로 처리될 수 있다. 예를 들어, 코팅 층(3-280)은, 일부 실시예들에 따르면, 폴리포스포네이트 부동태화 층으로 부동태화될 수 있는, 알루미나를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서는 추가적인 또는 대안적인 코팅들 및 부동태화 작용제들이 이용될 수 있다.
- [0124] 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211) 및/또는 디봇(3-216)의 적어도 바닥 표면은 샘플의 유지를 촉진하기 위해 화학 또는 생물학 피착체(3-211)(예를 들어, 비오틴)로 처리될 수 있다. 샘플은 영구적으로 또는 일시적으로, 예를 들어, 적어도 약 0.5밀리초와 약 50밀리초 사이의 시간 동안 유지될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 피착체는 더 긴 기간 동안 샘플(3-101)의 일시적 유지를 촉진할 수 있다. 임의의 적합한 피착체가 다양한 실시예들에서 이용될 수 있으며, 비오틴으로 제한되지 않는다.
- [0125] 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물에 인접한 재료층(3-235)은 그 층의 재료에 대한 피착체의 친화도에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물의 측벽들의 부동태화는 측벽들상의 피착체의 코팅을 억제할 수 있고, 따라서 피착체(3-211)는 우선적으로 샘플 우물의 베이스에 퇴적된다. 일부 실시예들에서, 피착체 코팅은 샘플 우물의 측벽들의 일부 위로 연장될 수 있다. 일부 구현들에서, 피착체는 이방성 물리 퇴적 프로세스(예를 들어, 증발, 스퍼터링)에 의해 퇴적될 수 있고, 따라서 피착체는 샘플 우물 또는 디봇의 베이스에 축적되고 샘플 우물의 측벽들에는 상당히 형성되지 않는다.
- [0126] 검정 칩을 위한 샘플 우물들(2-211)을 제조하기 위해 다양한 제조 기법들이 이용될 수 있다. 몇 개의 예가 아래에 설명되지만, 본 발명은 이러한 예들로만 제한되지 않는다.
- [0127] 샘플 우물(2-211)은 임의의 적합한 마이크로- 또는 나노-제조 프로세스에 의해 형성될 수 있는데, 그 프로세스는 포토리소그래피, 원자외선 포토리소그래피(deep-ultraviolet photolithography), 액침 포토리소그래피(immersion photolithography), 근거리장 광접촉 포토리소그래피(near-field optical contact photolithography), EUV 리소그래피, x선 리소그래피, 나노임프린트 리소그래피(nanoimprint lithography), 간섭측정 리소그래피(interferometric lithography), 스텝-앤�-플래시 리소그래피(step-and-flash lithography), 다이렉트-라이트 전자 빔 리소그래피(direct-write electron beam lithography), 이온 빔 리소그래피(ion beam

lithography), 이온 범 밀링(ion beam milling), 리프트오프 처리(lift-off processing), 반응성 이온 에칭(reactive-ion etching), 선택적 에피택시(selective epitaxy), 분자 자기 조립(molecular self-assembly), 유기 합성(organic synthesis) 등등과 관련된 처리 공정들을 포함할 수 있지만, 이들에 제한되지 않는다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은 포토리소그래피 및 리프트오프 처리를 이용하여 형성될 수 있다. 샘플 우물의 리프트오프 처리와 관련된 예시적인 제조 공정들이 도 3ia 내지 도 3ie에 도시되어 있다. 핵심에서 단 하나의 샘플 우물 또는 구조물의 제조가 전형적으로 도면들에 도시되어 있기는 하지만, 다수의 샘플 우물 또는 구조가 병행하여 기판상에(예를 들어, 각각의 핵심에서) 제조될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0128] 일부 실시예들에 따르면, 도 3ia에 도시된 바와 같이, 기판상의 층(3-235)(예를 들어, 산화물층)이 반사 방지 코팅(anti-reflection)(ARC) 층(3-910) 및 포토레지스트(3-920)로 커버될 수 있다. 포토레지스트(3-920)는 포토리소그래피 및 레지스트의 현상을 이용하여 노출 및 패터닝될 수 있다. 포토레지스트(3-920)는 (레지스트 유형에 따라) 노출된 부분들 또는 비노출된 부분들을 제거하도록 현상될 수 있으며, 이에 따라, 도 3ib에 도시된 바와 같이, 샘플 우물에 대한 원하는 직경과 대략 같은 직경을 가진 기둥(3-922)이 남는다. 기둥(3-922)의 높이는 샘플 우물의 원하는 깊이보다 더 클 수 있다.

[0129] 기둥(3-922)의 패턴은, 예를 들어, 도 3ic에 도시된 바와 같이, 이방성, 반응성 이온 에칭(RIE)을 통해 ARC 층(3-910)으로 전사될 수 있다. 그 영역은 그 후 샘플 우물을 형성하기 위해 원하는 적어도 하나의 재료(2-221), 예를 들어, 도체 또는 금속으로 코팅될 수 있다. 퇴적된 재료, 또는 재료들의 일부가, 도 3id에 도시된 바와 같이, 기둥(3-922) 위에 캡(3-232)을 형성한다. 그 후 포토레지스트(3-920) 및 ARC 층(3-910)는, 선택적 제거 프로세스를 이용하여(예를 들어, 적어도 레지스트를 용해시키고 캡을 릴리스(release)하거나 "리프트 오프(lifts off)"하는 화학조(chemical bath)를 교반(agitation)과 함께 또는 교반 없이 이용하여) 기판으로부터 박리될 수 있다. ARC 층(3-910)이 남아 있다면, 그것은 선택적 에칭을 이용하여 기판으로부터 박리될 수 있고, 이에 따라 도 3ie에 도시된 바와 같은 샘플 우물(3-210)이 남는다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물의 측벽들(3-214)은 적어도 하나의 재료(2-221)의 퇴적 특성으로 인해 경사질 수 있다.

[0130] 본 명세서에서 사용된 "선택적 에칭(selective etch)"은 에천트가 제거되거나 에칭되기를 원하는 하나의 재료를, 에천트가 제거되기를 의도하지 않는 다른 재료들을 에칭하는 것보다 더 빠른 속도로(예를 들어, 적어도 2배의 속도로) 선택적으로 에칭하는 에칭 프로세스를 의미한다.

[0131] 레지스트 및 ARC 층은 전형적으로 중합체 기반이기 때문에, 이들은 높은 종횡비(aspect ratios)(예를 들어, 높이 대 폭에 관하여 약 2:1보다 큰 종횡비)를 가진 샘플 우물들을 형성하기에는 적합하지 않을 수 있는 연질 재료들(soft materials)로 간주된다. 더 높은 종횡비를 가진 샘플 우물들에 대해서는, 리프트오프 프로세스에서 경질 재료(hard material)가 포함될 수 있다. 예를 들어, ARC 층 및 포토레지스트를 퇴적하기 전에, 경질(예를 들어, 무기 재료)의 층이 퇴적될 수 있다. 일부 실시예들에서, 티타늄 또는 실리콘 질화물의 층이 퇴적될 수 있다. 경질 재료층은 샘플 우물이 형성되는 재료, 또는 재료들(2-221)에 비해 우선적인 에칭을 보여야 한다. 포토레지스트가 패터닝된 후에, 기둥의 패턴이 ARC 층 및 하부의 경질 재료(3-930)로 전사될 수 있고 그에 따라 도 3if에 도시된 바와 같은 구조물이 생긴다. 그 후 포토레지스트 및 ARC 층은 박리되고, 재료(들)(2-221)가 퇴적되고, 리프트오프 공정을 수행하여 샘플 우물을 형성할 수 있다.

[0132] 일부 실시예들에 따르면, 리프트오프 프로세스는, 도 3gc 및 도 3gd에 도시된 바와 같이, 에너지-향상 구조물(3-711)을 포함하는 샘플 우물을 형성하기 위해 이용될 수 있다.

[0133] 샘플 우물을 형성하기 위한 대안적인 프로세스가 도 3ja 내지 도 3jd에 도시되어 있다. 이 프로세스에서, 샘플 우물은 적어도 하나의 재료(3-236) 내로 직접 에칭될 수 있다. 예를 들어, 샘플 우물이 형성될 적어도 하나의 재료(3-236)가 기판(3-325)상에 퇴적될 수 있다. 이 층은, 도 3ja에 예시된 바와 같이, ARC 층(3-910) 및 포토레지스트(3-920)로 커버될 수 있다. 포토레지스트는, 도 3jb에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 원하는 직경과 대략 같은 직경을 가진 홀을 형성하기 위해 패터닝될 수 있다. 홀의 패턴은, 예를 들어 도 3jc에 도시된 바와 같이, 이방성, 반응성 이온 에칭을 이용하여 ARC 층으로 그리고 층(3-230)을 통하여 전사될 수 있다. 레지스트 및 ARC 층은 박리될 수 있고, 그에 따라 도 3jd에 도시된 바와 같은 샘플 우물이 생성된다. 일부 실시예들에 따르면, 재료층(3-230) 내로 에칭하는 것에 의해 형성된 샘플 우물의 측벽들은 리프트오프 프로세스의 결과로 생긴 측벽들보다 더 수직일 수 있다.

[0134] 일부 실시예들에서, 포토레지스트 및 ARC 층은 재료(3-236) 위에 하드 마스크(예를 들어, 도시되지 않은, 실리콘 질화물 또는 산화물층)를 패터닝하는 데 이용될 수 있다. 패터닝된 홀은 그 후 하드 마스크로 전사될 수 있고, 하드 마스크는 그 패턴을 재료층(2-221)으로 전사하는 데 이용된다. 하드 마스크는 더 높은 종횡비의 샘플

우물들을 형성하기 위해, 재료층(2-221) 내로 더 큰 에칭 깊이들을 가능하게 할 수 있다.

[0135] 위에 설명한 리프트오프 프로세스들 및 직접 에칭 제조 기법들은 샘플 우물이 형성되는 재료의 스택을 형성하기 위해 상이한 재료들의 다수의 층이 이용되는 경우 샘플 우물을 형성하는 데 이용될 수 있다. 예시적인 스택이 도 3k에 도시되어 있다. 일부 실시예들에 따르면, 재료의 스택은 샘플 우물의 여기 영역으로의 여기 에너지의 결합을 개선하기 위해, 또는 벌크 시편으로의 여기 에너지의 송신 또는 재방사를 감소시키기 위해 샘플 우물을 형성하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 제1 층(3-940) 위에 흡수층(3-942)이 퇴적될 수 있다. 제1 층은 금속 또는 금속 합금을 포함할 수 있고, 흡수층은 표면 플라즈몬을 억제하는 재료, 예를 들어, 비정질 실리콘, TaN, TiN, 또는 Cr을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플 우물을 둘러싸는 표면을 부동태화(예를 들어, 분자들의 부착을 억제)하기 위한 표면층(3-944)이 또한 퇴적될 수 있다.

[0136] 디봇(3-216)을 포함하는 샘플 우물의 형성은 임의의 적합한 방식으로 행해질 수 있다. 일부 실시예들에서, 디봇은 인접층(3-235) 내로, 및/또는 샘플 우물에 인접한, 임의의 중간층 또는 층들 내로 더 에칭하는 것에 의해 형성될 수 있다. 예를 들어, 재료층(2-221)에 샘플 우물을 형성한 후에, 그 층(2-221)은, 도 31에 도시된 바와 같이, 디봇을 패터닝하기 위한 에칭 마스크로서 이용될 수 있다. 예를 들어, 기판에 대해 디봇(3-216)이 인접 층(3-235) 내로 에칭될 수 있도록 선택적, 이방성 반응성 이온 에칭이 수행될 수 있다. 예를 들어, 재료(2-221)가 금속이고 인접층(3-235)이 실리콘 산화물인 일 실시예에서, 샘플 우물 아래의 노출된 실리콘 산화물을 우선적으로 제거하고 디봇(3-216)을 형성하기 위해 CHF_3 또는 CF_4 를 포함하는 공급 가스를 가진 반응성 이온 플라스마 에칭이 이용될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 "실리콘 산화물(silicon oxide)"은 SiO_x 를 일반적으로 언급하고, 예를 들어, 이산화 실리콘을 포함할 수 있다.

[0137] 일부 실시예들에서, 에칭 동안의 플라스마 내의 조건들(예를 들어, 기판에 대한 바이어스 및 압력)은 디봇(3-216)의 에칭 프로파일을 결정하도록 제어될 수 있다. 예를 들어, 낮은 압력(예를 들어, 약 100mTorr 미만)과 높은 DC 바이어스(예를 들어, 약 20V 초과)에서, 에칭은 매우 이방성일 수 있고, 도면에 도시된 바와 같이, 디봇의 실질적으로 곧고 수직인 측벽들을 형성할 수 있다. 더 높은 압력과 더 낮은 바이어스에서, 에칭은 더 등방성일 수 있고 그에 따라 디봇의 테이퍼된 그리고/또는 만곡된 측벽들이 생성될 수 있다. 일부 구현들에서, 디봇을 형성하기 위해 습식 에칭이 이용될 수 있고, 이는 실질적으로 등방성일 수 있고, 샘플 우물의 측벽들까지 또는 그를 넘어서, 재료(2-221) 아래로 측방으로 연장할 수 있는 실질적으로 구형인 디봇을 형성할 수 있다.

[0138] 도 3ma 내지 도 3mc는 샘플 우물(2-211)보다 작은 가로 치수를 가진 디봇(3-216)(예를 들어, 도 3gb에 도시된 것과 같은 디봇)을 형성하기 위해 이용될 수 있는 프로세스 공정들을 도시한다. 일부 구현들에서, 샘플 우물을 형성한 후에, 샘플 우물을 포함하는 영역 위에 등각의 희생층(3-960)이 퇴적될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 이 희생층(3-960)은 기상 증착 프로세스, 예를 들어, 화학 기상 증착법(CVD), 플라스마를 이용한 CVD(plasma-enhanced CVD), 또는 원자층 증착법(ALD)에 의해 퇴적될 수 있다. 희생층은 그 후, 희생층(3-960)에 대해 선택적이고, 수평 표면들로부터 층을 제거하고, 도 3mb에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 벽들에 측벽 코팅들(3-962)을 남기는 제1 이방성 에칭을 이용하여 에치백될 수 있다. 이 에치백은 일부 실시예들에서는 선택적이고 재료(2-221) 및 인접층(3-235)에서 정지할 수 있고, 또는 일부 실시예들에서는 비선택적인, 타이밍된 에치(non-selective, timed etch)일 수 있다.

[0139] 인접층(3-235)에 대해 선택적인 제2 이방성 에칭을 실행하여, 도 3mc에 도시된 바와 같이 인접층 내로 디봇(3-216)을 에칭할 수 있다. 그 후 임의적으로 희생 측벽 코팅들(3-962)이 선택적 습식 또는 건식 에치에 의해 제거될 수 있다. 측벽 코팅들의 제거는 디봇(3-216)보다 큰 가로 치수를 갖도록 샘플 우물을 개방한다.

[0140] 일부 실시예들에 따르면, 희생층(3-960)은 인접층(3-235)과 동일한 재료를 포함할 수 있다. 이러한 실시예들에서, 제2 에칭은 디봇이 인접층(3-235) 내로 에칭될 때 측벽 코팅(3-962)의 적어도 일부를 제거할 수 있다. 측벽 코팅의 이러한 에치백은 일부 실시예들에서 디봇의 테이퍼된 측벽들을 형성할 수 있다.

[0141] 일부 구현들에서, 희생층(3-960)은 샘플 우물의 측벽들을 부동태화하기 위해(예를 들어, 샘플 우물의 측벽들에서의 샘플들의 부착을 감소시키기 위해) 이용되는 재료로 형성되거나, 이러한 재료의 층을 포함할 수 있다. 그 후 디봇의 형성 후에 샘플 우물의 벽들에 층(3-960)의 적어도 일부가 남겨질 수 있다.

[0142] 일부 실시예들에 따르면, 디봇의 형성 후에 측벽 코팅들(3-962)의 형성이 발생한다. 이러한 실시예에서 층(3-960)은 디봇의 측벽들을 코팅한다. 이러한 프로세스는 디봇의 측벽들을 부동태화하고 샘플을 디봇의 중심에 국한시키기 위해 이용될 수 있다.

- [0143] 샘플 우물(2-211)의 베이스의 피착체(3-211), 및 부동태화 층(3-280)을 퇴적하는 것과 관련된 프로세스 공정들이 도 3na 내지 도 3nd에 도시되어 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물은 샘플 우물의 측벽들에 제1 부동태화 층(3-280)을 포함할 수 있다. 이 제1 부동태화 층은, 예를 들어, 도 3mb 또는 도 3h와 관련하여 위에 설명된 바와 같이 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 부동태화 층(3-280)은 임의의 적합한 퇴적 프로세스 및 에치백에 의해 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 부동태화 층은 샘플 우물이 형성되는 재료(3-230)를 산화시키는 것에 의해 형성될 수 있다. 예를 들어, 샘플 우물은 알루미늄으로 형성될 수 있고, 이것은 샘플 우물들의 측벽들에 알루미나의 코팅을 생성하기 위해 산화될 수 있다.
- [0144] 피착체(3-980) 또는 피착체 전구체(adherent precursor)(예를 들어, 피착체를 우선적으로 결합하는 재료)가, 도 3na에 도시된 바와 같이, 이방성 물리 퇴적 프로세스, 예를 들어, 증발 퇴적을 이용하여 기판상에 퇴적될 수 있다. 피착체 또는 피착체 전구체(3-980)는, 도 3nb에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 베이스에 피착체 층(3-211)을 형성할 수 있고, 샘플 우물이 형성되는 재료(2-221)의 상부 표면을 코팅할 수 있다. 도 3nc에 도시된 후속의 경사진, 방향성 퇴적(때때로 샐도우 퇴적 또는 샐도우 증발 프로세스로 언급됨)이 피착체 층(3-211)을 커버하지 않고 재료(2-221)의 상부 표면 위에 제2 부동태화 층(2-280)을 퇴적하기 위해 이용될 수 있다. 샐도우 퇴적 프로세스 동안, 부동태화 층(3-990)이 퇴적되는 동안 기판은 기판에 대해 법선인 축을 중심으로 회전될 수 있고, 따라서 제2 부동태화 층(3-280)은 샘플 우물의 상부 테두리(upper rim) 주위에 더 균일하게 퇴적된다. 결과의 구조물이 일부 실시예들에 따라 도 3nd에 도시되어 있다. 제2 부동태화 층을 퇴적하는 것의 대안으로서, 재료(3-230)의 상부 표면으로부터 피착체를 제거하기 위해 평탄화 에칭(예를 들어, CMP 공정)이 이용될 수 있다.
- [0145] 일부 구현들에 따르면, 피착체 층(3-211)은, 도 3o에 도시된 바와 같이, 테이퍼된 샘플 우물의 베이스에 중심에 퇴적될 수 있다. 예를 들어, 피착체, 또는 피착체 전구체가, 위에 설명된 바와 같이 형성된, 테이퍼된 샘플 우물에, 도 3na에 도시된 바와 같이, 방향성으로 퇴적될 수 있다. 샘플 우물의 벽들은 피착체 층(3-211)의 퇴적 전에 또는 후에 산화 프로세스에 의해 부동태화될 수 있다. 재료(2-221)의 표면에 남아 있는 피착체 또는 전구체는 도 3nd와 관련하여 설명된 바와 같이 부동태화될 수 있다. 일부 실시예들에서, 재료(2-221)의 상부 표면 상의 피착체는 화학-기계 연마 공정에 의해 제거될 수 있다. 샘플 우물의 베이스에 중심에, 피착체 층, 또는 피착체 층 전구체를 형성함으로써, 샘플로부터의 방출에 대한 유해한 효과들(예를 들어, 샘플 우물로부터의 샘플 방사의 억제 또는 퀘칭, 샘플이 샘플 우물 주위에 형성된 에너지 결합 구조물들에 대하여 중심에 위치하지 않기 때문에 샘플로부터의 바람직하지 못한 방사 분포, 샘플에 대한 발광 수명에 대한 역효과들)이 감소될 수 있다.
- [0146] 일부 실시예들에서, 샘플 우물 및 디봇을 형성하는 데 이용되는 리프트오프 패터닝, 에칭, 및 퇴적 프로세스들은 센서 칩상에 통합 CMOS 회로들을 형성하는 데 이용되는 CMOS 프로세스와 호환될 수 있다. 따라서, 센서는 종래의 CMOS 설비 및 제조 기법들을 이용하여 제조될 수 있지만, 일부 구현들에서는 커스텀 또는 특수화된 제조 설비가 이용될 수도 있다.
- [0147] 위에 설명된 프로세스 공정들의 변형들이 샘플 우물들의 대안적인 실시예들을 형성하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 도 3ga 또는 도 3gb에 도시된 것과 같은 테이퍼된 샘플 우물은 도 3nc에 도시된 경사진 퇴적 프로세스를 이용하여 형성될 수 있다. 도 3gb의 샘플 우물에 대해, 퇴적 각도는 퇴적 프로세스 동안 변경될 수 있다. 이러한 실시예들에서는, 실질적으로 곧고 수직인 측벽들을 가진 샘플 우물이 먼저 형성될 수 있고, 그 후 샘플 우물의 측벽들을 테이퍼하기 위해 경사진 퇴적에 의해 추가적인 재료(2-221)가 퇴적될 수 있다.
- [0148] B. 샘플 우물로의 여기 에너지의 결합
- [0149] 도 2a 및 도 2c에 도시된 바와 같이, 여기 소스(2-250)로부터의 여기 에너지(2-251)는 기기(2-120)의 컴포넌트들 및 검정 칩(2-110)의 컴포넌트들을 사용하여 샘플 우물(2-211)로 유도된다. 이 섹션은 여기 에너지(2-251)를 샘플 우물(2-211)에 결합하는 데 도움이 될 수 있는 검정 칩(2-110)의 컴포넌트들을 설명한다.
- [0150] 여기 소스로부터 샘플로의 에너지의 결합은 샘플 우물 내에 그리고/또는 샘플 우물에 인접하여 여기-결합 구조물을 형성하는 것에 의해 개선되거나 영향을 받을 수 있다. 여기-결합 구조물들은 일부 실시예들에서는 샘플 우물 주위에 제조된 마이크로- 또는 나노-스케일 구조물들을 포함할 수 있고, 또는 일부 실시예들에서는 샘플 우물에 형성된 구조물들 또는 입자들을 포함할 수 있다. 여기-결합 구조물들은 일부 구현들에서는 샘플의 방사성 여기에 영향을 미칠 수 있고, 일부 구현들에서는 샘플의 비방사성 여기에 영향을 미칠 수 있다. 다양한 실시예들에서, 방사성 여기-결합 구조물들은 샘플 우물의 여기 영역 내의 여기 에너지의 강도를 증가시킬 수 있다. 비방사성 여기-결합 구조물들은(방사성 또는 비방사성일 수 있는) 여기 소스로부터 샘플로의 비방사성

에너지-전달 경로들을 개선 및/또는 변경할 수 있다.

[0151] C. 방사성 여기-결합 구조물들

[0152] 여기 소스로부터 샘플 우물 내의 여기 영역으로의 여기 에너지의 결합에 영향을 미치기 위해 이용될 수 있는 다수의 상이한 유형의 방사성 여기-결합 구조물들이 존재한다. 일부 방사성 결합 구조물들은 도체로 형성될 수 있고(예를 들어, 금속층을 포함하고), 샘플 우물 근처 및/또는 샘플 우물 내부에서 여기 에너지에 국소적으로 영향을 미치는(예를 들어, 전자기장을 국소적으로 변경하는) 표면 플라즈몬 발진들을 지원할 수 있다. 일부 경우에, 표면-플라즈몬 구조물들은 샘플 우물의 여기 영역 내의 여기 에너지를 2배 이상 향상시킬 수 있다. 일부 방사성 결합 구조물들은 샘플 우물 내의 여기 에너지를 향상시키기 위해 여기장의 위상 및/또는 진폭을 변경할 수 있다. 이 섹션에서는 방사성 여기-결합 구조물들의 다양한 실시예들이 설명된다.

[0153] 도 4aa는 샘플 우물로의 여기 에너지의 결합을 향상시키기 위해 이용될 수 있는 표면-플라즈몬 구조물(4-120)의 단지 하나의 예를 도시한다. 도면은 표면-플라즈몬 구조물(4-120) 주위의 영역의 평면도를 도시하고, 구조물 주위의 전기장의 수치 시뮬레이션의 결과들을 나타낸다. 도면은 샘플 우물(도시되지 않음)에 아주 근접하여 위치하는 뾰족한 정점들을 가진 3개의 삼각형 피쳐(features)를 포함하는 표면-플라즈몬 구조물을 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 표면-플라즈몬 구조물은 금속 또는 도체(예를 들어, 다음과 같은 금속들 또는 금속 합금들: Al, Au, Ag, Ti, TiN 중 어느 하나 또는 그 조합의 패터닝된 얇은 막)를 포함할 수 있다. 막의 두께는 일부 실시예들에서는 대략 10nm와 대략 100nm 사이일 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 표면-플라즈몬 구조물은 샘플 우물에 아주 근접하여(약 100nm 이내에) 위치하는 뾰족한 피쳐들(4-110)을 포함할 수 있다.

[0154] 도 4ab는 파선에서 취해진, 도 4aa의 표면-플라즈몬 구조물의 단면 정면도를 도시한다. 시뮬레이션은 표면-플라즈몬 구조물의 삼각형의 정점에 인접하여 여기 에너지의 국한된 고강도 영역(4-505)을 보여준다. 이 시뮬레이션을 위해, 표면-플라즈몬 구조물(4-120)은 유전체층(4-135)(이산화 실리콘)상에 위치하였다. 표면-플라즈몬 구조물은 도파관의 소멸장(evanescent field)으로부터의 에너지를 텁(tap)하고, 샘플 우물에서 그 강도를 향상시킨다.

[0155] 일부 실시예들에서, 표면-플라즈몬 구조물에 의한 여기 에너지의 향상은 깊은 샘플 우물(2-211)이 요구되지 않는 정도까지 국한될 수 있다. 예를 들어, 고강도 영역(4-505)이 영역 외부의 영역의 약 80%보다 큰 피크 강도 값으로 대략 100nm의 직경을 가지고 형성된다면, 깊은 샘플 우물이 요구되지 않을 수 있다. 고강도 영역(4-505) 내의 샘플들만이 검출을 위한 상당한 방출에 기여할 것이다.

[0156] 입사 전기장이 표면-플라즈몬 구조물과 상호 작용할 때, 그 구조물에서 표면과 전류들이 생성된다. 구조물의 형상은 이 표면-플라즈몬들의 강도 및 분포에 영향을 미칠 수 있다. 이 국한된 전류들은, 예를 들어, 도 4ab에서 고강도 영역(4-505)에 의해 도시된 바와 같이, 표면-플라즈몬 구조물의 바로 부근에서 입사 전기장과 상호 작용하여 그것을 현저하게 변경하고 강화시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 표면-플라즈몬 구조물 근처에서 에너지를 방출하는 방사체(예를 들어, 형광 태그)는 그의 방출이 구조물에 의해 변경될 수 있고, 따라서 방사체로부터의 원거리장 방사 패턴이 변경될 수 있다.

[0157] 표면-플라즈몬 구조물(4-122)의 또 다른 실시예가 도 4ac의 평면도에 도시되어 있다. 예시된 나비넥타이 구조물은 샘플 우물(2-211)에 인접하여 위치하는 2개의 삼각형 금속 구조물을 포함한다. 이 구조물들은, 예를 들어, 샘플 우물 아래에, 그리고/또는 샘플 우물의 여기 영역에 인접하여 패터닝될 수 있다. 일부 구현들에서는, 표면-플라즈몬 구조물의 뾰족한 피쳐들(4-125)과 샘플 우물 사이에 캡(4-127)이 있을 수 있다. 이 캡(4-127)은, 일부 실시예들에 따르면, 대략 10nm와 대략 200nm 사이일 수 있다. 일부 구현들에서, 캡(4-127)은 대략 10nm와 대략 100nm 사이일 수 있다. 뾰족한 피쳐들(4-125)은, 도면에 도시된 바와 같이, 표면-플라즈몬 구조물의 에지에 포인트 또는 뾰족한 만곡부(sharp bend)를 포함할 수 있다. 뾰족한 피쳐들은 임의의 적합한 형상을 가질 수 있다. 일부 실시예들에서 뾰족한 피쳐(4-125)의 만곡부 반경은 입사 여기 에너지와 관련된 대략 5개 괴장 미만일 수 있다. 일부 실시예들에서 뾰족한 피쳐(4-125)의 만곡부 반경은 입사 여기 에너지와 관련된 대략 2개 괴장 미만일 수 있다. 일부 실시예들에서 뾰족한 피쳐(4-125)의 만곡부 반경은 입사 여기 에너지에 의해 여기되는 표면-플라즈몬 과와 관련된 대략 5개 괴장 미만일 수 있다. 일부 실시예들에서 뾰족한 피쳐(4-125)의 만곡부 반경은 입사 여기 에너지에 의해 여기되는 표면-플라즈몬 과와 관련된 대략 2개 괴장 미만일 수 있다.

[0158] 일부 실시예들에 따르면, 도 4ad의 정면도에 예시된 바와 같이 표면-플라즈몬 구조물들(4-122)이 샘플 우물(2-

211) 내에 패터닝될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물 내의 표면-플라즈몬 구조물은, 도면에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 측벽들 위에 패터닝된 하나 이상의 팽거(fingers)(예를 들어, 금속성 팽거)를 포함할 수 있다. 도 4ae는 샘플 우물 내의 측벽들에 형성된 표면-플라즈몬 구조물들(4-122)을 보여주는 샘플 우물(2-211)의 평면도를 도시한다. 일부 실시예들에서, 이 표면-플라즈몬 구조물들(4-122)의 하부 단부들은 뾰족한 피처들 또는 만곡부들을 형성하고 여기서 전기장이 향상될 것이다. 표면-플라즈몬 구조물들(4-122)은 샘플 우물의 베이스까지 연장할 수 있거나, 연장하지 않을 수 있다.

[0159] 일부 실시예들에서, 표면-플라즈몬 구조물들(4-122)은 샘플 우물로부터의 방출된 방사 및/또는 여기 에너지의 분극에 영향을 미치도록 배열될 수 있다. 예를 들어, 도 4ae에 도시된 바와 같은 패턴은 샘플 우물 내의 방사체로부터의 선형 또는 타원형 분극의 선호되는 배향 및/또는 선형 또는 타원형 여기 분극의 선호되는 배향에 영향을 미치기 위해 이용될 수 있다.

[0160] 표면-플라즈몬 구조물들은 도 4aa 내지 도 4ae에 도시된 것들과 다른 형상들로 패터닝될 수 있다. 예를 들어, 표면-플라즈몬 구조물들은, 일부 실시예들에 따르면, 도 4ba에 도시된 바와 같이, 규칙적인 또는 주기적인 구조물들로서 패터닝될 수 있다. 예를 들어, 표면-플라즈몬 구조물은 샘플 우물(2-211)이 형성되는 재료(2-221)의 하부 표면상에 돌출 피처들(4-210)의 어레이로 패터닝될 수 있다. 주기적인 표면-플라즈몬 구조물들은 규칙적인 어레이, 예를 들어, 격자(grating), 그리드(grid), 래티스(lattice), 원형 격자, 나선형 격자, 타원형 격자, 또는 임의의 다른 적합한 구조로 형성될 수 있다. 표면-플라즈몬 구조물의 돌출부들(4-210) 사이에 실질적으로 균일한 간격 s 가 있을 수 있다. 일부 구현들에서, 그 간격 s 는 대략 40nm와 대략 250nm 사이의 임의의 값을 가질 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 돌출부들은 대략 20nm와 대략 100nm 사이의 높이 h 를 가질 수 있다. 일부 구현들에서, 간격 s 는 불균일할 수 있거나 쳐프형(chirped)(더 큰 반사상 거리들에서 감소하는 값을 갖는 것)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 표면-플라즈몬 구조물의 돌출부들(4-210)은 프레넬 존 플레이트(Fresnel zone plate)로서 패터닝될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 4-210의 표면-플라즈몬 구조물은 투명한 층 및/또는 유전체층(3-235)에 인접하여 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 돌출부들(4-210) 사이의 간격은 주기적일 수 있는 반면, 다른 실시예들에서 돌출부들(4-210)은 비주기적일 수 있다.

[0161] 일부 구현들에서, 표면-플라즈몬 구조물(4-212)은 도 4bb에 도시된 바와 같이 샘플 우물이 형성되는 재료(2-221)로부터 이격될 수 있다. 예를 들어, 표면-플라즈몬 구조물(4-212)과 재료(4-230) 사이에 개재 유전체층(intervening dielectric layer)(4-247)이 있을 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 표면 플라스마 구조물(4-212)은, 도 4bb에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 디봇(3-216)에 인접하여 위치할 수 있다. 예를 들어, 표면-플라즈몬 구조물(4-212)은, 도 4bb에 도시된 바와 같이, 디봇(3-216)의 측벽들에 인접하여 위치할 수 있다.

[0162] 도 4bc는 동심의 원형 격자로서 형성되는 표면-플라즈몬 구조물(4-214)을 예시한다. 구조물(4-214)은 일부 실시예들에 따르면, 동심의 도전 링들(concentric conducting rings)(4-215)을 포함할 수 있다. 이 링들은 도 4ba와 관련하여 설명된 바와 같이, 규칙적인 간격 s 에 의해 분리되고 높이 h 를 가질 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 임의적인 디봇을 가진 샘플 우물(4-210)이 링들의 중심에 위치할 수 있다. 원형 격자는 샘플 우물의 베이스에 인접하여 패터닝될 수 있다.

[0163] 표면-플라즈몬 구조물의 주기성은 일부 실시예들에 따른 공진 구조물을 형성하도록 선택될 수 있다. 예를 들어 표면-플라즈몬 구조물의 간격 s 는 여기 에너지에 의해 구조물에서 생성되는 표면-플라즈몬 파의 파장의 대략 1/2이 되도록 선택될 수 있다. 공진 구조물로서 형성될 때, 표면-플라즈몬 구조물은 주기적인 표면-플라즈몬 구조물의 방향을 따라 여기 에너지를 축적하고 공진시킬 수 있다. 이러한 공진 작용은, 도 4bd에 도시된 도시된 바와 같이, 샘플 우물 내의, 또는 샘플 우물에 인접한 전자기 에너지를 강화시킬 수 있다. 표면 플라즈몬 구조물의 간격은 일부 실시예들에서 주기적일 수 있지만, 다른 실시예들에서 이러한 간격은 비주기적일 수 있다. 비주기적 간격을 사용하는 것은 여기 에너지의 파장들 및 관련된 방출 에너지의 파장들에 대해 장 강화가 구체적으로 설계되게 한다. 도 4bd는 샘플 우물의 베이스에서의 그리고 주기적인 표면-플라즈몬 구조물 주위의 수치 시뮬레이션된 전자기장 결과들을 나타낸다. 표면-플라즈몬 구조물(4-216)은 샘플 우물이 형성되는 재료(2-221)에 인접하여 위치하고, 샘플 우물(2-211)의 베이스에 인접해 있다. 표면-플라즈몬 구조물은 시뮬레이션된 영역의 외부 그리고 샘플 우물에서 떨어진 영역들에서 규칙적인 또는 불규칙적인 스페이싱 간격을 두고 반복되는 격자 또는 원형 격자의 형태로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 표면-플라즈몬 구조물(4-216)의 3개 내지 50개의 반복된 격자 돌출부가 있을 수 있다. 고강도 영역(4-240)이 샘플 우물(2-211)의 베이스에서 보일 수 있다. 이 영역 내의 강도는 표면-플라즈몬 구조물 바로 아래의 영역에 비하여 2배보다 더 많이 향상되었다.

- [0164] 도 4be는 공진 표면-플라즈몬 구조물(4-218)의 대안적인 실시예를 정면도로 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 표면-플라즈몬 구조물은 주기적인 또는 비주기적인 격자 또는 그리드 패턴들로서 형성될 수 있고, 다수의 층(4-247)에 패터닝될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물(2-211)은 다수의 층(4-247)을 통하여 그리고 공진 표면-플라즈몬 구조물(4-218) 내에 패터닝될 수 있다. 일부 구현들에서, 공진 표면-플라즈몬 구조물은 도 4bf의 평면도에 도시된 바와 같이 별개의 도전성 엘리먼트들(4-222)을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 공진 표면-플라즈몬 구조물은 도 4bg에 도시된 바와 같이, 연속적인 래티스 패턴(4-250)을 포함할 수 있다. 도전성 재료(4-250)의 보이드들에 유전체 충전재(dielectric filler)(4-252)가 위치할 수 있고, 보이드 내에 샘플 우물(2-211)이 위치할 수 있다.
- [0165] 샘플 우물로의 결합을 향상시키거나 샘플 우물 내의 샘플로부터의 방출에 영향을 미치기 위해 이용될 수 있는 각종 상이한 표면-플라즈몬 구조물들이 존재한다. 도 4bh는 표면-플라즈몬 구조물의 또 다른 대안적인 실시예를 평면도로 도시한다. 도 4bh의 라인 4-2I를 통해 취해진 구조물의 단면도가 도 4bi에 도시되어 있다. 일부 구현들에 따르면, 표면-플라즈몬 구조물은 샘플 우물(2-211) 주위에 분포된 디스크(disc)들(4-260)의 어레이를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 디스크(4-260)는 샘플 우물(2-211)로부터 대략 거리 R에 있을 수 있다. 그러나, 도시된 바와 같이, 각각의 디스크(4-260)로부터 샘플 우물(2-211)까지의 거리는 달라질 수 있다. 또한, 각각의 디스크(4-260)의 사이즈는 상이할 수 있다. 일부 구현들에서는, 도전성 디스크들(4-260)을 이용하는 대신에, 표면-플라즈몬 구조물은 홀들의 분포된 패턴이 형성되는 도전층을 포함할 수 있다. 이러한 구조물은 "나노-안테나"로 언급될 수 있다.
- [0166] 샘플 우물에 인접한 표면-플라즈몬 구조물들을 패터닝하기 위해 각종 상이한 프로세스들이 이용될 수 있다. 도 4ca 내지 도 4ee는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물에 인접한 표면-플라즈몬 구조물들을 형성하기 위해 이용될 수 있는 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다. 이제 도 4ca를 참조하면, 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위한 프로세스는 마스킹 층(4-330)상에 반사 방지 코팅(ARC)(4-320)상에 레지스트 층(4-310)을 형성하는 것을 포함할 수 있다. 이 층들은 일부 구현들에 따르면, 투명한 유전체층(3-235)상에 배치될 수 있다. 레지스트 층(4-310)은 리소그래피 방식으로 패터닝될 수 있는 포토레지스트 또는 전자- 또는 이온-빔 레지스트를 포함할 수 있다. 마스킹 층(4-330)은 일부 실시예들에 따르면, 무기 재료(예를 들어, 실리콘 또는 실리카 질화물, 또는 임의의 다른 적합한 재료)로 형성될 수 있다.
- [0167] 일부 구현들에서, 도 4cb에 도시된 바와 같이 레지스트(4-310)를 패터닝하기 위해 포토리소그래피 프로세스가 이용될 수 있다. 선택된 패턴은 원하는 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위해 이용될 돌출부들 또는 홀들의 레이아웃을 포함할 수 있다. 레지스트(4-310)의 현상 후에, ARC의 영역들이 노출될 것이고, 패턴은 ARC 층(4-320) 내로 그리고 마스킹 층(4-330) 내로 에칭될 수 있다. 레지스트 및 ARC는 기판으로부터 박리될 수 있고, 결과의 구조물은 도 4cc에 도시된 것처럼 보일 수 있다. 그 후 마스킹 층(4-330)이 에칭 마스크로서 이용될 수 있고, 따라서 도 4cd에 도시된 바와 같이, 패턴은 선택적 이방성 에치를 통해 하부의 유전체층(3-235)으로 전사될 수 있다.
- [0168] 그 후 도 4ce에 예시된 바와 같이, 도전성 재료(2-221), 또는 도체를 포함하는 재료들의 층이 영역 위에 퇴적될 수 있다. 재료(2-221)로부터 개별적인 층으로서 퇴적되는지 여부에 관계없이, 표면 플라즈몬 구조물을 형성하기 위해 임의의 적합한 도전성 재료가 이용될 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 제1 도전성 재료가 표면-플라즈몬 구조물이 형성되는 재료(2-221)의 베이스 층으로서 퇴적될 수 있다. 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위해 이용될 수 있는 재료들의 예들은 Au, Al, Ti, TiN, Ag, Cu, 및 이들의 합금들 또는 조합 층들을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0169] 재료(2-221), 또는 재료들의 층은 물리 퇴적 프로세스 또는 화학 기상 증착 프로세스를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 적합한 퇴적 프로세스에 의해 퇴적될 수 있다. 일부 실시예들에서, 재료(2-221)는 대략 80nm와 대략 300nm 사이의 두께를 가질 수 있다. 일부 구현들에서, 재료(2-221)는(예를 들어, CMP 프로세스를 이용하여) 평탄화될 수 있지만, 평탄화가 필요한 것은 아니다. 샘플 우물을 제조하는 것과 관련하여 본 명세서에 설명된 임의의 적합한 프로세스를 이용하여 샘플 우물이 재료(2-221)에 형성될 수 있다.
- [0170] 본 발명자들은 도 4ca 내지 도 4ce에 도시된 단계들에 따라 표면-플라즈몬 구조물을 형성하는 것은 표면-플라즈몬 구조물에의 샘플 우물의 정확한 정렬을 요구하지 않을 수 있다는 것을 인지하였다. 예를 들어, 도 4bc에 도시된 바와 같은, 동심의 격자를 포함하는 표면-플라즈몬 구조물은 표면-플라즈몬 구조물(4-214)의 중심에의 샘플 우물(2-211)의 정확한 정렬을 요구하지 않을 수 있다. 이러한 정확한 정렬과 관련된 제조 어려움들을 피하기 위해, 도 4da 내지 도 4ee에 도시된 자기 정렬 프로세스들이 이용될 수 있다.

- [0171] 이제 도 4da를 참조하면, 표면-플라즈몬 구조물 및 이 표면-플라즈몬 구조물에 자기 정렬되는 샘플 우물을 형성하기 위한 프로세스는 투명한 유전체층(3-235)상에 마스킹 층(4-410)을 형성하는 것을 포함할 수 있다. 마스킹 층은 일부 실시예들에 따르면, 실리콘 또는 실리카 질화물과 같은 무기 재료로 형성된 하드 마스크를 포함할 수 있다. 마스킹 층(4-410)의 두께는 샘플 우물(2-212)의 원하는 높이와 대략 같을 수 있다. 예를 들어, 마스킹 층의 두께는 일부 실시예들에 따르면, 대략 50nm와 대략 200nm 사이일 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다.
- [0172] 마스킹 층(4-410)은 유전체층(3-235)에 패터닝될 표면-플라즈몬 구조물의 원하는 패턴을 가진 보이드들(4-430)을 생성하기 위해 패터닝될 수 있다. 마스킹 층(4-410)의 패터닝은 임의의 적합한 리소그래피 프로세스(예를 들어, 포토리소그래피, 전자-빔 리소그래피, 이온-빔 리소그래피, EUV 리소그래피, x선 리소그래피)를 이용하여 행해질 수 있다. 결과의 구조물은 도 4db에 도시된 것처럼 보일 수 있다. 이 구조물은 중심 기둥(central pillar)(4-420)을 포함할 것이고, 이것은 후속하여 자기 정렬된 샘플 우물을 형성하는 데 이용될 것이다.
- [0173] 그 후 도 4dc에 도시된 바와 같이, 패터닝된 마스킹 층(4-410) 위에 레지스트(4-440)(예를 들어, 포토레지스트)가 패터닝될 수 있다. 레지스터(4-440)를 패터닝하기 위한 정렬(예를 들어, 마스크 대 기판 정렬)은 매우 정확할 필요가 없고, 레지스트(4-440)가 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위해 이용될 보이드들(4-430)은 커버하지 않고 중심 기둥(4-420)을 커버하기만 하면 된다.
- [0174] 그 후 일부 실시예들에 따르면 도 4dd에 도시된 바와 같이, 유전체층(3-235) 내로 예칭하고 표면-플라즈몬 구조물의 패턴을 유전체로 전사하기 위해 선택적 이방성 에치가 이용될 수 있다. 그 후 마스킹 층(4-410)의 노출된 위치들을 제거하기 위해 선택적 등방성 에치가 이용될 수 있다. 이 등방성 에치는, 예를 들어, 습식 에치일 수 있지만, 일부 실시예들에서는 등방성 건식 에치가 이용될 수 있다. 도 4de에 도시된 바와 같이, 레지스트(4-440)가 중심 기둥(4-420)을 커버하기 때문에, 중심 기둥은 예칭되지 않고 기판상에 남을 것이다. 그 후 도 4df에 도시된 바와 같이, 레지스트(4-440)가 기판으로부터 박리되어 기둥(4-420)을 노출시킬 수 있다.
- [0175] 일부 실시예들에 따르면, 그 후 도 4dg에 예시된 바와 같이 영역 위에 금속 도전성 재료(2-221), 또는 도전성 재료를 포함하는 재료들의 스택이 퇴적될 수 있다. 그 후 중심 기둥(4-420) 및 기둥 위의 퇴적된 재료의 캡을 기둥의 선택적 습식 에치에 의해 제거하여, 캡을 리프트오프할 수 있다. 중심 기둥의 제거는 하부의 표면-플라즈몬 구조물(4-450)에 자기 정렬되는 샘플 우물을 남긴다.
- [0176] 표면-플라즈몬 구조물에 자기 정렬되는 샘플 우물을 형성하기 위해 대안적인 프로세스가 이용될 수 있고, 도 4ea 내지 도 4ee에 도시되어 있다. 일부 실시예들에 따르면, 도 4ea에 도시된 바와 같이, 임의의 적합한 리소그래피 프로세스를 이용하여 투명한 유전체층(3-235)상에 하나 이상의 도전층(4-510, 4-520)이 패터닝될 수 있다. 일부 구현들에서, 제1 층(4-510)은 알루미늄을 포함할 수 있고, 제2 층(4-520)은 티타늄 질화물을 포함할 수 있지만, 다양한 실시예들에서 다른 재료 조합들이 이용될 수 있다. 하나 이상의 층의 총 두께는 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물의 원하는 높이와 대략 같을 수 있다. 패터닝은 하나 이상의 금속층에 샘플 우물(2-211), 및 이 샘플 우물에 인접한 보이드들(4-525)을 형성할 수 있다. 보이드들은 원하는 표면-플라즈몬 구조물의 패턴으로 배열될 수 있다.
- [0177] 일부 구현들에서, 도 4eb에 도시된 바와 같이, 유전체층(3-235)을 예칭하여 표면-플라즈몬 구조물 및 샘플 우물(2-211)의 패턴을 유전체층으로 전사하여 유전체 보이드들(4-530)을 형성할 수 있다. 유전체 보이드들(4-530)의 에치 깊이는 일부 실시예들에 따르면, 대략 20nm와 대략 150nm 사이일 수 있다. 도 4ec에 도시된 바와 같이, 샘플 우물을 커버하도록 레지스트(4-440)를 패터닝할 수 있다. 레지스트를 패터닝하기 위한 정렬을 매우 정확할 필요가 없고, 표면-플라즈몬 구조물을 형성하기 위해 이용될 유전체층(3-235)의 인접한 예칭된 영역들은 커버하지 않고 샘플 우물을 커버하기만 하면 된다.
- [0178] 도 4ed에 예시된 바와 같이, 임의의 적합한 퇴적 프로세스를 이용하여 영역 위에 도전성 재료(4-512), 또는 도체를 포함하는 재료들의 층들이 퇴적될 수 있다. 이 재료(4-512)는 유전체층의 예칭된 영역들을 채울 수 있고, 하나 이상의 층(4-510, 4-520) 위로 연장할 수 있다. 그 후 레지스트(4-440) 및 이 레지스트를 커버하는 재료가 리프트오프 프로세스에 따라 제거될 수 있다. 도 4ee에 도시된, 결과의 구조물은 주위의 표면-플라즈몬 구조물에 자기 정렬되는 샘플 우물을 남긴다. 샘플 우물은 디봇(3-216)을 포함한다.
- [0179] 일부 실시예들에서 도 4ea 내지 도 4ee에 도시된 프로세스는 디봇(3-216)을 갖지 않는 샘플 우물을 형성하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 유전체층(3-235)이 예칭되기 전에 샘플 우물(2-211) 위에 레지스트(4-440)가 패터

낳될 수 있다. 그 후 유전체층(3-235)이 에칭될 것이고, 이는 디봇은 형성하지 않고 표면-플라즈몬 구조물의 패턴을 유전체층으로 전사할 것이다. 그 후 프로세스는 디봇이 없는 자기 정렬된 샘플 우물을 생성하기 위해 도 4ed 및 도 4ee에 예시된 바와 같이 진행될 수 있다.

[0180] 표면-플라즈몬 구조물들에 추가로 또는 대안으로서, 다른 구조물들이 샘플 우물 내의 여기 에너지를 증가시키기 위해 샘플 우물(2-211)의 부근에 패터닝될 수 있다. 예를 들어 일부 구조물들은 샘플 우물 내의 여기 에너지의 강도를 증가시키도록 입사 여기장의 위상 및/또는 진폭을 변경할 수 있다. 도 4fa는 입사 여기 에너지의 위상 및 진폭을 변경하고 샘플 우물 내의 전자기 방사의 강도를 증가시키기 위해 이용될 수 있는 얇은 손실막(4-610)을 도시한다.

[0181] 일부 실시예들에 따르면, 얇은 손실막(4-610)은 여기 에너지의 보강 간섭(constructive interference)을 일으키고, 이는 샘플 우물의 여기 영역 내의 장 향상의 결과를 야기할 수 있다. 도 4fb는 샘플 우물에 바로 인접하여 얇은 손실막(4-610)이 형성된 샘플 우물에 입사되는 여기 에너지의 수치 시뮬레이션을 도시한다. 이 시뮬레이션을 위해, 샘플 우물은 대략 80nm의 직경을 갖고 두께가 대략 200nm인 금의 금속성 층으로 형성된다. 샘플 우물은 SCN을 포함하고, 샘플 우물을 통한 여기 에너지의 전파를 억제한다. 얇은 손실막(4-610)은 두께가 대략 10nm이고, 게르마늄으로 형성되고, 이산화 실리콘을 포함하는 하부의 투명한 유전체를 커버한다. 이 얇은 손실막은 샘플 우물의 입구 개구를 가로질러 연장한다. 시뮬레이션은 여기 에너지의 강도가 샘플 우물의 입구 개구에서 가장 높은 값이라는 것을 보여준다. 이 밝은 영역(4-620)에서의 여기 에너지의 강도는 샘플 우물의 왼쪽과 오른쪽의 강도의 값의 2배를 초과한다.

[0182] 얇은 손실막은 임의의 적합한 재료로 만들어질 수 있다. 예를 들어, 얇은 손실막은 굴절률 n 이 해당 재료에 대한 흡광 계수 k 와 대략 동일한 자릿수(order of magnitude)인 재료로 만들어질 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 굴절률 n 이 해당 재료에 대한 흡광 계수 k 의 값으로부터 약 두 자릿수 차이 이내인 재료로 만들어질 수 있다. 가시 광장들에서 이러한 재료들의 비례적인 예들은 게르마늄과 실리콘이다.

[0183] 얇은 손실막은 여기 소스, 또는 소스들과 관련된, 특성 광장, 또는 광장들에 의존할 수 있는, 임의의 적합한 두께일 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 대략 1nm와 대략 45nm 사이일 수 있다. 다른 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 대략 15nm와 대략 45nm 사이일 수 있다. 또 다른 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 대략 1nm와 대략 20nm 사이일 수 있다.

[0184] 샘플 우물이 형성되는 재료(2-221)로부터의 반사율, 얇은 손실막 내의 여기 에너지 손실, 및 재료(2-221) 내의 여기 에너지 손실에 대한 얇은 손실막의 효과들이 도 4fc의 그래프에 도시되어 있다. 그래프에 플로팅된 하나의 곡선은 반사율 곡선(4-634)을 나타내고, 재료(2-221) 및 얇은 손실막(4-610)으로부터의 반사율이 얇은 손실막의 두께가 0nm에서 100nm까지 변화함에 따라 어떻게 달라지는지를 보여준다. 시뮬레이션된 실시예에 따르면, 반사율은 약 25nm에서 최소값에 도달한다. 반사율 최소값은 얇은 손실막 및 재료(2-221)에 사용되는 재료들 및 여기 에너지의 특성 광장에 따라 상이한 두께들에서 발생할 것이다. 일부 구현들에서 얇은 손실막의 두께는 반사율이 대략 그것의 최소값에 있도록 선택된다. 곡선(4-632)은 박막 두께의 함수로서 막의 손실을 나타내고, 곡선(4-636)은 박막 두께의 함수로서 금속의 손실을 나타낸다.

[0185] 일부 실시예들에서, 얇은 손실막(4-610)은, 도 4fd에 도시된 바와 같이, 샘플 우물(2-211) 및 재료(2-221)로부터 이격될 수 있다. 예를 들어, 얇은 손실막 위에 얇은 유전체층(4-620)(예를 들어, 실리콘 산화물 SiO_x)이 형성될 수 있고, 이 유전체층(4-620)에 인접하여 샘플 우물(2-211)이 형성될 수 있다. 유전체층(4-620)의 두께는 일부 실시예들에 따르면 대략 10nm와 대략 150nm 사이일 수 있지만, 일부 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다.

[0186] 단일 층으로서 도시되어 있기는 하지만, 얇은 손실막은 둘 이상의 재료의 다수의 층을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 도 4fe에 도시된 바와 같이, 얇은 손실막(4-610)과 유전체층(4-620)의 교대 층들을 포함하는 다중 층 스택이 샘플 우물(2-211)에 인접하여 형성될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 층들의 스택 내의 얇은 손실막(4-610)의 두께는 대략 5nm와 대략 100nm 사이일 수 있고, 스택 내의 유전체층(4-620)의 두께는 대략 5nm와 대략 100nm 사이일 수 있다. 일부 구현들에서, 다중층 스택은 이산화 실리콘의 층(두께가 4.2nm), 실리콘의 층(두께가 14.35nm), 및 게르마늄의 층(두께가 6.46nm)을 포함할 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다. 일부 구현들에서, 다중층 스택은 이산화 실리콘의 층(두께가 대략 4.2nm), 실리콘의 층(두께가 대략 14.4nm), 및 게르마늄의 층(두께가 대략 6.5nm)을 포함할 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다.

- [0187] 얇은 손실막은 입사 방사에 대해 적어도 얼마간의 손실을 보이는 임의의 적합한 재료로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 반도체 재료, 예를 들어 실리콘 및 게르마늄을 포함할 수 있지만, 다른 재료들이 사용될 수도 있다. 일부 구현들에서, 얇은 손실막은 무기 재료 또는 금속을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 합금 또는 화합물을 반도체를 포함할 수 있다. 예를 들어, 얇은 손실막은 Si(중량으로 57.4%), Ge(중량으로 25.8%), 및 SiO₂(중량으로 16.8%)를 포함하는 합금을 포함할 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 비율들 및 조성들이 이용될 수 있다.
- [0188] 일부 실시예들에 따르면, 얇은 손실막은 임의의 적합한 블랭킷 퇴적 프로세스, 예를 들어, 물리 퇴적 프로세스, 화학 기상 증착 프로세스, 스피온(spin on) 프로세스, 또는 이들의 조합을 이용하여 기판상에 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 퇴적 후에 처리될 수 있다(예를 들어, 베이킹되고, 어닐링되고/되거나 이온 주입을 겪는다).
- [0189] 샘플 우물 내의 여기 에너지를 향상시키기 위해 추가적으로 또는 대안적으로 다른 위상/진폭 변경 구조물들이 이용될 수 있다. 일부 구현들에 따르면 그리고 도 4ga에 도시된 바와 같이, 반사성 스택(4-705)이 샘플 우물(2-211)로부터 이격될 수 있다. 일부 실시예들에서, 반사성 스택은 교대 굴절률들을 가진 재료들의 유전체 스택을 포함할 수 있다. 예를 들어 제1 유전체층(4-710)은 제1 굴절률을 가질 수 있고, 제2 유전체층(4-720)은 제1 굴절률과 상이한 제2 굴절률을 가질 수 있다. 반사성 스택(4-705)은 일부 실시예들에서 여기 에너지에 대해서는 높은 반사율을 보일 수 있고, 샘플 우물 내의 방사체로부터의 방사성 방출에 대해서는 낮은 반사율을 보일 수 있다. 예를 들어, 반사성 스택(4-705)은 여기 에너지에 대해서는 대략 80%보다 높은 반사율 그리고 샘플로부터의 방출에 대해서는 대략 40%보다 낮은 반사율을 보일 수 있지만, 일부 실시예들에서는 다른 반사율 값들이 이용될 수 있다. 여기 에너지를 투과하는 유전체층(4-730)이 반사성 스택과 샘플 우물 사이에 위치할 수 있다.
- [0190] 일부 구현들에 따르면, 도 4ga에 도시된 반사성 스택(4-705)은 샘플 우물(2-211)이 형성되는 재료(2-221)와 공진기를 형성할 수 있다. 예를 들어, 반사성 스택은 재료(2-221)로부터, 유전체 재료(4-730) 내의 여기 에너지의 파장의 1/2, 또는 그의 정수배와 대략 같은 거리만큼 이격될 수 있다. 공진기를 형성함으로써, 여기 에너지가 반사성 스택을 통과하고, 공진하고, 재료(2-221)와 반사성 스택(4-705) 사이의 공간에 축적될 수 있다. 이것은 샘플 우물(2-211) 내의 여기 강도를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 강도는 공진 구조물 내에서 일부 실시예들에서는 2배보다 더 많이, 일부 실시예들에서는 5배보다 더 많이, 그리고 또 일부 실시예들에서는 10배보다 더 많이 증가할 수 있다.
- [0191] 도 4gb 및 도 4gc에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 부근에 추가적인 구조물들이 추가될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 도 4gb에 도시된 바와 같이, 유전체(4-730)의 제2 굴절률보다 높은 제1 굴절률을 가진 유전체 플러그(4-740)가 샘플 우물(2-211)에 인접하여 형성될 수 있다. 플러그는 샘플 우물의 직경과 대략 같은 직경을 가진 원통의 형상일 수 있지만, 다른 형상들 및 사이즈들이 사용될 수도 있다. 그것의 더 높은 굴절률 때문에, 유전체 플러그(4-740)는 여기 에너지를 응축시키고 샘플 우물 쪽으로 유도할 수 있다.
- [0192] 플러그(4-740)와 같은 유전체 구조물은, 일부 실시예들에 따르면, 반사성 스택(4-705)과 함께 또는 반사성 스택 없이 이용될 수 있다. 이러한 유전체 구조물은 유전체 공진 안테나(dielectric resonant antenna)로 언급될 수 있다. 유전체 공진 안테나는 임의의 적합한 형상, 예를 들어, 원통형, 직사각형, 정사각형, 다각형, 사다리꼴, 또는 피라미드형을 가질 수 있다.
- [0193] 도 4gc 및 도 4gd는 일부 실시예들에 따른, 샘플 우물(2-211)의 부근에 형성될 수 있는 광 밴드갭(photonic bandgap)(PBG) 구조물을 도시한다. 광 밴드갭 구조물은 광학 콘트라스트(optical contrast) 구조물들(4-750)의 규칙적인 어레이 또는 래티스를 포함할 수 있다. 광학 콘트라스트 구조물들은, 일부 실시예들에 따르면, 주위의 유전체 재료의 굴절률과는 상이한 굴절률을 가진 유전체 재료를 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 광학 콘트라스트 구조물들(4-750)은 주위의 매질과는 상이한 손실 값을 가질 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플 우물(2-211)은 도 4gd에 도시된 바와 같이 래티스 내의 결손(defect)에 위치할 수 있다. 다양한 실시예들에 따르면, 광 래티스(photonic lattice) 내의 결손은 결손의 영역 내에 광자들을 구속할 수 있고 샘플 우물에서 여기 에너지의 강도를 향상시킬 수 있다. 광 밴드갭 구조물로 인한 구속(confinement)은 실질적으로 기판의 표면에 가로인 2차원에서 이루어질 수 있다. 반사성 스택(4-705)과 조합될 때, 구속은 샘플 우물에서 3차원에서 이루어질 수 있다. 일부 실시예들에서, 광 밴드갭 구조물은 반사성 스택 없이 이용될 수 있다.
- [0194] 도 4fa 내지 도 4gd에 도시된 여기-결합 구조물을 제조하기 위해 다양한 방법들이 고려되었다. 얇은 평면막

들(예를 들어, 고대 굴절률의 유전체막들)을 요구하는 구조물들은, 일부 실시예들에 따르면, 평면 퇴적 프로세스들에 의해 형성될 수 있다. 평면 퇴적 프로세스들은 물리 퇴적(예를 들어, 전자빔 증발 또는 스팍터링) 또는 화학 기상 증착 프로세스들을 포함할 수 있다. 도 4gb에 도시된 유전체 공진 안테나(4-740) 또는 도 4gc에 도시된 광학 콘트라스트 구조물들(4-750)과 같은, 3차원 형상들로 형성된 별개의 임베드된 유전체들을 요구하는 구조물들은 예를 들어, 기판 내에 패턴을 에칭하기 위한 리소그래피 패터닝 및 에칭 프로세스들을 이용하여, 그리고 후속의 유전체층의 퇴적, 및 기판의 평탄화를 이용하여 형성될 수 있다. 또한 샘플 우물(2-211)의 부근에 광 밴드캡 구조물뿐만 아니라 유전체 공진 안테나들을 형성하기 위한 자기 정렬 처리 기법들도 고려된다.

[0195] 도 4ha 내지 도 4hg는 도 4gc에 예시된 바와 같은 광 밴드캡 구조물 및 자기 정렬된 샘플 우물을 형성하기 위해 이용될 수 있는 단지 하나의 자기 정렬 프로세스를 위한 프로세스 공정들과 관련된 구조물들을 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 도 4ha에 예시된 바와 같이, 먼저 유전체층(3-235) 위에 기판상에 반사성 스택(4-705)이 형성될 수 있다. 그 후 반사성 스택 위에 제2 유전체층(4-730)이 퇴적될 수 있다. 이 유전체층(4-730)의 두께는 재료에서의 여기 에너지의 파장의 약 1/2, 또는 그의 정수배와 대략 같을 수 있다. 그 후 도 4da 내지 도 4de 와 관련하여 설명된 프로세스 공정들을 수행하여 유전체층(4-730) 위에 기둥(4-420) 및 광 밴드캡 구조물을 위한 에칭된 피처들(4-810)의 패턴을 형성할 수 있다. 에칭된 피처들은 유전체층(4-730) 내로 그리고 임의적으로 반사성 스택(4-705) 내로 연장할 수 있다. 결과의 구조물은 도 4ha에 도시된 것처럼 보일 수 있다.

[0196] 도 4hb에 도시된 바와 같이, 기둥(4-420)을 커버하는 레지스트(4-440)가 기판으로부터 박리되고 에칭된 피처들을 충전 재료(4-820)로 채우기 위해 등각 퇴적이 수행될 수 있다. 충전 재료(4-820)는, 일부 실시예들에 따르면, 기둥(4-420)을 형성하기 위해 이용되는 동일한 재료일 수 있다. 예를 들어, 충전 재료(4-820)와 기둥(4-420)은 실리콘 질화물로 형성될 수 있고 유전체층(4-730)은 산화물, 예를 들어, SiO_2 를 포함할 수 있다.

[0197] 그 후 이방성 에치를 수행하여 충전 재료(4-820)를 에치백할 수 있다. 충전 재료는, 일부 실시예들에 따르면, 유전체층(4-730)의 표면을 노출시키도록 에치백될 수 있고, 그 결과 도 4hc에 도시된 바와 같은 구조물이 얻어질 수 있다. 에치는 원래의 기둥(4-420) 및 충전 재료(4-820)로부터 남는 측벽들(4-822)을 포함하는 기둥(4-830)을 남길 수 있다.

[0198] 그 후 도 4hd에 도시된 바와 같이 기판 위에 레지스트(4-440)가 패터닝될 수 있다. 예를 들어, 이 레지스트는 기판상에 코팅될 수 있고, 레지스트에 홀이 패터닝될 수 있고, 기둥(4-830) 주위의 레지스트의 영역을 개방하도록 레지스트가 현상될 수 있다. 기둥에 대한 홀의 정렬은 매우 정확할 필요가 없고, 유전체층(4-730)에 임베드된 하부의 광 밴드캡 구조물들은 노출시키지 않고 기둥(4-830)을 노출시키기만 하면 된다.

[0199] 기둥(4-830)이 노출된 후에, 기둥의 가로 치수를 감소시키기 위해 등방성 에칭이 이용될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 결과의 기둥 형상은 도 4he에 도시된 것처럼 보일 수 있다. 그 후 기판으로부터 레지스트(4-440)가 박리될 수 있고 재료(2-221), 또는 재료들의 층이 영역 위에 퇴적될 수 있다. 일부 실시예들에서, 도 4hf에 도시된 바와 같이 영역을 평탄화하기 위해 CMP 프로세스를 이용하여 재료(2-221)가 에치백될 수 있다. 후속하여, 선택적 건식 습식 에치를 이용하여 나머지 기둥 구조물을 제거하여, 도 4hg에 예시된 바와 같이, 샘플 우물(2-211)을 남길 수 있다. 도면들에 의해 나타낸 바와 같이, 샘플 우물(2-211)은 유전체층(4-730)에 패터닝된 광 밴드캡 구조물에 자기 정렬된다.

[0200] 대안적인 프로세스로서, 충전 재료(4-820)는 기둥(4-420)을 형성하기 위해 이용되는 재료와는 상이한 재료를 포함할 수 있다. 이 프로세스에서, 도 4hd 및 도 4he와 관련된 공정들은 생략될 수 있다. 도 4hf에 도시된 바와 같이, 재료(2-221)의 퇴적 및 평탄화 후에, 선택적 에치를 수행하여 기둥(4-420)을 제거할 수 있다. 이에 따라 샘플 우물(2-211)을 라이닝하는 충전 재료(4-820)의 측벽들이 남을 수 있다.

D. 비방사성 여기-결합 구조물들

[0202] 본 개시는 샘플 우물 내의 샘플로의 여기 에너지의 비방사성 결합을 위한 구조물들을 제공한다. 비방사성 결합 구조물의 단지 하나의 실시예가 도 4ia에 도시되어 있다. 일부 실시예들에 따르면, 비방사성 결합 구조물은 샘플 우물(2-211)에 바로 인접하여 형성된 반도체층(4-910)을 포함할 수 있다. 이 반도체층(4-910)은 일부 실시예들에서는 유기 반도체, 또는 일부 실시예들에서는 무기 반도체일 수 있다. 일부 구현들에서, 반도체층에 디봇(3-216)이 형성될 수 있거나, 형상되지 않을 수 있다. 반도체층(4-910)은 일부 실시예들에 따르면 대략 5nm 와 대략 100nm 사이의 두께를 가질 수 있지만, 일부 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수도 있다. 일부 구현들에 따르면, 여기 소스로부터의 여기 에너지 또는 광자들(4-930)이 반도체층(4-910)에 부딪치고 여기자들(4-920)을 생성할 수 있다. 여기자들은 샘플 우물의 표면으로 확산할 수 있고 여기서 그것들은 비방사성으로 재결

합하고 샘플 우물의 벽들에 인접한 샘플에 에너지를 전달할 수 있다.

[0203] 도 4ib는 반도체층(4-912)이 여기 에너지로부터의 에너지를 샘플에 비방사성으로 전달하기 위해 이용될 수 있는 또 다른 실시예를 도시한다. 일부 실시예들에서, 반도체층(4-912)은, 도면에 도시된 바와 같이, 샘플 우물의 바닥에 또는 샘플 우물(2-211)의 디봇에 형성될 수 있다. 반도체층(4-912)은, 일부 실시예들에 따르면, 샘플 우물의 베이스에 피착체를 퇴적하기 위한 프로세스 공정들과 관련하여 본 명세서에 설명된 바와 같은 방향성 퇴적 프로세스를 이용하여 샘플 우물에 형성될 수 있다. 반도체층(4-912)은 일부 실시예들에 따르면 대략 5nm와 대략 100nm 사이의 두께를 가질 수 있지만, 다른 실시예들에서는 다른 두께들이 이용될 수 있다. 입사 방사가 반도체층 내에 여기자들을 생성할 수 있고, 그것들은 그 후 샘플 우물(2-211)의 바닥 표면으로 확산할 수 있다. 그 후 여기자들은 에너지를 샘플 우물 내의 샘플에 비방사성으로 전달할 수 있다.

[0204] 본 개시는 여기 에너지를 샘플에 전달하기 위한 다수의 비방사성 경로들도 제공한다. 일부 실시예들에 따르면, 그리고 도 4ic에 도시된 바와 같이, 샘플 우물 내에 에너지-전달 입자(4-940)가 퇴적될 수 있다. 에너지-전달 입자는 일부 실시예들에서는 양자점과 포함할 수 있고, 또는 일부 실시예들에서는 분자를 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 에너지-전달 입자(4-940)는 연결 분자(linking molecule)를 통하여 샘플 우물의 표면에 관능화(functionalize)될 수 있다. 도면에 도시된 바와 같이, 얇은 반도체층(4-910)이 샘플 우물에 인접하여, 또는 샘플 우물 내에 형성될 수 있고, 이 반도체층에 입사되는 여기 에너지로부터 반도체층 내에 여기자들이 생성될 수 있다. 여기자들은 샘플 우물의 표면으로 확산할 수 있고, 에너지-전달 입자(4-940)에 에너지를 비방사성으로 전달할 수 있다. 에너지-전달 입자(4-940)는 그 후 샘플 우물 내의 샘플(3-101)에 에너지를 비방사성으로 전달할 수 있다.

[0205] 일부 구현들에 따르면, 샘플 우물 내에 2개 이상의 에너지-전달 입자(4-940)가 있을 수 있다. 예를 들어, 도 4ic에 도시된 샘플 우물과 같은 샘플 우물 내에 에너지-전달 입자들(4-942)의 층이 퇴적될 수 있다.

[0206] 일부 구현들에서, 도 4id에 도시된 바와 같이, 에너지-전달 입자들(4-942), 또는 단일 에너지-전달 입자(4-940)가 샘플 우물의 베이스에 퇴적될 수 있다. 에너지-전달 입자, 또는 입자들은 우물 내의 샘플(3-101)에 방사성으로 또는 비방사성으로 여기 에너지를 전달할 수 있다. 예를 들어, 에너지-전달 입자는 입사 방사를 흡수하여 에너지-전달 입자의 여기된 상태를 형성하고, 그 후 에너지를 샘플(3-101)에 방사성으로 또는 비방사성으로 전달할 수 있다.

[0207] 일부 구현들에서, 에너지-전달 입자는 입사 여기 에너지를 흡수하고, 그 후 흡수된 여기 에너지의 파장과는 상이한 파장에서 방사성 에너지를 재방출할 수 있다. 재방출된 에너지는 그 후 샘플 우물 내의 샘플을 여기시키는 데 이용될 수 있다. 도 4ie는 하향 변환하는(down-converting) 에너지-전달 입자와 관련된 스펙트럼 그래프들을 나타낸다. 일부 실시예들에 따르면, 하향 변환하는 에너지-전달 입자는 짧은 파장 방사(더 높은 에너지)를 흡수하고, 하나 이상의 더 긴 파장 방사(더 낮은 에너지)를 방출하는 양자점을 포함할 수 있다. 6 내지 7nm의 반경을 가진 양자점에 대해 예시적인 흡수 곡선(4-952)이 그래프에 파선으로 도시되어 있다. 이 양자점은 곡선(4-954)에 의해 예시된 제1 방사 대역, 곡선(4-956)에 의해 예시된 제2 방사 대역, 및 곡선(4-958)에 의해 예시된 제3 방사 대역을 방출할 수 있다.

[0208] 일부 구현들에서 에너지-전달 입자는 여기 소스로부터의 에너지를 상향 변환(up convert)할 수 있다. 도 4if는 에너지-전달 입자로부터의 상향 변환과 관련된 스펙트럼들을 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 양자점은 대략 980nm의 방사로 여기되고, 그 후 그래프에 예시된 바와 같은 3개의 스펙트럼 대역 중 하나로 재방출할 수 있다. 제1 대역은 대략 483nm에 중심을 둘 수 있고, 제2 대역은 대략 538nm에 중심을 둘 수 있고, 제3 대역은 대략 642nm에 중심을 둘 수 있다. 양자점으로부터의 재방출된 광자들은 양자점을 여기시키기 위해 이용되는 방사의 광자들보다 더 역동적(energetic)이다. 따라서, 여기 소스로부터의 에너지가 상향 변환된다. 방출된 스펙트럼 대역들 중 하나 이상이 샘플 우물 내의 하나 이상의 샘플을 여기시키는 데 이용될 수 있다.

E. 센서 쪽으로의 방출 에너지의 유도

[0210] 검정 칩(2-110)은 기기상의 센서들에 의한 방출 에너지의 수집을 개선하기 위해 픽셀 당 하나 이상의 컴포넌트를 포함할 수 있다. 이러한 컴포넌트들은 센서들 쪽으로 공간적으로 방출 에너지를 유도하고 샘플 우물(2-211)로부터의 방출 에너지의 지향성을 증가시키도록 설계될 수 있다. 표면 옵틱스 및 원거리장 옵틱스 양자 모두 방출 에너지를 센서 쪽으로 유도하는 데 사용될 수 있다.

1. 표면 옵틱스(Surface Optics)

[0212] 픽셀의 샘플 우물 근처에 위치하는 검정 칩(2-110)의 픽셀 내의 컴포넌트들은 샘플에 의해 방출된 방출 에너지

와 결합하도록 구성될 수 있다. 이러한 컴포넌트들은 검정 칩의 2개의 층 사이의 계면에 형성될 수 있다. 예를 들어, 일부 방출 에너지 결합 엘리먼트들은 샘플 우물 층과 샘플 우물들이 형성되어 있는 곳에 대향하여 샘플 우물 층에 인접한 층 사이의 계면에 형성될 수 있다. 일부 경우들에서, 샘플 우물 층 하부의 층은 유전체 층이고, 방출 에너지 결합 엘리먼트들은 표면 플라즈몬들을 지원할 수 있다. 다른 실시예들에서, 샘플 우물 층은 광학적으로 투명한 재료에 인접하는 도전성 재료일 수 있다. 표면-에너지 결합 엘리먼트들은 샘플 우물로부터의 방사성 방출에 의해 여기되고 이와 상호 작용하는 표면 광학 구조물들일 수 있다.

[0213] 격자 주기, 피쳐 사이즈, 또는 샘플 우물로부터의 거리와 같은, 표면-광학 구조물의 특성 치수는 방출 에너지 운동량 벡터의 평행 성분(parallel component)을 표면 플라즈몬을 위한 표면과 운동량 벡터로 최대로 결합하도록 선택될 수 있다. 예를 들어, 방출 에너지 운동량 벡터의 평행 성분은, 일부 실시예들에 따르면, 구조에 의해 지원되는 표면 플라즈몬을 위한 표면과 운동량 벡터에 매칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물로부터 표면 광학 구조물의 에지 또는 특징적인 피쳐까지의 거리 d 는 샘플 우물로부터의 방출 에너지를 선택된 방향, 예를 들어 표면에 대해 법선으로 또는 표면에 대해 법선으로부터 각도 θ 로 경사지게 유도하도록 선택될 수 있다. 예를 들어, 거리 d 는 표면에 대해 법선 방향으로 방출을 유도하기 위해 정수개의 표면-플라즈몬 파장일 수 있다. 일부 실시예들에서, 거리 d 는 표면-플라즈몬 파장의 분수, 또는 그의 파장 모듈로(modulo)이도록 선택될 수 있다.

[0214] 일부 실시예들에 따르면, 표면 옵틱스 구조물들은 샘플 우물들로부터의 방사성 방출 에너지를 샘플 우물 층에 대해 법선 방향으로 유도할 수 있다. 결합된 에너지는 좁아진 방향성 방사 패턴으로 법선 방향으로 유도될 수 있다.

[0215] 표면 옵틱스 구조물의 예는 동심 격자(concentric grating)이다. 꿩셀의 하나 이상의 센서 쪽으로 방출 에너지를 유도하기 위해 검정 칩의 꿩셀에 형성될 수 있는 동심 격자 구조물. 이러한 동심 격자 구조물은 샘플 우물 주위에 형성될 수 있다. 표면 플라즈몬 구조물로서 동심의 원형 격자 표면(5-102) 방출-결합 구조물의 예가 도 5a에 도시되어 있다. 이 원형 격자는 임의의 적합한 수의 링을 포함할 수 있고 도 10a에 도시된 링들의 수(6개)는 비제한적인 예이다. 원형 격자는 도전층의 표면으로부터의 돌출 링들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 원형 격자는 샘플 우물 층과 이 샘플 우물 층 아래에 형성된 유전체층의 계면에 형성될 수 있다. 샘플 우물 층은 도전성 재료일 수 있고 동심 격자는 그 도전성 재료와 유전체 사이의 계면에 격자 구조물을 패터닝하는 것에 의해 형성될 수 있다. 원형 격자의 링들은 규칙적인 주기적 간격으로 있을 수 있고, 또는 링들 사이에 불규칙적인 비주기적 간격들을 가질 수 있다. 샘플 우물은 원형 격자의 중심에 또는 중심 근처에 위치할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물은 원형 격자에 대해 중심을 벗어나 위치할 수 있고 격자의 중심으로부터 소정 거리에 위치할 수 있다. 일부 실시예들에서, 격자 유형 표면 에너지-결합 컴포넌트는 나선형 격자를 포함할 수 있다. 나선형 격자(5-202)의 예가 도 5b에 도시되어 있다. 나선형 격자(5-202)는 도전막 내의 나선형 개구를 포함할 수 있다. 나선형 격자를 형성하기 위해 나선형 격자의 임의의 적합한 치수들이 사용될 수 있다.

[0216] 동심 격자는 임의의 적합한 수의 링을 가질 수 있고 임의의 적합한 사이즈를 가질 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 동심 격자는 반경이 대략 234nm, 대략 606nm, 대략 1005nm, 대략 1397nm, 대략 1791nm, 및 대략 2186nm인 6개의 링을 가질 수 있다. 다른 실시예들에서, 동심 링은 2, 3, 4 또는 8개의 링을 가질 수 있다.

[0217] 도 5ca는 샘플 우물(2-211)로부터의 방출 에너지에 대한 방사 패턴(5-302)을 도시한다. 동심 격자 구조물(2-223)은 방출 에너지가 격자 구조물(2-223)이 없는 경우에 형성된 방사 패턴에 비해 더 큰 방향성을 갖게 한다. 일부 실시예들에서, 방출 에너지는 금속층(2-221)에 법선인 하향으로 유도된다. 방사 패턴은 광의 대부분이 센서 쪽으로 실질적으로 동일한 방향으로 집중되도록 방출 에너지를 집중시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 방사 패턴은 발광의 대부분이 표적 체적 아래에 중심을 두고 센서들 쪽으로 하향으로 유도되는 좁은 기둥형 형상(column-like shape)을 형성하도록 발광을 집중시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 동심 격자는 도 5cb의 플롯에 도시된 바와 같이, 1개의 링에 대해 10보다 큰, 2개의 링에 대해 15보다 큰, 3개의 링에 대해 18보다 큰, 4개의 링에 대해 20보다 큰, 또는 1개의 링에 대해 15보다 큰 지향성을 제공할 수 있다.

[0218] 표면 옵틱스 또는 표면 플라즈몬 구조물의 또 다른 예는 나노-안테나 구조물이다. 나노-안테나 구조물은 샘플 우물로부터의 방출 에너지를 공간적으로 유도하도록 설계될 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노-안테나 구조물에 대한 샘플 우물의 위치는 샘플 우물로부터의 방출 에너지를 하나 이상의 센서 쪽으로 특정한 방향으로 유도하도록 선택된다. 나노-안테나들은 방출 에너지에 의해 여기될 때 방향성 방사 패턴을 생성하도록 설계되는 나노-스케일 디이퍼 안테나 구조물들을 포함할 수 있다. 나노-안테나들은 샘플 우물 주위에 분포될 수 있다. 방향성 방사 패턴은 안테나들의 전자기장들의 합계의 결과로 얻어질 수 있다. 일부 실시예들에서, 방향성 방사

패턴은 안테나들의 전자기장들과 샘플로부터 직접 방출된 장의 합계의 결과로 얻어질 수 있다. 일부 구현들에서, 샘플로부터 직접 방출된 장은 나노-안테나 구조물과 샘플 우물 사이의 표면 플라즈몬에 의해 조정(mediate)될 수 있다.

[0219]

나노-안테나 구조물을 형성하는 개개의 나노-안테나들의 치수들은 특정 분포 패턴들을 생성하는 전체 나노-안테나 구조물의 결합된 능력을 위해 선택될 수 있다. 예를 들어, 개개의 나노-안테나들의 직경들은 나노-안테나 구조물 내에서 달라질 수 있다. 그러나, 일부 경우에, 직경들은 나노-안테나들의 세트 내에서 동일할 수 있다. 다른 구현들에서, 전체 나노-안테나 구조물을 통틀어 소수의 선택된 직경들이 이용될 수 있다. 일부 나노-안테나들은 반경 R 의 원에 분포될 수 있고 일부는 원으로부터 방사상 방향으로 시프트될 수 있다. 일부 나노-안테나들은 반경 R 의 원 주위에 등간격으로 배치될 수 있고(예를 들어, 동등한 편각 증분들(equivalent polar-angle increments)에 중심을 둘 수 있고), 일부는 원 주위에 등간격으로부터 시프트될 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노-안테나들은 샘플 우물 주위에 나선형 구성을 배열될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 샘플 우물 주위에 행렬 어레이(matrix array), 십자형 분포(cross distribution), 및 성상 분포(star distributions)와 같은, 나노-안테나들의 다른 구성을 가능하다. 개개의 나노-안테나들은 원 이외의 형상, 예를 들어 정사각형, 직사각형, 십자형, 삼각형, 나비넥타이, 환상 링, 오각형, 육각형, 다각형, 등등일 수 있다. 일부 실시예들에서, 개구 또는 디스크의 원주는 대략 분수 파장의 정수배, 예를 들어, $(N/2)\lambda$ 일 수 있다.

[0220]

나노-안테나 어레이는 샘플로부터의 방출 에너지를 집중된 방사 로브들 내로 유도할 수 있다. 샘플이 에너지를 방출할 때, 그것은 샘플 우물로부터 샘플 우물 주위에 분포된 나노-안테나들로 전파하는 표면 플라즈몬들을 여기시킬 수 있다. 표면 플라즈몬들은 그 후 샘플 우물 층의 표면에 수직인 방사를 방출하는 나노-안테나들에서의 방사 모드를 또는 다이폴 방사체들을 여기시킬 수 있다. 나노-안테나에서의 여기된 모드 또는 다이폴의 위상은 샘플 우물로부터의 나노-안테나의 거리에 의존할 것이다. 샘플 우물과 개개의 나노-안테나 간의 거리의 선택은 나노-안테나로부터 방출된 방사의 위상을 제어한다. 나노-안테나에서 여기된 공간 방사 모드는 나노-안테나의 기하학적 형상 및/또는 사이즈에 의존할 것이다. 개개의 나노-안테나의 기하학적 형상 및/또는 사이즈의 선택은 나노-안테나로부터 방출된 공간 방사 모드를 제어한다. 어레이 내의 모든 나노-안테나들 및, 일부 경우에 샘플 우물로부터의 기여들은 방사 패턴을 형성하는 전체 방사 로브 또는 로브들을 결정할 수 있다. 인식될 수 있는 바와 같이, 개개의 나노-안테나로부터 방출된 위상 및 공간 방사 모드는 파장에 의존할 수 있고, 따라서 방사 패턴을 형성하는 전체 방사 로브 또는 로브들도 파장에 의존할 것이다. 상이한 특성 파장들의 방출 에너지들의 전체 방사 로브 패턴들을 결정하기 위해 전자기장들의 수치 시뮬레이션들이 이용될 수 있다.

[0221]

나노-안테나는 도전막에 홀들 또는 개구들의 어레이를 포함할 수 있다. 예를 들어, 나노-안테나 구조물은 도전성 샘플 우물 층과 하부의 유전체층 사이의 계면에 형성될 수 있다. 홀들은 중심점을 둘러싸는 동심원들에 분포된 홀들의 세트를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물은 어레이의 중심점에 위치하는 반면, 다른 실시예들에서 샘플 우물은 중심을 벗어날 수 있다. 각각의 원형으로 분포된 홀들의 세트는 원형 분포 주위에 가장 작은 것에서 가장 큰 것까지 배열된 상이한 직경들의 집합(collection)을 포함할 수 있다. 홀 직경들은 세트들 사이에 상이할 수 있고(예를 들어, 하나의 세트 내의 가장 작은 홀이 또 다른 세트 내의 가장 작은 홀보다 클 수 있다), 가장 작은 홀의 위치는 원들의 각각의 세트에 대해 상이한 편각으로 배향될 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노-안테나에 원형으로 분포된 홀들의 1 내지 7개 세트가 있을 수 있다. 다른 실시예들에서는, 7개보다 많은 세트가 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 홀들은 원형이 아닐 수 있고, 임의의 적합한 형상일 수 있다. 예를 들어, 홀들은 타원형, 삼각형, 직사각형, 등등일 수 있다. 다른 실시예들에서, 홀들의 분포는 원형이 아닐 수 있고, 나선형 형상을 생성할 수 있다.

[0222]

도 5da 및 도 5db는 도전층에 홀들 또는 개구들로 구성된 예시적인 나노-안테나 구조물을 예시한다. 도 5da는 홀들(5-122)에 의해 둘러싸인 샘플 우물(5-108)을 가진 검정 칩의 표면의 상부 평면도를 도시한다. 나노-안테나 홀들은 그들의 중심이 대략 반경 R 의 원 주위에 있도록 분포된다. 이 비제한적인 예에서, 홀 직경들은 홀들의 원의 원주 주위로 점증적으로 증가함으로써 달라진다. 도 5db는 도 5da에 도시된 검정 칩의 라인 B-B를 따르는 단면도의 개략도를 도시한다. 샘플 우물 층(5-116)은 나노-안테나 구조물의 일부인 개구들(5-122) 및 샘플 우물(5-108)을 포함할 수 있다. 검정 칩의 층(5-118)은 샘플 우물 층(5-116)의 아래에 위치한다. 층(5-118)은 유전체 재료 및/또는 광학적으로 투명한 재료일 수 있다.

[0223]

일부 실시예들에서, 나노-안테나 구조물은 복수의 디스크를 포함할 수 있다. 나노-안테나 구조물의 디스크들은 도전성 재료의 표면으로부터 돌출하는 도전성 디스크들로서 형성될 수 있다. 도전성 재료는 광학적으로 투명한 재료에 인접할 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노-안테나들은 샘플 우물 주위에 분포될 수 있다. 일부 경우에, 나노-안테나들은 대략 샘플 우물 주위에 반경 R 의 원에 분포될 수 있다. 나노-안테나 어레이는 샘플

우물 주위에 상이한 반경들의 추가적인 원들에 대략 분포된 나노-안테나들의 다수의 세트를 포함할 수 있다.

[0224] 도 5ea 및 도 5eb는 도전층으로부터 돌출하는 디스크들을 포함하는 나노-안테나 구조물의 예시적인 실시예를 예시한다. 도 5ea는 디스크들(5-224)에 둘러싸인 샘플 우물(5-208)을 가진 검정 칩의 표면의 상부 평면도이다. 나노-안테나 디스크들은 반경 R의 원 주위에 대략 분포된다. 이 비제한적인 예에서, 디스크들에 2개의 직경이 이용되고 디스크들은 나노-안테나의 원주 주위로 이 2개의 직경 사이에 교대한다. 도 5eb는 도 5ea에 도시된 검정 칩의 라인 C-C'를 따르는 단면도의 개략도를 도시한다. 샘플 우물 층(5-216)은 나노-안테나 구조물의 일부인 디스크들(5-224) 및 샘플 우물(5-208)을 포함한다. 디스크들(5-224)은 샘플 우물 층(5-216)으로부터 소정의 거리만큼 돌출한다. 일부 실시예들에서, 디스크들이 샘플 우물 층으로부터 연장하는 거리는 나노-안테나 구조물 내에서 달라질 수 있다. 검정 칩의 층(5-218)은 샘플 우물 층(5-216)의 아래에 위치한다. 층(5-18)은 유전체 재료 및/또는 광학적으로 투명한 재료일 수 있다. 샘플 우물 층(5-216) 및 돌출 디스크들은 도전성 재료일 수 있다.

[0225] 일부 실시예들에서, 나노-안테나 구조물은 샘플 우물에 근접하게 중심을 둘 수 있다. 나노-안테나는 임의의 적합한 형상을 취할 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 나노-안테나는 실린더, 디스크 또는 입방체와 같은 대칭 형상일 수 있다. 나노-안테나는 임의의 적합한 유전체 재료, 예를 들어 실리콘 질화물로 제조될 수 있다. 대안적으로, 티타늄 산화물이 사용될 수 있다. 나노-안테나 치수들은 사용되는 유전체 재료에 따라 달라질 수 있으며 원하는 강화를 수행하도록 조정될 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노-안테나는 대략 800nm의 폭 및 대략 1050nm의 깊이를 가질 수 있다. 나노-안테나는 도 5ec에 도시된 바와 같이, 광의 대부분이 실질적으로 동일한 방향으로, 예를 들어 표적 체적 및 대응하는 나노-안테나 아래에 중심을 둔 좁은 기둥형 형상으로 집중되고 센서들 쪽으로 하향으로 유도되도록 샘플 우물로부터의 방출 에너지의 방사 패턴일 수 있다. 일부 실시예들에서, 39.7의 지향성이 예측된다.

[0226] 센서 쪽으로 발광을 집중시키는 것 외에도, 나노-안테나는 샘플 우물로의 여기 에너지를 강화시킬 수 있다. 나노-안테나 아래에서부터 표적 체적 쪽으로 유도되는 여기 에너지는 나노-안테나에 들어가고 표적 체적에 크게 집중된다. 일부 실시예들에서, 400nm의 폭 및 1050 μ m의 높이의 나노-안테나에 대한 샘플 우물에서 57.4의 강화가 예측된다.

2. 원거리장 옵틱스(Far Field Optics)

[0228] 일부 실시예들에서, 표면 옵틱스 바로 아래의 층은 임의의 적합한 두께의 스페이서 층(2-225)일 수 있고, 임의의 적합한 유전체 재료로 이루어질 수 있다. 이 스페이서 층은, 예를 들어, 10 μ m 두께일 수 있고, 이산화 실리콘으로 이루어질 수 있다. 대안적으로, 이 스페이서 층은 48 μ m 또는 50 μ m일 수 있다. 스페이서 층 아래에는 추가적인 스페이서 층을 갖는 하나 이상의 렌즈 층이 있을 수 있다. 예를 들어, 도 5fa는 적어도 하나의 굴절 렌즈를 포함할 수 있는 상부 렌즈 층(5-601)을 도시한다. 일부 실시예들에서, 상부 렌즈 층은 샘플 우물 층(2-221) 5 μ m 아래에 위치할 수 있다. 각각의 샘플 우물과 관련된 하나 이상의 렌즈가 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 굴절 렌즈 어레이와 같은 렌즈 어레이가 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 상부 렌즈 층(5-601)의 각각의 렌즈는 샘플 우물(2-211) 아래에 중심을 두고, 그리고, 예를 들어, 10.5 μ m보다 작은 반경을 가질 수 있다. 상부 렌즈 층은, 제한이 아닌 예로서, 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 유전체 재료로 이루어질 수 있다.

[0229] 일부 실시예들에서, 상부 렌즈 층의 치수들은 다음과 같다: d1은 대략 12 μ m 일 수 있고; d2는 대략 2 μ m 일 수 있고; 이웃 렌즈들상의 d1 사이의 거리는 약 20.966 μ m 일 수 있고; 렌즈의 곡률 반경은 대략 20.35 μ m 일 수 있다. 대안적으로, d1은 약 8 μ m 일 수 있고 d2는 대략 6 μ m 일 수 있다.

[0230] 상부 렌즈 층 바로 아래의 층은 임의의 적합한 유전체로 이루어진 구조적 및/또는 광학 층(5-605)일 수 있다. 이러한 구조적 및/또는 광학 층(5-605)은 용융된 실리카의 형태인 이산화 실리콘으로 이루어질 수 있다. 이 구조적 층 바로 아래의 층은 적어도 하나의 추가적인 렌즈를 포함할 수 있는 하부 렌즈 층(5-603)일 수 있다. 일부 실시예들에서, 하부 렌즈 층(5-603)에서의 각각의 렌즈 또한 샘플 우물 아래에 중심에 둘 수 있다. 하부 렌즈 층(5-603)은, 제한이 아닌 예로서, 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 유전체 재료로 이루어진다. 상부 렌즈 층의 상단으로부터 하부 렌즈 층의 바닥까지의 거리는 100-500 μ m일 수 있다. 하부 렌즈 층 바로 아래의 층은 여기 에너지와 방출 에너지 양자 모두를 통과시키고 반사된 광의 양을 감소시키는 반사 방지층을 포함할 수 있다. 반사 방지층 바로 아래의 층은 칩이 기기와 정렬되고 기기 상으로 탑재되게 하기 위한 구조적 컴포넌트들을 포함할 수 있다. 칩-마운팅 층 바로 아래의 층은 분진을 포함하는 손상과 오염으로부터 시스템을 보호하기 위해 보호 덮개를 포함할 수 있다.

[0231] 도 5fa는 굴절 렌즈들을 사용하는 2개의 렌즈 층을 도시하지만, 임의의 적합한 렌즈가 사용될 수 있다. 예를 들어, 프레넬 렌즈들, 마이크로렌즈들, 굴절 렌즈 쌍들 및/또는 평평한 렌즈들이 사용될 수 있다. 도 5fb는 구조적 및/또는 광학 층(5-605)에 의해 분리되는 상부 렌즈 층(5-611) 및 하부 렌즈 층(5-613) 양자 모두에서 프레넬 렌즈를 사용하는 실시예를 도시한다.

[0232] 일부 실시예들에서는, 칩에서 위에 설명된 층들 사이의 계면들 중 임의의 것이 반사 방지 코팅 또는 반사 방지 층을 포함할 수 있다. 상부 렌즈 층 및 제2 렌즈 층 양자 모두는 샘플 우물들의 어레이로부터 방출되는 발광을 기기의 레이저 렌즈에 집중시키기 위해 샘플 우물 아래에 배열될 수 있다. 샘플 우물 층의 바닥에서 표적 체적으로 부터의 발광의 초점까지의 거리는 예를 들어 대략 30.3mm일 수 있다. 이 초점은 레이저 렌즈 내에서, 예를 들어, 레이저 렌즈의 세로 중심점에서 발생할 수 있다.

[0233] III. 기기 컴포넌트들

[0234] A. 기기의 마이크로스코피 층

[0235] 일부 실시예들에서, 기기는 도 6a에 도시된 바와 같이 서브-층들을 포함할 수 있는 마이크로스코피 층을 포함할 수 있다. 특히, 마이크로스코피 층은 여기 에너지를 검정 칩으로 유도하기 위해 각도 θ로 기울어진 다색성 미러(2-230)를 포함하는 서브-층을 포함할 수 있다. 이러한 다색성 미러는 실질적으로 유전체일 수 있고, 검정 칩상의 샘플 우물들 중 하나 이상에서의 샘플로부터의 방출 에너지를 실질적으로 투과하면서 여기 에너지를 반사한다. 임의적으로, 다색성 미러에 의해 도입되는 난시에 대한 보상을 제공하기 위해, 추가적인 유전체층을 포함하는 난시 보상 엘리먼트(6-101)가 다색성 미러 아래에 제공될 수 있고, 동일한 각도 θ로, 그러나 다색성 미러의 기울기의 것에 수직인 축에 대해 기울어질 수 있다. 도 6a에서, 난시 보상 엘리먼트(6-101)는 상부 필터와 동일한 평면에서 기울어진 것으로서 도시되지만, 이러한 도시는 상부 필터에 대한 기울어짐을 표현하고, 이것이 난시 보상 엘리먼트(6-101)의 배향을 어떠한 방식으로든 제한하는 것을 의미하는 것은 아니라는 점이 이해되어야 한다. 이러한 난시 보상 엘리먼트(6-101)는 또한 추가적인 필터링을 제공할 수 있다. 예를 들어, 난시 보상 엘리먼트(6-101)는 방출 에너지를 투과하면서 여기 에너지를 더 필터링하는 또 다른 다색성 미러일 수 있다. 렌즈(6-103)는 샘플 우물들로부터의 방출 에너지를 처리하는 것을 더 돋기 위해 난시 보상 엘리먼트(6-101) 아래에 제공될 수 있다. 렌즈(6-103)는, 예를 들어, 직경이 25.4mm일 수 있지만, 임의의 적합한 직경이 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 렌즈는 복수의 렌즈 엘리먼트를 포함하는 레이저 렌즈이다. 예를 들어, 레이저 렌즈는 6개의 개별 렌즈 엘리먼트들을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 레이저 렌즈는 길이가 대략 17.5mm일 수 있다. 여기 에너지가 센서들에 도달하는 것을 방지하기 위해 여기 에너지를 더 거부하기 위해 렌즈(6-103) 이전에 또는 이후에 추가적인 필터링 엘리먼트들이 사용될 수 있다.

[0236] B. 센서 칩

[0237] 샘플 우물 내의 샘플로부터 방출된 방출 에너지는 다양한 방식으로 픽셀의 센서들에 전송될 수 있고, 그 일부 예들이 아래에 상세히 설명된다. 일부 실시예들은 특정 파장의 광이 그 특정 파장의 광을 검출하는 것에 전용인 센서의 영역 또는 부분으로 유도되는 가능성을 증가시키기 위해 광학 및/또는 플라즈몬 컴포넌트들을 사용할 수 있다. 센서는 상이한 파장들의 방출 에너지를 동시에 검출하기 위한 다수의 서브-센서를 포함할 수 있다.

[0238] 도 6ba는 일부 실시예들에 따른 센서 칩의 단일 픽셀의 개략도로서, 적어도 하나의 소팅 엘리먼트(6-127)가 특정 파장의 방출 에너지를 각각의 서브 센서(6-111, 6-112, 6-113, 및 6-114)로 유도하기 위해 사용된다. 방출 에너지(2-253)는 샘플 우물로부터 검정 칩 및 기기의 광학계를 통하여 센서 칩의 소팅 엘리먼트(6-127)에 도달할 때까지 이동한다. 소팅 엘리먼트(6-127)는 방출 에너지(2-253)의 파장을 공간 자유도에 결합하고, 이에 의해 방출 에너지를 소팅된 방출 에너지(sorted emission energy)로 언급되는, 그의 구성 파장 성분들로 분리한다. 도 6bb는 방출 에너지(2-253)가 유전체 재료(6-129)를 통하여 4개의 소팅된 방출 에너지 경로로 분리되는 것을 개략적으로 예시하는데, 여기서 4개의 경로 각각은 픽셀의 서브-센서(6-111 내지 6-114)와 관련된다. 이렇게 하여, 각각의 서브-센서는 스펙트럼의 상이한 부분과 관련되어, 센서 칩의 각각의 픽셀에 대한 분광계(spectrometer)를 형성할 수 있다.

[0239] 임의의 적합한 소팅 엘리먼트(6-127)가 방출 에너지의 상이한 파장들을 분리하는 데 이용될 수 있다. 실시예들은 광학 또는 플라즈몬 엘리먼트들을 이용할 수 있다. 광학 소팅 엘리먼트들의 예들은, 홀로그래피 격자(holographic gratings), 위상 마스크 격자(phase mask gratings), 진폭 마스크 격자(amplitude mask gratings), 및 오프셋 프레넬 렌즈(offset Fresnel lenses)를 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다. 플라즈몬 소팅 엘리먼트들의 예들은, 위상 나노-안테나 어레이(phased nano-antenna arrays), 및 플라즈몬 준결정

(plasmonic quasi-crystals)을 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다.

[0240] 도 6bb는 특정 광장의 방출 에너지를 각자의 서브-센서로 유도하고 다른 광장들의 방출 에너지가 다른 서브-센서들에 도달하는 것을 막기 위해 필터링 엘리먼트들(6-121, 6-122, 6-123 및 6-124)이 이용되는, 일부 실시예들에 따른 센서 칩의 단일 핵심의 개략도이다. 방출 에너지(2-253)는 샘플 우물로부터 검정 칩 및 기기의 광학계를 통하여 필터링 엘리먼트들(6-121 내지 6-124) 중 하나에 도달할 때까지 이동한다. 각각이 특정 서브-센서(6-111 내지 6-114)와 관련된 필터링 엘리먼트들(6-121 내지 6-124)은 각각 방출 에너지를 흡수하는 것(도 6ab에 예시되지 않음) 및/또는 방출 에너지를 반사하는 것에 의해 각자의 광장의 방출 에너지를 투과하고 다른 광장들의 방출 에너지를 거부하도록 구성된다. 각자의 필터링 엘리먼트를 통과한 후에, 필터링된 방출 에너지는 유전체 재료(6-129)를 통하여 이동하고 핵심의 대응하는 서브-센서(6-111 내지 6-114)에 부딪친다. 이렇게 하여, 각각의 서브-센서는 스펙트럼의 상이한 부분과 관련되어, 센서 칩의 각각의 핵심에 대한 분광계를 형성한다.

[0241] 임의의 적합한 필터링 엘리먼트들이 방출 에너지의 상이한 광장을 분리하는 데 이용될 수 있다. 실시예들은 광학 또는 플라즈몬 필터링 엘리먼트들을 이용할 수 있다. 광학 필터링 엘리먼트들의 예들은, 반사성 다중층 유전체 필터 또는 흡수 필터를 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다. 플라즈몬 필터링 엘리먼트들의 예들은, 특정 광장 및 광 밴드갭 결정들에서 에너지를 투과하도록 설계된 주파수 선택적 표면을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0242] 위에 언급된 소팅 엘리먼트들 및 필터링 엘리먼트들에 대안적으로, 또는 추가적으로, 각각의 서브-센서(6-111 내지 6-114)에 인접하여 추가적인 필터링 엘리먼트들이 배치될 수 있다. 이 추가적인 필터링 엘리먼트들은 특정 광장의 방출 에너지에 대한 보강 간섭을 일으키도록 구성된 얇은 손실막을 포함할 수 있다. 이 얇은 손실막은 단일 또는 다중층 막일 수 있다. 얇은 손실막은 임의의 적합한 재료로 만들어질 수 있다. 예를 들어, 얇은 손실막은 굴절률 n 이 흡광 계수 k 와 대략 동일한 자릿수인 재료로 만들어질 수 있다. 다른 실시예들에서, 얇은 손실막은 굴절률 n 이 해당 재료의 흡광 계수 k 의 값으로부터 약 두 자릿수 차이 이내인 재료로 만들어질 수 있다. 가시 광장들에서 이러한 재료들의 비제한적인 예들은 게르마늄과 실리콘이다.

[0243] 얇은 손실막은 임의의 적합한 두께일 수 있다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 1 - 45nm일 수 있다. 다른 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 15 - 45nm일 수 있다. 또 다른 실시예들에서, 얇은 손실막은 두께가 1 - 20nm일 수 있다. 도 6ca는 얇은 손실막들(6-211 내지 6-214)이 각각, 각각의 서브-센서(6-111 내지 6-114)와 관련되는 광장에 의해 적어도 부분적으로 결정되는 상이한 두께를 갖는 일 실시예를 예시한다. 막의 두께는 이 얇은 손실막을 선택적으로 통과하여 서브-센서로 이동할 별개의 광장을 적어도 부분적으로 결정한다. 도 6ca에 예시된 바와 같이, 얇은 손실막(6-211)은 두께 d_1 을 갖고, 얇은 손실막(6-212)은 두께 d_2 를 갖고, 얇은 손실막(6-213)은 두께 d_3 를 갖고, 얇은 손실막(6-214)은 두께 d_4 를 갖는다. $d_1 > d_2 > d_3 > d_4$ 이 되도록 각각의 후속의 얇은 손실막의 두께는 이전의 얇은 손실막보다 작다.

[0244] 추가로, 또는 대안적으로, 얇은 손실막들은 상이한 광장들의 방출 에너지가 각각의 각자의 서브-센서에서 보강 간섭하도록 상이한 특성을 가진 상이한 재료로 형성될 수 있다. 예를 들어, 굴절률 n 및/또는 흡광 계수 k 는 특정 광장의 방출 에너지의 투과를 최적화하도록 선택될 수 있다. 도 6cb는 동일한 두께를 가진 얇은 손실막들(6-221, 6-222, 6-223 및 6-224)을 예시하지만 각각의 얇은 손실막은 상이한 재료로 형성된다. 일부 실시예들에서, 얇은 손실막들의 재료와 얇은 손실막들의 두께 양쪽 모두는 원하는 광장의 방출 에너지가 보강 간섭하고 막을 통하여 투과되도록 선택될 수 있다.

[0245] 도 6a는 방출 에너지를 광장에 의해 분류하기 위해 회절 엘리먼트들과 렌즈들의 조합이 사용되는 실시예를 도시한다. 센서 칩의 제1 층(6-105)은 블레이징된 위상 격자를 포함할 수 있다. 블레이징된 격자는, 예를 들어, 40도와 실질적으로 동일한 각도 Φ 로 블레이징될 수 있고, 블레이징된 격자의 라인 간격(Λ)은 $1.25\mu\text{m}$ 와 실질적으로 동일할 수 있다. 본 기술분야에 숙련된 기술자는 방출 에너지의 상이한 광장들의 광의 분리를 달성하는데 상이한 블레이즈 각도들 및 주기성들이 사용될 수 있다는 점을 이해할 것이다. 또한, 방출 에너지의 상이한 광장들의 분리를 달성하기 위해 임의의 적합한 회절 광학 엘리먼트가 사용될 수 있다. 예를 들어, 위상 마스크, 진폭 마스크, 블레이징된 격자 또는 오프셋 프레넬 렌즈가 사용될 수 있다.

[0246] 센서 칩(2-260)의 제2 층(6-106)은 방출 에너지를 더 분류하기 위해 그리고 이를 센서(6-107)로 유도하기 위해 제1 층(6-105)의 아래에 배치된 하나 이상의 프레넬 렌즈를 포함할 수 있다. 또한, 방출 에너지의 상이한 광장들을 더 분리하기 위해 임의의 적합한 렌즈 엘리먼트가 사용될 수 있다. 예를 들어, 굴절 렌즈가 프레넬 렌즈 대신에 사용될 수 있다.

- [0247] 제3 렌즈 층의 프레넬 렌즈 및 블레이징된 위상 격자는 집합적으로 회절 광학 엘리먼트(DOE)로 지칭될 수 있다. 일부 실시예들에서, DOE들은 폭이 대략 10미크론 내지 30미크론 범위인 대략 400 내지 600 μm 범위의 두께를 갖는다. 일부 실시예들에서는, 공기 스페이서 층이 DOE 바로 아래에 배치될 수 있으며, 대략 150 μm 의 두께를 가질 수 있다. 대안적으로, 이 스페이서 층은 DOE 초점 거리와 동일한 광학 두께를 가질 수 있고 및/또는 이산화 실리콘으로 이루어질 수 있다.
- [0248] 도 6a의 다양한 컴포넌트들은 임의의 적합한 거리에 떨어져 이격될 수 있다. 예를 들어, 센서들의 표면은 프레넬 렌즈 층(6-106)의 밑에 5 μm 의 거리에 위치할 수 있고; 마이크로스코피 층의 렌즈(6-103)의 중심으로부터 프레넬 렌즈 층(6-106)까지의 거리는 50.6mm일 수 있고; 블레이징된 위상 격자(6-105)는 센서들의 표면 위에 대략 100 μm 의 거리에 위치할 수 있다. 대안적으로, 검정 칩의 바닥으로부터 격자(6-105)의 상단까지의 거리는 대략 53mm일 수 있다. 센서층의 폭은 대략 10 mm일 수 있다. 프레넬 렌즈는 대략 10미크론, 대략 20미크론, 및 대략 30미크론의 거리만큼 층 내에서 서로 이격될 수 있다.
- [0249] 일부 실시예들에서, 프레넬 렌즈가 도 6a에 도시된 렌즈(6-103)와 같은 렌즈 중심으로부터 오프셋될 수 있는 중심을 갖는 오프셋 프레넬 렌즈가 사용될 수 있다. 오프셋 프레넬 렌즈의 중심은 대략 50미크론, 대략 60미크론, 대략 70미크론, 또는 대략 80미크론만큼 오프셋될 수 있지만, 다른 거리도 가능하다. 일부 실시예들에서, 오프셋 프레넬 렌즈는 오프셋 프레넬 렌즈의 중심으로부터 센서의 중심까지의 오프셋인 제2 오프셋을 가질 수 있으며, 이는 예를 들어 10 μm 또는 100 μm 정도일 수 있지만, 다른 거리도 가능하다. 오프셋 프레넬 렌즈는 임의의 적합한 방식으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 각각 상이한 격자 퍼치를 갖는 2개의 섹션이 이진 오프셋 프레넬 렌즈 구조에 비해 향상된 효율을 갖는 단일 오프셋 프레넬을 생성하도록 오버레이될 수 있다. 일부 실시예들에서, 퍼치 220nm를 갖는 "작은" 섹션 및 퍼치 440nm를 갖는 "큰" 섹션이 도시된 오프셋 프레넬 렌즈를 생성하기 위해 오버레이될 수 있다. 오프셋 프레넬 렌즈 어레이는 센서 어레이의 상부에 배치될 수 있고, 오프셋 프레넬 렌즈 엘리먼트 중심으로부터 센서 중심까지의 측방 오프셋을 가질 수 있고, 대략 80미크론 내지 대략 150미크론 범위의 초점 거리로 작동하도록 설계되고 625nm의 파장에 대해 설계될 수 있다.
- [0250] 이미징 옵틱스 바로 아래의 층 및 공기 스페이서 층은 센서 층일 수 있다. 센서 층은 CMOS 광 감지 센서들을 포함하는 복수의 센서를 포함할 수 있다. 센서 층은 대략 6미크론 내지 대략 8미크론의 범위를 포함하는 임의의 적합한 두께를 가질 수 있다. 대안적으로, 센서 층 두께는 2 μm 내지 15 μm 범위 내일 수 있다. 센서들은 복수의 세그먼트 또는 픽셀로 분리될 수 있고 대략 21 μm 의 폭을 가질 수 있다. 센서 층의 상단으로부터 방출 에너지의 초점까지의 거리는 대략 30.3mm 일 수 있다.
- [0251] 검정 칩 및 기기의 다양한 층들은 위에서 설명된 순서로 있을 필요가 없다. 일부 실시예들에서, 기기의 포커싱 및/또는 소팅 엘리먼트들과 이미징 옵틱스는 반대 순서로 있을 수 있다. 예를 들어, 블레이징된 위상 격자(6-105)는 프레넬 렌즈 층(6-106) 뒤에 배치될 수 있다. 대안적으로, 포커싱 및/또는 소팅 엘리먼트들 및 이미징 옵틱스는 단일 회절 광학 엘리먼트(DOE)에 통합될 수 있다. 또한, 검정 칩 및 기기의 다양한 컴포넌트들은, 예를 들어, 이미징 옵틱스가 포커싱 및/또는 소팅 엘리먼트들 위 및 아래 양자 모두에서 발생할 수 있도록 혼합될 수 있다.
- [0252] 공기와 시스템의 층 사이의 계면을 포함하는, 시스템에서 위에 설명된 층들 사이의 계면들 중 임의의 것은 반사 방지 코팅을 포함할 수 있다.
- [0253] C. 기기의 광학 블록
- [0254] 일부 실시예들에서, 기기(1-120)의 광학 블록은 위에 설명된 광학 컴포넌트들의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. 광학 블록은도 6da에 배열된 것과 같은 광학 컴포넌트들을 제공할 수 있다. 도 6da는 λ 1 및 λ 2를 갖는 광이 도 6da에 도시된 광학 컴포넌트들을 통과하는 것을 도시한다. 위에 설명된 컴포넌트들 이외에도, 광학 블록은 여기 에너지의 제1 파장 λ 1을 운반하는 제1 광 섬유가 연결될 수 있는 제1 파이버 커넥터(6-401) 및 여기 에너지의 제2 파장 λ 2를 운반하는 제2 광 섬유가 연결될 수 있는 제2 파이버 커넥터(6-402)를 포함할 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 여기 에너지의 제1 여기 파장은 630-640nm일 수 있다. 광 섬유 커넥터들은 FC 또는 LC 커넥터와 같은 임의의 적합한 종래의 커넥터일 수 있다. 2개의 상이한 파장들이 입력되면, 이러한 파장들은 이색성 또는 다색성 미러와 같은 파장 결합기(6-403)로 결합될 수 있다. 제2 여기 파장은 515 - 535 nm일 수 있다. 입력 여기 에너지는 선형 편광과 같은 임의의 적합한 편광일 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 에너지를 운반하는 파이버는 편광-유지 파이버일 수 있다. 임의적으로, 광 섬유에서 자유 공간으로의 결합기들과 같은, 여기 필터들 및 편광기들은 여기 에너지의 특성들을 더 필터링하거나 또는 수정하기 위해 광 섬유 입력 뒤

에 사용될 수 있다.

[0255] 광학 블록은 빔 성형과 같은 광학적 처리를 위해 렌즈들 및 다른 광학 컴포넌트들을 수용하는 하나 이상의 금속 하우징을 포함할 수 있다. 도 6da는 각각이 렌즈 그리고/또는 다른 광학 컴포넌트들을 수용하는 4개의 금속 하우징(6-405 내지 6-408)을 도시한다. 여기 에너지를 시준하고 집중시키는 데 사용되는 임의의 수의 렌즈들이 존재할 수 있다. 하나 이상의 미러들(6-411 및 6-412)이 검정 칩(2-110)을 향해 여기 에너지를 유도하기 위해 이러한 금속 하우징들의 일부 사이에 위치한다. 도 6da에서, 제1 미러(6-411)는 여기 에너지를 제2 하우징(6-406)으로부터 제3 하우징(6-407)으로 유도하고, 제2 미러(6-412)는 여기 에너지를 제4 하우징(6-408)으로부터 다색성 유전체 미러(2-230)로 반사한다. 다색성 유전체 미러(2-230)는 여기 에너지를 난시 보상 필터(6-601) 쪽으로 유도한다.

[0256] 일부 실시예들에서, 원형으로 편광된 광은 발광성 마커들로 하여금 유사한 강도를 갖는 발광성을 방출하게 하기 위해 샘플 우물 내로 유도될 수 있다. 1/4 파장판은 선형으로 편광된 광을 그것이 검정 칩에 도달하기 이전에 원형으로 편광된 광으로 전환하는 데 사용될 수 있다. 다색성 유전체 미러(2-230)는 여기 에너지를 1/4 파장판(6-415)으로 유도한다. 도 6da에 도시된 바와 같이, 1/4 파장판(6-415)은 난시 보상 필터(6-101)와 검정 칩(2-110) 사이에 배치될 수 있다. 그 후 원형으로 편광된 여기 에너지는 검정 칩상의 복수의 픽셀 쪽으로 유도된다. 픽셀들 쪽으로 유도되지 않은 여기 에너지는 빔 덤프 컴포넌트(6-417)에 의해 흡수될 수 있다. 하나 이상의 샘플 우물들 내의 샘플에 도달하는 여기 에너지는 샘플로 하여금 방출 에너지를 방출하게 할 것이고, 이는 센서(2-260) 쪽으로 유도된다. 방출 에너지는 편광 옵틱스, 난시 보상 엘리먼트(6-101), 다색성 미러(2-230) 및 릴레이 렌즈(6-103)와 같은 광학 컴포넌트들을 통과할 수 있다. 다색성 미러는 필터로서의 역할을 하고, 이는, 예를 들어, 노치 필터, 스파이크 필터 또는 컷-오프 필터일 수 있다. 릴레이 렌즈(6-103)는 센서 쪽으로 방출 에너지를 이미징할 수 있다. 그 후 방출 에너지의 일부는, 센서(2-260) 위에 위치하는, 하나 이상의 방출 필터(6-421 및 6-422)를 통과할 수 있고, 이들은 방출 에너지를 더 필터링할 수 있다. 일부 실시예들에서, 이러한 방출 필터들은 필터들의 투과 특성을 조정하기 위해 및/또는 후방 반사에 의해 초래되는 간섭을 감소시키기 위해 입사 방출 에너지 전파 방향에 대해 소정 각도로 기울어질 수 있다. 상부 필터(6-421)가 각도 θ로 기울어지면, 바닥 필터(6-422)는, 방출 방사 빔 경로에 난시가 도입되지 않는 것을 보장하기 위해, 동일한 각도 θ로, 그러나 상부 필터의 기울기의 것에 수직인 측에 대해 기울어질 수 있다.

[0257] 도 6e는 검정 칩 2-110)에서 센서 칩(2-260)까지의 장치를 통한 광학 경로를 나타내는 광선 트레이스의 예를 도시한다. 검정 칩(2-110) 내의 각각의 시작점은 방출 에너지를 방출하는 픽셀을 나타내며, 시스템에 의해 센서 칩(2-260)상의 대응하는 픽셀로 이미징된다. 경로는 대략 55.4mm의 거리를 따라 존재할 수 있지만, 임의의 적합한 거리가 사용될 수 있다. 도시된 예에서, 샘플 우물 어레이로부터 방출된 광선들은 상기 설명된 광학 엘리먼트들을 사용하여 필터링되고 센서 쪽으로 집중된다. 도 6e는 6 개의 개별 렌즈를 포함하는 하나의 가능한 릴레이 렌즈(6-103)를 도시한다. 임의의 개수의 렌즈 및/또는 다른 광학 엘리먼트가 릴레이 렌즈로서 사용될 수 있음을 인지해야 한다.

IV. 센서들

[0259] 본 개시는 센서들, 센서 동작들, 및 신호 처리 방법들의 다양한 실시예들을 제공한다. 일부 실시예들에 따르면, 픽셀에서의 센서 칩(2-260)의 픽셀에서의 센서(2-122)는 샘플 우물 내의 하나 이상의 태그로부터 방출 에너지를 수신하고, 수신된 방출 에너지를 나타내는 하나 이상의 전기 신호를 생성할 수 있는 임의의 적합한 센서를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서는 적어도 하나의 광검출기(예를 들어, 반도체 기판에 형성된 p-n 접합)를 포함할 수 있다. 도 7aa 및 도 7ab는 센서 칩의 픽셀(2-100) 내에 제조될 수 있는 센서의 단지 하나의 실시예를 도시한다.

[0260] 일부 실시예들에 따르면, 센서(2-122)가 센서 칩의 각각의 픽셀(2-100)에 형성될 수 있다. 센서는 검정 칩의 샘플 우물(2-211)과 관련될 수 있다. 센서 위에 하나 이상의 투명한 층(7-110)이 있을 수 있고, 따라서 샘플 우물로부터의 방출은 현저한 감쇠 없이 센서로 이동할 수 있다. 센서(2-122)는 일부 실시예들에 따르면, 픽셀의 베이스에 반도체 기판(7-120)에 형성되고, 검정 칩(도시되지 않음)과 동일한 샘플 우물의 측에 위치할 수 있다.

[0261] 센서는 하나 이상의 반도체 접합 광검출기 세그먼트를 포함할 수 있다. 각각의 반도체 접합은 제1 도전형의 웨爾(well)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 각각의 반도체 접합은 도면에 도시된 바와 같이, p형 기판에 형성된 n형 웨爾을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 센서(2-122)는 도 7ab의 평면도에 도시된 바와 같이, 불스아이 검출기(7-162)로서 배열될 수 있다. 제1 광검출기(7-124)가 센서의 중심에 위치할 수 있고, 제2 환상 광검출기

(7-122)가 중심 광검출기를 둘러쌀 수 있다. 웨들파의 전기 접촉들은 제1 또는 후속 금속화 레벨에 형성된 도전성 트레이스들(7-134)을 통하여 그리고 도전성 비아들(7-132)을 통하여 이루어질 수 있다. 비아들의 접촉 영역들에 고농도로 도핑된 반도체 재료(7-126)의 영역이 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 필드 산화물(7-115)이 광검출기들 사이의 표면들에 형성될 수 있고 각각의 광검출기의 일부를 커버할 수 있다. 일부 구현들에서, 센서(2-122)에 인접하여 핵셀 내에 형성된 추가적인 반도체 디바이스들(7-125)(예를 들어, 트랜지스터, 증폭기, 등등)이 있을 수 있다. 핵셀 내에 추가적인 금속화 레벨들(7-138, 7-136)이 있을 수 있다.

[0262] 일부 구현들에서, 금속화 레벨(7-136)은 핵셀의 대부분을 가로질러 연장하고 광검출기(7-124) 위에 중심을 둔 개방부를 가질 수 있고, 따라서 샘플 우물로부터의 방출이 센서에 도달할 수 있다. 일부 경우에, 금속화 레벨(7-136)은 기준 전위 또는 접지면으로서의 역할을 할 수 있고, 추가로 적어도 일부 배경 방사(예를 들어, 여기 소스로부터 또는 주변 환경으로부터의 방사)가 센서(2-260)에 도달하는 것을 막는 광학 블록(optical block)으로서의 역할을 할 수 있다.

[0263] 도 7aa 및 도 7ab에 도시된 바와 같이, 센서(2-122)는 서로 공간적으로 그리고 전기적으로 분리되는 복수의 광검출기 세그먼트(7-122, 7-124)로 세분될 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서(2-122)의 세그먼트들은 정반대로 도핑된 반도체 재료의 영역들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 센서 세그먼트에 대한 제1 전하 축척 웨(7-124)은 제1 웨 내에 제1 도전형(예를 들어, n형)을 갖도록 기판의 제1 영역을 도핑하는 것에 의해 형성될 수 있다. 기판은 p형일 수 있다. 제2 센서 세그먼트에 대한 제2 전하 축척 웨(7-122)은 제2 웨 내에 제1 도전형을 갖도록 기판의 제2 영역을 도핑하는 것에 의해 형성될 수 있다. 제1 및 제2 웨들은 기판의 p형 영역에 의해 분리될 수 있다.

[0264] 센서(2-122)의 복수의 세그먼트들은 불스아이 레이아웃 이외의 임의의 적합한 방식으로 배열될 수 있고, 센서에 2개보다 많은 세그먼트가 있을 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예들에서는, 도 7ac에 도시된 바와 같이, 복수의 광검출기 세그먼트(7-142)가 서로 측방으로 분리되어 스트라이프 센서(7-164)를 형성할 수 있다. 일부 실시예들에서는, 도 7ad에 도시된 바와 같이, 세그먼트들(7-144)을 사분면 패턴(quad pattern)으로 배열함으로써 사분면(또는 사분면(quadrant)) 센서(7-166)가 형성될 수 있다. 일부 구현들에서, 도 7ae에 도시된 바와 같이, 불스아이 패턴과 조합하여 아크 세그먼트들(7-146)을 형성하여 아크-세그먼트형 센서(arc-segmented sensor)(7-168)를 형성할 수 있다. 또 다른 센서 구성은 원의 개별적인 섹션에 배열된 개개의 센서들을 포함할 수 있는, 파이 조각 섹션들(pie-piece sections)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 센서 세그먼트들은 샘플 우물(2-211) 주위에 대칭으로 또는 샘플 우물 주위에 비대칭으로 배열될 수 있다. 센서 세그먼트들의 배열은 상기한 배열들로 제한되지 않고, 센서 세그먼트들의 임의의 적합한 분포가 이용될 수 있다.

[0265] 본 발명자들은 사분면 센서들(7-166), 파이-섹터 센서, 또는 유사한 섹터 센서가 다른 센서 구성들보다 더 유리하게 더 작은 핵셀 사이즈들로 스케일링될 수 있다는 것을 발견하였다. 사분면 및 섹터 검출기들은 액티브 센서 영역 및 검출되는 다수의 파장에 대해 더 적은 핵셀 역역을 소비할 수 있다.

[0266] 센서들은 다양한 기하학적 구성들로 배열될 수 있다. 일부 예들에서, 센서들은 정사각형 구성 또는 육각형 구성으로 배열된다.

[0267] 센서들은 샘플 우물로부터 방출된 방출 에너지를 캡처하기 위해 임의의 적합한 방식으로 사이즈가 정해지고 배치될 수 있다. 예를 들어, 센서는 샘플 우물 아래에 중심을 두고 $5\mu\text{m} \times 5\mu\text{m}$ 의 평면 치수들을 가질 수 있다. 대안적으로, 각각의 서브-센서는 $4.6\mu\text{m}$ 의 피치(즉, 각각의 서브-센서 사이에 $3\mu\text{m}$ 캡)를 갖는 $1.6\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 의 치수들을 가질 수 있다.

[0268] 본 개시의 센서들은 독립적으로(또는 개별적으로) 어드레싱 가능할 수 있다. 개별적으로 어드레싱 가능한 것은 다른 센서들과 관계없이 신호를 검출하고 출력을 제공할 수 있다. 개별적으로 어드레싱 가능한 센서는 개별적으로 판독 가능할 수 있다.

[0269] 일부 실시예들에서, 도 7af에 도시된 바와 같이, 수직 스택으로 복수의 분리된 센서 세그먼트들(7-148)을 제조하는 것에 의해 스택형 센서(stacked sensor)(7-169)가 형성될 수 있다. 예를 들어, 세그먼트들은 하나 위에 다른 하나가 배치되는 식으로(one above the other) 위치할 수 있고, 스택형 세그먼트들 사이에 절연층들이 있을 수 있거나, 없을 수 있다. 각각의 수직층은 특정 에너지의 방출 에너지를 흡수하고, 상이한 에너지들에서 방출을 통과시키도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 제1 검출기는 보다 짧은 파장의 방사(예를 들어, 샘플로부터의 약 500nm 아래의 청색 파장 방사)를 흡수하고 검출할 수 있다. 제1 검출기는 샘플로부터의 녹색 및 적색 파장 방출들을 통과시킬 수 있다. 제2 검출기는 녹색 파장 방사(예를 들어, 약 500nm와 약 600nm 사이)를 흡수하

고 검출하고 적색 방출들은 통과시킬 수 있다. 제3 검출기는 적색 방출들을 흡수하고 검출할 수 있다. 일부 실시예들에서는, 선택된 파장 대역의 광을 세그먼트를 통하여 도로 반사하기 위해 스택에 반사성 막들(7-149)이 통합될 수 있다. 예를 들어, 막은 제2 세그먼트에 의해 흡수되지 않은 녹색 파장 방사를 제2 세그먼트를 통하여 도로 반사하여 그것의 검출 효율을 증가시킬 수 있다.

[0270] 수직 수택형 센서 세그먼트들을 가진 일부 실시예들에서, 방출 파장에 의존하는 샘플 방출의 별개의 공간 분포 패턴들을 생성하기 위해 샘플 우물에 방출-결합 컴포넌트들이 포함되지 않을 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 수직 수택형 센서(7-169)를 이용하여 그것의 스택형 세그먼트로부터의 신호들의 비율을 분석하는 것에 의해 스펙트럼으로 상이한 방출들의 판별이 달성될 수 있다.

[0271] 일부 실시예들에서, 센서(2-122)의 세그먼트들은 실리콘으로 형성되지만, 임의의 적합한 반도체(예를 들어, Ge, GaAs, SiGe, InP, 등등)가 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서 세그먼트는 유기 광도전막(organic photoconductive film)을 포함할 수 있다. 다른 실시예들에서는, 센서 세그먼트들로 양자점 광검출기들이 이용될 수 있다. 양자점 광검출기들은 양자점의 사이즈에 기초하여 상이한 방출 에너지들에 반응할 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물로부터 수신된 상이한 방출 에너지들 또는 파장들을 구별하기 위해 다양한 사이즈들의 복수의 양자점이 이용될 수 있다. 예를 들어, 제1 세그먼트는 제1 사이즈를 가진 양자점들로부터 형성될 수 있고, 제2 세그먼트는 제2 사이즈를 가진 양자점들로부터 형성될 수 있다. 다양한 실시예들에서, 센서들(2-122)은 종래의 CMOS 프로세스들을 이용하여 형성될 수 있다.

[0272] 전술한 바와 같이, 일부 실시예들에서는 샘플 우물에 인접하여 방출-결합 컴포넌트들이 제조될 수 있다. 소팅 엘리먼트들(2-243)은 샘플 우물(2-211) 내의 샘플로부터의 방출을 변경하여 방출 파장에 의존하는 샘플 방출의 별개의 공간 분포 패턴들을 생성할 수 있다. 도 7ba는 제1 파장에서 제1 샘플로부터 생성될 수 있는 제1 공간 분포 패턴(7-250)의 예를 도시한다. 이 제1 공간 분포 패턴(7-250)은, 도 7bb에 도시된 바와 같이, 예를 들어, 불스아이 센서(7-162)의 중심 세그먼트 쪽으로 유도되는 두드러진 중심 로브(central lobe)를 가질 수 있다. 이러한 패턴(7-250)은 샘플이 약 663nm의 파장에서 방출할 때 임의의 적합한 회절 엘리먼트에 의해 생성될 수 있다. 센서에 입사되는 투사된 패턴(projected pattern)(7-252)은 도 7bb에 예시된 것처럼 보일 수 있다.

[0273] 도 7bc는 일부 실시예들에 따른, 동일한 샘플 우물로부터 제2 파장에서 방출하는 제2 샘플로부터 생성될 수 있는 공간 분포 패턴(7-260)을 도시한다. 이 제2 공간 분포 패턴(7-260)은 2개의 방사 로브를 포함하고 제1 공간 분포 패턴(7-250)과 상이할 수 있다. 제2 공간 분포 패턴(7-260)의 투사된 패턴(7-262)은, 일부 실시예들에 따르면, 도 7bd에 도시된 것처럼 보일 수 있다. 이 제2 공간 분포 패턴(7-260)은 샘플이 약 687nm의 파장에서 방출할 때 임의의 적합한 회절 엘리먼트에 의해 생성될 수 있다.

[0274] 센서(2-122)의 세그먼트들은, 일부 실시예들에 따르면, 특정 방출 에너지들을 검출하도록 배열될 수 있다. 예를 들어, 센서의 세그먼트들 및 샘플 우물에 인접한 방출-결합 구조물들은 결합하여 특정 방출 에너지들 간의 신호 구별을 증가시키도록 설계될 수 있다. 방출 에너지들은 센서 칩과 함께 사용될 선택된 태그들에 대응할 수 있다. 예로서, 불스아이 센서(7-162)는 샘플로부터의 투사된 패턴들(7-260, 7-262)과 더 잘 매칭하는 사이즈의 그리고/또는 더 잘 매칭하도록 위치하는 그것의 세그먼트들을 가질 수 있고, 따라서 더 높은 강도의 영역들은 센서의 액티브 세그먼트들 내의 더 중심에 속한다. 대안적으로 또는 추가로, 회절 엘리먼트들은 강한 영역들이 센서의 세그먼트들 내의 더 중심에 속하도록 투사된 패턴들(7-260, 7-262)을 변경하도록 설계될 수 있다.

[0275] 센서(2-122)는 2개의 세그먼트를 포함할 수 있지만, 일부 실시예들에서는 샘플로부터 2개보다 많은 스펙트럼으로 별개의 방출 대역을 판별하는 것이 가능하다. 예를 들어, 각각의 방출 대역은 센서 세그먼트들에 별개의 투사된 패턴을 생성하고 센서 세그먼트들로부터의 신호들의 별개의 조합을 산출할 수 있다. 이 신호들의 조합은 방출 대역을 판별 및 식별하기 위해 분석될 수 있다. 도 7be 내지 도 7bh는 4개의 별개의 방출 패턴들에 노출된 2-세그먼트 센서(2-122)로부터의 신호들의 수치 시뮬레이션들로부터의 결과들을 나타낸다. 알 수 있는 바와 같이, 2개의 센서 세그먼트로부터의 신호들의 각각의 조합은 별개이고, 4개의 파장에서 방사체들을 구별하기 위해 이용될 수 있다. 이 시뮬레이션을 위해, 불스아이 센서(7-162)의 바깥쪽 검출기 세그먼트는 더 큰 영역을 가졌기 때문에, 그 검출기에 대해 더 많은 신호가 통합되었다. 또한, 검출기들 사이의 영역에 부딪친 광은 양쪽 검출기 세그먼트 쪽으로 드리프트하고 양쪽 세그먼트들로부터의 신호들에 기여할 수 있는 캐리어들을 생성하였다.

[0276] 일부 실시예들에서, 꿀벌마다 N개의 광검출기 세그먼트가 있고, 여기서 N은 임의의 정수 값이다. 일부 실시예들에서, N은 1 이상이고 10 이하일 수 있다. 다른 실시예들에서, N은 2 이상이고 5 이하일 수 있다. N개 검출

기기 의해 검출될 수 있는 판별 가능한 샘플 방출들(예를 들어, 상이한 발광성 태그로부터의 별개의 방출 파장들)의 수 M 은 N 이상일 수 있다. M 개 샘플 방출의 판별은, 일부 실시예들에 따르면, 각각의 센서 세그먼트로부터의 신호들의 비율을 평가하는 것에 의해 달성될 수 있다. 일부 구현들에서는, 샘플 우물로부터의 방출의 특성 파장을 결정하기 위해 수신된 신호들의 비율, 합계 및/또는 진폭들이 측정 및 분석될 수 있다.

[0277] 일부 실시예들에서는, 샘플 우물(2-211) 내의 주어진 시간 윈도(time window)에서 2개 이상의 방사체가 상이한 특성 파장들에서 방출할 수 있다. 센서(2-122)는 상이한 파장들에서의 다수의 방출로부터의 신호들을 동시에 검출하고 합계된 신호를 데이터 처리를 위해 제공할 수 있다. 일부 구현들에서는, 다중 파장 방출이 센서 세그먼트들로부터의 신호 값들(도 7be 내지 도 7bh에 도시된 것들과 상이한 신호 값들)의 또 다른 세트로서 구별 가능할 수 있다. 이 신호 값들은 다중 파장 방출이 발생한 것을 판별하고 그 방출들과 관련된 방사체들의 특정 조합을 식별하기 위해 분석될 수 있다.

[0278] 본 발명자들은 또한 4개의 동심 세그먼트를 가진 불스아이 센서를 고려하고 분석하였다. 세그먼트들로부터의 신호들이 도 7bg 및 도 7bh와 관련된 동일한 방출 조건들에 대해 각각 도 7bi 및 도 7bj에 플로팅되어 있다. 이 4-세그먼트 불스아이 센서도 샘플 우물 내의 특정 방사체를 식별하기 위해 분석될 수 있는 판별 가능한 신호들을 보여준다.

[0279] 각 센서 세그먼트에서 파장 필터링이 이용되거나, 스펙트럼 분리가 높은 경우, 센서의 각각의 세그먼트는 실질적으로 선택된 방출 대역만을 검출할 수 있다. 예를 들어, 제1 파장은 제1 세그먼트에 의해 검출될 수 있고, 제2 파장은 제2 세그먼트에 의해 검출될 수 있고, 제3 파장은 제3 세그먼트에 의해 검출될 수 있다.

[0280] 다시 도 7aa를 참조하면, 픽셀(2-100) 내에, 센서(2-122)의 각각의 세그먼트로부터의 신호들을 수집하고 판독하기 위해 이용될 수 있는 추가적인 전자 회로(7-125)가 있을 수 있다. 도 7ca 및 도 7cd는 일부 실시예들에 따른, 다중 세그먼트 센서와 조합하여 이용될 수 있는 회로를 도시한다. 예로서, 신호 수집 회로(7-310)는 각각의 센서 세그먼트에 대해 3개의 트랜지스터를 포함할 수 있다. 3개 트랜지스터의 배열이, 일부 구현들에 따라, 도 7cb에 도시되어 있다. 각각의 세그먼트와 관련된 전하 축적 노드(7-311)에서의 신호 레벨은 리셋 트랜지스터 RST에 의해 리셋될 수 있고, 세그먼트에 대한 신호 레벨(전하 축적 노드에서의 전하의 양에 의해 결정됨)은 판독 트랜지스터 RD를 이용하여 판독된다.

[0281] 일부 실시예들에 따르면, 픽셀 회로는 증폭 및 상관 이중 샘플링 회로(7-320)를 더 포함할 수 있다. 이 증폭 및 이중 샘플링 회로는 센서 세그먼트들로부터의 신호들을 증폭하도록 구성된 트랜지스터들뿐만 아니라 전하 축적 노드에서의 전압 레벨을 리셋하고(예를 들어, 샘플 우물에서의 여기 에너지의 인가에 앞서) 센서에 방출 에너지가 존재하지 않을 때 노드에서 배경, 또는 "리셋" 신호를 판독하고 예를 들어, 후속 방출 신호를 판독하도록 구성된 트랜지스터들을 포함할 수 있다.

[0282] 일부 실시예들에 따르면, 검출된 방출 신호 레벨로부터 배경 또는 리셋 신호 레벨을 감산하는 것에 의해 배경 잡음을 감소시키기 위해 상관 이중 샘플링이 이용될 수 있다. 센서의 각각의 세그먼트와 관련된 수집된 방출 신호 및 배경 신호는 열(column) 라인들(7-330)상으로 판독될 수 있다. 일부 실시예들에서, 방출 신호 레벨과 배경 신호는 공통 열 라인상으로 시간 다중화된다. 각각의 센서 세그먼트에 대해 개별적인 열 라인이 있을 수 있다. 열 라인들로부터의 신호들은 버퍼링되고/되거나 증폭 회로(7-340)(액티브 픽셀 어레이의 외부에 위치할 수 있음)를 이용하여 증폭되고, 추가의 처리 및 분석을 위해 제공될 수 있다. 일부 실시예들에서 이중 샘플링된 신호들의 감산은 칩 밖에서(off-chip), 예를 들어, 시스템 프로세서에 의해 계산된다. 다른 실시예들에서, 그 감산은 칩에서 또는 기기의 회로에서 수행될 수 있다.

[0283] 상관 이중 샘플링의 일부 실시예들은 샘플에 대한 행(row)을 선택하는 것에 의해 동작할 수 있고, 여기서 행과 관련된 센서들은 샘플링 기간에 걸쳐 통합된 신호 전하들을 가지고 신호 레벨들을 포함한다. 이 신호 레벨들은 열 라인들상으로 동시에 판독될 수 있다. 통합된 신호 레벨들을 샘플링한 후에, 선택된 행의 모든 픽셀들이 리셋되고 즉시 샘플링될 수 있다. 이 리셋 레벨은 리셋이 해제된 후에 축적을 시작하고, 나중에 동일한 행이 다시 선택될 때 프레임 시간의 통합을 완료하는 다음 통합 신호에 상관될 수 있다. 일부 실시예들에서, 프레임의 리셋 값들은 칩 밖에 저장될 수 있고 따라서 신호들이 통합을 완료하고 샘플링되었을 때, 저장된 상관된 리셋 값들이 감산될 수 있다.

[0284] 일부 실시예들에서, 2개보다 많은 세그먼트를 가진 센서(2-122)는 추가적인 회로를 요구할 수 있다. 도 7cc는 사분면 센서와 관련된 신호 수집(7-312), 증폭(7-320), 및 이중 샘플링 회로를 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 도면에 도시된 바와 같이, 2개 이상의 세그먼트로부터의 신호들이 픽셀에서 공통 신호 채널상으로 시간

다중화될 수 있다. 시간 다중화된 신호들은 잡음 제거를 위해 각각의 세그먼트에 대해 샘플링된 배경 신호들을 포함할 수 있다. 또한, 2개 이상의 세그먼트로부터의 신호들은 공통 열 라인상으로 시간 다중화될 수 있다.

[0285] 일부 실시예들에 따르면, 여기 소스 또는 소스들로부터의 배경 신호 레벨들을 감소시키고/시키거나, 샘플과 관련된 상이한 방사체들로부터의 상이한 방출들을 판별하기 위해 시간 신호 획득(temporal signal-acquisition) 기법들이 이용될 수 있다. 도 7da는 일부 실시예들에 따른, 샘플에 태그를 부착하기 위해 이용될 수 있는 2개의 상이한 방사체로부터의 형광 방출 및 봉괴를 도시한다. 2개의 방출은 상당히 상이한 시간-감쇠 특성들을 갖는다. 제1 방사체로부터의 제1 시간-감쇠 곡선(7-410)은 로다민(rhodamine)과 같은 공통 형광 분자에 대응할 수 있다. 제2 시간-감쇠 곡선(7-420)은 양자점 또는 인광 방사체(phosphorescent emitter)와 같은 제2 방사체의 특성일 수 있다. 양쪽 방사체들은 방사체의 초기 여기 후에 얼마간의 시간 동안 연장하는 방출-감쇠 테일(emission-decay tail)을 보인다. 일부 실시예들에서, 방출-감쇠 테일 동안에 적용된 신호 수집 기법들은 일부 실시예들에서는 여기 소스로부터 배경 신호를 감소시키기 위해, 그리고 일부 실시예들에서는 방사체들을 구별하기 위해 타이밍될 수 있다.

[0286] 일부 구현들에 따르면, 여기 소스로부터의 방사로 인한 배경 신호를 감소시키기 위해 방출-감쇠 테일 동안에 시간 지연 샘플링(time-delayed sampling)이 이용될 수 있다. 도 7db 및 도 7dc는 일부 실시예들에 따른 시간 지연 샘플링을 예시한다. 도 7db는 여기 소스로부터의 여기 에너지의 여기 펄스(7-440), 및 샘플 우물 내에서 여기되는 샘플로부터 후속할 수 있는 후속 방출 펄스(7-450)의 시간 진화(temporal evolution)를 도시한다. 여기 펄스(7-440)는, 도 7dc에 도시된 바와 같이, 짧은 시간 기간 동안 구동 신호(7-442)로 여기 소스를 구동한 결과로 생길 수 있다. 예를 들어, 구동 신호는 제1 시간 t_1 에 시작하고 제2 시간 t_2 에 종료할 수 있다. 구동 신호의 지속 기간($t_2 - t_1$)은 일부 실시예들에 따르면, 약 1피코초와 약 50나노초 사이일 수 있지만, 일부 구현들에서는 더 짧은 지속 기간들이 이용될 수 있다.

[0287] 여기 소스에 대한 구동 신호의 종료 후 시간 t_3 에서, 광셀에서의 센서(2-260)(또는 센서 세그먼트)는 시간 t_3 에서 시간 t_4 까지 연장하는 제2 시간 간격(7-452) 동안 전하 축적 노드(7-311)에 전하를 축적하기 위해 게이팅될 수 있다. 이 제2 시간 간격은 일부 실시예들에 따르면 약 1나노초와 약 50마이크로초 사이일 수 있지만, 일부 구현들에서는 다른 지속 기간들이 이용될 수 있다. 도 7db를 참조하여 알 수 있는 바와 같이, 전하 축적 노드는 여기 소스로 인한 것보다 방출 샘플로 인한 더 많은 신호 전하를 수집할 것이다. 따라서, 개선된 신호 대 잡음비가 얻어질 수 있다.

[0288] 다시 도 7da를 참조하면, 방사체들의 상이한 시간 방출 특성들 때문에, 센서에서의 대응하는 신호들이 상이한 시간들에서 피크에 달할 수 있다. 일부 구현들에서는, 방출-감쇠 테일 동안에 적용되는 신호 획득 기법들이 상이한 방사체들을 판별하는 데 이용될 수 있다. 일부 실시예들에서는, 상이한 방사체들을 판별하기 위해 시간 검출 기법들을 공간 및 스펙트럼 기법들(예를 들어, 도 7b와 관련하여 위에 설명된 것)과 조합하여 이용할 수 있다.

[0289] 도 7dd 내지 도 7dh는 상이한 시간 방출 특성들을 가진 2개의 방사체들을 구별하기 위해 센서, 또는 센서 세그먼트에서의 이중 샘플링이 어떻게 이용될 수 있는지를 예시한다. 도 7dd는 제1 방사체 및 제2 방사체와 각각 관련된 방출 곡선들(7-470, 7-475)을 도시한다. 예로서, 제1 방사체는 로다민과 같은 공통 형광단일 수 있고 제2 방사체는 양자점 또는 인광 방사체일 수 있다.

[0290] 도 7de는 도 7dd의 2개의 상이한 방출 특성에 응답하여 발생할 수 있는 전하 축적 노드(7-311)에서의 동적인 전압 레벨들을 나타낸다. 이 예에서, 형광 방사체에 대응하는 제1 전압 곡선(7-472)은 더 짧은 방출 스펜(emission span) 때문에, 더 빠르게 변화하고, 제1 시간 t_1 에 그것의 최대값(또는 노드의 극성에 따라, 최소값)에 도달할 수 있다. 제2 전압 곡선(7-477)은 제2 방사체의 더 긴 방출 특성으로 인해 더 느리게 변화하고, 제2 시간 t_2 에 그것의 최대값(또는 최소값)에 도달할 수 있다.

[0291] 일부 실시예들에서는, 도 7df에 도시된 바와 같이, 샘플 여기 후 2개의 시간 t_3 , t_4 에 전하 축적 노드의 샘플링이 행해질 수 있다. 예를 들어, 제1 시간 t_3 에 전하 축적 노드로부터 제1 전압 값을 판독하기 위해 제1 판독 신호(7-481)가 인가될 수 있다. 후속하여, 제1 판독과 제2 판독 사이에 전하 축적 노드를 리셋하지 않고 제2 시간 t_4 에 전하 축적 노드로부터 제2 전압 값을 판독하기 위해 제2 판독 신호(7-482)가 인가될 수 있다. 그 후 2개의 샘플링된 신호 값의 분석을 이용하여 2개의 방사체 중 어느 것이 검출된 신호 레벨들을 제공하였는지를

식별할 수 있다.

[0292] 도 7dg는 도 7dd에 도시된 바와 같은 방출 곡선(7-470)을 가진 제1 방사체에 대해 획득될 수 있는 제1 판독 및 제2 판독으로부터의 2개의 신호의 예를 도시한다. 도 7dh는 도 7dd에 도시된 바와 같은 방출 곡선(7-475)을 가진 제2 방사체에 대해 획득될 수 있는 제1 판독 및 제2 판독으로부터의 2개의 신호의 예를 도시한다. 예를 들어 제1 방사체에 대한 도 7df에 도시된 샘플링 시퀀스는 곡선(7-472)을 샘플링하고 2개의 판독 시간에 대략 동일한 값을 획득할 것이다. 제2 방사체의 경우, 도 7df에 도시된 샘플링 시퀀스는 2개의 판독 시간에 곡선(7-477)의 2개의 상이한 값을 샘플링한다. 2개의 판독 시간으로부터의 결과의 신호들의 쌍들은 2개의 방사체를 구별하고, 각각의 방사체를 식별하기 위해 분석될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 제1 및 제2 판독 신호들로부터 배경 신호를 감산하기 위해 배경 감산을 위한 이중 샘플링도 실행될 수 있다.

[0293] 동작시에, 센서 칩의 센서들(2-260)은 분석될 시편으로부터의 데이터 수집에 앞서 파장 캘리브레이션 절차를 겪을 수 있다. 이 파장 캘리브레이션 절차는 센서들을 센서 칩과 함께 사용될 수 있는 형광단 파장들에 대응할 수 있거나, 대응하지 않을 수 있는 특성 파장들을 가진 상이한 알려진 에너지들에 처하게 하는 것을 포함할 수 있다. 상이한 에너지들이 순차적으로 인가될 수 있고 따라서 각각의 에너지에 대해 센서들로부터 캘리브레이션 신호들이 기록될 수 있다. 그 후 캘리브레이션 신호들은 기준 신호들로서 저장될 수 있고, 이들은 실제 데이터 획득을 처리하기 위해 그리고 어느 방출 파장 또는 파장들이 센서들에 의해 검출되는지를 결정하기 위해 이용될 수 있다.

[0294] 시간 빈 정보를 취득할 수 있는 임의의 적합한 센서가 발광성 마커들의 수명을 검출하기 위한 측정들에 사용될 수 있다. 센서들은 각각의 샘플 우물이 샘플 우물로부터의 발광을 검출하기 위한 적어도 하나의 센서 영역을 갖도록 정렬된다. 일부 실시예들에서, 통합 디바이스는 가이거(Geiger) 모드 애벌란시 포토다이오드 어레이들 및/또는 단일 광자 애벌란시 다이오드 어레이(SPAD)들을 포함할 수 있다. 센서는 Si-Ge 재료들 및/또는 "블랙 실리콘"과 같은 개질된 충들을 포함할 수 있는 IR-강화 CMOS 센서들을 포함할 수 있다. 이러한 재료들은 센서가 적외선에서 방출되는, 및/또는 다르게는 비-IR-강화 CMOS 센서들에 의해 저조하게 검출되는 발광성 마커들을 검출할 수 있게 한다.

[0295] 본 명세서에서는 입사 광자들의 도달 타이밍을 정확하게 측정, 또는 "시간-빈(time-bin)" 할 수 있는, 그리고 예를 들어, 핵산들의 서열 분석(예를 들어, DNA 서열 분석)과 같은 다양한 응용들에서 사용될 수 있는 통합 광검출기가 설명된다. 일부 실시예들에서, 통합 광검출기는 나노초 또는 피코초 분해능으로 광자들의 도달을 측정할 수 있으며, 이는 입사 광자들의 도달의 시간 영역 분석을 용이하게 할 수 있다.

[0296] 일부 실시예들은 입사 광자에 응답하여 전하 캐리어들을 생성하는 그리고 전하 캐리어들이 기준 시간(예를 들어, 트리거 이벤트)에 대해 입사 광자들의 도달에 의해 생성되는 타이밍을 구별할 수 있는 광검출기를 갖는 집적 회로에 관한 것이다. 일부 실시예들에서, 전하 캐리어 분리 구조는 상이한 시간들에서 생성된 전하 캐리어들을 분리하고 이 전하 캐리어들을 상이한 시간 간격 내에 생성된 전하 캐리어들을 수집하는 하나 이상의 전하 캐리어 저장 영역("빈(bin)"이라 함)으로 유도한다. 각각의 빈은 선택된 시간 간격 내에 생성된 전하 캐리어들을 저장한다. 각각의 빈에 저장된 전하를 판독하면 각각의 시간 간격 내에 도달한 광자의 수에 관한 정보가 제공될 수 있다. 이러한 집적 회로는 본 명세서에 기술된 것들과 같은 다양한 응용들 중 임의의 것에서 사용될 수 있다.

[0297] 광검출 영역 및 전하 캐리어 분리 구조를 갖는 집적 회로의 예가 설명될 것이다. 일부 실시예들에서, 이 집적 회로는 픽셀들의 어레이를 포함할 수 있으며, 각각의 픽셀은 하기에서 논의되는 바와 같이, 하나 이상의 광검출 영역 및 하나 이상의 전하 캐리어 분리 구조를 포함할 수 있다.

[0298] 도 7e는 일부 실시예들에 따른 픽셀(100)의 도면을 도시한다. 픽셀(100)은 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102) (광검출 영역이라고도 지칭됨), 캐리어 이동/캡처 영역(106), 본 명세서에서 "전하 캐리어 저장 빈들" 또는 단순히 "빈들"이라고도 지칭되는, 하나 이상의 전하 캐리어 저장 영역을 갖는 캐리어 저장 영역(108), 및 전하 캐리어 저장 빈들로부터 신호들을 판독하기 위한 판독 회로(110)를 포함한다.

[0299] 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)은 입사 광자들을 광생성된 전하 캐리어들로 변환할 수 있는 반도체 재료(예를 들어, 실리콘)의 영역일 수 있다. 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)은 광에 노출될 수 있으며, 입사 광자들을 수신할 수 있다. 광자가 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에 의해 흡수될 때, 그것은 전자/정공 쌍과 같은 광생성된 전하 캐리어들을 생성할 수 있다. 광생성된 전하 캐리어들은 본 명세서에서 단순히 "전하 캐리어들"이라고도 지칭된다.

- [0300] 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에서 전기장이 확립될 수 있다. 일부 실시예들에서, 전기장은 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서 변화하는 전기장과 구별되는 바와 같이, "정적"일 수 있다. 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에서의 전기장은 수평 성분, 수직 성분, 또는 수평 및 수직 성분 모두를 포함할 수 있다. 전기장의 수평 성분은 화살표들로 표시된 바와 같이, 도 7e의 하향 방향일 수 있으며, 이는 광생성된 전하 캐리어에 힘을 유도하여 그것들을 캐리어 생성/캡처 영역(106)을 향하여 몰다. 전기장은 다양한 방식으로 형성될 수 있다.
- [0301] 일부 실시예들에서, 하나 이상의 전극이 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102) 위에 형성될 수 있다. 전극(들)은 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에서 전기장을 확립하기 위해 그것에 인가된 전압들을 가질 수 있다. 이러한 전극(들)은 "포토게이트(photogate)(들)"이라고 불릴 수 있다. 일부 실시예들에서, 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)은 전하 캐리어들이 완전히 공핍된 실리콘의 영역일 수 있다.
- [0302] 일부 실시예들에서, 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에서의 전기장은 PN 접합과 같은 접합에 의해 확립될 수 있다. 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)의 반도체 재료는 광생성된 전하 캐리어들에 힘을 유도하여 그것들을 캐리어 생성/캡처 영역(106)을 향하여 모든 전기장을 생성하는 배향 및/또는 형상을 갖는 PN 접합을 형성하도록 도핑될 수 있다. 일부 실시예들에서, PN 접합 다이오드의 P 단자는 그의 전압을 설정하는 단자에 연결될 수 있다. 이러한 다이오드는 "핀드(pinned)" 포토다이오드라고 지칭될 수 있다. 핀드 포토다이오드는 그의 전압을 설정하고 캐리어들을 끌어당기는 단자로 인해, 표면에서 캐리어 재결합을 촉진할 수 있고, 이는 암전류를 줄일 수 있다. 캡처하고자 하는 광생성된 전하 캐리어들은 표면에서의 재결합 영역 밑을 통과할 수 있다. 일부 실시예들에서, 수평 전기장은 반도체 재료에서의 경사형(graded) 도핑 농도를 사용하여 확립될 수 있다.
- [0303] 도 7e에 도시된 바와 같이, 광자가 캡처될 수 있고 전하 캐리어(101A)(예를 들어, 전자)가 시간 t1에서 생성될 수 있다. 일부 실시예들에서, (도 7e에 도시된 화살표에 의해 예시된 바와 같이) 전하 캐리어(101A)가 도 7e의 하향 방향으로 이동하게 하는 전위 구배(electrical potential gradient)가 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102) 및 캐리어 이동/캡처 영역(106)을 따라 확립될 수 있다. 이 전위 구배에 응답하여, 전하 캐리어(101A)는 시간 t1에서의 그의 위치로부터 시간 t2에서의 제2 위치, 시간 t3에서의 제3 위치, 시간 t4에서의 제4 위치, 및 시간 t5에서의 제5 위치로 이동할 수 있다. 전하 캐리어(101A)는 따라서 전위 구배에 응답하여 캐리어 이동/캡처 영역(106)으로 이동한다.
- [0304] 캐리어 이동/캡처 영역(106)은 반도체 영역일 수 있다. 일부 실시예들에서, 캐리어 이동/캡처 영역(106)은 입사 광으로부터 차폐될 수 있다(예를 들어, 금속층과 같은 위에 있는 불투명한 재료에 의해)는 점을 제외하고, 캐리어 이동/캡처 영역(106)은 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)(예를 들어, 실리콘)과 동일한 재료의 반도체 영역일 수 있다.
- [0305] 일부 실시예들에서, 그리고 이하에서 더 논의되는 바와 같이, 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102) 및 캐리어 이동/캡처 영역(106)에 이를 영역 위에 배치된 전극들에 의해 전위 구배가 확립될 수 있다. 그러나, 본 명세서에 기술된 기법들은 전위 구배를 생성하는 데 이용되는 전극들의 특정 위치들에 대해 제한되지 않는다. 본 명세서에 기술된 기법들은 전극들을 사용하여 전위 구배를 확립하는 것으로 제한되지 않는다. 일부 실시예들에서, 공간적으로 경사진 도핑 프로파일을 사용하여 전위 구배가 확립될 수도 있다. 전하 캐리어들이 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102) 및 캐리어 이동/캡처 영역(106)을 따라 이동하게 하는 전위 구배를 확립하기 위해 임의의 적합한 기법이 사용될 수 있다.
- [0306] 상이한 시간들에 생성된 전하 캐리어들을 분리하는 것이 가능하도록 핵셀 내에 전하 캐리어 분리 구조가 형성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 전하 캐리어 분리 구조의 적어도 일부는 캐리어 이동/캡처 영역(106) 위에 형성될 수 있다. 이하에 설명되는 바와 같이, 전하 캐리어 분리 구조는 캐리어 이동/캡처 영역(106) 위에 형성된 하나 이상의 전극을 포함할 수 있으며, 그것의 전압은 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서의 전위를 변경하기 위해 제어 회로에 의해 제어될 수 있다.
- [0307] 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서의 전위는 전하 캐리어를 캡처하는 것이 가능하도록 변경될 수 있다. 전위 구배는 미리 결정된 공간 영역 내에 캐리어를 국한시킬 수 있는 전위 장벽을 생성하기 위해 캐리어 이동/캡처 영역(106)의 위에 있는 하나 이상의 전극상의 전압을 변경함으로써 변경될 수 있다. 예를 들어, 도 7e의 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서 파선의 위에 있는 전극상의 전압은, 도 7e의 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서 파선을 따라 전위 장벽을 상승시키기 위해 시간 t5에서 변경될 수 있고, 이에 의해 전하 캐리어(101A)를 캡처할 수 있다. 도 7e에 도시된 바와 같이, 시간 t5에서 캡처된 캐리어는 캐리어 저장 영역(108)의 빈 "빈0"으로 전송될 수 있다. 캐리어를 전하 캐리어 저장 빙으로 전송하는 것은 캐리어가 전하 캐리어 저장 빙으로 이동하도록 캐리어 이동/캡처 영역(106) 및/또는 캐리어 저장 영역(108)에서 전위를 변경하는 것에 의해(예를 들어, 이들 영

역의 위에 있는 전극(들)의 전압을 변경하는 것에 의해) 수행될 수 있다.

[0308] 캐리어 이동/캡처 영역(106)의 미리 결정된 공간적 영역 내에서 특정 시점에 전위를 변경하는 것은 특정 시간 간격 내에 발생한 광자 흡수에 의해 생성된 캐리어를 트래핑하는 것을 가능하게 할 수 있다. 상이한 시간들 및 /또는 위치들에서 광생성된 전하 캐리어들을 트래핑함으로써, 광자 흡수에 의해 전하 캐리어들이 생성된 시간들이 구별될 수 있다. 이러한 의미에서, 전하 캐리어는 트리거 이벤트 발생 후 특정 시점 및/또는 공간에서 전하 캐리어를 트래핑함으로써 "시간 비닝"될 수 있다(time binned). 특정 빈 내의 전하 캐리어의 시간 비닝은 광생성된 전하 캐리어가 입사 광자의 흡수에 의해 생성된 시간에 관한 정보를 제공하고, 따라서 마찬가지로 트리거 이벤트, 즉 광생성된 전하 캐리어를 생성한 입사 광자의 도착에 대하여, "시간 비닝"한다.

[0309] 도 7f는 상이한 시점 및 공간에서 전하 캐리어를 캡처하는 것을 도시한다. 도 7f에 도시된 바와 같이, 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서 파선 위에 있는 전극상의 전압은 도 7f의 캐리어 이동/캡처 영역(106)에서 파선을 따라 전위 장벽을 상승시키기 위해 시간 t9에서 변경될 수 있고, 이에 의해 캐리어(101B)를 캡처할 수 있다. 도 7f에 도시된 바와 같이, 시간 t9에서 캡처된 캐리어는 캐리어 저장 영역(108)의 빈 "빈1"로 전송될 수 있다. 전하 캐리어(101B)는 시간 t9에서 트랩되기 때문에, 그것은 시간 t5에서 캡처되는 캐리어(101A)에 대한 광자 흡수 이벤트(즉, t1에서)와 상이한 시간(즉, 시간 t6)에 발생한 광자 흡수 이벤트를 나타낸다.

[0310] 전하 캐리어들이 캡처되는 시간들에 기초하여 다수의 측정을 수행하고 전하 캐리어들을 캐리어 저장 영역(108)의 전하 캐리어 저장 빈들에 수집하는 것은 광자들이 광자 흡수/캐리어 생성 영역(102)에서 캡처되는 시간들에 관한 정보를 제공할 수 있다. 이러한 정보는 위에서 논의된 바와 같이 다양한 응용들에서 유용할 수 있다.

[0311] 일부 실시예들에서, 여기 펠스 후에 각각의 시간 빈이 캡처하는 시간의 지속 기간은 달라질 수 있다. 예를 들어, 여기 펠스의 직후에 발광을 검출하기 위해 더 짧은 시간 빈들이 사용될 수 있는 반면, 여기 펠스로부터 더 면 시간들에서는 더 긴 시간 빈들이 사용될 수 있다. 시간 빈 간격들을 변화시킴으로써, 각각의 시간 빈과 관련된 전기 신호의 측정들에 대한 신호 대 잡음비가 주어진 센서에 대해 개선될 수 있다. 광자 방출 이벤트의 확률은 여기 펠스 직후에 더 높기 때문에, 이 시간 내의 시간 빈은 검출할 더 많은 광자들의 가능성을 설명하기 위해 더 짧은 시간 간격을 가질 수 있다. 반면 더 긴 시간들에서, 광자 방출의 가능성은 더 적을 수 있고 이 시간 내의 시간 빈 검출은 더 적은 수의 광자들의 가능성을 설명하기 위해 더 길 수 있다. 일부 실시예들에서, 상당히 긴 지속 기간을 갖는 시간 빈은 다수의 수명을 구별하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 대부분의 시간 빈들은 대략 0.1 내지 0.5ns 범위의 시간 간격을 캡처할 수 있는 반면, 시간 빈은 대략 2 내지 5ns 범위의 시간 간격을 캡처할 수 있다. 시간 빈의 수 및/또는 각각의 빈의 시간 간격은 샘플 대상으로부터 방출된 광자들을 검출하는 데 이용되는 센서에 의존할 수 있다. 각각의 빈에 대한 시간 간격을 결정하는 것은 샘플의 분석에 사용되는 발광성 마커들을 구별하기 위해 센서에 의해 제공된 시간 빈의 수에 필요한 시간 간격들을 식별하는 것을 포함할 수 있다. 기록된 히스토그램의 분포를 유사한 조건들 하의 마커들 및 시간 빈들의 알려진 히스토그램과 비교하여 샘플 우물 내의 마커의 유형을 식별할 수 있다. 본 출원의 상이한 실시예들은 마커들의 수명을 측정할 수 있지만, 마커를 여기시키기 위해 이용되는 여기 에너지들, 각각의 픽셀 내의 센서 영역의 수, 및/또는 센서에 의해 검출된 파장이 달라질 수 있다.

V. 여기 소스들

[0312] 여기 소스(2-250)는 검정 칩의 적어도 하나의 샘플 우물(2-111)에 여기 에너지를 전달하도록 배열되는 임의의 적합한 소스일 수 있다. 검정 칩상의 픽셀들은 수동 소스 픽셀들일 수 있다. 용어 "수동 소스 픽셀(pressive source pixel)"은 검정 칩의 픽셀 또는 픽셀 어레이 밖의 영역으로부터 픽셀에 여기 에너지가 전달되는 픽셀을 언급하는 데 사용된다(예를 들어, 여기가 기기 안에 있을 수 있음).

[0313] 일부 실시예들에 따르면, 여기 소스는 방사성 프로세스를 통해 샘플을 여기시킬 수 있다. 예를 들어, 여기 소스는 가시 방사(예를 들어, 약 350nm와 약 750nm 사이의 파장을 갖는 방사), 근적외선 방사(예를 들어, 약 0.75 미크론과 약 1.4미크론 사이의 파장을 갖는 방사), 및/또는 단파장 적외선 방사(예를 들어, 약 1.4미크론과 약 3미크론 사이의 파장을 갖는 방사)를 검정 칩의 적어도 하나의 샘플 우물의 적어도 하나의 여기 영역(3-215)에 제공할 수 있다. 일부 실시예들에서, 방사성 여기 소스는 샘플 우물의 여기 영역에 바로 인접한 매개자(intermediary)(예를 들어, 문자, 양자점, 또는 선택된 문자들 및/또는 양자점들을 포함하는 재료층)를 여기시키는 에너지를 제공할 수 있다. 매개자는 그것의 에너지를 비방사성 프로세스를 통해(예를 들어, FRET 또는 DET를 통해) 샘플에 전달할 수 있다.

[0314] 일부 실시예들에서, 여기 소스는 2개 이상의 여기 에너지의 소스를 제공할 수 있다. 예를 들어, 방사성 여기

소스는 2개 이상의 별개의 스펙트럼 특성들을 갖는 여기 에너지들을 전달할 수 있다. 예로서, 다색 LED가 2개 이상의 광장들에 중심을 두는 에너지들을 방출할 수 있고, 이 에너지들이 샘플 우물의 여기 영역에 전달될 수 있다.

[0316] 개요에서 그리고 일부 실시예들에 따르면, 기기는 여기 에너지를 검정 칩의 적어도 하나의 샘플 우물의 적어도 하나의 여기 영역에 또는 그 여기 에너지를 변환하거나 하나 이상의 여기 영역 내의 적어도 하나의 샘플에 결합하는 적어도 하나의 매개자에 제공하기 위해 적어도 하나의 여기 소스(2-250)를 포함할 수 있다. 도 2c에 도시된 바와 같이, 여기 소스(2-250)로부터의 방사 여기 에너지(2-251)는, 예를 들어, 샘플 우물(2-211) 주위의 영역에 부딪칠 수 있다. 일부 실시예들에서는, 입사 여기 에너지를 샘플 우물의 여기 영역(2-215) 내에 집중시키는 데 도움을 주는 여기-결합 구조물들(2-223)이 존재할 수 있다.

[0317] 여기 소스는 각각 특성 광장을 갖는 하나 이상의 별개의 스펙트럼 대역들에 의해 특징화될 수 있다. 단지 교육 목적으로, 여기 소스로부터의 스펙트럼 방출의 예가 도 8aa의 스펙트럼 그래프에 도시된다. 여기 에너지는 실질적으로 스펙트럼 여기 대역(8-110) 내에 포함될 수 있다. 스펙트럼 여기 대역의 피크 광장(8-120)은 여기 에너지를 특징화하는 데 사용될 수 있다. 여기 에너지는 스펙트럼 분포, 예를 들어, 도면에 도시된 바와 같은 FWHM(full-width-half-maximum) 값에 의해서도 특징화될 수 있다. 도 8aa에 도시된 바와 같은 에너지를 생성하는 여기 소스는 대략 540nm 방사의 광장에서 대략 55nm의 FWHM 대역폭을 가진 에너지를 전달하는 것으로 특징화될 수 있다.

[0318] 도 8ab는 하나 이상의 샘플 우물에 2개의 여기 에너지 대역을 제공할 수 있는 여기 소스(또는 여기 소스들)의 스펙트럼 특성들을 도시한다. 일부 실시예들에 따르면, 도면에 예시된 바와 같이, 제1 여기 대역(8-112)은 대략 532nm에 있고, 제2 여기 대역(8-114)은 대략 638nm에 있다. 일부 실시예들에서, 제1 여기 대역은 대략 638nm에 있을 수 있고, 제2 여기 대역은 대략 650nm에 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 제1 여기 대역은 대략 680nm에 있을 수 있고, 제2 여기 대역은 대략 690nm에 있을 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 여기 대역들의 피크들은 이들 값들의 $\pm 5\text{nm}$ 이내에 있을 수 있다.

[0319] 일부 경우들에서, 방사성 여기 소스는 도 8aa에 도시된 바와 같은 넓은 여기 대역을 생성할 수 있다. 넓은 여기 대역(8-110)은, 일부 실시예들에 따르면, 대략 20nm보다 큰 대역폭을 가질 수 있다. 넓은 여기 대역은, 예를 들어, 발광 다이오드(LED)에 의해 생성될 수 있다. 일부 구현들에서, 방사성 여기 소스는, 도 8ab에 도시된 바와 같이, 좁은 여기 대역을 생성할 수 있다. 좁은 여기 대역은, 예를 들어, 레이저 다이오드에 의해 생성될 수 있거나, 또는 LED로부터의 출력을 스펙트럼으로 필터링하는 것에 의해 생성될 수 있다.

[0320] 일부 실시예들에서, 여기 소스는 광원을 포함할 수 있다. 임의의 적합한 광원이 사용될 수 있다. 일부 실시예들은 인코히런트(incoherent) 소스들을 사용할 수 있고 다른 실시예는 코히런트(coherent) 광원들을 사용할 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 일부 실시예들에 따른, 인코히런트 광원들은, 유기 LED(OLED)들, 양자점(QLED)들, 나노 와이어 LED들, 및 유기(무기) 반도체 LED들과 같은 다양한 유형의 발광 다이오드(LED)들을 포함할 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 일부 실시예들에 따른, 코히런트 광원은, 유기 레이저들, 양자점 레이저들, 수직 공동 표면 발광 레이저(VCSEL)들, 에지 발광 레이저들, 분산형-피드백(DBF) 레이저 다이오드들과 같은 다양한 유형의 레이저들을 포함할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 슬래브-결합 광 도파관 레이저(SCOWL) 또는 다른 비대칭 단일-모드 도파관 구조가 사용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 레이저 다이오드들 또는 플래시 램프들에 의해 펌핑되는, Nd:YAG 또는 Nd:Glass와 같은 고체 상태 레이저가 사용될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 레이저-다이오드-펌핑된 파이버 레이저가 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 레이저 여기 소스의 출력은 비선형 결정, 또는 주기적으로 분극 반전된 리튬 니오븀이트(Periodically Poled Lithium Niobate, PPLN) 또는 다른 유사한 주기적으로 분극 반전된 비선형 결정에서, 광장의 절반까지 주파수가 배가 될 수 있다. 이러한 주파수 배가 프로세스는 효율적 레이저의 사용이 여기에 보다 적합한 광장들을 생성하게 할 수 있다. 픽셀 어레이를 위한 둘 이상의 유형의 여기 소스가 존재할 수 있다. 일부 실시예들에서는, 상이한 유형의 여기 소스들이 조합될 수 있다. 선택된 유형의 여기 소스를 제조하는 데 사용되는 종래의 기술들에 따라서 여기 소스가 제조될 수 있다.

[0321] 여기 에너지의 소스의 특성 광장은 검정 분석에 사용되는 발광성 마커들의 선택에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 구현들에서, 여기 에너지의 소스의 특성 광장은 선택된 형광단의 직접 여기(예를 들어, 단일 광자 여자)를 위해 선택된다. 일부 구현들에서, 여기 에너지의 소스의 특성 광장은 간접 여기(예를 들어, 직접 여기를 제공할 광장으로의 고조파 변환 또는 다중-광자 여기)를 위해 선택된다. 일부 실시예들에서, 여기 에너지는 샘플 우물로의 인가를 위해 특정 광장에서 여기 에너지를 생성하도록 구성되는 광원에 의해 생성될 수 있다. 일부

실시예들에서, 여기 소스의 특성 파장은 샘플로부터의 대응하는 방출의 특성 파장 미만일 수 있다. 일부 구현들에서, 여기 소스의 특성 파장은 샘플로부터의 방출의 특성 파장보다 클 수 있고, 샘플의 여기는 다중-광자 흡수를 통해 발생할 수 있다.

[0322] 여기 소스는 배터리 또는 임의의 다른 전원을 포함할 수 있고, 이는 통합 생체 분석 디바이스 이외의 어딘가에 위치할 수 있다. 예를 들어, 여기 소스는 기기에 위치할 수 있고, 전원은 도전성 와이어들 및 커넥터들을 통해 통합 생체 분석 디바이스에 결합될 수 있다.

[0323] 일부 실시예들에 따르면, 하나 이상의 여기 소스가 통합 디바이스 외부에 위치할 수 있으며, 샘플 우물들을 갖는 통합 디바이스에 광 펄스들을 전달하도록 배열될 수 있다. 광 펄스들은 복수의 샘플 우물에 결합될 수 있으며, 예를 들어 우물들 내의 하나 이상의 마커를 여기시키기 위해 이용될 수 있다. 하나 이상의 여기 소스는 일부 구현들에 따라, 하나 이상의 특성 파장에서 광 펄스들을 전달할 수 있다. 일부 경우에, 여기 소스는 통합 디바이스가 로딩될 수 있는 베이스 기기에 장착되거나 결합되는 교환 가능한 모듈로서 패키징될 수 있다. 여기 소스로부터의 에너지는 적어도 하나의 샘플 우물에 또는 적어도 하나의 샘플 우물 내의 적어도 하나의 샘플에 방사성 또는 비방사성으로 전달될 수 있다. 일부 구현들에서, 제어 가능한 강도를 갖는 여기 소스가 통합 디바이스의 복수의 광셀에 여기 에너지를 전달하도록 배열될 수 있다. 광셀들은 선형 어레이(예를 들어, 행 또는 열)에, 또는 2D 어레이(예를 들어, 광셀들의 어레이의 서브-영역 또는 광셀들의 전체 어레이)에 배열될 수 있다.

[0324] 임의의 적합한 광원이 여기 소스로 사용될 수 있다. 일부 실시예들은 인코히런트 광원을 사용할 수 있고 다른 실시예들은 코히런트 광원을 사용할 수 있다. 비제한적인 예로서, 일부 실시예들에 따른 인코히런트 광원은 유기 LED(OLED), 양자점(QLED), 나노와이어 LED 및 유기(무기) 반도체 LED와 같은 상이한 유형의 발광 다이오드(LED)들을 포함할 수 있다. 비제한적인 예로서, 일부 실시예들에 따른 코히런트 광원은 반도체 레이저(예를 들어, 수직 공동 표면 발광 레이저(VCSEL), 에지 방출 레이저 및 분산 피드백(DFB) 레이저 다이오드)와 같은 상이한 유형의 레이저들을 포함할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 슬래브-결합 광 도파관 레이저(SCOWL) 또는 다른 비대칭 단일-모드 도파관 구조가 사용될 수 있다. 일부 구현들에서, 코히런트 광원은 유기 레이저, 양자점 레이저, 및 고체 상태 레이저(예를 들어, 레이저 다이오드 또는 플래시램프에 의해 펌핑된, Nd:YAG 또는 ND:유리 레이저)를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 레이저 다이오드 펌핑된 파이버 레이저가 사용될 수 있다. 코히런트 광원은 극초단 펄스들을 생성하기 위해 수동형 모드 로킹될 수 있다. 통합 디바이스상의 광셀들의 어레이에 대해 2개 이상의 유형의 여기 소스가 있을 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 유형의 여기 소스들이 결합될 수 있다. 여기 소스는 선택된 유형의 여기 소스를 제조하는 데 이용되는 종래의 기술들에 따라 제조될 수 있다.

[0325] 서론으로 그리고 본 발명을 제한하지 않으면서, 코히런트 광원의 예시적인 배열이 도 8ba에 도시되어 있다. 이 도면은 여기 소스로서 극초단 펄스 레이저 여기 소스(8-210)를 포함할 수 있는 분석 기기(8-200)를 도시한다. 극초단 펄스 레이저(8-210)는 이득 매질(8-205)(일부 실시예들에서 고체 상태 재료일 수 있음), 이득 매질(도시되지 않음)을 여기시키기 위한 펌프 소스, 및 광 레이저 공동의 단부들을 정의하는 적어도 2개의 공동 거울(cavity mirror)(8-202, 8-204)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 빔 형성, 파장 선택, 및/또는 펄스 형성을 위해 레이저 공동 내에 하나 이상의 추가적인 광학 엘리먼트가 있을 수 있다. 동작 시에, 펄스 레이저 여기 소스(8-210)는 레이저 공동 내에서 공동의 단부 거울들(8-202, 8-204) 사이에 그리고 이득 매질(8-205)을 통해 앞뒤로 순환하는 극초단 광 펄스(8-220)를 생성할 수 있다. 공동 거울(8-204)들 중 하나는 순환 펄스의 일부를 부분적으로 송신하여, 광 펄스들(8-222)의 열이 펄스 레이저(8-210)로부터 방출된다. 방출된 펄스들은 빔 웨이스트(w)에 의해 특징지어지는 빔(파선으로 표시됨)을 스윕 아웃(sweep out)할 수 있다.

[0326] 방출된 펄스들(8-222)의 측정된 시간 강도 프로파일들(8-224)은 도 8bb에 도시된 바와 같이 나타날 수 있다. 일부 실시예들에서, 방출된 펄스들의 피크 강도 값들은 대략 동일할 수 있고, 프로파일들(8-224)은 가우시안 시간 프로파일을 가질 수 있지만, sech 프로파일과 같은 다른 프로파일이 가능할 수도 있다. 일부 경우에, 펄스들은 대칭 시간 프로파일들을 갖지 않을 수도 있고 다른 시간 형상들을 가질 수도 있다. 일부 실시예들에서, 이득 및/또는 손실 역학은 비대칭 프로파일들을 갖는 펄스들을 산출할 수 있다. 각각의 펄스의 지속 기간은 도 8bb에 도시된 바와 같이 FWHM(full-width-half-maximum) 값에 의해 특징지어질 수 있다. 극초단 광 펄스들은 100피코초 미만의 FWHM 값들을 가질 수 있다.

[0327] 레이저 여기 소스로부터 방출되는 펄스들은 규칙적인 간격들 T에 의해 분리될 수 있다. 일부 실시예들에서, T는 레이저에서 능동 이득 및/또는 손실 변조 레이트들에 의해 결정될 수 있다. 모드 로킹된 레이저들의 경우,

T는 공동 단부 거울들(8-202, 8-204) 사이의 왕복 이동 시간에 의해 결정될 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 펄스 분리 시간 T는 약 1ns와 약 100ns 사이일 수 있다. 일부 경우에, 펄스 분리 시간 T는 약 0.1ns와 약 1ns 사이일 수 있다. 일부 구현들에서, 펄스 분리 시간 T는 약 100ns와 약 2 μ s 사이일 수 있다.

[0328] 일부 실시예들에서, 광학계(8-240)는 레이저 여기 소스(8-210)로부터의 펄스들(8-222)의 빔에 대해 작용할 수 있다. 예를 들어, 광학계는 빔을 재성형하고 및/또는 빔의 발산을 변경하기 위한 하나 이상의 렌즈를 포함할 수 있다. 빔의 재성형은 빔 웨이스트의 값을 증가시키거나 감소시키는 것 및/또는 빔의 단면 형상을 변경하는 것(예를 들어, 타원형에서 원형으로, 원형에서 타원형으로 등)을 포함할 수 있다. 빔의 발산을 변경하는 것은 빔 풀러스를 수렴 또는 발산시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 광학계(8-240)는 빔 에너지의 양을 변경하기 위한 감쇠기 또는 증폭기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 광학계는 파장 필터링 엘리먼트들을 포함할 수 있다. 일부 구현들에서, 광학계는 펄스 성형 엘리먼트들, 예를 들어 펄스 신장기 및/또는 펄스 압축기를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 광학계는 펄스 길이를 감소시키기 위한 포화가능 흡수체와 같은 하나 이상의 비선형 광학 엘리먼트를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에 따르면, 광학계(8-240)는 레이저 여기 소스(8-210)로부터의 펄스들의 분극을 변경하는 하나 이상의 엘리먼트를 포함할 수 있다.

[0329] 일부 구현들에서, 광학계(8-240)는 여기 소스(8-210)로부터의 출력 파장을 주파수 배가를 통해 더 짧은 파장으로 또는 파라메트릭 증폭을 통해 더 긴 파장으로 변환하기 위한 비선형 결정을 포함할 수 있다. 예를 들어, 레이저의 출력은 비선형 결정(예를 들어, 주기적으로 분극 반전된 리튬 니오베이트(periodically poled lithium niobate, PPLN) 또는 다른 비-분극 반전된 비선형 결정에서 주파수 배가될 수 있다. 이러한 주파수 배가 처리(frequency-doubling process)는 더 효율적인 레이저들이 선택된 형광단들의 여기에 더 적합한 파장들을 생성하는 것을 가능하게 할 수 있다.

[0330] "특성 파장" 또는 "파장"이라는 문구는 여기 소스에 의해 생성된 방사의 제한된 대역폭 내에서 중심 파장 또는 주 파장을 지칭할 수 있다. 일부 경우에, 여기 소스에 의해 생성된 방사의 대역폭 내에서 피크 파장을 지칭할 수 있다. 여기 소스의 특성 파장은, 예를 들어, 생체 분석 디바이스에 사용되는 발광성 마커들 또는 프로브들의 선택에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 구현들에서, 여기 에너지 소스의 특성 파장은 선택된 형광단의 직접 여기(예를 들어, 단일 광자 여기)를 위해 선택된다. 일부 구현들에서, 여기 소스의 특성 파장은 간접 여기(예를 들어, 다중 광자 여기 또는 직접 여기를 제공할 파장으로의 고조파 변환)를 위해 선택된다. 일부 실시예들에서, 여기 방사는 샘플 우물로의 적용을 위해 특정 파장에서 여기 에너지를 생성하도록 구성된 광원에 의해 생성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 소스의 특성 파장은 샘플로부터의 대응하는 방출의 특성 파장보다 낮을 수 있다. 예를 들어, 여기 소스는 500nm와 700nm 사이의 특성 파장(예를 들어, 515nm, 532nm, 563nm, 594nm, 612nm, 632nm, 647nm)을 갖는 방사를 방출할 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 소스는 예를 들어 532nm 및 593nm와 같은 2개의 상이한 파장에 중심을 둔 여기 에너지를 제공할 수 있다.

[0331] 일부 실시예들에서, 펄스 여기 소스는 발광성 마커의 방출 수명을 측정하기 위해 발광성 마커를 여기시키는 데 이용될 수 있다. 이는 방출 색상 또는 파장보다는 발광 수명에 기초하여 발광성 마커들을 구별하는 데 유용할 수 있다. 예로서, 펄스 여기 소스는 마커의 수명을 결정하는 데 이용되는 후속 광자 방출 이벤트들을 생성하고 감지하기 위해 발광성 마커를 주기적으로 여기시킬 수 있다. 발광성 마커들의 수명 측정들은 여기 소스로부터의 여기 펄스가 발광성 마크의 수명보다 짧은 시간의 지속 기간에 걸쳐 피크 펄스 전력 또는 강도로부터 더 낮은(예를 들어, 거의 소멸된) 전력으로 전이할 때 가능할 수 있다. 발광성 마커의 수명이 평가되고 있을 때 여기 후 단계 동안 발광성 마커를 재여기시키지 않도록 여기 펄스가 신속하게 종료되는 것이 유익할 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 펄스 전력은 250피코초 후에 피크 전력보다 대략 20dB, 대략 40dB, 대략 80dB, 또는 대략 120dB 미만으로 떨어질 수 있다. 일부 구현들에서, 펄스 전력은 100피코초 후에 피크 전력보다 대략 20dB, 대략 40dB, 대략 80dB, 또는 대략 120dB 미만으로 떨어질 수 있다.

[0332] 발광성 마커를 여기시키기 위해 극초단 여기 펄스들을 사용하는 추가적인 이점은 마커들의 광 표백을 감소시키는 것이다. 마커에 연속적인 여기 에너지를 가하면 시간이 지남에 따라 발광성 마커가 표백 및/또는 손상될 수 있다. 여기 소스의 피크 펄스 전력이 연속 노출에서 마커를 급격하게 손상시키는 레벨보다 상당히 높을 수 있을지라도, 극초단 펄스를 사용하면 여기 에너지에 의해 마커가 손상되기 전의 시간 및 유용한 측정 횟수가 증가될 수 있다.

[0333] 발광성 마커들의 수명을 식별하기 위해 펄스 여기 소스를 사용할 때, 여기 에너지의 펄스들 사이의 시간은 각각의 여기 펄스 후에 방출 이벤트들을 관찰하고 평가하기 위해 마커들의 가장 긴 수명만큼 길거나 그보다 길 수 있다. 예를 들어, 여기 펄스들 사이의 시간 간격 T(도 8bb 참조)는 검사되는 형광단들의 임의의 방출 수명보다

길 수 있다. 이 경우, 후속 펄스는 이전 펄스로부터의 여기된 형광단이 형광을 발하기 위해 적당한 시간을 갖기 전에 도착하지 않을 수 있다. 일부 실시예들에서, 간격 T는 여기 펄스의 종료 이후 그리고 다음 여기 펄스 이전에 형광단을 여기시키는 여기 펄스와 형광단에 의해 방출된 후속 광자 사이의 시간을 결정할 수 있을 만큼 길 필요가 있다.

[0334] 여기 펄스들 간의 간격 T는 형광단들의 감쇠 특성을 관찰할 수 있을 만큼 길어야 하지만, T는 짧은 시간 내에 많은 측정들이 이루어질 수 있을 만큼 짧아야 한다. 제한이 아닌 예로서, 일부 응용들에서 사용되는 형광단들의 방출 수명들은 약 100피코초 내지 약 10나노초 범위에 있을 수 있다. 따라서, 그러한 수명들을 검출 및/또는 식별하는 데 이용되는 여기 펄스들은 약 25피코초 내지 약 2나노초 범위의 지속 기간들(FWHM)을 가질 수 있고, 약 20MHz 내지 약 1GHz 범위의 펄스 반복 속도로 제공될 수 있다.

[0335] 더 상세하게는, 수명 측정들을 위해 펄스 여기 소스를 생성하기 위해 여기 에너지를 변조하기 위한 임의의 적합한 기법들이 사용될 수 있다. 레이저와 같은 여기 소스의 직접 변조는 방출된 전력이 펄스들의 형태가 되도록 여기 소스의 전기적 구동 신호를 변조하는 것을 수반할 수 있다. 광 펌핑 전력을 포함하는 광원에 대한 입력 전력, 및 이득 영역의 일부로부터의 여기 상태 캐리어 주입 및/또는 캐리어 제거를 이득 매질의 이득에 영향을 미치도록 변조하여, 동적 이득 성형을 통해 여기 에너지의 펄스들의 형성을 가능하게 할 수 있다. 또한, 광 공진기의 품질(Q) 인자는 Q-스위칭 기법들을 이용하여 펄스들을 형성하기 위한 다양한 수단에 의해 변조될 수 있다. 이러한 Q-스위칭 기법들은 능동적 및/또는 수동적일 수 있다. 레이저의 공진 공동의 종방향 모드들은 모드 로킹을 통해 방출된 광의 일련의 펄스들을 생성하기 위해 위상 로킹될 수 있다. 이러한 모드 로킹 기법들은 능동적 및/또는 수동적일 수 있다. 레이저 공동은 캐리어 밀도의 변조 및 해당 섹션의 흡수 손실의 제어를 가능하게 하는 별도의 흡수 섹션을 포함함으로써, 여기 펄스를 성형하기 위한 추가적인 메커니즘들을 제공할 수 있다. 일부 실시예들에서, 광 변조기는 연속파(CW) 광의 빔을 여기 에너지의 펄스의 형태가 되도록 변조하는데 이용될 수 있다. 다른 실시예들에서, 여기 소스에 결합된 음향 광학 변조기(AOM)에 전송된 신호는 출력된 광의 편향, 강도, 주파수, 위상 및/또는 분극을 변경하여 펄스 여기 에너지를 생성하는 데 이용될 수 있다. AOM들은 또한 연속파 빔 스캐닝, Q-스위칭 및/또는 모드 로킹에 사용될 수 있다. 상기 기법들은 펄스 여기 소스를 생성하기 위해 기술되었지만, 펄스 여기 소스를 생성하기 위한 임의의 적합한 방법이 발광성 마커들의 수명들을 측정하는 데 이용될 수 있다.

[0336] 일부 실시예들에서, 수명 측정들에 적합한 펄스 여기 소스를 형성하기 위한 기법들은 광자 방출을 구동하는 입력 전기 신호의 변조를 포함할 수 있다. 일부 여기 소스들(예를 들어, 다이오드 레이저 및 LED)는 입력 전류와 같은 전기 신호를 광 신호로 변환한다. 광 신호의 특성은 전기 신호의 특성에 의존할 수 있다. 펄스 광 신호를 생성할 때, 전기 신호는 가변 광 신호를 생성하기 위해 시간이 지남에 따라 달라질 수 있다. 특정 파형을 갖도록 전기 신호를 변조하는 것은 특정 파형을 갖는 광 신호를 생성할 수 있다. 전기 신호는 특정 주파수를 갖는 정현파 파형을 가질 수 있고 결과적인 광 펄스들은 그 주파수와 관련된 시간 간격들 내에 발생할 수 있다. 예를 들어, 500MHz 주파수를 갖는 전기 신호는 2나노초마다 펄스들을 갖는 광 신호를 생성할 수 있다. 서로 유사하거나 상이함에 관계없이, 별개의 펄스 여기 소스들에 의해 생성된 결합된 빔들은 1mm 미만의 상대 경로 차이를 가질 수 있다.

[0337] 레이저 다이오드들과 같은 일부 여기 소스들에서, 전기 신호는 캐리어 밀도를 변경하고 전자와 정공 쌍들의 재결합을 통해 광자가 생성된다. 캐리어 밀도가 임계 값을 초과할 때, 상당한 수의 코히런트 광자들이 유도 방출을 통해 생성되도록 캐리어 밀도는 광 신호와 관련된다. 레이저 다이오드에 공급되는 전류는 전자 또는 캐리어를 디바이스에 주입하여, 캐리어 밀도를 증가시킬 수 있다. 캐리어 밀도가 임계 값을 초과할 때, 광자들은 캐리어를 공급하는 전류보다 빠른 속도로 생성될 수 있고, 따라서 캐리어 밀도는 임계 값을 아래로 감소할 수 있고 광자 생성이 감소된다. 광자 생성이 감소됨에 따라, 캐리어 밀도는 계속적인 전류 주입 및 광자의 흡수로 인해 다시 증가하기 시작하고, 결국 다시 임계 값을 초과하여 증가한다. 이러한 사이클은 광자 생성을 위한 임계 값을 주위의 캐리어 밀도의 진동으로 이어져 진동하는 광 신호를 야기한다. 이완 진동으로 알려진 이러한 역학은 캐리어 밀도의 진동으로 인해 광 신호에 아티팩트를 유발할 수 있다. 전류가 처음에 레이저에 공급될 때, 캐리어 밀도에서의 진동으로 인해 광 신호가 안정된 전력에 도달하기 전에 진동이 있을 수 있다. 펄스 여기 소스를 형성할 때, 캐리어 밀도의 진동은 펄스 광 신호에 대한 아티팩트를 도입할 수 있다. 예를 들어, 도 8c의 플롯은 어떻게 캐리어 밀도가 이완 진동을 가질 수 있는지 및 이득 스위칭에 의한 변조를 통해 진동하는 전력을 갖는 대응하는 광 신호를 도시한다. 그러한 이완 진동으로부터의 아티팩트는 여기 신호가 발광성 마커에 의해 방출된 광자와 중첩될 수 있기 때문에 펄스 광 신호를 확장하고 및/또는 광 신호에서 테일을 생성하여 그러한 펄스 광원에 의해 검출될 수 있는 수명들을 제한할 수 있다.

[0338]

일부 실시예들에서, 여기 펠스의 지속 기간을 단축시키는 기법들은 발광성 마커들을 검출하는 데 필요한 여기 에너지를 감소시켜 발광성 마커들에 대한 표백 및 다른 손상을 감소 또는 지연시키는 데 이용될 수 있다. 여기 펠스의 지속 기간을 단축시키는 기법들은 여기 펠스의 최대 값 또는 피크 이후의 여기 에너지의 전력 및/또는 강도를 감소시켜 더 짧은 수명의 검출을 가능하게 하는 데 이용될 수 있다. 이러한 기법들은 피크 전력 이후에 여기 전력을 감소시키기 위해 여기 소스를 전기적으로 구동할 수 있다. 이는 도 8d의 플롯(8-401)에 도시된 바와 같이 펠스의 테일을 억제할 수 있다. 전기 구동 신호는 피크 펠스 이후에 가능한 한 빨리 여기 에너지의 펠스 강도를 0으로 구동하도록 조정(tailor)될 수 있다. 이득 스위칭과 결합된 조정된 전기 구동 신호의 예가 도 8d의 플롯(8-402)에 도시되어 있다. 이러한 기법은 피크 전력이 생성된 후 전기 구동 신호의 부호를 반전시키는 것을 수반할 수 있다. 이러한 조정된 전기 구동 신호는 도 8d의 플롯(8-403)에 도시된 광 출력력을 생성할 수 있다. 전기 신호는 광 신호의 제1 이완 진동 또는 제1 진동 이후에 캐리어 밀도를 신속하게 감소시키도록 조정될 수 있다. 제1 진동 후에 캐리어 밀도를 감소시킴으로써, 단지 제1 진동의 광 펠스가 생성될 수 있다. 전기 신호는 그러한 전기 신호의 광 출력력을 보여주는 도 8e의 플롯에 의해 도시된 바와 같이, 신호의 피크 이후에 방출된 광자의 수를 감소시킴으로써 광 신호를 신속하게 턴 오프하는 짧은 펠스를 생성하도록 구성될 수 있다. 일부 실시예들에 따라, 피코초 레이저 다이오드 시스템이 광 펠스들을 방출하도록 설계될 수 있다. 도 8f는 985mW의 피크, 84.3피코초의 폭, 및 피크 이후 대략 250피코초 후에 대략 24.3dB만큼 감소된 신호를 갖는 예시적인 광 펠스의 플롯을 도시한다. 일부 실시예들에서, 반도체 포화 흡수체(SESAM)들을 포함하는 포화 흡수체들이 광학 테일을 억제하는 데 이용될 수 있다. 그러한 실시예들에서, 포화 흡수체들을 사용하는 것은 광학 테일을 3-5dB만큼 또는 일부 경우에는, 5dB 초과하여 억제할 수 있다. 여기 펠스에서 테일의 효과를 감소시키는 것은 여기 에너지의 추가적인 필터링에 대한 임의의 요건들을 감소 및/또는 제거하고, 측정될 수 있는 수명들의 범위를 증가시키고, 및/또는 더 빠른 펠스 속도를 가능하게 할 수 있다. 여기 펠스 속도를 증가시키는 것은 주어진 시간에 더 많은 실험이 수행되는 것을 가능하게 할 수 있고, 이는 샘플 대상을 표지하는 마커에 대한 수명을 식별하기에 충분한 통계를 수집하는 데 필요한 시간을 줄일 수 있다.

[0339]

또한, 이들 기법들 중 두 가지 이상을 함께 사용하여 펠스 여기 에너지를 생성할 수 있다. 예를 들어, 직접 변조된 소스로부터 방출된 펠스 여기 에너지는 광 변조 기법들을 이용하여 추가로 변조될 수 있다. 여기 펠스를 변조하고 전기 펠스 구동 신호를 조정하기 기법들은 수명 측정들을 수행하기 위한 펠스 여기 에너지를 최적화하기 위해 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다. 조정된 전기 구동 신호가 직접 변조된 소스로부터의 펠스 여기 에너지에 인가될 수 있다.

[0340]

일부 실시예들에서, 특정 수의 와이어 본드를 갖는 레이저 다이오드가 펠스 여기 소스로서 사용될 수 있다. 더 많은 와이어 본드를 갖는 레이저 다이오드들은 여기 소스의 인덕턴스를 감소시킬 수 있다. 더 낮은 인덕턴스(도 8g의 인덕터(8-701)로 나타내어짐)를 갖는 레이저 다이오드들은 레이저로의 전류가 더 높은 주파수에서 동작하는 것을 가능하게 할 수 있다. 도 8g에 도시된 바와 같이, 50 옴 전송 라인에서 18V 펠스에 의해 구동될 때, 3옴 직렬 저항(저항기(8-702)로 나타내어짐) 및 36개의 와이어 본드를 갖는 Oclaro 레이저 소스(8-700)은 더 적은 와이어 본드를 갖는 레이저 소스들보다 더 높은 주파수들에서 더 높은 전류를 갖는다. 인덕턴스를 최소화하기 위해 패키징 방법을 선택하는 것은 더 높은 주파수들에서 여기 소스에 공급되는 전력을 개선할 수 있고, 피크 이후의 광 전력의 더 빠른 감소, 및/또는 발광성 마커 검출을 위한 증가된 펠스 반복율을 가능하게 한다.

[0341]

일부 실시예들에서, 여기 소스와 조합된 전송 라인이 광 펠스들을 생성하는 데 이용될 수 있다. 전송 라인은 광 펠스들의 성능 및/또는 품질을 개선하기 위해 레이저 다이오드의 임피던스와 정합할 수 있다. 일부 실시예들에서, 전송 라인 임피던스는 50 옴일 수 있다. 일부 경우에, 종단 저항은 반사를 피하기 위해 라인의 저항과 유사할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 종단 임피던스는 반사를 피하기 위해 라인의 임피던스와 유사할 수 있다. 종단 임피던스는 음의 펠스를 반영하기 위해 라인의 임피던스보다 작을 수 있다. 다른 실시예들에서, 종단 임피던스는 음의 반사 펠스의 형상을 제어하기 위해 용량성 또는 유도성 성분을 가질 수 있다. 다른 실시예들에서, 전송 라인은 더 높은 주파수의 펠스들을 허용할 수 있다. 도 8ha는 전송 라인 펠서의 예시적인 프로토타입을 도시하고, 도 8hb는 이러한 전송 라인으로 획득되는 광 펠스들의 예시적인 시간 프로파일들을 도시한다. 전송 라인을 사용하는 것은 40MHz 내지 500MHz 범위 내의 주파수를 갖는 전기 펠스들을 생성할 수 있다. 특정 지속 기간 및 특정 시간 간격을 갖는 광 펠스들을 갖는 펠스 광원을 생성하기 위해 전송 라인은 전술한 조정된 전기 신호와 조합하여 사용될 수 있다.

[0342]

광 펠스들의 생성을 개선하기 위해 전기 신호를 조정하는 기법들은 음의 바이어스 능력을 가진 회로에 여기 소스를 연결하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 광 펠스에서 테일의 방출을 감소시키기 위해 광 펠스

가 방출한 후에 여기 소스에 음의 바이어스가 제공될 수 있다. 도 8i는 광 펄스에서 테일의 존재를 감소시키기 위해 구현될 수 있는 전류원(8-901), 다이오드 레이저(8-902), 저항기(8-903), 커패시터(8-904), 및 스위치(8-905)를 포함하는 예시적인 회로(8-900)를 도시한다. 이러한 회로(8-900)는 스위치(8-905)가 닫히거나 전도 상태에 있을 때 다이오드 레이저(8-902)를 바이패스하는 일정한 전류를 생성할 수 있다. 스위치(8-905)가 열릴 때, 스위치(8-905)는 높은 저항을 가질 수 있고 다이오드 레이저(8-902)를 통해 전류가 흐를 수 있다. 다이오드(8-902) 레이저에 간헐적인 전류를 제공하기 위해 스위치(8-905)를 열고 닫음으로써 광 펄스들이 생성될 수 있다. 일부 경우에, 스위치(8-905)가 열리고 다이오드 레이저(8-902)가 발광할 때 커패시터(8-904) 양단에 전압이 존재하도록 저항기(8-903)는 충분히 높을 수 있고 커패시터(8-904)는 충분히 작을 수 있다. 스위치(8-905)가 닫힐 때, 커패시터(8-904) 양단의 전압은 다이오드 레이저(8-902)를 역방향 바이어싱할 것이다. 이러한 역방향 바이어스는 광 펄스에서 테일의 존재를 감소시키거나 제거할 수 있다. 이러한 경우에, 스위치(8-905)는 피크 광 펄스 직후에 레이저 전력을 감소시키기 위해 광 펄스의 피크 이후에 닫히도록 구성될 수 있다. 회로(8-900) 내의 저항기(8-903)의 값은 스위치가 그 후 열리고 및/또는 후속 광 펄스가 레이저 다이오드(8-902)에 의해 생성되기 전에 커패시터(8-904)상의 전하가 방전되도록 선택될 수 있다.

[0343]

광 펄스들을 생성하기 위해 레이저 다이오드의 전기 신호를 조정하기 위해 추가적인 회로 컴포넌트가 제공될 수 있다. 일부 실시예들에서, 다수의 커패시터, 저항기, 및 전압이 레이저 다이오드에 공급되는 전기 신호의 파형을 제어하기 위해 네트워크 회로로서 연결될 수 있다. 제어된 파형은 N개의 커패시터 서브 회로가 있을 때 대응하는 신호 S1, S2, ..., SN으로 다수의 전압 V1, V2, ..., VN을 스위칭함으로써 제어된 파형이 생성될 수 있다. 4개의 커패시터 서브 회로의 예시적인 네트워크 회로가 도 8j에 도시되어 있는데 제어된 전기 파형은 신호 S1, S2, S3 및 S4로 전압 V1, V2, V3 및 V4를 각각 스위칭함으로써 생성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 전압 V1, V2, V3 및 V4는 가변적일 수 있다. 도 8j에 도시된 예에서, V4는 레이저에 대해 음이며, 신호 S4에 따라 역방향 바이어스를 생성할 수 있다. 레이저에 의해 방출된 광 펄스들의 주파수의 타이밍, 각각의 광 펄스의 지속 기간, 및 각각의 광 펄스의 특징들이 신호 입력 S1, S2, S3 및 S4로 조정될 수 있다. 일부 실시예들에서, 추가적인 저항이 피크 전류를 낮추기 위해 추가될 수 있다. 그러한 경우, 저항은 스위치 S1, S2, S3, S4 중 하나 이상의 뒤에 추가될 수 있다. 또한, 도 8j은 4개의 커패시터 및 4개의 전압을 갖는 하나의 구성을 도시하지만, 수명 측정들을 위한 광 펄스들을 생성하기 위해 레이저 다이오드에 조정된 전기 신호를 생성하기 위해 임의의 적합한 구성 및 임의의 적합한 수의 추가적인 회로 컴포넌트가 제공될 수 있다.

[0344]

일부 실시예들에서, 광 펄스들을 생성하기 위한 전기 신호는 무선 주파수(RF) 및/또는 마이크로파 성분들을 포함하는 개별 컴포넌트들을 갖는 회로를 사용할 수 있다. 이러한 회로에 포함될 수 있는 개별 컴포넌트들은 DC 블록, 어탭터, 로직 게이트, 터미네이터, 위상 시프터, 지연, 감쇠기, 결합기 및/또는 RF 증폭기이다. 이러한 컴포넌트들은 특정 진폭을 갖는 양의 전기 신호와 그 후 또 다른 진폭을 갖는 음의 전기 신호를 생성하는 데 이용될 수 있다. 양의 전기 신호와 음의 전기 신호 사이에 지연이 있을 수 있다. 도 8ka는 광 펄스를 방출하기 위해 레이저 다이오드와 같은 여기 소스에 공급될 수 있는, 도 8kb에 도시된 펄스 프로파일과 같은 출력 펄스로서 조정된 전기 신호를 생성하는 데 이용될 수 있는 하나의 RF 증폭기를 갖는 예시적인 회로를 도시한다. 다른 실시예들에서, 회로는 여기 소스를 구동하도록 구성된 전기 펄스 신호를 형성하도록 결합된 다수의 전기 신호를 생성할 수 있다. 이러한 회로는 광 펄스의 전력을 증가시키는 데 이용될 수 있는 차동 출력을 생성할 수 있다. 회로의 개별 컴포넌트들을 조정함으로써, 전기 출력 신호는 수명 측정들에 적합한 광 펄스들을 생성하도록 조정될 수 있다. 도 81a에 도시된 예에서, 2개의 RF 증폭기가 양의 전기 신호 펄스 및 대응하는 음의 전기 신호 펄스로 이루어진 도 81b에 도시된 프로파일을 갖는 출력 펄스 신호를 생성하는 데 이용되며 여기서 양 및 음의 전기 신호 펄스들은 중첩되고 유사한 폭을 갖는다.

[0345]

일부 실시예들에서, 여기 소스들은 수명 측정들을 위한 광 펄스들을 생성하기 위해 결합될 수 있다. 동기화된 펄스 소스들이 특정 거리에 걸쳐 회로 또는 부하에 결합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 여기 소스들은 회로에 병렬로 결합될 수 있다. 여기 소스들은 동일한 소스로부터 유래한 것이거나 다수의 소스로부터 유래한 것일 수 있다. 다수의 소스를 갖는 일부 실시예들에서, 다수의 소스는 여기 소스의 유형이 다를 수 있다. 소스들을 결합할 때, 여기 소스들에 충분한 전력이 공급되게 하기 위해 회로 및 여기 소스들의 임피던스를 고려하는 것이 중요할 수 있다. 소스들의 조합은 펄스 여기 소스를 생성하기 위한 전술한 기법들 중 하나 이상을 사용함으로써 달성될 수 있다. 도 8ma는 하나 이상의 임피던스 값을 갖는 4개의 상이한 소스를 결합하기 위한 개략도를 도시한다. 도 8mb는 임피던스의 함수로서 전류, 전력 효율, 및 전압의 플롯을 도시한다. 이 예시적인 실시예는 50 음의 전송 라인상에서 전력을 전달하는 4개의 소스를 도시하고, 부하의 임피던스가 개별 라인들의 임피던스 대 소스의 수의 비율이 같을 때 최적의 전력 전달이 발생하는 것을 보여준다.

- [0346] 여기 소스는 여기 소스에 전력을 제공하도록 구성된 배터리 또는 임의의 다른 전원을 포함할 수 있다. 예를 들어, 여기 소스는 베이스 기기에 위치할 수 있고, 그의 동작 전력은(예를 들어, 도전성 전력 리드를 통해) 그것에 결합되는 통합 생체 분석 디바이스를 통해 수신될 수 있다. 여기 소스는 통합 생체 분석 디바이스의 제어와 관계없이 또는 통합된 생체 분석 디바이스의 제어와 협력하여 제어될 수 있다. 단지 하나의 예로서, 여기 소스에 대한 제어 신호들은 퍼스널 컴퓨터 및/또는 통합 생체 분석 디바이스와의 유선 상호 연결(예를 들어, USB 상호 연결)을 통해 또는 무선으로 여기 소스에 제공될 수 있다.
- [0347] 일부 구현들에서, 여기 소스는 통합 디바이스의 하나 이상의 센서와 시간-케이팅 및/또는 동기화된 방식으로 작동될 수 있다. 예를 들어, 여기 소스를 턴 온하여 발광성 마커를 여기시킨 다음 턴 오프할 수 있다. 센서는 여기 소스가 턴 온된 동안 턴 오프될 수 있으며, 그 후 여기 소스가 턴 오프된 후에 샘플링 간격 동안 턴 온될 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서는 여기 소스가 턴 온된 동안 샘플링 간격 동안 턴 온될 수 있다.
- [0348] 일부 실시예들에서, Osram PL 50mW 레이저가 520nm의 여기 광을 제공하기 위해 예로서 사용된다. 대안적으로, 530nm 또는 532nm의 여기 광이 사용된다. 대안적으로 및/또는 추가적으로, Thorlabs LP637-SF70 70mW 레이저가 637nm의 여기 광을 제공하기 위해 예로서 사용된다. 또 다른 예는 638nm에서 여기를 제공하는 Oclaro HL63133 레이저 다이오드이다. 이들 레이저 소스 또는 다른 적합한 레이저 소스는 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 하나 이상의 레이저 소스가 사용되고 각각의 소스로부터의 여기 광이 빔 결합기에서 결합된 다음 검정 칩으로 유도된다. 각각의 광원은 광 섬유에 결합될 수 있으며, 그 후 그 전체가 번들링될 수 있다. 섬유 번들에서 나가는 광의 광학 특성은 광학 성형 엘리먼트(optical shaping element, OSE)를 사용하여 제어될 수 있다. 임의적으로, 다수의 광원으로부터의 레이저 광이 편광, 파장 및/또는 공간 파라미터들에 의해 다중화되고 단일 광 섬유를 통해 송신되는 멀티플렉서가 사용될 수 있다. 상이한 파장들이 4개의 서브-센서 중 하나의 서브-센서 쪽으로 유도되도록 상이한 파장들을 스펙트럼으로 분리하기 위해 회절 광학 엘리먼트(DOE)가 사용될 수 있다.
- [0349] A. 다수의 여기 소스
- [0350] 다수의 여기 소스는 상이한 에너지를 또는 파장들을 갖는 광을 복수의 샘플 우물에 제공할 수 있다. 다수의 여기 소스 각각은 상이한 특성 파장 또는 에너지를 갖는 광을 제공할 수 있다. 마커가 광자를 방출하도록 여기 소스로부터의 광이 마커를 여기시키는지 여부에 기초하여 하나 이상의 마커가 식별될 수 있다. 이러한 방식으로, 마커들은 상이한 여기 소스들로부터의 광으로 샘플을 조명한 후 샘플의 응답을 측정함으로써 그들의 흡수 스펙트럼에 기초하여 식별될 수 있다. 예를 들어, 마커를 갖는 샘플은 제1 여기 소스로부터의 광에 이어서 제2 여기 소스로부터의 광으로 조명될 수 있다. 마커가 제1 여기 소스로부터의 광에 의해 조명되는 것에 응답하여 발광을 방출하면, 마커는 제1 여기 소스의 특성 파장과 중첩되는 흡수 스펙트럼을 가질 수 있다.
- [0351] 일부 실시예들에서, 여기 에너지를 위해 복수의 여기 소스를 사용하는 것이 가능하다. 이러한 복수의 소스는, 예를 들어, 다수의 다이오드 레이저 방사체를 포함하는 다이오드 레이저 바(diode laser bar)로서 구현될 수 있다. 레이저 다이오드의 제조에 있어서, 일반적으로 다수의 방사체를 단일 기판상에 리소그래피 방식으로 제조한 다음, 개별 패키징을 위해 단일 방사체 조각들로 다이싱한다. 그러나 기판을 복수의 방사체를 갖는 조각들로 다이싱하는 것도 가능하다. 일부 실시예들에서, 방사체들은 거의 동일하고, 일반적으로 0.1 마이크로미터 정도의 리소그래피 허용 오차로 서로로부터 균등하게 이격될 수 있다.
- [0352] VI. 사용 방법, 기기 동작 및 사용자 인터페이스
- [0353] 이 기기(2-120)는 소프트웨어 및/또는 하드웨어를 이용하여 제어될 수 있다. 예를 들어, 이 기기는 ASIC, FPGA 및/또는 소프트웨어를 실행하는 범용 프로세서와 같은, 처리 디바이스(1-123)를 이용하여 제어될 수 있다.
- [0354] 도 9a는 일부 실시예들에 따른, 기기(2-120)의 동작의 순서도를 예시한다.
- [0355] 사용자가 분석할 시편을 획득한 후에, 사용자는 단계 9-101에서 새로운 분석을 시작한다. 이것은 사용자 인터페이스(2-125)를 통해, 예를 들어, 버튼을 누르는 것에 의해 기기(2-120)에 지시(indication)를 제공하는 것에 의해 행해질 수 있다. 단계 9-103에서, 기기(2-120)는 이전에 수행된 분석으로부터의 검정 칩(2-110)가 여전히 기기(2-120)에 삽입되어 있는지를 체크한다. 기존 검정 칩이 존재하는 것으로 결정되면, 단계 9-105에서 여기 소스의 전원이 차단되고, 단계 9-107에서 사용자 인터페이스(2-125)의 인디케이터를 이용하여 사용자에게 이전 검정 칩을 인출(eject)하도록 안내(prompt)하고 기기(2-120)는 단계 9-109에서 기존 검정 칩이 인출되는 것을 기다린다.

[0356]

이전 검정 칩이 사용자에 의해 인출될 때 또는 기기(2-120)가 단계 9-103에서 이전 검정 칩이 이미 제거된 것으로 결정하면, 단계 9-111에서 사용자에게 새로운 분석을 위한 새로운 검정 칩(2-110)를 삽입하도록 안내한다. 그 후 기기(2-120)는 단계 9-113에서 새로운 검정 칩(2-110)가 삽입되는 것을 기다린다. 사용자가 새로운 통합 디바이스를 삽입할 때, 단계 9-115에서 사용자 인터페이스(2-125)의 인디케이터에 의해 사용자에게 검정 칩(2-110)의 노출된 상부 표면 위에 분석될 시편을 배치하도록 안내하고 또한 기기(2-120)의 덮개를 단도록 안내한다. 그 후 기기(2-120)는 단계 9-117에서 덮개가 닫히는 것을 기다린다. 사용자에 의해 덮개가 닫힐 때, 단계 9-119에서 검정 칩(2-110)의 샘플 우물들에 존재하는 시편의 샘플 부분들을 여기시키기 위한 여기 에너지를 생성하도록 여기 소스를 구동할 수 있다. 단계 9-121에서, 샘플들로부터의 방출 에너지가 센서(2-122)에 의해 검출되고 센서(2-122)로부터의 데이터가 분석을 위해 처리 디바이스(2-123)에 스트리밍된다. 일부 실시예들에서, 데이터는 외부 컴퓨팅 디바이스(2-130)에 스트리밍될 수 있다. 단계 2-123에서, 기기(2-120)는 데이터 획득이 완료되었는지를 체크한다. 데이터 획득은 특정 길이의 시간 후에, 여기 소스로부터의 특정 수의 여기 펄스에 또는 일단 특정 표적이 식별되면 완료될 수 있다. 데이터 획득이 완료되면, 9-125에서 데이터 분석이 완료된다.

[0357]

도 9b는 일부 실시예들에 따른 예시적인 셀프-캘리브레이션 루틴을 예시한다. 이 캘리브레이션 루틴은 시편의 분석 전에 임의의 적합한 시간에 실행될 수 있다. 예를 들어, 그것은 최종 사용자에 발송하기 전에 각각의 기기에 대해 제조업자에 의해 한 번 행해질 수 있다. 대안적으로, 최종 사용자가 임의의 적합한 시간에 캘리브레이션을 수행할 수 있다. 위에 논의한 바와 같이, 기기(2-120)는 상이한 샘플들로부터 방출된 상이한 파장들을 가진 방출 에너지를 구별할 수 있다. 기기(2-120) 및/또는 컴퓨팅 디바이스(2-130)는, 예를 들어, 분석되는 시편의 문자들에 부착하기 위해 이용되는 발광성 태그와 관련된 광의 각각의 특정 색과 관련된 캘리브레이션으로 캘리브레이션될 수 있다. 이렇게 하여, 특정 색과 관련된 정확한 출력 신호가 결정될 수 있다.

[0358]

디바이스를 캘리브레이션하기 위해, 단일 발광성 태그와 관련된 캘리브레이션 시편이 한 번에 하나씩 기기(2-120)에 제공된다. 단계 9-201에서 사용자가 단일 파장의 방출 에너지를 방출하는 발광성 태그들을 포함하는 시편을 검정 칩(2-110)상에 배치하고 검정 칩(2-110)를 기기(2-120)에 삽입할 때 셀프-캘리브레이션이 시작된다. 사용자 인터페이스(2-125)를 이용하여, 사용자는 기기(2-120)에 셀프-캘리브레이션을 시작하도록 지시한다. 이에 응답하여, 단계 9-203에서, 기기(2-120)는 여기 에너지로 검정 칩(2-110)을 조명하고 캘리브레이션 시편으로부터의 단일 파장 방출 에너지를 측정하는 것에 의해 캘리브레이션 분석을 실행한다. 그 후 기기(2-120)는, 단계 9-205에서, 센서 어레이의 각각의 픽셀에 대해 센서(2-122)의 서브-센서들의 어레이를 통해 측정된 검출 패턴을 저장한다. 각각의 발광성 태그에 대한 검출 패턴은 발광성 태그와 관련된 검출 시그너처(detection signature)로 간주될 수 있다. 이렇게 하여, 시그너처들은 차후의 분석 실행들에서 분석되는 미지의 샘플들로부터 수신된 데이터를 분석하기 위해 이용되는 트레이닝 데이터 세트로서 이용될 수 있다.

[0359]

상기 캘리브레이션 루틴은 그 후 단일 발광성 태그와 관련된 모든 캘리브레이션 시편에 대해 실행될 수 있다. 이렇게 하여, 픽셀들의 어레이의 각각의 센서(2-122)는 캘리브레이션 루틴의 완료 후에 단계 9-207에서 구현되는 차후의 분석 동안에 샘플 우물에 존재하는 발광성 태그를 결정하는 데 이용될 수 있는 캘리브레이션 데이터와 관련된다.

[0360]

도 9c는 일부 실시예들에 따른, 어떻게 캘리브레이션 데이터가 획득되고 데이터를 분석하는 데 이용될 수 있는지를 더 예시한다. 단계 9-301에서 센서들로부터 캘리브레이션 데이터가 획득된다. 이것은 앞서 언급한 셀프-캘리브레이션 루틴을 이용하여 행해질 수 있다. 단계 9-303에서, 캘리브레이션 데이터에 기초하여 변환 행렬이 생성된다. 이 변환 행렬은 센서 데이터를 샘플의 방출 파장에 매핑하고 $m \times n$ 행렬이고, 여기서 m 은 상이한 방출 파장들을 가진 발광성 태그들의 수이고 n 은 픽셀마다 방출 에너지를 검출하는 데 이용되는 서브-센서들의 수이다. 따라서, 변환 행렬의 각각의 열은 센서에 대한 캘리브레이션 값들을 나타낸다. 예를 들어, 픽셀마다 4개의 서브-센서와 5개의 상이한 발광성 태그가 있다면, 변환 행렬은 4×5 행렬(즉, 4개의 행과 5개의 열)이고 각각의 열은 상이한 발광성 태그와 관련되고, 열의 값들은 셀프-캘리브레이션 루틴 동안에 서브-센서들로부터 획득된 측정값들에 대응한다. 일부 실시예들에서, 각각의 픽셀은 그 자신의 변환 행렬을 가질 수 있다. 다른 실시예들에서, 픽셀들 중 적어도 일부로부터의 캘리브레이션 데이터는 평균될 수 있고 그 후 모든 픽셀들은 그 평균된 데이터에 기초하는 동일한 변환 행렬을 이용할 수 있다.

[0361]

단계 9-305에서, 생물학적 검정과 관련된 분석 데이터가 센서들로부터 획득된다. 이것은 위에 설명한 방법들 중 임의의 방법으로 행해질 수 있다. 단계 9-307에서, 변환 행렬 및 분석 데이터를 이용하여 방출 에너지의 파장 및/또는 발광성 태그의 아이덴티티가 결정될 수 있다. 이것은 임의의 적합한 방법으로 행해질 수 있다. 일부 실시예들에서, 분석 데이터는 변환 행렬의 의사 역행렬(pseudo-inverse)과 곱해져서, $m \times 1$ 벡터가

생성된다. 그 후 최대값을 가진 벡터 성분과 관련된 발광성 태그가 샘플 우물에 존재하는 발광성 태그로서 식별될 수 있다. 실시예들은 이 기법에 제한되지 않는다. 일부 실시예들에서, 작은 값들을 가진 행렬의 역행렬이 취해질 때 발생할 수 있는 가능한 병변들을 막기 위해, 샘플 우물에 존재하는 발광성 태그를 결정하기 위해, 최소 제곱법 또는 최대 우도 기법과 같은 제한된 최적화 루틴이 수행될 수 있다.

[0362] 센서들로부터의 데이터를 분석하기 위해 캘리브레이션 데이터를 이용하는 상기 방법은 임의의 적합한 프로세스에 의해 구현될 수 있다. 예를 들어, 기기(2-120)의 처리 디바이스(2-123)가 분석을 수행할 수 있고, 또는 컴퓨팅 디바이스(2-130)가 분석을 수행할 수 있다.

VII. 검정 칩 및 기기를 사용한 예시적인 측정들

[0364] 샘플에서 분자들을 검출, 분석 및/또는 프로빙하기 위한 측정들은 이 출원에 기술된 검정 칩 및 기기의 임의의 조합을 사용하여 획득될 수 있다. 여기 소스는 펠스 여기 소스 또는, 일부 경우에, 연속파 소스일 수 있다. 특정 샘플에 태깅된 발광성 마커는 샘플의 존재를 지시할 수 있다. 발광성 마커는 여기 에너지, 방출 에너지, 및/또는 마커에 의해 방출된 방출 에너지의 수명에 의해 구별될 수 있다. 유사한 발광 방출 파장을 갖는 마커들은 각각의 마커의 수명을 결정함으로써 식별될 수 있다. 또한, 유사한 수명을 갖는 마커들은 각각의 마커에 대한 발광 방출 파장에 의해 식별될 수 있다. 방출된 발광의 시간적 및/또는 스펙트럼 특성들의 조합에 의해 마커들이 식별되는, 마커들을 사용함으로써, 마커들 및 관련 샘플들의 정량 분석 및/또는 식별이 수행될 수 있다.

[0365] 수명 측정들은 마커가 샘플 우물에 있는지를 결정하는 데 사용될 수 있다. 발광성 마커의 수명은 발광성 마커가 여기 상태로 여기되고 그 후 광자가 방출되는 시간이 측정되는 다수의 실험을 수행함으로써 식별될 수 있다. 여기 소스는 펠스 화되어 여기 에너지의 펠스를 생성하고 마커에 유도된다. 여기 펠스와 발광성 마커로부터의 후속 광자 방출 이벤트 사이의 시간이 측정된다. 복수의 여기 펠스로 이러한 실험들을 반복함으로써, 특정 시간 간격 내에서 광자가 방출하는 경우의 수가 결정될 수 있다. 이러한 결과들은 일련의 이산 시간 간격들 또는 시간 빈들 내에서 발생하는 광자 방출 이벤트의 수를 나타내는 히스토그램을 채울 수 있다. 수명들 및/또는 마커들의 특정 세트를 식별하기 위해 시간 빈의 수 및/또는 각각의 빈의 시간 간격이 조정될 수 있다.

[0366] 다음은 일부 실시예들에서 발광성 마커들을 식별하기 위해 수행될 수 있는 예시적인 측정들에 대한 설명이다. 구체적으로, 발광 수명 측정만, 공동 스펙트럼 및 발광 수명 측정, 및 발광 수명 측정만을 사용하지만, 2개의 상이한 여기 에너지를 사용하여 발광성 마커들을 구별하는 예들이 설명된다. 실시예들은 이하에 설명되는 실시예들에 제한되지 않는다. 예를 들어, 일부 실시예들은 스펙트럼 측정만을 사용하여 발광성 마커들을 식별할 수 있다.

[0367] 임의의 적합한 발광성 마커들이 사용될 수 있다. 일부 실시예들에서, 상업적으로 구할 수 있는 형광단들이 사용될 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 다음의 형광단들이 사용될 수 있다: Atto Rho14("ATRho14"), Dylight 650("D650"), SetaTau 647("ST647"), CF 633("C633"), CF 647("C647"), Alexa fluor 647("AF647"), BODIPY 630/650("B630"), CF 640R("C640R") 및/또는 Atto 647N("AT647N").

[0368] 추가적으로 및/또는 임의적으로, 발광성 마커들은 샘플 분석 프로세스의 속도 및 정확도를 증가시키기 위해 임의의 적합한 방법으로 수정될 수 있다. 예를 들어, 광 안정제가 발광성 마커들에 접합될 수 있다. 광 안정제들의 예들은 산소 스캐빈저(scavenger) 또는 3-상태 퀸처(quencher)를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 발광성 마커에 광 안정제들을 접합하는 것은 방출된 광자들의 속도를 증가시킬 수 있고, 또한 발광성 마커가 광자를 방출하지 않는 "블링킹(blinking)" 효과를 감소시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 생물학적 이벤트가 밀리초 스케일로 발생할 때, 광자 방출의 증가된 속도는 생물학적 이벤트의 검출의 확률을 증가시킬 수 있다. 광자 이벤트의 증가된 속도는 후속하여 발광 신호의 신호 대 잡음비를 증가시킬 수 있고 수명 측정이 이루어지는 속도를 증가시킬 수 있어, 더 빠르고 더 정확한 샘플 분석에 이르게 된다.

[0369] 또한, 통합 디바이스의 샘플 우물 내의 환경은 필요에 따라 마커들의 수명을 엔지니어링하기 위해 조정될 수 있다. 이것은 마커의 수명이 환경을 사용하여 조정될 수 있는 마커의 상태 밀도에 의해 영향을 받는다는 것을 인식함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 마커가 샘플 우물의 바닥 금속층에서 멀어질수록 수명이 길어진다. 따라서, 마커의 수명을 증가시키기 위해, 디봇과 같은 샘플 우물의 바닥 표면의 깊이는 금속층으로부터 특정 거리만큼 연장될 수 있다. 또한, 샘플 우물을 형성하는 데 사용되는 재료들은 마커들의 수명에 영향을 줄 수 있다. 상이한 마커들은 일반적으로 그들의 수명이 동일한 방향으로 변동되지만(예를 들어, 더 길거나 더 짧은), 그 영향은 상이한 마커들에 대해 상이하게 스케일링될 수 있다. 따라서, 자유 공간에서 수명 측정들을 통해 구

별될 수 없는 2개의 마커는 다양한 마커들의 수명을 조정하기 위해 샘플 우물 환경을 제조함으로써 구별 가능하도록 엔지니어링될 수 있다.

[0370] A. 단일 문자 검출 및 서열 분석

이 출원의 일 양태에 따르면, 단일 문자는 복수의 개별 광 펠스에 노출될 때 문자로부터 방출되는 일련의 광자의 하나 이상의 특성에 기초하여 식별될 수 있다(예를 들어, 반응 샘플에서 다른 가능한 문자들과 구별될 수 있다). 일부 실시예들에서, 문자는 발광성 마커로 표지된다. 일부 실시예들에서, 발광성 마커는 형광단이다. 일부 실시예들에서, 발광성 마커는 발광성 마커의 특성에 기초하여 식별되거나 구별될 수 있다. 발광성 표지(예를 들어, 형광단)의 특성들은 발광 수명, 흡수 스펙트럼, 방출 스펙트럼, 발광 양자 수율, 및 발광 강도, 및 이들 중 둘 이상의 조합들을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다.

[0372] 생물학적 샘플은 검출(예를 들어, 서열 분석)에 대비하여 처리될 수 있다. 이러한 처리는 생물학적 샘플로부터 생체 문자(예를 들어, 핵산 문자)의 단리 및/또는 정제(isolation and/or purification), 및 생체 문자의 더 많은 복제들의 생성을 포함할 수 있다. 일부 예들에서, 피험체의 체액 또는 조직으로부터 하나 이상의 핵산 문자가 단리 및 정제되고, 폴리머라제 연쇄 반응(polymerase chain reaction), PCR과 같은 핵산 증폭을 통하여 증폭된다. 그 후, 하나 이상의 핵산 문자 또는 그의 서브유닛들이, 예를 들어 서열 분석을 통하여, 식별될 수 있다. 그러나, 일부 실시예들에서, 핵산 샘플들은 증폭을 요구하는 것 없이 이 출원에서 기술된 바와 같이 평가(예를 들어, 서열 분석)될 수 있다.

[0373] 서열 분석은 템플릿 생체 문자(예를 들어, 핵산 문자)와 상보적인 또는 유사한 또 다른 생체 문자를 합성하는 것에 그 템플릿 생체 문자의 개개의 서브유닛들을 결정하는 것을 포함할 수 있고, 이는 예를 들어 템플릿 핵산 문자와 상보적인 핵산 문자를 합성하고 시간이 지남에 따라 뉴클레오티드들의 통합을 식별하는 것(즉, 합성에 의한 서열 분석)에 의해 이루어진다. 대안으로서, 서열 분석은 생체 문자의 개개의 서브유닛들의 직접 식별을 포함할 수 있다.

[0374] 서열 분석 중에, 중합 효소가 표적 핵산 문자의 프라이밍 위치에 결합(예를 들어, 부착)될 수 있다. 프라이밍 위치는 표적 핵산 문자와 상보적인 프라이머일 수 있다. 대안으로서 프라이밍 위치는 표적 핵산 문자의 이중 가닥 세그먼트 내에 제공되는 갭(gap) 또는 너(nick)이다. 갭 또는 너은 길이가 0 내지 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 또는 40 뉴클레오티드일 수 있다. 너은 이중 가닥 서열의 하나의 가닥에서의 틈(break)을 제공할 수 있고, 이는 예를 들어, 가닥 변위 폴리머라제 효소(strand displacing polymerase enzyme)와 같은, 중합 효소에 대한 프라이밍 위치를 제공할 수 있다.

[0375] 일부 경우에, 샘플 우물과 같은 고형 지지체(solid support)에 고정화될 수 있거나 고정화되지 그렇지 않을 수 있는 표적 핵산 문자에 서열 분석 프라이머가 어닐링될 수 있다. 일부 실시예들에서, 서열 분석 프라이머가 고형 지지체에 고정화될 수 있고 표적 핵산 문자의 혼성화(hybridization)도 표적 핵산 문자를 고형 지지체에 고정화한다. 뉴클레오티드를 프라이머에 부가하거나 통합할 수 있는 효소(예를 들어, 폴리머라제)의 작용을 통해, 뉴클레오티드들이 5' 내지 3', 템플릿 결합 방식(template bound fashion)으로 프라이머에 부가될 수 있다. (예를 들어, 폴리머라제의 작용을 통한) 프라이머로의 뉴클레오티드들의 이러한 통합은 일반적으로 프라이머 연장 반응(primer extension reaction)으로 언급될 수 있다. 각각의 뉴클레오티드는 프라이머에, 따라서, 새로이 합성된 핵산 문자의 서열에 통합된 각각의 뉴클레오티드를 결정하기 위해 검출되고 사용될 수 있는 검출 가능한 태그와 관련될 수 있다. 새로이 합성된 핵산 문자의 서열 상보성을 통해, 표적 핵산 문자의 서열도 결정될 수 있다. 일부 경우에, 서열 분석 프라이머를 표적 핵산 문자에 어닐링하고 뉴클레오티드들을 서열 분석 프라이머에 통합하는 것은 유사한 반응 조건들(예를 들어, 동일한 또는 유사한 반응 온도)에서 또는 상이한 반응 조건들(예를 들어, 상이한 반응 온도들)에서 발생할 수 있다. 또한, 일부 합성에 의한 서열 분석 방법들은 표적 핵산 문자들의 집단(예를 들어, 표적 핵산 문자의 복제들)의 존재 및/또는 표적 핵산들의 집단을 달성하기 위한 표적 핵산의 증폭 단계를 포함할 수 있다.

[0376] 실시예들은 높은 정밀도 및 긴 판독 길이로 단일 핵산 문자들의 서열을 분석할 수 있다. 일부 실시예들에서, 단일 문자 서열 분석에 사용되는 표적 핵산 문자는 샘플 우물의 바닥과 같은 고형 지지체에 고정화되거나 부착된 서열 분석 반응의 적어도 하나의 추가적인 컴포넌트(예를 들어, DNA 폴리머라제, 서열 분석 프라이머와 같은 폴리머라제)를 포함하는 샘플 우물에 부가되거나 고정화되는 단일 가닥 핵산 문자(예를 들어, 데옥시리보핵산(DNA), DNA 유도체들, 리보핵산(RNA), RNA 유도체들) 템플릿이다. 표적 핵산 문자 또는 폴리머라제는 직접 또는 링커를 통하여 샘플 우물에, 예를 들어 샘플 우물의 바닥에 부착될 수 있다. 샘플 우물은 또한 예를 들어 적합한 완충제(buffers), 보조 인자(co-factors), 효소(예를 들어, 폴리머라제)와 같은, 프라이머 연장 반응을

통한 핵산 합성에 필요한 임의의 다른 시약들 및 형광단들과 같은 발광성 태그들을 포함하는, 예를 들어, 데옥시아데노신 트리포스페이트(dATP), 데옥시사이티딘 트리포스페이트(dCTP), 데옥시구아노신 트리포스페이트(dGTP), 데옥시유리딘 트리포스페이트(dUTP) 및 데옥시티미딘 트리포스페이트(dTTP) dNTP들을 포함하는, 데옥시리보뉴클레오시드 트리포스페이트와 같은, 데옥시리보뉴클레오시드 폴리포스페이트를 포함할 수 있다. 각각의 부류의 dNTP들(예를 들어, 아데닌-함유 dNTP들(예를 들어, dATP), 시토신-함유 dNTP들(예를 들어, dCTP), 구아닌-함유 dNTP들(예를 들어, dGTP), 우라실-함유 dNTP들(예를 들어, dUTP들) 및 티민-함유 dNTP들(예를 들어, dTTP))을 별개의 발광성 태그에 접합(conjugate)하여 태그로부터 방출된 광의 검출이 새로이 합성된 핵산에 통합된 dNTP의 아이덴티티를 나타내도록 한다. 발광성 태그로부터의 방출된 광을 본 명세서의 다른 곳에 설명된 검출을 위한 디바이스들 및 방법들을 포함하는, 임의의 적합한 디바이스 및/또는 방법을 통해 검출하여 그것의 적절한 발광성 태그(그리고, 따라서, 관련된 dNTP)의 결과로 볼 수 있다. 발광성 태그는 발광성 태그의 존재가 새로이 합성된 핵산 가닥으로의 dNTP의 통합 또는 폴리머라제의 활성을 억제하지 않는 임의의 위치에서 dNTP에 접합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 발광성 태그는 dNTP의 말단 포스페이트(감마 포스페이트)에 접합된다.

[0377]

단일 가닥 표적 핵산 템플릿을 서열 분석 프라이머, dNTP들, 폴리머라제 및 핵산 합성에 필요한 다른 시약들과 접촉시킬 수 있다. 일부 실시예들에서, 모든 적절한 dNTP들을 단일 가닥 표적 핵산 템플릿과 동시에 접촉시켜(예를 들어, 모든 dNTP들이 동시에 존재한다) dNTP들의 통합이 연속해서 발생할 수 있도록 할 수 있다. 다른 실시예들에서는, dNTP들을 단일 가닥 표적 핵산 템플릿과 순차적으로 접촉시킬 수 있고, 이 경우 단일 가닥 표적 핵산 템플릿은 각각의 적절한 dNTP와 개별적으로 접촉하고, 단일 가닥 표적 핵산 템플릿과 상이한 dNTP들과의 접촉 사이에 세척 공정들이 있다. 단일 가닥 표적 핵산 템플릿을 각각의 dNTP와 개별적으로 접촉시키고 이어서 세척하는 이러한 사이클을 식별될 단일 가닥 표적 핵산 템플릿의 각각의 연속적인 염기 위치에 대해 반복할 수 있다.

[0378]

서열 분석 프라이머는 단일 가닥 표적 핵산 템플릿에 어닐링되고 폴리미라제는 연속적으로 dNTP들(또는 다른 데옥시리보핵산 폴리포스테이트)을 단일 가닥 표적 핵산 템플릿을 통해 프라이머에 통합한다. 각각의 통합된 dNTP와 관련된 고유의 발광성 태그를 프라이머로의 dNTP의 통합 중에 또는 통합 후에 적절한 여기 광으로 여기 시킬 수 있고 그 후 그것의 방출을 본 명세서의 다른 곳에 설명된 검출을 위한 디바이스들 및 방법들을 포함하는, 임의의 적합한 디바이스(들) 및/또는 방법(들)을 이용하여 검출할 수 있다. 광의 특정 방출의 검출은 포함된 특정 dNTP에 기인하는 것으로 볼 수 있다. 그 후 검출된 발광성 태그들의 수집으로부터 획득된 서열은 서열 상보성을 통해 단일 가닥 표적 핵산 템플릿의 서열을 결정하는 데 이용될 수 있다.

[0379]

본 개시 내용은 dNTP들에 대해 언급하지만, 본 명세서에 제공된 디바이스들, 시스템들 및 방법들은 리보뉴클레오티드들 및 데옥시리보뉴클레오티드들(예를 들어, 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 포스페이트 기를 가진 디옥시리보뉴클레오시드 포스페이트들)과 같은, 다양한 유형의 뉴클레오티드들과 함께 이용될 수 있다. 이러한 리보뉴클레오티드들 및 데옥시리보뉴클레오티드들은 다양한 유형의 태그들(또는 마커들) 및 링커들을 포함할 수 있다.

[0380]

뉴클레오시드들의 통합시에 방출된 신호들은 메모리에 저장되고 표적 핵산 템플릿의 서열을 결정하기 위해 나중 시점에 처리될 수 있다. 이것은 통합된 뉴클레오시드들의 아이덴티티들을 시간의 함수로서 결정하기 위해 신호들을 참조 신호들과 비교하는 것을 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 뉴클레오시드의 통합시에 방출된 신호가 수집되고 실시간으로 표적 핵산 템플릿의 서열을 결정하기 위해 실시간으로(즉, 뉴클레오시드 통합시에) 처리될 수 있다.

[0381]

본 명세서의 다른 곳에 설명된 디바이스들에서 흔히 있는 일이지만, 다수의 샘플 우물이 이용 가능한 경우 복수의 단일 가닥 표적 핵산 템플릿의 핵산 서열 분석이 완료될 수 있다. 각각의 샘플 우물에 단일 가닥 표적 핵산 템플릿이 제공될 수 있고 각각의 샘플 우물에서 서열 분석 반응이 완료될 수 있다. 샘플 우물들 각각을 프라이머 연장 반응 중에 핵산 합성에 필요한 적절한 시약들(예를 들어, dNTP, 서열 분석 프라이머, 폴리머라제, 보조 인자, 적절한 완충제, 등등)과 접촉시킬 수 있고 각각의 샘플 우물에서 서열 분석 반응이 처리될 수 있다. 일부 실시예들에서, 다수의 샘플 우물들을 모든 적절한 dNTP들과 동시에 접촉시킨다. 다른 실시예들에서는, 다수의 샘플 우물들을 각각의 적절한 dNTP와 개별적으로 접촉시키고 상이한 dNTP들과의 접촉 사이에 각각을 세척한다. 통합된 dNTP들이 각각의 샘플 우물에서 검출될 수 있고 위에 설명된 바와 같이 각각의 샘플 우물에서 단일 가닥 표적 핵산 템플릿에 대한 서열이 결정될 수 있다.

[0382]

단일 분자 RNA 서열 분석에 관한 실시예들은 RNA 템플릿으로부터 상보적인 DNA(cDNA)를 합성할 수 있는 임의의 역전사효소(reverse transcriptase)를 이용할 수 있다. 이러한 실시예들에서, 역전사효소는 RNA 템플릿에 어닐

링된 역전사 프라이머로의 dNTP들의 통합을 통해 RNA 템플릿으로부터 cDNA가 합성될 수 있다는 점에서 폴리머라제와 유사한 방식으로 기능할 수 있다. 그 후 cDNA는 서열 분석 반응에 참여할 수 있고 그의 서열이 위에 설명된 바와 같이 결정될 수 있다. cDNA의 결정된 서열은 그 후, 서열 상보성을 통해, 원래 RNA 템플릿의 서열을 결정하는 데 이용될 수 있다. 역전사효소들의 예들은 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(Moloney Murine Leukemia Virus)(M-MLV) 역전사효소, 조류 골수모구증 바이러스(avian myeloblastosis virus)(AMV) 역전사효소, 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus) 역전사효소(HIV-1) 및 텔로머라제(telomerase) 역전사효소를 포함한다.

[0383]

서열 판독들은 피험체의 게놈의 더 긴 영역을 재구성하기 위해 이용될 수 있다(예를 들어, 정렬에 의해). 판독들은 염색체 영역들, 전체 염색체들, 또는 전체 게놈을 재구성하기 위해 이용될 수 있다. 서열 판독들 또는 이러한 판독들로부터 생성된 더 큰 서열은 피험체의 게놈을 분석하기 위해, 예를 들어 변이체들 또는 다형성(polymorphism)들을 식별하기 위해 이용될 수 있다. 변이체들의 예들은 텐덤(tandem) 단일 뉴클레오티드 다형성(single nucleotide polymorphism)(SNP)들을 포함하는 SNP들, 인델(indels) 또는 결실 삽입 다형성(deletion insertion polymorphisms) 또는 DIP들로도 언급되는, 소규모 다중-염기 결실들 또는 삽입들, 다중-뉴클레오티드 다형성(Multi-Nucleotide Polymorphism)(MNP)들, STR(Short Tandem Repeat)들, 마이크로결실(microdeletions)을 포함하는, 결실들, 마이크로삽입(microinsertions)을 포함하는, 삽입들, 중복(duplications), 역위(inversions), 전위(translocations), 증식(multiplications), 복합 멀티사이트 변이체(complex multi-site variants), 복제수 변이(copy number variations)(CNV)를 포함하는 구조적 변이들을 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다. 게놈 서열들은 변이체들의 조합들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 게놈 서열들은 하나 이상의 SNP 및 하나 이상의 CNV의 조합을 포괄할 수 있다.

[0384]

일부 실시예들에서, 분자는 발광 수명에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 강도에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 방출된 광자를 관측하는 데 필요한 전달된 여기 에너지의 파장에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 방출된 광자의 파장에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 수명 및 방출된 광자를 관측하는 데 필요한 전달된 여기 에너지의 파장 둘 다에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 강도 및 방출 광자를 관측하는 데 필요한 전달된 여기 에너지의 파장 둘 다에 기초하여 식별 또는 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 수명, 발광 강도, 및 방출된 광자를 관측하는 데 필요한 전달된 여기 에너지의 파장에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 수명 및 방출된 광자의 파장 둘 다에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 강도 및 방출된 광자의 파장 둘 다에 기초하여 식별되거나 구별된다. 일부 실시예들에서, 분자는 발광 수명, 발광 강도, 및 방출된 광자의 파장에 기초하여 식별되거나 구별된다.

[0385]

특정 실시예들에서, 반응 혼합물 또는 실험에서 상이한 유형의 분자는 상이한 발광성 마커로 표지된다. 일부 실시예들에서, 상이한 마커는 구별될 수 있는 상이한 발광 특성을 갖는다. 일부 실시예들에서, 상이한 마커는 상이한 발광 수명, 상이한 발광 강도, 방출된 광자의 상이한 파장, 또는 이들의 조합을 가짐으로써 구별된다. 상이한 발광성 마커를 갖는 복수의 유형의 분자의 존재는 복잡한 반응의 상이한 단계가 모니터링되거나 복잡한 반응 생성물의 상이한 성분이 식별되는 것을 가능하게 할 수 있다. 일부 실시예들에서, 상이한 유형의 분자가 반응하거나 상호 작용하는 순서를 결정할 수 있다.

[0386]

특정 실시예들에서, 상이한 발광성 마커를 갖는 복수의 유형의 분자의 발광 특성은 핵산 또는 단백질과 같은 생체 분자의 서열을 식별하는 데 사용된다. 일부 실시예들에서, 상이한 발광성 마커를 갖는 복수의 유형의 분자의 발광 특성은 생체 분자의 합성 중에 포함되는 단일 분자를 식별하기 위해 사용된다. 일부 실시예들에서, 상이한 발광성 마커를 갖는 복수의 유형의 뉴클레오티드의 발광 특성은 서열 분석 반응 동안 포함되는 단일 뉴클레오티드를 식별하는 데 사용된다. 일부 실시예들에서, 본원에서 설명되는 방법, 조성물 및 디바이스를 사용하여, 폴리머라제 효소에 의해 합성된 템플릿 의존 핵산 서열 분석 반응물에 포함된 일련의 뉴클레오티드를 식별할 수 있다.

[0387]

특정 실시예들에서, 템플릿 의존 핵산 서열 분석 제품은 자연 발생 핵산 폴리머라제에 의해 달성된다. 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 자연 발생 폴리머라제의 돌연변이 또는 변형된 변체이다. 일부 실시예들에서, 템플릿 의존 핵산 서열 제품은 템플릿 핵산 가닥을 보완하는 하나 이상의 뉴클레오티드 세그먼트를 포함할 것이다. 일 양태에서, 본 출원은 템플릿(또는 표적) 핵산 가닥의 보완 핵산 가닥의 서열을 결정함으로써 그의 서열을 결정하는 방법을 제공한다.

- [0388] 또 다른 양태에서, 본 출원은 복수의 핵산 프래그먼트를 서열 분석함으로써 표적 핵산을 서열 분석하는 방법을 제공하며, 표적 핵산은 프래그먼트를 포함한다. 특정 실시예들에서, 방법은 부모 표적 핵산에 대한 서열 또는 부분 서열을 제공하기 위해 복수의 프래그먼트 서열을 조합하는 단계를 포함한다. 일부 실시예들에서, 조합 단계는 컴퓨터 하드웨어 및 소프트웨어에 의해 수행된다. 본 명세서에 기술된 방법은 전체 염색체 또는 게놈과 같은 관련된 표적 핵산의 세트의 서열을 분석할 수 있게 한다.
- [0389] "게놈"이란 용어는 일반적으로 유기체의 유전 정보 전체를 지칭한다. 게놈은 DNA 또는 RNA 내에 인코딩될 수 있다. 게놈은 단백질을 코딩하는 코딩 영역들뿐만 아니라, 비코딩 영역들도 포함할 수 있다. 게놈은 유기체 내에 모든 염색체의 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 인간 게놈은 총 46개의 염색체를 갖는다. 이를 모두의 서열은 함께 인간 게놈을 구성한다. 일부 실시예들에서, 전체 게놈의 서열이 결정된다. 그러나, 일부 실시 예들에서, 게놈의 서브세트(예를 들어, 하나 또는 소수의 염색체 또는 그의 영역) 또는 하나 또는 소수의 유전자(또는 그의 프래그먼트)에 대한 서열 정보는 진단, 예후 및/또는 치료에 응용에 충분하다.
- [0390] 일부 경우에, 서열 분석 프라이머는 샘플 우물(예를 들어, 나노 개구)과 같은 단단한 지지체에 고정되거나 고정되지 않을 수 있는 표적 핵산 문자로 어닐링될 수 있다. 일부 실시예들에서, 서열 분석 프라이머는 단단한 지지체에 고정될 수 있고, 표적 핵산 문자의 혼성화는 또한 표적 핵산 문자를 단단한 지지체에 고정한다. 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 단단한 지지체에 고정되고, 가용성 프라이머 및 표적 핵산은 폴리머라제에 접촉된다. 그러나, 일부 실시예들에서, 폴리머라제, 표적 핵산 및 프라이머를 포함하는 복합체가 용액 중에 형성되고, 복합체는 (예를 들어, 폴리머라제, 프라이머 및/또는 표적 핵산의 고정을 통해) 단단한 지지체에 고정된다.
- [0391] 적절한 조건 하에서, 어닐링된 프라이머/표적 핵산에 접촉되는 폴리머라제 효소는 프라이머 상에 하나 이상의 뉴클레오티드를 첨가하거나 포함할 수 있고, 뉴클레오티드는 5' 내지 3' 템플릿 결합 방식으로 프라이머에 첨가될 수 있다. (예를 들어, 폴리머라제의 작용을 통한) 프라이머 상으로의 뉴클레오티드의 이러한 포함은 일반적으로 프라이머 연장 반응으로 지칭될 수 있다. 각각의 뉴클레오티드는 (예를 들어, 그의 발광 수명, 방출 스펙트럼, 흡수 스펙트럼 및/또는 다른 특성에 기초하여) 검출 및 식별될 수 있고 프라이머에 포함된 각각의 뉴클레오티드, 따라서 새로 합성된 핵산 문자의 서열을 결정하는데 사용될 수 있는 검출 가능한 태그와 관련될 수 있다. 새로 합성된 핵산 문자의 서열 상보성을 통해 표적 핵산 문자의 서열을 결정할 수도 있다. 일부 실시예들에서, 합성 방법에 의한 서열 분석은 표적 핵산 문자의 모집단(예를 들어, 표적 핵산의 복제)의 존재 및/또는 표적 핵산의 모집단을 달성하기 위한 표적 핵산의 증폭 단계를 포함할 수 있다. 그러나, 일부 실시예들에서, 합성에 의한 서열 분석은 평가되는 각각의 반응에서 단일 문자의 서열을 결정하는데 사용된다(그리고 핵산 증폭은 서열 분석을 위한 표적 템플릿을 준비하는 데 필요하지 않다). 일부 실시예들에서, 복수의 단일 문자 서열 분석 반응이 본 출원의 양태에 따라 (예를 들어, 단일 통합 디바이스 또는 칩 상에서) 병렬로 수행된다.
- [0392] 실시예들은 적어도 약 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.9%, 99.99%, 99.999% 또는 99.9999%의 정확도와 같은 높은 정확도 및 긴 판독 길이 및 약 10 염기 쌍(bp), 50 bp, 100 bp, 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 1000 bp, 10,000 bp, 20,000 bp, 30,000 bp, 40,000 bp, 50,000 bp 또는 100,000 bp 이상의 판독 길이를 갖는 단일 핵산 문자를 서열 분석할 수 있다.
- [0393] 표적 핵산 문자 또는 폴리머라제는 샘플 벽, 예로서 샘플 우물의 바닥에 직접 또는 링커를 통해 부착될 수 있다. 샘플 우물(예를 들어, 나노 개구)은 또한, 예를 들어 적당한 버퍼, 보조 인자, 효소(예를 들어, 폴리머라제)와 같은, 프라이머 연장 반응을 통한 핵산 합성에 필요한 임의의 다른 시약들 및 형광단들과 같은 발광성 태그들을 포함하는, 예를 들어, 데옥시아데노신 트리포스페이트(dATP), 데옥시사이티딘 트리포스페이트(dCTP), 데옥시구아노신 트리포스페이트(dGTP), 데옥시유리딘 트리포스페이트(dUTP) 및 데옥시티미딘 트리포스페이트(dTTP) dNTP들을 포함하는, 데옥시리보뉴클레오시드 트리포스페이트와 같은, 데옥시리보뉴클레오시드 폴리포스페이트를 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 각각의 부류의 dNTP들(예를 들어, 아데닌-함유 dNTP들(예를 들어, dATP), 시토신-함유 dNTP들(예를 들어, dCTP), 구아닌-함유 dNTP들(예를 들어, dGTP), 우라실-함유 dNTP들(예를 들어, dUTP들) 및 티민-함유 dNTP들(예를 들어, dTTP))을 별개의 발광성 태그에 접합(conjugate)하여 태그로부터 방출된 광의 검출이 새로 합성된 핵산에 포함된 dNTP의 식별을 나타내도록 한다. 발광성 태그로부터의 방출된 광을 본 명세서의 다른 곳에 설명된 검출을 위한 디바이스들 및 방법들을 포함하는, 임의의 적합한 디바이스 및/또는 방법을 통해 검출하여 그것의 적절한 발광성 태그(따라서, 관련된 dNTP)의 결과로 볼 수 있다. 발광성 태그는 발광성 태그의 존재가 새로 합성된 핵산 가닥으로의 dNTP의 통합 또는 폴리머라제의 활성을 억제하지 않는 임의의 위치에서 dNTP에 접합될 수 있다. 일부 실시예들에서, 발광성 태그는 dNTP의 말단 포

스페이트(감마 포스페이트)에 접합된다.

[0394]

일부 실시예들에서, 서열 분석 프라이머는 단일 가닥 표적 핵산 템플릿에 어닐링되고, 폴리머라제는 연속적으로 dNTP들(또는 다른 데옥시리보핵산 폴리포스테이트)을 단일 가닥 표적 핵산 템플릿을 통해 프라이머에 통합한다. 각각의 통합된 dNTP와 관련된 고유 발광성 태그를 프라이머로의 dNTP의 통합 중에 또는 통합 후에 적절한 여기광으로 여기시킬 수 있고, 이어서 그것의 방출을 본 명세서의 다른 곳에 설명된 검출을 위한 디바이스들 및 방법들을 포함하는, 임의의 적합한 디바이스(들) 및/또는 방법(들)을 이용하여 검출할 수 있다. (예를 들어, 특정 방출 수명, 강도 및/또는 이들의 조합을 갖는) 광의 특정 방출의 검출은 포함된 특정 dNTP에 기인할 수 있다. 이어서, 검출된 발광성 태그들의 수집으로부터 획득된 서열은 서열 상보성을 통해 단일 가닥 표적 핵산 템플릿의 서열을 결정하는 데 이용될 수 있다.

[0395]

본 개시 내용은 dNTP들에 대해 언급하지만, 본 명세서에 제공된 디바이스들, 시스템들 및 방법들은 리보뉴클레오티드들 및 데옥시리보뉴클레오티드들(예를 들어, 적어도 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 포스페이트 기를 가진 디옥시리보뉴클레오티드 포스페이트들)과 같은, 다양한 유형의 뉴클레오티드들과 함께 이용될 수 있다. 이러한 리보뉴클레오티드들 및 데옥시리보뉴클레오티드들은 다양한 유형의 태그들(또는 마커들) 및 링커들을 포함할 수 있다.

[0396]

일례로서, 도 10a는 단일 문자 핵산 서열 분석 방법의 설정을 개략적으로 도시한다. 이 예는 어떤 식으로도 본 발명을 제한하려는 것이 아니다. 610은 핵산 폴리머라제(601), 서열 분석될 표적 핵산(602), 및 프라이머(604)를 포함하는 단일 복합체를 함유하도록 구성된 샘플 우물(예를 들어, 나노 개구)이다. 이 예에서, 샘플 우물(610)의 하부 영역이 표적 체적(620)으로서 도시된다. 도 10a에서, 폴리머라제(601)를 포함하는 복합체는 표적 체적(620) 내에 한정된다. 복합체는 임의적으로 샘플 우물 표면에의 부착에 의해 고정될 수 있다. 이 예에서, 복합체는 폴리머라제(601)에 링커를 부착시키기에 적합한 하나 이상의 생체 분자(예를 들어, 비오틴)를 포함하는 링커(603)에 의해 고정된다.

[0397]

샘플 우물의 체적은 또한 폴리머라제 복합체가 핵산 가닥을 합성하는 데 필요한 적절한 용매, 베퍼 및 다른 첨가제를 갖는 반응 혼합물을 함유한다. 반응 혼합물은 또한 발광 표지된 뉴클레오티드의 복수의 유형을 함유한다. 각각의 유형의 뉴클레오티드는 심별 *-A, @-T, \$-G, #-C에 의해 표시되고, 여기서 A, T, G 및 C는 뉴클레오티드 염기를 나타내고, 심별 *, @, \$ 및 #은 링커 -를 통해 각각의 뉴클레오티드에 부착된 고유 발광성 표지 을 나타낸다. 도 10a에서, #-C 뉴클레오티드는 현재 보완 가닥(602)에 통합되어 있다. 통합된 뉴클레오티드는 표적 체적(620) 내에 위치한다.

[0398]

도 10a는 또한 표적 체적의 부근으로 전달되는 여기 에너지 및 검출기를 향해 방출되는 발광의 개념을 화살표로 나타낸다. 화살표는 개략적이며, 여기 에너지 전달 또는 발광의 특정 배향을 나타내는 것을 의미하지 않는다. 일부 빌광은 (예를 들어, 샘플 우물의 측벽을 향해) 검출기로 향하지 않는 백터 상에서 방출될 수 있고, 검출되지 않을 수 있다.

[0399]

도 10b는 시간 경과에 따른 단일 샘플 우물에서의 서열 분석 프로세스를 개략적으로 도시한다. 스테이지 A 내지 D는 도 10a에서와 같은 폴리머라제 복합체를 갖는 샘플 우물을 묘사한다. 스테이지 A는 임의의 뉴클레오티드가 프라이머에 첨가되기 전의 초기 상태를 나타낸다. 스테이지 B는 발광 표지된 뉴클레오티드(#-C)의 통합 이벤트를 나타낸다. 스테이지 C는 통합 이벤트 간의 기간을 나타낸다. 이 예에서, 뉴클레오티드 C가 프라이머에 첨가되고, 발광 표지된 뉴클레오티드(#-C)에 이전에 부착된 표지 및 링커가 절단되었다. 스테이지 D는 발광 표지된 뉴클레오티드(*-A)의 제2 통합 이벤트를 나타낸다. 스테이지 D 이후의 보완 가닥은 프라이머, C 뉴클레오티드 및 A 뉴클레오티드로 구성된다.

[0400]

스테이지 A 및 스테이지 C 양자는 통합 이벤트 전 또는 그 사이의 기간을 나타내며, 이 예에서 약 10밀리초 동안 지속되는 것으로 지시된다. 스테이지 A 및 스테이지 C에서, 뉴클레오티드가 통합되지 않기 때문에, 발광 표지된 뉴클레오티드가 표적 체적(도 10b에 도시되지 않음)에 존재하지 않지만, 통합되지 않은 발광 표지된 뉴클레오티드로부터 배경 발광 또는 가짜 발광이 검출될 수 있다. 스테이지 B 및 D는 상이한 뉴클레오티드(#-C 및 *-A)의 통합 이벤트를 나타낸다. 이 예에서 이러한 이벤트는 약 10밀리초 동안 지속되는 것으로 지시된다.

[0401]

"원시 빈 데이터"로 표지된 행은 각각의 스테이지 동안 생성된 데이터를 나타낸다. 예시적인 실험을 통해, 복수의 광 펄스가 표적 체적의 부근으로 전달된다. 각각의 펄스에 대해, 검출기는 검출기에 의해 수신된 임의의 발광된 광자를 기록하고, 검출된 광자를 여기 에너지의 최종 펄스 이후의 지속기간에 기초하여 시간 빈에 할당하도록 구성된다. 이 예에서는 3개의 빈이 있으며, "원시 빈 데이터"는 최단, 중간 및 최장 빈에 각각 대응하

는 1(가장 짧은 바), 2(중간 바) 또는 3(가장 긴 바)의 값을 기록한다. 각각의 바는 방출된 광자의 검출을 나타낸다.

[0402] 스테이지 A 또는 C에서 표적 체적에 발광 표지된 뉴클레오티드가 없으므로, 검출된 광자는 없다. 스테이지 B 및 D 각각에 대해, 복수의 발광이 통합 이벤트 중에 검출된다. 발광성 표지 #는 발광성 표지 *보다 발광 수명이 짧다. 따라서, 스테이지 B 데이터는 빈 값이 더 높은 스테이지 D보다 낮은 평균 빈 값을 기록한 것으로 도시된다.

[0403] "처리된 데이터"로 표지된 행은 각각의 펠스에 대한 시간에 방출된 광자의 수(카운트)를 나타내기 위해 처리된 원시 데이터를 나타낸다. 이 예에서 데이터는 발광 수명을 결정하기 위해서만 처리되지만, 데이터는 또한 발광 강도 또는 흡수 또는 방출된 광자의 파장과 같은 다른 발광 특성에 대해 평가될 수 있다. 예시적인 처리된 데이터는 표적 체적 내의 발광성 마커의 발광 수명에 대한 지수 함수적 감쇠 곡선 특성을 근사화한다. 발광성 표지 #는 발광성 표지 *보다 짧은 발광 수명을 갖기 때문에, 스테이지 B에 대한 처리된 데이터는 더 긴 시간 지속 기간에서 더 적은 카운트를 갖는 반면, 스테이지 D에 대한 처리된 데이터는 더 긴 시간 지속 기간에서 상대적으로 더 많은 카운트를 갖는다.

[0404] 도 10b의 예시적인 실험은 보완 가닥에 첨가된 처음 두 개의 뉴클레오티드를 CA로 식별할 것이다. DNA에 있어서, 프라이머로 어닐링된 영역 직후의 표적 가닥의 서열은 따라서 GT로 식별될 것이다. 이 예에서, 뉴클레오티드 C 및 A는 발광 수명에만 기초하여 복수의 C, G, T 및 A와 구별될 수 있다. 일부 실시예들에서, 흡수된 또는 방출된 광자의 발광 강도 또는 파장과 같은 다른 특성이 하나 이상의 특정 뉴클레오티드를 구별하는 데 필요할 수 있다.

B. 발광 특성

[0406] 본 명세서에 기술된 바와 같이, 발광 분자는 하나 이상의 광자를 흡수하고, 이어서 하나 이상의 시간 지속 기간 후에 하나 이상의 광자를 방출할 수 있는 분자이다. 분자의 발광은 발광 수명, 흡수 및/또는 방출 스펙트럼, 발광 양자 수율 및 발광 강도를 포함하나 이에 한정되지 않는 여러 파라미터에 의해 기술된다.

[0407] 발광 방출 이벤트에서 방출된 광자는 가능한 파장의 스펙트럼 범위 내의 파장에서 방출된다. 전형적으로, 방출된 광자는 여기 광자의 파장에 비해 더 긴 파장을 갖는다(예를 들어, 보다 적은 에너지를 갖거나 적색으로 시프트된다). 특정 실시예들에서, 방출된 광자의 파장을 측정함으로써 분자가 식별된다. 특정 실시예들에서, 분자는 복수의 방출된 광자의 파장을 측정함으로써 식별된다. 특정 실시예들에서, 분자는 방출 스펙트럼을 측정함으로써 식별된다.

[0408] 발광 수명은 여기 이벤트 및 방출 이벤트와 관련된 지속 기간(예를 들어, 방출 감쇠 시간)을 지칭한다. 일부 실시예들에서, 발광 수명은 지수 감쇠 방정식의 상수로서 표현된다. 일부 실시예들에서, 여기 에너지를 전달하는 하나 이상의 펠스 이벤트가 존재하는 경우, 지속 기간은 펠스와 후속 방출 이벤트 사이의 시간이다.

[0409] 발광 양자 수율은 주어진 파장에서 또는 방출 이벤트를 유도하는 주어진 스펙트럼 범위 내에서의 여기 이벤트의 분율을 지칭하며 전형적으로 1 미만이다. 일부 실시예들에서, 본원에 기재된 분자의 발광 양자 수율은 0과 약 0.001 사이, 약 0.001과 약 0.01 사이, 약 0.01과 약 0.1 사이, 약 0.1과 약 0.5 사이, 약 0.5와 0.9 사이, 또는 약 0.9와 1 사이이다. 일부 실시예들에서, 발광 양자 수율을 결정 또는 추정함으로써 분자가 식별된다.

[0410] 본 명세서에서 단일 분자에 대한 사용되는 바와 같이, 발광 강도는 펠스 여기 에너지의 전달에 의해 여기되는 분자에 의해 방출되는 단위 시간당 방출 광자의 수를 지칭한다. 일부 실시예들에서, 발광 강도는 펠스 여기 에너지의 전달에 의해 여기되는 분자에 의해 방출되고 특정 센서 또는 센서 세트에 의해 검출되는 단위 시간당 방출된 광자의 검출된 수를 나타낸다.

[0411] 일 양태에서, 본 출원은 단일 발광 분자의 발광 수명을 결정하는 방법을 제공하며, 방법은 발광 분자를 표적 체적 내에 제공하는 단계; 표적 체적의 부근에 여기 에너지의 복수의 펠스를 전달하는 단계; 및 발광 분자로부터 복수의 발광을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시예들에서, 방법은 각각의 펠스 쌍과 발광 사이의 복수의 시간 지속 기간을 기록하는 단계 및 각각의 펠스 쌍과 발광 사이의 복수의 시간 지속 기간의 분포를 평가하는 단계를 더 포함한다.

C. 발광 표지된 뉴클레오티드

[0413] 일 양태에서, 본 명세서에 기술된 방법 및 조성물은 하나 이상의 발광 표지된 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시예들에서, 하나 이상의 뉴클레오티드는 디옥시리보스 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 모든

뉴클레오티드는 디옥시리보스 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 실시예들에서, 하나 이상의 뉴클레오티드는 리보스 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 모든 뉴클레오티드는 리보스 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 뉴클레오티드는 변형된 리보스 당 또는 리보스 유사체(예를 들어, 고정된 핵산)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 뉴클레오티드는 자연 발생 염기(예를 들어, 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민, 우라실)를 포함한다. 일부 실시예들에서, 하나 이상의 뉴클레오티드는 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민 또는 우라실의 유도체 또는 유사체를 포함한다.

[0414] 특정 실시예들에서, 방법은 폴리머라제 복합체를 복수의 발광 표지된 뉴클레오티드에 노출시키는 단계를 포함한다. 특정 실시예들에서, 조성물 또는 디바이스는 복수의 발광 표지된 뉴클레오티드를 포함하는 반응 혼합물을 포함한다. 일부 실시예들에서, 복수의 뉴클레오티드는 4가지 유형의 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 4가지 유형의 뉴클레오티드는 각각 시토신, 구아닌, 아데닌 및 티민 중 하나를 포함한다. 일부 실시예들에서, 4가지 유형의 뉴클레오티드는 각각 시토신, 구아닌, 아데닌 및 우라실 중 하나를 포함한다.

[0415] 본 명세서에서 사용된 용어 "핵산"은 일반적으로 하나 이상의 핵산 서브유닛을 포함하는 분자를 지칭한다. 핵산은 아데노신(A), 시토신(C), 구아닌(G), 티민(T) 및 우라실(U) 또는 이들의 변체로부터 선택된 하나 이상의 서브유닛을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 핵산은 디옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA) 또는 이들의 유도체이다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥을 가질 수 있다. 핵산은 원형일 수 있다.

[0416] 본 명세서에서 사용된 용어 "뉴클레오티드"는 일반적으로 A, C, G, T 또는 U, 또는 그들의 변체 또는 유사체를 포함할 수 있는 핵산 서브유닛을 지칭한다. 뉴클레오티드는 성장하는 핵산 가닥에 포함될 수 있는 임의의 서브유닛을 포함할 수 있다. 이러한 서브유닛은 A, C, G, T 또는 U, 또는 하나 이상의 보완 A, C, G, T 또는 U에 고유하거나 퓨린(즉, A 또는 G, 또는 그 변체 또는 유사체) 또는 피리미딘(즉, C, T 또는 U 또는 이들의 변체 또는 유사체)에 상보적인 임의의 다른 서브유닛일 수 있다. 서브유닛은 개별 핵산 염기 또는 염기 기(예를 들어, AA, TA, AT, GC, CG, CT, TC, GT, TG, AC, CA 또는 그의 우라실 대응물)을 분해할 수 있게 한다.

[0417] 뉴클레오티드는 일반적으로 뉴클레오시드 및 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 이상의 포스페이트(P03) 기를 포함한다. 뉴클레오티드는 핵 염기, 5탄당(리보스 또는 디옥시리보스) 및 하나 이상의 포스페이트 그룹을 포함할 수 있다. 리보뉴클레오티드는 당이 리보스인 뉴클레오티드이다. 디옥시리보뉴클레오티드는 당이 디옥시리보스인 뉴클레오티드이다. 뉴클레오티드는 뉴클레오시드 모노포스페이트 또는 뉴클레오시드 폴리포스페이트일 수 있다. 뉴클레오티드는 발광성 태그들 또는 마커들과 같은 검출 가능한 태그들(예를 들어, 형광단들)을 포함하는, 예를 들어, 데옥시아데노신 트리포스페이트(dATP), 데옥시사이티딘 트리포스페이트(dCTP), 데옥시구아노신 트리포스페이트(dGTP), 데옥시유리딘 트리포스페이트(dUTP) 및 데옥시티미딘 트리포스페이트(dTTP) dNTP 들로부터 선택될 수 있는, 데옥시리보뉴클레오시드 트리포스페이트와 같은, 데옥시리보뉴클레오시드 폴리포스페이트일 수 있다.

[0418] 뉴클레오시드 포스페이트는 'n' 개의 포스페이트 기를 가질 수 있고, 여기서 'n'은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 이상인 수이다. 뉴클레오시드 포스페이트들의 예들은 뉴클레오시드 디포스페이트 또는 뉴클레오시드 트리포스페이트를 포함한다. 뉴클레오티드는 뉴클레오시드 트리포스페이트로 표지된 말단 포스페이트와 같은, 뉴클레오시드로 표지된 말단 포스페이트일 수 있다. 이러한 표지는 발광성(예를 들어, 형광성 또는 화학 발광성) 표지, 형광원성(fluorogenic) 표지, 착색 표지, 발색원성(chromogenic) 표지, 질량 태그(mass tag), 정전기 표지, 또는 전기 화학 표지일 수 있다. 표지(또는 마커)는 링커를 통하여 말단 포스페이트에 결합될 수 있다. 링커는, 예를 들어, 포스페이트 에스테르, 티오에스테르, 포스포르아미데이트 또는 알킬 포스포네이트 연결을 천연 또는 변형된 뉴클레오티드의 말단 포스페이트에 형성하기에 적합할 수 있는, 예를 들어, 적어도 하나의 또는 복수의 히드록실 기, 술포히드릴 기, 아미노 기 또는 할로알킬 기를 포함할 수 있다. 링커는, 예를 들어 폴리머라제의 도움을 받아, 말단 포스페이트에서 표지를 분리시키도록 절단 가능할 수 있다. 뉴클레오티드들 및 링커들의 예들은, 본 명세서에 참고로 완전히 포함되는, 미국 특허 제7,041,812호에서 제공된다.

[0419] D. 표지

[0420] 특정 실시예들에서, 통합된 분자는 예를 들어, 별개의 발광성 마커의 부착이 없는 발광 분자이다. 일반적인 뉴클레오티드와 아미노산은 발광하지 않거나 여기 및 방출 에너지의 적절한 범위 내에서 발광하지 않는다. 특정 실시예들에서, 통합된 분자는 발광성 마커를 포함한다. 특정 실시예들에서, 통합된 분자는 발광 표지된 뉴클레오티드이다. 특정 실시예들에서, 통합된 분자는 발광 표지된 아미노산 또는 발광 표지된 tRNA이다. 일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드는 뉴클레오티드 및 발광성 마커를 포함한다. 일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드는 뉴클레오티드, 발광성 마커 및 링커를 포함한다. 일부 실시예들에서, 발광성 마커는 형광

단이다.

[0421] 뉴클레오티드 서열 분석을 위해, 발광 표지된 뉴클레오티드의 특정 조합이 바람직할 수 있다. 일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드 중 하나 이상은 시아닌 염료 또는 그의 유사체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 적어도 하나의 발광 표지된 뉴클레오티드는 로다민 염료 또는 그의 유사체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드 중 적어도 하나는 시아닌 염료 또는 그의 유사체를 포함하고, 적어도 하나의 발광 표지된 뉴클레오티드는 로다민 염료 또는 그의 유사체를 포함한다.

[0422] 특정 실시예들에서, 발광성 마커는 표 FL-1로부터 선택된 염료이다. 표 FL-1에 열거된 염료는 비제한적이며, 본 출원의 발광성 마커는 표 FL-1에 열거되지 않은 염료를 포함할 수 있다. 특정 실시예들에서, 하나 이상의 발광 표지된 뉴클레오티드의 발광성 마커는 표 FL-1로부터 선택된다. 특정 실시예들에서, 4개 이상의 발광 표지된 뉴클레오티드의 발광성 마커는 표 FL-1로부터 선택된다.

[0423] 표 FL-1. 예시적인 형광단

형광단			
5/6-Carboxyrhodamine 6G	CF532	DyLight 747-B3	Dyomics-781
5-Carboxyrhodamine 6G	CF543	DyLight 747-B4	Dyomics-782
6-Carboxyrhodamine 6G	CF546	DyLight 755	Dyomics-800
6-TAMRA	CF555	DyLight 766Q	Dyomics-831
Abberior Star 440SXP	CF568	DyLight 775-B2	eFluor 450
Abberior Star 470SXP	CF594	DyLight 775-B3	Eosin
Abberior Star 488	CF620R	DyLight 775-B4	FITC
Abberior Star 512	CF633	DyLight 780-B1	Fluorescein
Abberior Star 520SXP	CF633-V1	DyLight 780-B2	HiLyte Fluor 405
Abberior Star 580	CF640R	DyLight 780-B3	HiLyte Fluor 488
Abberior Star 600	CF640R-V1	DyLight 800	HiLyte Fluor 532
Abberior Star 635	CF640R-V2	DyLight 830-B2	HiLyte Fluor 555
Abberior Star 635P	CF660C	Dyomics-350	HiLyte Fluor 594
Abberior Star RED	CF660R	Dyomics-350XL	HiLyte Fluor 647
Alexa Fluor 350	CF680	Dyomics-360XL	HiLyte Fluor 680
Alexa Fluor 405	CF680R	Dyomics-370XL	HiLyte Fluor 750
Alexa Fluor 430	CF680R-V1	Dyomics-375XL	IRDye 680LT
Alexa Fluor 480	CF750	Dyomics-380XL	IRDye 750
Alexa Fluor 488	CF770	Dyomics-390XL	IRDye 800CW
Alexa Fluor 514	CF790	Dyomics-405	JOE
Alexa Fluor 532	Chromo 642	Dyomics-415	LightCycler 640R
Alexa Fluor 546	Chromis 425N	Dyomics-430	LightCycler Red 610
Alexa Fluor 555	Chromis 500N	Dyomics-431	LightCycler Red 640
Alexa Fluor 568	Chromis 515N	Dyomics-478	LightCycler Red 670
Alexa Fluor 594	Chromis 530N	Dyomics-480XL	LightCycler Red 705
Alexa Fluor 610-X	Chromis 550A	Dyomics-481XL	Lissamine Rhodamine B
Alexa Fluor 633	Chromis 550C	Dyomics-485XL	Naphthofluorescein
Alexa Fluor 647	Chromis 550Z	Dyomics-490	Oregon Green 488
Alexa Fluor 660	Chromis 560N	Dyomics-495	Oregon Green 514
Alexa Fluor 680	Chromis 570N	Dyomics-505	Pacific Blue
Alexa Fluor 700	Chromis 577N	Dyomics-510XL	Pacific Green
Alexa Fluor 750	Chromis 600N	Dyomics-511XL	Pacific Orange
Alexa Fluor 790	Chromis 630N	Dyomics-520XL	PET
AMCA	Chromis 645A	Dyomics-521XL	PF350
ATTO 390	Chromis 645C	Dyomics-530	PF405
ATTO 425	Chromis 645Z	Dyomics-547	PF415
ATTO 465	Chromis 678A	Dyomics-547P1	PF488
ATTO 488	Chromis 678C	Dyomics-548	PF505
ATTO 495	Chromis 678Z	Dyomics-549	PF532
ATTO 514	Chromis 770A	Dyomics-549P1	PF546

[0424]

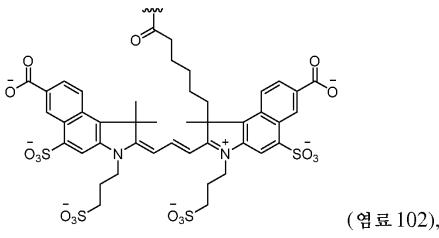
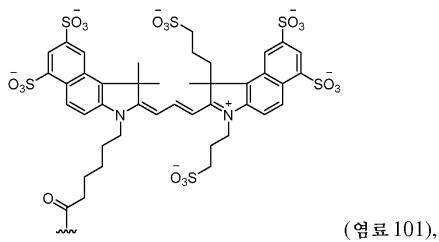
영광단들			
ATTO 520	Chromis 770C	Dyomics-550	PF555P
ATTO 532	Chromis 800A	Dyomics-554	PF568
ATTO 542	Chromis 800C	Dyomics-555	PF594
ATTO 550	Chromis 830A	Dyomics-556	PF610
ATTO 565	Chromis 830C	Dyomics-560	PF633P
ATTO 590	Cy3	Dyomics-590	PF647P
ATTO 610	Cy3.5	Dyomics-591	Quasar 570
ATTO 620	Cy3B	Dyomics-594	Quasar 670
ATTO 633	Cy5	Dyomics-601XL	Quasar 705
ATTO 647	DyLight 350	Dyomics-605	Rhoadmine 123
ATTO 647N	DyLight 405	Dyomics-610	Rhodamine 6G
ATTO 655	DyLight 415-Co1	Dyomics-615	Rhodamine B
ATTO 665	DyLight 425Q	Dyomics-630	Rhodamine Green
ATTO 680	DyLight 485-LS	Dyomics-631	Rhodamine Green-X
ATTO 700	DyLight 488	Dyomics-632	Rhodamine Red
ATTO 725	DyLight 504Q	Dyomics-633	ROX
ATTO 740	DyLight 510-LS	Dyomics-634	Seta 375
ATTO Oxa12	DyLight 515-LS	Dyomics-635	Seta 470
ATTO Rho101	DyLight 521-LS	Dyomics-636	Seta 555
ATTO Rho11	DyLight 530-R2	Dyomics-647	Seta 632
ATTO Rho12	DyLight 543Q	Dyomics-647P1	Seta 633
ATTO Rho13	DyLight 550	Dyomics-648	Seta 650
ATTO Rho14	DyLight 554-R0	Dyomics-648P1	Seta 660
ATTO Rho3B	DyLight 554-R1	Dyomics-649	Seta 670
ATTO Rho6G	DyLight 590-R2	Dyomics-649P1	Seta 680
ATTO Thio12	DyLight 594	Dyomics-650	Seta 700
BD Horizon V450	DyLight 610-B1	Dyomics-651	Seta 750
BODIPY 493/501	DyLight 615-B2	Dyomics-652	Seta 780
BODIPY 530/550	DyLight 633	Dyomics-654	Seta APC-780
BODIPY 558/568	DyLight 633-B1	Dyomics-675	Seta PerCP-680
BODIPY 564/570	DyLight 633-B2	Dyomics-676	Seta R-PE-670
BODIPY 576/589	DyLight 650	Dyomics-677	Seta646
BODIPY 581/591	DyLight 655-B1	Dyomics-678	SeTau 380
BODIPY 630/650	DyLight 655-B2	Dyomics-679P1	SeTau 405
BODIPY 650/665	DyLight 655-B3	Dyomics-680	SeTau 425
BODIPY FL	DyLight 655-B4	Dyomics-681	SeTau 647
BODIPY FL-X	DyLight 662Q	Dyomics-682	Square 635
BODIPY R6G	DyLight 675-B1	Dyomics-700	Square 650
BODIPY TMR	DyLight 675-B2	Dyomics-701	Square 660
BODIPY TR	DyLight 675-B3	Dyomics-703	Square 672
C5.5	DyLight 675-B4	Dyomics-704	Square 680
C7	DyLight 679-C5	Dyomics-730	Sulforhodamine 101
CAL Fluor Gold 540	DyLight 680	Dyomics-731	TAMRA

[0425]

영광단들			
CAL Fluor Green 510	DyLight 683Q	Dyomics-732	TET
CAL Fluor Orange 560	DyLight 690-B1	Dyomics-734	Texas Red
CAL Fluor Red 590	DyLight 690-B2	Dyomics-749	TMR
CAL Fluor Red 610	DyLight 696Q	Dyomics-749P1	TRITC
CAL Fluor Red 615	DyLight 700-B1	Dyomics-750	Yakima Yellow
CAL Fluor Red 635	DyLight 730-B1	Dyomics-751	Zenon
Cascade Blue	DyLight 730-B2	Dyomics-752	Zy3
CF350	DyLight 730-B3	Dyomics-754	Zy5
CF405M	DyLight 730-B4	Dyomics-776	Zy5.5
CF405S	DyLight 747	Dyomics-777	Zy7
CF488A	DyLight 747-B1	Dyomics-778	
CF514	DyLight 747-B2	Dyomics-780	

[0426]

[0427] 특정 실시예들에서, 발광성 마커는 하기 화학식의 (염료 101) 또는 (염료 102) 또는 그의 유사체일 수 있다.



[0428]

[0429] 일부 실시예들에서, 각각의 술포네이트 또는 카르복실레이트에는 독립적으로 임의적으로 양성자가 추가된다. 일부 실시예들에서, 염료는 지시된 부착 지점에서 아미드 결합의 형성에 의해 링커 또는 뉴클레오티드에 부착된다.

[0430]

특정 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드의 유형 중 적어도 하나의 유형, 적어도 두 가지 유형, 적어도 세 가지 유형 또는 적어도 네 가지 유형은 본 명세서에서 설명되는 바와 같이 6-TAMRA, 5/6-Carboxyrhodamine 6G, Alex Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 610, Alexa Fluor 647, Aberrior Star 635, ATTO 647N, ATTO Rho14, Chromis 630, Chromis 654A, Chromeo 642, CF514, CF532, CF543, CF546, CF546, CF555, CF568, CF633, CF640R, CF660C, CF660R, CF680R, Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Dyomics-530, Dyomics-547P1, Dyomics-549P1, Dyomics-550, Dyomics-554, Dyomics-555, Dyomics-556, Dyomics-560, Dyomics-650, Dyomics-680, DyLight 554-R1, DyLight 530-R2, DyLight 594, DyLight 635-B2, DyLight 650, DyLight 655-B4, DyLight 675-B2, DyLight 675-B4, DyLight 680, HiLyte Fluor 532, HiLyte Fluor 555, HiLyte Fluor 594, LightCycler 640R, Seta 555, Seta 670, Seta700, SeTau 647 및 SeTau 665로 구성되는 그룹으로부터 선택된 발광성 마커를 포함하거나, 식 (염료 101) 또는 (염료 102)를 갖는다.

[0431]

일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드의 유형 중 적어도 하나의 유형, 적어도 두 가지 유형, 적어도 세 가지 유형 또는 적어도 네 가지 유형은 Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, CF532, CF543, CF555, CF594, Cy3, DyLight 530-R2, DyLight 554-R1, DyLight 590-R2, DyLight 594, and DyLight 610-B1로 구성되는 그룹으로부터 선택된 발광성 마커를 포함하거나, 식 (염료 101) 또는 (염료 102)를 갖는다.

[0432]

일부 실시예들에서, 발광 표지된 뉴클레오티드의 제1 및 제2 유형은 Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, CF532, CF543, CF555, Cy3, DyLight 530-R2 및 DyLight 554-R1로 이루어진 그룹으로부터 선택된 발광성 마커를 포함하고, 발광 표지된 뉴클레오티드의 제3 및 제4 유형은 Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, CF594, DyLight 590-R2, DyLight 594 및 DyLight 610-B1(염료 101)로 구성된 그룹으로부터 선택된 발광성 표지를 포함하거나 식 (염료 101) 또는 (염료 102)를 갖는다.

[0433]

E. 링커

[0434]

발광성 마커는 직접적으로, 예를 들어 결합에 의해 분자에 부착될 수 있거나 링커를 통해 부착될 수 있다. 특정 실시예들에서, 링커는 하나 이상의 포스페이트를 포함한다. 일부 실시예들에서, 뉴클레오시드는 하나 이상의 포스페이트를 포함하는 링커에 의해 발광성 마커에 연결된다. 일부 실시예들에서, 뉴클레오시드는 3개 이상의 포스페이트를 포함하는 링커에 의해 발광성 마커에 연결된다. 일부 실시예들에서, 뉴클레오시드는 4개 이상의 포스페이트를 포함하는 링커에 의해 발광성 마커에 연결된다.

[0435]

특정 실시예들에서, 링커는 지방족 사슬을 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 $-(CH_2)_n-$ 을 포함하며, 여기서 n 은 1 내지 20의 정수이다. 일부 실시예들에서, n 은 1 내지 10의 정수이다. 특정 실시예들에서, 링커는 이종 지방족 사슬을 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 실시예들

에서, 링커는 폴리프로필렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 를 포함하며, 여기서 n은 1 내지 20의 정수이다. 일부 실시예들에서, 링커는 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 를 포함하며, 여기서 n은 1 내지 10의 정수이다. 특정 실시예들에서, 링커는 $-(CH_2CH_2O)_4-$ 를 포함한다. 특정 실시예들에서, 링커는 하나 이상의 아릴렌을 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 하나 이상의 페닐렌(예를 들어, 파라 치환 페닐렌)을 포함한다. 특정 실시예들에서, 링커는 키랄 중심을 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 프롤린 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 프롤린 헥사머 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 쿠마린 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 나프탈렌 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 안트라센 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 폴리페닐아미드 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 크로마논 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 4-아미노프로파르길 -L- 페닐알라닌 또는 이의 유도체를 포함한다. 특정 실시예들에서, 링커는 폴리펩타이드를 포함한다.

일부 실시예들에서, 링커는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 링커는 2개의 어닐링된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드들은 디옥시리보스 뉴클레오티드, 리보스 뉴클레오티드 또는 고정된 리보스 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 실시예들에서, 링커는 광 안정제를 포함한다.

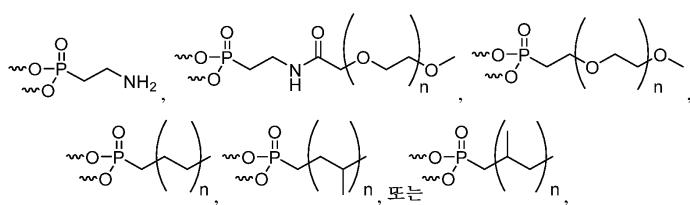
F. 샘플 우물 표면 준비

특정 실시예들에서, 하나의 또는 발광 표지된 분자를 검출하는 방법은 표적 체적 내에 한정된 분자에 대해 수행된다. 일부 실시예들에서, 표적 체적은 샘플 우물(예를 들어, 나노 개구) 내의 영역이다. 특정 실시예들에서, 샘플 우물은 제1 재료를 포함하는 바닥 표면 및 복수의 금속 또는 금속 산화물 층에 의해 형성된 측벽을 포함한다. 일부 실시예들에서, 제1 재료는 투명 재료 또는 유리이다. 일부 실시예들에서, 바닥 표면은 편평하다. 일부 실시예들에서, 바닥 표면은 만곡된 우물(well). 일부 실시예들에서, 바닥 표면은 복수의 금속 또는 금속 산화물 층에 의해 형성된 측벽 아래의 측벽의 일부를 포함한다. 일부 실시예들에서, 제1 재료는 용융 실리카 또는 실리콘 이산화물이다. 일부 실시예들에서, 복수의 층은 각각 금속(예를 들어, Al, Ti) 또는 금속 산화물(예를 들어, Al_2O_3 , TiO_2 , TiN)을 포함한다.

G. 부동태화

일부 실시예들에서, 하나 이상의 문자 또는 복합체가 표면 상에 고정되는 경우, 바람직하지 않은 위치에서의 고정을 방지하기 위해 디바이스의 다른 표면을 부동태화하는 것이 바람직하다. 일부 실시예들에서, 문자 또는 복합체는 샘플 우물의 바닥 표면 상에 고정되고 샘플 우물의 측벽은 부동태화된다. 일부 실시예들에서, 측벽은 금속 또는 금속 산화물 장벽 층을 측벽 표면 상에 퇴적하는 단계; 및 장벽 층에 코팅을 도포하는 단계에 의해 부동태화된다. 일부 실시예들에서, 금속 산화물 장벽 층은 알루미늄 산화물을 포함한다. 일부 실시예들에서, 퇴적 단계는 측벽 표면 및 바닥 표면 상에 금속 또는 금속 산화물 장벽 층을 퇴적하는 단계를 포함한다. 일부 실시예들에서, 퇴적 단계는 바닥 표면으로부터 금속 또는 금속 산화물 장벽 층을 에칭하는 단계를 더 포함한다.

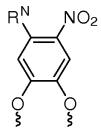
일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 포스포네이트 기를 포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 알킬 사슬을 갖는 포스포네이트 기를 포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 중합체 포스포네이트를 포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 폴리비닐포스폰산(PVPA)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 치환 알킬 사슬을 갖는 포스포네이트 기를 포함한다. 일부 실시예들에서, 알킬 사슬은 하나 이상의 아미드를 포함한다. 일부 실시예들에서, 알킬 사슬은 하나 이상의 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬을 포함한다. 일부 실시예들에서, 코팅은 하기 식의 포스포네이트 기를 포함한다.



여기서, n 은 0 내지 100의 정수이고, 는 수소 또는 표면에의 부착 점이다. 일부 실시예들에서, n 은 3 내지 20의 정수이다. 일부 실시예들에서, 장벽 충 코팅은 삼이한 유형의 포스포네이트 기의 혼합물을

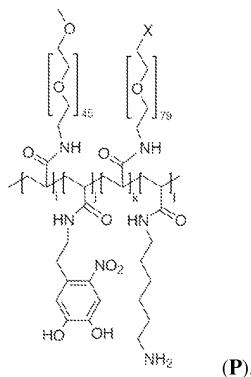
포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 상이한 PEG 중량의 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬을 포함하는 포스포네이트 기의 혼합물을 포함한다.

[0444] 특정 실시예들에서, 장벽 층은 니트로도파 기를 포함한다. 특정 실시예들에서, 장벽 층 코팅은 하기 식의 기를 포함한다.



[0445]

[0446] 여기서, R^N 은 임의적으로 치환된 알킬 사슬이고, $\text{---} \text{wavy line} \text{---}$ 는 수소 또는 표면에의 부착 점이다. 일부 실시예들에서, R^N 은 중합체를 포함한다. 일부 실시예들에서, R^N 은 폴리(라이신) 또는 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 장벽 층은 라이신 단량체를 포함하는 폴리(라이신)의 공중합체를 포함하며, 여기서 라이신 단량체는 PEG, 니트로도파 기, 포스포네이트 기 또는 1차 아민을 독립적으로 포함한다. 특정 실시예들에서, 장벽 층은 하기 식의 중합체(P)를 포함한다.



[0447]

[0448] 일부 실시예들에서, X는 $-OMe$, 비오틴 기, 포스포네이트 또는 실란이다. 일부 실시예들에서, i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 내지 100의 정수이다.

[0449]

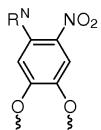
H. 폴리머라제 고정

[0450]

일부 실시예들에서, 하나 이상의 문자 또는 복합체가 표면 상에 고정될 때, 표면은 하나 이상의 문자 또는 복합체의 부착을 허용하도록 관능화된다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 샘플 우물의 바닥 표면이다. 특정 실시예들에서, 관능화된 표면은 투명 유리를 포함한다. 특정 실시예들에서, 관능화된 표면은 용융 실리카 또는 실리콘 이산화물을 포함한다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 실란으로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 이온 대전된 중합체로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 이온 대전된 중합체는 폴리(라이신)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 폴리(라이신)-그래프트-폴리(에틸렌 글리콜)로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 비오틴으로 처리된 소 혈청 알부민(BSA)으로 관능화된다.

[0451]

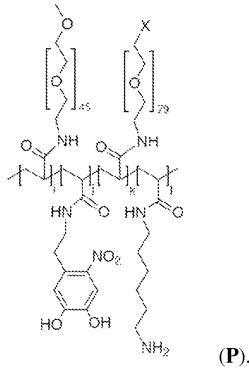
특정 실시예들에서, 관능화된 표면은 니트로도파 기를 포함하는 코팅으로 관능화된다. 특정 실시예들에서, 코팅은 하기 식의 기를 포함한다.



[0452]

[0453] R^N 은 임의적으로 치환된 알킬 사슬이고, $\text{---} \text{wavy line} \text{---}$ 는 수소 또는 표면에의 부착 점이다. 일부 실시예들에서, R^N 은 중합체를 포함한다. 일부 실시예들에서, R^N 은 폴리(라이신) 또는 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 일부 실시예들에서, R^N 은 비오틴화된 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 일부 실시예들에서, 코팅은 라이신 단량체

를 포함하는 폴리(라이신)의 공중합체를 포함하고, 라이신 단량체는 PEG, 비오티닐화된 PEG, 니트로도파 기, 포스포네이트 기 또는 실란을 독립적으로 포함한다. 특정 실시예들에서, 코팅은 하기 식의 중합체(P)를 포함한다.



[0454]

일부 실시예들에서, X는 $-OMe$, 비오틴 기, 포스포네이트 또는 실란이다. 일부 실시예들에서, i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 내지 100의 정수이다.

[0455]

일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 알킬 사슬을 포함하는 실란으로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 임의적으로 치환된 알킬 사슬을 포함하는 실란으로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 표면은 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬을 포함하는 실란으로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 커플링 기를 포함하는 실란으로 관능화된다. 예를 들어, 커플링기는 아민 기, 카르복실 기, 헤드록실 기, 설파이드릴 기, 금속, 퀄레이터 등과 같은 화학적 잔기를 포함할 수 있다. 대안으로, 그들은 비오틴, 아비딘, 스트렙타비딘, 뉴트라비딘, 렉틴, SNAP-tags™ 또는 그를 위한 기질, 연관 또는 결합 웨티드 또는 단백질, 항체 또는 항체 프래그민트, 핵산 또는 핵산 유사체 등과 같은 특정 결합 요소를 포함할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 커플링기는, 일부 경우에 화학 작용 기 및 특정 결합 요소 모두를 포함할 수 있는 관심있는 분자와 커플링 또는 결합하는 데 사용되는 추가적인 기를 커플링하는 데 사용될 수 있다. 예로서, 커플링 기, 예를 들어, 비오틴은 기관 표면 상에 퇴적될 수 있고 주어진 영역에서 선택적으로 활성화될 수 있다. 이어서, 중간 결합제, 예를 들어 스트렙타비딘이 제1 커플링 기에 커플링될 수 있다. 이 특정 예에서 비오티닐화될 관심 분자는 이어서 스트렙타비딘에 커플링된다.

[0456]

일부 실시예들에서, 관능화된 표면은 비오틴 또는 이의 유사체를 포함하는 실란으로 관능화된다. 일부 실시예들에서, 표면은 폴리(에틸렌) 글리콜 사슬을 포함하는 실란으로 관능화되고, 여기서 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬은 비오틴을 포함한다. 특정 실시예들에서, 관능화된 표면은 실란의 혼합물로 관능화되고, 적어도 하나의 유형의 실란은 비오틴을 포함하고 적어도 하나의 유형의 실란은 비오틴을 포함하지 않는다. 일부 실시예들에서, 혼합물은 비오틴을 포함하지 않는 실란보다 약 10배 적은, 약 25배 적은, 약 50배 적은, 약 100배 적은, 약 250배 적은, 약 500배 적은 또는 약 1000배 적은 비오티닐화된 실란을 포함한다.

[0457]

도 10c는 제조된 침(예를 들어, 통합 디바이스)으로부터 서열 분석 반응의 개시까지 샘플 우물 표면을 준비하는 비한정적인 예시적인 프로세스를 도시한다. 샘플 우물은 바닥 표면(음영이 없는 직사각형)과 측벽(음영 처리된 직사각형)으로 묘사된다. 측벽은 다중 층(예를 들어, Al, Al_2O_3 , Ti, TiO_2 , TiN)으로 구성될 수 있다. 단계 (a)에서, 측벽은 Al_2O_3 의 장벽 층으로 퇴적된다. Al_2O_3 장벽 층은 이어서 단계 (b)에서 PEG 포스포네이트 기로, 예를 들어 하나 이상의 PEG-포스폰산으로 표면을 처리함으로써 코팅된다. 단계 (c)에서, 바닥 표면은 예를 들어 PEG-실란 및 비오티닐화-PEG-실란의 혼합물로 관능화된다. 타원형은 단일 분자 또는 폴리미라제 복합체와 같은 복합체의 부착을 위한 부위를 제공할 수 있는 개별 비오틴 그룹을 나타낸다. 단계 (d)에서, 폴리미라제 복합체는 바닥 표면 상의 비오틴 기에 부착된다. 폴리미라제는 스트렙타비딘과 같은 결합제 및 폴리미라제 복합체 상의 비오틴 태그를 통해 부착될 수 있다. 폴리미라제 복합체는 템플릿 핵산 및 프라이머(도시되지 않음)를 추가로 포함할 수 있다. 단계 (e)는 발광 표지된 뉴클레오티드에 대해 고정된 폴리미라제 복합체를 노출시킴으로써 서열 분석 반응의 개시를 나타낸다.

I. 폴리미라제

[0458]

본 명세서에서 사용된 용어 "폴리미라제"는 일반적으로 중합 반응을 촉진할 수 있는 임의의 효소(또는 중합 효

소)를 지칭한다. 폴리머라제의 예는 핵산 폴리머라제, 전사 효소 또는 리가아제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 폴리머라제는 중합 효소일 수 있다.

[0461] 단일 분자 핵산 확장(예를 들어, 핵산 서열 분석)에 대한 실시예는 표적 핵산 분자에 상보적인 핵산을 합성할 수 있는 임의의 폴리머라제를 사용할 수 있다. 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 DNA 폴리머라제, RNA 폴리머라제, 역전사 효소, 및/또는 이들 중 하나 이상의 돌연변이 또는 변경된 형태일 수 있다.

[0462] 단일 분자 핵산 서열 분석에 관한 실시예는 표적 핵산에 상보적인 핵산을 합성할 수 있는 임의의 폴리머라제를 사용할 수 있다. 폴리머라제의 예는 DNA 폴리머라제, RNA 폴리머라제, 열 안정성 폴리머라제, 야생형 폴리머라제, 변형된 폴리머라제, 이. 콜라이(*E. coli*) DNA 폴리머라제 I, T7 DNA 폴리머라제, 박테리오파지(bacteriophage) T4 DNA 폴리머라제 φ29 (프사이29) DNA 폴리머라제, Taq 폴리머라제, Tth 폴리머라제, T1i 폴리머라제, Pfu 폴리머라제, Pwo 폴리머라제, VENT 폴리머라제, DEEPVENT 폴리머라제, EX-Taq 폴리머라제, LA-Taq 폴리머라제, Sso 폴리머라제, Poc 폴리머라제, Pab 폴리머라제, Mth 폴리머라제, ES4 폴리머라제, Tru 폴리머라제, Tac 폴리머라제, Tne 폴리머라제, Tma 폴리머라제, Tca 폴리머라제, Tih 폴리머라제, Tfi 폴리머라제, 백금 Taq 폴리머라제, Tbr 폴리머라제, Tf1 폴리머라제, Tth 폴리머라제, Pfutubo 폴리머라제, Pyrobest 폴리머라제, Pwo 폴리머라제, KOD 폴리머라제, Bst 폴리머라제, Sac 폴리머라제, Klenow 프래그먼트, 3' 내지 5' 엑소뉴클레아제(exonuclease) 활성을 가진 폴리머라제, 및 그의 변체들, 변형물들 및 유도체들을 포함한다. 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 단일 서브유닛 폴리머라제가다. DNA 폴리머라제의 비제한적인 예 및 그의 특성은 많은 곳 중에서 DNA Replication 2nd edition, Kornberg and Baker, W. H. Freeman, New York, N.Y. (1991)에 상세히 기재되어 있다.

[0463] 표적 핵산의 핵 염기와 상보적인 dNTP 사이의 염기 쌍을 만들 때, 폴리머라제는 새로 합성된 핵산 가닥의 3' 헤드록실 말단과 dNTP의 알파 포스페이트 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성함으로써 dNTP를 새로 합성된 핵산 가닥에 통합시킨다. dNTP에 접합된 발광성 태그가 형광단인 예에서, 그의 존재는 여기에 의해 시그널링되고 방출의 렐스는 통합 단계 동안 또는 후에 검출된다. dNTP의 말단(감마) 포스페이트에 접합된 검출 표지의 경우, 새로 합성된 가닥 내에 dNTP의 통합은 베타 및 감마 포스페이트와 샘플 우물에서 자유롭게 확산되는 검출 표지가 마커가 릴리스되게 하여 결과적으로 형광단에서 검출된 방출이 감소하게 한다.

[0464] 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 높은 진행성을 갖는 폴리머라제가다. 그러나, 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 감소된 진행성을 갖는 폴리머라제가다. 폴리머라제 진행성은 일반적으로 핵산 템플릿을 방출하지 않고 dNTP를 핵산 템플릿에 연속적으로 통합할 수 있는 폴리머라제의 능력을 지칭한다.

[0465] 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 낮은 5'-3' 엑소뉴클레아제 활성 및/또는 3'-5' 엑소뉴클레아제를 갖는 폴리머라제가다. 일부 실시예들에서, 폴리머라제는 대응하는 야생형 폴리머라제에 비해 5'-3' 엑소뉴클레아제 활성 및/또는 3'-5' 활성이 감소되도록 (예를 들어, 아미노산 치환에 의해) 변형된다. DNA 폴리머라제의 다른 비제한적인 예는 9° Nm™ DNA 폴리머라제(New England Biolabs) 및 클레노우 엑소- 폴리머라제의 P680G 변체를 포함한다(Tuske et al. (2000) JBC 275(31):23759-23768). 일부 실시예들에서, 감소된 진행성을 갖는 폴리머라제는 뉴클레오티드 반복(예를 들어, 동일한 유형의 둘 이상의 연속적인 염기)의 하나 이상의 스트레치를 함유하는 서열 분석 템플릿에 대한 증가된 정확도를 제공한다.

[0466] 단일 분자 RNA 확장(예를 들어, RNA 서열 분석)에 관한 실시예는 RNA 템플릿으로부터 상보적인 DNA(cDNA)를 합성할 수 있는 임의의 역전사 효소를 이용할 수 있다. 이러한 실시예들에서, 역전사 효소는 RNA 템플릿에 어닐링된 역전사 프라이머로의 dNTP들의 통합을 통해 RNA 템플릿으로부터 cDNA가 합성될 수 있다는 점에서 폴리머라제와 유사한 방식으로 기능할 수 있다. 그 후, cDNA는 서열 분석 반응에 참여할 수 있고 그의 서열이 위에서 그리고 본원의 다른 곳에서 설명된 바와 같이 결정될 수 있다. cDNA의 결정된 서열은 그 후, 서열 상보성을 통해, 원래 RNA 템플릿의 서열을 결정하는 데 이용될 수 있다. 역전사 효소들의 예들은 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스 역전사 효소(Moloney Murine Leukemia Virus)(M-MLV), 조류 골수모구증 바이러스(avian myeloblastosis virus)(AMV) 역전사 효소, 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus) 역전사 효소(HIV-1) 및 텔로머라제(telomerase) 역전사 효소를 포함한다.

[0467] 상이한 유형의 핵산에 대한 진행성, 엑소뉴클레아제 활성, 상대적 친화도, 또는 핵산 폴리머라제의 다른 성질은 대응하는 야생형 폴리머라제에 대한 돌연변이 또는 다른 변형에 의해 이 분야의 기술자에 의해 증가 또는 감소될 수 있다.

[0468] J. 수명 측정

[0469] 샘플 우물 내의 마커를 여기시키기 위해 하나의 여기 에너지 파장을 사용하여 수명 측정을 수행할 수 있다. 상이한 수명을 갖는 마커의 조합이 수명 측정에 기초하여 개별 마커를 구별하도록 선택된다. 또한, 마커의 조합은 사용된 여기 소스에 의해 조명될 때 여기 상태에 도달할 수 있다. 구별 가능한 수명을 갖는 임의의 세트 또는 수의 적합한 마커들이 사용될 수 있다. 예를 들어, 3개, 4개 또는 6개의 상이한 마커들이 사용될 수 있다. 발광성 마커들은 동일한 여기 파장 또는 2개 또는 4개의 상이한 여기 파장들에서 여기할 수 있다.

[0470] 펄스 여기 소스는 위에 기술된 기법을 사용하는 펄스 여기 소스 중 하나일 수 있다. 일부 예에서, 펄스 여기 소스는 레이저 다이오드의 직접 변조된 전기 펌핑을 통해 펄스를 방출하도록 구성된 반도체 레이저 다이오드일 수 있다. 펄스의 파워는 피크 이후 약 250피코초에서 펄스 피크 파워의 20dB 미만이다. 각각의 여기 펄스의 시간 간격은 20-200피코초 범위이다. 각각의 여기 펄스 사이의 시간 지속 기간은 1-50나노초 범위이다. 예시적인 측정들이 수행될 수 있는 방법의 개략도가 도 10d에 도시되어 있는데, 이 도면은 규칙적인 간격으로 생성된 여기 펄스들(10-401)의 타이밍을 도시한다. 도 10d의 하부 행은 여기 펄스(10-401)가 도달할 때 어떤 표지가 존재하는지를 나타낸다. 경우에 따라, 표지가 존재하지 않을 것이다. 또한, 도 10d의 중간 행은 존재하는 표지에 대한 방출 확률 분포(10-402)를 도시한다. 또한 중간 행에는 표지로부터의 광자의 검출을 지시하는 직사각형(10-403)도 도시되어 있다. 도 10d에 도시된 바와 같이, 광자가 방출되지 않거나 방출되는 광자가 손실 또는 검출기 비효율로 인해 검출되지 않는 때들이 존재한다.

[0471] 각각의 픽셀에 대한 센서는 픽셀당 적어도 하나의 감광 영역을 갖는다. 일부 실시예들에서, 센서 칩은 픽셀당 단일 센서를 포함할 수 있다. 감광 영역은 5미크론 x 5미크론의 치수를 가질 수 있다. 광자는 센서에 도달하는 시간 간격 내에 검출된다. 시간 빈의 수를 늘리면 일련의 시간 빈을 통해 수집된 광자의 기록된 히스토그램의 해상도가 향상되고 상이한 발광성 마커들 간의 차별화가 향상될 수 있다. 일부 실시예들에서, 포커싱 요소가 관련 샘플 우물 내에 마커에 의해 방출된 광자의 수집을 향상시키기 위해 센서와 통합될 수 있다. 이러한 포커싱 요소는 도 10e에 도시된 바와 같은 프레넬 렌즈(10-500)를 포함할 수 있다. 센서가 특정 파장을 검출하도록 구성될 때, 4개의 발광성 마커는 특정 파장과 유사한 발광을 방출할 수 있다. 대안적으로, 4개의 발광성 마커는 상이한 파장에서 발광을 방출할 수 있다.

[0472] 일부 실시예들에서, 샘플 대상은 상호 배타적인 샘플 대상 세트와 각각 관련된 복수의 상이한 유형의 마커 중 하나를 이용하여 표지될 수 있다. 복수의 마커 각각은 상이한 수명을 갖는 방출 에너지를 방출한다. 센서가 특정 파장을 검출하도록 구성될 때, 복수의 마커는 특정 파장과 유사한 방출 에너지를 방출할 수 있다. 대안적으로, 복수의 마커는 상이한 파장들에서 방출 에너지를 방출 할 수 있다. 마커에 대한 수명을 결정하기 위한 본 명세서에서 기술된 기법들이 사용될 수 있다. 여기 소스로부터의 여기 에너지의 펄스에 응답하여, 샘플에 태깅된 복수의 마커 중 하나는 광자를 방출할 수 있다. 여기 펄스 후의 광자의 시간이 기록된다. 여기 에너지의 반복된 펄스들은 다수의 광자 방출 이벤트를 생성할 수 있으며, 이들은 그 후 마커의 수명을 결정하는 데 사용된다. 그 후 결정된 수명은 복수의 마커 중에서 샘플 우물 내의 마커를 식별하는 데 사용될 수 있다.

[0473] 수명 측정에 기초하여 구별 가능한 4개의 발광성 마커의 예시적인 세트는 도 10f의 플롯에 의해 도시된 바와 같이 ATRho14, Cy5, AT647N 및 CF633이다. 이러한 4개의 마커는 수명이 다양하며 적어도 4개의 시간 빈이 사용될 때 구별되는 히스토그램을 생성한다. 도 10g는 16개의 시간 빈에 걸친 이들 마커 각각에 대한 신호 프로파일을 개략적으로 설명한다. 신호 프로파일은 각각의 마커에 대해 정규화된다. 시간 빈들은 각각의 마커에 대해 고유 신호 프로파일을 제공하기 위해 시간 간격이 다양하다. 도 10g에 도시된 바와 같이, 가변 간격을 갖는 시간 경계들에 의해 정의된 16개의 시간 빈을 갖는 센서가 16개의 시간 빈 중 하나 이상에 걸쳐 광자 총수의 분포에 의해 ATTORho14, Cy5, ATTO647N, 및 CF633을 구별하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 센서는 시간 경계 0.692ns와 0.792ns 사이에서 마커 ATTORho14에 의해 검출된 전체 광의 11%를 검출한다. 또 다른 예로서, 센서는 시간 경계들 1.991ns와 2.507ns 사이에서 마커 CF633으로부터 검출된 전체 광의 10%를 검출한다. 이러한 방식으로, 각각의 마커는 하나 이상의 시간 빈에서 광의 총량에 의해 구별될 수 있다. 도 10h 및 10i는 수명 측정에 기초하여 구별 가능한 마커의 다른 예시적인 세트인 ATTO Rho14, D650, ST647 및 CF633의 각각의 연속 및 이산 신호 프로파일을 도시한다. 다른 마커 세트는 ATTO Rho14, C647, ST647, CF633; Alexa Fluor647, B630, C640R, CF633; 및 ATTO Rho14, ATTO 647N, AlexaFluor647, CF633을 포함한다.

K. 스펙트럼-수명 측정

[0475] 수명 측정은 하나 이상의 발광성 마커의 스펙트럼 측정과 결합될 수 있다. 스펙트럼 측정은 개별 마커에 대한 방출 에너지의 파장에 따라 달라질 수 있으며 픽셀당 적어도 2개의 센서 영역을 사용하여 캡처된다. 센서는 샘플 우물로부터 방출된 방출 에너지의 스펙트럼 특성들을 검출하도록 구성된다. 통합 디바이스의 예시적인 구조

는 각각의 영역이 상이한 파장을 검출하도록 구성된 2개의 별개의 영역을 갖는 센서를 각각 갖는 광셀을 포함한다. 일부 마커들은 실질적으로 중첩되는 스펙트럼들을 가지고/가지거나, 예를 들어, 대략 5nm 이하만큼 상이한 피크 방출 파장들을 가질 수 있고, 스펙트럼 검출 기법들만으로 구별하기가 어렵다. 그러나, 이러한 마커들은 다양한 수명들을 가질 수 있으며, 수명 측정들을 수행하기 위한 기법들을 사용하여 마커들을 구별할 수 있다.

[0476] 샘플 우물 내의 마커를 여기시키기 위해 하나의 여기 에너지 파장을 사용하여 수명 측정과 스펙트럼 측정을 결합할 수 있지만, 일부 실시예들에서는, 둘 이상의 여기 에너지 파장이 사용될 수 있다. 적어도 2개의 별개의 방출 파장을 갖는 마커의 조합이 선택되며, 수명 및 스펙트럼 측정에 기초하여 개별 마커를 구별하기 위해 상이한 수명을 갖는, 파장에서 방출하는 마커가 선택된다. 또한, 마커의 조합은 사용된 여기 소스에 의해 조명될 때 여기 상태에 도달할 수 있도록 선택된다. 상이한 방출 파장들 및/또는 상이한 수명들을 갖는 임의의 세트 또는 수의 적합한 마커들이 사용될 수 있다.

[0477] 여기 소스는 펠스 여기 소스이고, 전술한 기법들을 사용하는 여기 소스 중 하나일 수 있다. 일부 예에서, 펠스 여기 소스는 레이저 다이오드의 직접 변조된 전기 펌핑을 통해 펠스를 방출하도록 구성된 반도체 레이저 다이오드일 수 있다. 펠스의 파워는 피크 이후 250피코초 후에 피크 파워가 20 dB 미만이다. 각각의 여기 펠스의 시간 지속 기간은 20-200피코초 범위이다. 각각의 여기 펠스 사이의 시간 간격은 1-50나노초 범위이다. 예시적인 측정이 수행될 수 있는 방법의 개략도는 도 10j에 도시된다. 일부 실시예에서, 여기 소스는 대략 640nm의 파장을 갖는 여기 에너지를 제공한다. 일부 실시예들에서, 여기 소스는 대략 515nm 내지 535nm 범위의 파장을 갖는 여기 에너지를 제공한다.

[0478] 센서는 복수의 마커로부터의 방출 에너지의 시간 특성 및 스펙트럼 특성 둘 다를 검출하도록 구성된다. 각각의 광셀의 센서는 광셀당 적어도 두 개의 감광 영역을 가지고 있다. 일부 실시예들에서, 광셀당 2개의 감광 영역이 있다. 다른 실시예에서, 광셀당 4개의 감광 영역이 있다. 각각의 감광 영역은 상이한 파장 또는 파장 범위를 검출하도록 구성된다. 광자는 센서에 도달하는 시간 간격 내에 검출된다. 시간 빈의 수를 늘리면 일련의 시간 빈을 통해 수집된 광자의 기록된 히스토그램의 해상도가 향상되고 개별 수명에 따라 상이한 발광성 마커들 간의 차별화가 향상될 수 있다. 일부 실시예들에서, 센서의 영역당 2개의 시간 빈이 있다. 다른 실시예에서, 센서의 영역당 네 개의 시간 빈이 있다.

[0479] 일부 실시예들에서, 센서는 4개의 상이한 마커를 검출하는 데 사용되는 2개의 서브-센서를 포함한다. 제1 서브-센서는 마커들 중 2개의 마커에 의해 방출된 제1 방출 파장과 관련될 수 있다. 제1 서브-센서는 또한 제1 방출 파장에서 방출하는 2개의 마커로부터의 2개의 별개의 수명과 관련될 수 있다. 제2 서브-센서는 다른 2개의 마커에 의해 방출된 제2 파장과 관련될 수 있다. 제2 서브-센서는 또한 제2 방출 파장에서 방출하는 2개의 마커로부터의 2개의 별개의 수명과 관련될 수 있다. 4개의 발광성 마커 사이의 구별은 검출된 파장 및 검출된 수명의 조합에 기초하여 발생할 수 있다. 2개의 서브-센서 각각은 마커로부터 방출된 방출 에너지의 단일 광자를 검출 할 수 있다.

[0480] 수명 측정에 기초하여 구별될 수 있는 4개의 발광성 마커의 예시적인 세트는 ATTO Rho14, AS635, Alexa Fluor647 및 ATTO 647N이다. 이 4개의 마커는 하나의 유사한 파장 및 다른 유사한 파장에서 방출하는 두 개의 마커를 가지고 있다. 유사한 파장에서 방출하는 마커의 각각의 쌍 내에서 마커 쌍은 상이한 수명들을 가지며 적어도 네 개의 시간 빈이 사용될 때 구별되는 히스토그램을 생성한다. 이 예에서 ATTO Rho14 및 AS635는 유사한 발광 파장을 방출하고 수명이 다르다. Alexa Fluor 647 및 ATTO 647N은 ATTO Rho 14 및 AS635에서 방출되는 파장과 상이한 유사한 발광 파장을 방출하며 수명이 다르다. 도 10k은 이러한 마커 세트에 대한 방출 파장의 함수로서의 플롯 수명을 도시하여, 이들 마커 각각이 수명 및 방출 파장의 조합에 기초하여 어떻게 구별 가능 한지를 설명한다. 도 10k에 도시된 바와 같이, ATTO Rho14는 645nm 근처에서 방출될 수 있고, AS635는 653nm 근처에서 방출될 수 있고, Alexa Fluor 647은 665nm 근처에서 방출될 수 있고, ATTO Fluor 647N은 669nm 근처에서 방출될 수 있다. AS635 및 ATTO 647N은 대략 1.2ns에서 유사한 수명을 가지며, ATTO Rho14 및 Alexa Fluor 647은 AS635 및 ATTO 647 양자보다 더 짧은 수명을 갖는다. 이러한 마커들은 특성 방출 파장 및 방출 수명에 기초하여 구별될 수 있다. 예를 들어, ATTO 647N과 Alexa Fluor 647은 유사한 피크 방출 파장들을 갖지만, 구별 가능한 수명들을 갖는다. AS635 및 ATTO647N은 유사한 수명들을 갖지만, 실질적으로 상이한 피크 방출 파장들을 갖는다.

[0481] 마커들은 동일한 여기 파장 또는 둘 이상의 상이한 여기 파장에서 여기할 수 있다. 센서가 2개의 파장의 방출 에너지를 검출하도록 구성될 때, 4개의 마커 중 2개는 제1 파장에서 방출할 수 있고 다른 2개의 마커는 제2 파장에서 방출할 수 있다. 대안적으로, 센서가 4개의 파장의 방출을 검출하도록 구성될 때, 각각의 마커는 상이

한 과장들에서 방출할 수 있고/있거나 상이한 방출 확률 밀도들 및 수명들을 가질 수 있다. 도 101은 ATT Rho14, Alexa Fluor 647 및 ATT) 647N에 대한 과장의 함수로서의 전력 플롯을 도시한다.

[0482] 도 10m은 이들 마커에 대한, 상이한 시간 감쇠, 및 따라서, 수명들을 예시하기 위해 135nm의 직경을 갖는 샘플 우물에 존재할 때 이들 마커 각각에 대한 시간 경과에 따른 형광 신호의 플롯을 도시한다.

[0483] 도 10n는 4개의 센서 영역을 가로지르는 이들 마커에 대한 신호 프로파일을 도시하고, 각각의 영역은 4개의 시간 빈을 캡처한다. 신호 프로파일은 정규화되며 4개의 시간 빈 각각에 대해 감광 영역에 의해 캡처된 상대적인 광자 수에 따라 상이한 마커들을 구별하는 데 사용된다. 제1 마커(Alexa Fluor 647)로부터 방출된 제1 방출 과장의 광은 제1 센서 영역 쪽으로 유도된다. 그러나, 광의 지향성은 완벽하지 않으며, 광의 일부는 제2 센서 영역, 제3 센서 영역 및 제4 센서 영역에 의해 검출된다. 따라서, 4개의 시간 빈에 걸쳐 4개의 센서 영역에 의해 검출된 전체 광의 백분율에 대한 통계에 의해 도 10n의 중간 개략도에 예시된 바와 같이, 제1 마커로부터 방출된 광은 제1 센서 검출기 신호와 관련된다. 1.184ns와 2.069ns 사이의 제2 시간 빈에서, 제1 센서 영역은 제1 마커로부터의 전체 검출 광의 4.2%를 검출하고, 제2 센서 영역은 제1 마커로부터의 전체 검출 광의 11.7%를 검출하고, 제3 센서 영역은 제1 마커로부터의 전체 검출된 광의 18.6%를 검출하고, 제4 센서 영역은 제1 마커로부터의 전체 검출 광의 14.6%를 검출한다. 하나 이상의 시간 빈에 대한 이러한 검출된 센서 패턴은 제1 마커와 관련된 제1 검출 신호를 구성한다. 도 10n은 ATRho14 및 ATT0647N 마커들에 대한 센서 및 시간 빈 패턴들을 도시하며, 적어도 이들 3 개의 마커 사이에 검출 신호들이 구별 가능하게 된다. 예를 들어, 제2 센서는 0.25ns와 1.184ns 사이의 제1 시간 빈에서 마커 ATTORho14로부터의 전체 광의 12.3%를 검출한다. 이러한 방식으로, 각각의 마커는 그의 방출 스펙트럼 및 수명에 기초하여 구별될 수 있다.

[0484] 그러한 스펙트럼-수명 측정을 위한 4개의 형광단의 다른 세트들은 ATRho14, D650, ST647, CF633; ATT0 Rho14, C647, ST647, CF633; Alexa Fluor 647, B630, C640R, CF633; 및 ATT0 Rho 14, ATT0 647N, Alexa Fluor 647, CF633이다. 도 10o는 ATRho14, D650, ST647, 및 C633에 대한 시간 경과에 따른 강도의 신호 프로파일의 플롯을 도시한다. 도 10p은 ATRho14에 대한 신호 프로파일을 도시한다.

L. 수명-여기 에너지 측정

[0485] 적어도 2개의 여기 에너지 과장의 사용과 결합된 수명 측정을 사용하여 다수의 마커를 구별할 수 있다. 하나의 여기 과장이 사용되고 다른 과장이 사용되지 않는 경우 일부 마커가 여기될 수 있다. 상이한 수명을 갖는 마커의 조합이 수명 측정에 기초하여 개별 마커를 구별하기 위해 각각의 여기 과장에 대해 선택된다. 이 실시예에서, 센서 칩은 하나의 영역을 갖는 센서를 갖는 각각의 광센서를 갖도록 구성될 수 있고, 이 기기는 예를 들어 시간 인터리빙을 갖는 전기적으로 변조된 펄스 다이오드 레이저에 의해 적어도 2개의 여기 에너지 과장을 제공하도록 구성될 수 있다.

[0486] 마커들은 상이한 여기 과장에서 여기할 수 있다. 광원이 2개의 과장의 여기 에너지를 전달하도록 구성되는 경우, 일부 마커들은 제1 과장의 여기에서 여기하고 제2 과장의 여기에서는 여기하지 않는 반면, 다른 마커들은 제2 과장의 여기에서 여기하고 제1 과장의 여기에서는 실질적으로 여기하지 않는다. 일부 실시예들에서, 2개의 마커는 제1 여기 과장에서 여기하고 제2 여기 과장에서는 실질적으로 여기하지 않지만, 상이한 방출 확률 밀도들 및 수명들에서 방출한다. 2개의 상이한 마커는 제2 여기 과장에서 여기하고 제1 여기 과장에서는 실질적으로 여기하지 않지만 상이한 방출 확률 밀도들 및 수명들을 갖는다.

[0487] 여기 소스는 적어도 두 개의 여기 에너지의 조합이다. 여기 소스는 펄스 여기 소스이고, 전술한 기법들을 사용하는 여기 소스 중 하나 이상일 수 있다. 일부 예에서, 펄스 여기 소스는 레이저 다이오드의 직접 변조된 전기 펨핑을 통해 펄스를 방출하도록 구성된 2개의 반도체 레이저 다이오드일 수 있다. 펄스의 파워는 피크 이후 250피코초에서 펄스 피크 파워보다 20 dB 작다. 각각의 여기 펄스의 시간 간격은 20-200피코초 범위이다. 각각의 여기 펄스 사이의 시간 간격은 1-50나노초 범위이다. 펄스당 하나의 여기 과장이 방출되며, 여기 과장을 알면 상이한 수명을 갖는 마커의 서브세트가 고유하게 식별된다. 일부 실시예들에서, 여기 펄스는 상이한 과장 사이에서 교대한다. 예를 들어, 2개의 여기 과장이 사용될 때 후속 펄스는 하나의 과장과 다른 과장 사이에서 교대한다. 예시적인 측정이 수행될 수 있는 방법의 개략도는 도 10q에 도시된다. 다수의 여기 소스를 결합하고, 상이한 과장을 갖는 펄스를 인터리빙하기 위한 임의의 적합한 기법이 사용될 수 있다.

[0488] 각각의 광센서에 대한 센서는 광센서당 적어도 하나의 감광 영역을 갖는다. 감광 영역은 5미크론 x 5미크론의 치수를 가질 수 있다. 광자는 센서에 도달하는 시간 간격 내에 검출된다. 시간 빈의 수를 늘리면 일련의 시간 빈에서 수집된 광자의 기록된 히스토그램의 해상도가 향상되고 상이한 발광성 마커들 간의 차별화가 향상될 수 있

다. 센서는 적어도 두 개의 시간 빈을 갖는다. 일부 실시예들에서, 센서는 마커로부터의 방출 에너지의 수명을 식별하기 위해 4개의 시간 빈을 가질 수 있다.

[0490] 수명 측정에 기초하여 구별할 수 있는 4개의 발광성 마커의 예시적인 세트는 Alexa Fluor 546, Cy3B, Alexa Fluor 647 및 ATTO 647N이다. 도 10r에 도시된 바와 같이, Alexa Fluor 546 및 Cy3B는 532nm와 같은 하나의 파장에서 여기되고, 상이한 수명을 갖는다. Alexa Fluor 647 및 ATTO 647N은 다른 파장 640nm에서 여기되며, 도 10s에 도시된 바와 같이 상이한 수명을 갖는다. 예를 들어, 도 10s에는 ATTO 647N 및 Alexa Fluor 647에 대한 곡선들이 도시되어 있는데, 이들 2개의 마커가 상이한 수명들을 갖는 것을 도시하고 있다. 640nm에서 모두 여기되는 ATTO647N 및 CF633에 대한 16개의 시간 빈에 걸쳐 구별 가능한 정규화된 신호 프로파일이 도 10t에 도시되어 있다. 예를 들어, 센서는 시간 경계 0.629ns와 0.997ns 사이에 마커 ATTO 647N으로부터 검출된 전체 광의 12%를 검출한다. 알려진 여기 파장 이후에 광자를 검출함으로써, 이들 두 쌍의 마커 중 하나는 이전의 여기 파장에 기초하여 결정될 수 있고, 쌍에 대한 각각의 마커는 수명 측정에 기초하여 식별된다.

[0491] M. 스펙트럼 측정들

[0492] 하나 이상의 센서는 파장들이 센서에 도달하기 전에 파장들을 분류하도록 구성된 검정 칩 또는 센서 칩의 하나 이상의 층을 포함함으로써 스펙트럼 특성을 검출하도록 구성된다. 하나 이상의 층은 샘플 우물로부터 방출된 방출 에너지를 스펙트럼으로 분류하도록 구성된 적어도 하나의 구조적 컴포넌트를 포함할 수 있다. 적어도 하나의 구조적 컴포넌트는 오프셋 프레넬 렌즈, 블레이징된 위상 격자, 또는 스펙트럼 분포 방출 에너지를 위해 원하는 지향성을 제공하도록 구성된 임의의 다른 적합한 구조물을 포함할 수 있다.

[0493] 센서 칩의 핵심은 검정 칩상의 대응 샘플 우물로부터 유도된 방출 에너지의 스펙트럼 분포를 검출하도록 구성된 다수의 서브-센서를 포함할 수 있다. 센서 칩 및 센서 칩상의 다수의 서브-센서의 구성은 샘플을 표지하는 데 사용되는 상이한 마커들을 충분히 구별하도록 사이징, 성형 및 배열될 수 있다.

[0494] 발광성 마커들 사이의 구별은 검출된 파장에 기초하여 발생할 수 있다.

[0495] 일부 실시예들에서, 센서는 4개의 상이한 발광성 마커를 검출하기 위해 4개의 서브-센서로 분할될 수 있다. 센서는 샘플 우물로부터 방출된 방출 에너지를 캡처하기 위해 임의의 적합한 방식으로 사이징 및 배치될 수 있다.

[0496] 일부 실시예들에서, 각각의 서브-센서는 상이한 발광 파장과 관련된다. 제1 발광성 마커 (예를 들어, Alexa Fluor 555)로부터 방출된 제1 발광 파장의 광은 제1 서브-센서 쪽으로 유도된다. 그러나, 광의 지향성은 완벽하지 않으며, 광의 일부는 제2 서브-센서, 제3 서브-센서 및 제4 서브-센서에 의해 검출된다. 따라서, 제1 발광성 마커로부터 방출된 광은 도 10u에 도시된 바와 같이 제1 센서 검출기 신호와 관련된다. 센서들의 통합 시간 동안 광자들이 수집될 때, 제1 서브-센서는 제1 발광성 마커로부터 검출된 전체 광의 42%를 검출하고, 제2 서브-센서는 제1 발광성 마커로부터 검출된 전체 광의 39%를 검출하고, 제3 서브-센서는 제1 발광성 마커로부터 검출된 전체 광의 15%를 검출하고, 제4 서브-센서는 제1 발광성 마커로부터 검출된 전체 광의 4%를 검출한다. 이 검출된 서브-센서 패턴은 제1 발광성 마커와 관련된 제1 검출 신호를 구성한다. 상이한 서브-센서 패턴들이 상이한 발광성 마커들로부터의 상이한 발광 파장들과 관련되고, 그 결과 도 10u에 도시된 바와 같이 검출 신호들이 구별 가능하게 된다.

[0497] 유사하게, 제2 서브-센서는 제2 발광 파장과 관련되고, 제3 서브-센서는 제3 발광 파장과 관련되며, 제4 서브-센서는 제4 발광 파장과 관련된다. 이러한 방식으로, 방출 에너지에 기초하여 구별 가능한 예시적인 마커들은, 도 10v에 도시된 방출 스펙트럼들을 갖는 Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 647, 및 Alexa Fluor 660이다.

[0498] VII. 컴퓨팅 디바이스

[0499] 도 10w는 실시예들이 구현될 수 있는 적합한 컴퓨팅 시스템 환경(1000)의 예를 도시한다. 예를 들어, 도 2a의 컴퓨팅 디바이스(2-130)는 컴퓨팅 시스템 환경(1000)에 따라 구현될 수 있다. 추가적으로, 컴퓨팅 시스템 환경(1000)은 검정을 수행하기 위한 기기를 제어하도록 프로그램되는 제어 시스템으로서의 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 이러한 제어 시스템은 광을 방출하고 검정 칩의 샘플 우물들 쪽으로 유도하도록 여기 소스를 제어할 수 있고; 샘플 우물들에서의 하나 이상의 샘플로부터의 방출 광의 검출을 허용하도록 센서를 제어할 수 있고; 그리고 예를 들어, 방출 에너지의 공간 분포를 분석하는 것에 의해, 샘플 우물에 존재하는 샘플을 식별하기 위해 센서들로부터의 신호들을 분석할 수 있다. 컴퓨팅 시스템 환경(1000)은 적합한 컴퓨팅 환경의 단지 하나의 예일 뿐, 본 발명의 용도 또는 기능성의 범위에 관해 어떠한 제한을 제시하고자 하는 것이 아니다. 또한, 컴퓨팅 환경(1000)이 예시적인 운영 환경(1000)에서 예시된 컴포넌트들 중 임의의 하나 또는 그들의 조합에 관련된

어떠한 종속성이나 요구조건을 갖는 것으로 해석되어서도 안 된다.

[0500] 실시예들은 많은 다른 범용 또는 특수 목적 컴퓨팅 시스템 환경 또는 구성에서 동작한다. 본 발명과 함께 이용하기에 적합할 수 있는 잘 알려진 컴퓨팅 시스템들, 환경들 및/또는 구성들의 예들은 퍼스널 컴퓨터들, 서버 컴퓨터들, 핸드헬드 또는 랙톱 디바이스들, 멀티프로세서 시스템들, 마이크로프로세서 기반 시스템들, 셋톱 박스들, 프로그래머블 가전들, 네트워크 PC들, 미니컴퓨터들, 메인프레임 컴퓨터들, 상기 시스템들 또는 디바이스들 중 임의의 것을 포함하는 분산형 컴퓨팅 환경들 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0501] 컴퓨팅 환경은 프로그램 모듈들과 같은 컴퓨터 실행가능 명령어들을 실행할 수 있다. 일반적으로, 프로그램 모듈들은, 특정 태스크들을 수행하거나 특정 추상 데이터 타입들을 구현하는 루틴들, 프로그램들, 오브젝트들, 컴포넌트들, 데이터 구조들 등을 포함한다. 본 발명은 통신 네트워크를 통해 링크되는 원격 처리 디바이스들에 의해 태스크들이 수행되는 분산형 컴퓨팅 환경들에서 또한 실시될 수 있다. 분산 컴퓨팅 환경에서, 프로그램 모듈들은 메모리 저장 디바이스들을 포함하는 로컬 및 원격 컴퓨터 스토리지 매체에 둘 다에 위치할 수 있다.

[0502] 도 10w를 참조하면, 본 발명의 시스템을 구현하기 위한 예시적인 시스템은 컴퓨터(1010) 형태의 범용 컴퓨팅 디바이스를 포함한다. 컴퓨터(1010)의 컴포넌트들은 처리 유닛(1020), 시스템 메모리(1030), 및 시스템 메모리를 포함하는 각종 시스템 컴포넌트들을 처리 유닛(1020)에 결합하는 시스템 버스(1021)를 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다. 시스템 버스(1021)는 메모리 버스 또는 메모리 제어기, 주변기기 버스, 및 각종 버스 아키텍처 중 임의의 것을 사용하는 로컬 버스를 포함하는 몇몇 종류의 버스 구조 중 임의의 것일 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 이러한 아키텍처들은 ISA(Industry Standard Architecture) 버스, MCA(Micro Channel Architecture) 버스, EISA(Enhanced ISA) 버스, VESA(Video Electronics Standard Association) 로컬 버스, 및 메자닌 버스로 또한 알려져 있는 PCI(Peripheral Component Interconnect) 버스를 포함한다.

[0503] 컴퓨터(1010)는 각종 컴퓨터 관독가능 매체를 통상적으로 포함한다. 컴퓨터 관독가능 매체는 컴퓨터(1010)에 의해 액세스될 수 있는 임의의 이용 가능한 매체일 수 있고, 휘발성 및 비휘발성 매체, 이동식 및 비이동식 매체 모두를 포함한다. 제한이 아닌 예로서, 컴퓨터 관독가능 매체는 컴퓨터 스토리지 매체 및 통신 매체를 포함할 수 있다. 컴퓨터 스토리지 매체는, 컴퓨터 관독가능 명령어들, 데이터 구조들, 프로그램 모듈들 또는 다른 데이터와 같은 정보의 스토리지를 위해 임의의 방법 또는 기술로 구현된 휘발성 및 비휘발성, 이동식 및 비이동식 매체 양쪽 모두를 포함한다. 컴퓨터 스토리지 매체로는 RAM, ROM, EEPROM, 플래쉬 메모리 또는 기타 메모리 기술, CD-ROM, DVD(digital versatile disk) 또는 기타 디스크 스토리지, 자기 카세트, 자기 테이프, 자기 디스크 스토리지 또는 기타 자기 스토리지 디바이스들, 또는 원하는 정보를 저장하는 데 사용될 수 있고 또 컴퓨터(1010)에 의해 액세스될 수 있는 임의의 다른 매체가 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 전형적으로, 통신 매체는, 반송파 또는 다른 전송 메커니즘과 같은 변조된 데이터 신호에서 컴퓨터 관독가능 명령어들, 데이터 구조들, 프로그램 모듈들 또는 다른 데이터를 구현하고, 임의의 정보 전달 매체를 포함한다. 용어 "피변조 데이터 신호"는 신호 내에 정보를 인코딩하는 방식으로 신호의 특성을 중 하나 이상을 설정 또는 변경한 신호를 의미한다. 제한이 아닌 예로서, 통신 매체는 유선 네트워크 또는 직접 유선 접속과 같은 유선 매체, 및 음향, RF, 적외선 및 다른 무선 매체와 같은 무선 매체를 포함한다. 위의 것들 중 임의의 것의 조합들은 컴퓨터 관독가능 매체의 범위 내에 또한 포함되어야 한다.

[0504] 시스템 메모리(1030)는 관독 전용 메모리(ROM)(1031) 및 랜덤 액세스 메모리(RAM)(1032)와 같은 휘발성 및/또는 비휘발성 메모리 형태의 컴퓨터 스토리지 매체를 포함한다. 기동(start up) 동안에서와 같이, 컴퓨터(1010) 내의 엘리먼트들 사이에서 정보를 전송하는 것을 돋 기본적 루틴을 포함하는 기본 입력/출력 시스템(1033)(BIOS)은 ROM(1031)에 저장된다. RAM(1032)은 통상적으로 처리 유닛(1020)에 즉시 액세스할 수 있고/있거나 현재 동작시되는 데이터 및/또는 프로그램 모듈을 포함한다. 제한이 아닌 예로서, 도 10w는 운영 체제(1034), 애플리케이션 프로그램(1035), 기타 프로그램 모듈(1036), 및 프로그램 데이터(1037)를 도시하고 있다.

[0505] 컴퓨터(1010)는 또한 기타 이동식/비이동식, 휘발성/비휘발성 컴퓨터 스토리지 매체를 포함할 수 있다. 단지 예로서, 도 10w는 비이동식, 비휘발성 자기 매체에 기록하거나 관독하는 하드 디스크 드라이브(1041), 이동식, 비휘발성 자기 디스크(1052)에 기록하거나 관독하는 자기 디스크 드라이브(1051), 및 이동식, 비휘발성 광학 디스크(1056)(CD-ROM 또는 기타 광학 매체 등)에 기록하거나 관독하는 광학 디스크 드라이브(1055)를 도시한다. 예시적인 운영 환경에서 이용될 수 있는 다른 이동식/비이동식, 휘발성/비휘발성 컴퓨터 스토리지 매체는 자기 테이프 카세트, 플래시 메모리 카드, DVD(digital versatile disks), 디지털 비디오 테이프, 고체 상태 RAM, 고체 상태 ROM 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 하드 디스크 드라이브(1041)는 통상적으로 인터페이스(1040) 등의 비이동식 메모리 인터페이스를 통해 시스템 버스(1021)에 연결되고, 자기 디스크 드라이브(1051)

및 광 디스크 드라이브(1055)는 통상적으로 인터페이스(1050) 등의 이동식 메모리 인터페이스에 의해 시스템 버스(1021)에 연결된다.

[0506] 이상에서 설명되고 도 10에 도시되어 있는 드라이브들 및 이들과 연관된 컴퓨터 스토리지 매체는 컴퓨터(1010)에 대한 컴퓨터 관리 가능 명령어, 데이터 구조, 프로그램 모듈 및 기타 데이터의 저장을 제공한다. 도 10w에는, 예를 들어, 하드디스크 드라이브(1041)가 운영 체제(1044), 애플리케이션 프로그램(1045), 기타 프로그램 모듈(1046), 프로그램 데이터(1047)를 저장하는 것으로 도시된다.

[0507] 이들 컴퓨터는 운영 체제(1034), 애플리케이션 프로그램(1035), 기타 프로그램 모듈(1036), 프로그램 데이터(1037)과 동일할 수도 있고 상이할 수 있다는 점에 유의한다. 운영 체제(1044), 애플리케이션 프로그램(1045), 기타 프로그램 모듈(1046), 및 프로그램 데이터(1047)에 상이한 번호들이 부여되어 있다는 것은 적어도 이들이 상이한 사본들(copies)이라는 것을 나타내기 위한 것이다. 사용자는 키보드(1062), 및 일반적으로 마우스, 트랙볼 또는 터치 패드라 불리는 포인팅 디바이스(1061)와 같은 입력 디바이스를 통해 명령 및 정보를 컴퓨터(1010)에 입력할 수 있다. 다른 입력 디바이스들(도시되지 않음)은 마이크로폰, 조이스틱, 게임 패드, 위성 안테나(satellite dish), 스캐너 등을 포함할 수 있다. 이들 및 기타 입력 디바이스들은 종종 시스템 버스에 결합된 사용자 입력 인터페이스(1060)를 통해 처리 유닛(1020)에 접속되지만, 병렬 포트, 게임 포트 또는 USB(universal serial bus)와 같은 다른 인터페이스 및 버스 구조에 의해 접속될 수도 있다. 모니터(1091) 또는 다른 종류의 디스플레이 디바이스도 비디오 인터페이스(1090) 등의 인터페이스를 통해 시스템 버스(1021)에 접속된다. 모니터 외에도, 컴퓨터는 또한 스피커(1097) 및 프린터(1096) 등의 기타 주변 출력 디바이스들을 포함할 수 있고, 이들은 출력 주변 인터페이스(1095)를 통해 접속될 수 있다.

[0508] 컴퓨터(1010)는 원격 컴퓨터(1080)와 같은 하나 이상의 원격 컴퓨터로의 논리적 접속을 사용하여 네트워크화된 환경에서 동작할 수 있다. 원격 컴퓨터(1080)는 개인용 컴퓨터, 서버, 라우터, 네트워크 PC, 피어 디바이스 또는 기타 통상의 네트워크 노드일 수 있고, 통상적으로 컴퓨터(1010)와 관련하여 상기한 구성요소들 중 다수 또는 그 전부를 포함하지만, 도 10w에는 메모리 스토리지 디바이스(1081)만이 도시된다. 도 10w에 도시된 논리적 접속들은 근거리 통신망(LAN)(1071) 및 광역 통신망(WAN)(1073)을 포함하지만, 다른 네트워크들도 포함할 수 있다. 러한 네트워킹 환경들은 사무실들, 엔터프라이즈 광역 컴퓨터 네트워크들, 인트라넷들 및 인터넷에서 혼하다.

[0509] LAN 네트워킹 환경에서 사용될 때, 컴퓨터(1010)는 네트워크 인터페이스 또는 어댑터(1070)를 통해 LAN(1071)에 접속된다. WAN 네트워킹 환경에서 사용될 때, 컴퓨터(1010)는 통상적으로 인터넷 등의 WAN(1073)을 통해 통신을 설정하는 모뎀(1072) 또는 기타 수단을 포함한다. 내장형 또는 외장형일 수 있는 모뎀(1072)은 사용자 입력 인터페이스(1060) 또는 기타 적절한 메커니즘을 통해 시스템 버스(1021)에 접속된다. 네트워크화된 환경에서, 컴퓨터(1010) 또는 그의 일부와 관련하여 기술된 프로그램 모듈은 원격 메모리 스토리지 디바이스에 저장될 수 있다. 제한이 아닌 예로서, 도 10w는 원격 애플리케이션 프로그램(1085)이 메모리 디바이스(1081)에 상주하는 것으로 도시하고 있다. 도시된 네트워크 접속들은 예시적이며, 컴퓨터들 사이에 통신 링크를 확립하는 다른 수단이 이용될 수 있다는 점이 인식될 것이다.

IX. 제조 공정들

[0511] 상기 통합 디바이스는 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 후속하는 것은 적합한 통합 디바이스를 생성하기 위해 본 기술 분야에 공지된 기법들로 임의의 방식으로 결합될 수 있는, 통합 디바이스의 다양한 컴퓨터들의 제조에 대한 설명이다.

A. 나노 개구 제조 프로세스

[0513] 샘플 우물(예를 들어, 나노 개구)은 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 샘플 우물은 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 예칭 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 샘플 우물은 금속(예를 들어, Al, TiN) 또는 포토리소그래피 처리와 호환될 수 있는 임의의 적합한 재료를 갖는 층에 형성될 수 있다. 도 11a는 통합 디바이스의 샘플 우물을 제조하기 위한 예시적인 방법을 도시한다. 층(11-112)은 샘플 우물을 형성하고 Al 또는 TiN과 같은 금속을 포함할 수 있다. 층(11-110)은 유전체층으로서의 역할을 할 수 있고, SiO_2 또는 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 유전체 기판으로부터 형성될 수 있다. 이 방법의 하나의 공정은 기판(11-110)상에 직접 층(11-112)을 퇴적하는 것을 포함한다. 일부 실시예들에서, 추가적인 층들이 층(11-112)과 층(11-110) 사이에 퇴적될 수 있다. 층(11-112)은 임의의 적합한 두께로 퇴적될 수 있고, 일부 실시예들에서, 두께는 결과적인 샘플 우물의 높이를 결정할 수 있다. 층(11-112)의 두께는 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략

150nm일 수 있다. 그 후 반사 방지 코팅(ARC)(11-122)이 층(11-112)의 상부에 퇴적된다. 에칭 마스크(11-120)(예를 들어, 포토레지스트 에칭 마스크)가 ARC(11-122)상에 퇴적된다. 종래의 포토리소그래피 기법들이 에칭 마스크(11-120) 및 ARC(11-122)에 홀을 패터닝하는 데 이용된다. 에칭 마스크(11-120)에 의해 패터닝된 구멍은 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략 150nm의 직경을 가질 수 있다. 그 후 홀 패턴은 에칭, 예를 들어 반응성 이온 에칭 기법들을 이용하여 하부의 층(11-112)으로 전사되어 샘플 우물을 형성한다. 에칭은 층(11-110)의 표면에서 정지할 수 있거나, 에칭은 층(11-112)의 홀 아래의 층(11-110)에 디봇을 생성할 수 있다. 종래의 기법들이 층(11-112)으로부터 에칭 마스크(11-120) 및 ARC(11-122)를 박리하는 데 이용된다. 샘플 우물은 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략 150nm의 직경을 가질 수 있다.

[0514] 대안적으로, 샘플 우물은 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 리프트오프 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 도 11b는 리프트오프 기법들을 이용하여 샘플 우물을 형성하는 예시적인 방법을 도시한다. 샘플 우물은 금속(예를 들어, Al, Au, Cr)을 포함할 수 있는 층(11-212)에 형성된다. 층(11-212)은 유전체(예를 들어, SiO_2)와 같은 임의의 적합한 재료를 포함할 수 있는 기판 층(11-210) 위에 형성된다. 층(11-212)의 퇴적은 포토리소그래피 프로세스와 별도로 그리고 포토리소그래피 프로세스 이후에 발생할 수 있다. 도 11b에 도시된 리프트오프 제조 프로세스의 제1 공정은 기판(11-210)상에 반사 방지 코팅(ARC)(11-222)을 퇴적하고 이어서 기판(11-210)의 상부에 직접 포토레지스트 에칭 마스크(11-220)를 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. 레지스트의 기둥(11-230)이 뒤에 남도록 종래의 포토리소그래피 기법들을 이용하여 포토레지스트를 패터닝한다. 기둥은 결과적인 샘플 우물에 대응할 수 있는 임의의 적합한 사이즈 및 형상을 가질 수 있다. 상기 기둥은 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략 150nm의 직경을 가질 수 있다. 이러한 기법들은 기둥 주위의 레지스트 및 ARC 층을 기판으로부터 용해시키는 것을 포함할 수 있다. 다음 공정은 레지스트의 기둥과 기판의 상부에 직접 층(11-212)를 퇴적하여, 캡핑된 기둥(capped pillar)을 생성하는 것을 수반할 수 있다. 다른 실시예들에서, 추가적인 층들이 층(11-212)의 퇴적 전 또는 후에 퇴적될 수 있다. 비제한적인 예로서, TiN이 Al로 형성된 층(11-212)상에 퇴적될 수 있고, 임의적으로 그 후 Al_2O_3 의 퇴적이 수행된다. 층(11-212)은 임의의 적합한 두께로 퇴적될 수 있고, 일부 실시예들에서 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략 150nm의 두께를 가질 수 있다. 샘플 우물을 형성하기 위해, 캡핑된 기둥은 포토레지스트가 사용되는 경우에는 용매에 의해 또는 이산화 실리콘 또는 실리콘 질화물 하드 에칭 마스크들이 사용되는 경우에는 선택적 에칭에 의해 박리될 수 있다. 샘플 우물은 대략 50nm, 대략 100nm, 또는 대략 150nm의 직경을 가질 수 있다.

[0515] 대안적으로, 샘플 우물은 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 대안적인 리프트오프 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 도 11c는 통합 디바이스의 샘플 우물을 형성하는 예시적인 실시예를 도시한다. 하드 에칭 마스크 층(11-314)이 기판(11-310)상에 퇴적된다. 하드 에칭 마스크 층(11-314)은 Ti 또는 임의의 다른 적합한 재료를 포함할 수 있다. 기판(11-310)은 유전체(예를 들어, SiO_2) 또는 임의의 다른 적합한 재료를 포함할 수 있다. 그 후, ARC(11-322)의 층이 하드 에칭 마스크 층(11-314)상에 퇴적되고 이어서 포토레지스트 층(11-320)이 퇴적된다. 종래의 포토리소그래피 기법들이 레지스트의 기둥(11-320)이 형성되도록 포토레지스트를 패터닝하는 데 이용된다. 이 포토레지스트 기둥 패턴은 ARC 층(11-322) 및 하드 에칭 마스크 층(11-314)을 에칭하기 위한 에칭 마스크로서 사용된다. 그 후, 포토레지스트 층(11-320) 및 ARC(11-322)가 박리되고, 하드 에칭 마스크의 기둥(11-330)이 남게 된다. 종래 기법들이 나머지 포토레지스트 및 ARC 층을 기둥으로부터 용해시키기 위해 이용될 수 있다. 다음 공정은 기둥(11-330)의 상부에 직접 층(11-312)을 퇴적하여 캡핑된 기둥을 생성하는 것을 수반할 수 있다. 샘플 우물을 형성하기 위해, 캡핑된 기둥은 과산화수소 에칭 또는 다른 적합한 에칭에 의해 박리되며, 이는 층(11-314)을 부식시키고, 캡을 "리프트오프"하여 결과적으로 층(11-312)에 샘플 우물을 생성한다.

[0516] 일부 실시예들에서, 샘플 우물은 임의의 적합한 방식으로 샘플 우물을 통한 플라즈몬 투과를 감쇠시키도록 제조될 수 있다. 예를 들어, 샘플 우물은 다중층 스택으로 제조될 수 있다. 다중층 스택은 기판상에 퇴적된 금속 층, 흡수층 및/또는 표면층을 포함할 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 표면층은 부동태화 층일 수 있다. 다중층 스택은 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 종래의 패터닝 및 에칭 기법들이 이용될 수 있다. 금속층이 기판상에 퇴적될 수 있다. 대안으로, 흡수층이 금속층상에 퇴적될 수 있다. 대안적으로, 표면 부동태화 층이 흡수층/금속층 스택상에 퇴적될 수 있다. 포토레지스트 및 반사 방지층이 다중층 스택의 상부층 상에 퇴적될 수 있다. 포토레지스트 층은 샘플 우물의 치수들로 패터닝될 수 있다. 다중층 스택을 직접 에칭하여 샘플 우물을 형성할 수 있다.

[0517] 흡수층은 임의의 적합한 흡수 재료들을 포함할 수 있다. 비제한적인 예는 실리콘 질화물, TiN, aSi, TaN, Ge

및/또는 Cr을 포함한다. Si_3N_4 와 같은, 지명된 재료들의 변형도 가능하다. 금속층 및 표면층은 임의의 적합한 재료들로 제조될 수 있다. 예를 들어, Al, AlSi 또는 AlCu가 금속층에 사용될 수 있다. 표면층은 예를 들어, Al 또는 Al_2O_3 로 이루어질 수 있다. 다중층 스택 내의 샘플 우물은 전술한 프로세스들을 이용하여 제조될 수 있다.

[0518] 추가적으로 및/또는 대안적으로, 포토리소그래피 동안 광 범의 초점을 제어하기 위해 다중층 스택을 퇴적하기 전에 반사층이 기판의 상부에 직접 퇴적될 수 있다. 반사층은 기판의 상부에 직접 퇴적되고 샘플 우물의 치수들로 패터닝될 수 있다. 임의적으로, 반사 방지 코팅의 층과 이어서 포토레지스트의 층이 패터닝된 반사 코팅 층의 상부에 퇴적되고 기판상의 소정 위치에 ARC 및 포토레지스트의 기둥을 남기도록 패터닝될 수 있다. 다중 층 스택은 기둥, 반사층 및 기판의 상부에 퇴적될 수 있다. 캡핑된 기둥은 전술한 바와 같이 리프트오프 프로세스를 이용하여 제거되어, 기둥이 있던 기판의 위치에 샘플 우물을 형성할 수 있다.

[0519] 유사하게, Ti 기둥을 이용하여 샘플 우물을 생성할 수 있다. 제1 공정은 기판상에 Ti 층을 퇴적하고, 이어서 반사 방지 코팅의 층과 포토레지스트의 층을 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. Ti 층을 패터닝하고 에칭하여 Ti 기둥을 형성할 수 있다. 다중층 스택은 Ti 기둥 및 기판의 상부에 퇴적될 수 있다. 마지막으로, Ti 기둥을 제거하여 Ti 기둥이 있던 기판의 위치에 샘플 우물을 형성할 수 있다.

[0520] 임의의 적합한 퇴적 방법들이 이용될 수 있다. 예를 들어, PVD, CVD, 스퍼터링, ALD, 전자빔 퇴적 및/또는 열 증발이 하나 이상의 층을 퇴적하는 데 이용될 수 있다. 퇴적 환경은 퇴적들 사이에 층들의 산화를 방지하도록 제어될 수 있다. 예를 들어, 환경은 하나 이상의 층의 퇴적들 동안 및 퇴적들 사이에 고진공 및/또는 저산소 상태로 유지될 수 있다.

B. 동심 격자(불스아이) 제조 프로세스

[0522] 동심 격자 또는 불스아이가 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, 동심 격자는 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 에칭 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 동심 격자를 형성하기 위해 SiO_2 또는 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 유전체 재료가 사용될 수 있다. 도 11d에 도시된 실시예에서, SiO_2 층(11-1010)이 동심 격자를 만드는 데 이용된다. 제조 프로세스의 제1 공정은 SiO_2 층의 상부에 직접 하드 에칭 마스크(11-1014)를 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. 제조 프로세스의 다음 공정(단계 11-1001)은 하드 에칭 마스크 상에 반사 방지 코팅층(11-1022)의 상부에 직접 포토레지스트 층(11-1020)을 퇴적하는 것을 포함할 수 있다. 종래의 포토리소그래피 기법들을 이용하여 하드 에칭 마스크에 불스아이 패턴을 생성한다(단계 11-1003 및 단계 11-1005). 그 후, 불스아이 패턴을 에칭, 예를 들어 반응성 이온 에칭 기법들을 이용하여 하부의 SiO_2 층으로 전사하여(11-1007) 동심 격자를 형성한다. 동심 격자의 두께는 임의의 적합한 두께일 수 있다. 도 11d에 도시된 실시예에서, 에칭 깊이는 대략 80nm이다. 종래의 기법들을 이용하여 레지스트 및 에칭 마스크 잔여물들을 박리하고 동심 격자의 표면을 클리닝한다(단계 11-1009). 층(11-1012)의 나노 개구는 리프트오프 또는 에칭 프로세스들을 이용하여 동심 격자의 상부에 직접 제조될 수 있다(단계 11-1011). 다른 실시예들에서, 동심 격자와 나노 개구 사이에 다른 층들이 퇴적될 수 있다.

[0523] 대안적으로, 일부 실시예들에서, 나노 개구는 동심 격자의 중앙에 배치될 수 있다. 나노 개구의 이러한 정확한 정렬은 임의의 적합한 방식으로 달성될 수 있다. 도 11e에 도시된 실시예에서, 나노 개구의 배치는 자기 정렬된 제조 프로세스를 이용하여 달성된다. 제1 공정은 전술한 기법들에 따라 동심 격자를 형성하는 것을 수반할 수 있다. 그러나, 도 11e에서, Ti 하드 에칭 마스크(11-1114)가 SiO_2 기판(11-1110)의 상부에 퇴적된다(단계 11-1101). 불스아이 패턴은 에칭, 예를 들어 반응성 이온 에칭을 사용하여 Ti 층으로 전사된다(단계 11-1103 및 단계 11-1105). 레지스트 층(11-1120) 및 반사 방지 코팅 층(11-1122)을 Ti 층의 2개의 중심 캡 위에 퇴적하여 그 캡들 및 중심 Ti 기둥을 커버한다. 그 후, 불스아이 패턴을 종래의 에칭 기법들을 이용하여 SiO_2 기판으로 전사하여 동심 격자를 형성한다(단계 11-1107). Ti 층은 예를 들어 과산화물을 사용하여 등방성 습식 에칭(단계 11-1109)을 이용하여 제거되지만, 중심 Ti 기둥(11-1116)은 제자리에 남겨둔다. 그 후 종래의 기법들을 이용하여 레지스트 층을 박리한다. 그 후, 동심 격자 및 Ti 기둥의 상부에 금속 나노 개구 층을 퇴적한다(단계 11-1111). 마지막으로, 리프트오프 프로세스를 이용하여 금속 캡핑된 Ti 기둥을 제거하여 동심 격자에 대해 정밀하게 중심에 놓인 나노 개구를 남긴다.

[0524] 나노 개구의 정밀한 정렬은 다양한 다른 방법들로 달성될 수 있다. 도 11f에 도시된 실시예에서, 나노 개구의

배치는 대안적인 자기 정렬 제조 프로세스를 이용하여 달성된다. 제1 공정(11-1201)은 SiO_2 동심 격자 기판(11-1210)의 상부에 직접 Al 나노 개구 층(11-1212)을 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. 그 후, 하드 에칭 마스크(11-1214)가 Al 층의 상부에 퇴적될 수 있다. 도 11f에 도시된 실시예에서는, Ti가 사용되지만, 포토리소그래피 프로세스들과 호환되는 임의의 재료가 사용될 수 있다. 불스아이 패턴은 종래의 에칭 기법들을 이용하여 Ti 및 Al 층으로 전사된다(단계 11-1203 및 11-1205). 레지스트 층(11-1220) 및 반사 방지 코팅 층(11-1222)이 나노 개구가 형성될 위치를 커버하도록 Ti 및 Al 층들의 중심 캡 위에 퇴적된다. 그 후, 동심 격자를 형성하기 위해 종래의 에칭 기법들을 이용하여 불스 아이 패턴을 SiO_2 기판으로 전사한다(단계 11-1207). 추가적인 금속층을 Ti 및 제1 Al 층의 상부에 퇴적하여(단계 11-1209) 금속이 SiO_2 층의 공동들을 채우고 Ti 층 및 레지스트 층을 커버하도록 한다. 도 11f에 도시된 실시예에서는, Al이 추가적인 금속층으로서 사용되지만, 포토리소그래피 프로세스와 호환되는 다른 적합한 금속들이 사용될 수 있다. 마지막으로, 리프트오프 프로세스를 이용하여 금속 캡핑된 레지스트 기둥(11-1230)을 제거하여(단계 11-1211), 동심 격자에 대해 정밀하게 중심에 놓인 나노 개구를 남긴다.

[0525] C. 렌즈 제조 프로세스: 굴절 렌즈들

[0526] 굴절 렌즈 어레이는 나노 개구로의 여기의 집중 및 나노 개구로부터의 방출 광의 수집의 여기 및 효율을 개선하기 위해 임의의 적합한 방식으로 생성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 굴절 렌즈 어레이는 렌즈 어레이상의 "데드 존(dead zone)"을 최소화하기 위해 "캡이 없는(gapless)" 어레이일 수 있다. 도 11g에 도시된 실시예에서, 굴절 마이크로렌즈 어레이는 개별 렌즈들 사이에 캡이 없는 것으로 도시되어 있다. 일부 실시예들에서, "캡이 없는" 어레이를 제조하는 것은 두 번의 에칭 공정을 수반할 수 있다. 제1 에칭(단계 11-1801)은 마이크로렌즈 토포그래피의 깊이를 설정할 수 있다. 제2 에칭(단계 11-1803)은 제1 에칭에 후속하여 수행되어 하나의 렌즈가 또 다른 렌즈가 시작되는 에지에서 멈추도록 개별 마이크로렌즈들 사이의 평면 캡을 제거할 수 있다. 제1 및 제2 에칭의 합은 초점 거리를 정의한다. 도 11h에 도시된 실시예에서, 제1 HF 에칭 후(1), 제2 HF 에칭 후(2), 마이크로렌즈 어레이가 고굴절률 재료 실리콘 질화물로 코팅된 후(3), 및 고굴절률 재료가 연마되고 평탄화된 후(4)의 마이크로렌즈 어레이의 평면도가 도시되어 있다.

[0527] 굴절 렌즈 어레이 내의 각각의 굴절 렌즈는 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 예시적인 굴절 렌즈 어레이가 도 11i에 도시되어 있는데, 기판(11-2005)의 상부에 있는 유전체 렌즈 층(11-2003)의 상부에 있는 투명 스페이서 층(11-2001)의 상부에 나노 개구 층(11-2007)이 제조된다. 일부 실시예들에서, 굴절 렌즈는 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 에칭 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 굴절 렌즈를 형성하기 위해 SiO_2 또는 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 유전체 재료가 사용될 수 있다. 도 11j에 도시된 실시예에서, 실리콘 질화물이 SiO_2 기판 토포그래피를 채우기 위해 사용된다. 제조 프로세스의 제1 공정(11-2101)은 SiO_2 기판(11-2110)의 상부에 직접 하드 에칭 마스크를 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. 임의의 적합한 금속이 SiO_2 층에 대해 사용된 동일한 에칭 프로세스 동안 용해되지 않는 하드 에칭 마스크(11-2114)에 사용될 수 있다. 예를 들어, 도 11j에서는 Cr이 사용되지만, 다른 금속들도 가능하다. 다음 공정은 Cr 하드 에칭 마스크의 상부에 포토레지스트 층(11-2120)을 도포하는 것을 수반할 수 있다. 종래의 포토리소그래피 기법들을 이용하여 하드 에칭 마스크에 원형 패턴을 생성한다. 그 후 원형 패턴은 예를 들어, 반응성 이온 에칭 기법과 같은 종래의 에칭 기법들을 이용하여 하부의 Cr 층으로 전사된다. SiO_2 층은 하드 에칭 마스크가 아니라 SiO_2 를 에칭할 수 있는 임의의 적합한 선택적 에칭 기법을 이용하여 에칭된다. 예를 들어, HF를 사용하는 등방성 습식 에칭을 이용하여 SiO_2 층에 오목한 표면을 생성한다. 그 후 종래의 에칭 기법들을 이용하여 Cr 층을 제거한다. 임의적으로, HF를 사용하는 제2 습식 에칭을 수행하여 렌즈들 사이의 캡들을 제거한다. 굴절 렌즈를 생성하기 위해, SiO_2 층의 공동을 실리콘 질화물과 같은 고굴절률 재료층(11-2118)으로 채운다. 마지막으로, 예를 들어 화학 기계 연마와 같은 종래의 기법들로 렌즈의 상부 표면을 평탄화한다. 스페이서 층(11-2124)을 실리콘 질화물층의 상부에 퇴적할 수 있다. 예를 들어, ORMOCER™으로 제조된 스페이서 층을 실리콘 질화물층의 상부에 스판 코팅할 수 있다. 대안적으로, SiO_2 층을 퇴적할 수 있다. 나노 개구를 굴절 렌즈의 상부에 직접 제조할 수 있다. 다른 실시예들에서, 굴절 렌즈와 나노 개구 사이에 다른 층들이 퇴적될 수 있다.

[0528] 대안적으로, 각각의 굴절 렌즈는 광학 효율을 더 개선하기 위해 반사 방지층을 포함할 수 있다. 일부 실시예들에서, 반사 방지층은 렌즈의 하부, 상부, 또는 모든 측면을 코팅할 수 있다. 먼저, SiO_2 공동(11-2210)이 SiO_2 층으로 에칭된다(단계 11-2201). 도 11k에 도시된 실시예에서, 공동이 실리콘 질화물층(11-2218)으로 채워지기

(단계 11-2205) 전에 에칭된 SiO_2 공동(11-2210)상에 반사 방지층(11-2222)이 퇴적된다(단계 11-2203). 실리콘 질화물층은 CMP를 통해 연마되고(단계 11-2207), 연마된 실리콘 질화물층의 상부에 제2 반사 방지층(11-2226)이 퇴적된다(단계 11-2209). 도 11k에서 층(11-2224)으로 도시되고 위에 기술된 스페이서 층과 같은, 추가적인 층들이 반사 방지층의 상부에 퇴적될 수 있다. 반사 방지층들은 다음의 파라미터를 가질 수 있다: 굴절률, $n_c = \sqrt{n_{\text{oxide}}, n_{\text{nitride}}} = \sqrt{1.46 \cdot 1.91} = 1.67$; 1.67 내지 1.75의 굴절률 범위; 및 두께 $t = \lambda / (4 \cdot n_c) = 675 \text{ nm} / (1.670 \cdot 4) = 101.1 \text{ nm}$. 반사 방지층은 임의의 적합한 방식으로 퇴적될 수 있다. 예를 들어, PECVD가 이용될 수 있다. 대안적으로, LPCVD가 이용될 수 있다.

[0529] D. 렌즈 제조 프로세스: 프레넬 렌즈

[0530] 회절 광학 엘리먼트(DOE)는 임의의 적합한 형상을 가질 수 있고, CMOS 센서들에 대한 발광의 집중 및 발광 광자들의 소팅을 개선하기 위해 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 일부 실시예들에서, DOE는 프레넬 렌즈의 섹션을 포함할 수 있다. 도 11l 내지 도 11s에 도시된 바와 같이, DOE(11-2301)는 프레넬 렌즈 중심으로부터 오프셋된 정사각형 섹션으로 특징지어진다. 도 11m에 도시된 바와 같이, DOE는 제1 층(11-2401)이 "작은" 피처들을 포함하고 제2 층(11-2403)이 "큰" 피처들을 포함하는 2개의 단위 셀 층을 포함할 수 있다. 단위 셀 층들은 임의의 적합한 피치를 가질 수 있고, 프레넬 렌즈의 광학 설계에 따라 가변 피치를 더 가질 수 있다. 도 11m의 예에 도시된 바와 같이, 작은 DOE 층은 220nm의 피치를 가지며 큰 DOE 층은 440nm의 피치를 갖는다. 큰 DOE 층은 다중 레벨 회절 광학을 생성하기 위해 작은 DOE 층상에 오버레이될 수 있다(또는 그 반대). 도 11m은 오프셋 프레넬 렌즈(11-2405)의 예를 도시하는데, 큰 기준 마커들이 오프셋 프레넬 렌즈를 둘러싸고 있다. 또한, 오프셋 프레넬 어레이는 센서의 상부에 배치되어 센서로의 발광의 집중 및 스펙트럼 분리를 제공할 수 있다.

[0531] 대안적으로, 나노 개구로의 여기 에너지의 집중 및 나노 개구로부터의 발광의 수집을 개선하기 위해 회절 광학 엘리먼트(DOE)가 나노 개구 아래에 임베드될 수 있다. 일부 실시예들에서, 나노 개구 아래에 배치된 임베드된 프레넬 렌즈 및 센서 위에 배치된 오프셋 프레넬 렌즈는 가변 주기 및 가변 스텝 사이즈를 갖는 단층식(tiered) 구조를 가질 수 있다. 다른 실시예들에서, 센서 위에 배치된 오프셋 프레넬 렌즈만이 가변 주기 및 가변 스텝 사이즈를 가질 수 있다. 이를 회절 렌즈는 표준 포토리소그래피 프로세스들 및 에칭 기법들을 이용하여 제조될 수 있다. 도 11n에 도시된 바와 같이, 회절 렌즈 패턴(11-2501)은 큰 스텝들(큰 패턴) 및 각각의 더 큰 스텝상의 작은 스텝들(작은 패턴)을 포함하는 단층식 구조를 갖는 것으로 특징지어지고, 그 스텝들은 둘 다 왼쪽에서 오른쪽으로 볼 때 감소하는 주기를 갖는다. 가변 주기 스텝 형 회절 렌즈에 대한 제조 프로세스는 도 11p에 도시된 바와 같이 먼저 큰 스텝들을 에칭한 후, 작은 스텝들을 에칭하는 것을 수반할 수 있는데, 이는 제2 에칭 동안 큰 스텝들의 모서리를 보호할 수 있다. 대안적인 접근법은 도 11o에 도시된 바와 같이, 평평한 기판상에 먼저 작은 스텝들을 에칭하고, 이어서 큰 스텝들을 에칭하는 것이다. SiO_2 또는 실리콘 질화물, TiO_2 또는 Ta_2O_5 와 같은 임의의 적합한 유전체 재료가 회절 렌즈를 위한 필-인 층(fill-in layer) 및 단층식 층을 형성하는데 사용될 수 있다. 도 11o에 도시된 실시예에서는, 실리콘 질화물이 필-인 층을 형성하는 데 사용되고 SiO_2 가 단층식 층을 형성하는 데 사용된다.

[0532] 단층식 SiO_2 층의 제조 프로세스의 제1 공정은 SiO_2 층(11-2610)의 상부에 직접 하드 에칭 마스크(11-2614)를 퇴적하고 이어서 반사 방지층(11-2622)을 퇴적하고 이어서 포토레지스트 층(11-2620)을 퇴적하는 것을 수반할 수 있다. 임의의 적합한 재료가 하드 에칭 마스크에 사용될 수 있다. 예를 들어, a-Si가 도 11o에 도시된 하드 에칭 마스크에 사용될 수 있지만, 다른 재료들도 가능하다. 다음 공정은 a-Si 하드 에칭 마스크의 상부에 ARC 및/또는 포토레지스트 층을 도포하는 것을 수반할 있다. 종래의 포토리소그래피 기법들을 이용하여 가변 주기 큰 바이너리 패턴을 생성할 수 있다. 패턴들은 예를 들어 반응성 이온 에칭 기법들과 같은 종래의 에칭 기법들을 이용하여 하부의 Si 층으로 전사된다.

[0533] 큰 회절 렌즈 스텝의 에칭 깊이는 원하는 초점 거리를 달성하는 임의의 적합한 깊이일 수 있다. 도 11p에 도시된 실시예에서, SiO_2 층 내로의 이 에칭 깊이는 큰 스텝에 대해 대략 684nm이다. 그 후 종래의 기법들을 이용하여 레지스트 및 에칭 마스크 잔여물들을 박리하고(단계 11-2605) SiO_2 층의 표면을 클리닝한다. 다음 공정은 각각의 큰 스텝상에 작은 스텝들을 에칭하는 것을 수반할 수 있다. 도 11p에 도시된 실시예에서, 각각의 큰 스텝은 4개의 작은 스텝을 포함한다.

[0534] 그 후 제2 Si 하드 에칭 마스크(11-2644)가 패터닝된 SiO_2 층(11-2610)상에 퇴적된다. 그 후 ARC 층(11-

2642)이 Si 층(11-2610)의 상부에 퇴적되고 이어서 포토레지스트 예칭 마스크 층(11-2640)이 퇴적된다. 제2 가변 주기 작은 바이너리 패턴은 포토레지스트 및/또는 ARC 층으로 전사된다. 도 11p에 도시된 실시예에서, 제조 공정들은 도 11o에서 설명된 것과 유사하지만, 큰 스텝 당 2개의 작은 스텝이 예칭되어 총 4개의 스텝이 남는다. 다른 실시예들에서, 임의의 수의 스텝이 사용될 수 있다. 그 후 작은 스텝들이 SiO₂ 층(11-2710)으로 예칭된다. 작은 회절 렌즈 스텝의 두께는 임의의 적합한 두께일 수 있다. 도 11p에 도시된 실시예에서, SiO₂ 층으로의 예칭 깊이는 작은 스텝에 대해 대략 342nm이다. 그 후 종래의 기법들을 이용하여 레지스트를 박리하고 SiO₂ 층의 표면을 클리닝한다.

[0535] 단층식 SiO₂ 층(11-2810)의 생성에 이어서 제조 프로세스의 추가적인 스테이지들은 도 11q 내지 도 11r에 도시된 바와 같이, "임베드된 프레넬 렌즈"를 생성하기 위해, 예를 들어, 실리콘 질화물과 같은 임의의 적합한 고굴절률 렌즈 재료(11-2818)로 공동들을 채우는 것을 수반할 수 있다. "임베드된 프레넬 렌즈"에 사용된 단층식 구조는 오프셋 프레넬 렌즈에 사용된 단층식 구조와 대략 동일하고/하거나 더 작은 사이즈 피처들을 가질 수 있다. 예를 들어, PECVD와 같은 실리콘 질화물을 퇴적하는 임의의 방법이 이용될 수 있다. 임의적으로, 실리콘 질화물층은 SiO₂ 재료의 상부 스텝이 노출될 때까지 균일하게 연마될 수 있다. 대안적으로, 실리콘 질화물 층(11-2818)은 균일하게 연마되지만 SiO₂ 재료는 노출되지 않는다. 도 11r에 도시된 실시예에서, 그 후 SiO₂의 제2 층(11-2928)이 연마된 실리콘 질화물층(11-2918)의 상부에 PECVD를 통해 퇴적되고 CMP를 통해 연마된다. 일부 실시예들에서, 스페이서 층(11-2928)은 해당 스페이서 층 재료에서 초점 거리와 동일한 두께를 가질 수 있다. 또한, 다른 적합한 투명 스페이서 층들이 실리콘 질화물층의 상부에 퇴적될 수 있다. 그 후 나노 개구 층이 투명 스페이서 층 및/또는 추가적인 층들의 상부에 제조될 수 있다.

[0536] 대안적으로, 도 11s에 도시된 실시예에서, 회절 렌즈를 위한 단층식 층(11-3018)은 실리콘 질화물로 이루어진다. 실리콘 질화물층(11-3018)은 기판(11-3010)의 상부에 임의의 적합한 두께로 퇴적될 수 있으며, 이어서 예칭 마스크(11-3014), ARC 층(11-3022) 및 포토레지스트 층(11-3020)이 퇴적될 수 있다. 도 11s에 도시된 실시예에서, 실리콘 질화물층은 대략 1um 두께이다. 제조 프로세스들은 SiO₂에서 단층식 가변 주기 회절 렌즈 층을 생성하는 것과 관련하여 전술한 것과 유사할 수 있다. 임의적으로, 상이한 하드 마스크가 실리콘 질화물 단층식 층을 생성하기 위해 사용될 수 있다. 실리콘 질화물층 단층식 층은 SiO₂ 단층식 층과 대략 동일한 및/또는 유사한 사이즈 피처들을 가질 수 있다. 실리콘 질화물층이 만들어진 후에, 실리콘 질화물층은 임의의 적합한 유전체 재료(11-3028)로 코팅될 수 있다. 도 11s에 도시된 실시예에서, 실리콘 질화물층은 SiO₂ 층(11-3028)으로 코팅된다. SiO₂ 층은 예를 들어, PECVD와 같은 종래의 퇴적 프로세스들을 이용하여 퇴적될 수 있다. 그 후 SiO₂ 층을 연마하여 평탄한 평면 표면을 생성할 수 있다. 그 후 나노 개구 층이 SiO₂ 층 및/또는 추가적인 층의 상부에 제조될 수 있다.

[0537] 회절 광학의 특정 피처들은 원하는 광학 특성을 갖는 구조를 산출하기 위해 제조 프로세스 동안에 특정 정도의 균일성 및/또는 정확성을 요구할 수 있다. 예를 들어, 크고 작은 스텝들의 예칭 깊이는 특정 정도의 정확성을 요구할 수 있다. 일부 실시예들에서, 초점 스팟 나노 개구로의 원하는 전력 효율을 달성하기 위해 표적의 50% 또는 10% 내의 예칭 깊이가 요구될 수 있다. 또한, 렌즈 피처들의 예칭은 특정 정도의 균일성을 요구할 수 있다. 예를 들어, 원하는 초점 거리를 달성하기 위해서는 5%(또는 50nm) 이내의 예칭 균일성이 요구된다.

[0538] 전술한 렌즈들 중 임의의 렌즈는 개선된 광학 특성을 생성하기 위해 임의의 적합한 퇴적 및 예칭 프로세스들을 이용하여 제조될 수 있다. 제한이 아닌 예로서, PECVD가 이용될 수 있다. 퇴적 파라미터들은 자기 발광(autoluminescence)을 감소시키고, 발광의 렌즈 흡수를 감소시키고, 및/또는 높은 굴절률을 생성하기 위해 임의의 적합한 방식으로 조정될 수 있다. 예를 들어, 감소된 자기 발광 및 렌즈 흡수는 실리콘 질화물의 퇴적 동안 실리콘 나노 결정들을 형성할 수 있는 Si-Si 결합의 밀도를 감소시킴으로써 달성될 수 있다. 일부 실시예들에서, 입력 가스들 및 그 비율들은 Si-Si 결합 및 실리콘 나노 결정의 밀도를 감소시키도록 수정될 수 있다. 예를 들어, SiH₄ 및 N₂가 사용될 수 있고 그 비율들은 Si 나노 결정의 밀도를 감소시키기 위해 임의의 적합한 방식으로 조정될 수 있다. 다른 실시예들에서, SiH₄ 및 NH₃가 사용될 수 있고 그 비율들은 Si-Si 결합 및 실리콘 나노 결정의 밀도를 감소시키기 위해 임의의 적합한 방식으로 조정될 수 있다. 예를 들어, NH₃ 대 SiH₄의 비율은 적어도 10:1일 수 있다. 또한, PECVD 동안 플라스마를 제어하는 주파수들을 조정하는 것이 광학 특성을 개선하기 위해 이용될 수 있다. 예를 들어, 저주파수(예를 들어, 0.5MHz 미만) 대 고주파수(예를 들어, 10MHz 초파)

비율은 적어도 1:1일 수 있다.

[0539] 또한, 전술한 퇴적 파라미터들은 광학 특성을 개선하기 위해 렌즈 굴절률을 조정할 수 있다. 일부 실시예들에서, 실리콘 질화물 렌즈에 대한 굴절률은 $n=1.92$ 보다 작을 수 있으며 적합한 낮은 자기 발광 효과 및/또는 적합한 낮은 흡수 손실을 위해 633nm의 광장과 관련될 수 있다. 전술한 조정된 품질들은 서로 관련이 있거나, 비례하거나, 상관되거나, 연관되거나 및/또는 의존적일 수 있다. 예를 들어, $n=1.92$ 의 굴절률은 낮은 발광 및 낮은 흡수 손실을 나타내며, 이는 실리콘 질화물로 만들어진 렌즈에 대한 Si-Si 결합 및 실리콘 나노 결정의 저밀도와 관련된다.

[0540] X. 결론

[0541] 이와 같이 이 발명의 적어도 하나의 실시예의 몇몇 양태를 설명하였지만, 다양한 변경, 수정 및 개량이 관련 기술의 기술자에 의해 용이하게 안출될 것이라는 것을 인식해야 한다.

[0542] 이러한 변경, 수정 및 개량은 본 발명의 일부인 것으로 보아야 하며, 본 발명의 사상 및 범위 내에 속하는 것으로 보아야 한다. 또한, 본 발명의 이점들이 지시되었으나, 본 발명의 모든 실시예가 설명된 모든 이점을 포함하지는 않는 점이 이해되어야 한다. 일부 실시예들은 본 명세서에서 그리고 일부 예들에서 유리한 것으로 기술된 임의의 특징들을 구현하지 않을 수 있다. 따라서, 이상의 설명 및 도면들은 단지 예시에 불과하다.

[0543] 전술한 본 발명의 실시예들은 다수의 방식 중 임의의 방식으로 구현될 수 있다. 예를 들어, 이러한 실시예들은 하드웨어, 소프트웨어 또는 이들의 조합을 이용하여 구현될 수 있다. 소프트웨어로 구현될 때, 소프트웨어 코드는, 단일 컴퓨터에 제공되든지 또는 다수의 컴퓨터 사이에 분산되든지 간에, 임의의 적합한 프로세서 또는 프로세서들의 집합 상에서 실행될 수 있다. 이러한 프로세서들은 집적 회로들로서 구현될 수 있으며, 하나 이상의 프로세서는, CPU 칩들, GPU 칩들, 마이크로프로세서, 마이크로컨트롤러 또는 코프로세서와 같은 명칭들로 본 기술분야에 알려진 상업적으로 입수가능한 집적 회로 커먼트들을 포함하는 집적 회로 커먼트에 있다. 대안적으로, 프로세서는, ASIC과 같은 맞춤형 회로, 또는 프로그래머블 로직 디바이스를 구성하는 것으로부터 기인하는 반맞춤형 회로로 구현될 수 있다. 추가 대안으로서, 프로세서는, 상업적으로 입수가능하든지, 반맞춤형이든지 또는 맞춤형이든지 간에, 더 큰 회로 또는 반도체 디바이스의 일부일 수 있다. 특정 예로서, 일부 상업적으로 입수가능한 마이크로프로세서들은 다수의 코어를 갖고, 그에 의해 그러한 코어들 중 하나 또는 서브세트는 프로세서를 구성할 수 있다. 그러나, 프로세서는 임의의 적합한 포맷으로 회로를 이용하여 구현될 수 있다.

[0544] 또한, 컴퓨터는, 랙 장착 컴퓨터, 데스크톱 컴퓨터, 랩톱 컴퓨터 또는 태블릿 컴퓨터와 같이 다수의 형태 중 임의의 형태로 구현될 수 있다는 점이 인식되어야 한다. 추가적으로, 컴퓨터는, PDA(Personal Digital Assistant), 스마트폰, 또는 임의의 다른 적합한 휴대용 또는 고정형 전자 디바이스를 포함하여, 일반적으로 컴퓨터로 간주되지는 않지만 적합한 처리 능력들을 갖는 디바이스에 임베딩될 수 있다.

[0545] 또한, 컴퓨터는 하나 이상의 입력 및 출력 디바이스를 가질 수 있다. 이러한 디바이스들은 특히 사용자 인터페이스를 제공하기 위해 이용될 수 있다. 사용자 인터페이스를 제공하는 데 이용될 수 있는 출력 디바이스들의 예들은 출력의 시각적 제시를 위한 프린터들이나 디스플레이 스크린들, 및 출력의 가청 제시를 위한 스피커들 또는 다른 사운드 생성 디바이스들을 포함한다. 사용자 인터페이스를 위해 이용될 수 있는 입력 디바이스들의 예들은 키보드들 및 포인팅 디바이스들, 예컨대 마우스들, 터치 패드들 및 디지타이징 태블릿들을 포함한다. 또 다른 예로서, 컴퓨터는 음성 인식을 통해 또는 다른 가청 포맷으로 입력 정보를 수신할 수 있다.

[0546] 이러한 컴퓨터들은, 근거리 통신망 또는 광역 통신망, 예를 들어 기업 네트워크 또는 인터넷을 포함하여, 임의의 적합한 형태의 하나 이상의 네트워크에 의해 상호접속될 수 있다. 이러한 네트워크들은 임의의 적합한 기술에 기초할 수 있고, 임의의 적합한 프로토콜에 따라 동작할 수 있으며, 무선 네트워크들, 유선 네트워크들 또는 광섬유 네트워크들을 포함할 수 있다.

[0547] 또한, 본 명세서에 개략 설명된 다양한 방법들 또는 프로세스들은 다양한 운영 체제들 또는 플랫폼들 중 임의의 하나를 이용하는 하나 이상의 프로세서 상에서 실행가능한 소프트웨어로서 코딩될 수 있다. 추가적으로, 이러한 소프트웨어는 다수의 적합한 프로그래밍 언어 및/또는 프로그래밍 또는 스크립팅 툴 중 임의의 것을 이용하여 작성될 수 있고, 또한 프레임워크 또는 가상 머신 상에서 실행되는 실행가능한 머신 언어 코드 또는 중간 코드(intermediate code)로서 컴파일링될 수 있다.

[0548] 이 점에 있어서, 본 발명은, 하나 이상의 컴퓨터 또는 다른 프로세서들 상에서 실행될 때, 위에서 논의된 본 발명의 다양한 실시예들을 구현하는 방법들을 수행하는 하나 이상의 프로그램으로 인코딩된 컴퓨터 판독가능 스토리지 매체(또는 다수의 컴퓨터 판독가능 매체)(예를 들어, 컴퓨터 메모리, 하나 이상의 플로피 디스크, 컴팩트

디스크(CD), 광학 디스크, 디지털 비디오 디스크(DVD), 자기 테이프, 플래시 메모리, 필드 프로그래머블 케이트 어레이 또는 다른 반도체 디바이스에서의 회로 구성, 또는 다른 유형의 컴퓨터 스토리지 매체)로서 구현될 수 있다. 전술한 예들로부터 명백한 바와 같이, 컴퓨터 판독가능 스토리지 매체는 비일시적인 형태로 컴퓨터 실행 가능 명령어들을 제공하기에 충분한 시간 동안 정보를 보유할 수 있다. 이러한 컴퓨터 판독가능 스토리지 매체 또는 매체들은 전송가능할 수 있고, 그에 의해 거기에 저장된 프로그램 또는 프로그램들은 위에서 논의된 바와 같은 본 발명의 다양한 양태들을 구현하기 위해 하나 이상의 상이한 컴퓨터 또는 다른 프로세서들상에 로딩될 수 있다. 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "컴퓨터 판독가능 스토리지 매체"는 제조(즉, 제조 물품) 또는 머신으로 간주될 수 있는 컴퓨터 판독가능 매체만을 포괄한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 본 발명은 전파 신호와 같이 컴퓨터 판독가능 스토리지 매체와는 다른 컴퓨터 판독가능 매체로서 구현될 수 있다.

[0549] 용어 "프로그램" 또는 "소프트웨어"는 본 명세서에서 전술된 바와 같은 본 발명의 다양한 양태를 구현하기 위해 컴퓨터 또는 다른 프로세서를 프로그램하는 데 이용될 수 있는 임의의 형태의 컴퓨터 코드 또는 컴퓨터 실행 가능 명령어의 세트를 언급하기 위해 일반적인 의미에서 사용된다. 추가적으로, 이러한 실시예의 하나의 양태에 따르면, 실행될 때 본 발명의 방법을 수행하는 하나 이상의 컴퓨터 프로그램은 단일 컴퓨터 또는 프로세서에 상주할 필요가 없고, 본 기술의 다양한 양태를 구현하기 위해 다수의 상이한 컴퓨터들 또는 프로세서들 사이에서 모듈식으로 분산될 수 있음을 이해하여야 한다.

[0550] 컴퓨터 실행가능 명령어들은 하나 이상의 컴퓨터 또는 다른 디바이스들에 의해 실행되는 프로그램 모듈들과 같이 많은 형태로 이루어질 수 있다. 일반적으로, 프로그램 모듈들은, 특정 태스크들을 수행하거나 특정 추상 데이터 유형들을 구현하는 루틴들, 프로그램들, 오브젝트들, 컴포넌트들, 데이터 구조들 등을 포함한다. 전형적으로, 프로그램 모듈들의 기능성은 다양한 실시예들에서 요구되는 바와 같이 결합되거나 분산될 수 있다.

[0551] 또한, 데이터 구조들은 임의의 적합한 형태로 컴퓨터 판독가능 매체에 저장될 수 있다. 예시의 단순성을 위해, 데이터 구조들은 데이터 구조에서의 위치를 통해 관련되는 필드들을 갖는 것으로 도시될 수 있다. 마찬가지로, 이러한 관계는 필드들 사이의 관계를 전달하는 컴퓨터 판독가능 매체에서의 위치들을 갖는 필드들에 대한 스토리지를 할당함으로써 달성될 수 있다. 그러나, 데이터 엘리먼트들 사이의 관계를 확립하는 포인터들, 태그들 또는 다른 메커니즘들의 이용을 통하는 것을 포함하여, 데이터 구조의 필드들에서의 정보 사이의 관계를 확립하는 데 임의의 적합한 메커니즘이 이용될 수 있다.

[0552] 본 발명의 다양한 양태들이 단독으로, 조합하여, 또는 이상에 기술한 실시예에서 구체적으로 논의되지 않은 각종의 구성으로 사용될 수 있으며, 따라서 그의 응용이 이상의 설명에 기술되고 첨부 도면들에 제시된 구성요소의 상세 및 구성으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 일 실시예에 설명된 양태들은 다른 실시예들에 설명된 양태들과 임의의 방식으로 결합될 수 있다.

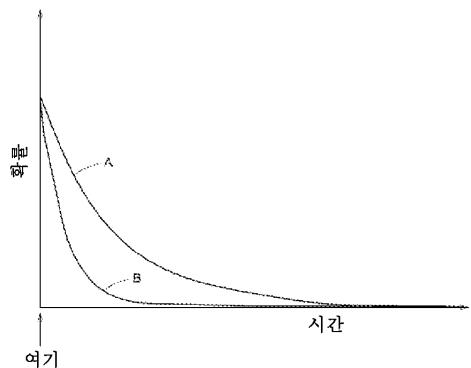
[0553] 또한, 본 발명은 방법으로서 구체화될 수 있고, 그에 대한 적어도 하나의 예가 제공되었다. 이 방법의 일부로서 수행되는 단계들은 임의의 적합한 방식으로 순서화될 수 있다. 그에 따라, 단계들이 예시된 것과 상이한 순서로 수행되는 실시예가 구성될 수 있으며, 이는, 비록 예시적인 실시예들에서는 순차적인 단계들로서 나타내어져 있을지라도, 일부 단계들을 동시에 수행하는 것을 포함할 수 있다.

[0554] 청구항 엘리먼트를 수식하기 위해 청구항들에서 "제1", "제2", "제3" 등과 같은 서수 용어들을 이용하는 것은 그 자체로 하나의 청구항 엘리먼트의 다른 청구항 엘리먼트에 대한 임의의 우선순위, 우선권 또는 순서, 또는 방법의 단계들이 수행되는 시간 순서를 내포하지는 않으며, 청구항 엘리먼트들을 구별하기 위해 특정 명칭을 갖는 하나의 청구항 엘리먼트를 (서수 용어의 사용이 없다면) 동일한 명칭을 갖는 다른 엘리먼트와 구별하는 라벨들로서 단지 이용된다.

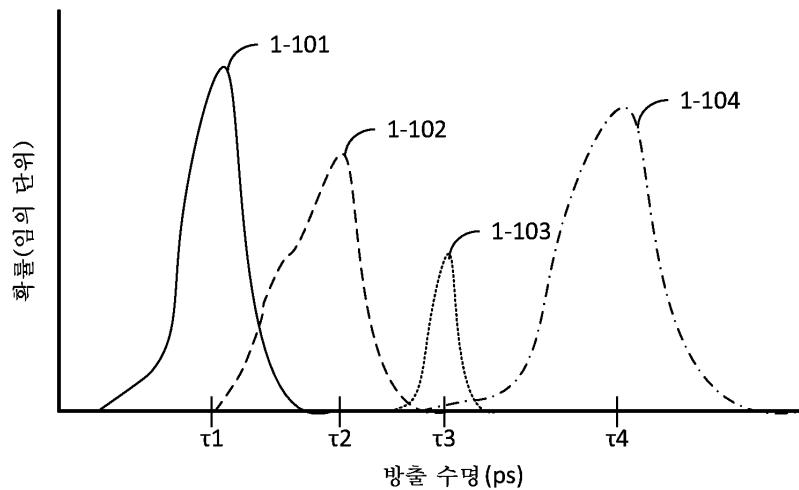
[0555] 또한, 본 명세서에서 사용되는 어구 및 용어는 설명의 목적을 위한 것이며, 제한적으로 간주되어서는 안 된다. 본 명세서에서 "포함하는", "구비하는", 또는 "갖는", "내포하는", "수반하는" 및 이들의 변형을 사용하는 것은 그 앞에 열거되는 항목 및 그의 등가물뿐만 아니라 추가적인 항목을 포괄하기 위한 것이다.

도면

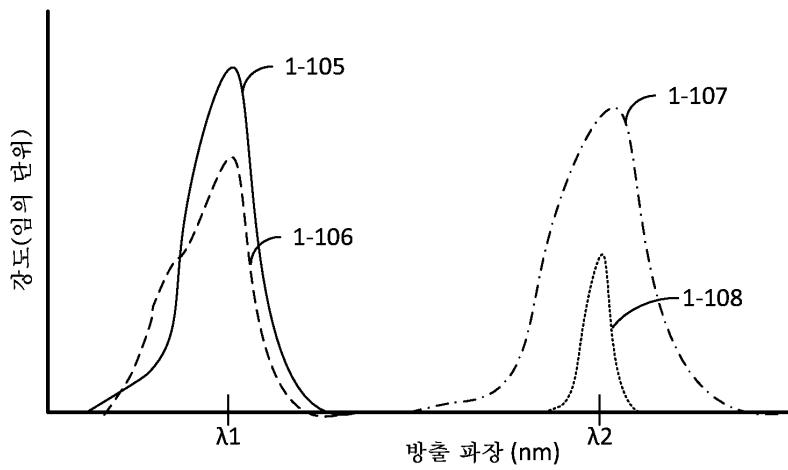
도면 1a



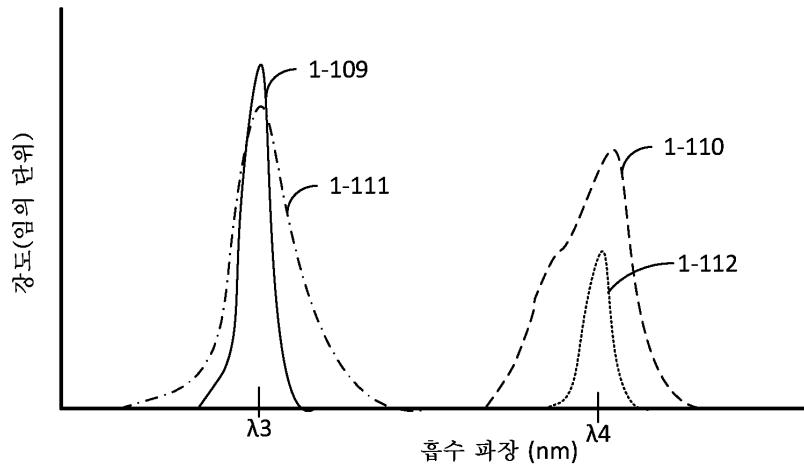
도면 1ba



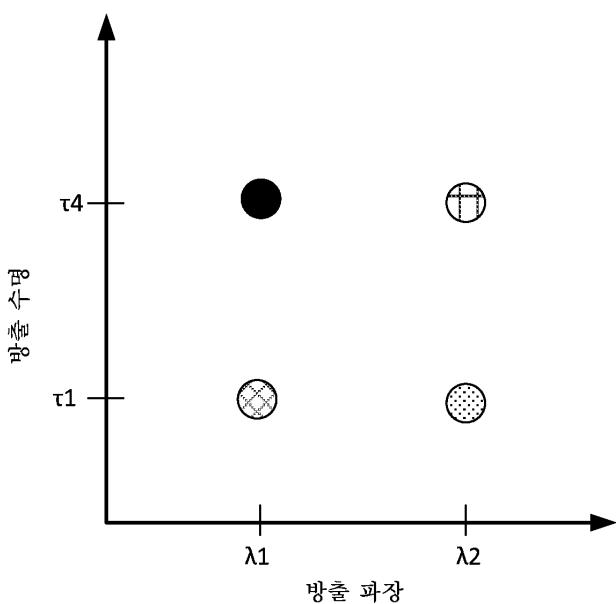
도면 1bb



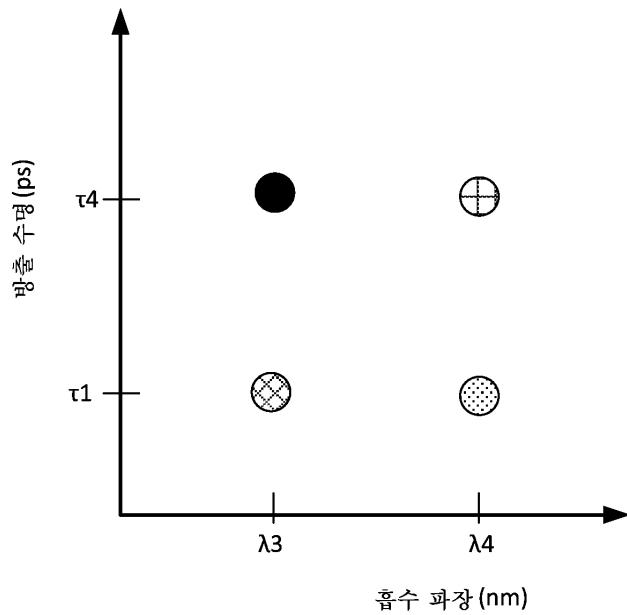
도면 1bc



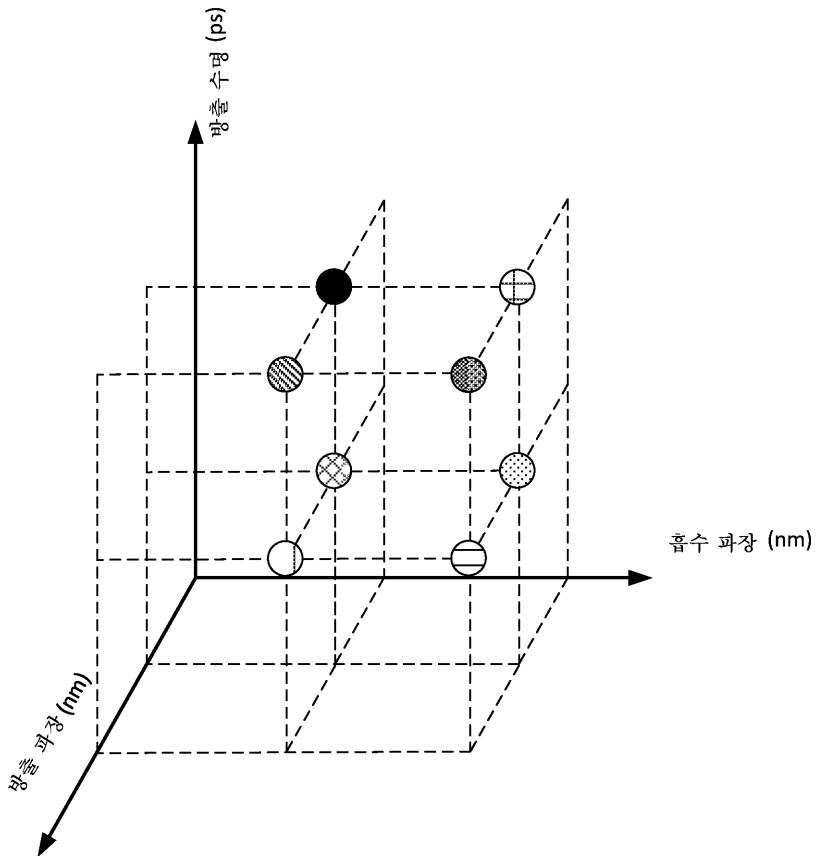
도면 1ca



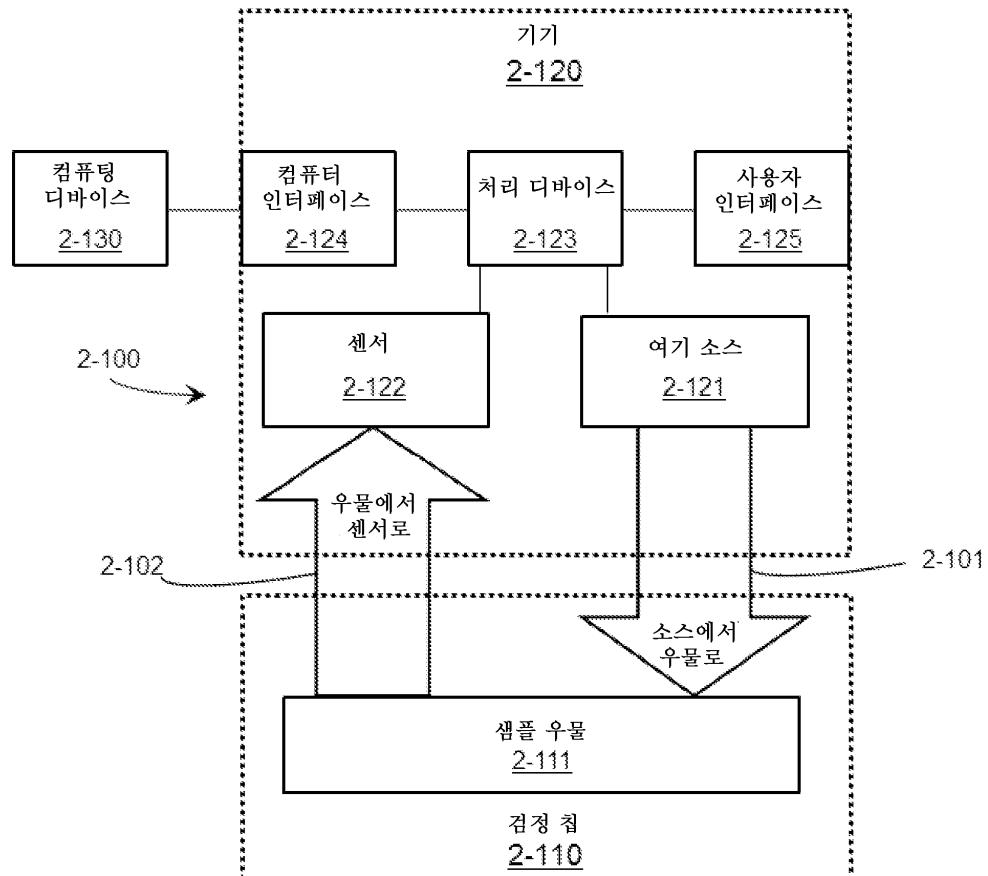
도면 1cb



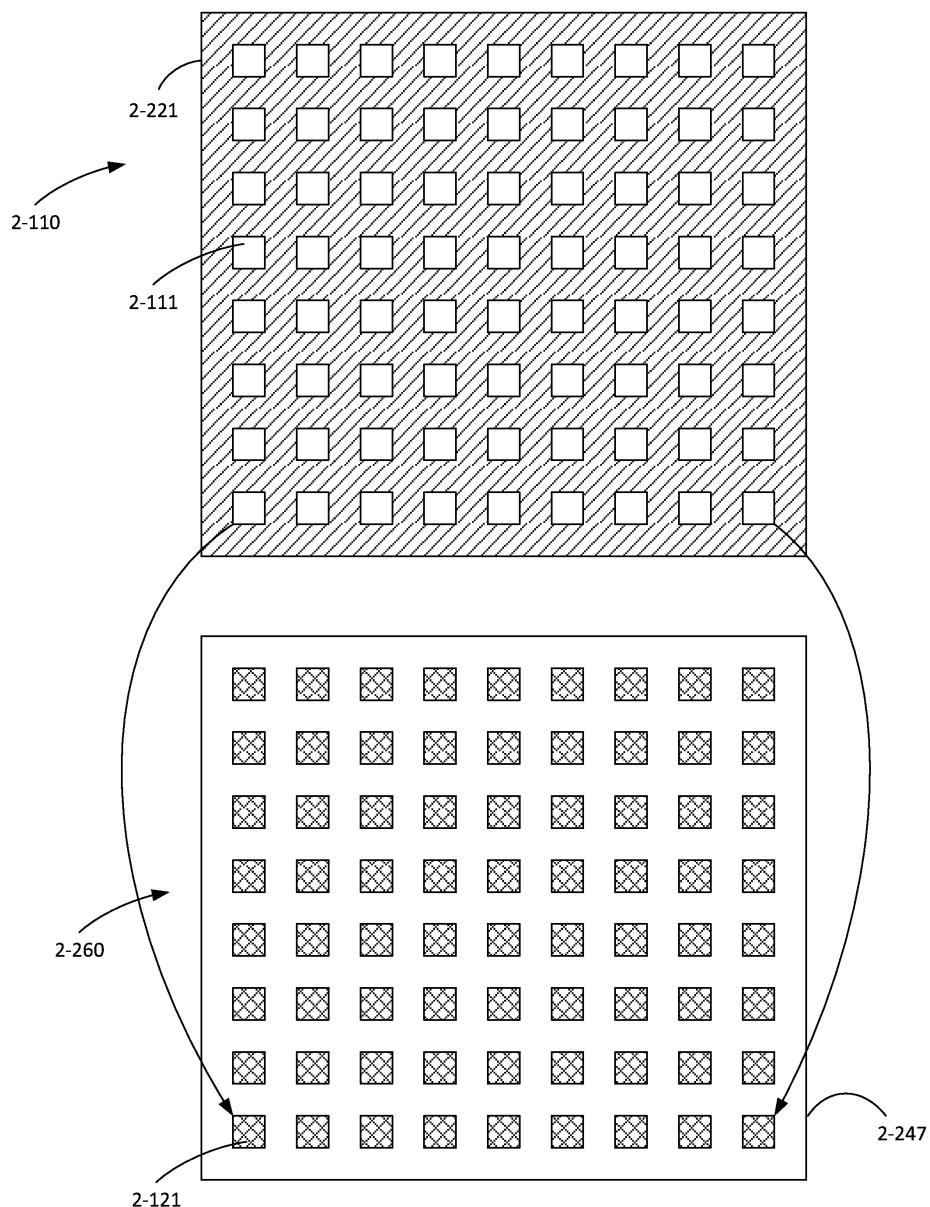
도면 1d



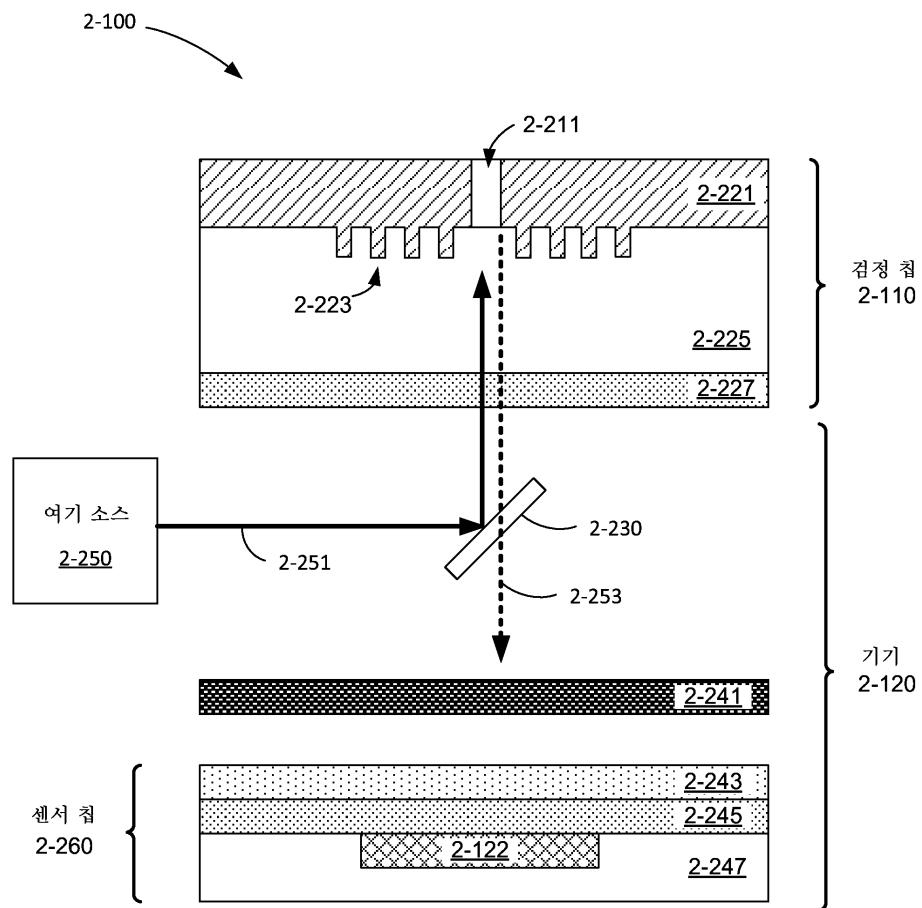
도면2a



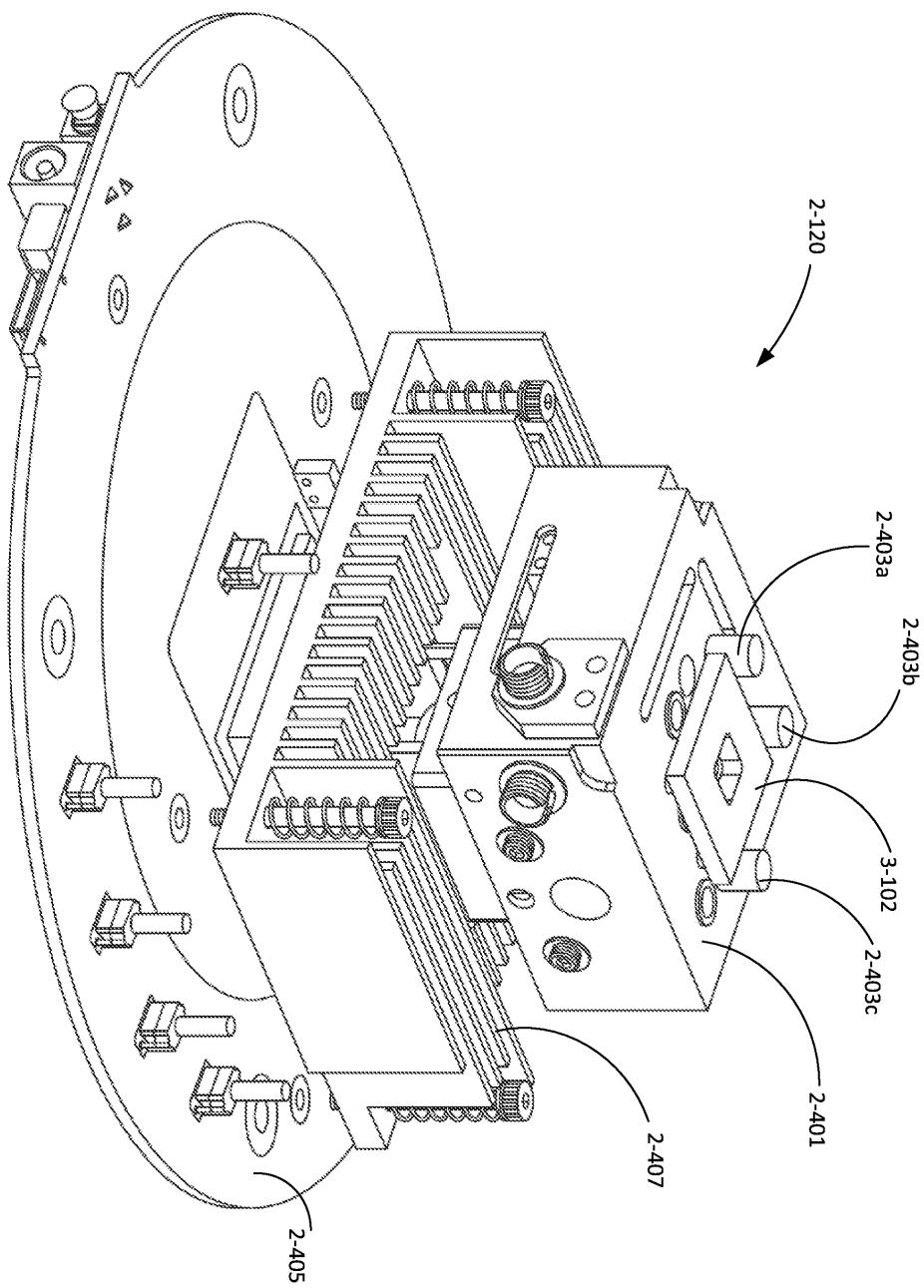
도면2b



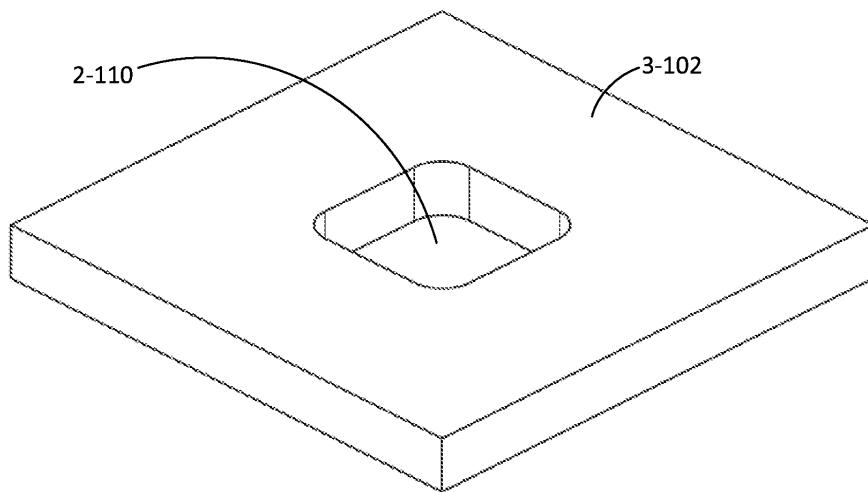
도면2c



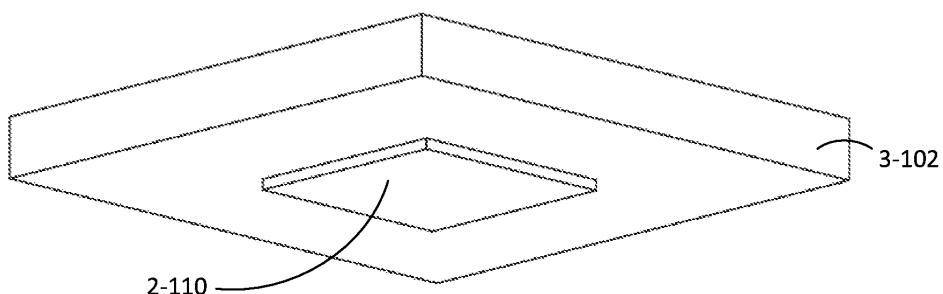
도면2d



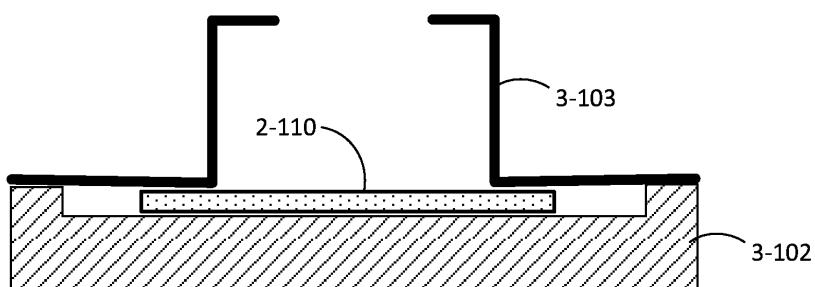
도면3aa



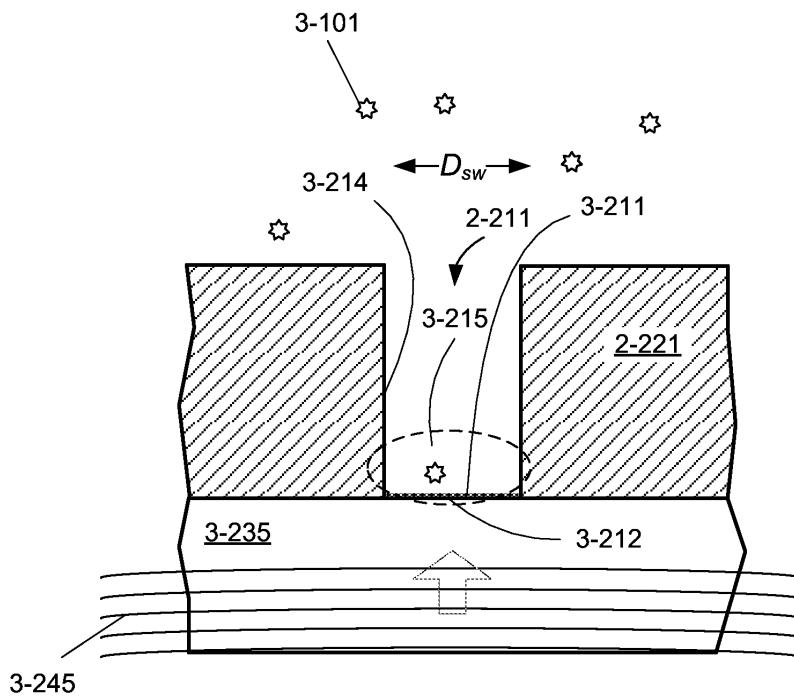
도면3ab



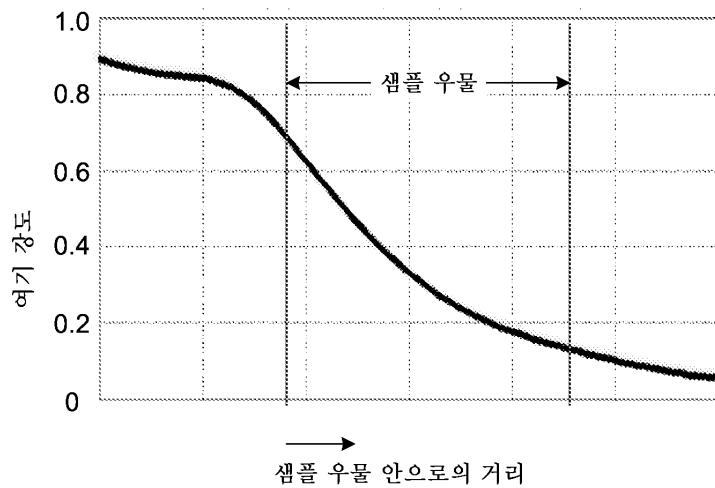
도면3ac



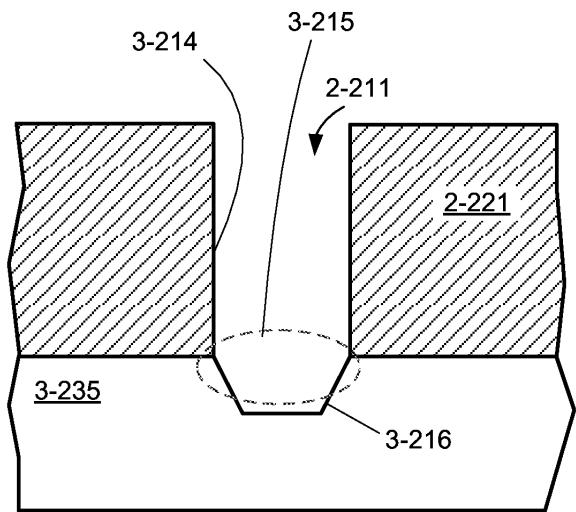
도면3b



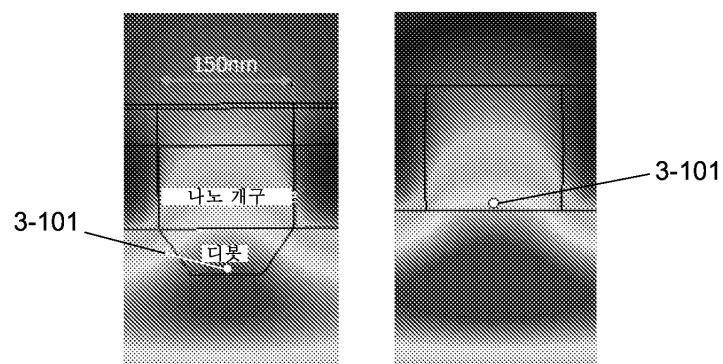
도면3c



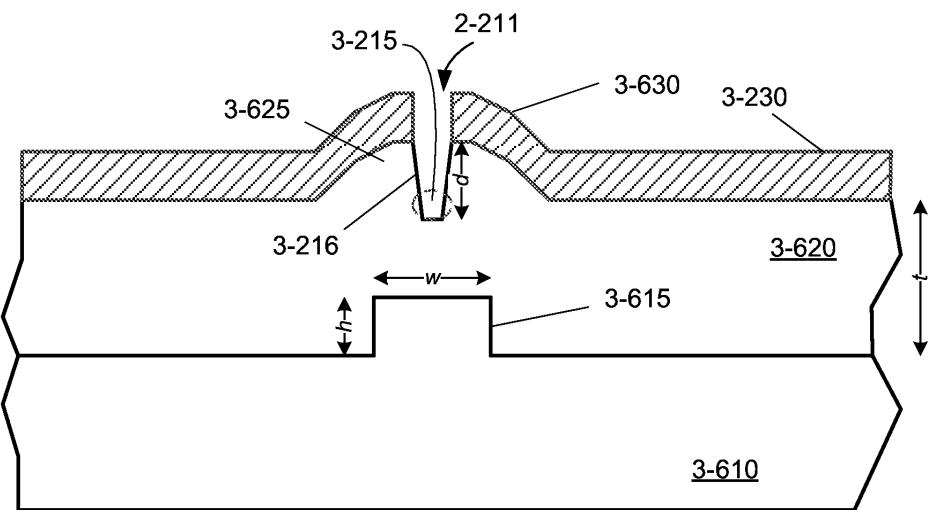
도면3d



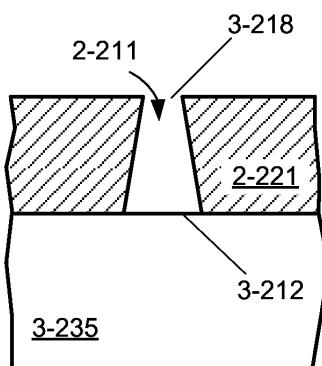
도면3e



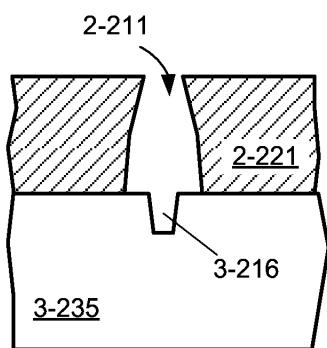
도면3f



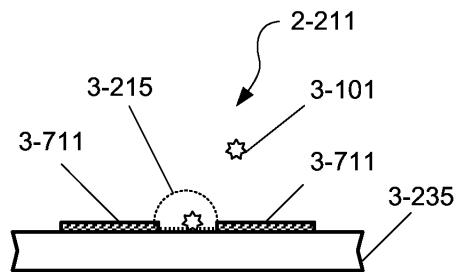
도면3ga



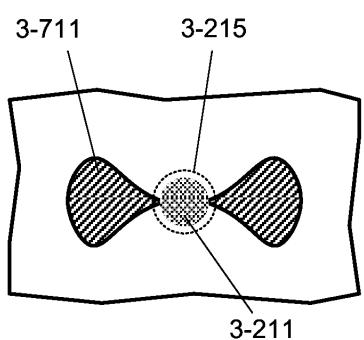
도면3gb



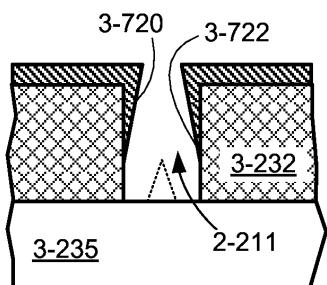
도면3gc



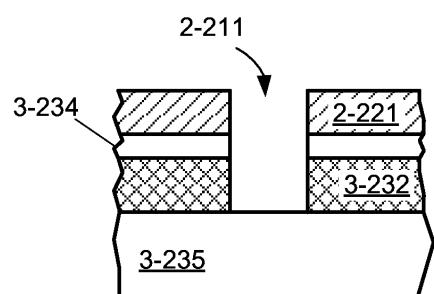
도면3gd



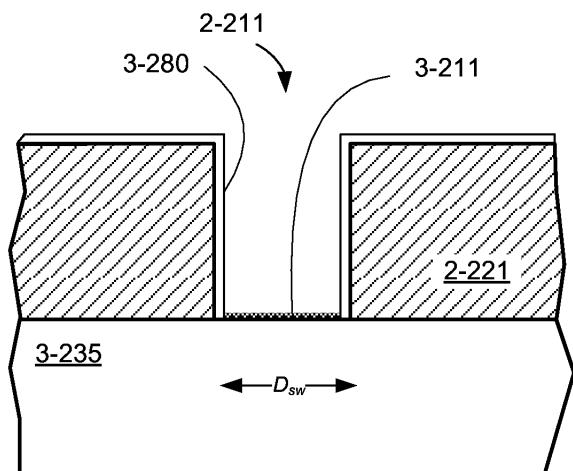
도면3ge



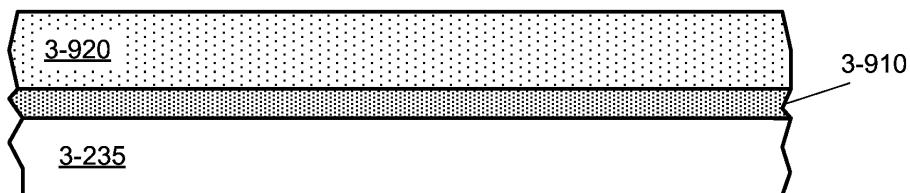
도면3gf



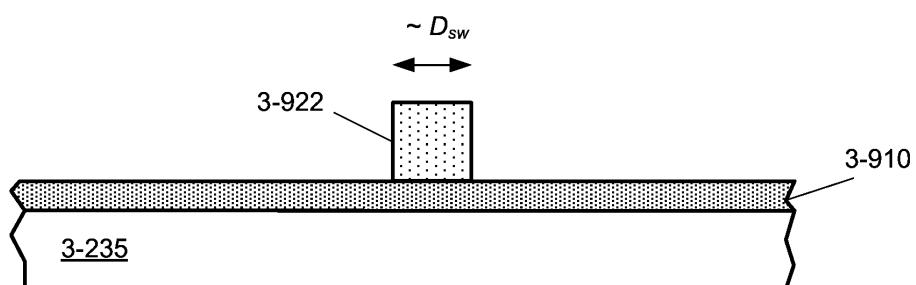
도면3h



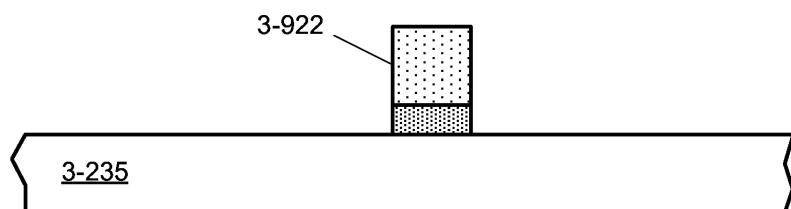
도면3ia



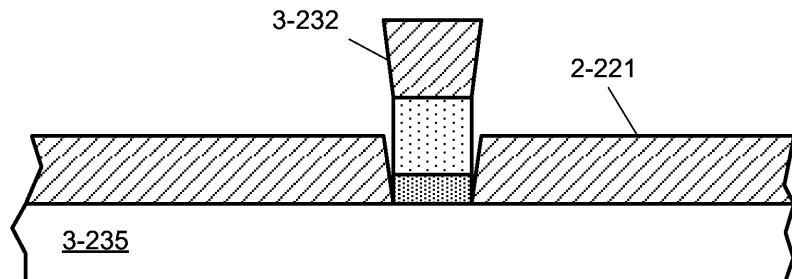
도면3ib



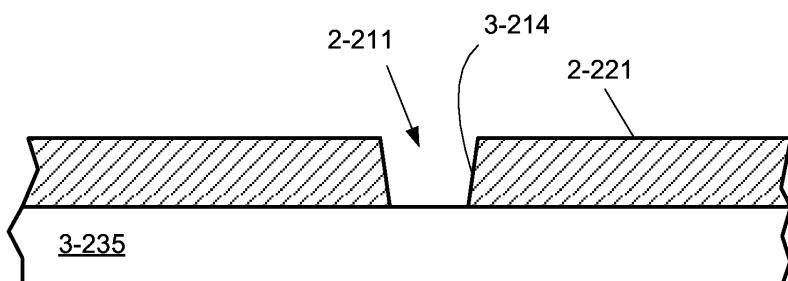
도면3ic



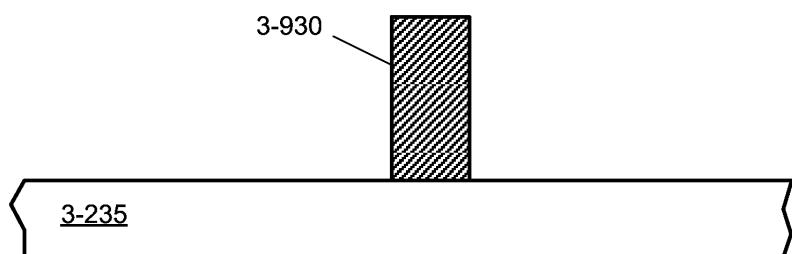
도면3id



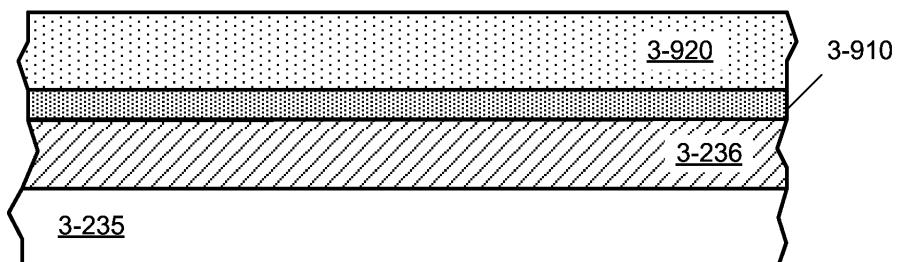
도면3ie



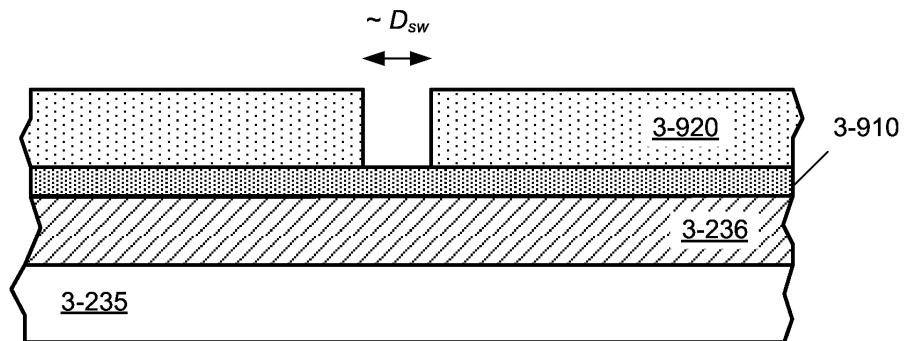
도면3if



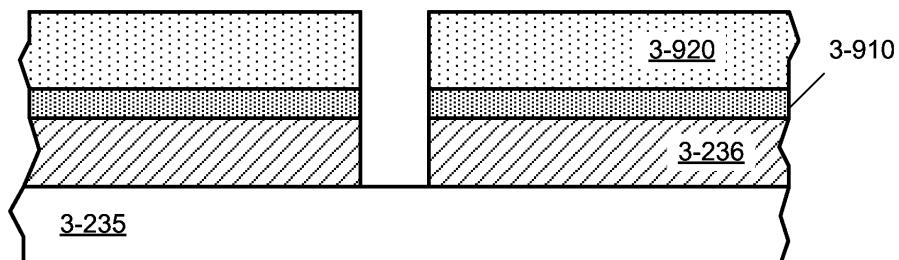
도면3ja



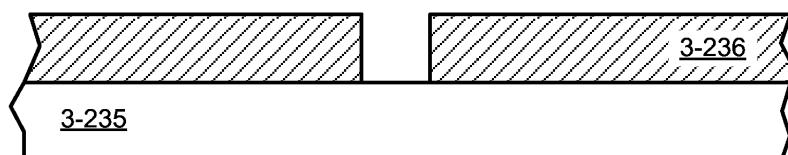
도면3jb



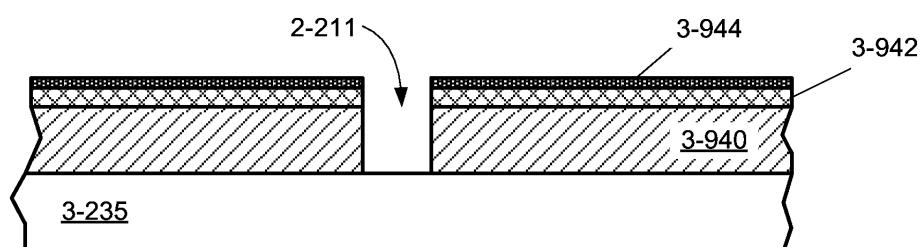
도면3jc



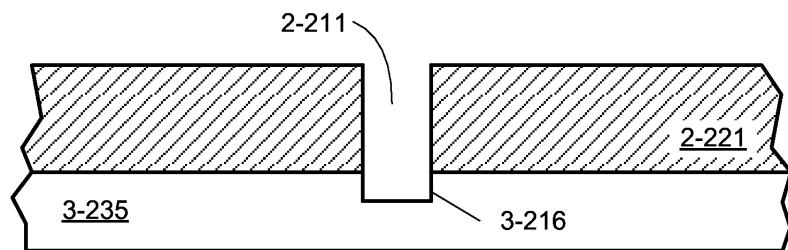
도면3jd



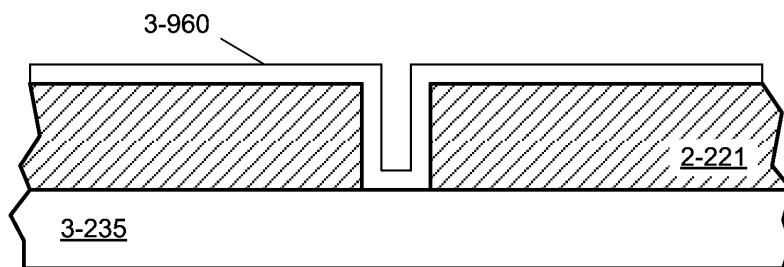
도면3k



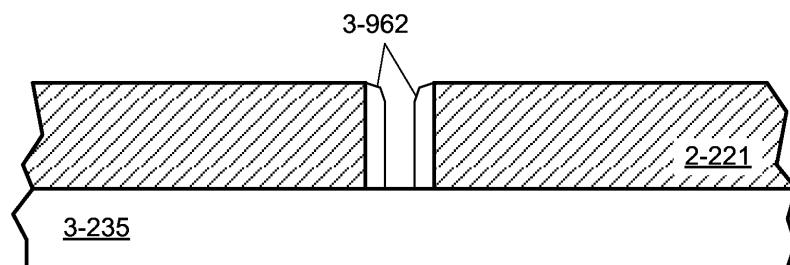
도면31



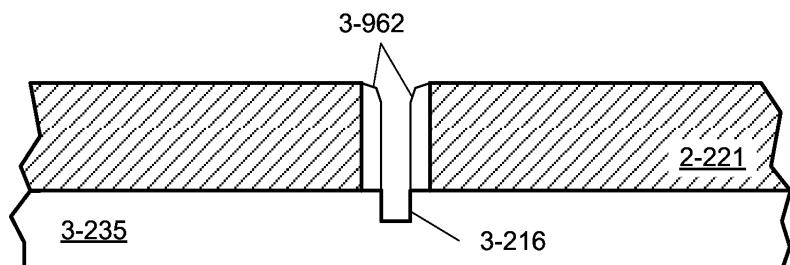
도면3ma



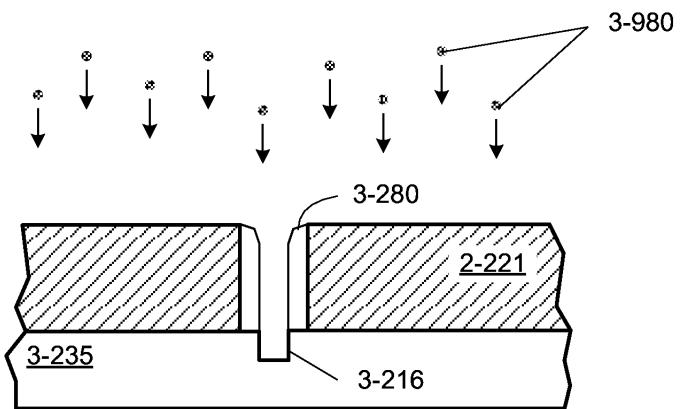
도면3mb



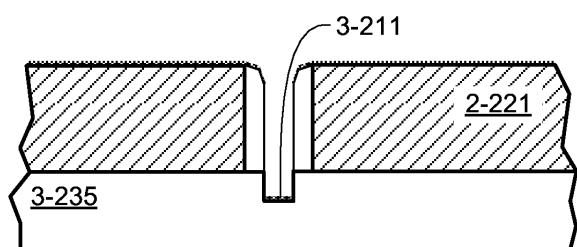
도면3mc



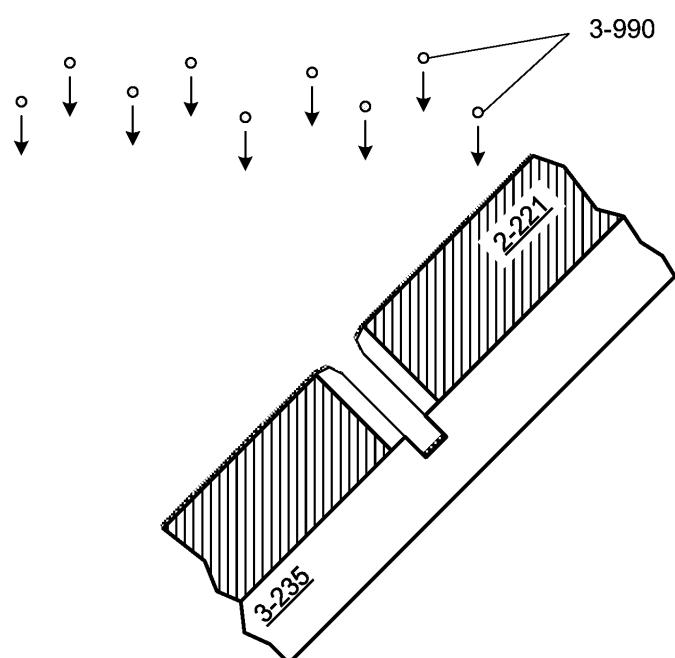
도면3na



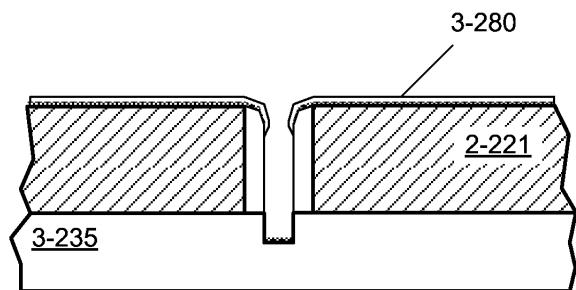
도면3nb



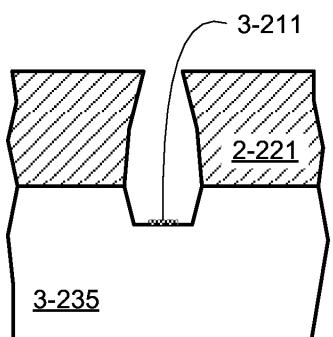
도면3nc



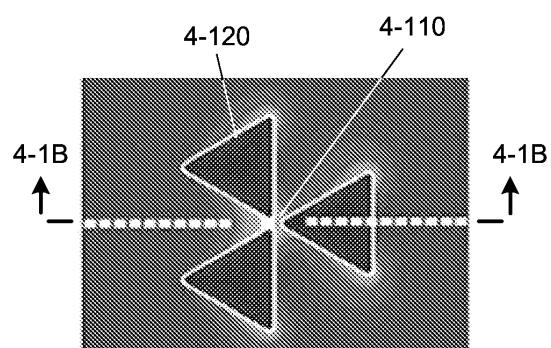
도면3nd



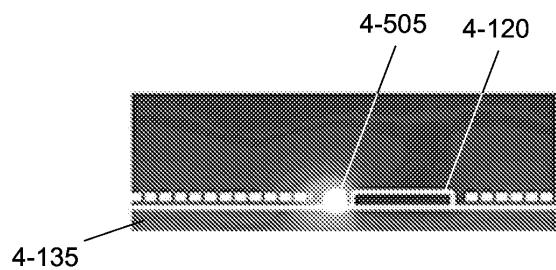
도면3o



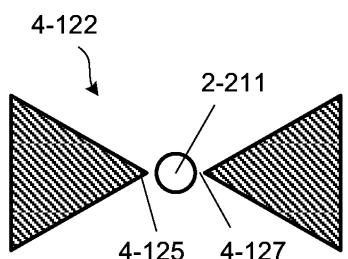
도면4aa



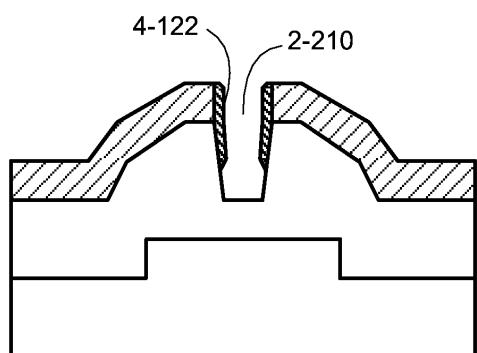
도면4ab



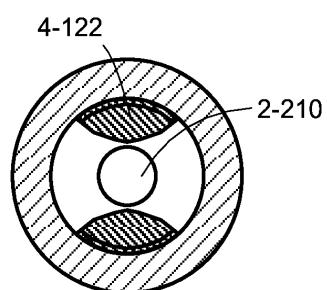
도면4ac



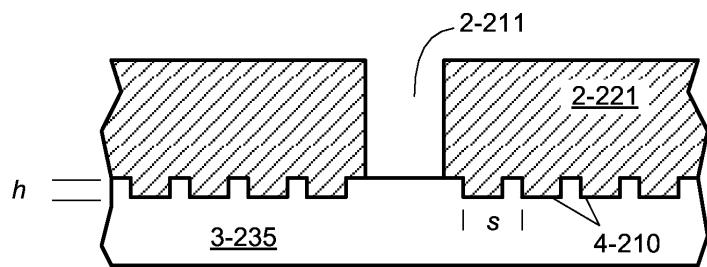
도면4ad



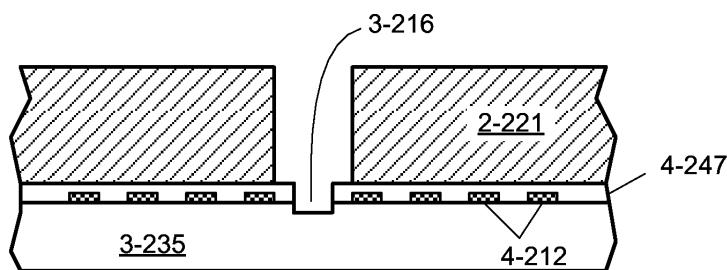
도면4ae



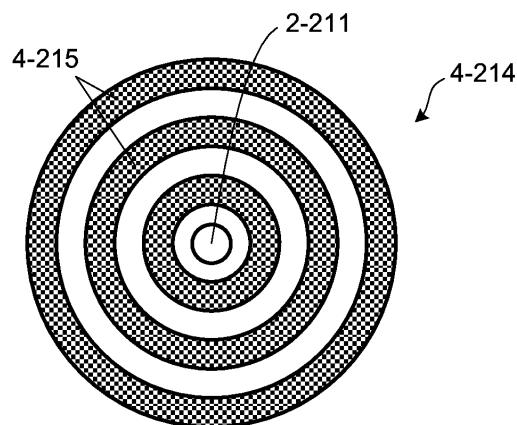
도면4ba



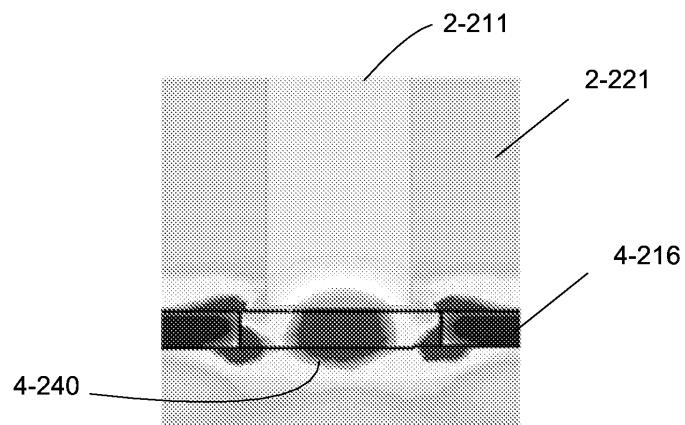
도면4bb



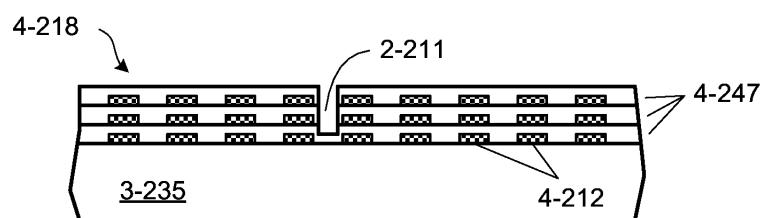
도면4bc



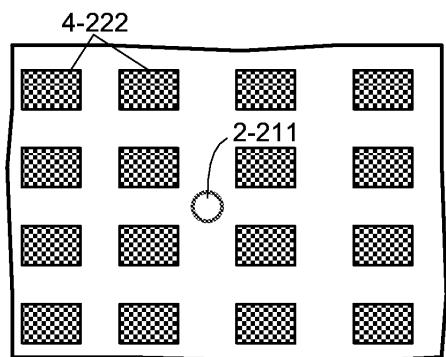
도면4bd



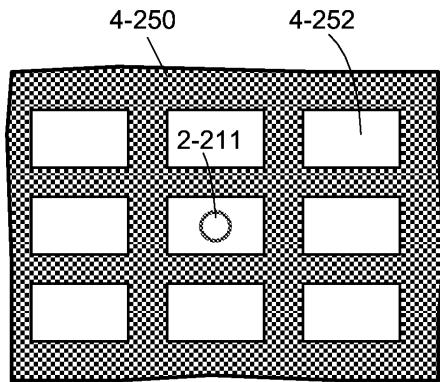
도면4be



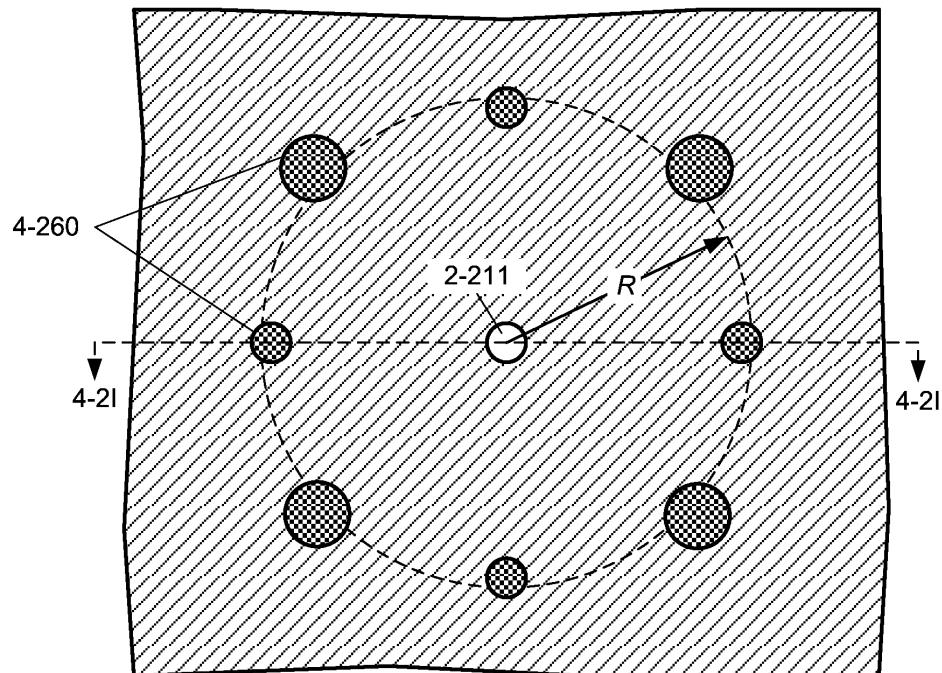
도면4bf



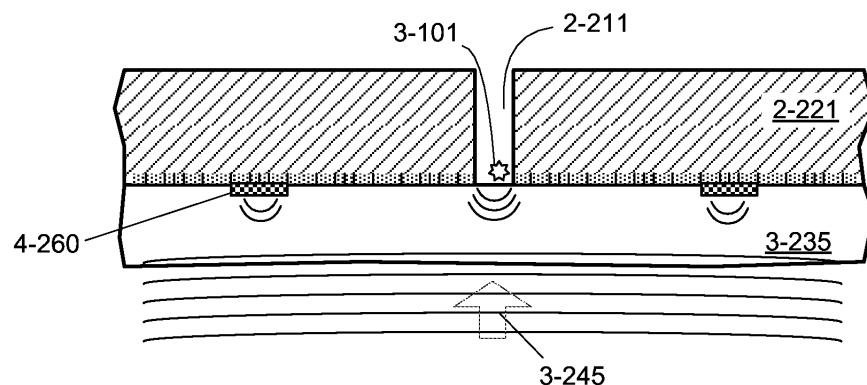
도면4bg



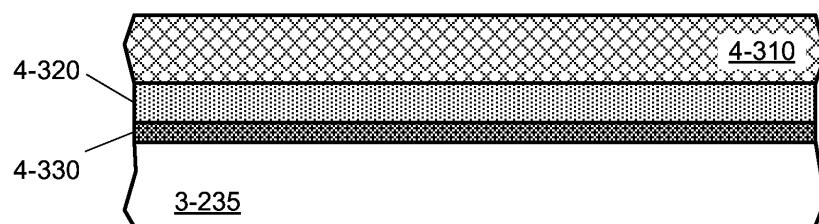
도면4bh



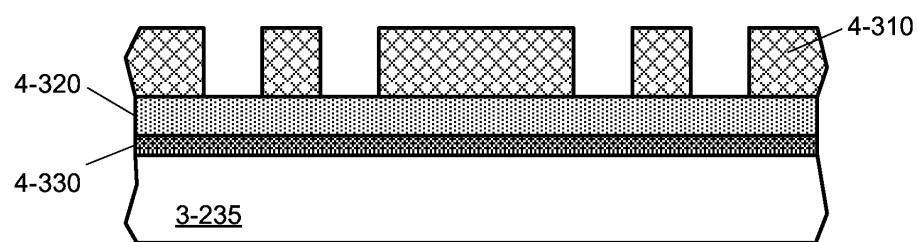
도면4bi



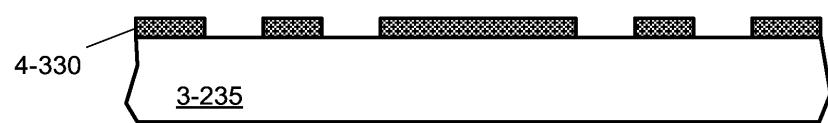
도면4ca



도면4cb



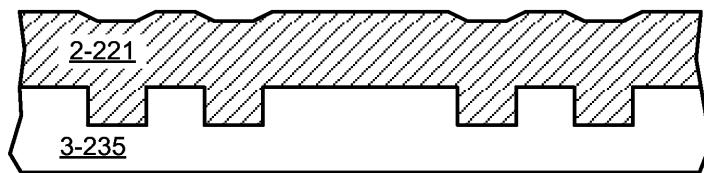
도면4cc



도면4cd



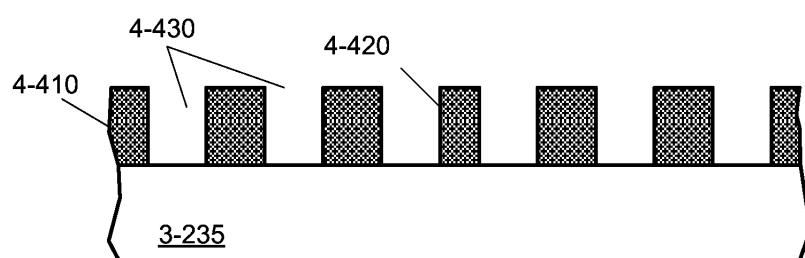
도면4ce



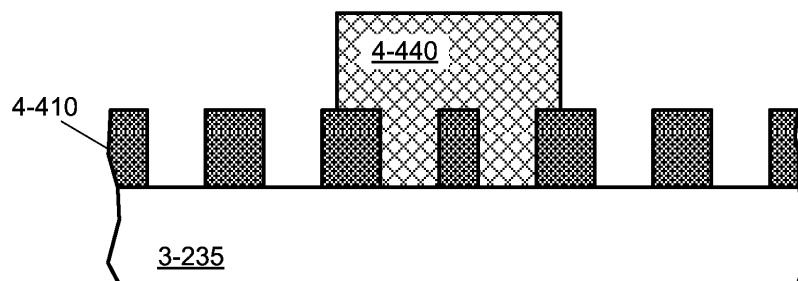
도면4da



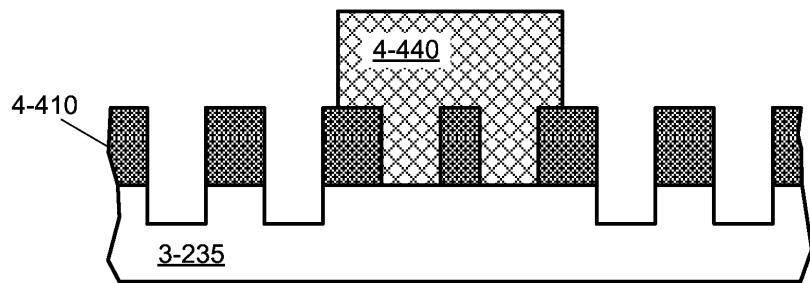
도면4db



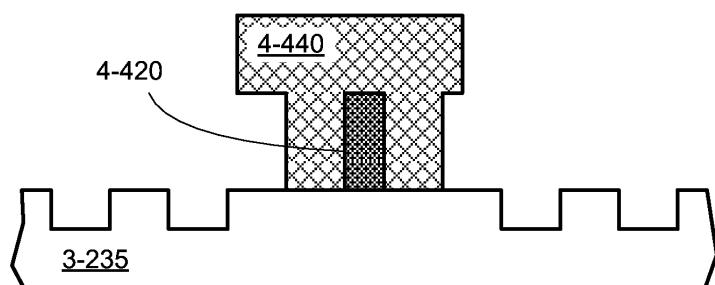
도면4dc



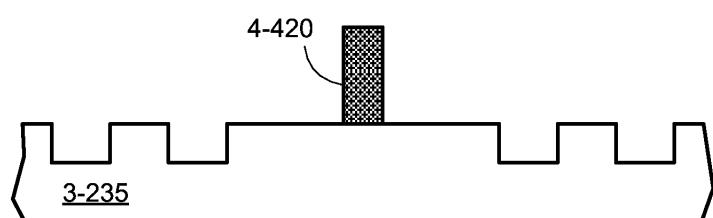
도면4dd



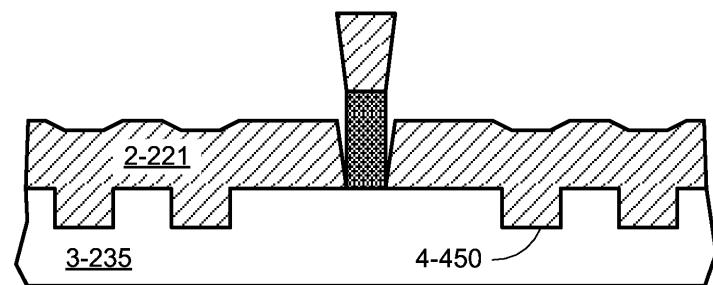
도면4de



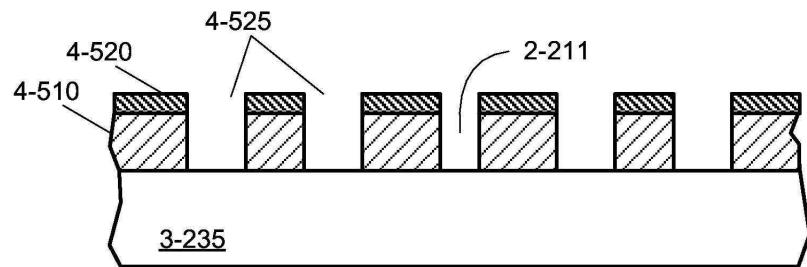
도면4df



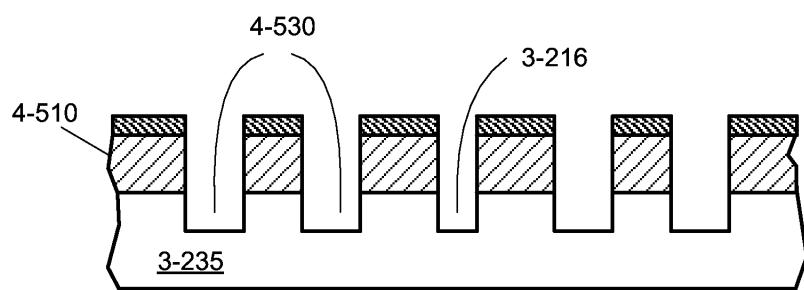
도면4dg



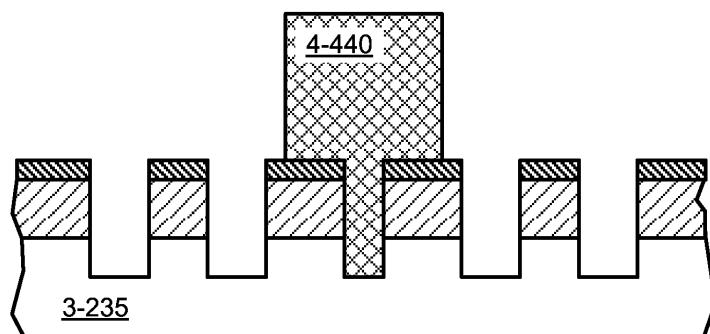
도면4ea



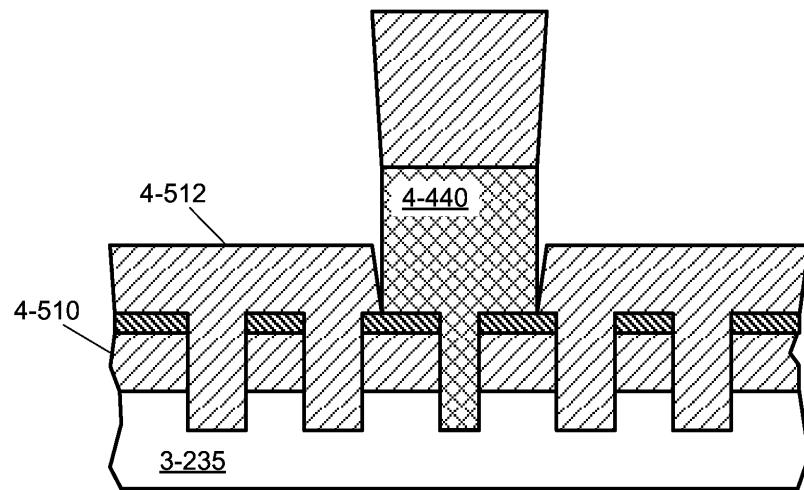
도면4eb



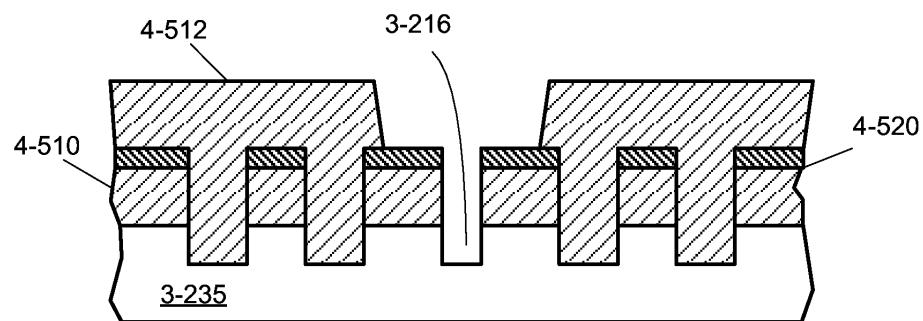
도면4ec



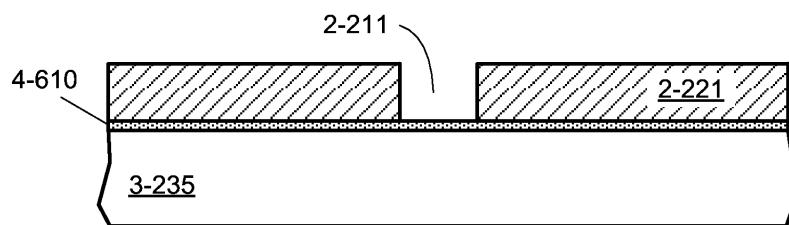
도면4ed



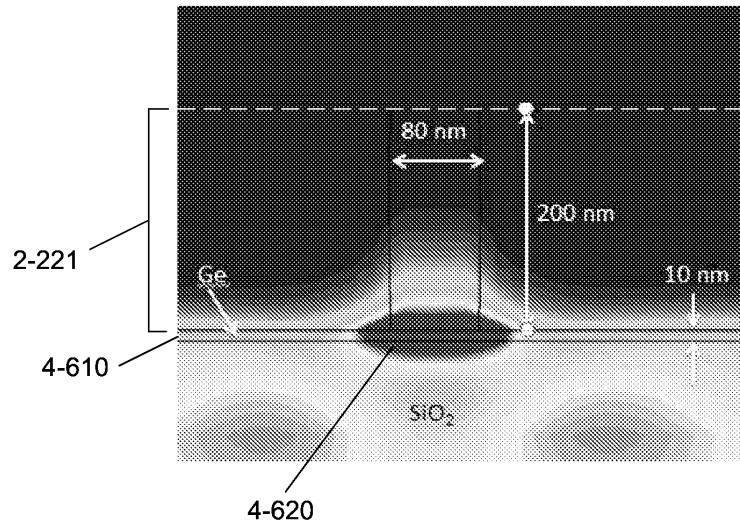
도면4ee



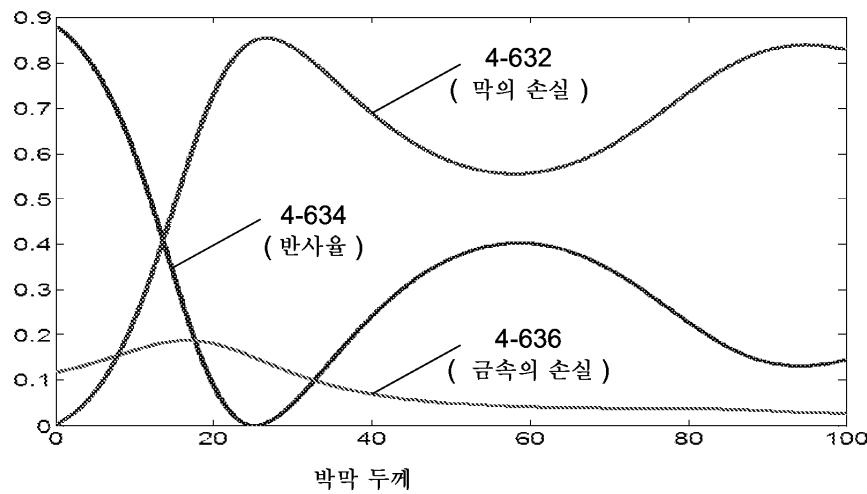
도면4fa



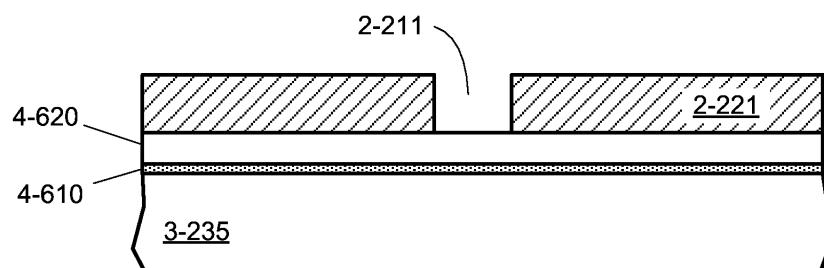
도면4fb



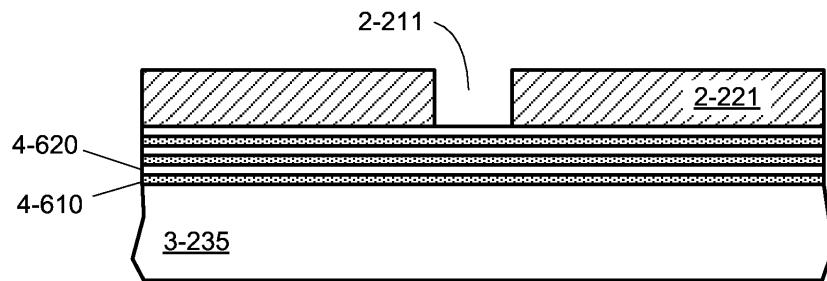
도면4fc



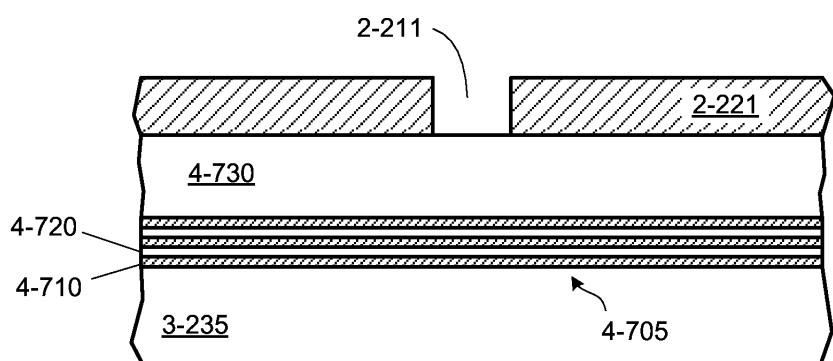
도면4fd



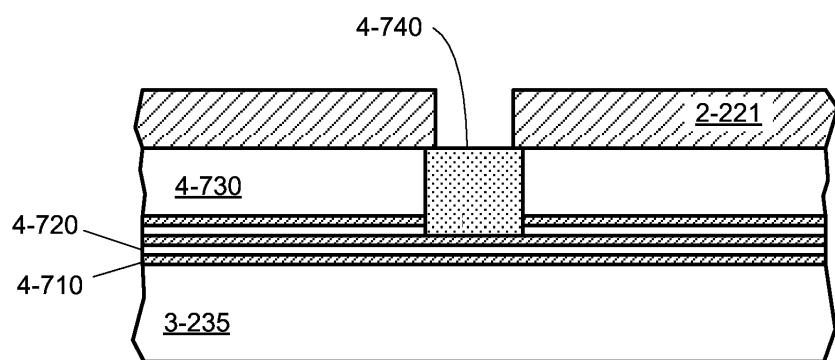
도면4fe



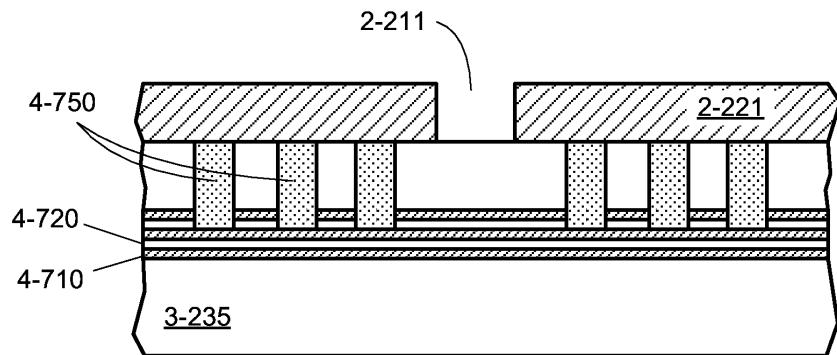
도면4ga



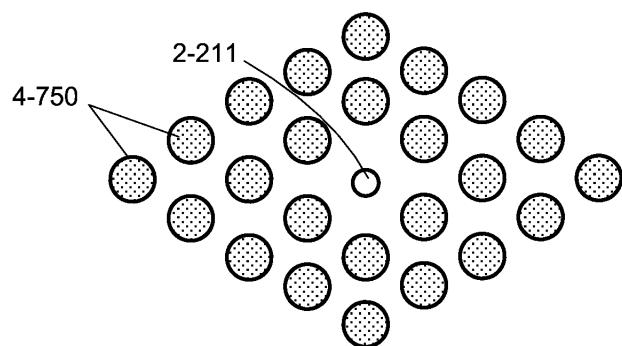
도면4gb



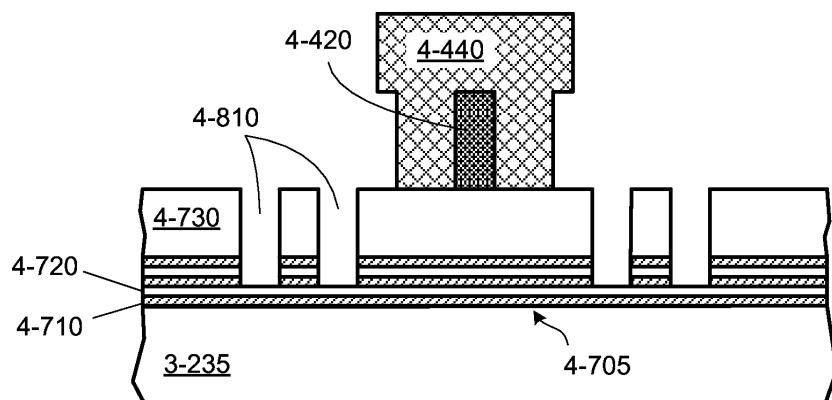
도면4gc



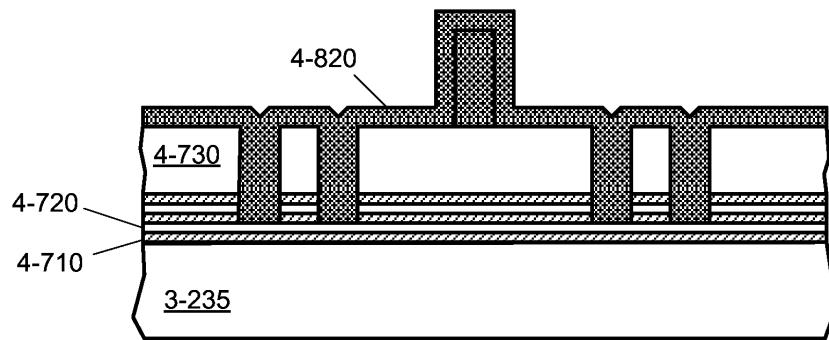
도면4gd



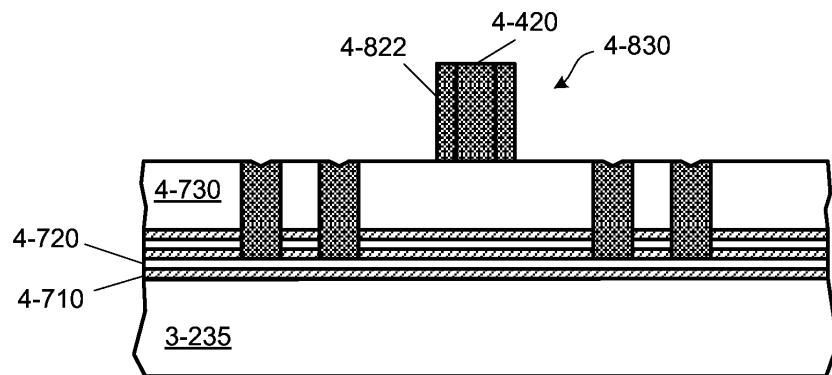
도면4ha



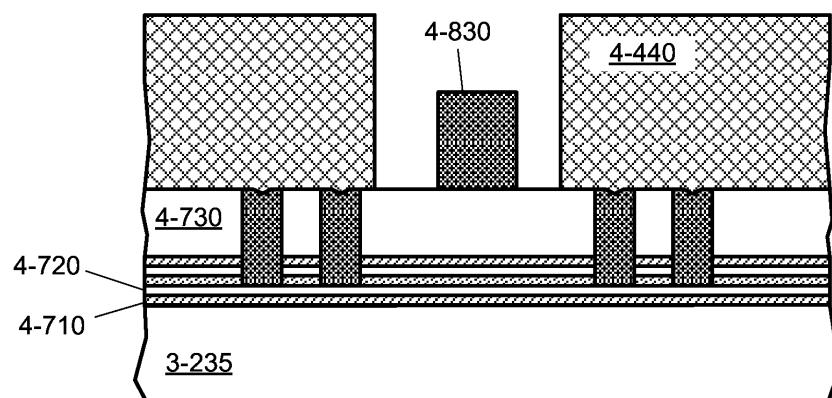
도면4hb



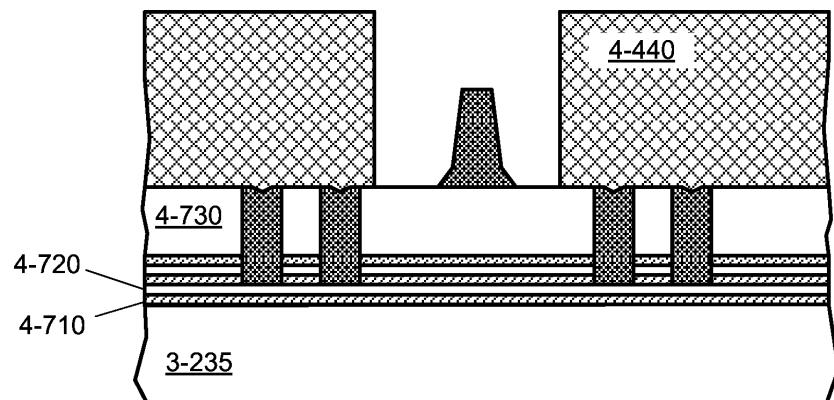
도면4hc



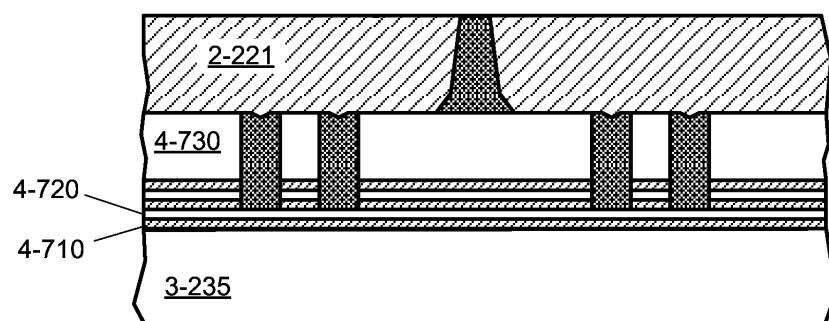
도면4hd



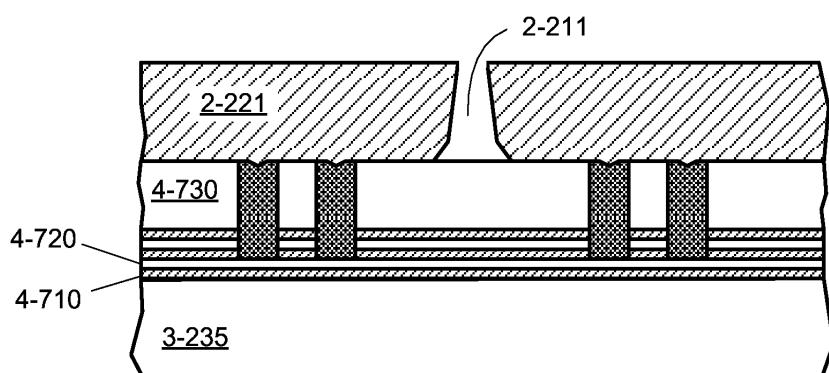
도면4he



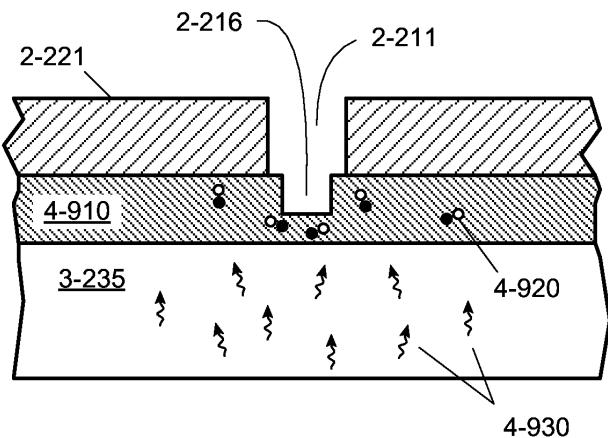
도면4hf



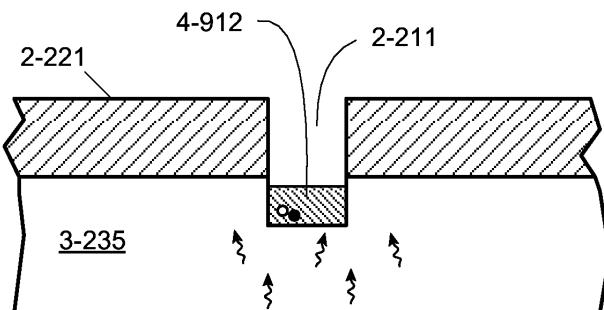
도면4hg



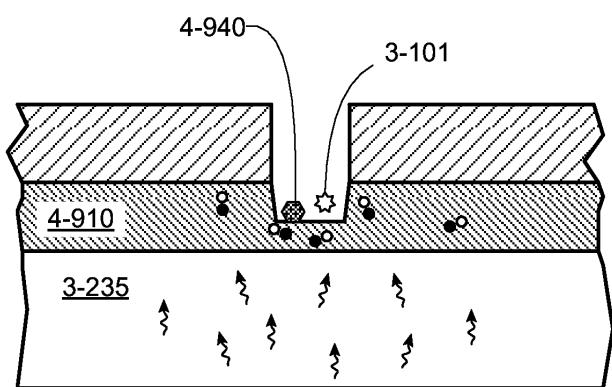
도면4ia



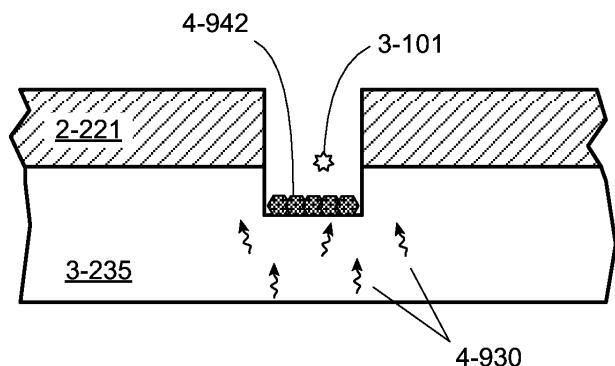
도면4ib



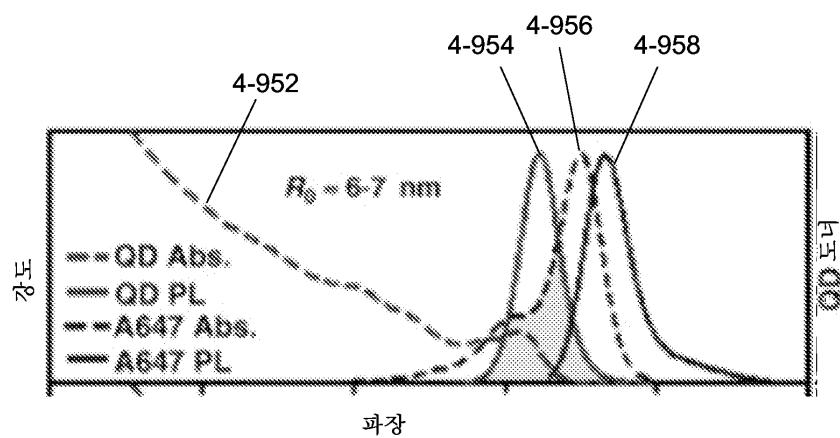
도면4ic



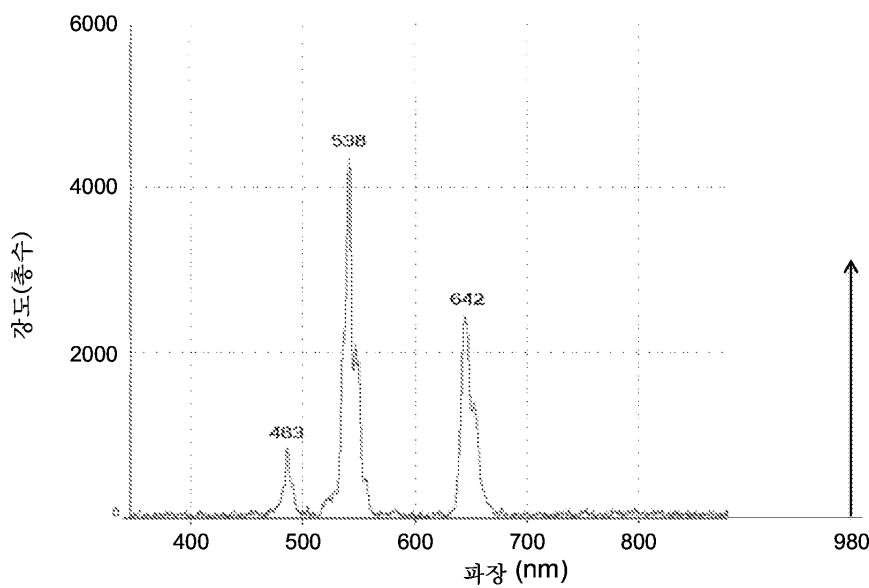
도면4id



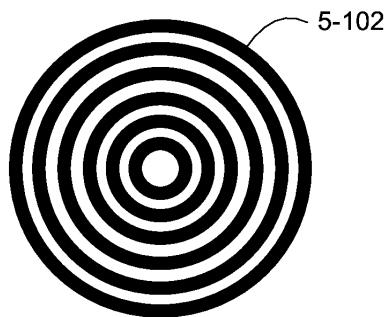
도면4ie



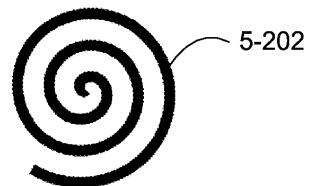
도면4if



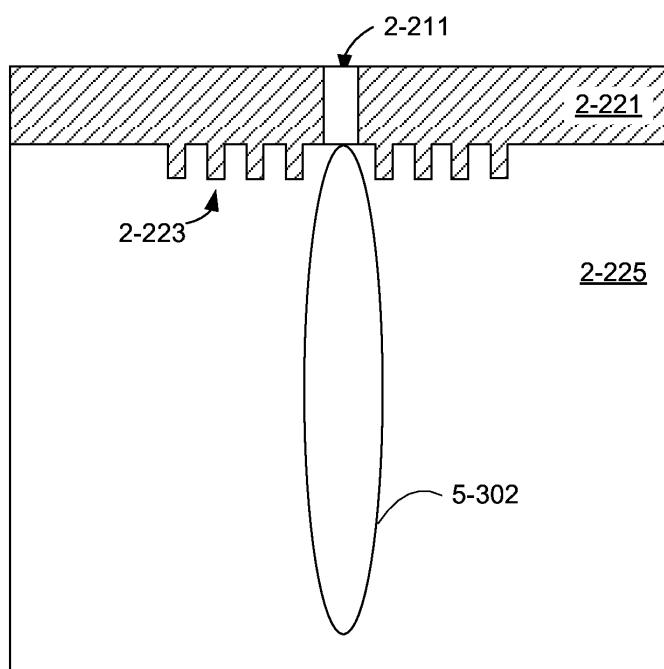
도면5a



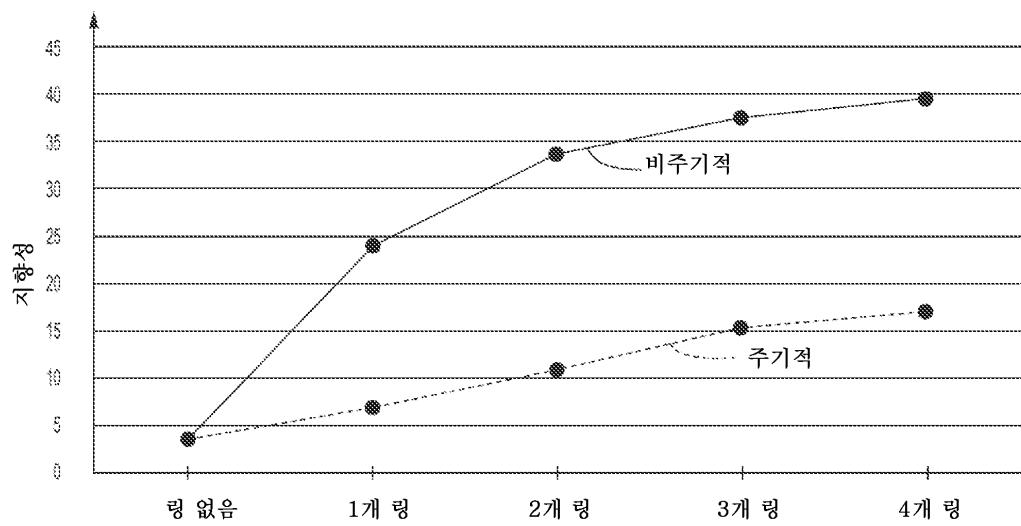
도면5b



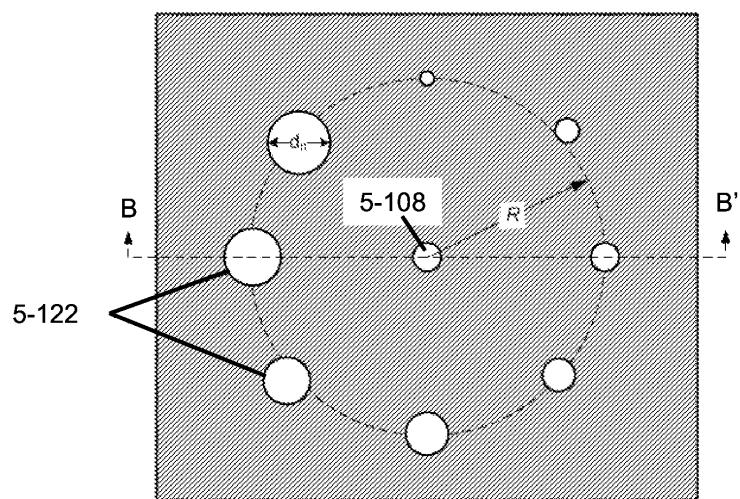
도면5ca



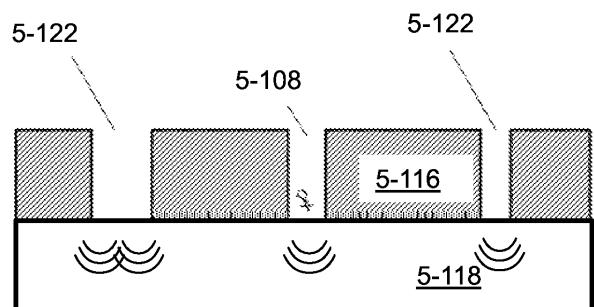
도면5cb



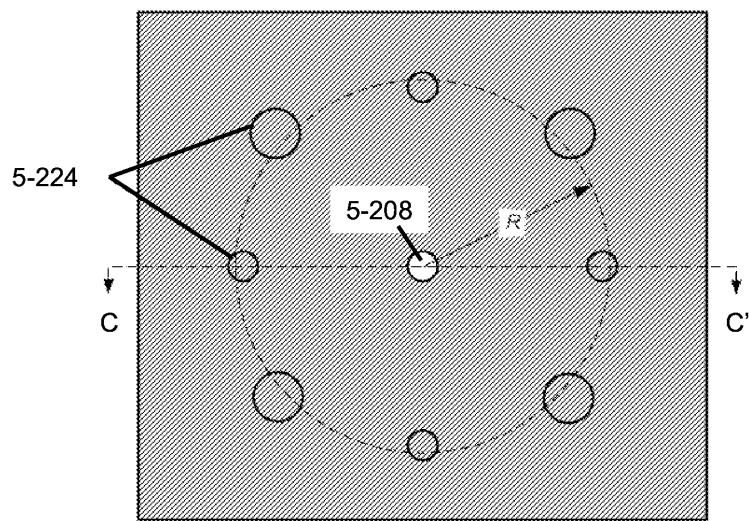
도면5da



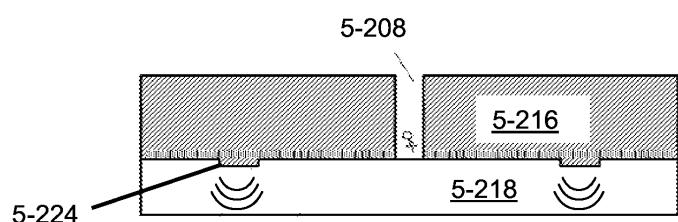
도면5db



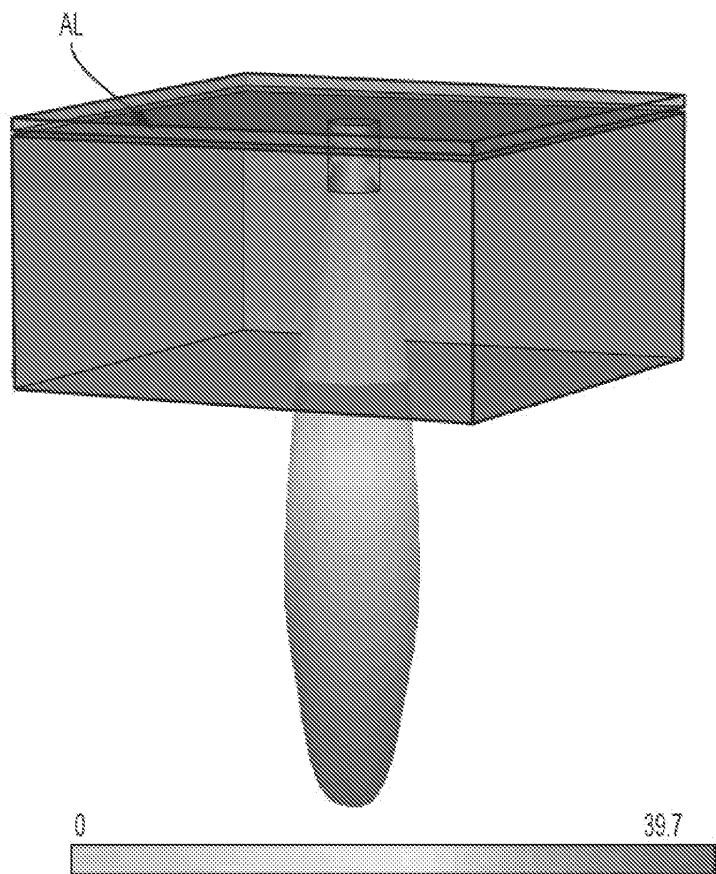
도면5ea



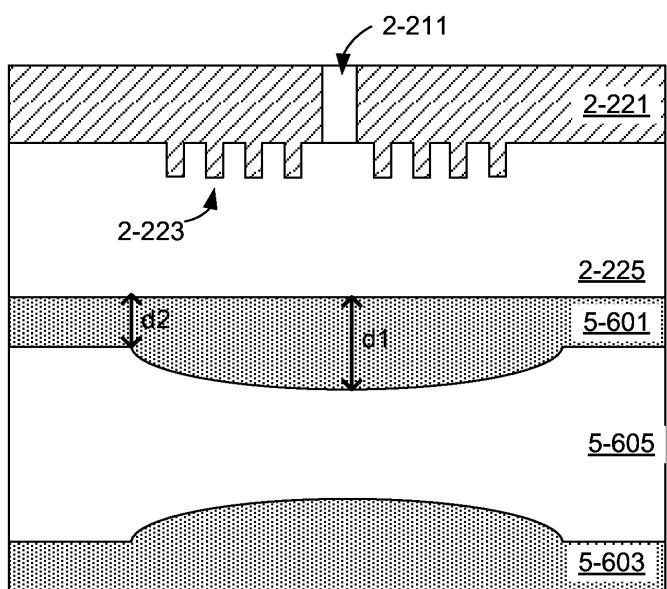
도면5eb



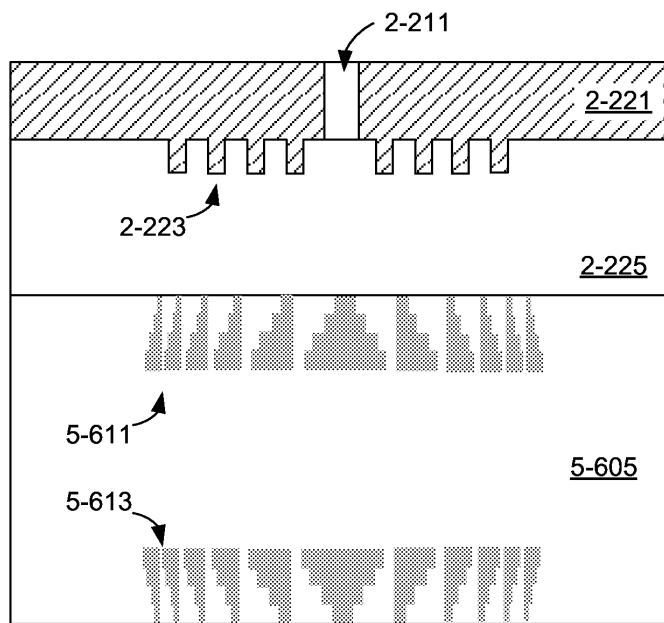
도면5ec



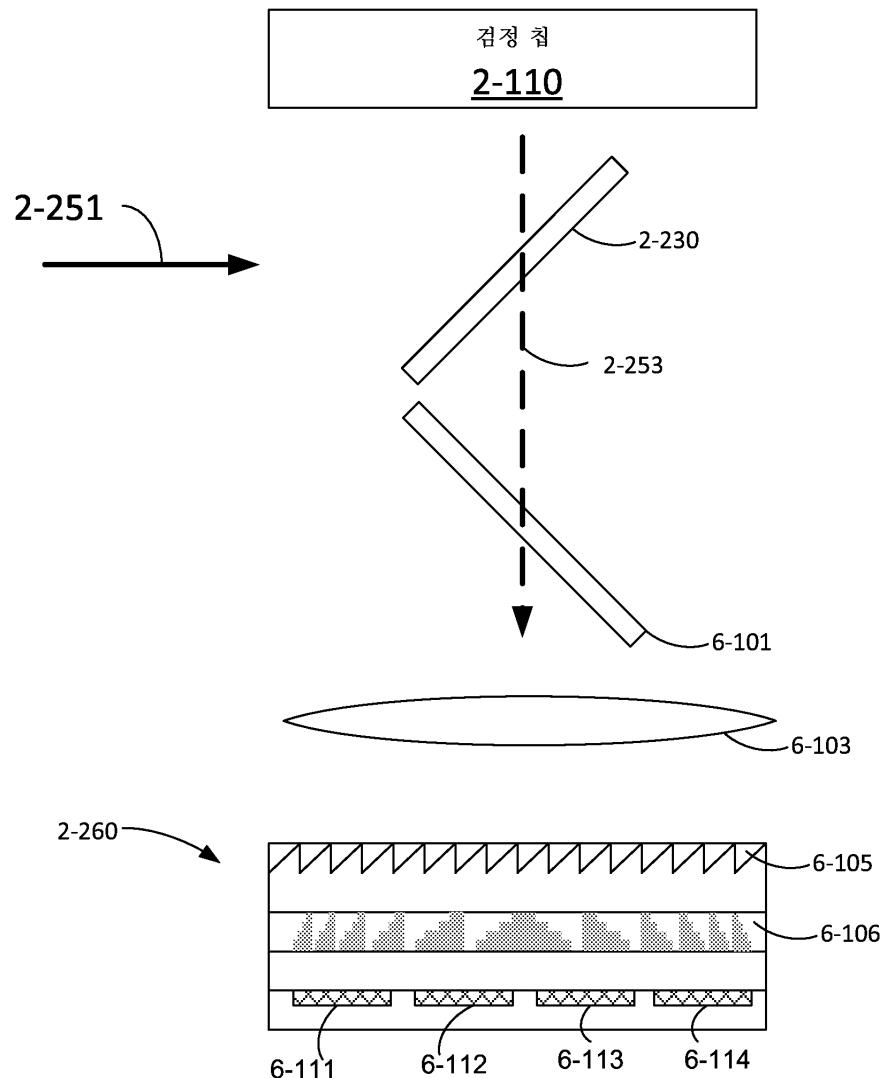
도면5fa



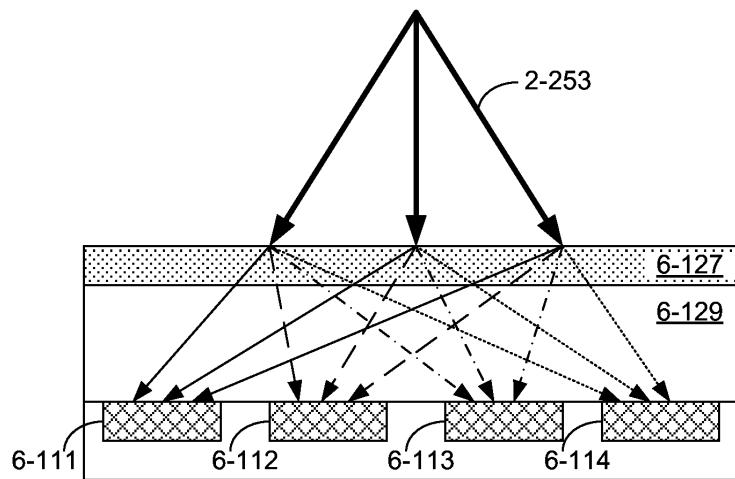
도면5fb



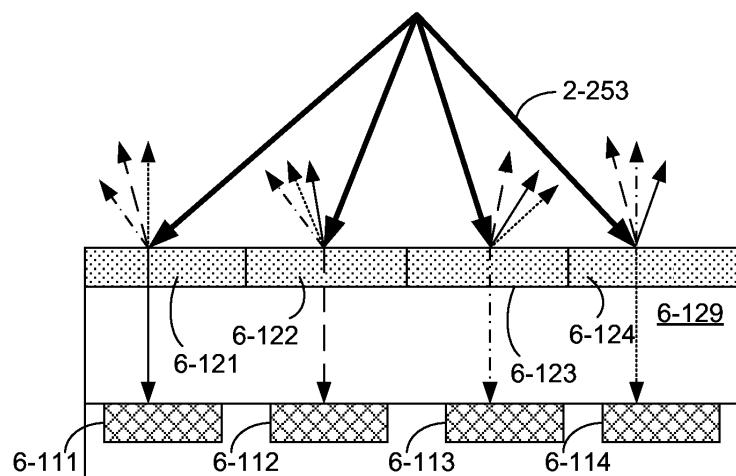
도면6a



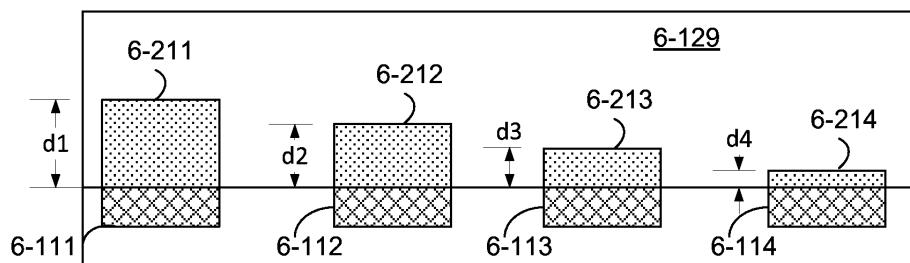
도면6ba



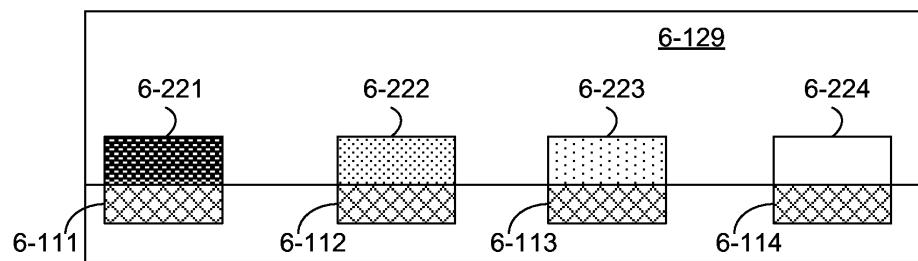
도면6bb



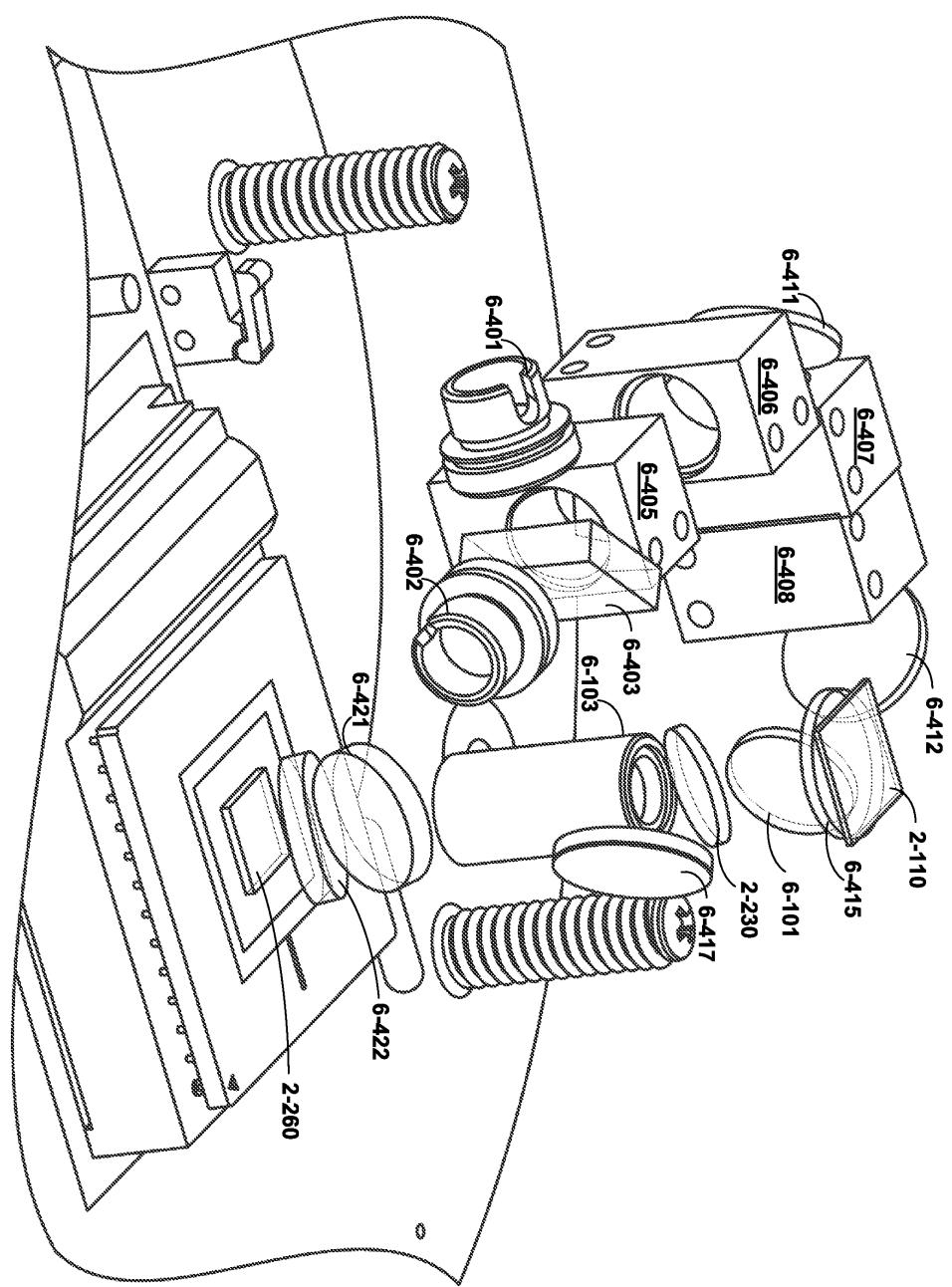
도면6ca



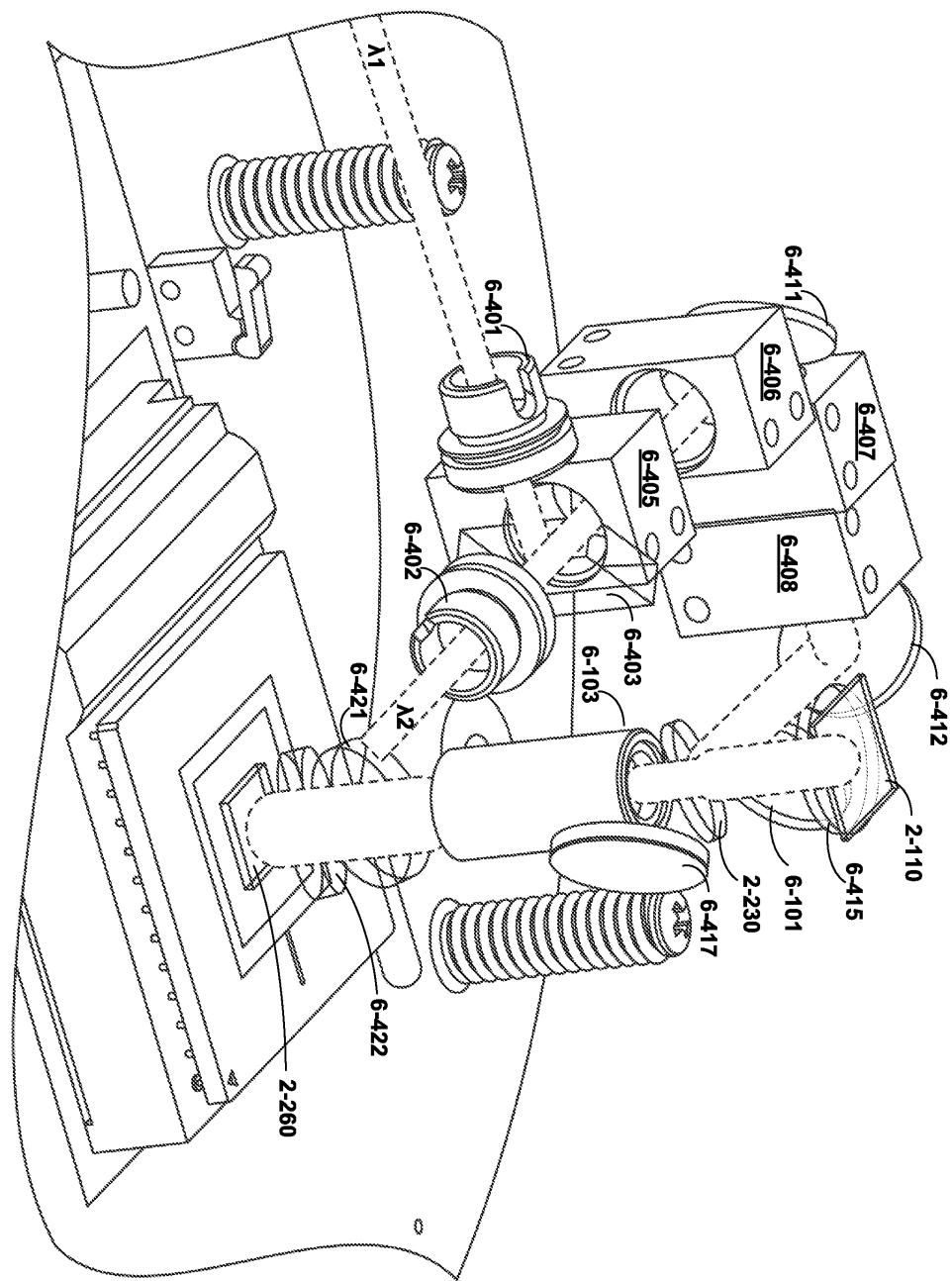
도면6cb



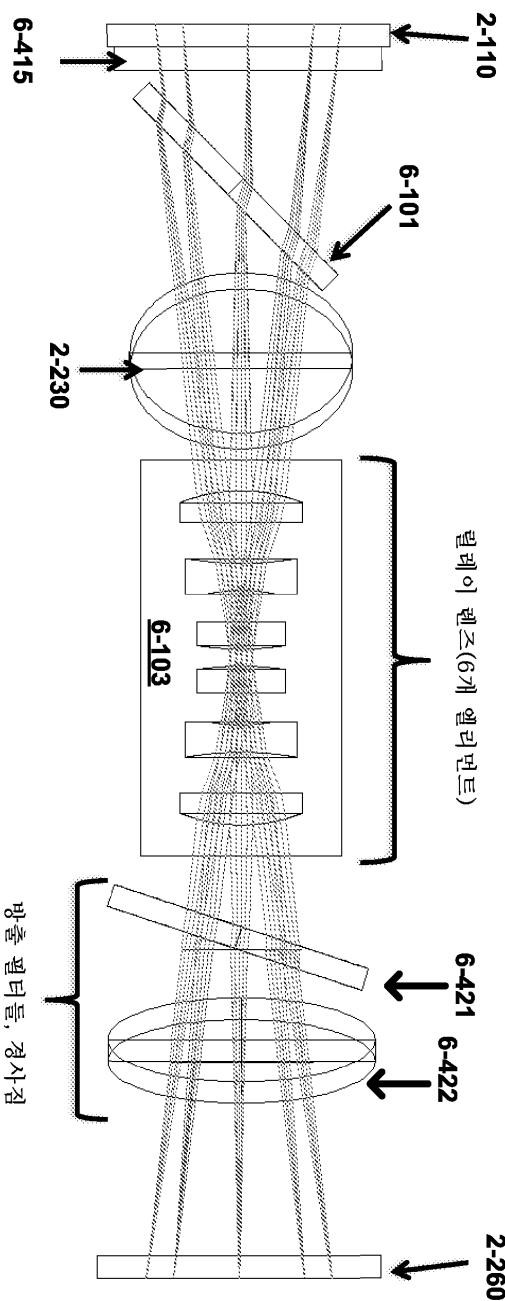
도면6da



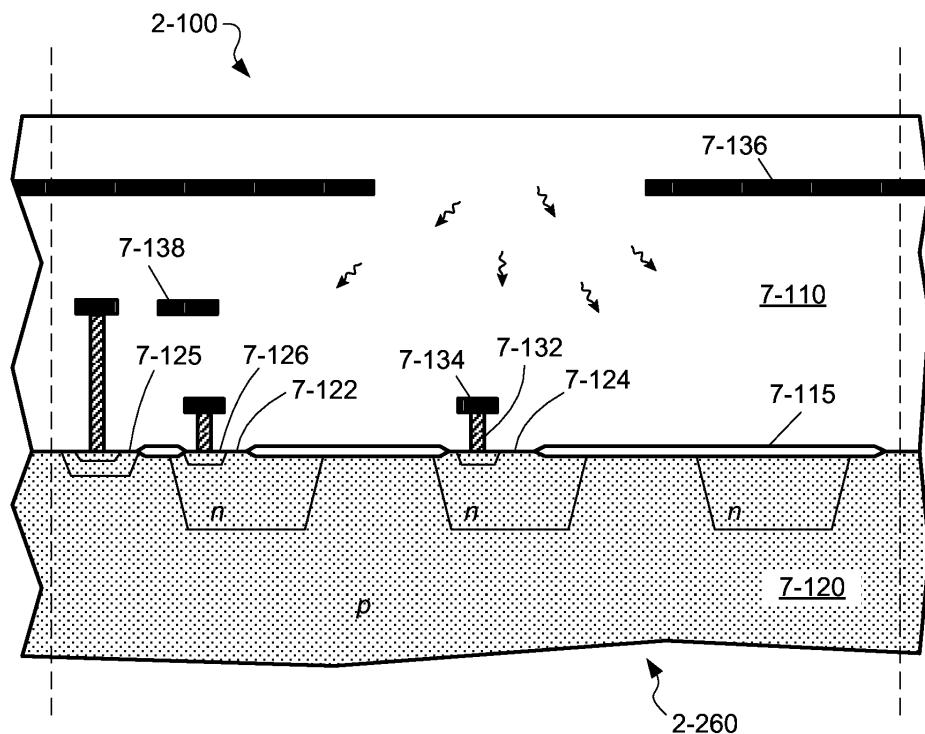
도면 6db



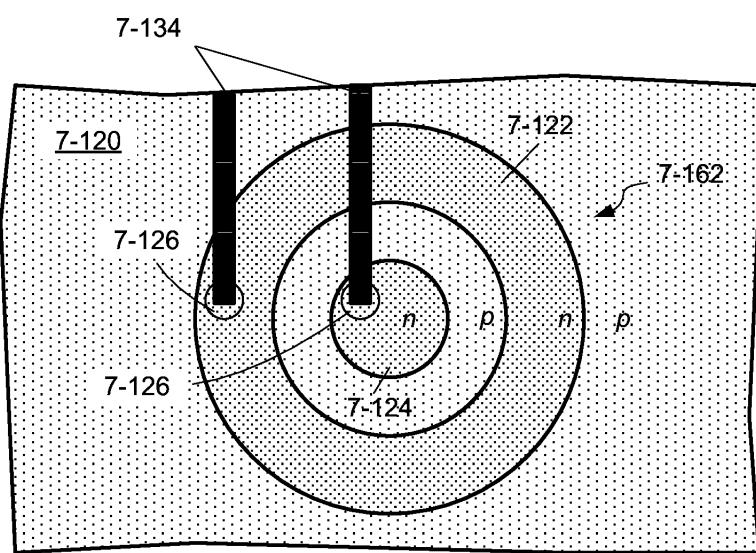
도면 6e



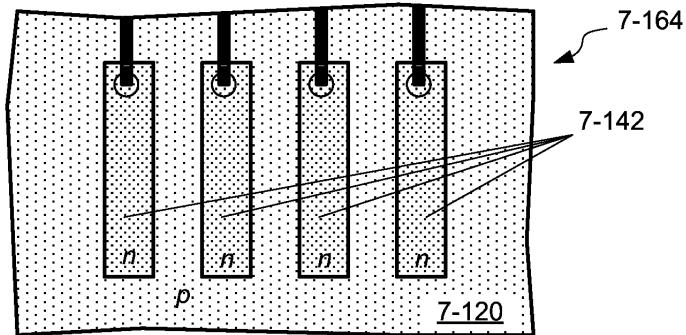
도면7aa



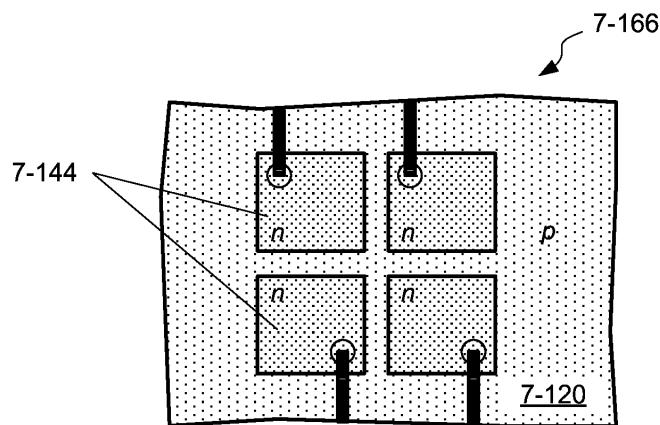
도면7ab



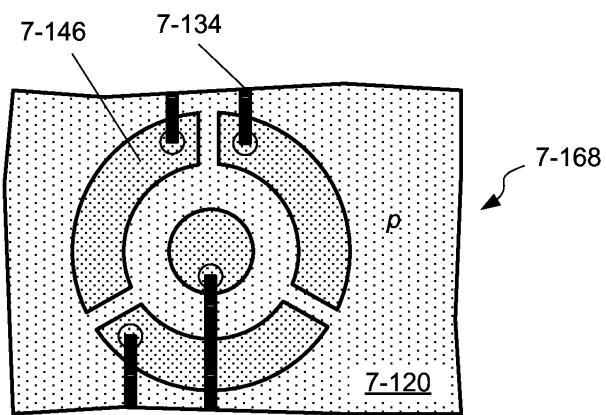
도면7ac



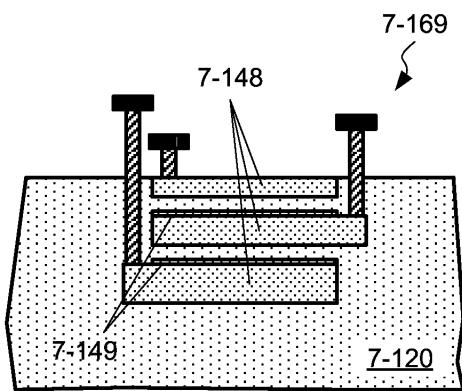
도면7ad



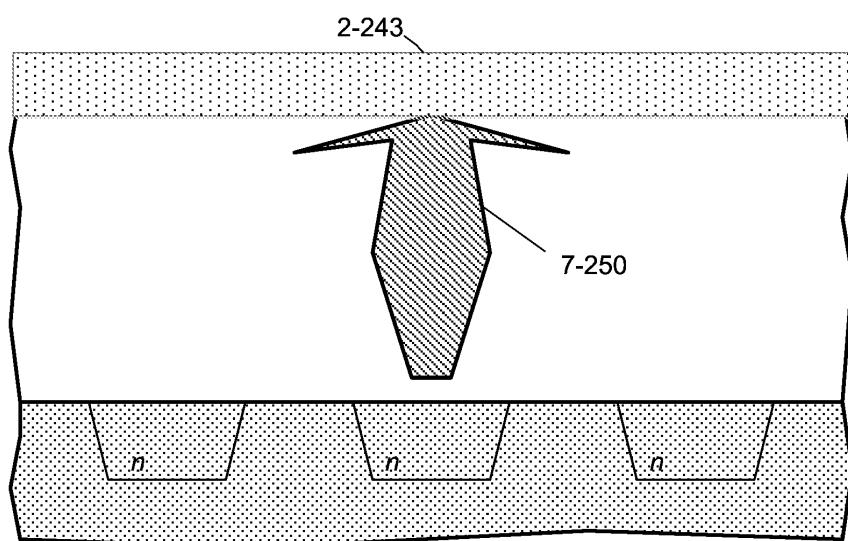
도면7ae



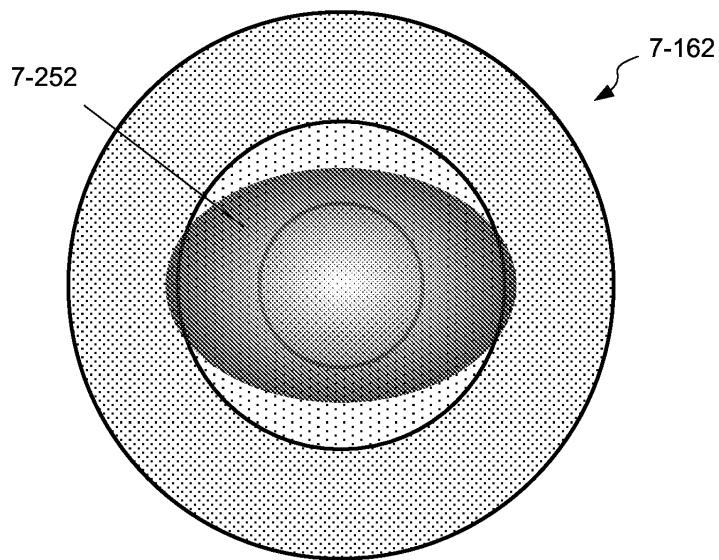
도면7af



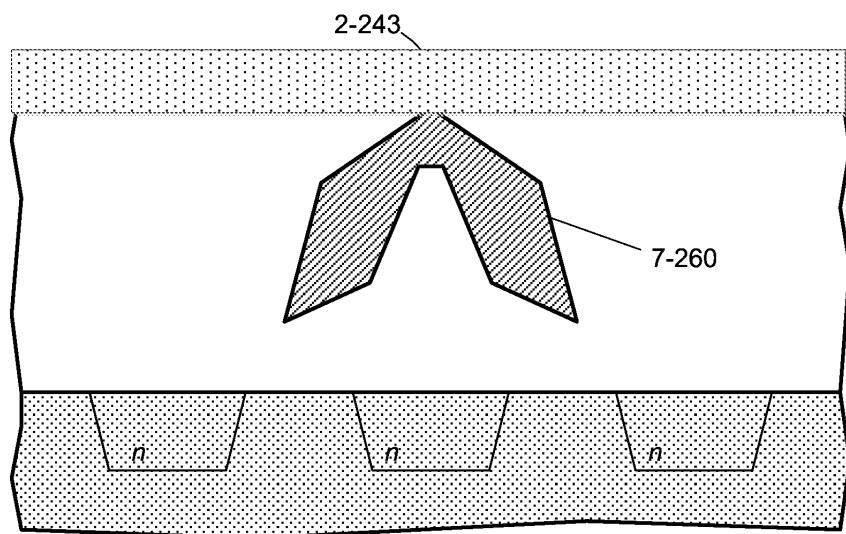
도면7ba



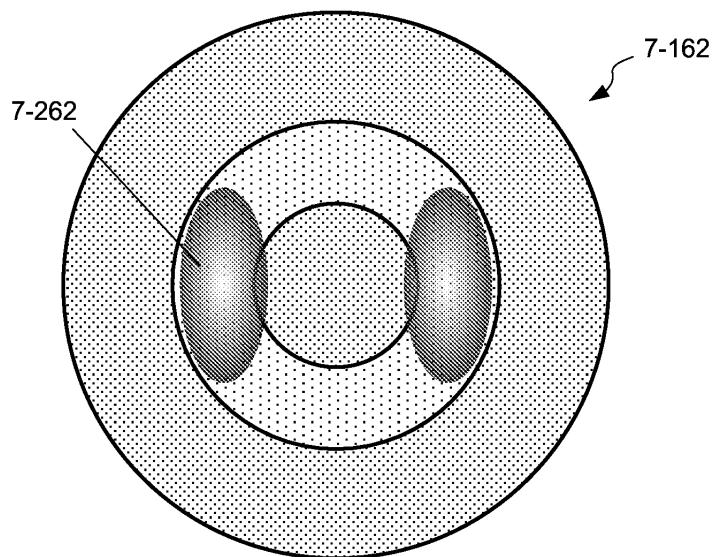
도면7bb



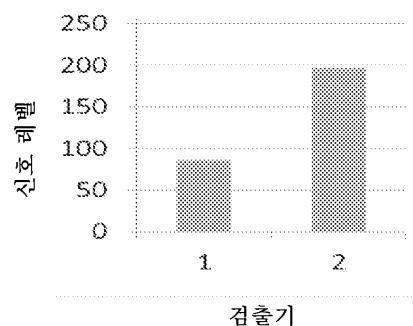
도면7bc



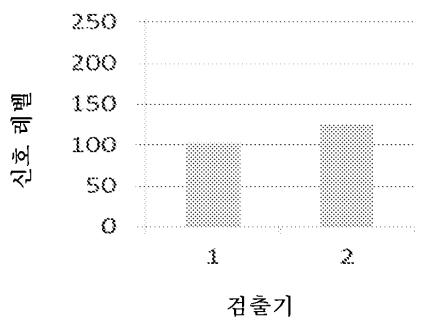
도면7bd



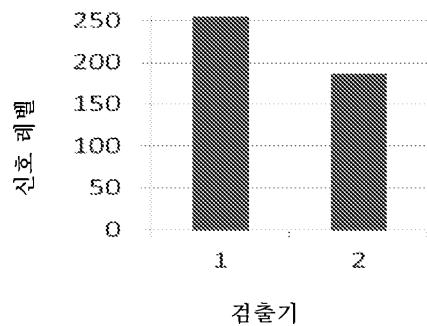
도면7be



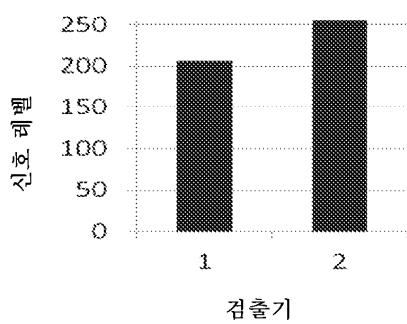
도면7bf



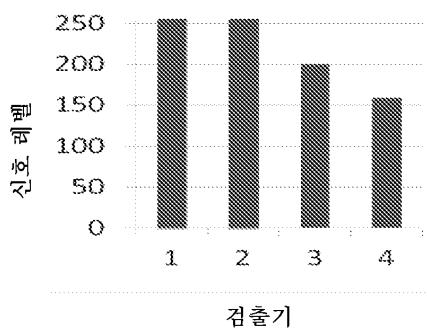
도면7bg



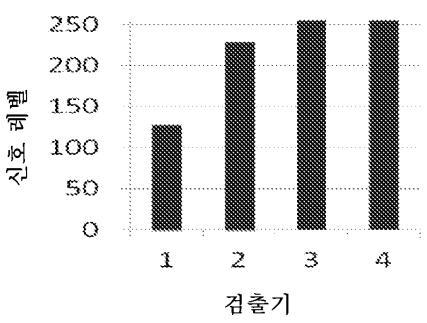
도면7bh



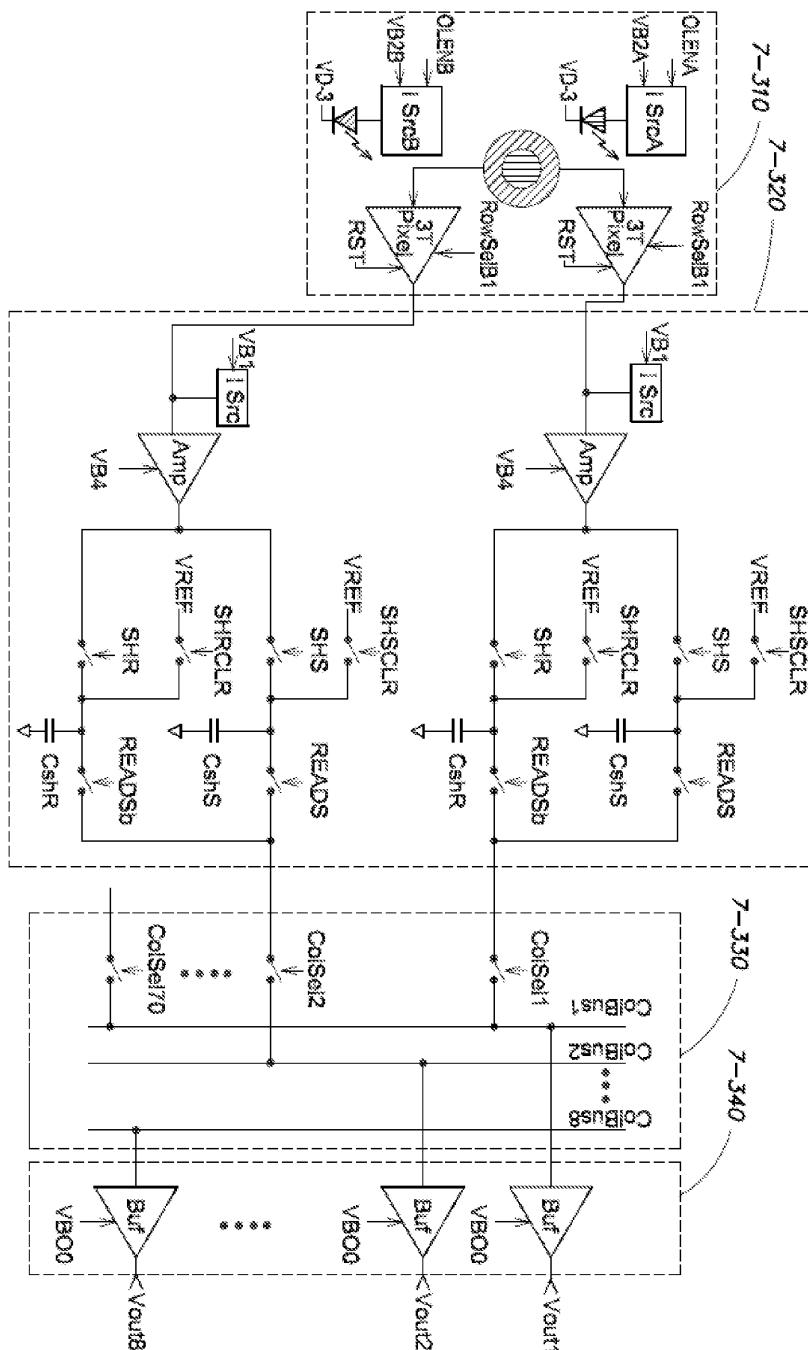
도면7bi



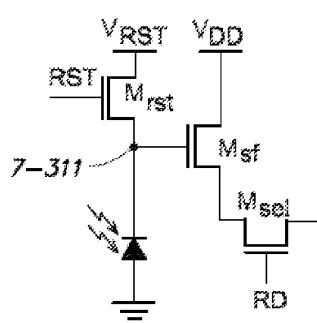
도면7bj



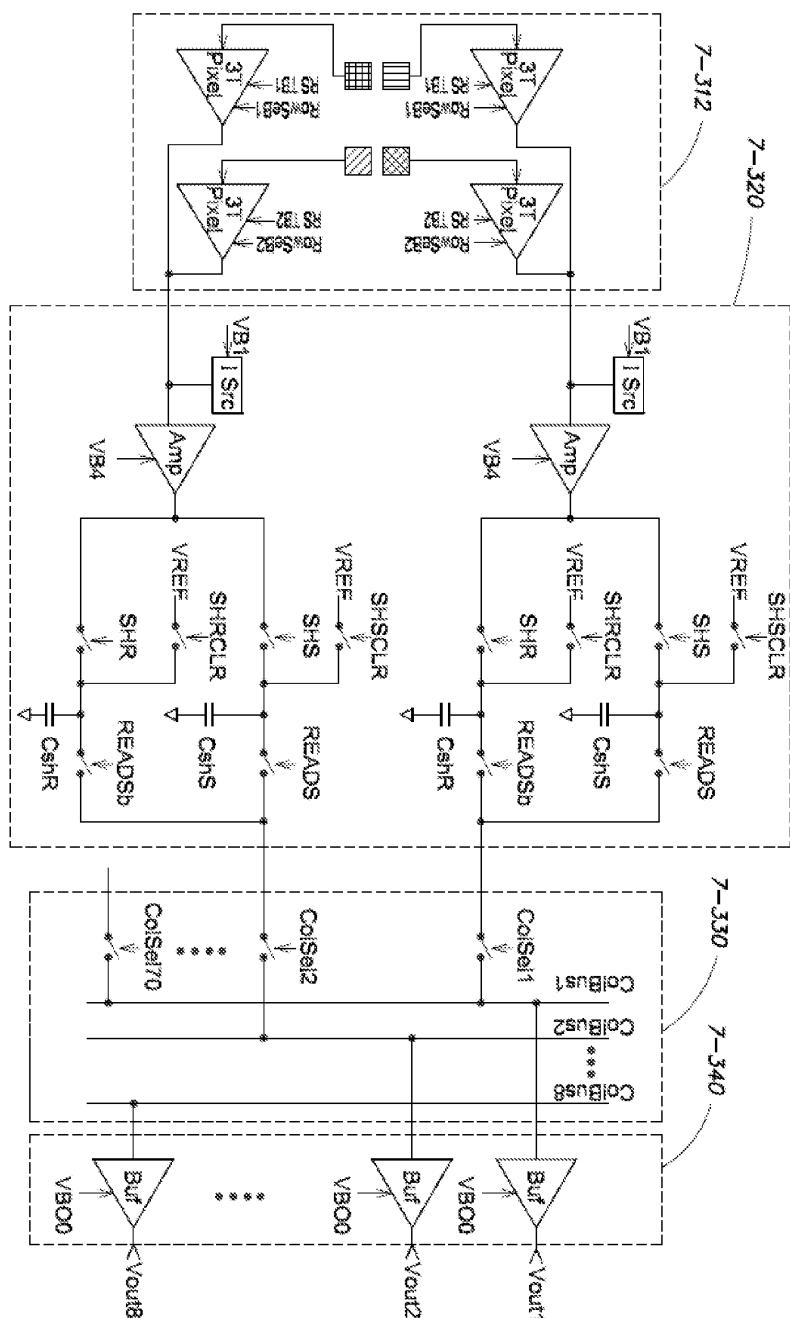
도면7ca



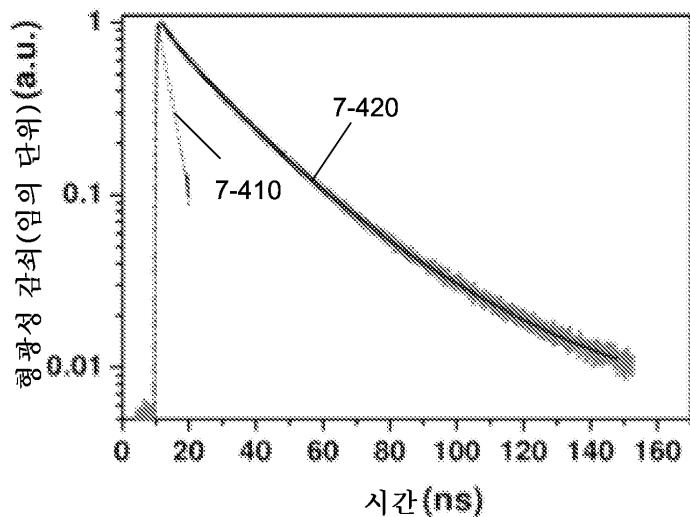
도면7cb



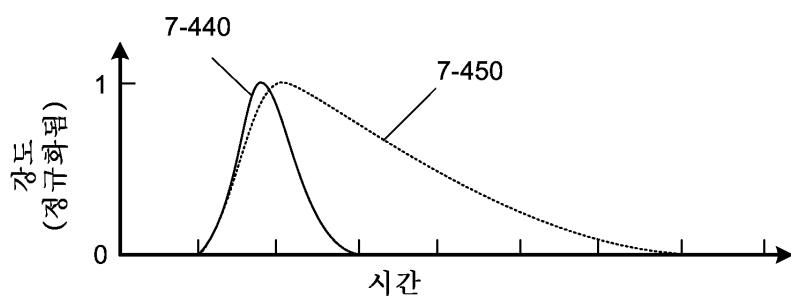
도면 7cc



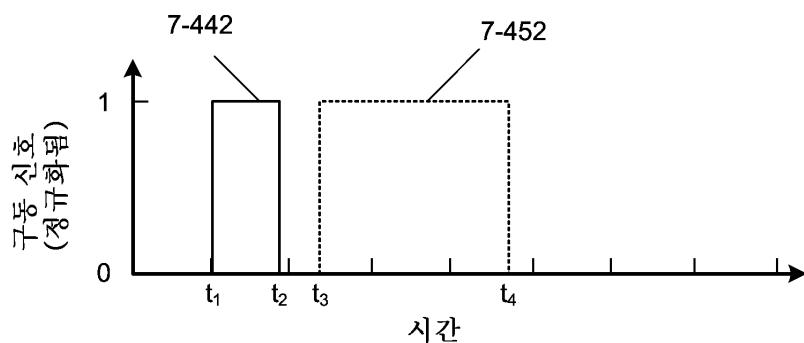
도면7da



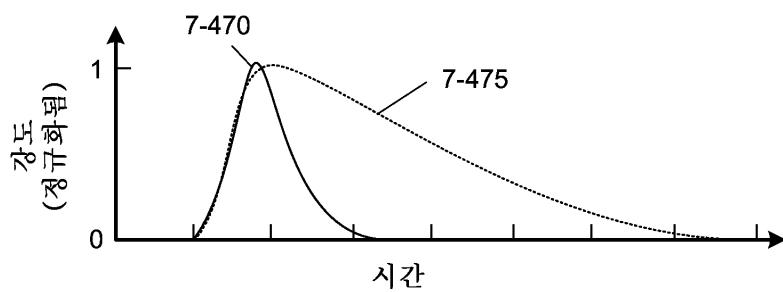
도면7db



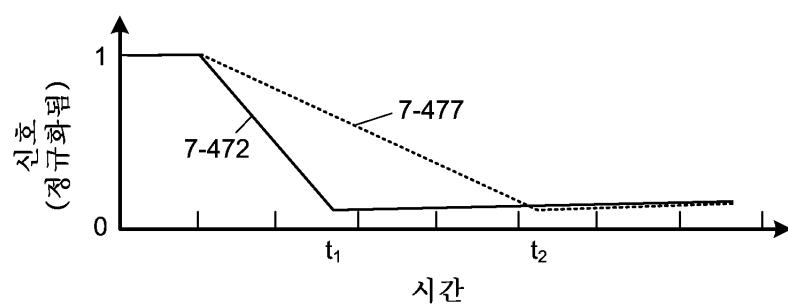
도면7dc



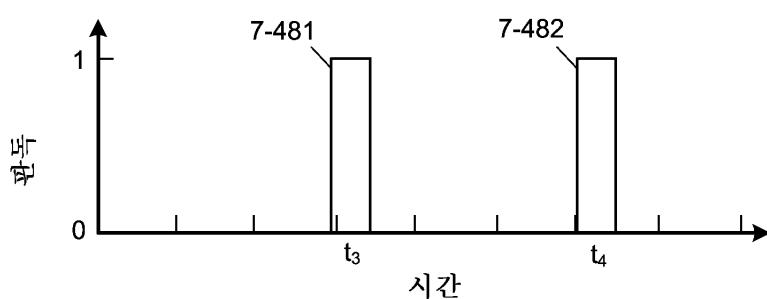
도면7dd



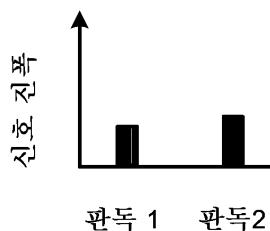
도면7de



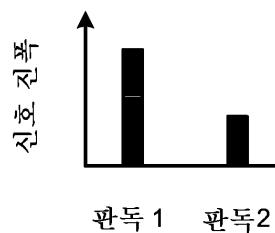
도면7df



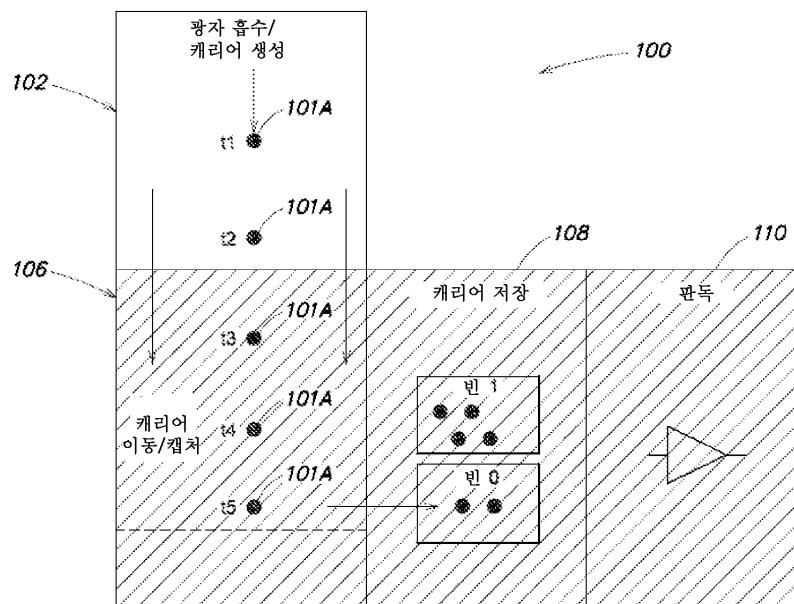
도면7dg



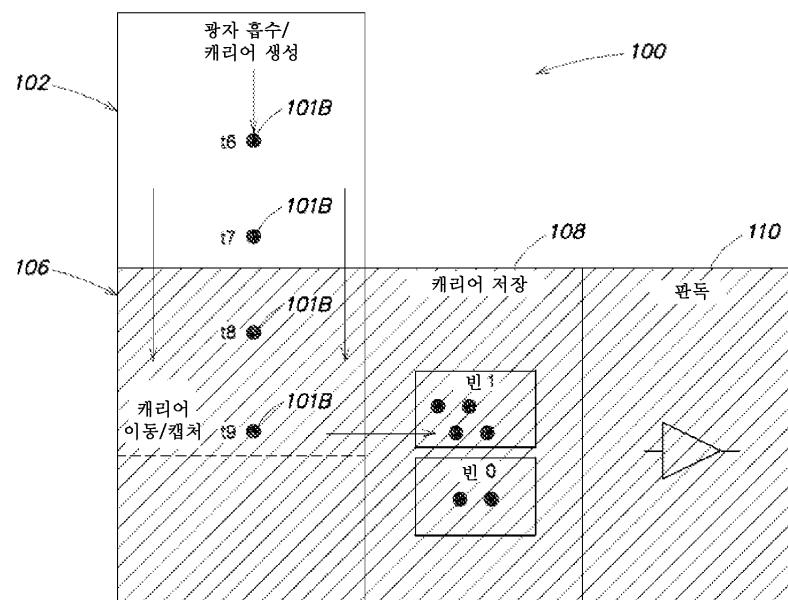
도면7d



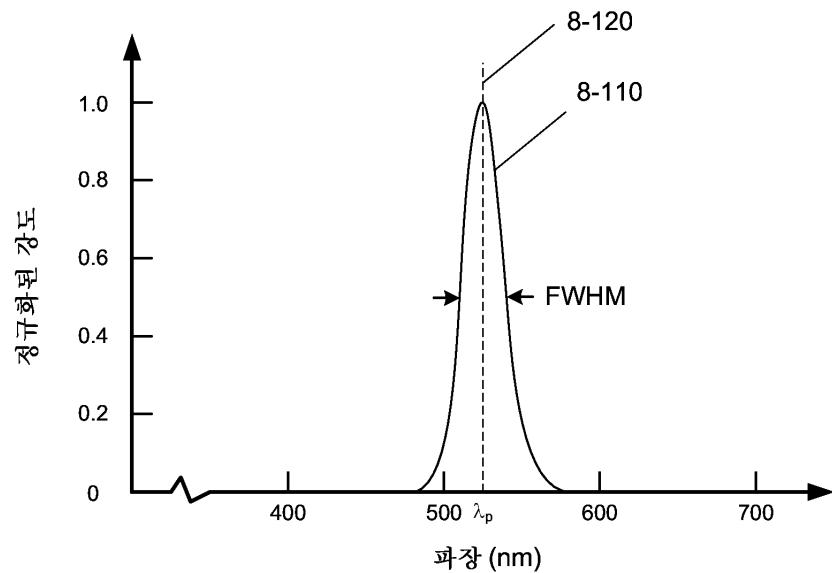
도면7e



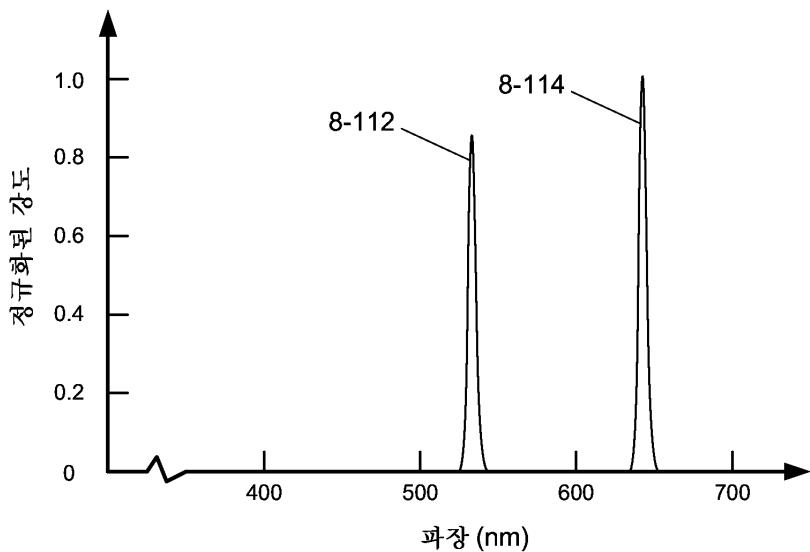
도면7f



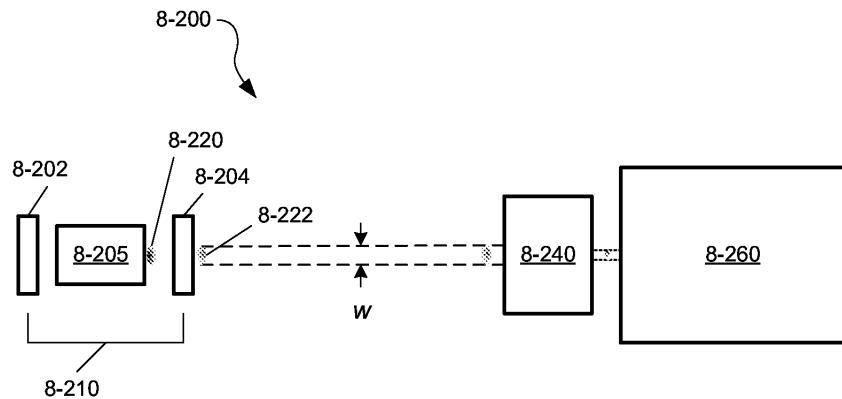
도면 8aa



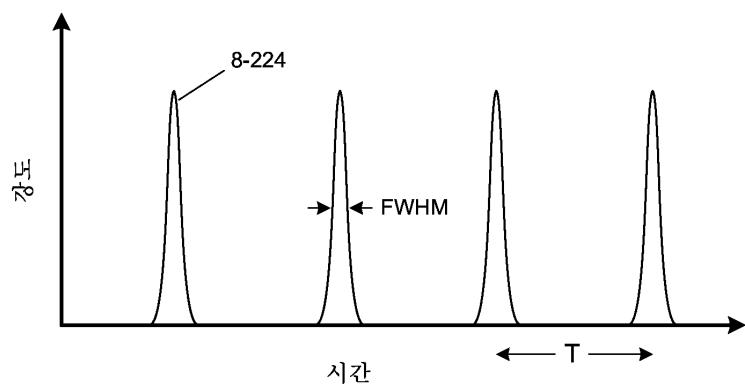
도면 8ab



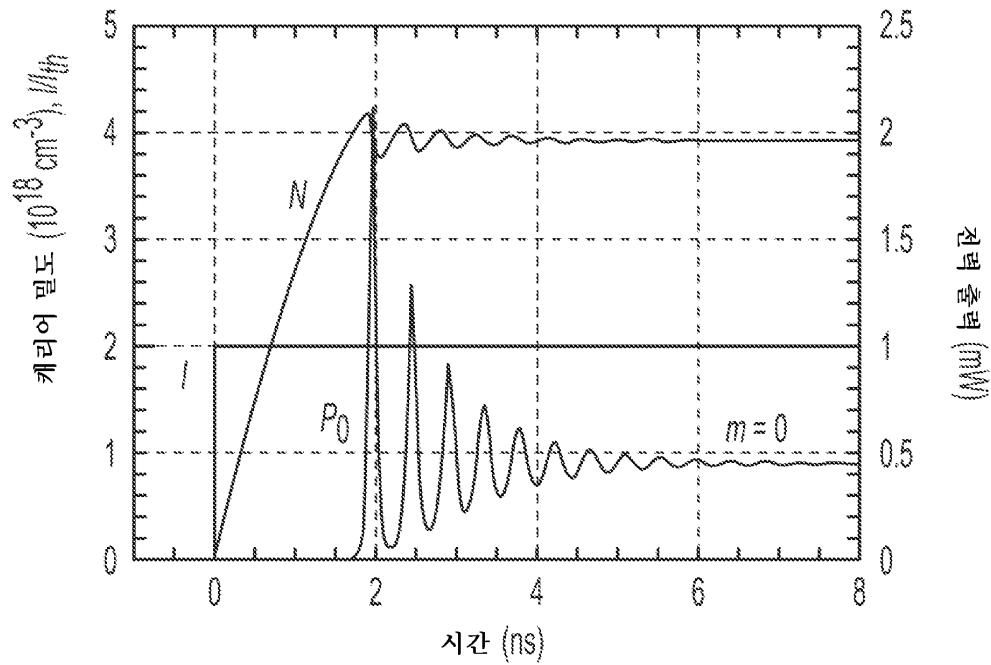
도면 8ba



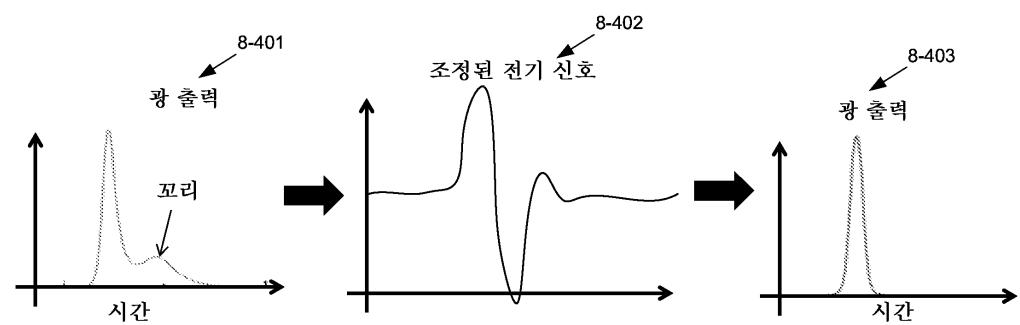
도면 8bb



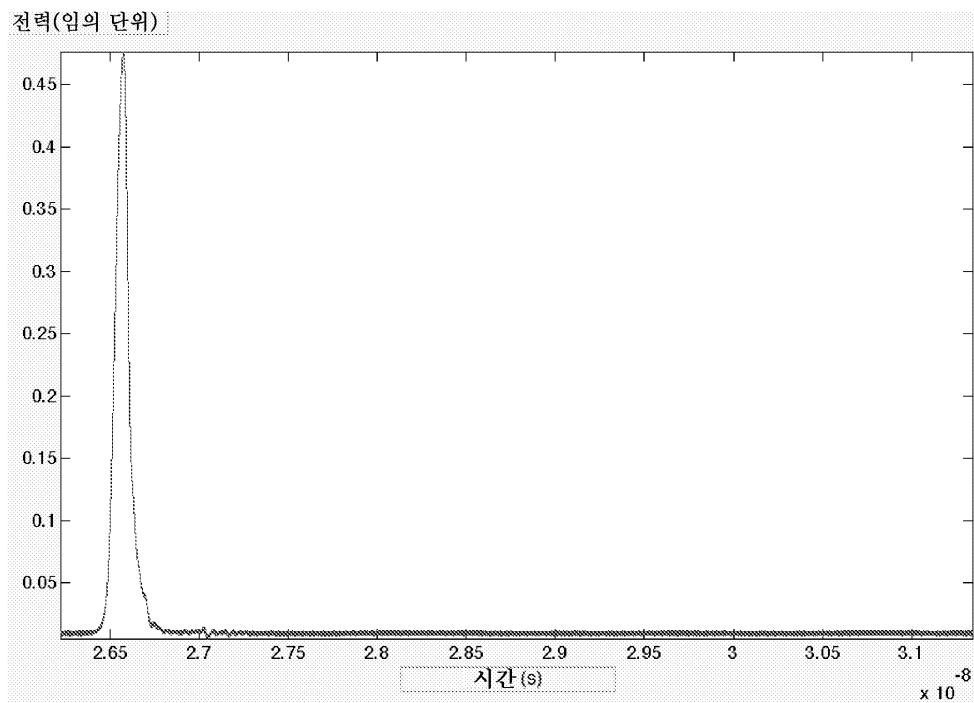
도면8c



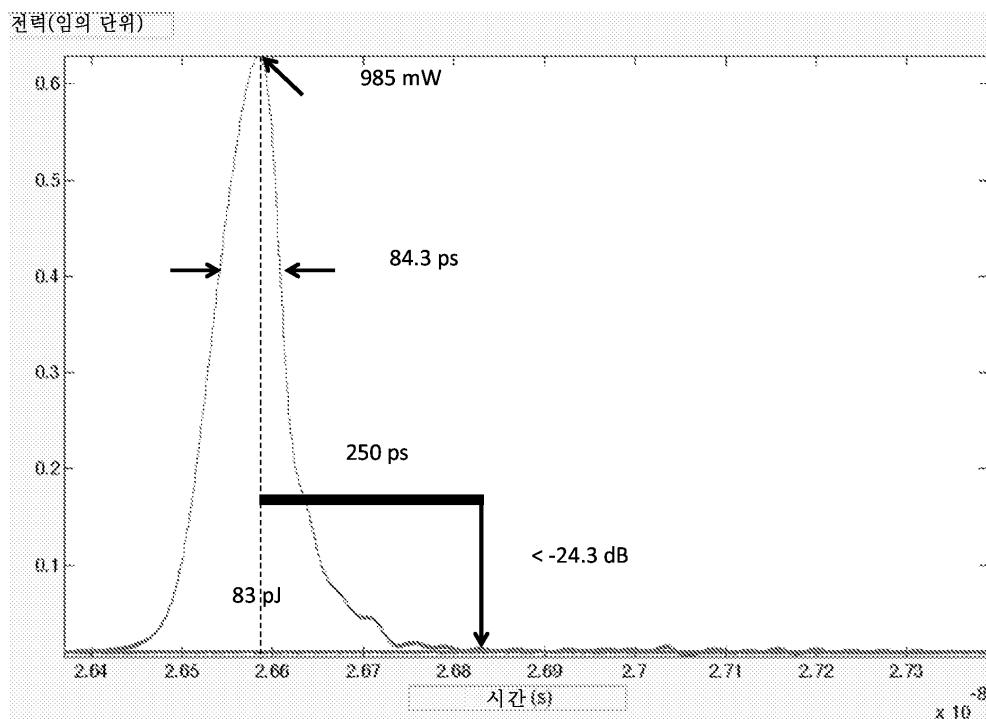
도면8d



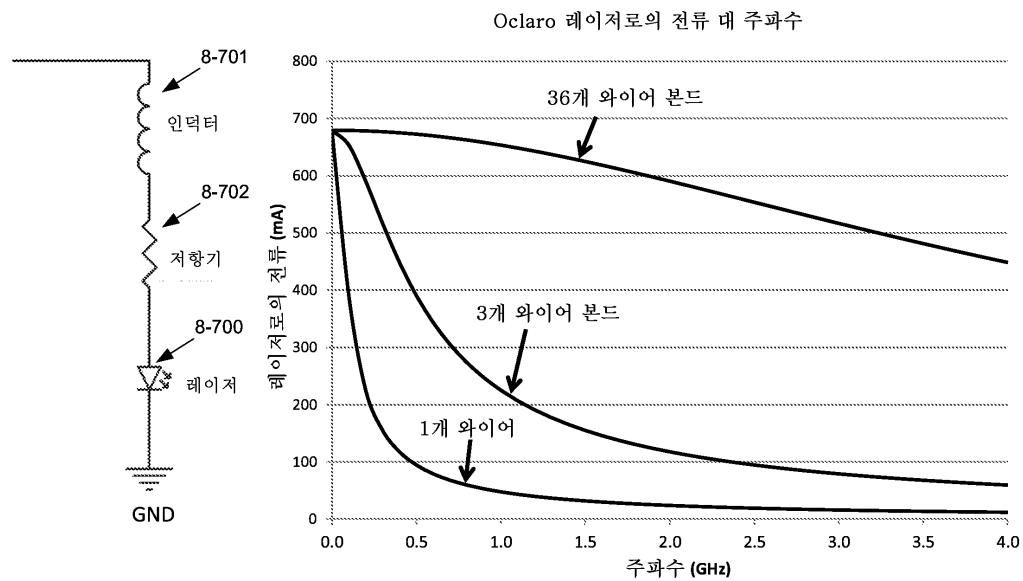
도면8e



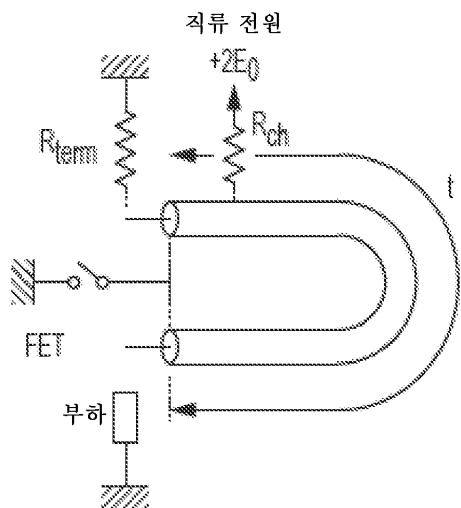
도면8f



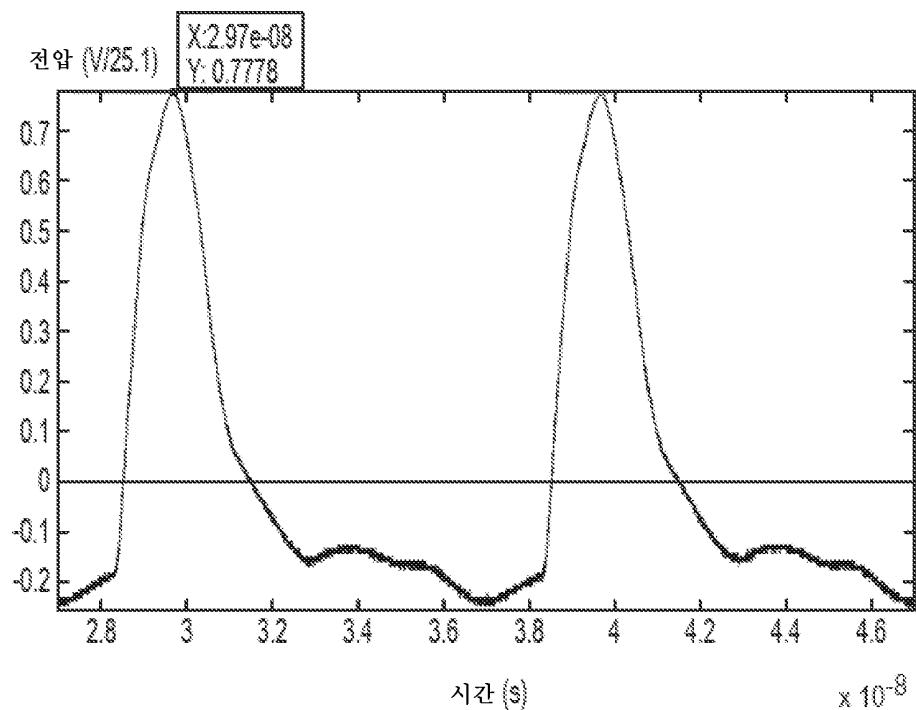
도면 8g



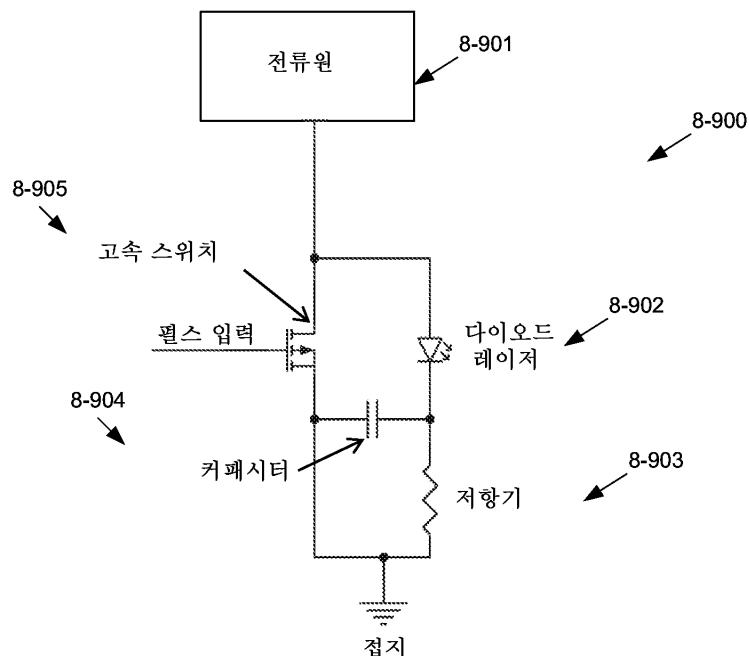
도면 8ha



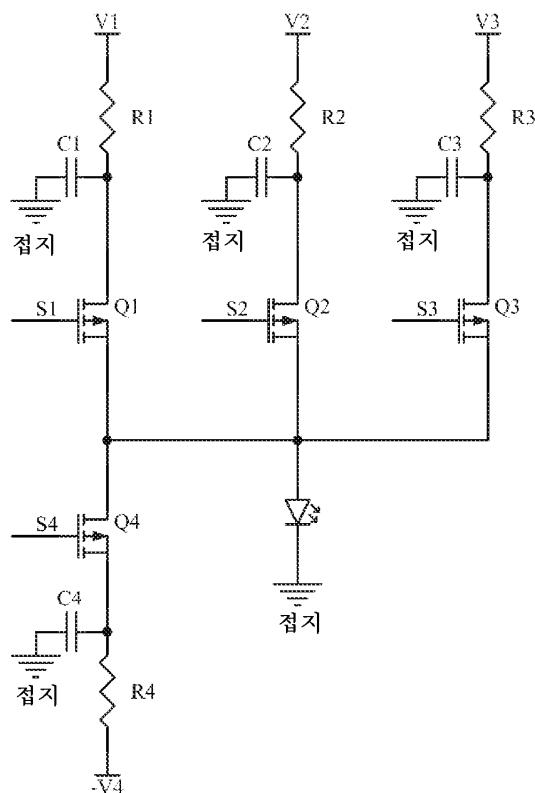
도면8hb



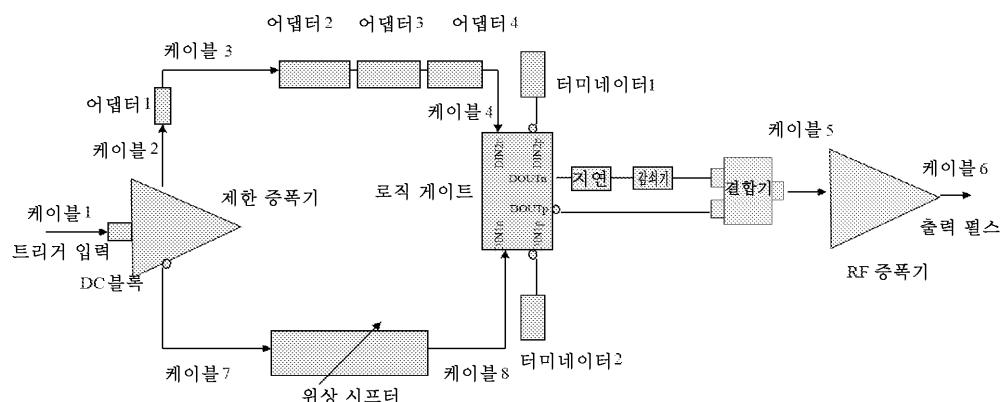
도면8i



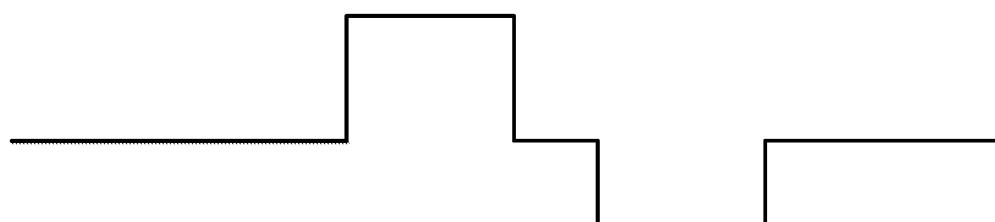
도면8j



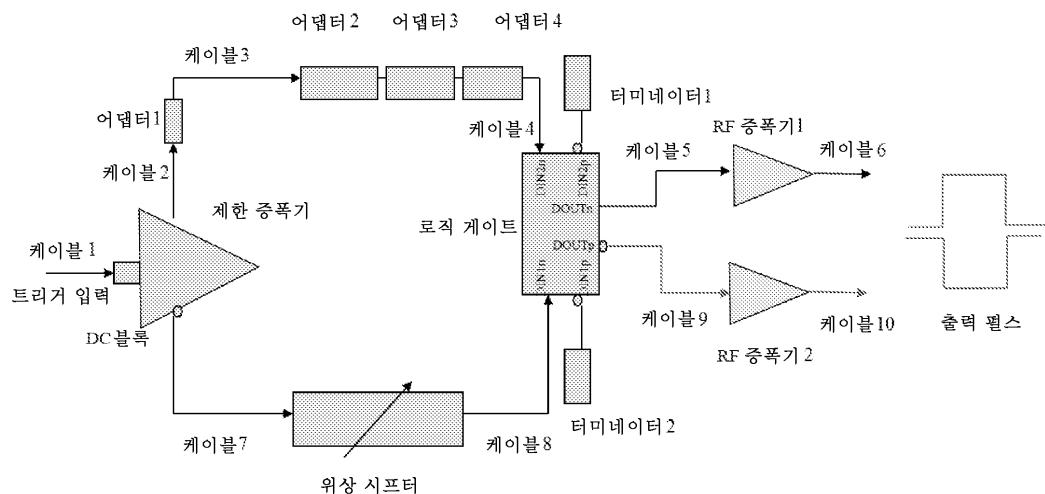
도면8ka



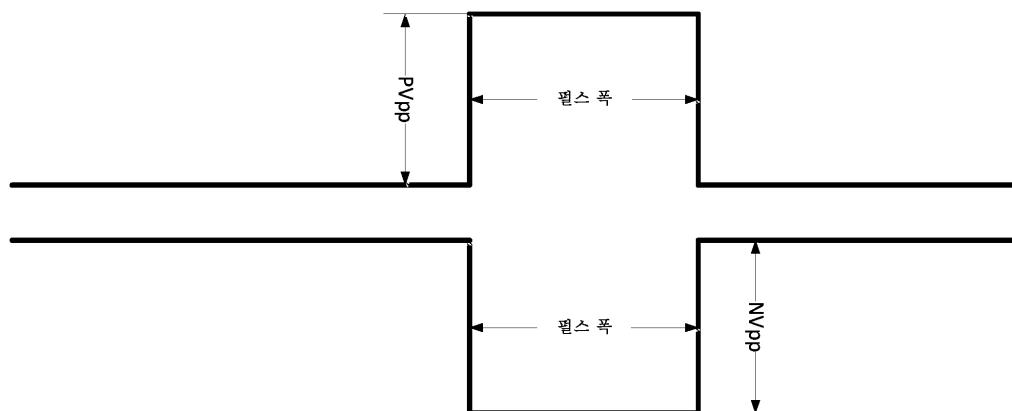
도면8kb



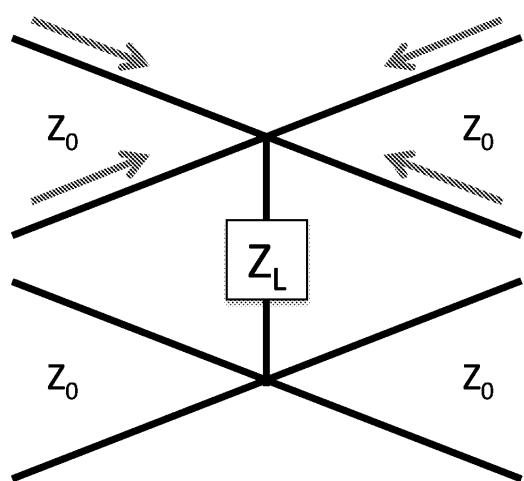
도면81a



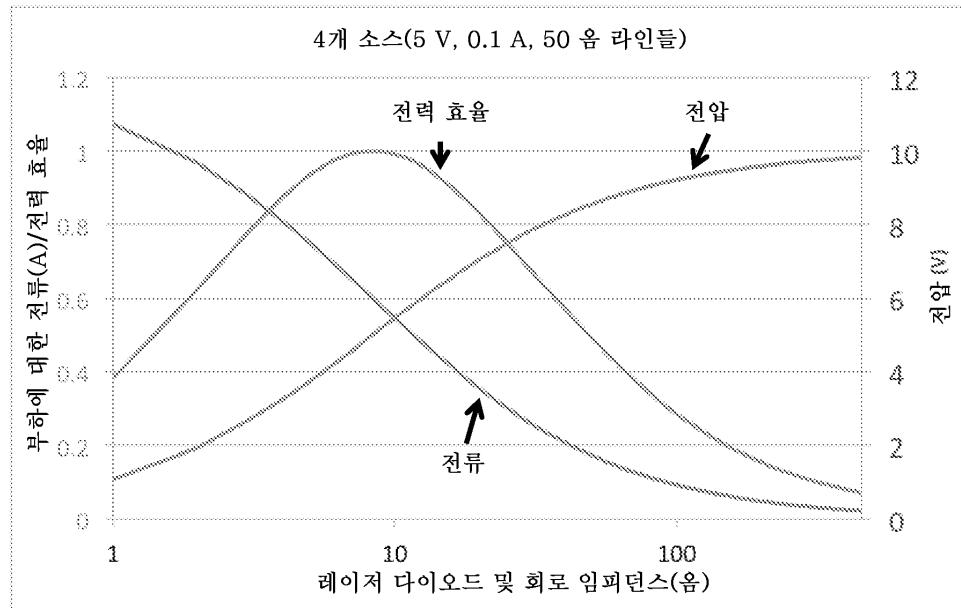
도면81b



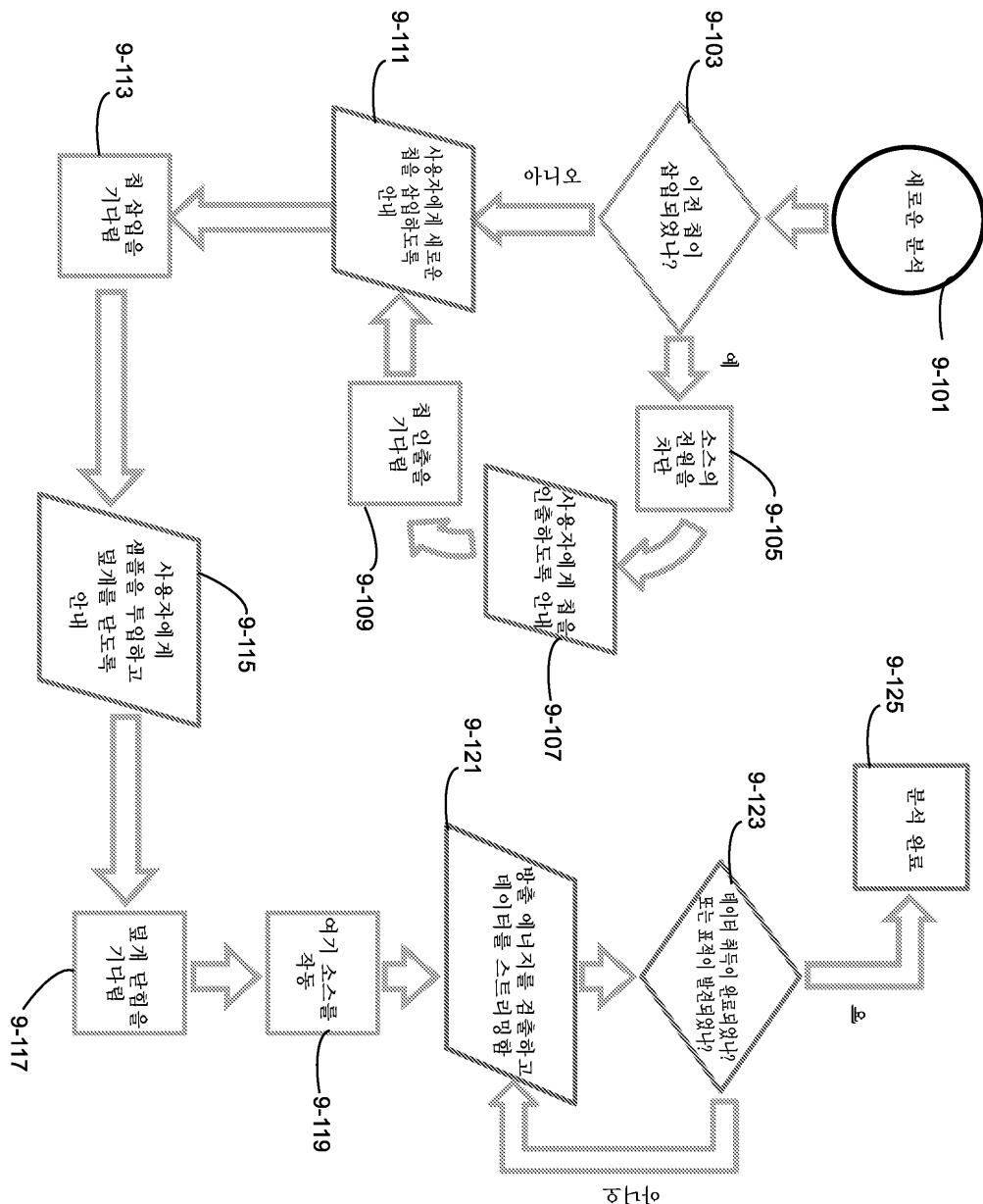
도면81a



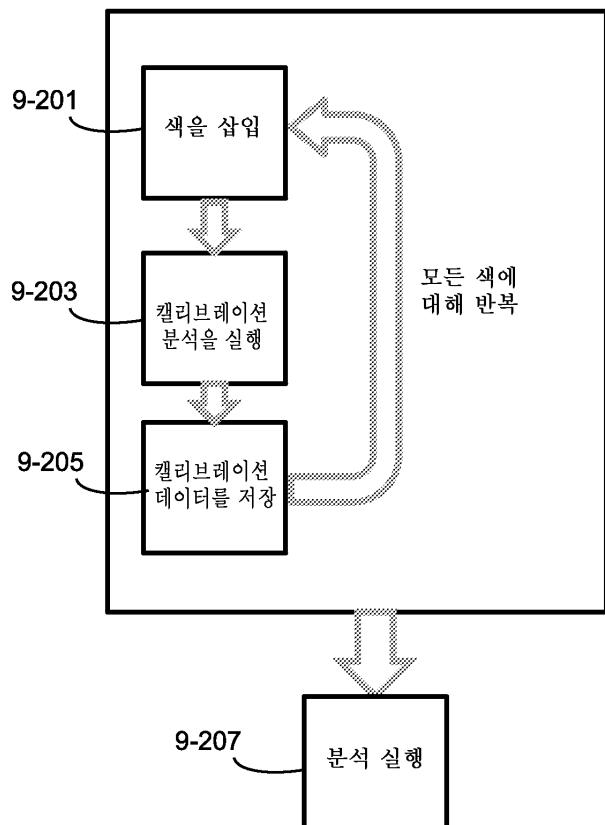
도면 8mb



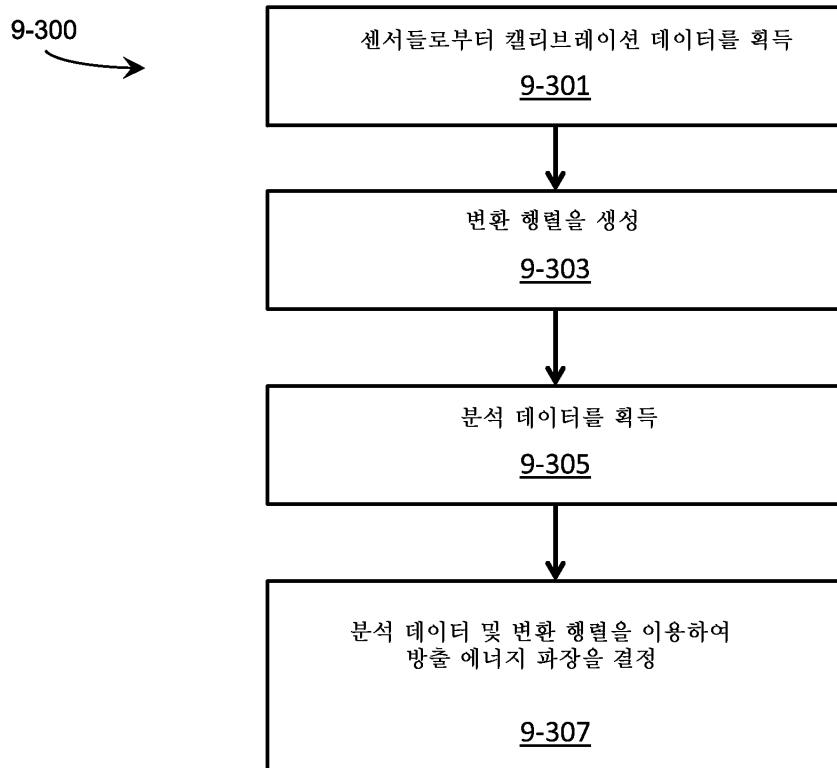
도면9a



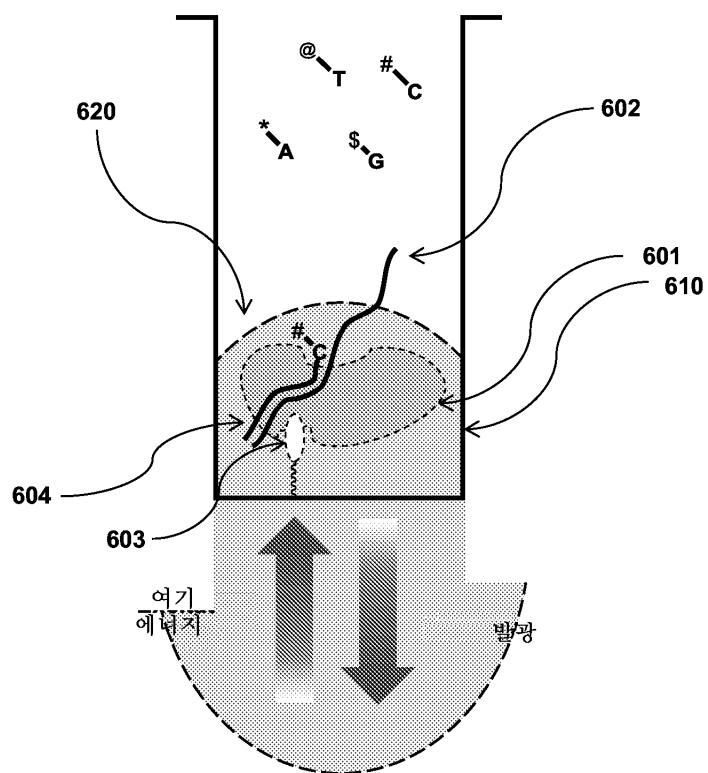
도면9b



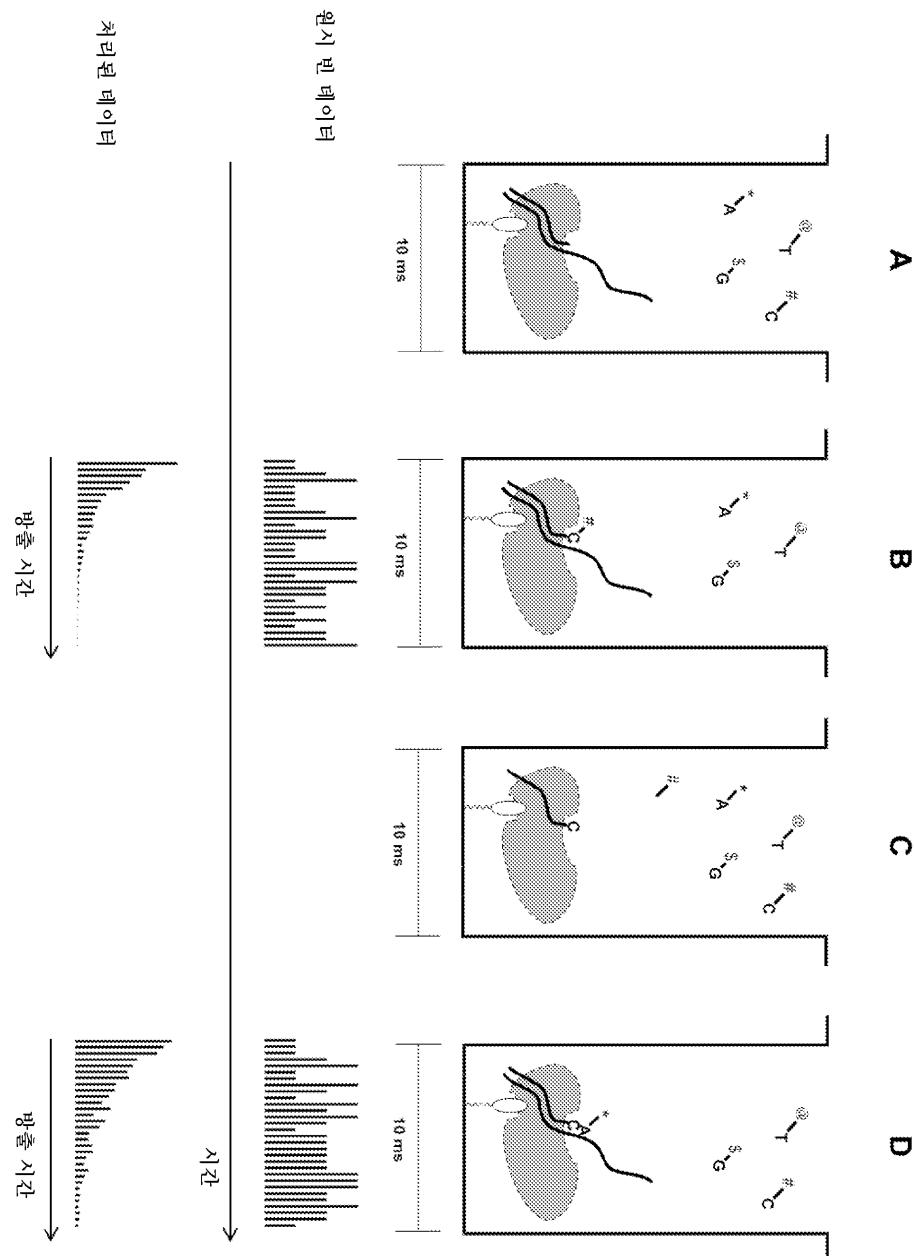
도면9c



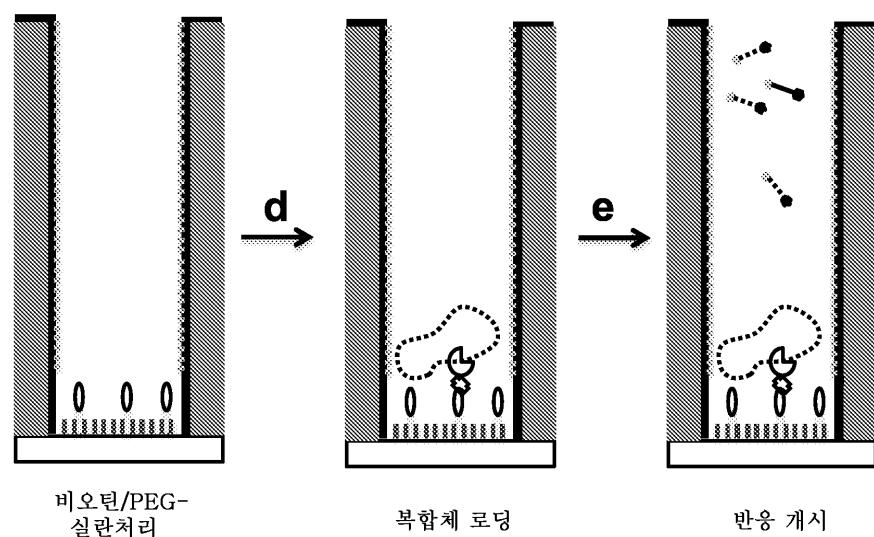
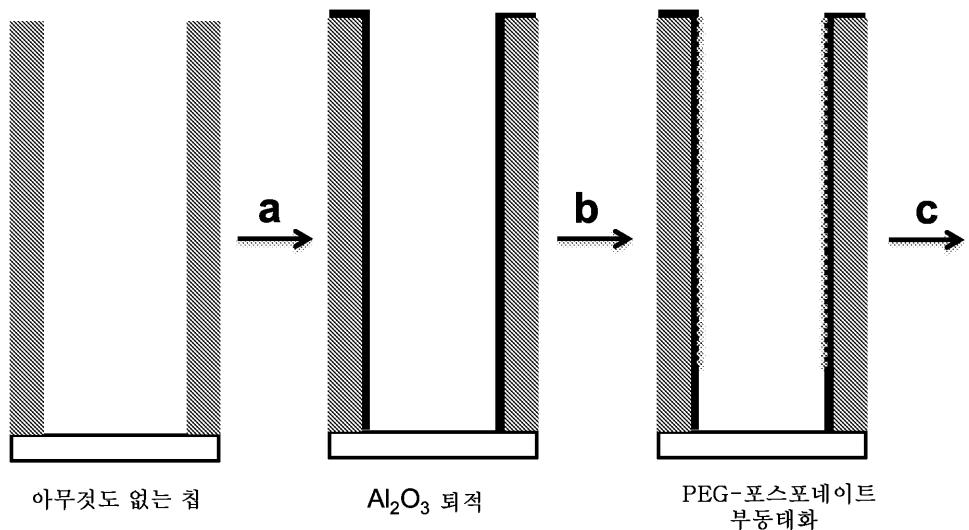
도면10a



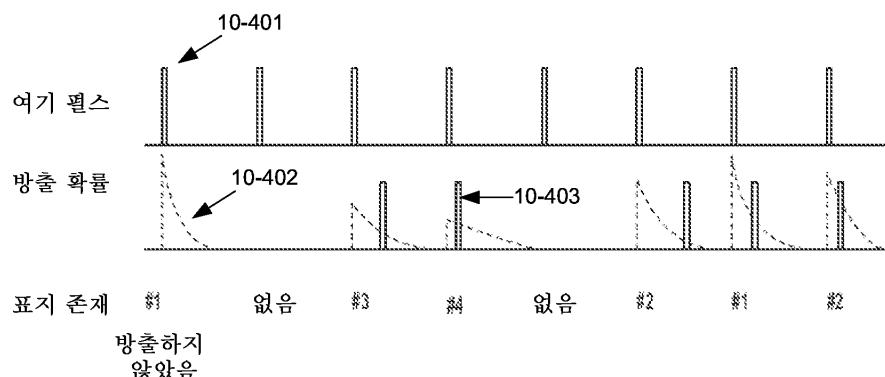
도면 10b



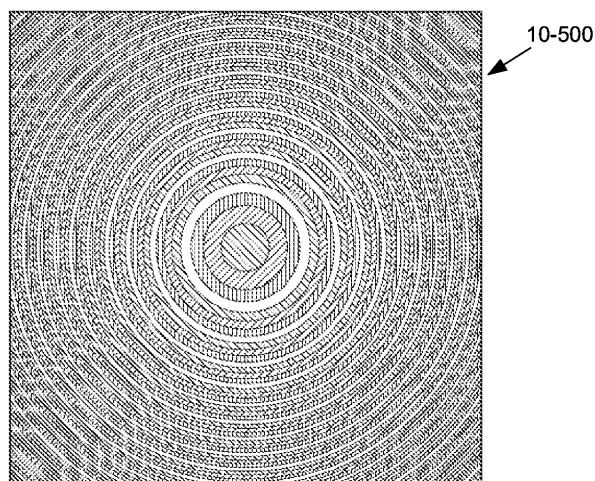
도면 10c



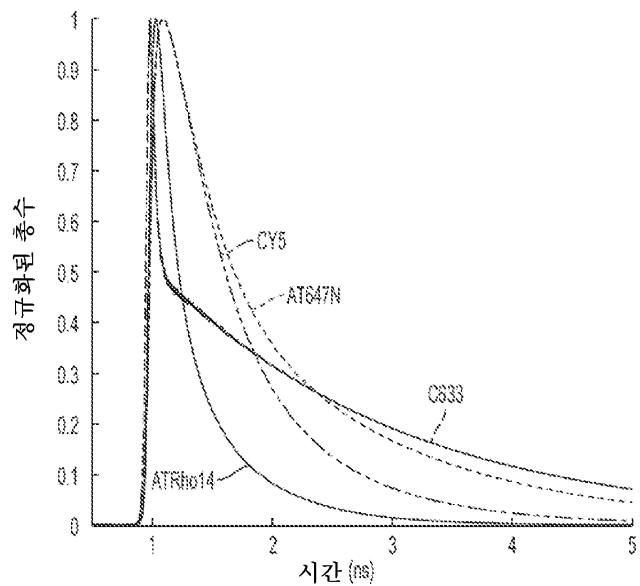
도면 10d



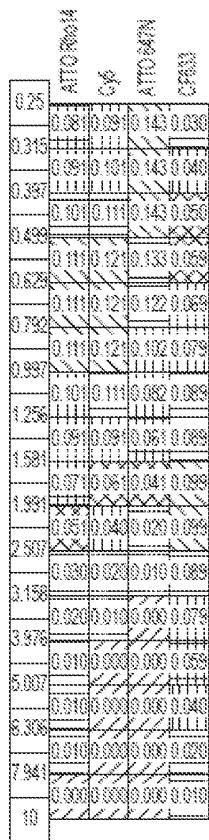
도면 10e



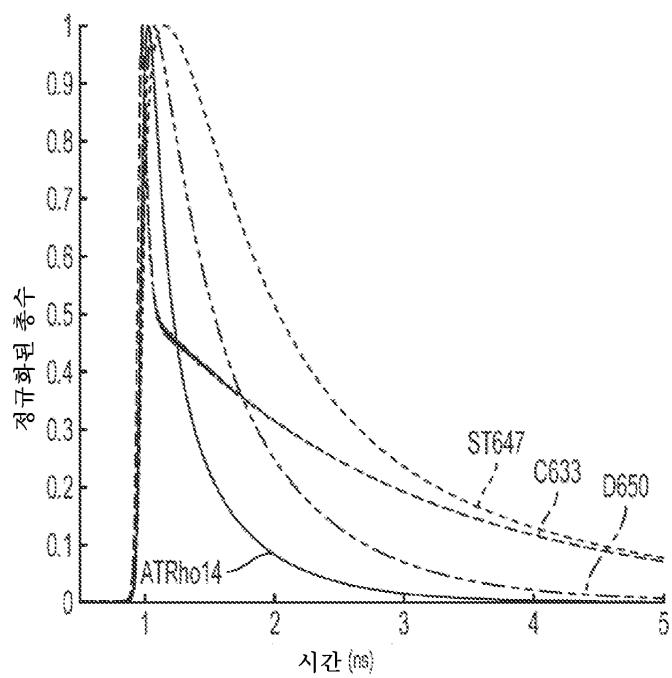
도면 10f



도면 10g



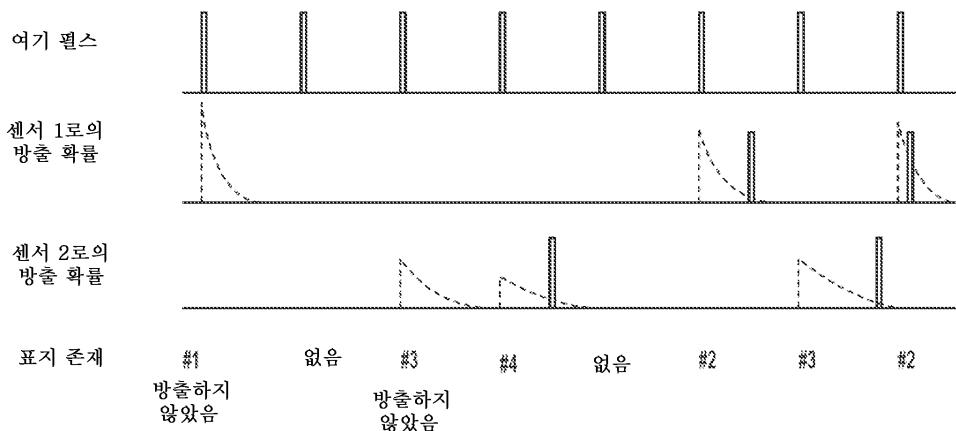
도면 10h



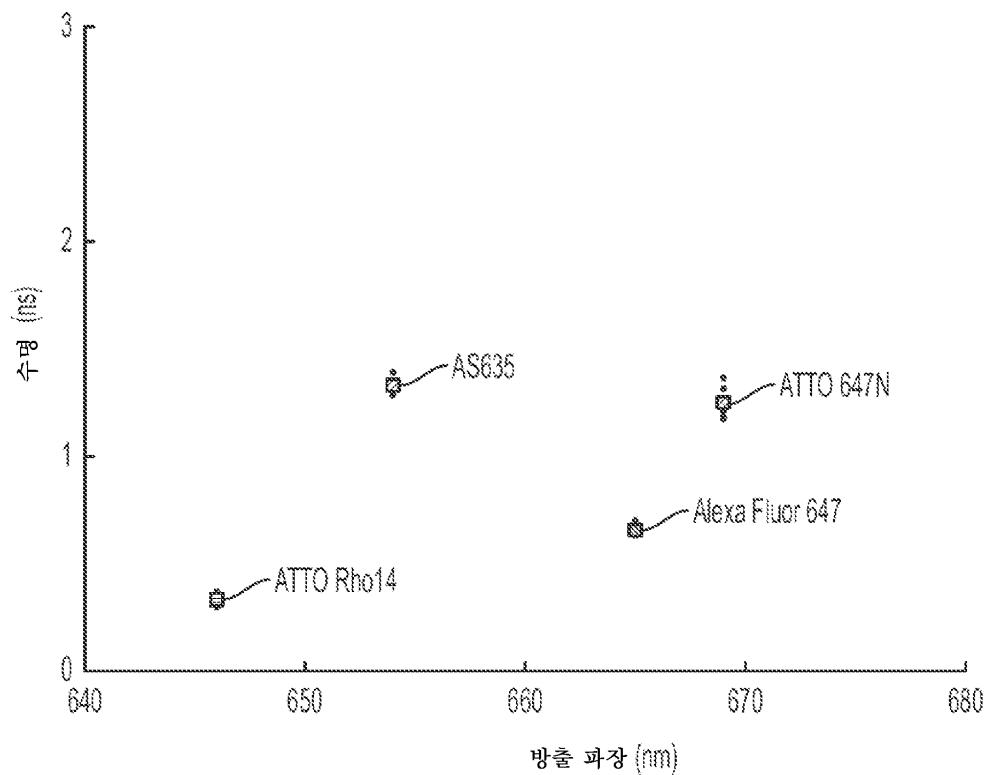
도면 10i

Exc.	Exc.	Exc.	Exc.
	AT10-R014		
	0.25	0.5	0.75
	0.384	0.297	0.170
	0.51		
	0.131	0.129	0.080
	0.367		
	0.182	0.208	0.180
	1.037		
	0.131	0.182	0.230
	1.915		
	0.020	0.030	0.050
	2.227		
	0.040	0.050	0.100
	3.163		
	0.000	0.000	0.010
	3.319		
	0.081	0.059	0.140
	7.803		
	0.000	0.000	0.010
	7.993		
	0.010	0.010	0.010
	8.701		
	0.000	0.000	0.000
	9.357		
	0.010	0.010	0.000
	9.247		
	0.010	0.010	0.010
	9.91		

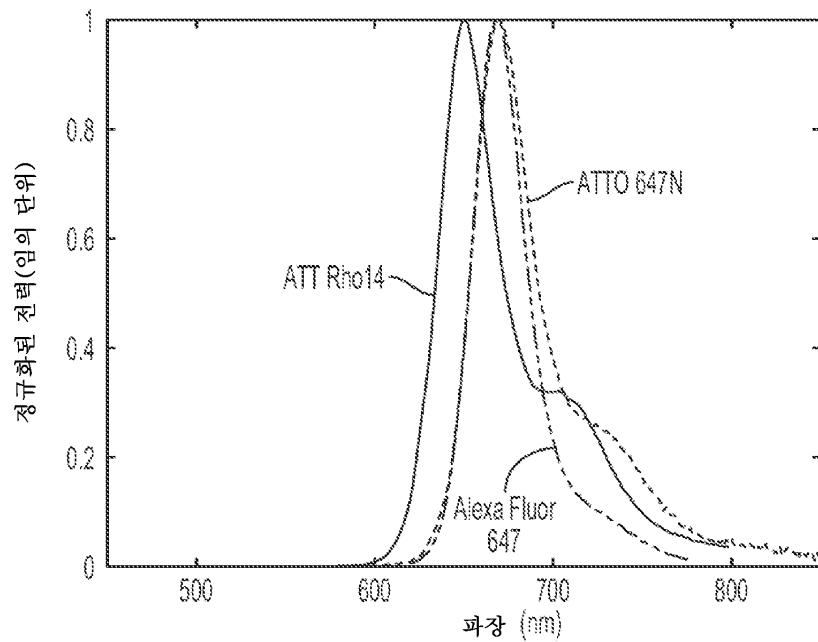
도면 10j



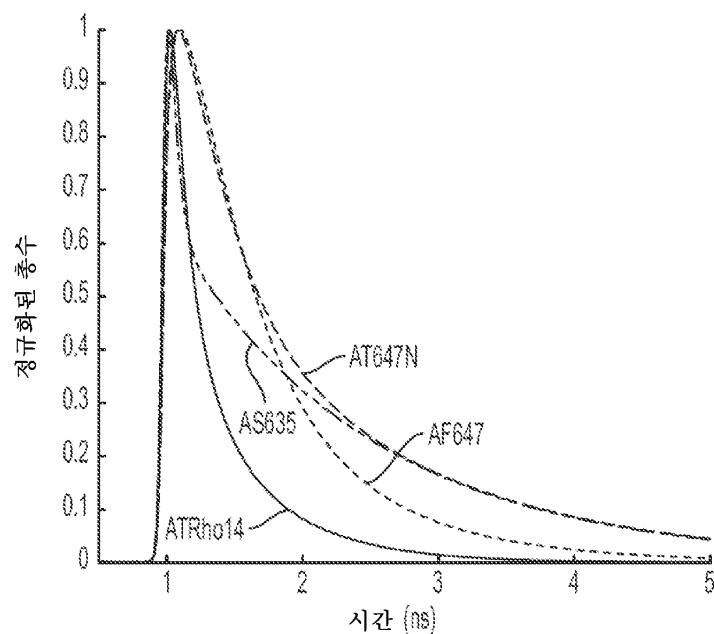
도면 10k



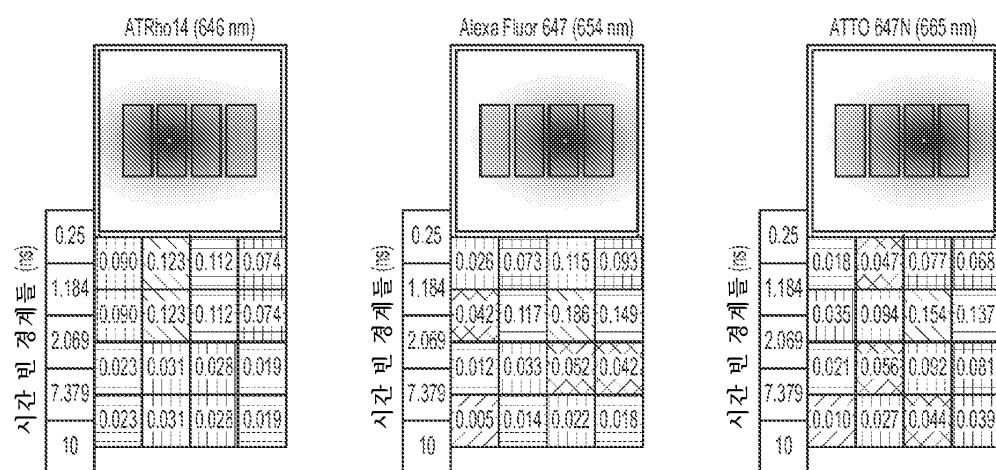
도면 10l



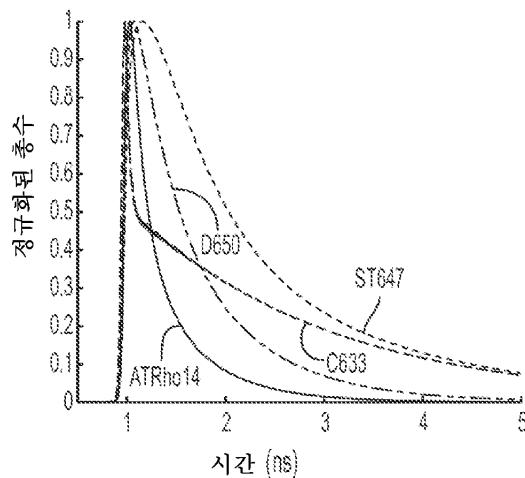
도면 10m



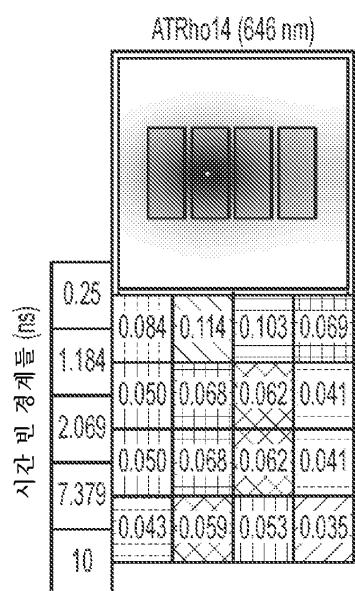
도면 10n



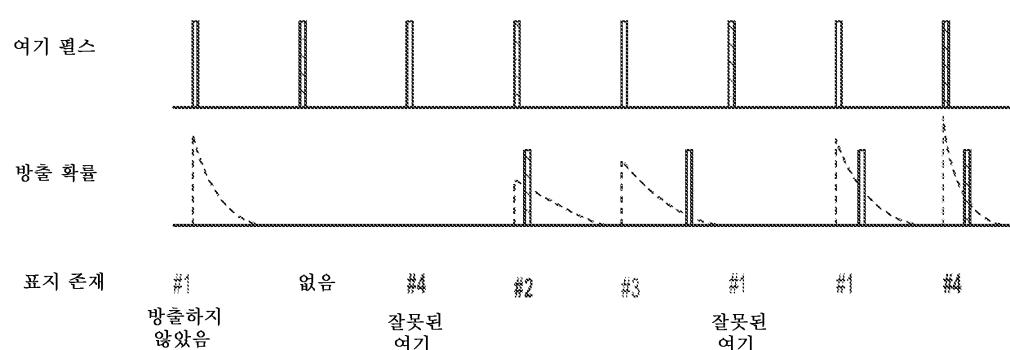
도면 10o



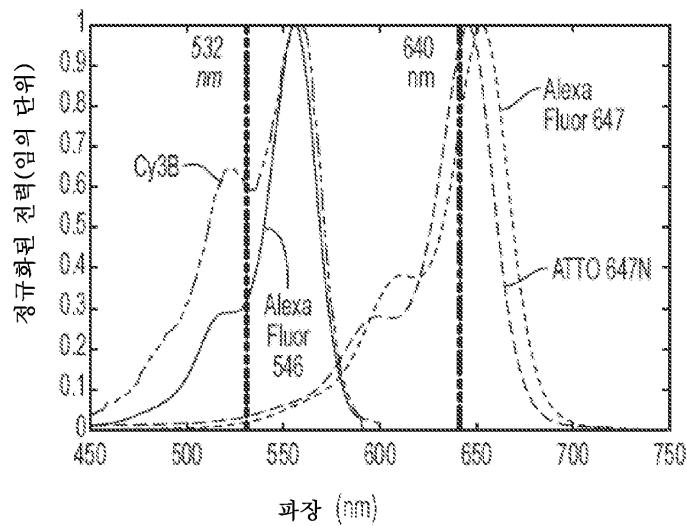
도면 10p



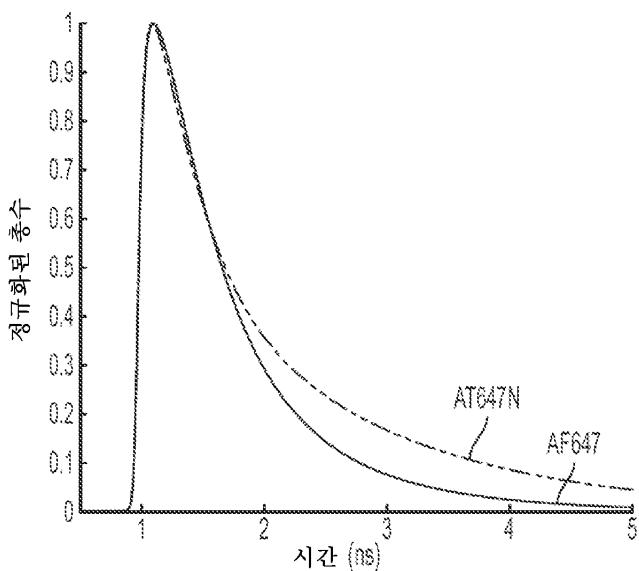
도면 10q



도면10r



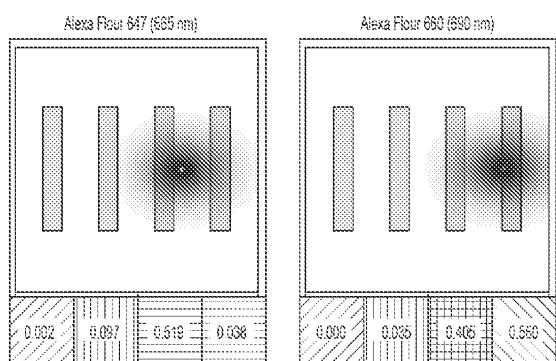
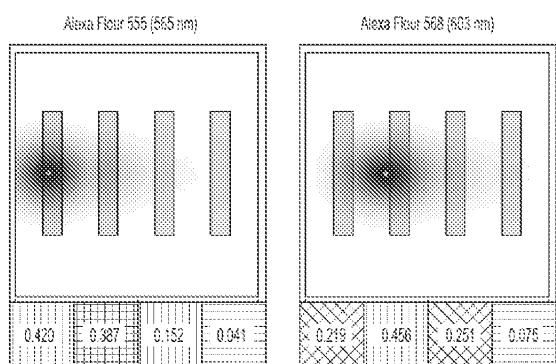
도면10s



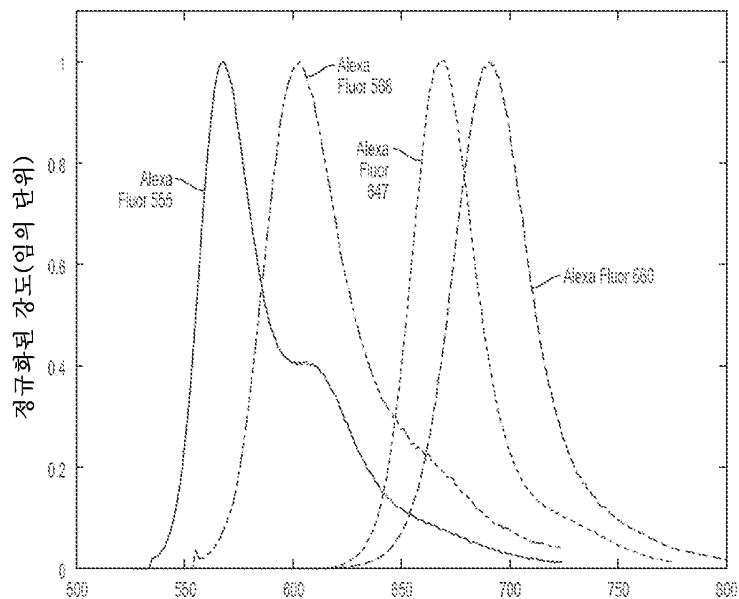
도면 10t

	ATTO 647N	CF633
0.25	0.374	0.091
0.397	0.333	0.113
0.629	0.212	0.118
0.997	0.081	0.102
1.581	0.016	0.069
2.507	0.000	0.043
3.976	0.000	0.022
6.306	0.000	0.020
10		

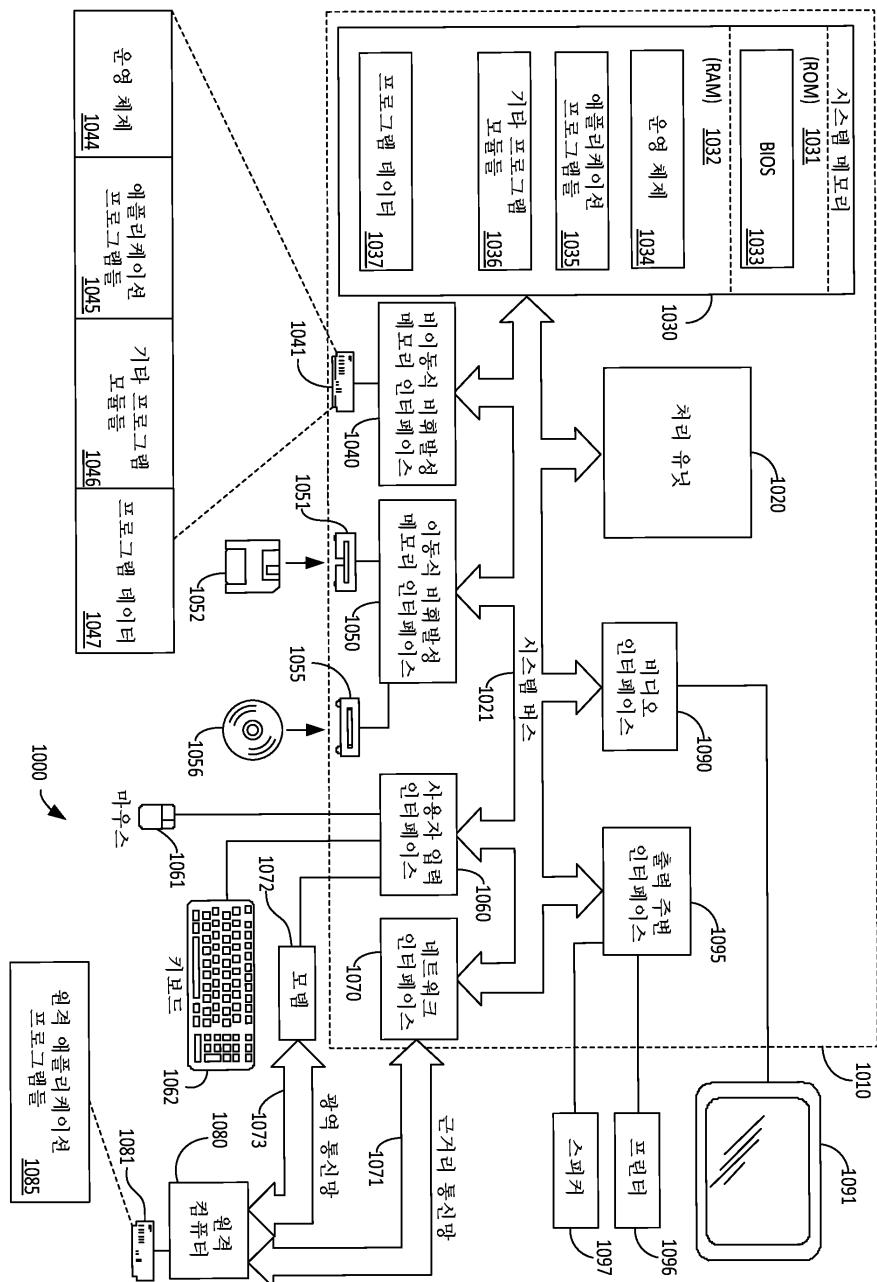
도면 10u



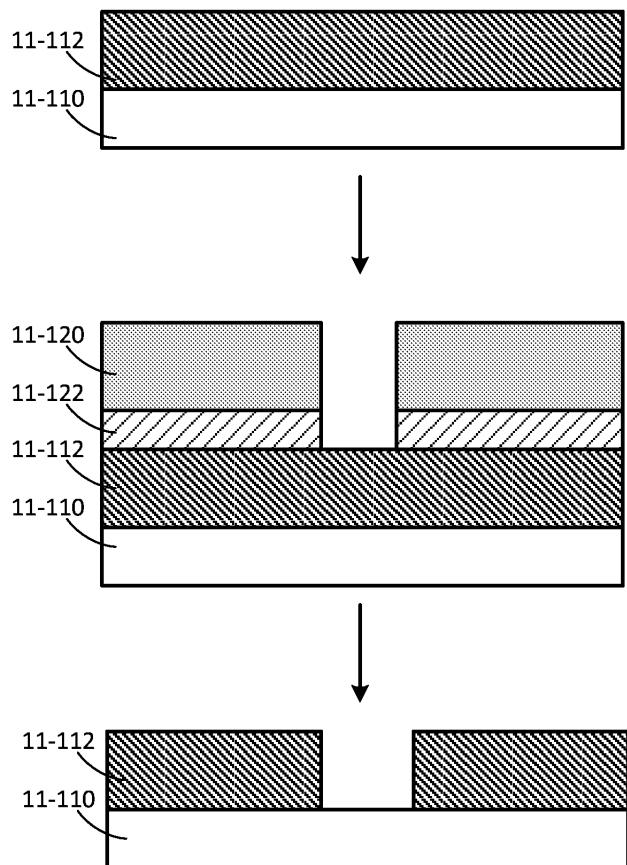
도면 10v



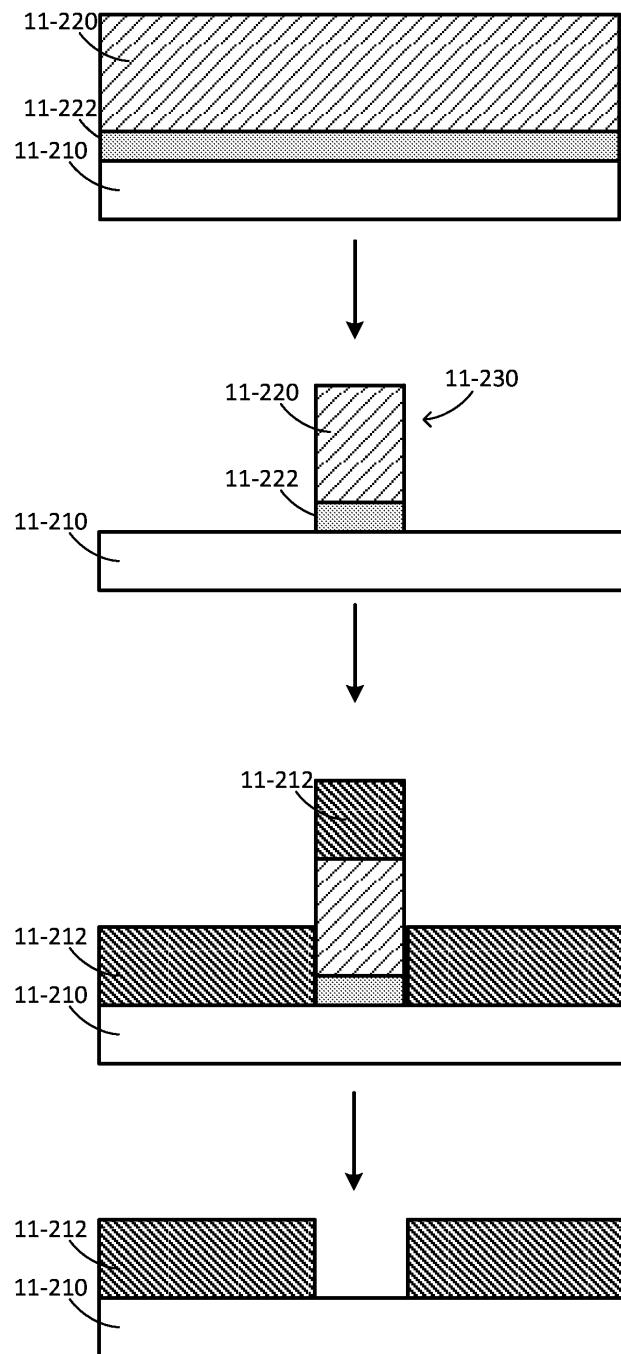
도면 10w



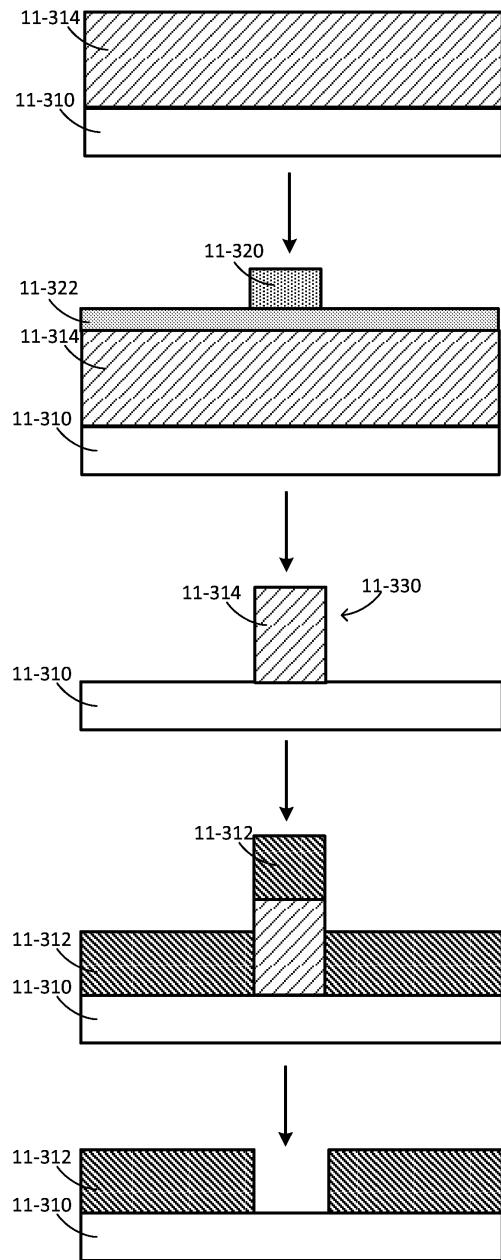
도면 11a



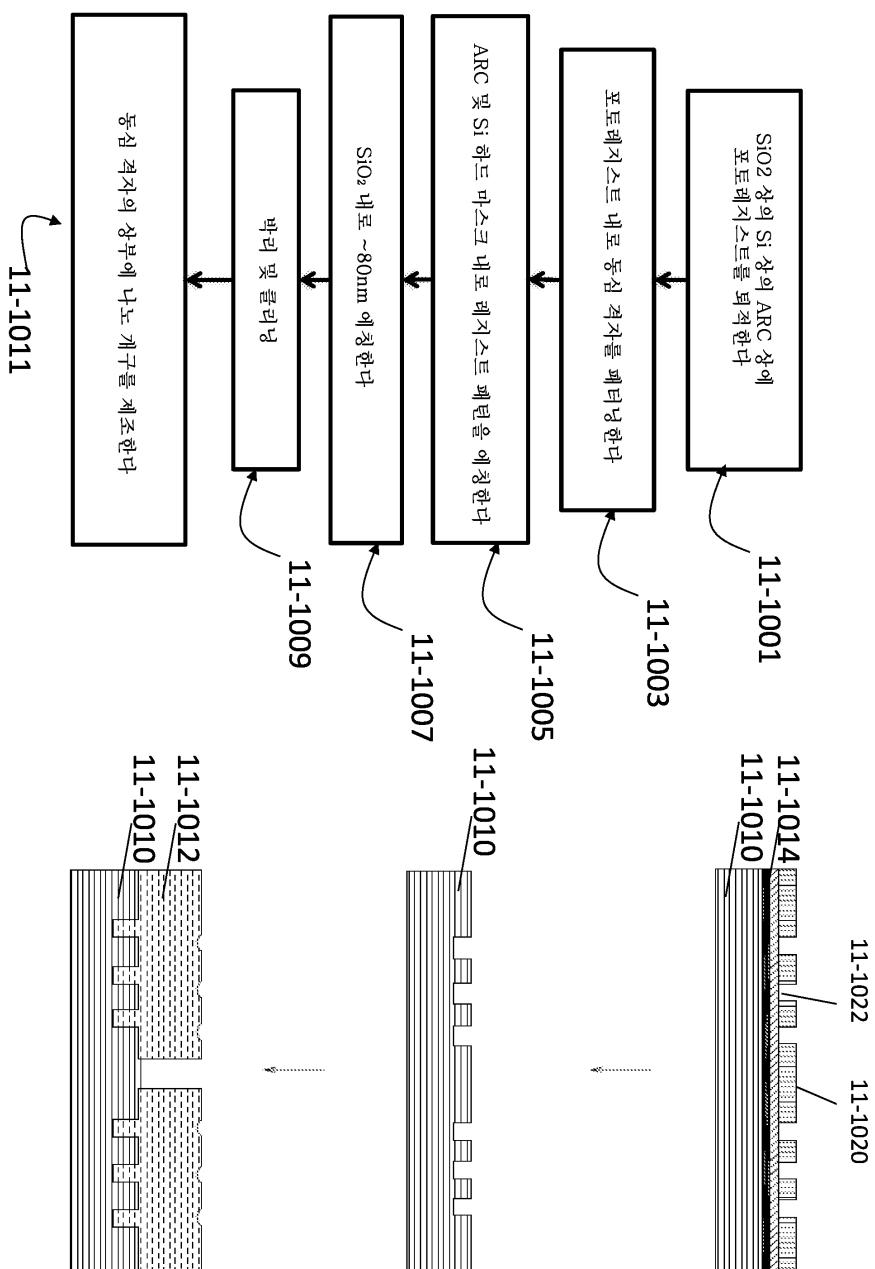
도면11b



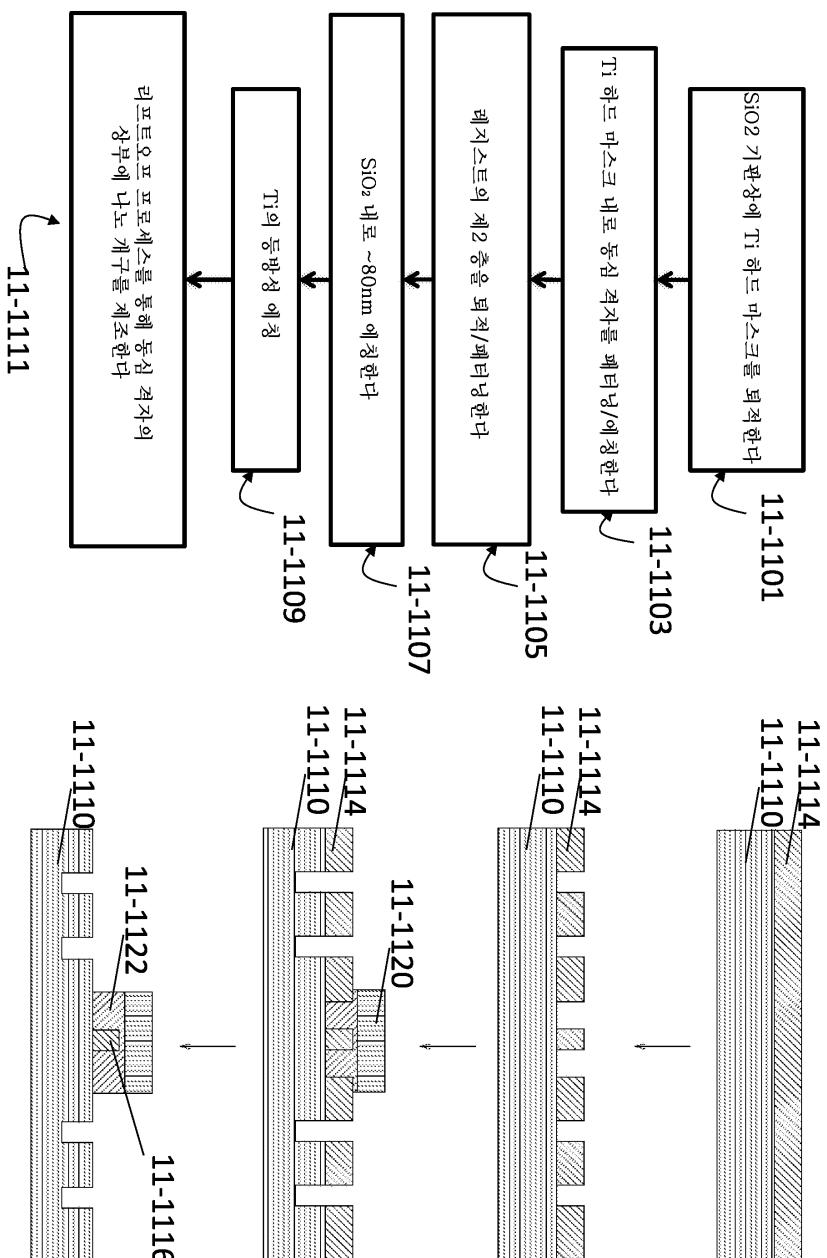
도면 11c



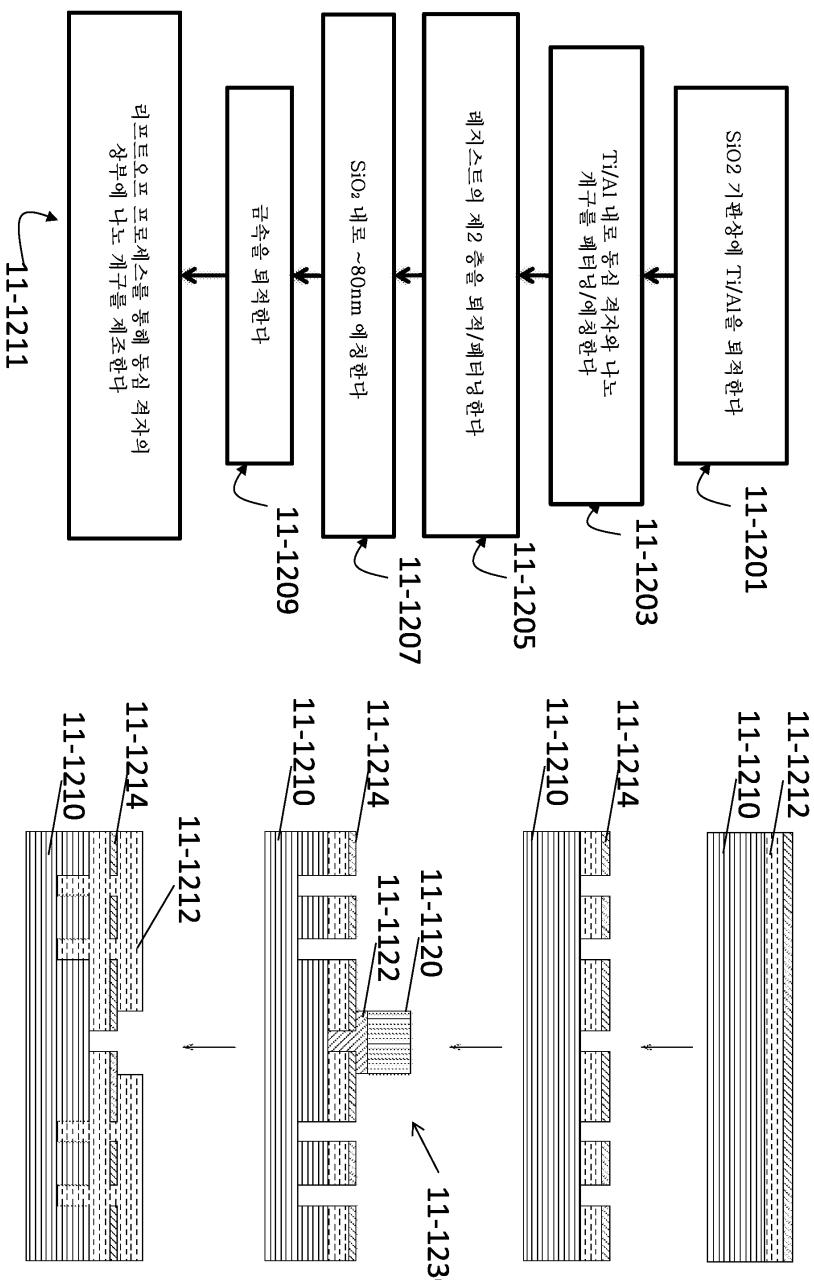
도면 11d



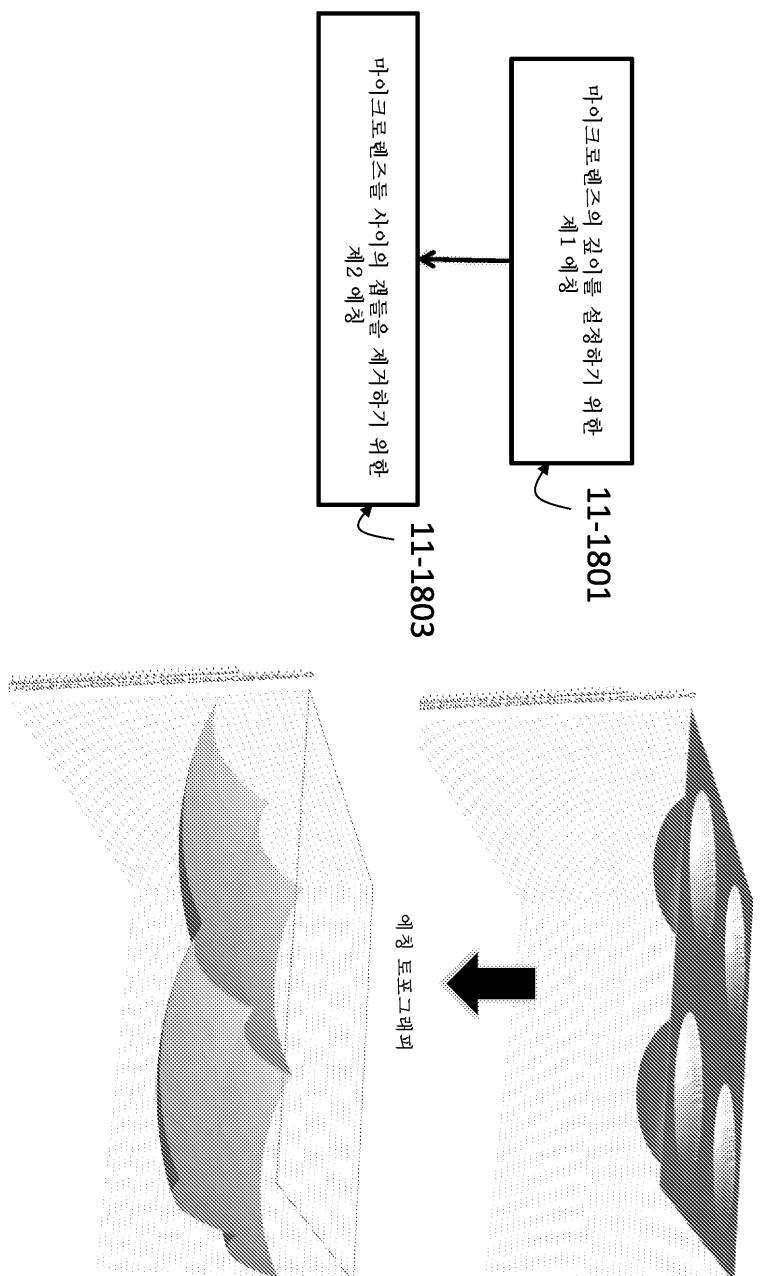
도면 11e



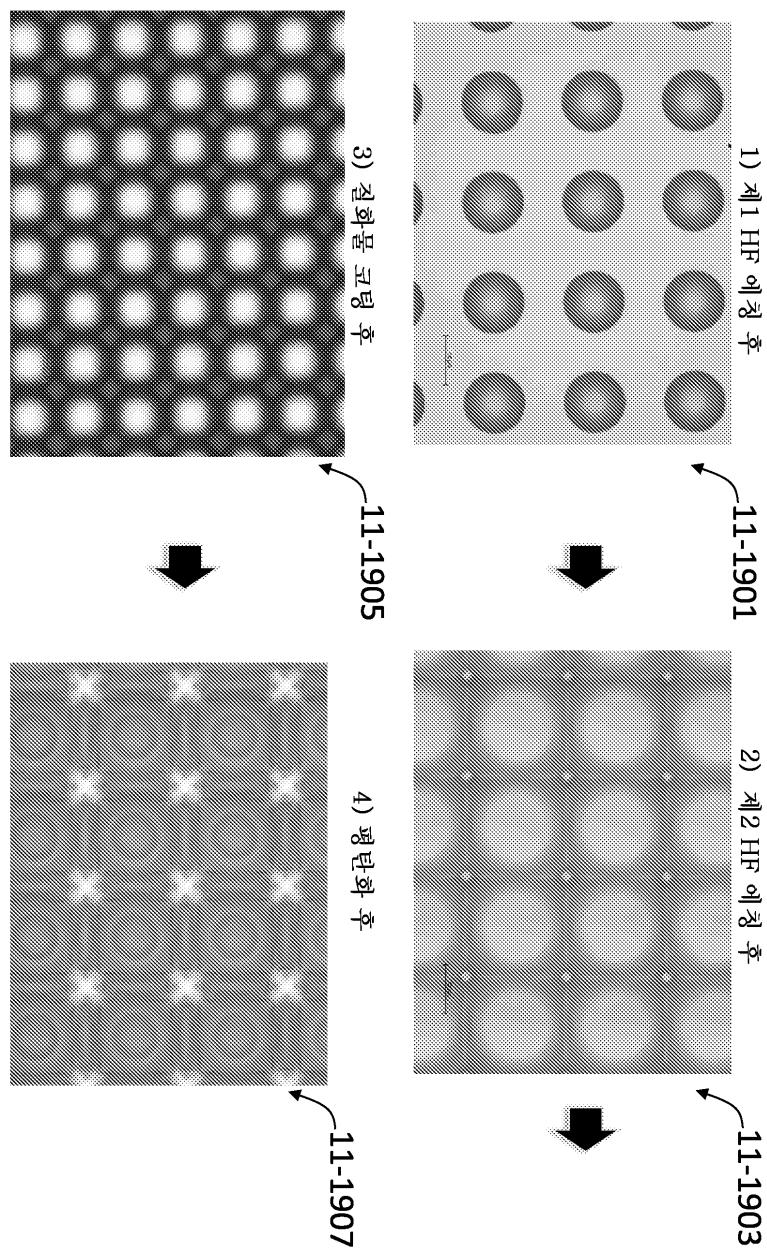
도면 11f



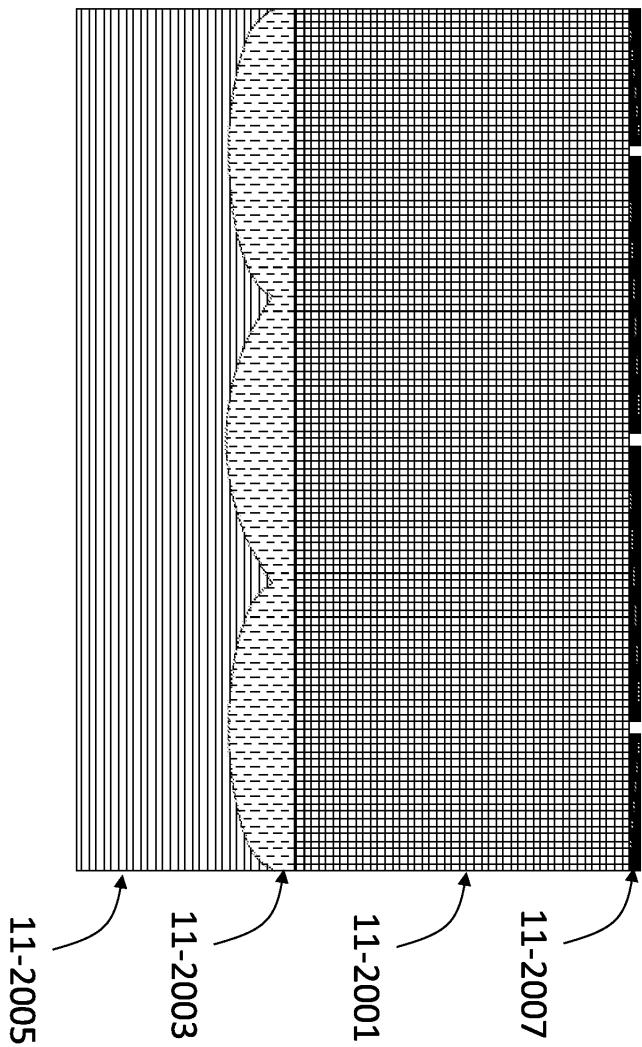
도면 11g



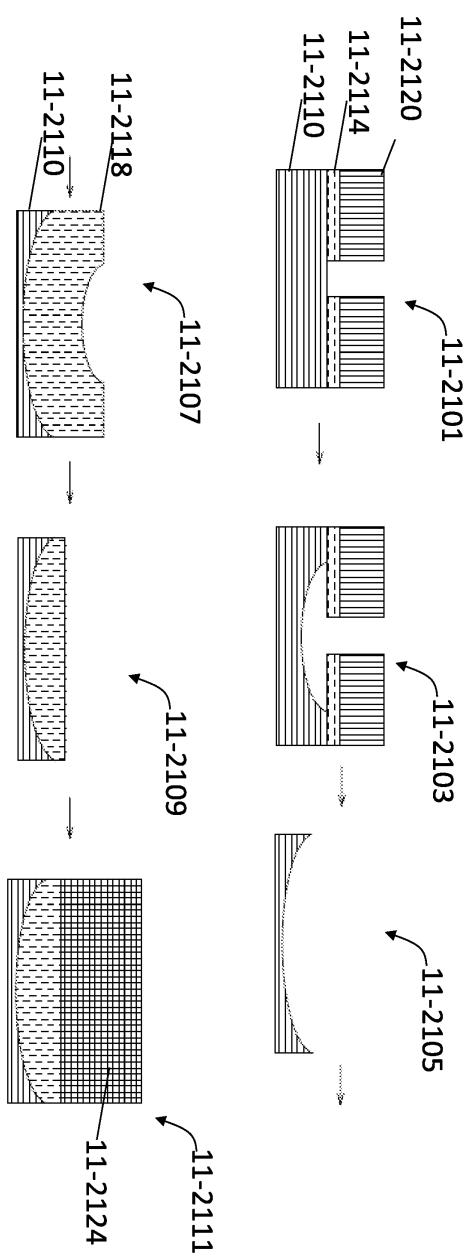
도면 11h



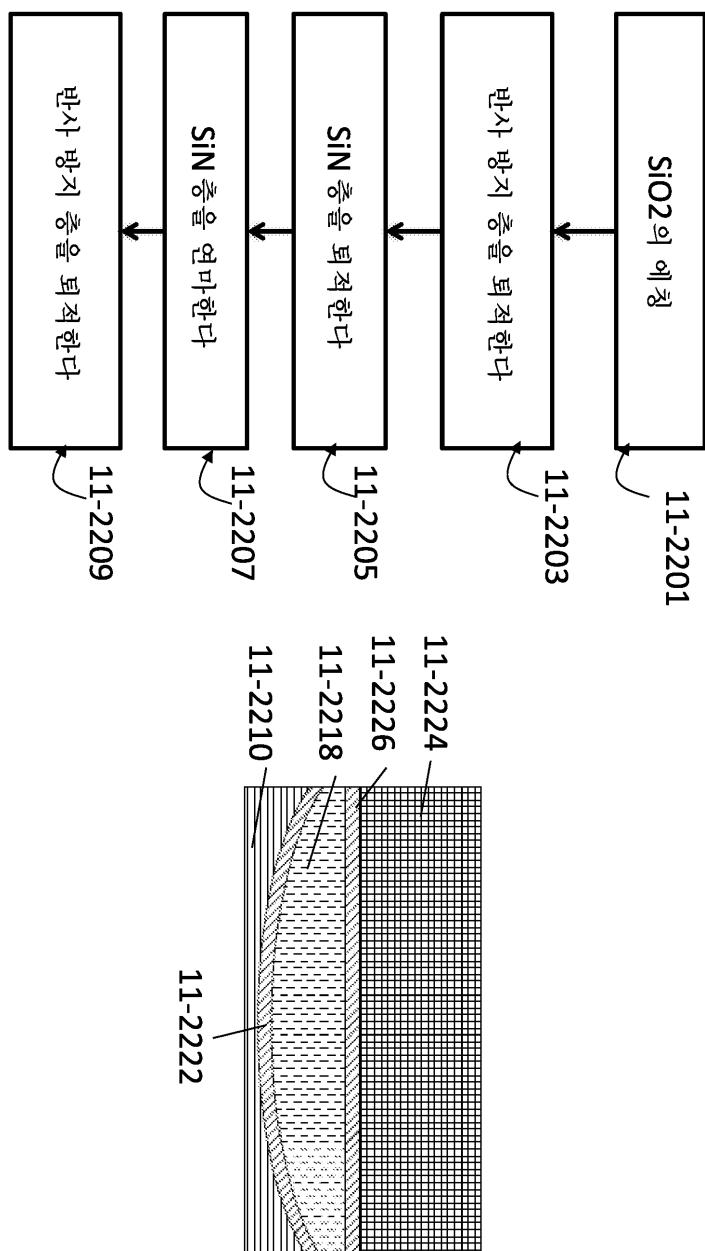
도면 11i



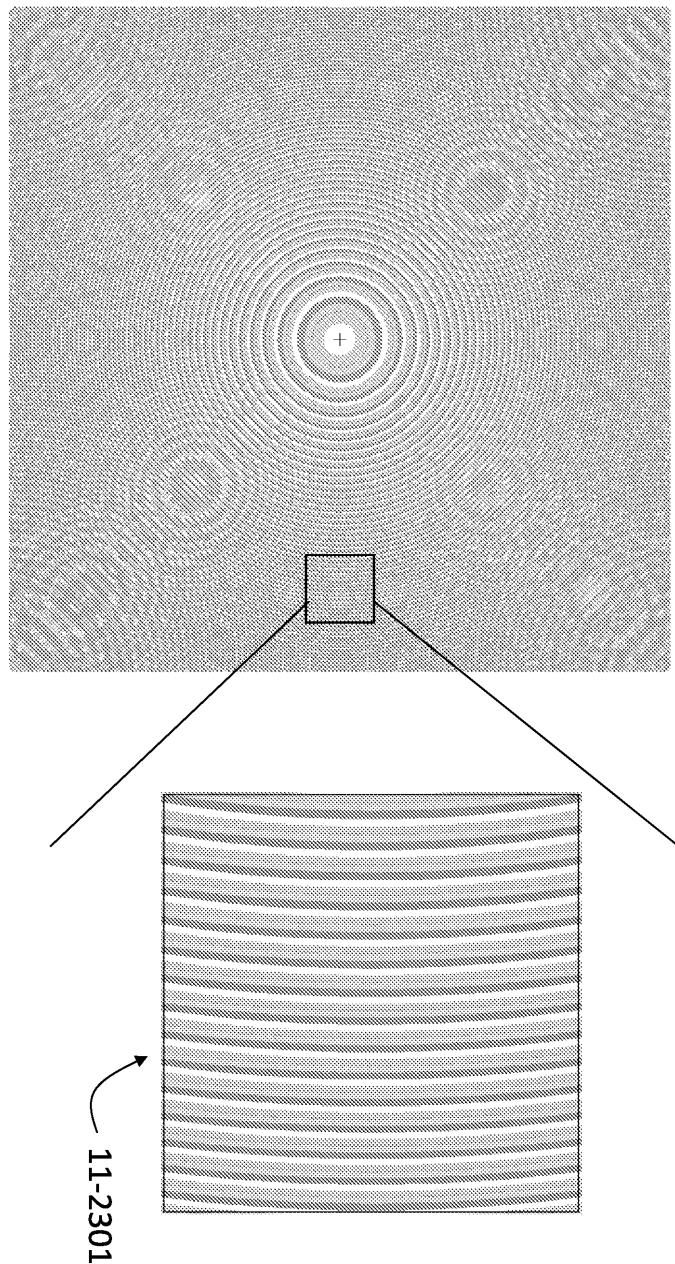
도면 11j



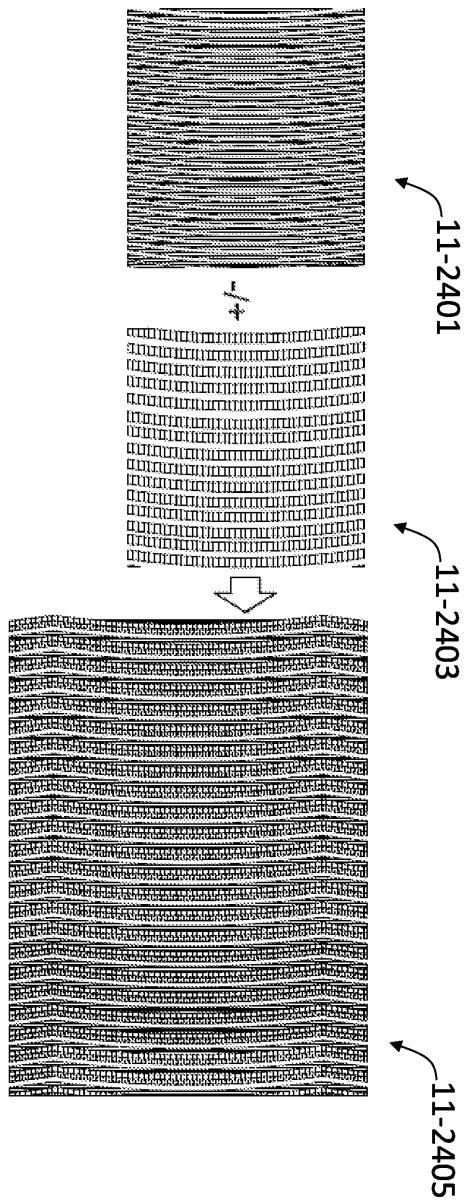
도면 11k



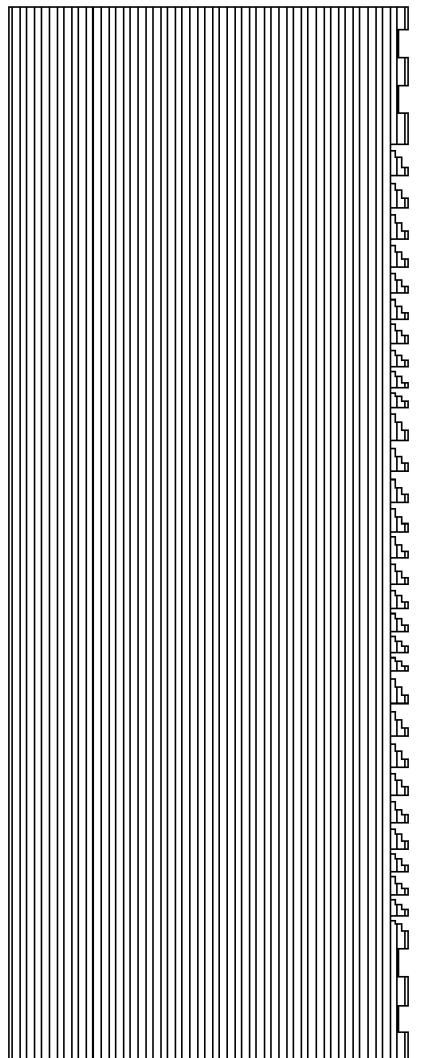
도면 111



도면 11m

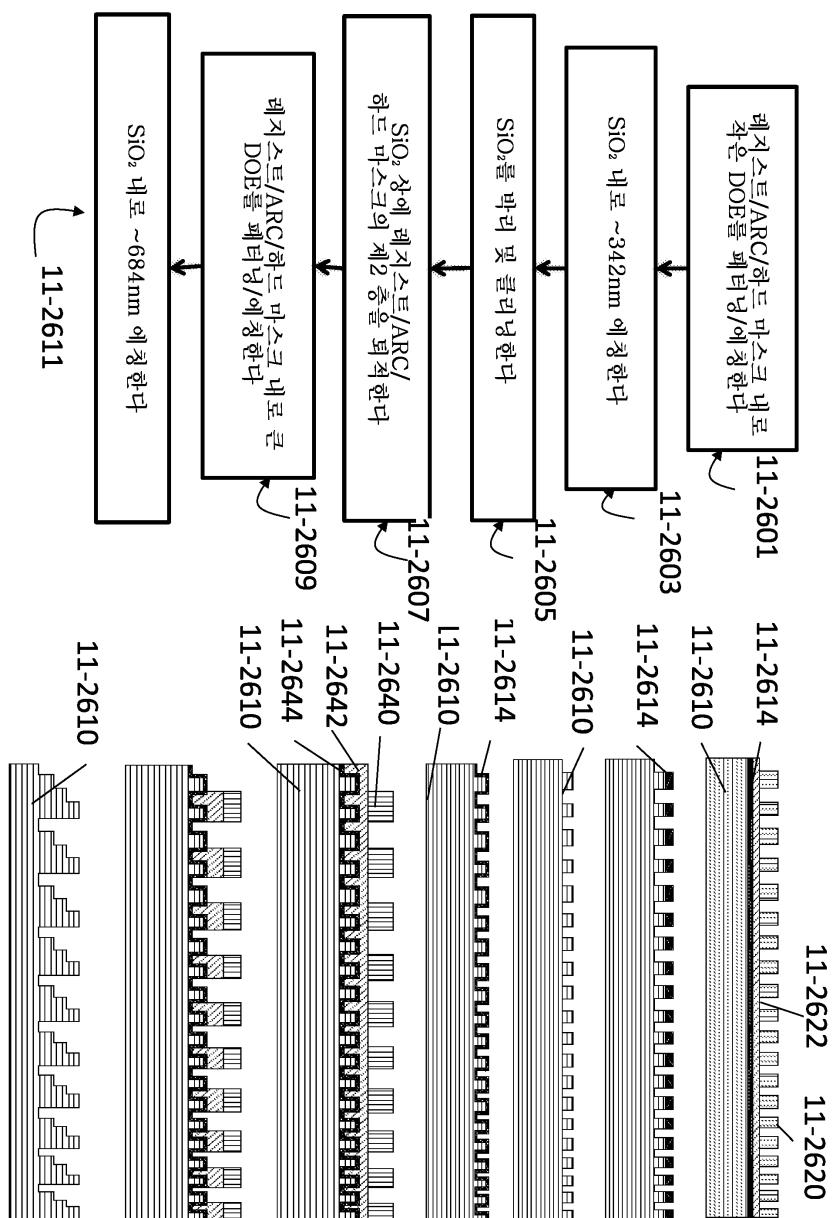


도면 11n

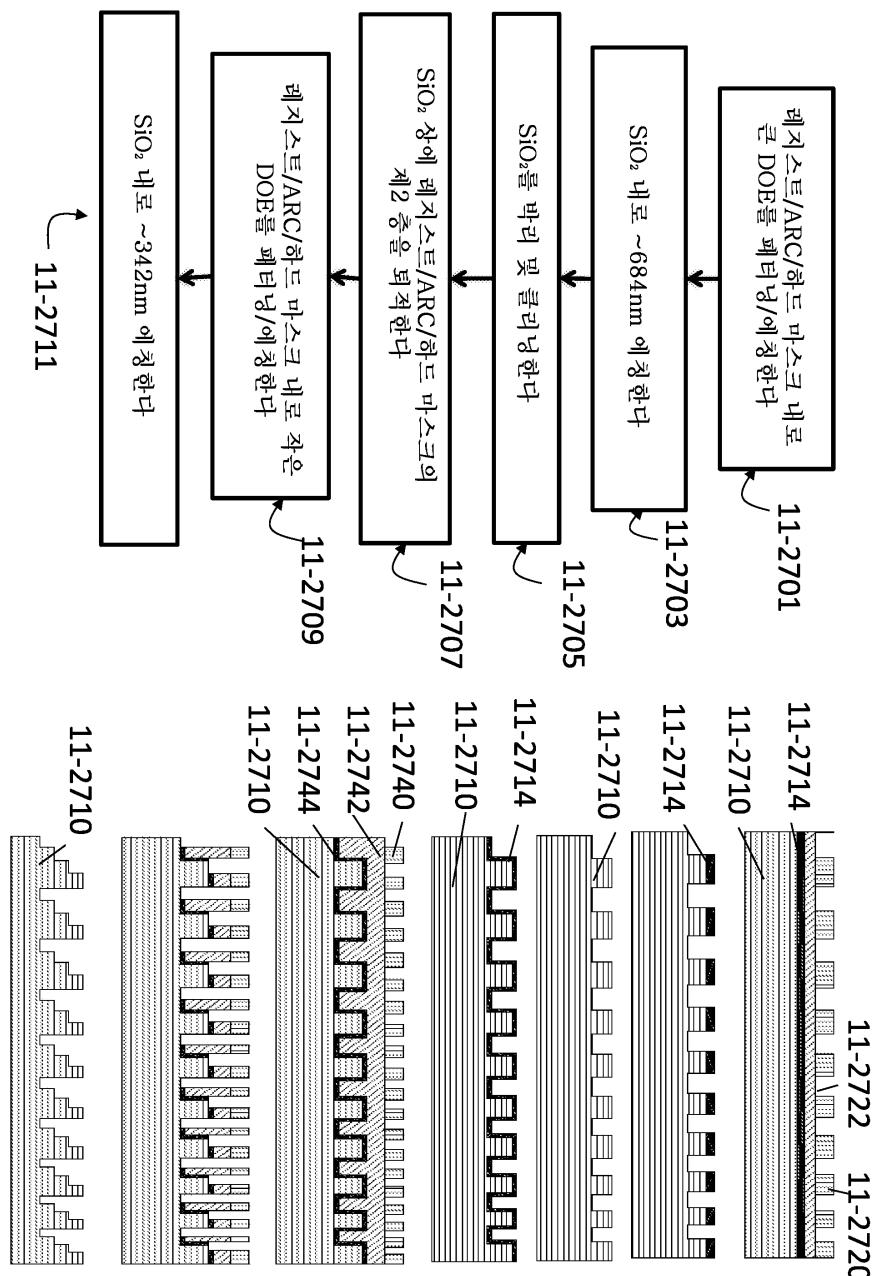


11-2501

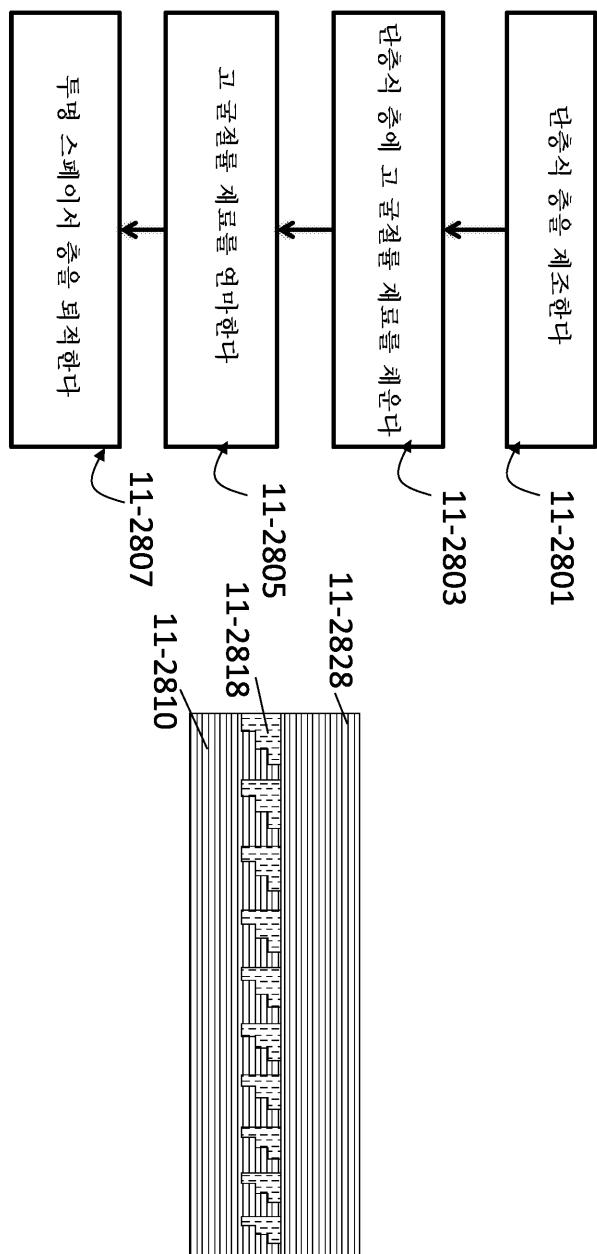
도면 110



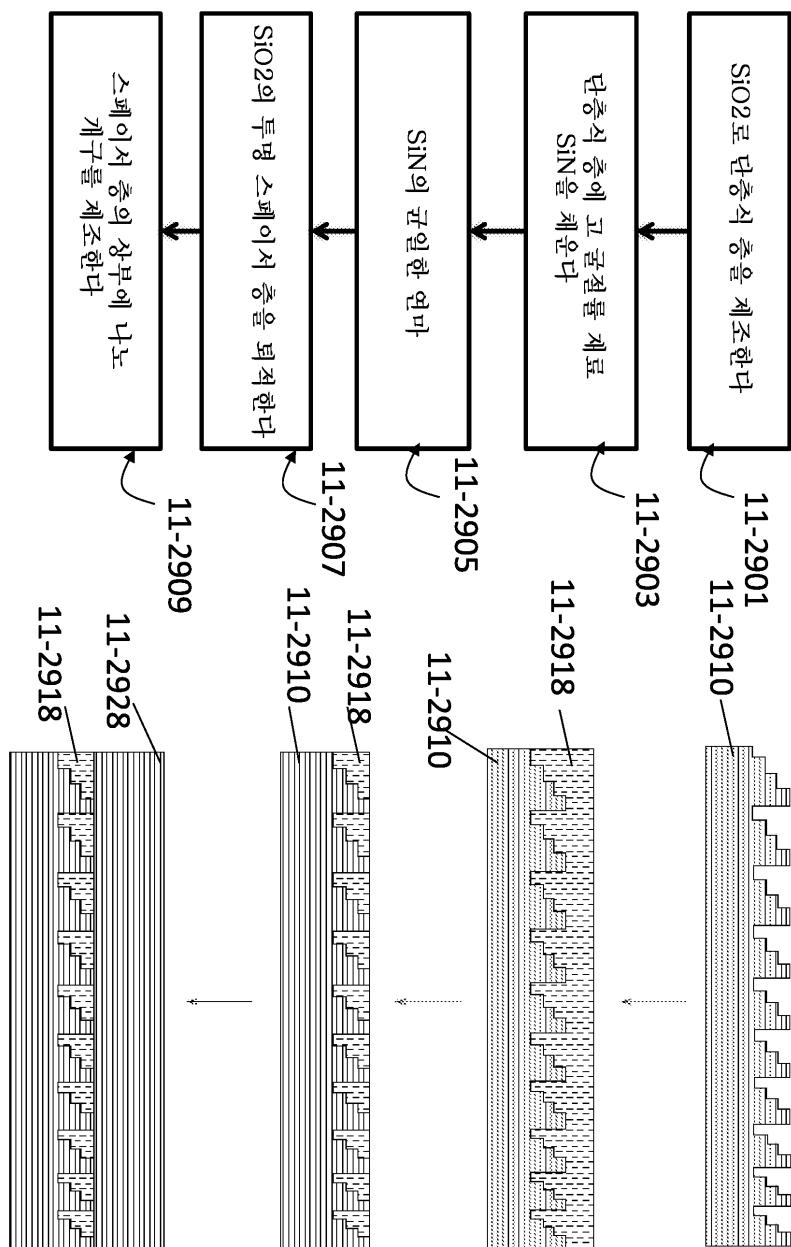
도면 11p



도면 11q



도면 11r



도면 11s

