

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第6930911号
(P6930911)

(45) 発行日 令和3年9月1日 (2021. 9. 1)

(24) 登録日 令和3年8月16日 (2021. 8. 16)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/64 (2006. 01)	GO 1 N 21/64 B
C 1 2 M 1/34 (2006. 01)	GO 1 N 21/64 F
C 1 2 Q 1/6869 (2018. 01)	C 1 2 M 1/34
	C 1 2 Q 1/6869

請求項の数 26 (全 154 頁)

(21) 出願番号	特願2017-506981 (P2017-506981)	(73) 特許権者	516144164
(86) (22) 出願日	平成27年8月7日 (2015. 8. 7)		クアンタムーエスアイ インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2017-525958 (P2017-525958A)		QUANTUM-S I INCORPORATED
(43) 公表日	平成29年9月7日 (2017. 9. 7)		アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード オールド ウィットフィールド ストリート 530
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/044379	(74) 代理人	100105957
(87) 国際公開番号	W02016/023011		弁理士 恩田 誠
(87) 国際公開日	平成28年2月11日 (2016. 2. 11)	(74) 代理人	100068755
審査請求日	平成30年8月7日 (2018. 8. 7)		弁理士 恩田 博宣
(31) 優先権主張番号	62/164, 464	(74) 代理人	100142907
(32) 優先日	平成27年5月20日 (2015. 5. 20)		弁理士 本田 淳
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/035, 258		
(32) 優先日	平成26年8月8日 (2014. 8. 8)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分子の探索、検出、および解析のための外部光源を備える集積装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

集積装置であって、
励起エネルギーを伝播させるように構成された少なくとも 1 つの導波路と、
前記集積装置の表面に入射する励起エネルギーを受け取り、前記励起エネルギーを前記少なくとも 1 つの導波路に結合するように構成された格子カプラであって、前記集積装置の前記表面が前記格子カプラよりも上に形成されたクラッド材料の表面であることにより、前記集積装置の前記表面よりも下に位置する格子カプラと、
複数のピクセルと、を含み、前記複数のピクセルのうちの 1 つのピクセルが、
前記表面上に形成され、前記少なくとも 1 つの導波路から励起エネルギーを受け取るように構成された検体ウェルと、
前記検体ウェル内に位置付けられた検体からの発光を受け取り、かつ前記受け取られた発光に基づいて前記検体の識別情報を提供する信号を生成するように位置付けられた少なくとも 1 つのセンサとを含む集積装置。

【請求項 2】

前記信号が前記受け取られた発光の時間的パラメータを示す、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 3】

前記時間的パラメータが、前記検体からの前記発光に関連付けられる寿命である、請求項 2 に記載の集積装置。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つのセンサは、前記検体からの発光による受け取られた光子によって生成された電荷キャリアを、少なくとも 2 つのビンに集約することによって前記信号を生成する、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つのセンサは、励起エネルギーのパルスが前記検体ウェルに送達された後の時間について、互いに異なる時間間隔にわたって前記電荷キャリアを前記少なくとも 2 つのビンに集約することと、前記互いに異なる時間間隔の各々において到来した光子の相対数を示す信号を生成することと、を行うようにさらに構成されている、請求項 4 に記載の集積装置。

10

【請求項 6】

前記信号が、前記発光のスペクトルと、前記発光の特徴的波長と、前記検体の吸収スペクトルと、のうちの少なくとも 1 つを示す、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 7】

リフレクタ層をさらに含み、前記リフレクタ層は、前記格子カプラの面の付近に配置され、前記格子カプラを通過する励起エネルギーを前記格子カプラに向かって反射するように位置付けられている、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 8】

前記複数のピクセルは、前記集積装置のピクセル領域に配置され、前記格子カプラは、前記ピクセル領域から離れた励起源結合領域に配置されている、請求項 1 に記載の集積装置。

20

【請求項 9】

前記検体ウェルが、複数の分子を含む検体から分子を分離するように構成される、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 10】

前記格子カプラに向かって励起エネルギーを反射するように位置付けられたリフレクタ層をさらに含み、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 11】

前記リフレクタ層が少なくとも 1 つの穴を含み、前記集積装置が、前記リフレクタ層の前記少なくとも 1 つの穴を通じて励起エネルギーを受け取り、かつ前記受け取られた励起エネルギーの強度を測定するように位置付けられた少なくとも 1 つのモニタセンサをさらに含む、請求項 10 に記載の集積装置。

30

【請求項 12】

前記受け取られた励起エネルギーの前記強度が、前記格子カプラに対する前記励起エネルギーのアラインメントプロセスのためのフィードバックループの一部として信号を提供する、請求項 11 に記載の集積装置。

【請求項 13】

前記複数のピクセルのうちの前記 1 つのピクセルが、前記検体ウェルと前記少なくとも 1 つの導波路との間に、前記少なくとも 1 つの導波路から前記検体ウェルに励起エネルギーを結合する少なくとも 1 つの結合要素をさらに含む、請求項 1 に記載の集積装置。

40

【請求項 14】

前記少なくとも 1 つの結合要素がマイクロキャビティである、請求項 13 に記載の集積装置。

【請求項 15】

前記少なくとも 1 つの結合要素がブルズアイ回折格子である、請求項 13 に記載の集積装置。

【請求項 16】

前記複数のピクセルのうちの前記 1 つのピクセルが、励起エネルギーが前記少なくとも 1 つのセンサにより検出されるのを抑制するバッフルをさらに含む、請求項 1 に記載の集積装置。

50

【請求項 17】

前記ピクセル領域が、前記少なくとも 1 つの導波路と前記少なくとも 1 つのセンサとの間に位置付けられている、励起エネルギーを選択的にフィルタ処理するとともに前記検体ウェルからの発光エネルギーを透過させる少なくとも 1 つの励起フィルタをさらに含む、請求項 8 に記載の集積装置。

【請求項 18】

前記格子カプラが、前記少なくとも 1 つの導波路の方向にテーパが付けられている幅を有する、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 19】

前記検体ウェルが、金属材料において形成されたナノアパーチャを含む、請求項 1 に記載の集積装置。

10

【請求項 20】

前記金属材料から形成される複数のリングを含む同心円リング回折格子をさらに含み、前記ナノアパーチャが前記複数のリングの最も内側のリング内に配置される、請求項 19 に記載の集積装置。

【請求項 21】

前記少なくとも 1 つの導波路が、前記検体ウェル内の励起領域に励起エネルギーを提供するように構成され、前記励起領域内に配置された検体が、前記励起領域を照明する励起エネルギーに応答して励起エネルギーを放出する、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 22】

20

前記少なくとも 1 つの導波路が、前記複数のピクセルのうちのピクセルの一部の各ピクセルのための検体ウェルの付近に励起エネルギーを送達するように構成される、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 23】

前記複数のピクセルのうちの前記 1 つのピクセルが、前記少なくとも 1 つの導波路に結合し、かつ前記検体ウェルの付近に励起エネルギーを誘導するように構成された少なくとも 1 つの励起結合構造をさらに含む、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 24】

前記複数のピクセルのうちの前記 1 つのピクセルが、前記検体ウェル内に配置された検体により放出された放出エネルギーと結合するように構成された少なくとも 1 つの表面エネルギー結合要素をさらに含む、請求項 1 に記載の集積装置。

30

【請求項 25】

前記検体ウェルの深さは 50 nm～500 nm である、請求項 1 に記載の集積装置。

【請求項 26】

前記検体ウェルの側壁は、テーパ状である、請求項 1 に記載の集積装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本願は、概して、生物および／または化学検体の高速な大規模並列定量解析を実行するための装置、方法、および技術と、前記装置を製造する方法とに関する。

40

【背景技術】**【0002】**

生物検体の検出および解析は、生物学的アッセイ（「バイオアッセイ」）を使用して実行されることがある。バイオアッセイには従来、大型で高価な研究設備が関わり、研究にあたる科学者は、機器を操作し、バイオアッセイを実行するための訓練を受ける必要がある。さらに、バイオアッセイは従来、大容量で行われ、検出および定量化には特定の種類の検体を大量に要する。

【0003】

一部のバイオアッセイは、特定の波長の光を放出する発光マーカで検体にタグ付けすることによって行われる。マーカは、光源で照明されて発光させられ、その発光が光検出器

50

により検出されて、マーカにより放出される発光の量が定量化される。発光マーカを用いるバイオアッセイには従来、検体を照明するための高価なレーザ光源と、照明された検体からの発光を収集するための複雑な発光検出光学系および電子機器とが関係する。

【発明の概要】

【0004】

本明細書に記載される技術は、移動コンピューティング機器とインタフェース可能なアクティブソースピクセルの集積装置を使用して、試料を高速解析する装置および方法に関する。集積装置は、少量の試料を受け、試料中の多数の検体の解析を並列して実行するように構成された使い捨てまたはリサイクル可能なラボオンチップ (lab-on-chip) またはパッケージモジュールの形態であってもよい。集積装置は、いくつかの実施形態において、特定の化学物質または生体被験物質の存在を検出し、いくつかの実施形態において化学的または生物学的反応を評価し、いくつかの実施形態において遺伝子配列を判定するために使用されてもよい。いくつかの実施例によれば、集積装置は、単一分子遺伝子配列解析に使用されてもよい。

10

【0005】

いくつかの実施例によれば、使用者は試料を集積装置上のチャンバ内に載せ、集積装置を受容機器内に挿入する。受容機器は、単独でまたはコンピュータと組み合わせて、自動的に集積装置とインタフェースして、集積装置からデータを受け取り、受け取られたデータを処理して、解析結果を使用者に提供する。チップ、受容機器、およびまたはコンピュータ上の積分および演算知能により、使用者に求められる技能レベルが低減されることが

20

【0006】

本願のいくつかの実施形態によれば、複数のピクセルを含む集積装置が提供される。複数のピクセルのうちのピクセルは、集積装置の外部の励起源から励起エネルギーを受け取るように構成された検体ウェルと、検体ウェル内に位置付けられた検体からの発光を受け取り、かつ受け取られた発光に基づいて検体の識別情報を提供する信号を生成するように位置付けられた少なくとも1つのセンサとを含む。

【0007】

いくつかの実施形態において、信号は受け取られた発光の時間的パラメータを示す。いくつかの実施形態において、時間的パラメータは、検体からの発光に関連付けられる寿命である。いくつかの実施形態において、信号は発光のスペクトルを示す。いくつかの実施形態において、信号は発光の特徴的波長を示す。いくつかの実施形態において、信号および励起エネルギーは、検体の吸収スペクトルを示す。いくつかの実施形態において、信号および励起エネルギーは、検体により吸収される特徴的波長を示す。

30

【0008】

本願のいくつかの実施形態によれば、複数のピクセルを含むピクセル領域を含む集積装置が提供される。複数のピクセルのうちのピクセルは、集積装置の表面上の検体ウェルであって、検体を受けるように構成された検体ウェルと、検体ウェルからの発光を受け取るように構成された少なくとも1つのセンサと、検体ウェルの付近に励起エネルギーを送達する少なくとも1つの導波路とを有する。集積装置は、外部励起エネルギー源から励起エネルギーを受け取り、かつ励起エネルギーを導波路に結合するように構成された結合構成要素を含む励起源結合領域を含む。

40

【0009】

本願のいくつかの実施形態によれば、第一の持続時間を有する励起エネルギーのパルスを放出するように構成された励起源を含む励起源モジュールと、集積装置とを含むシステムが提供される。集積装置は、励起エネルギーのパルスに結合されると発光を放出す検体を受けるように構成された検体ウェルと、第二の持続時間にわり発光を検出するセンサであって、第二の持続時間が第一の持続時間後に発生する、センサと、第一のエネルギー経路であって、それに沿って励起エネルギーのパルスが励起源からエネルギー源結合構成要素へ移動する、第一のエネルギー経路と、第二のエネルギー経路であって、それに沿って

50

励起エネルギーのパルスがエネルギー源結合構成要素から検体ウェルへ移動する、第二のエネルギー経路と、第三のエネルギー経路であって、それに沿って発光が検体ウェルからセンサへ移動する、第三のエネルギー経路とを含む。

【0010】

本願のいくつかの実施形態によれば、検体における分子の存在を検出する方法が提供される。方法は、複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を検体ウェル内に導入するステップを含み、複数の発光マーカの少なくとも一部は異なる発光寿命値を有する。方法は、検体ウェルに光のパルスを照射するステップと、検体ウェルから放出された光子の到来時間を測定するステップと、光子の到来時間に基づいてマーカの識別を判定するステップとをさらに含む。

10

【0011】

本願のいくつかの実施形態によれば、検体ウェルおよびセンサを含む集積装置が提供される。検体ウェルは、複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を受けるように構成され、複数の発光マーカの各々は異なる発光寿命値を有する。センサは、複数の発光マーカのうちの1つからの発光を複数の持続時間にわたって検出するように構成され、複数の持続時間は複数の発光マーカが互いに区別されるように選択される。

【0012】

本願のいくつかの実施形態によれば、検体ウェルおよび複数のセンサを含む集積装置が提供される。検体ウェルは、複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を受けるように構成される。複数の発光マーカの各々は、複数のスペクトル範囲のうちの1つ内の発光を放出し、および複数のスペクトル範囲のうちの1つで発光を放出する複数の発光マーカの一部はそれぞれ異なる発光寿命値を有する。複数のセンサの各センサは、複数の持続時間にわたって複数のスペクトル範囲のうちの1つを検出するように構成され、複数の持続時間は、複数の発光マーカの一部が互いに区別されるように選択される。

20

【0013】

いくつかの実施形態によれば、複数の励起源および集積装置を含むシステムが提供される。複数の励起源は、複数の励起エネルギーを放出するように構成され、複数の励起源の各々は、複数の励起エネルギーのうちの1つのパルスを放出する。集積装置は、複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を受けるように構成された検体ウェルを含む。複数の発光マーカの一部は複数の励起エネルギーのうちの1つにより照明された後に発光を放出し、各々が異なる寿命値を有する。集積装置は、複数の発光マーカのうちの1つからの発光を、複数の励起エネルギーのうちの1つのパルスの後、複数の持続時間にわたって検出するように構成されたセンサをさらに含み、複数の励起エネルギーのうちの1つのパルスのタイミングおよび複数の持続時間によって、複数の発光マーカが互いに区別される。

30

【0014】

本願のいくつかの実施形態によれば、集積装置を形成する方法が提供される。方法は、複数のセンサ領域を形成するステップであって、複数のセンサ領域のうちの1つのセンサ領域は複数のセンサを含む、ステップと、複数の検体ウェルを形成するステップであって、複数の検体ウェルのうちの1つの検体ウェルは、複数のセンサ領域の対応する1つと整列する、ステップと、複数の検体ウェルから離れて励起エネルギーを結合し、かつ励起エネルギーを少なくとも1つの検体ウェルに誘導するように構成された少なくとも1つの導波路を形成するステップとを含む。

40

【0015】

本願のいくつかの実施形態によれば、機器が提供される。機器は、少なくとも1つの励起エネルギーを提供する少なくとも1つの励起源と、少なくとも1つの励起源により放出された少なくとも1つの励起エネルギーを集積装置の結合領域に整列させる励起源位置決めシステムと、集積装置上のセンサにより検出された放出エネルギーを表す少なくとも1つの読取り信号を受け取るように構成された読取り回路とを含む。

【0016】

50

本願のいくつかの実施形態によれば、標的核酸分子を配列解析する方法が提供される。方法は、標的核酸分子、重合酵素、および複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を収容する検体ウェルを含む集積装置を提供するステップを含む。複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体のうちの各種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体は、複数のマーカのうちの1つで標識される。方法は、重合酵素の存在下で標的核酸分子のプライミング位置において伸長反応を実行して、ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の少なくとも一部を、標的核酸分子と相補的である成長鎖内に連続的に組み込むステップをさらに含み、励起エネルギーによる励起時に、ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を標識するマーカが、成長鎖内への組み込みの際に検体ウェルから放出物を生成し、および放出寿命は複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体について区別可能である。方法は、ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を、放出寿命を示す、センサから受け取られた信号に基づいて識別し、それによって標的核酸分子を配列解析するステップをさらに含む。

10

【0017】

本願のいくつかの実施形態によれば、核酸配列解析の方法が提供される。方法は、複数の検体ウェルと、複数の検体ウェルに動作可能に結合された励起エネルギー源とを含む集積装置を提供するステップを含む。複数の検体ウェルの個々の検体ウェルは、標的核酸分子、重合酵素、およびヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含む。複数のマーカのうちの1つのマーカは、ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の各々を標識する。方法は、ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体および重合酵素の存在下で標的核酸分子を重合反応に曝して、標的核酸分子と相補的である成長鎖を生成するステップをさらに含む。ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が成長鎖内に組み込まれている間、複数のマーカは、励起源からの励起エネルギーによる励起時に放出物を放出する。方法は、伸長反応の実行中に放出物の寿命を検出するステップであって、放出の寿命は複数のマーカについて区別可能である、ステップと、標的核酸分子の配列を放出物の寿命に基づいて識別するステップとをさらに含む。

20

【0018】

本願のいくつかの実施形態によれば、試料を解析する方法が提供される。方法は、複数のピクセルを有する集積装置の表面上に試料を載せるステップであって、各ピクセルは、複数のマーカのうちの第一のマーカで標識された検体を受けるように構成された検体ウェルと、少なくとも1つのセンサを有するセンサ領域とを有する、ステップと、集積装置を、励起エネルギーを第一のピクセルの検体ウェルに結合するための少なくとも1つの励起エネルギー源と、第一のピクセルのセンサ領域の少なくとも1つのセンサからの読取り信号を受け取るための読取り回路とを有する機器と整列させるステップと、第一のマーカを励起エネルギーで照明するステップと、第一のピクセルのセンサ領域の少なくとも1つのセンサからの読取り信号から、第一のマーカによる放出物から生成された放出エネルギーの寿命を検出するステップとを含む。

30

【0019】

「ピクセル」という用語は、本開示内において、集積装置のユニットセルを指すために使用され得る。ユニットセルは、励起源をさらに含んでもよい。ユニットセルは、少なくとも1つの励起結合光学構造（これは、「第一の構造」と呼んでもよい）をさらに含んでもよく、これは、励起源から検体ウェルへの励起エネルギーの結合を促進するように構成される。ユニットセルは、少なくとも1つの放出光結合構造をさらに含んでもよく、これは、検体ウェルからセンサへの放出物の結合を促進するように構成される。ユニットセルは、集積電子装置（例えば、CMOS装置）をさらに含んでもよい。集積装置にアレイ状に配置された複数のピクセルがあってもよい。

40

【0020】

「光学」という用語は、本開示内において、可視、近赤外、および短波長赤外スペクトルバンドを指すために使用され得る。

「タグ」という用語は、本開示内において、タグ、プローブ、またはレポータを指すため

50

に使用され得、解析対象の検体に付着されるマーカ、または検体と結合されてもよい反応物質に付着されるマーカを含む。

【0021】

「励起エネルギー」という語句は、本開示において、検体ウェル内の検体および／またはマーカに送達されるあらゆる形態のエネルギー（例えば、放射または非放射）を指すために使用され得る。放射励起エネルギーは、1つまたは複数の特徴的波長の光放射を含んでいてもよい。

【0022】

「特徴的波長」という語句は、本開示において、放射の限定的バンド幅内の中央または支配的波長を指すために使用され得る。場合により、それは放射のバンド幅のピーク波長を指し得る。蛍光体の特徴的波長の例は、563 nm、595 nm、662 nm、および687 nmである。

10

【0023】

「特徴的エネルギー」という語句は、本開示において、特徴的波長に関連するエネルギーを指すために使用され得る。

「放出物」という用語は、本開示において、マーカおよび／または検体からの発光を指すために使用され得る。これには、放射放出物（例えば、光学放出物）または非放射エネルギー移動（例えば、デクスタ型エネルギー移動またはフェルスタ共鳴エネルギー移動）が含まれる。放出物は、検体ウェル内の検体および／またはマーカの励起から得られる。

【0024】

20

「検体ウェルからの放出物」または「検体からの放出物」という語句は、本開示において、検体ウェル内のマーカおよび／または検体からの放出物を指すために使用され得る。

「セルフアライン」という用語は、本開示において、第一のリソグラフィによるパターンニングステップ（例えば、フォトリソグラフィ、イオンビームリソグラフィ、EUVリソグラフィ）によって第一の要素のパターンが印刷され、第二のリソグラフィによるパターンニングステップによって、第一のリソグラフィによるパターンニングステップと整合させて第二の要素のパターンが印刷される2つの別々のリソグラフィパターンニングステップを使用せずに、少なくとも2つの異なる要素（例えば、検体ウェルおよび放出物結合構造、検体ウェルおよび励起源）が製造されて、相互に整列される微細製作プロセスを指すために使用され得る。セルフアラインプロセスは、1つのリソグラフィパターンニングステップに第一および第二の要素の両方のパターンを含めるステップを含んでいてもよく、または第一の要素の製造後の構造の特徴物を使用して第二の要素を形成するステップを含んでいてもよい。

30

【0025】

「センサ」という用語は、本開示において、検体ウェルからの放出物を検出して、検出された放出物を表す少なくとも1つの電気信号を生成するように構成された1つまたは複数の集積回路装置を指すために使用され得る。

【0026】

「ナノスケール」という用語は、本開示において、その少なくとも1つの寸法または最小特徴物の大きさが150ナノメートル（nm：nanometer）以下であり、約500 nmを超えないオーダである構造を指すために使用され得る。

40

【0027】

「マイクロスケール」という用語は、本開示において、その少なくとも1つの寸法または最小構造物の大きさが約500 nm～約100マイクロメートルである構造を指すために使用され得る。

【0028】

「励起エネルギーを増大させる」という語句は、本開示において、検体ウェルの励起領域における励起エネルギーの強度を高めることを指すために使用され得る。強度は、例えば検体ウェルに入射する励起エネルギーを集束および／または共振させることによって高められてもよい。場合により、強度は、励起エネルギーが検体ウェルの励起領域内にさら

50

に浸透できるようにする反射防止コーティングまたは損失層によって高められてもよい。励起エネルギーの増大は、検体ウェルの励起領域における励起エネルギーを増大させるための構造を含まない実施形態の比較基準であってもよい。

【0029】

「約」、「略」、「実質的に」という用語は、本開示において、数値を示すために使用され得、言及された数値プラスおよびマイナス容認可能なばらつきの範囲を含むものとする。ばらつきの大きさは、ある実施形態では5%未満、ある実施形態では10%未満、さらにある実施形態では20%未満とすることができる。装置が広い数値範囲、例えば1桁以上の範囲で適正に機能できる実施形態において、ばらつきの量は係数2とすることができる。例えば、装置が20～350の範囲の数値で適正に機能する場合、「約80」は40～160の数値を含んでいてもよい。

10

【0030】

「隣接」という用語は、本開示において、相互に近接して（例えば、ピクセルの横または縦寸法の約5分の1未満の距離内に）配置された2つの要素を指すために使用され得る。場合により、隣接する要素間に介在構造または層があってもよい。場合により、隣接する要素は、介在する構造または要素がない状態で相互に直接隣接していてもよい。

【0031】

「検出」という用語は、本開示において、センサにおいて検体ウェルから放出物を受け、その放出物を表すか、またはそれに関連する少なくとも1つの電気信号を生成することを指すために使用され得る。「検出」という用語はまた、本開示において、検体ウェルからの放出物に基づいて、検体ウェル内の特定の検体またはマーカの存在を判定するか、またはその特性を識別することを指すために使用され得る。

20

【0032】

本教示の上述のおよびその他の態様、実施形態、および特徴は、添付の図面と共に以下の説明を読むことでよりよく理解できる。

当業者であれば、本明細書中で説明する図面が例示を目的としているにすぎないことがわかるであろう。当然のことながら、いくつかの例において、本発明の各種の態様が本発明の理解を容易にするために誇張または拡大して示され得る。図面中、同様の参照文字は異なる図面を通じて概して同様の特徴、機能的に同様のおよび／または構造的に同様の要素を指す。図面は必ずしも正確な縮尺によるとはかぎらず、その代わりに本教示の原理を例示することに重点を置いている。図面は、決して本教示の範囲を限定することを意図されていない。

30

【0033】

本発明の特徴および利点は、後述の詳細な説明を添付の図面と併せて読むことにより、より明らかとなるであろう。

図面に関して実施形態を説明する際、方向に関する言及（「上」、「下」、「上側」、「下側」、「左」、「右」、「水平」、「垂直」等）が使用され得る。このような言及は、通常の向きで図面を見ている読者にとっての補助となるためのものにすぎない。これらの方向に関する言及は、実施される装置の好ましいまたは唯一の向きを説明しようとするものではない。装置は他の向きでも実施されてよい。

40

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1-1】 マーカからの光子放出確率の時間に関するグラフを示す。

【図1-2A】 いくつかの実施形態による放出タイミングスペクトルを示す。

【図1-2B】 いくつかの実施形態による吸収波長スペクトルを示す。

【図1-2C】 いくつかの実施形態による放出波長スペクトルを示す。

【図1-3A】 放出波長および放出寿命の位相空間を示す。

【図1-3B】 吸収波長および放出寿命の位相空間を示す。

【図1-4】 放出波長、吸収波長、および放出寿命の位相空間を示す。

【図2-1A】 いくつかの実施形態による、生物および化学試料の高速モバイル解析に使

50

用できる装置のブロック図である。

【図2-1B】いくつかの実施形態による集積装置および機器のブロック図である。

【図2-2】いくつかの実施形態による集積装置を示す。

【図3-1A】いくつかの実施形態による集積装置のピクセルの行を示す。

【図3-1B】いくつかの実施形態による、ピクセルの行の検体ウェルへの励起エネルギーの結合、およびセンサに向かって誘導される各検体ウェルからの放出エネルギーを示す。

【図3-2】いくつかの実施形態による集積装置および励起源を示す。

【図4-1A】いくつかの実施形態による、励起源の導波路へのエッジカップリングを示す。

10

【図4-1B】いくつかの実施形態による、集積装置を励起源に結合するための格子結合器を示す。

【図4-2】いくつかの実施形態による集積装置および励起源を示す。

【図4-3A】いくつかの実施形態による例示的な励起結合領域を示す。

【図4-3B】図4-3Aに示される励起結合領域に関する光強度のシミュレーションを示す。

【図4-3C】いくつかの実施形態による格子カプラおよび導波路を示す。

【図4-4】異なる導波路の構成の曲げ半径に関する損失のグラフである。

【図4-5】いくつかの実施形態によるスターカプラを示す。

【図4-6】いくつかの実施形態による、2つの格子カプラからの入力光を結合するためのスターカプラを示す。

20

【図4-7】いくつかの実施形態によるMMIスプリッタの構成を示す。

【図4-8】MMIスプリッタを通る光強度のシミュレーションを示す。

【図4-9A】いくつかの実施形態による格子カプラを示す。

【図4-9B-4-9C】いくつかの実施形態による格子カプラを示す。

【図5-1】1つの実施形態による集積装置のピクセル領域に形成された検体ウェルを示す。

【図5-2】いくつかの実施形態による、検体ウェルに入射する励起エネルギーを示す。

【図5-3】いくつかの実施形態による、ゼロモード導波路として形成される検体ウェルに沿った励起エネルギーの減衰を示す。

30

【図5-4】いくつかの実施形態における検体ウェルに関連する励起領域で励起エネルギーを増大させる窪みを含む検体ウェルを示す。

【図5-5】1つの実施形態による、窪みを有する検体ウェルと有さない検体ウェルとに関する励起強度を比較する。

【図5-6A】いくつかの実施形態による、検体ウェルおよび突出部に形成された窪みを示す。

【図5-6B】いくつかの実施形態による検体ウェルと窪みを示す。

【図5-7A】いくつかの実施形態による、テーパ状の側壁を有する検体ウェルを示す。

【図5-7B】いくつかの実施形態による、湾曲側壁および横寸法がより小さい窪みを有する検体ウェルを示す。

40

【図5-7C】表面プラズモン構造から形成された検体ウェルを示す。

【図5-7D】表面プラズモン構造から形成された検体ウェルを示す。

【図5-7E】いくつかの実施形態による、検体ウェルの側壁に沿って形成された励起エネルギー増大構造を含む検体ウェルを示す。

【図5-7F】いくつかの実施形態による、多層積層体内に形成された検体ウェルを示す。

【図5-8】いくつかの実施形態による、検体ウェルの表面上に形成された表面コーティングを示す。

【図5-9A】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成するリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

50

【図５－９Ｂ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成するリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

【図５－９Ｃ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成するリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

【図５－９Ｄ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成するリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

【図５－９Ｅ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成するリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

【図５－９Ｆ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成する代替的なリフトオフプロセスに関連する構造を示す。

10

【図５－１０Ａ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成する直接エッチングプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１０Ｂ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成する直接エッチングプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１０Ｃ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成する直接エッチングプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１０Ｄ】いくつかの実施形態による、検体ウェルを形成する直接エッチングプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１１】いくつかの実施形態による、リフトオフプロセスまたは直接エッチングプロセスを使用して多層内に形成できる検体ウェルを示す。

20

【図５－１２】いくつかの実施形態による、窪みを形成するために使用できるエッチングプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１３Ａ】いくつかの実施形態による、窪みを形成する代替的なプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１３Ｂ】いくつかの実施形態による、窪みを形成する代替的なプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１３Ｃ】いくつかの実施形態による、窪みを形成する代替的なプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１４Ａ】いくつかの実施形態による、接着剤および保護層を堆積させるためのプロセスに関連する構造を示す。

30

【図５－１４Ｂ】いくつかの実施形態による、接着剤および保護層を堆積させるためのプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１４Ｃ】いくつかの実施形態による、接着剤および保護層を堆積させるためのプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１４Ｄ】いくつかの実施形態による、接着剤および保護層を堆積させるためのプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１５】いくつかの実施形態による、検体ウェル内の中央に接着剤を堆積させるためのプロセスに関連する構造を示す。

【図５－１６】いくつかの実施形態による、窪みを有する検体ウェルを示す。

【図６－１Ａ】いくつかの実施形態による、検体ウェルに結合された導波路からの励起放射のシミュレーションを示す。

40

【図６－１Ｂ】いくつかの実施形態による、検体ウェルに結合された励起放射のシミュレーションを示す。

【図６－２Ａ】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す。

【図６－２Ｂ】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す。

【図６－２Ｃ】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す。

【図６－３Ａ】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す

50

- 。
- 【図6-3B】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-3C】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-3D】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-4】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す。
- 【図6-5】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。 10
- 【図6-6A】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-6B】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-6C】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-6D】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-7A】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置を示す 20
- 。
- 【図6-7B】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-7C】いくつかの実施形態による、マイクロキャビティを有する集積装置内で伝播する励起放射のシミュレーションを示す。
- 【図6-7D】検体ウェルと、導波路と、検体ウェルと導波路との間に位置付けられたマイクロキャビティとを有する集積装置の断面図を示す。
- 【図6-8A】いくつかの実施形態による、テーパ付き導波路を有する集積装置を示す。
- 【図6-8B】いくつかの実施形態による、テーパ付き導波路を有する集積装置を示す。
- 【図6-9A】いくつかの実施形態による、テーパ付き導波路を有する集積装置を示す。
- 【図6-9B】いくつかの実施形態による、テーパ付き導波路を有する集積装置を示す。 30
- 【図6-10】テーパ長さに関する損失のグラフを示す。
- 【図6-11A】いくつかの実施形態による、検体ウェルの窪みを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-11B】いくつかの実施形態による、検体ウェルの窪みを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-11C】いくつかの実施形態による、検体ウェルの窪みを有する集積装置を示す
- 。
- 【図6-12】いくつかの実施形態による集積装置の検体ウェルのアレイを示す。
- 【図6-13】いくつかの実施形態による、可変的寸法を有する導波路を有する集積装置を示す。 40
- 【図6-14】いくつかの実施形態による、可変的寸法を有する導波路を有する集積装置を示す。
- 【図7-1A】いくつかの実施形態による、集積装置の検体ウェルからの放出エネルギーを結合するための構成要素を示す。
- 【図7-1B】いくつかの実施形態による、集積装置の検体ウェルからの放出エネルギーを結合するための構成要素を示す。
- 【図7-1C】いくつかの実施形態による、集積装置の検体ウェルからの放出エネルギーを結合するための構成要素を示す。
- 【図7-2A】検体ウェルからの放出エネルギーのシミュレーションを示す。
- 【図7-2B】検体ウェルから斜めの放出エネルギーのグラフを示す。 50

- 【図 7-3】波長に関する吸収率および反射率のグラフを示す。
- 【図 7-4 A】いくつかの実施形態による偏光フィルタを示す。
- 【図 7-4 B】いくつかの実施形態による偏光フィルタを示す。
- 【図 7-5】いくつかの実施形態による波長フィルタを示す。
- 【図 7-6】波長に関する透過率のグラフを示す。
- 【図 7-7】いくつかの実施形態による多波長フィルタを示す。
- 【図 7-8】波長に関する透過率のグラフを示す。
- 【図 7-9 A】いくつかの実施形態による、タイムビンを有するセンサを示す。
- 【図 7-9 B】いくつかの実施形態による、タイムビンを有するセンサを示す。
- 【図 8-0 A】いくつかの実施形態による、光パルスを提供するための例示的システムを示す。 10
- 【図 8-0 B】時間に関する光強度のグラフを示す。
- 【図 8-1】時間に関するキャリア密度のグラフを示す。
- 【図 8-2】いくつかの実施形態による、光学出力を形成するためのカスタム化された電気信号を示す。
- 【図 8-3】いくつかの実施形態による、励起源からの光学出力を示す。
- 【図 8-4】いくつかの実施形態による、励起源からの光学出力を示す。
- 【図 8-5】いくつかの実施形態による、レーザダイオードの性能を示す。
- 【図 8-6 A】いくつかの実施形態によるトランスミッションラインパルサを示す。
- 【図 8-6 B】いくつかの実施形態による、トランスミッションラインパルサにより得られる光パルスを示す。 20
- 【図 8-7】いくつかの実施形態による、光パルスを取得するための回路を示す。
- 【図 8-8】いくつかの実施形態による、光パルスを取得するための回路を示す。
- 【図 8-9 A】いくつかの実施形態による、光パルスを取得するための回路を示す。
- 【図 8-9 B】図 8-9 A に示される回路からの電気信号を示す。
- 【図 8-10 A】いくつかの実施形態による、光パルスを取得するための回路を示す。
- 【図 8-10 B】図 8-10 A に示される回路からの電気信号を示す。
- 【図 8-11 A】いくつかの実施形態による、光源を組み合わせるための配置を示す。
- 【図 8-11 B】図 8-10 A に示される回路の性能のグラフを示す。
- 【図 9-1】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。 30
- 【図 9-2】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-3】いくつかの実施形態による、励起源を集積装置と整列させるための光学構成要素を示す。
- 【図 9-4】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-5】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-6】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-7】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-8】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-9】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-10】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。 40
- 【図 9-11】いくつかの実施形態による励起源モジュールおよび基本機器を示す。
- 【図 9-12】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。
- 【図 9-13】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。
- 【図 9-14】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。
- 【図 9-15】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。
- 【図 9-16】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメン 50

トのための構成要素を示す。

【図9-17】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。

【図9-18】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。

【図9-19】いくつかの実施形態による、励起源と集積装置とのパッシブアラインメントのための構成要素を示す。

【図9-20】いくつかの実施形態によるモニタリングセンサを示す。

【図9-21】いくつかの実施形態による、モニタリングセンサを備える集積装置を示す。

10

【図9-22】いくつかの実施形態による、集積装置の導波路およびモニタリングセンサの配置を示す。

【図9-23】いくつかの実施形態による、集積装置のモニタリングセンサを示す。

【図9-24】いくつかの実施形態による、励起エネルギーを集積装置に結合するための光学構成要素を示す。

【図9-25A】いくつかの実施形態による、励起エネルギーを集積装置に結合するための構成要素を示す。

【図9-25B】いくつかの実施形態による、励起エネルギーを集積装置に結合するための構成要素を示す。

【図9-25C】いくつかの実施形態による、励起エネルギーを集積装置に結合するための構成要素を示す。

20

【図10-1】核酸配列解析のための各種の構成要素を収容する検体ウェルの概略図を示し、標的空間、ポリメラーゼ複合体、標的核酸、相補的な鎖およびプライマ、ならびに固定のためのリンカーを示している。

【図10-2】シーケンシング反応の4つの段階に関する核酸配列解析の例示的実験を示し、(A)発光標識されたヌクレオチドを組み込む前、(B)第一の組込みイベント、(C)第一および第二の組込みイベント間の期間、ならびに(D)第二の組込みイベントを対応するステージ(A)~(D)中の未処理および処理済みデータの例と共に示す。

【図10-3】(a) A12O3堆積、(b) PEGホスホン酸保護、(c) ビオチン/PEGシラン処理、(d) 複合体ロード、および(e) シーケンシング反応開始のステップを含む表面処理のための例示的プロセスを示す。

30

【図10-4】いくつかの実施形態による、測定を実行するための概略図を示す。

【図10-5】いくつかの実施形態によるフレネルレンズを示す。

【図10-6】いくつかの実施形態による、時間に関する光信号のグラフを示す。

【図10-7】いくつかの実施形態による、タイムビンにわたるマーカの信号プロファイルを示す。

【図10-8】いくつかの実施形態による、時間に関する光信号のグラフを示す。

【図10-9】いくつかの実施形態による、タイムビンにわたるマーカの信号プロファイルを示す。

【図10-10】いくつかの実施形態による、測定実行の概略図を示す。

40

【図10-11】いくつかの実施形態による、放出波長に関する寿命のグラフを示す。

【図10-12】いくつかの実施形態による、波長に関する光信号のグラフを示す。

【図10-13】いくつかの実施形態による、時間に関する光信号のグラフを示す。

【図10-14】いくつかの実施形態による、複数のセンサに関するタイムビンにわたるマーカの信号プロファイルを示す。

【図10-15】いくつかの実施形態による、時間に関する光信号のグラフを示す。

【図10-16】いくつかの実施形態による、複数のセンサに関するタイムビンにわたるマーカの信号プロファイルを示す。

【図10-17】いくつかの実施形態による、測定実行の概略図を示す。

【図10-18】いくつかの実施形態による、波長に関する光信号のグラフを示す。

50

【図10-19】いくつかの実施形態による、時間に関する光信号のグラフを示す。

【図10-20】いくつかの実施形態による、複数のセンサに関するタイムビンにわたるマーカの信号プロファイルを示す。

【図11-1】いくつかの実施形態による検体ウェルの製造方法を示す。

【図11-2】いくつかの実施形態による検体ウェルの製造方法を示す。

【図11-3】いくつかの実施形態による検体ウェルの製造方法を示す。

【図11-4A】いくつかの実施形態による検体ウェルの製造方法を示す。

【図11-4B】いくつかの実施形態による検体ウェルの製造方法を示す。

【図11-5】いくつかの実施形態による、窪みを有する検体ウェル層の製造方法を示す

。

10

【図11-6】いくつかの実施形態による、窪みを有する検体ウェル層の製造方法を示す

。

【図11-7】いくつかの実施形態による、同心円回折格子の製造方法を示す。

【図11-8】いくつかの実施形態による、同心円回折格子の製造方法を示す。

【図11-9】いくつかの実施形態による、同心円回折格子の製造方法を示す。

【図11-10】いくつかの実施形態による、例示的なマイクロキャビティ設計を示す。

【図11-11】いくつかの実施形態による屈折光学系の製造方法を示す。

【図11-12】いくつかの実施形態による、屈折光学系の製造における異なるステップの画像を示す。

【図11-13】いくつかの実施形態による屈折光学系を示す。

20

【図11-14】いくつかの実施形態による屈折光学系の製造方法を示す。

【図11-15】いくつかの実施形態による屈折光学系の製造方法を示す。

【図11-16】いくつかの実施形態によるフレネルレンズを示す。

【図11-17】いくつかの実施形態によるフレネルレンズを示す。

【図11-18】いくつかの実施形態によるフレネルレンズを示す。

【図11-19】いくつかの実施形態によるフレネルレンズの製造方法を示す。

【図11-20】いくつかの実施形態によるフレネルレンズの製造方法を示す。

【図11-21】いくつかの実施形態によるフレネルレンズの製造方法を示す。

【図11-22】いくつかの実施形態によるフレネルレンズの製造方法を示す。

【発明を実施するための形態】

30

【0035】

本発明者らは、単一分子または粒子の検出および定量化を実行するための小型の高速装置により、生物および／または化学試料の複雑な定量的測定の実行コストを削減でき、生化学的な技術的発見速度を急速に高められることを認識し、そのように理解した。さらに、容易に持ち運び可能な費用対効果の高い装置は、先進諸国で行われているバイオアッセイの方法を変化させるだけでなく、発展途上国の人々に対して初めて重要な診断試験を利用できるようにし、これは、発展途上国の人々の健康および福利を劇的に改善し得る。例えば、本明細書に記載されている実施形態は、個人が家庭で、または医師が発展途上国の遠隔の診療所で使用できる、血液、尿、および／または唾液の診断試験に使用されてもよい。

40

【0036】

多数のピクセル（例えば、数百数千、数百万またはそれを超える）を有するピクセル化されたセンサ装置によって、複数の個別の分子または粒子の並列検出が可能となる。分子は、例えばタンパク質および／またはDNAであってもよいが、これらに限定されない。さらに、1秒間に100フレームを超えるデータ取得が可能な高速装置により、解析中の検体内で時間が経つと生じるダイナミックプロセスまたは変化の検出および解析が可能となる。

【0037】

本発明者らは、バイオアッセイ機器の小型化を妨げている1つのハードルが、励起光をフィルタにかけ、センサにおける望ましくない検出イベントを引き起こさないようにする

50

必要性であったことを認識し、そのように理解した。所望の信号光（発光）を透過させ、励起光を十分に遮断するために使用される光学フィルタは、厚く、嵩張り、高価で、光の入射角度のばらつきの影響を受けやすいことがあり得るため、小型化を阻んでいる。しかしながら、本発明者らは、パルス式励起源を使用すれば、このようなフィルタ処理に対する必要性を低減化でき、または場合により、このようなフィルタも不要となることを認識し、そのように理解した。励起光パルスに関して光子が検出された時間を判定できるセンサを使用することにより、受け取られた光のスペクトルではなく、光子が受け取られた時間に基づいて信号光を励起光から分離できる。したがって、いくつかの実施形態において、嵩張る光学フィルタの必要性が低減および／または排除される。

【0038】

10

本発明者らは、発光寿命の測定も検体内に存在する分子の識別に使用できることを認識し、そのように理解した。光子がいつ検出されたかを検出できる光学センサは、多くのイベントから収集した統計を用いて、励起光により励起された分子の発光寿命を測定できる。いくつかの実施形態において、発光寿命測定は、発光のスペクトル測定に加えて行われてもよい。あるいは、検体分子の識別において、発光のスペクトル測定を完全に省略してもよい。発光寿命測定は、パルス式励起源で行われてもよい。それに加えて、発光寿命測定は、センサを含む集積装置、または光源が集積装置とは別のシステム内にある装置を使用して行われてもよい。

【0039】

20

本発明者らはまた、検体ウェル（ナノアパーチャを含んでもよい）とセンサとを、生物検体から放出された発光を測定できる1つの集積装置内に統合することにより、このような装置の製造費用を、それによって使い捨ての生体解析集積装置を形成できる程度に削減することを認識し、そのように理解した。基本機器とインタフェースする使い捨ての単回使用集積装置は、世界の何れの場所でも使用でき、検体解析にコスト高の生物学的研究所が必要となるという制約を受けない。そのため、世界においてこれまで生物検体の定量解析を実行できなかった地域に自動生体解析がもたらされ得る。例えば、乳児の血液検査は、血液検体を使い捨て集積装置の上に載せ、使い捨て集積装置を小型のポータブルの基本解析機器内にセットし、結果をコンピュータで処理して、使用者が即時にそれを見られるようにすることによって実行できる。データはまた、データネットワーク上で離れた場所に転送することにより、解析され、および／または後に臨床解析するために保存されてもよい。

30

【0040】

本発明者らはまた、使い捨ての単回使用装置が集積装置上に光源を含めないことによって、さらに簡単に低コストで製造できることを認識し、そのように理解した。その代わりに、光源は、検体を解析するために使い捨て集積装置とインタフェースするシステムに組み込まれる再使用可能な構成要素を含んでもよい。

【0041】

本発明者らはまた、検体に複数の異なる種類の発光マーカでタグ付けすると、発光マーカの何れの適当な特徴でも、集積装置の特定のピクセル内に存在するマーカの種類の識別に使用されてよいことを認識し、そのように理解した。例えば、マーカにより放出される発光の特徴および／または励起吸収の特徴がマーカの識別に使用されてもよい。いくつかの実施形態において、（光の波長に直接関係する）発光の放出エネルギーが、第一の種類のマーカを第二の種類のマーカから区別するために使用されてもよい。それに加えて、またはその代わりに、発光寿命測定も特定のピクセルに存在するマーカの種類の識別するために使用されてよい。いくつかの実施形態において、蛍光寿命測定は、光子がいつ十分な分解能で検出されて、寿命情報を取得したかを区別できるセンサを使用するパルス式励起源で行われてもよい。それに加えて、またはその代わりに、異なる種類のマーカにより吸収される励起光のエネルギーが、特定のピクセルに存在するマーカの種類の識別するために使用されてもよい。例えば、第一のマーカは第一の波長の光を吸収し、第二の波長の光はそれと同等には吸収しないことができ、他方で、第二のマーカは第二の波長の光を吸収

40

50

し、第一の波長の光はそれと同等には吸収しないことができる。このようにして、各々が異なる励起エネルギーを有する複数の励起光源を使用して検体をインタリーブ方式で照明できる場合、マーカの吸収エネルギーは、検体内に存在するマーカの種類を識別するために使用できる。異なるマーカはまた、異なる発光強度を有し得る。したがって、検出された発光強度も特定のピクセルに存在するマーカの種類を識別するために使用されてよい。

【0042】

本発明者らが考える機器の用途の1つの非限定的な例は、複数のアミノ酸を有する核酸またはポリペプチド（例えば、タンパク質）等の生体分子の配列解析を実行できる装置である。このような装置を使用して実行できる診断試験は、被験者の生物検体内の核酸分子の配列解析、例えば被験者の生物検体中の無細胞デオキシリボ核酸分子または表現生成物の配列解析を含む。

10

【0043】

本願は、核酸分子等の生体分子またはそのサブユニットを検出する装置、システム、および方法を提供する。このような検出は、配列解析を含むことができる。生体分子は、被験者から取得した生物検体から抽出されてもよい。生物検体は、被験者の体液または組織、例えば呼気、唾液、尿、または血液（例えば、全血または血漿）から抽出されてもよい。被験者は、病気（例えば、癌）等の健康状態を有すると疑われ得る。いくつかの例において、1つまたは複数の核酸分子が被験者の体液または組織から抽出される。1つまたは複数の核酸は、被験者から得られる1つまたは複数の細胞、例えば被験者の組織の一部から抽出されても、または被験者の無細胞体液、たとえば全血から得られてもよい。

20

【0044】

配列解析は、鋳型の生体分子（例えば、核酸分子）の個々のサブユニットを、鋳型と相補的または同様の別の生体分子を合成することによって、例えば鋳型核酸分子と相補的な核酸分子を合成し、時間に伴うヌクレオチドの組込みを識別することによって判定すること（例えば、合成による配列解析）を含むことができる。代替案として、配列解析は、生体分子の個別のサブユニットを直接識別することを含み得る。

【0045】

配列解析中、生体分子の個々のサブユニットを示す信号をメモリ内に収集し、リアルタイムでまたは後の時点で処理し、その生体分子の配列を判定してもよい。このような処理は、それらの信号と個々のサブユニットの識別を可能にする参照信号との比較を含むことができ、それによって場合によりリードが得られる。リードは、十分な長さにわたり（例えば、少なくとも約30、50、100塩基対（bp: base pair）またはそれを超える）連続してもよく、これを使用してより大きい配列または領域を識別でき、これは例えば、染色体またはゲノム領域もしくは遺伝子上のある位置と整列させることができる。

30

【0046】

生体分子の個々のサブユニットは、マーカを使用して識別されてもよい。いくつかの例において、発光マーカが生体分子の個々のサブユニットの識別に使用される。発光マーカ（本明細書では「マーカ」とも呼ばれる）は、外来性マーカでも内在性マーカでもよい。外来性マーカは、発光標識のためのレポーターおよび／またはタグにおいて使用される外部発光マーカであってもよい。外来性マーカの例としては、蛍光分子、蛍光体、蛍光色素、蛍光染料、有機色素、蛍光タンパク質、酵素、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET: fluorescence resonance energy transfer）に関する種、酵素、および／または量子ドットが含まれていてもよいが、これらに限定されない。このような外来性マーカは、特定の標的または成分に特に結合するプローブまたは官能基（例えば、分子、イオン、および／またはリガンド）と結合してもよい。外来性マーカをプローブに付着させることにより、外来性マーカの存在の検出を通じて標的を識別できる。プローブの例としては、タンパク質、核酸（例えば、DNA、RNA）分子、脂質、および抗体プローブが含まれ得る。外来性マーカと官能基との組合せにより、検出に使用される何れの適当なプローブ、タグ、および／またはラベルを形成してもよく、これに

40

50

は分子プローブ、標識プローブ、ハイブリダイゼーションプローブ、抗体プローブ、タンパク質プローブ（例えば、ビオチン結合プローブ）、酵素ラベル、蛍光プローブ、蛍光タグ、および／または酵素レポータが含まれる。

【0047】

本開示は発光マーカに関するが、他の種類のマーカを本願で提供される装置、システム、および方法に使用してもよい。このようなマーカには、質量タグまたは静電タグが含まれていてもよい。

【0048】

外来性マーカは検体に追加されてもよいが、内在性マーカはすでに検体の一部であってもよい。内在性マーカは、励起エネルギーが存在すると発光または「自己蛍光」可能である、存在するあらゆる蛍光マーカを含んでいてもよい。内在性蛍光体の自己蛍光は、ラベルを用いない非侵襲的な標識を可能にし、外来性蛍光体は不要である。このような内在性蛍光体の例としては、例えば、ヘモグロビン、酸素ヘモグロビン、脂質、コラーゲンおよびエラスチンクロスリンク、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NADH）、酸化フラビン（FADおよびFMN）、リポフスチン、ケラチン、および／またはプロフィリンが含まれていてもよいが、これらに限定されない。

【0049】

いくつかの実施形態は試料中の単一分子を検出することによる診断試験に関していてもよいが、本発明者らはまた、いくつかの実施形態が、単一分子検出機能を使用して、例えば遺伝子またはポリペプチド等の1つまたは複数の核酸セグメントの核酸（例えば、DNA、RNA）配列解析を実施してもよいことを認識した。核酸配列解析によって、標的核酸分子内のヌクレオチドの順序および位置を判定できる。核酸配列解析法は、核酸配列の判定に使用される方法の他に、配列解析プロセス中の速度、リード長さ、およびエラー発生率において異なってもよい。例えば、核酸配列解析法のなかには、合成による配列解析に基づくものがあり、この場合、ヌクレオチドの識別は、新たに合成される、標的核酸分子と相補的な核酸の鎖内にヌクレオチドが組み込まれるときに判定される。合成による配列解析法のなかには、標的核酸分子の集合（例えば、標的核酸のコピー）の存在、または標的核酸の集合を実現するための標的核酸の増幅ステップを必要とするものがある。

【0050】

単一分子検出および／または核酸配列解析を実行するための、簡素で単純な装置の必要性を認識し、本発明者らは、光学（例えば、発光）マーカ等のマーカ集合を使用して異なる分子を標識する単一分子検出法を考案した。タグは、ヌクレオチドまたはアミノ酸および適当なマーカを含んでいてもよい。マーカは、単一分子に結合されている間に、単一分子から離れる際に、または単一分子と結合している間およびそれから離れるときに検出されてもよい。いくつかの例において、マーカは発光タグである。選択された集合内の各発光マーカは、それぞれの分子に関連付けられる。例えば、4つのマーカ集合は、DNA内に存在する核酸塩基を「標識する」ために使用されてもよく、集合内の各マーカは、タグを形成する異なる核酸塩基に関連付けられ、例えば、第一のマーカはアデニン（A）に関連付けられ、第二のマーカはシトシン（C）に関連付けられ、第三のマーカはグアニン（G）に関連付けられ、第四のマーカはチミン（T）に関連付けられる。さらに、マーカ集合内の発光マーカの各々は、異なる特性を有し、これは、その集合内の第一のマーカをその集合内の残りのマーカと区別するために使用されてもよい。このようにして、これらの区別可能な特徴の1つまたは複数を使用して、各マーカを一意的に識別できる。例として、ただし限定ではなく、1つのマーカを他から区別するために使用してもよいマーカの特徴には、励起に応答してマーカが放出した光の放出エネルギーおよび／もしくは波長、ならびに／または特定のマーカを励起する励起光の波長および／もしくはエネルギーが含まれ得る。4つのマーカ集合内から1つのマーカを区別することにより、そのマーカに関連付けられる核酸塩基を一意的に識別する。

【0051】

発光マーカは、それが放出する光の波長、それが放出する光の時間的特徴（例えば、そ

10

20

30

40

50

の放出減衰期間)、および励起エネルギーに対するそれらの反応(例えば、それらが励起光子を吸収する確率)において異なってもよい。したがって、発光マーカは、これらの特性を検出することに基づいて、識別し、他の発光マーカから区別してもよい。このような識別または区別方法は、単独でも、何れの適当な組合せでも使用されてよい。

【0052】

いくつかの実施形態において、本願に記載されているような集積光検出器は、発光寿命、例えば蛍光寿命を測定し、区別できる。寿命測定は、1つまたは複数のマーカ(例えば、蛍光分子)を励起させ、放出された発光における時間によるばらつきを測定することに基づく。マーカが、それが励起状態に到達した後に光子を放出する可能性は、時間と共に指数関数的に減少する。確率が低下する速度は、マーカの特徴であってもよく、マーカによって異なってもよい。マーカが放出する光の時間的特徴を検出することにより、マーカの識別および/または相互に関するマーカの区別が可能となり得る。時間に伴う光子放出確率の低下は、指数関数的減衰関数 $p(t) = e^{-(t/\tau)}$ で表されてもよく、式中、 $p(t)$ は時間 t における光子放出確率であり、 τ はマーカの時間パラメータである。時間パラメータ τ は、励起後、マーカが光子を放出する確率が特定の数値であるときの時間を示す。時間パラメータ τ は、その吸収および放出スペクトル特性から区別され得るマーカの特性である。このような時間的パラメータ τ は、発光寿命、蛍光寿命、または単純にマーカの「寿命」と呼ばれる。

10

【0053】

図1-1は、寿命の異なる2つのマーカの、時間に関する光子放出の確率をグラフにしたものである。確率曲線Bにより表されるマーカの放出確率は、確率曲線Aにより表されるマーカの放出確率より速く減衰する。確率曲線Bにより表されるマーカは、確率曲線Aにより表されるマーカより短い時間的パラメータ τ 、すなわち寿命を有する。マーカの寿命は、いくつかの実施形態において、0.1~20 ns の範囲であってもよい。しかしながら、本明細書に記載されている技術は、使用されるマーカの寿命に関して限定されない。

20

【0054】

マーカの寿命は、複数のマーカ間で区別するために使用されてもよく、および/またはマーカの識別のために使用されてもよい。いくつかの実施形態において、異なる寿命の複数のマーカが励起源により励起される寿命測定が行われてもよい。一例として、寿命がそれぞれ0.5、1、2、および3ナノ秒の4つのマーカは、選択された波長(例えば、635 nm等)を有する光を放出する光源により励起されてもよい。マーカは、マーカにより放出される光の寿命を測定することに基づいて識別されるか、または相互に区別されてもよい。

30

【0055】

寿命測定は、絶対的な強度の数値と対照的に、時間と共に強度がどのように変化するかを比較することによって相対的強度測定を使用してもよい。その結果、寿命測定は、絶対的強度測定の困難の一部を回避できる。絶対的強度測定は、存在するマーカの濃度に依存していてもよく、マーカの濃度を変化させるための校正ステップが必要であり得る。これに対して、寿命測定は、マーカの濃度により影響を受けないことがあり得る。

40

【0056】

実施形態は、あるマーカの集合内の第一のマーカを同じ集合内の他のマーカから区別するために、マーカ特徴の何れの適当な組合せを使用してもよい。例えば、いくつかの実施形態は、マーカを識別するために、マーカからの放出光の時間情報のみを使用してもよい。このような実施形態において、選択されたマーカの集合内の各マーカは、その集合内の他のマーカと異なる放出寿命を有し、発光マーカの全てが単独の励起源からの光により励起される。図1-2Aは、ある実施形態による4つの発光マーカからの放出タイミングを示しており、4つのマーカは異なる放出寿命(τ)を示す。あるマーカが測定され、特定の数値の寿命を有する確率は、本明細書において、そのマーカの「放出タイミング」と呼ばれる。第一の発光マーカからの第一の放出タイミング1-101は、 τ_1 において寿命

50

を有するピーク確率を有し、第二の発光マーカからの第二の放出対タイミング1-102は、 τ_2 において寿命を有するピーク確率を有し、第三の発光マーカからの第三の放出タイミング1-103は、 τ_3 において寿命を有するピーク確率を有し、第四の発光マーカからの第四の放出タイミング1-104は、 τ_4 において寿命を有するピーク確率を有する。この実施形態において、4つの発光マーカの寿命確率ピークは、関係 $\tau_1 < \tau_2 < \tau_3 < \tau_4$ の関係を満たす何れの適当な数値であってもよい。4つの放出タイミンググラフは、図1-2Aに示されるように、特定の発光マーカの寿命のわずかなばらつきにより、重複する場合としない場合がある。この実施形態において、4つのマーカによる励起源からの光の吸収が最大になる励起波長は実質的に等しいが、そうである必要はない。上述のマーカ集合を使用して、4つの異なる分子がこのマーカ集合からのそれぞれのマーカで標識されてもよく、マーカは単独の励起源を使用して励起されてもよく、マーカは、光学システムとセンサとを使用してマーカの放出寿命を検出することにより、相互に区別できる。図1-2Aは4つの異なるマーカを示しているが、何れの適当な数のマーカを使用して

10

【0057】

他の実施形態は、マーカの集合内のマーカの識別を判定するために、何れの適当なマーカ特徴の組合せを使用してもよい。使用可能なマーカ特徴の例としては、励起波長、放出波長、および放出寿命が含まれていてもよいが、これらに限定されない。マーカ特徴の組合せは位相空間を形成し、各マーカは、この位相空間内の点として表されてもよい。マーカの集合内のマーカは、集合内の各マーカ間の「距離」が、検出メカニズムが各マーカを集合内の他のマーカから区別できる程度に十分に大きくなるように選択されるべきである。例えば、いくつかの実施形態において、マーカのサブセットが同じ放出波長を有するが、異なる放出寿命および／または異なる励起波長を有するようなマーカの集合が選択されてもよい。他の実施形態において、マーカのサブセットが同じ放出寿命を有するが、異なる放出波長および／または異なる励起波長を有するようなマーカの集合が選択されてもよい。他の実施形態において、マーカのサブセットが同じ励起波長を有するが、異なる放出波長および／または異なる放出寿命を有するようなマーカの集合が選択されてもよい。

20

【0058】

例えば、限定ではないが、図1-2Bは、ある実施形態による4つの発光マーカからの放出スペクトルを示しており、マーカの2つが第一のピーク放出波長を有し、残りの2つのマーカが第二のピーク放出波長を有する。第一の発光マーカからの第一の放出スペクトル1-105は、 λ_1 においてピーク放出波長を有し、第二の発光マーカからの第二の放出スペクトル1-106も、 λ_1 においてピーク放出波長を有し、第三の発光マーカからの第三の発光スペクトル1-107は λ_2 においてピーク放出波長を有し、第四の発光マーカからの第四の放出スペクトル1-108も、 λ_2 においてピーク放出波長を有する。この実施形態において、4つの発光マーカの放出ピークは、 $\lambda_1 < \lambda_2$ を満たす何れの適当な数値であってもよい。ピーク放出波長が複数の発光マーカについて同じであるこのような実施形態において、同じ放出波長を有するマーカのスペクトル特徴は異ならなければならない。例えば、 λ_1 において放出する2つのマーカは、異なる放出寿命を有していてもよい。図1-3Aは、この状況を、放出波長および放出寿命により画定される位相空間で概略的に示している。第一のマーカは放出波長 λ_1 と放出寿命 τ_1 とを有し、第二のマーカは放出波長 λ_1 と放出寿命 τ_4 とを有し、第三のマーカは放出波長 λ_2 と放出寿命 τ_1 とを有し、第四のマーカは放出波長 λ_2 と放出寿命 τ_4 とを有する。このようにして、図1-3Aに示されるマーカの4つのマーカは全て、相互に区別可能である。このようなマーカ集合を使用することにより、4つのマーカに関する吸収波長が同じであったとしても、4つのマーカ間を区別できる。これは、放出波長の他に、フォトルミネッセンスの放出時間を検出できるセンサを使用して可能となる。

30

40

【0059】

例えば、限定ではないが、図1-2Cは、他の実施形態による4つの発光マーカからの吸収スペクトルを示す。この実施形態において、マーカの2つは第一のピーク吸収波長を

50

有し、他の2つのマーカは第二のピーク吸収波長を有する。第一の発光マーカに関する第一の吸収スペクトル1-109は λ_3 においてピーク吸収波長を有し、第二の発光マーカに関する第二の吸収スペクトル1-110は λ_4 においてピーク吸収波長を有し、第三の発光マーカに関する第三の吸収スペクトル1-111は λ_3 においてピーク吸収波長を有し、第四の発光マーカに関する第四の吸収スペクトル1-112は λ_4 においてピーク吸収波長を有する。図1-2Cにおいてピーク吸収波長を共有するマーカは、別のマーカ特徴、例えば放出寿命等により区別可能である点に留意されたい。図1-3Bは、この状況を、吸収波長および放出寿命により画定される位相空間内で概略的に示している。第一のマーカは吸収波長 λ_3 と放出寿命 τ_1 とを有し、第二のマーカは吸収波長 λ_3 と放出寿命 τ_4 とを有し、第三のマーカは吸収波長 λ_4 と放出寿命 τ_1 とを有し、第四のマーカは吸収波長 λ_4 と放出寿命 τ_4 とを有する。このようにして、図1-3Aに示されるマーカ集合の4つの全てのマーカは相互に区別可能である。

10

【0060】

このようなマーカ集合を使用することによって、4つのマーカの放出波長が区別不能であったとしても、4つのマーカ間の区別が可能である。これは、異なる波長を放出する2つの励起源または複数の波長で放出可能な単独の励起源を、フォトルミネッセンスの放出時間を検出できるセンサと共に使用することにより可能である。励起光の波長が検出される放出イベントごとにわかっていれば、何れのマーカが存在するかを判断できる。励起源は、第一の励起波長と第二の励起波長とで交互に切り換えられてもよく、これはインタリーブと呼ばれる。あるいは、第一の励起波長の2つ以上のパルス、第二の励起波長の2つ以上のパルスの後に使用してもよい。

20

【0061】

マーカを区別するために使用される励起源または励起波長の数は、2つに限定されず、いくつかの実施形態において、マーカの識別に3つ以上の励起波長またはエネルギーが使用されてもよい。このような実施形態において、マーカは、複数の励起波長にตอบสนองして放出された光子の強度または数によって区別されてもよい。マーカは、マーカを特定の励起波長に曝すことにตอบสนองして放出された光子の数を検出することによって、複数のマーカから区別可能であってもよい。いくつかの実施形態において、マーカは、マーカを一度に複数の励起エネルギーのうちの1つで照明し、複数の励起エネルギーのうちでそのマーカが最も多い光子を放出した励起エネルギーを識別することによって区別されてもよい。他の実施形態において、マーカが異なる励起エネルギーにตอบสนองして放出した光子の数がマーカを識別するために使用されてもよい。第一の励起エネルギーに応じて光子を放出する確率が第二の励起エネルギーより高い第一のマーカは、第二の励起エネルギーにตอบสนองして光子を放出する確率が第一の励起エネルギーより高い第二のマーカから区別されてもよい。このようにして、異なる励起エネルギーにตอบสนองして特定の量の光子を放出する確率が区別可能であるマーカは、未知のマーカを異なる励起エネルギーに曝しながら、放出された光子を測定することによって識別されてもよい。このような実施形態において、マーカは、複数の励起エネルギーに曝されてもよく、マーカの識別は、そのマーカが何れかの光を放出したか否か、および／または放出された特定の数の光子を判定することによって実現されてもよい。何れの適当な数の励起エネルギー源が使用されてもよい。いくつかの実施形態

30

40

【0062】

他の実施形態において、マーカ集合内のマーカの3つ以上の特徴がマーカの存在を区別するために使用されてもよい。図1-4は、マーカの吸収波長、放出波長、および放出寿命により画定される例示的な位相空間を示している。図1-4において、8つの異なるマーカが位相空間内で分散されている。8つのマーカのうちの4つは、同じ放出波長を有し

50

、異なる4つのマーカは同じ吸収波長を有し、異なる4つのマーカは同じ放出寿命を有する。しかしながら、マーカの各々は、マーカの3つ全ての特徴が考慮されたときに、他の個々のマーカから区別可能である。実施形態は、マーカの何れの数にも限定されない。この概念は、少なくともこれら3つのマーカ特徴を使用して、相互に区別可能な何れの数

【0063】

図中には示されていないが、他の実施形態は、吸収周波数のみに基づいて発光マーカの識別を判定してもよい。このような実施形態は、励起光が、マーカ集合内のマーカの吸収スペクトルとマッチする特定の波長に調整できれば可能である。このような実施形態において、各マーカにより放出される光を誘導し、検出するために使用される光学システムセンサは、放出光の波長を検出できなくてもよい。これは、いくつかの実施形態において、そのような実施形態では放出波長の検出が不要であることから、光学システムとセンサとが単純化するため、有利であり得る。

【0064】

上述のように、本発明者らは、異なる発光マーカを、マーカの様々な特徴を使用して相互に区別できる必要性を認識し、理解した。マーカの識別を判定するために使用される特徴の種類は、この解析を実行するために使用される物理的装置に影響を与える。本願は、このような異なる実験を実行するための装置、デバイス、機器、および方法のいくつかの実施形態を開示する。

【0065】

本発明者らは、光学系およびセンサを含む低コストの単回使用使い捨て集積装置を、励起源を含む機器と共に使用して、生物検体を標識するために使用された1つまたはマーカから放出された発光の異なる特徴を測定することによって検体を解析してもよいことを認識し、そのように理解した。低コストの集積装置の使用により、所定のバイオアッセイで実行コストが削減される。生物検体が集積装置上にセットされ、バイオアッセイが終了したら廃棄されてもよい。集積装置は、様々な使い捨ての集積装置と共に繰返し使用されてもよい、より高価で複数回使用される機器とインタフェースする。小型のポータブル機器とインタフェースする低コストの集積装置は、世界の何れの場所でも使用でき、検体解析のために研究の専門知識を必要とする高コストの生物学的研究所の制約を受けない。そのため、世界においてこれまで生物検体の定量解析を行うことのできなかった地域に自動生体解析がもたらされ得る。例えば、乳児の血液検査は、血液検体を使い捨て集積装置の上に載せ、使い捨て集積装置を小型のポータブルの解析機器にセットし、結果を機器に接続されたコンピュータで処理して、使用者が即時にそれを見られるようにすることによって実行してもよい。データはまた、データネットワーク上で離れた場所に転送することにより、解析され、および／または後に臨床解析するために保存されてもよい。あるいは、機器はまた、集積装置のセンサから得たデータを解析するための1つまたは複数のプロセッサを含んでいてもよい。

【0066】

各種の実施形態を以下により詳しく説明する。

I. システムの概要

システムは、集積装置と、集積装置とインタフェースするように構成された機器とを含む。集積装置はピクセルのアレイを含み、ピクセルは検体ウェルと、少なくとも1つのセンサとを含む。集積装置の表面には複数の検体ウェルがあり、検体ウェルは、集積装置の表面上に載せられた試料からの検体を受けるように構成される。試料は複数の検体、いくつかの実施形態において、異なる種類の検体を含んでいてもよい。複数の検体ウェルは、検体ウェルの少なくとも一部が試料からの1つの検体を受けるように構成される設計であってもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル内の検体の数は検体ウェル間で分散されてもよく、1つの検体を収容する検体ウェルがあれば、検体が収容されない、または2つ以上の検体を収容する検体ウェルもある。例えば、試料には複数の一本鎖DNA鋳型が含まれていてもよく、集積装置の表面上の検体ウェルは、1つの一本鎖DNA鋳型を

受けてもよい。集積装置の検体ウェルの少なくとも一部は、一本鎖DNA鋳型を収容してもよい。試料にはまた、タグ付きdNTPが含まれていてもよく、これはその後、検体ウェルに入り、それがDNAの相補的な鎖内に組み込まれるときにヌクレオチドの識別が可能になり得る。このような例において、「検体」とは、一本鎖DNAとポリメラーゼによって現在組み込まれているタグ付きdNTPとの両方を指してもよい。いくつかの実施形態において、試料には一本鎖DNA鋳型が含まれていてもよく、タグ付きdNTPはその後、検体ウェル内に、ヌクレオチドがその検体ウェル内のDNA相補的な鎖内に組み込まれたときに導入され得る。このようにして、ヌクレオチド組込みのタイミングは、タグ付きdNTPが集積装置の検体ウェル内にいつ導入されるかによって制御されてもよい。

【0067】

励起エネルギーは、集積装置のピクセルアレイから離れた場所にある励起源から提供される。励起エネルギーは、少なくとも部分的に、集積装置の要素によって1つまたは複数のピクセルに向かって誘導され、検体ウェル内の照明領域を照明する。したがって、マーカまたはタグは、照明領域内にあるときに、励起エネルギーにより照明されたことに応答して放出エネルギーを放出してもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の励起源はシステムの機器の一部であり、機器の構成要素および集積装置は、励起エネルギーを1つまたは複数のピクセルに向かって誘導するように構成される。他の実施形態において、1つまたは複数の励起源は、集積装置上であるがピクセルのアレイとは別の領域に位置付けられ、集積装置内の構成要素は、励起源領域からの励起エネルギーを1つまたは複数のピクセルに誘導するように構成される。

【0068】

次に、検体により放出された放出エネルギーは集積装置のピクセル内の1つまたは複数のセンサにより検出されてもよい。いくつかの実施形態において、複数のセンサは放出エネルギーの空間的分散を捕捉する大きさおよび配置であってもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のセンサは、検体の放出エネルギーに関連付けられるタイミングの特徴（例えば、蛍光寿命）を検出するように構成されてもよい。したがって、1つまたは複数のセンサからの出力信号は、複数のマーカからマーカを区別するために使用されてもよく、この複数のマーカは、試料内のある検体を識別するために使用されてもよい。いくつかの実施形態において、検体は、複数の励起エネルギーによって励起されてもよく、複数の励起エネルギーに応答して検体により放出された放出エネルギーおよび／または放出エネルギーのタイミングの特徴は、複数のマーカからあるマーカを区別できる。

【0069】

システム2-100の概略が図2-1Aおよび2-1Bに示されている。システムは、機器2-104とインタフェースする集積装置2-102の両方を含む。いくつかの実施形態において、機器2-104は1つまたは複数の励起源2-106を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、励起源は機器2-104と集積装置2-102との両方の外であってもよく、機器2-104は励起エネルギーを励起源から受け取り、それを集積装置に誘導するように構成されていてもよい。集積装置は、集積装置を受け、それを励起源と正確に光学的に整列した状態に保持するためのあらゆる適当なソケットを使用して機器とインタフェースする。励起源2-106は、励起エネルギーを集積装置2-102に提供するように構成されてもよい。励起源は図2-1Bにおいて機器内にあるように示されているが、励起源は、いくつかの例において、集積装置上の、ピクセルから離れた領域に位置付けられてもよい。図2-1Bに概略的に示されているように、集積装置2-102は複数のピクセルを有し、各ピクセル2-112は検体の独立した解析が可能である。このようなピクセル2-112は「パッシブソースピクセル」と呼ばれてもよく、それは、ピクセルがそのピクセルから離れた励起源2-106から励起エネルギーを受け取り、励起源が複数のピクセルを励起させるからである。各ピクセル2-112は、検体を保持し、解析するための検体ウェル2-108と、励起源2-106により提供される励起エネルギーで検体が照明されたことに応答して検体により放出された放出エネルギーを検出するためのセンサ2-110とを有する。いくつかの実施形態において、各センサ2-

10

20

30

40

50

110は複数のサブセンサを含んでいてもよく、各サブセンサは、検体からの放出エネルギーの異なる波長を検出するように構成される。

【0070】

励起エネルギーを検体ウェル2-108に案内し、結合するための光学要素は、集積装置2-102と機器2-104との両方にある。このようなソースウェル要素は、集積装置2-102の上にあり、励起エネルギーを集積装置に結合するための回折格子カプラ、励起エネルギーを各ピクセル2-112に送達するための導波路、およびレンズ、プラズモン要素、ならびに集積装置上にあり、機器2-104から受け取られた励起エネルギーを検体ウェル2-108に誘導する誘電性コーティングを含んでいてもよい。それに加えて、集積装置上にある光学要素は、放出エネルギーを検体ウェルからセンサに向かって誘導する。このようなウェル検体要素は、放出エネルギーを放射パターンに誘導する構成要素を含んでいてもよく、放射パターンは検体ウェル内で検体が放出する放出エネルギーに依存する。検体ウェル2-108、ソースウェル光学系の一部、および検体ウェルセンサ光学系は、集積装置2-102の上にある。励起源2-106およびソースウェル構成要素の一部は、機器2-104内にある。いくつかの実施形態において、1つの構成要素が、励起エネルギーを検体ウェル2-108に結合することと、放出エネルギーを検体ウェル2-108からセンサ2-110へと送達することとの両方において役割を果たしてもよい。

【0071】

図2-1Bに示されているように、集積装置は複数のピクセルを含み、各ピクセル2-112がそれ自体の個々の検体ウェル2-108およびセンサ2-110に関連付けられる。複数のピクセルは、アレイ状に配置されてもよく、何れの適当な数のピクセルがあってもよい。例えば、集積装置2-102は、いくつかの実施形態によれば100~1,000ピクセル、いくつかの実施形態によれば1,000~10,000ピクセル、いくつかの実施形態によれば10,000~100,000ピクセル、いくつかの実施形態によれば100,000~1,000,000ピクセル、さらにいくつかの実施形態によれば1,000,000~10,000,000ピクセルを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、集積装置2-102には、それより少ないまたはそれより多いピクセルがあってもよい。集積装置2-102と機器2-104とは、大きいピクセルアレイ（例えば、1000を超えるピクセル）に関連付けられるデータを取り扱うための多チャンネル高速通信リンクを含んでいてもよい。

【0072】

励起源2-106は、励起エネルギーを少なくとも1つの検体ウェルに送達するように配置された何れの適当な励起源であってもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数の励起源のアレイが、同じ集積装置上のピクセルアレイに隣接して配置される。他の実施形態において、1つまたは複数の励起源は、ピクセルアレイが形成されている基板に近接して取り付けられた第二の基板の上にある。

【0073】

機器2-104は、集積装置インタフェース2-114を通じて集積装置2-102とインタフェースする。集積装置インタフェース2-114は、集積装置2-102を機器2-104に位置付け、および／または整列させて、励起源2-106からの励起エネルギーの集積装置2-102への結合を改善する構成要素を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、励起源2-106は、複数の励起源を含み、これらは組み合わせて励起エネルギーを集積装置2-102に送達する。複数の励起源は、複数の励起エネルギーまたは波長を生成するように構成されてもよい。集積装置インタフェース2-114は、集積装置上にあるピクセル内のセンサからの読取り信号を受け取ってもよい。それに加えて、集積装置インタフェース2-114は、集積装置を集積装置インタフェース2-114に固定することにより、集積装置が機器に取り付けられるように設計されてもよい。

【0074】

機器2-104は、機器2-104の動作を制御するユーザインタフェース2-116

を含む。ユーザインタフェース2-116は、使用者が、機器の機能を制御するために使用されるコマンドおよび／または設定等の情報を機器に入力できるように構成される。いくつかの実施形態において、ユーザインタフェース2-116は、ボタン、スイッチ、ダイヤル、および音声コマンドのためのマイクロフォンを含んでいてもよい。それに加えてユーザインタフェース2-116により、使用者は機器および／または集積装置の性能についてのフィードバック、例えば集積装置上のセンサからの読取り信号により得られた適正なアラインメントおよび／または情報を受け取ることができ得る。いくつかの実施形態において、ユーザインタフェース2-116は、可聴的フィードバックを提供するためのスピーカおよび視覚的フィードバックを提供するためのインジケータランプおよび／またはディスプレイスクリーンを使用してフィードバックを提供してもよい。いくつかの実施形態において、機器2-104は、コンピューティングデバイス2-120と接続するために使用されるコンピュータインタフェース2-118を含む。何れの適当なコンピュータインタフェース2-118とコンピューティングデバイス2-120とが使用されてもよい。例えば、コンピュータインタフェース2-118は、USBインタフェースまたはファイヤワイヤインタフェースであってもよい。コンピューティングデバイス2-120は、ラップトップまたはデスクトップコンピュータ等の何れの汎用コンピュータであってもよい。コンピュータインタフェース2-118は、機器2-104とコンピューティングデバイス2-120との間での情報を通信しやすくする。機器2-104を制御および／または構成するための入力情報は、機器のコンピュータインタフェース2-118に接続されたコンピューティングデバイス2-120を通じて提供されてもよい。それに加えて、出力情報はコンピュータインタフェース2-118を通じてコンピューティングデバイス2-120によって受け取られてもよい。このような出力情報には、機器2-104および／または集積装置2-112の性能に関するフィードバックおよびセンサ2-110の読取り信号からの情報が含まれていてもよい。機器2-104はまた、センサ2-110から受け取られたデータを解析し、および／または制御信号を励起源2-106に送信するための処理装置2-122も含んでいてよい。いくつかの実施形態において、処理装置2-122は、汎用プロセッサ、専用に調整されたプロセッサ（例えば、1つまたは複数のマイクロプロセッサまたはマイクロコントローラコア、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA: field-programmable integrated circuit）、特定用途集積回路（ASIC: application-specific integrated circuit）、カスタム集積回路、デジタル信号プロセッサ（DSP: digital signal processor）、またはそれらの組合せなどの中央処理装置（CPU: central processing unit））を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、センサ2-110からのデータの処理は、処理装置2-122と外部コンピューティングデバイス2-120との両方で行われてもよい。他の実施形態において、コンピューティングデバイス2-120を省略してもよく、センサ2-110からのデータの処理は処理装置2-122によってのみ行われてもよい。

【0075】

ピクセルの行を例示する集積装置3-102の断面図が図3-1Aに示されている。各ピクセル3-112は、検体ウェル3-108とセンサ3-110とを含む。センサ3-110は、検体ウェル3-112と整列され、位置付けられていてもよい。励起源が集積装置に結合されているとき、励起エネルギーは1つまたは複数のピクセルに提供される。図3-1Bは、励起源3-106を集積装置3-102に結合することを示す概略図である。励起源3-106は、集積装置3-102内で励起エネルギー3-130（破線で示される）を提供する。図3-1Bは、励起エネルギー源3-106からピクセル3-112内の検体ウェル3-108への励起エネルギーの経路を示している。集積装置の外にある構成要素は、励起源3-106を集積装置に位置付けて、整列させるために使用されてもよい。このような構成要素は、レンズ、ミラー、プリズム、絞り、減衰器および／または光ファイバを含む光学構成要素を含んでいてもよい。機器内には、1つまたは複数のア

10

20

30

40

50

ラインメント構成要素を制御できるように構成されたその他の機械的構成要素が含まれていてもよい。このような機械的構成要素には、アクチュエータ、ステップモータ、および／またはノブが含まれていてもよい。集積装置は、励起エネルギー 3-130 を集積装置内のピクセルに向かって誘導する構成要素を含む。各ピクセル 3-112 内で、励起エネルギーは、ピクセルに関連付けられる検体ウェル 3-108 に結合される。図 3-1B はピクセルの行内の各検体ウェルへの励起エネルギーの結合を示しているが、いくつかの実施形態において、励起エネルギーは、行内のピクセルの全てに結合しなくてもよい。いくつかの実施形態において、励起エネルギーは、集積装置のピクセルの行内のピクセルまたは検体ウェルの一部に結合されてもよい。励起エネルギーは、検体ウェル内にある検体を照明してもよい。検体は、励起エネルギーにより照明されたことに応答して励起状態に到達してもよい。検体が励起状態にあるとき、検体は放出エネルギーを放出してもよく、放出エネルギーはセンサにより検出されてもよい。図 3-1B は、検体ウェル 3-108 からピクセル 3-112 のセンサ 3-110 への放出エネルギー 3-140（実線で示される）の経路を概略的に示している。ピクセル 3-112 内のセンサ 3-110 は、検体ウェル 3-108 からの放出エネルギーを検出するように構成され、位置付けられてもよい。いくつかの実施形態において、センサ 3-110 は 1 つまたは複数のサブセンサを含んでいてもよい。

10

【0076】

解析対象の検体は、ピクセル 3-112 の検体ウェル 3-108 に導入されてもよい。検体は、生物検体または化学的検体などの他の何れの適当な検体であってもよい。検体は複数の分子を含んでいてよく、検体ウェルは単一分子を分離するように構成されてもよい。いくつかの例において、検体ウェルの寸法は、検体ウェル内に単一分子を閉じ込める役割を果たしてよく、単一分子上で測定を実行することを可能にする。励起源 3-106 は、励起エネルギーを検体ウェル 3-108 に送達して、検体、または検体に付着されているか、またはその他の方法で検体に関連付けられている少なくとも 1 つの発光マーカを、それが検体ウェル 3-108 内の励起領域にある間に励起させるように構成されていてもよい。複数分子の検体において、1 種類の発光マーカが分子の種類に一意的に関連付けられてもよい。励起中または励起後に、発光マーカは放出エネルギーを放出してもよい。複数のマーカが使用される場合、これらは異なる特徴的エネルギーを放出してもよい。いくつかの実施形態において、複数のマーカは異なる特徴的寿命を有していてもよい。それに加えて、多数のマーカは複数の励起エネルギーに対する応答において異なってもよい。検体のためのマーカは、その励起応答、特徴的エネルギーまたは波長、および／または特徴的寿命により識別されてもよい。検体からの放出は、検体ウェル 3-108 からセンサ 3-110 へと放射してもよい。

20

30

【0077】

構成要素は、放出エネルギーをセンサに向かって集束させてもよく、それに加えてまたはその代わりに、特徴的エネルギーまたは波長を有する放出エネルギーを空間的に分離してもよい。励起源 3-106 から放出された励起エネルギーは、検体ウェル 3-108 に対して何れの適当な方法で誘導されてもよく、検体ウェル 3-108 内に受けられた少なくとも 1 つの検体を励起するように構成されてもよい。いくつかの実施形態によれば、励起源 3-106 は検体を励起させてもよく、これは発光し得る。励起源は、1 つまたは複数の励起エネルギーを検体ウェル 3-108 に供給してもよい。いくつかの実施例において、励起源 3-106 は、1 つまたは複数のマーカを励起させてもよく、これは励起に応答して発光し、またはエネルギーを放出し、検体に付着され、またはそれ以外の方法で検体に関連付けられる。励起の結果として放出された発光またはエネルギーは、センサ 3-110 へと誘導されてもよく、これは、受け取られた放出の強度および／またはタイミングを検出するように構成されてもよい。発光の非限定的な例は、フォトルミネッセンス、蛍光、燐光である。

40

【0078】

いくつかの実施形態において、集積装置は放出エネルギーを、放出エネルギーのスペク

50

トル範囲に依存する放射パターンに誘導する構成要素を含んでいてもよい。複数のサブセンサを含むセンサまたはセンサ領域は、放射パターンに依存する放出エネルギーの空間分布を検出してもよい。異なる放出エネルギーおよび／またはスペクトル範囲を放出するマークは、異なる放射パターンを形成してもよい。センサまたはセンサ領域は、放出エネルギーの空間分布に関する情報を検出してもよく、これを使用して複数のマークのうちの あるマークを識別できる。

【0079】

放出エネルギーは、センサによって検出され、少なくとも1つの電気信号に変換されて もよい。電気信号は、図2-1Bに示される機器2-104の集積装置インタフェース2-114等の集積装置インタフェースを通じて機器に接続された集積装置の回路内で導線 10 に沿って伝送されてもよい。電気信号はその後、処理および／または解析されてもよい。電気信号の処理または解析は、図2-1Bに示されるコンピューティングデバイス2-120等、機器2-104上にあっても機器の外にあってもよい適当なコンピューティング デバイスで行われてもよい。

【0080】

集積装置2-210は、図2-2に示されるように見え得る。電子、光学、および関連 する構造は全て1つの基板2-200の上に統合されてもよい。集積装置は、ピクセル2-205のアレイと集積電子回路とを含んでいてもよい。集積電子回路は、ピクセルアレ イのセンサに結合された駆動および読取り回路2-215と、信号処理回路とを含んでい てもよい。信号処理回路は、アナログデジタル変換器2-217と、1つまたは複数のフ ィールドプログラマブルゲートアレイおよび／またはデジタル信号プロセッサ2-219 20 とを含んでいてもよい。いくつかの実施形態は、より多くの回路構成要素を有していても よく、いくつかの実施形態は、基板上に統合されたより少ない回路構成要素を有していてもよい。図2-2において、集積装置の構成要素は1つのレベルで描かれているが、構成 要素は基板2-200の上の複数のレベルに製造してもよい。

【0081】

いくつかの実施形態において、集積装置の上には光学要素（図示せず）があってもよく 、これらは1つまたは複数の励起源から検体ウェルに励起エネルギーを案内し、結合する ために配置される。このようなソースウェル要素は検体ウェルに隣接して位置付けられ たプラズモン構造またはその他の微細製作構造を含んでいてもよい。それに加えて、いく 30 つかの実施形態において、検体ウェルからの放出エネルギーを対応するセンサに案内する ように構成される光学要素が集積装置上に設置されてもよい。このようなウェル-検体要 素は、検体ウェルに隣接して配置されたプラズモン構造およびその他の微細製作構造を含 んでいてもよい。いくつかの実施形態において、1つの構成要素が励起エネルギーを検体 ウェルに結合することと、検体ウェルからの放出エネルギーを対応するセンサに送達する こととの両方において役割を果たしてもよい。

【0082】

いくつかの実施例において、集積装置は、検体ウェルにおいて検体を励起させるのに使 用される複数の種類の励起源を含んでいてもよい。例えば、検体を励起するための複数の 励起エネルギーまたは波長を生成するように構成された複数の励起源があってもよい。い 40 いくつかの実施形態において、1つの励起源が、検体ウェル内の検体を励起させるのに使 用される複数の波長を放出するように構成されてもよい。いくつかの実施形態において、集 積装置のピクセルにおける各センサは、検体から異なる放出エネルギーの特徴を検出する ように構成された複数のサブセンサを含んでいてもよい。

【0083】

動作中、検体ウェル内の検体の並列解析は、励起源を使用してウェル内の検体を励起し 、検体放出からの信号をセンサで検出することによって行われる。検体からの放出エネル ギーは、対応するセンサによって検出され、少なくとも1つの電気信号に変換されてもよ い。結果として得られる1つまたは複数の信号は、いくつかの実施形態において、集積装 置で処理されてもよく、または機器に転送されて、処理装置および／またはコンピューテ 50

ィングデバイスによって処理されてもよい。検体ウェルからの信号は、他のピクセルに関連付けられる信号とは独立して受け取られ、処理されてもよい。

【0084】

励起源が励起エネルギーを検体ウェルに送達するとき、ウェル内の少なくとも1つの検体が発光してもよく、その結果として得られる放出がセンサによって検出されてもよい。本明細書において使用されるかぎり、「検体は発光してもよい」、または「検体は放射を放出してもよい」、または「検体からの放出」という語句は、発光タグ、マーカ、またはレポータ、検体自体、または検体に関連付けられる反応生成物が放出放射を生成してもよいことを意味する。

【0085】

いくつかの実施形態において、検体は1つまたは複数のマーカで標識されてもよく、マーカに関連付けられる放出は機器により識別される。例えば、センサは、放出エネルギーからの光子を電子に変換して、電気信号を形成するように構成されてもよく、これは特定のマーカからの放出エネルギーに依存する寿命を識別するために使用されてもよい。異なる寿命を有するマーカを使用して検体に標識することにより、センサにより検出された、その結果としての電気信号に基づいて特定の検体が識別されてもよい。いくつかの実施形態において、集積装置の構成要素は、検体ウェルからの放出に影響を与え、放出波長に依存する空間放出分散パターンを生成してもよい。検体ウェルに関する対応するセンサは、検体ウェルからの空間分散パターンを検出し、異なる放出波長を互いに区別する信号を生成するように構成されていてもよく、これについて後により詳しく説明する。

II. 集積装置

集積装置は、外部励起エネルギー源から励起エネルギーを受けるように構成されていてもよい。いくつかの実施形態において、装置のある領域が、集積装置の外にある励起エネルギー源に結合されるために使用されてもよい。集積装置の構成要素は、励起源結合領域からの励起エネルギーを少なくとも1つのピクセルに案内してもよい。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの波長は、検体ウェルを有する少なくとも1つのピクセルに励起エネルギーを送達するように構成されていてもよい。検体ウェル内にある検体は、励起エネルギーで照明されたことに応答して放出エネルギーを放出してもよい。ピクセル内にある1つまたは複数のセンサは、放出エネルギーを受け取るように構成される。

【0086】

図3-2に示されるいくつかの実施形態による集積装置3-200の構成要素および／または層は、検体ウェル3-203と、導波路3-220と、センサ3-275とを含み、これらは1つの装置内に統合される。検体ウェル3-203は、集積装置3-200の検体ウェル層3-201内に形成されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル層3-201は金属であってもよい。検体ウェル3-203は、検体ウェルの断面寸法を示してもよい寸法 D_{tv} を有していてもよい。検体ウェル3-203はナノアパーチャとして機能し、検体ウェル3-203内の検体の励起強度を増大させる電場増強効果を生成する1つまたは複数のサブ波長寸法を有していてもよい。波長3-220は、装置3-200の外にある励起源3-230から励起エネルギーを検体ウェル3-203に送達するように構成される。波長3-220は、検体ウェル層3-201とセンサ3-275との間の層内に形成されてもよい。集積装置3-200の設計によって、センサ3-275は検体ウェル3-203内検体から放出された発光を集光できる。時間中の少なくとも一部で、検体は励起エネルギーを吸収し、励起エネルギーより小さく、放出エネルギーまたは発光と呼ばれるエネルギーを有する光子を放出する。

【0087】

集積装置3-200上に検体ウェル3-203とセンサ3-275とを有することにより、検体ウェル3-203からセンサ3-215まで光が移動する光学距離が短縮されてもよい。集積装置3-200または装置内の構成要素の寸法は、特定の光学距離に合わせて構成されてもよい。装置の構成要素および／またはその1つもしくは複数の層の材料の光学特性により、検体ウェルとセンサとの間の光学距離が決まってもよい。いくつかの実

施形態において、1つまたは複数の層の厚さが、検体ウェルとピクセル内のセンサとの間の光学距離を決定してもよい。それに加えて、またはその代わりに、集積装置3-200の1つまたは複数の層を形成する材料屈折率が、検体ウェル3-203とピクセル内のセンサ3-275との間の光学距離を決定してもよい。検体ウェルとピクセル内のセンサとの間のこのような光学距離は、1mm未満、100マイクロメートル未満、25マイクロメートル未満、および／または10マイクロメートル未満であってもよい。励起エネルギーの導波路3-220から検体ウェル3-203への結合を改善するために、検体ウェル層3-201と導波路層3-220との間に1つまたは複数の層があってもよい。図3-2に示される集積装置3-200は1つの層3-210のみを示しているが、検体ウェル3-203と導波路3-220との間に複数の層が形成されてもよい。層3-210は、導波路3-220から検体ウェル3-203への励起エネルギーの結合を改善するための光学特性を有するように形成されてもよい。層3-210は、励起エネルギーの散乱および／または吸収を減少させ、および／または検体ウェル3-203内の検体からの発光を増大させるように構成されていてもよい。層3-210は、いくつかの実施形態によれば、光学的に透明であってもよく、それによって光は検体ウェル3-203へと、およびそれからほとんど減衰せずに移動する。いくつかの実施形態において、誘電材料が層3-210の形成に使用されてもよい。いくつかの実施形態において、導波路3-220から検体ウェル3-203への励起エネルギーの結合を改善するために、層3-210内および／または層3-210と検体ウェル層3-201との界面における励起エネルギー結合構成要素が提供されてもよい。一例として、検体ウェル層3-201と層3-210との間に界面において形成されるエネルギー収集構成要素3-215は、導波路3-220から検体ウェル3-203への励起エネルギーの結合を改善するように構成されてもよい。エネルギー収集構成要素3-215は任意選択であり、いくつかの実施形態において、導波路3-220および検体ウェル3-203の構成により、励起エネルギー収集構成要素3-215がなくても励起エネルギーを十分に結合でき得る。

【0088】

検体ウェル3-203内の検体から放出された発光またはエネルギーは、様々な方法でセンサ3-275に伝送されてもよく、そのいくつかの例を以下に詳しく説明する。いくつかの実施形態は、特定の波長の光がセンサ3-275のうちの専らその特定の波長の光を検出するエリアまたは部分に誘導される可能性を高めるために、光学構成要素を使用してもよい。センサ3-275は、異なる発光マーカからの放出に対応してもよい異なる波長の光を同時に検出するために、複数部分を含んでいてもよい。

【0089】

検体ウェル3-203とセンサ3-275との間に、1つまたは複数の層があってもよく、これは検体ウェル3-203からセンサ3-275への発光の収集を改善するように構成されていてもよい。発光誘導構成要素は、検体ウェル層3-201と層3-210との間の界面にあってもよい。エネルギー収集構成要素3-215は、放出エネルギーをセンサ3-275に向かって集束してもよく、またそれに加えて、またはその代わりに、異なる特徴的エネルギーまたは波長を有する放出エネルギーを空間的に分離してもよい。このようなエネルギー収集構成要素3-215は、発光をセンサ3-275に向かって誘導するための回折格子構造を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、回折格子構造は、一連の同心円リング、すなわち「ブルズアイ (bullseye)」回折格子構造の構成であってもよい。同心円回折格子は、検体ウェル層3-201の底面から突出していてもよい。円形回折格子は、プラズモン要素として機能してもよく、これは信号光の広がりを減少させ、信号光を関連するセンサ3-275に向かって誘導するために使用されてもよい。このようなブルズアイ回折格子は、発光をセンサ3-275に向かってより効率的に誘導してもよい。

【0090】

層3-225は、導波路に隣接して形成されてもよい。層3-225光学特性は、検体ウェルからセンサ3-275への発光の収集を改善するように選択されてもよい。いくつ

かの実施形態において、層 3-225 は誘電材料であってもよい。バッフルが検体ウェル層 3-201 とセンサ 3-275 との間に形成されてもよい。バッフル 3-240 は、センサ 3-275 が検体ウェル 3-203 に対応する発光を受け取り、他の検体ウェルからの発光と、反射／散乱励起とを減少させるように構成されてもよい。フィルタ要素 3-260 は、励起エネルギーがセンサ 3-275 に到達するのを減少させるように位置付けられ、構成されてもよい。いくつかの実施形態において、フィルタ要素 3-260 は、検体を標識するために使用される 1 つまたは複数のマーカの放出エネルギーを選択的に透過させるフィルタを含んでいてもよい。検体ウェルのアレイとセンサのアレイを有し、各検体ウェルに対応するセンサを有する実施形態において、各検体ウェルに対応するバッフルが、他の検体ウェルからの発光と、反射および／または散乱励起光とがその検体ウェルに対応するセンサにより収集されるのを減少させるために形成されてもよい。

10

【0091】

導波路 3-220 とセンサ 3-275 との間には、センサへの励起エネルギーの透過を減少させるための 1 つまたは複数の層が形成されてもよい。いくつかの実施形態において、フィルタ要素は、導波路 3-220 とセンサ 3-275 との間に形成されてもよい。このようなフィルタ要素は、センサ 3-275 への励起エネルギーの透過を減少させ、その一方で、検体ウェルからの発光はセンサ 3-275 により収集されるように構成されてもよい。

【0092】

放出エネルギーは、センサ 3-275 により検出され、少なくとも 1 つの電気信号に変換されてもよい。電気信号は、後の信号処理のために、1 つまたは複数の行または列の導線（図示せず）に沿って基板 3-200 上の集積電子回路に伝送されてもよい。

20

【0093】

図 3-2 の上記の説明は、いくつかの実施形態による装置の構成要素のいくつかの概要である。いくつかの実施形態において、図 3-2 の 1 つまたは複数の要素は、なくても、または異なる位置にあってもよい。集積装置 3-200 と励起源 3-230 の構成要素について、以下により詳しく説明する。

A. 励起源結合領域

励起源は、外部励起エネルギー源と結合し、励起を集積装置のピクセル領域の少なくとも 1 つのピクセルに向かって案内するように構成された励起源結合領域を有していてもよい。励起源結合領域は、光を少なくとも 1 つの導波路に結合するように構成された 1 つまたは複数の構造を含んでいてもよい。励起エネルギーを導波路へと結合するための何れの適当なメカニズムが使用されてもよい。

30

【0094】

いくつかの実施形態において、外部励起源からの励起エネルギーは、エッジカップリングを通じて集積装置の導波路に結合されてもよい。集積装置の縁辺（エッジ）は導波路の端を含んでいてよく、それによって導波路の端の付近に位置付けられた外部励起源が光を導波路に結合してもよい。このような実施形態において、励起源結合領域の製造には、導波路の端を集積装置の縁辺に位置付けることを含んでいてもよい。図 4-1 A は、エッジカップリングの例を示す。光ファイバ 4-106 は、励起エネルギーを伝播するように構成され、集積装置 4-102 の縁辺付近に位置付けられ、集積装置 4-102 の導波路 4-104 の端が縁辺に位置付けられ、それによって光ファイバ 4-106 は導波路 4-104 へと光を結合できる。このような実施形態において、光ファイバ 4-106 または他の励起源と導波路 4-104 とのアラインメントをモニタすることにより、光ファイバが導波路に提供する光の量を改善できる。

40

【0095】

いくつかの実施形態において、プリズムが光を導波路に結合してもよい。光は、伝播導波路モードの光学位相周波数とマッチさせるために、プリズムにより誘導され、反射されてもよい。プリズムのために使用される材料の屈折率は、導波路との結合を改善するように選択されてもよい。いくつかの例において、プリズムは、導波路に関して高い屈折率と

50

狭いギャップを有していてもよい。他の実施形態において、光は導波路の端に直接結合されてもよい。集積装置の縁辺は、導波路への光の集束とアラインメントを可能にするように十分によく研磨されていてもよい。

【0096】

集積装置の励起源結合領域は、外部励起源と結合するように構成された構造的構成要素を含んでいてもよい。集積装置は、集積装置の表面付近に位置付けられた外部励起源と結合され、光を集積装置の少なくとも1つの導波路に向かって誘導するように構成された格子カプラを含んでいてもよい。格子カプラの特徴、例えば大きさ、形状、および／または格子の構成は、励起源からの励起エネルギーの導波路への結合を改善するように形成されてもよい。格子カプラは1つまたは複数の構造的構成要素を含んでよく、構造的構成要素間の間隔は、光を伝播する役割を果たしてもよい。格子カプラの1つまたは複数の寸法は、特定の特徵器波長を有する光の望ましい結合を提供してもよい。

10

【0097】

集積装置はまた、その端にテーパ領域を有する導波路を含んでいてもよい。導波路内の光の伝播方向に対して垂直な道路の1つまたは複数の寸法は、導波路の端において、より大きくてもよく、それによって導波路のテーパ領域が形成される。いくつかの実施形態において、導波路のテーパ領域の、光の伝播に垂直で、集積装置の表面に平行な寸法は、導波路の端においてより大きく、導波路の長さに沿って縮小されてもよい。格子カプラを含む実施形態において、テーパ領域は、格子カプラに近接して位置付けることができ、それによってテーパ領域のより大きい端は格子カプラに最も近くなる。テーパ領域は、導波路の1つまたは複数の寸法を拡張して、格子カプラとの導波路のモード重複を改善させることによって、格子カプラと導波路との間の光の結合を改善する大きさおよび形状としてもよい。このようにして、集積装置の表面に近接して位置付けられた励起源は、格子カプラを介して導波路に光を結合してもよい。格子カプラと導波路のテーパとのこのような組合せによって、励起源と集積装置とのアラインメントおよび位置決めの特許容差を大きくすることができる。

20

【0098】

格子カプラおよびテーパ領域を有する導波路を有する例示的集積装置が図4-1Bに示されている。集積装置4-100は、テーパ領域4-114を有する導波路、および格子カプラ4-116を含む励起源結合領域を有する。テーパ領域4-114の端は、集積装置4-100の表面4-112に平行で、導波路に沿った光の伝播に対して垂直な寸法がより大きい。テーパ領域4-114の端は、格子カプラ4-116と導波路との間の適当な結合を提供する大きさおよび形状であってもよい。格子カプラ4-116に関して位置付けられた光ファイバ4-120またはその他の適当な励起源は、励起エネルギーを導波路に結合してもよい。

30

【0099】

格子カプラは、集積装置内において、集積装置のピクセルの外にある領域に位置付けられてもよい。集積装置の表面において、ピクセルの検体ウェルは、その表面のうちの励起源結合領域から離れた領域を占有してもよい。励起源結合領域の表面に近接して位置付けられた励起源は、格子カプラと結合してもよい。検体ウェルは、励起源結合領域から離して位置付けられ、励起源からの光のピクセルの性能に対する干渉を軽減させてもよい。集積装置の格子カプラは、集積装置のうちの導波路を含む1つまたは複数の層内に形成されてもよい。このようにして、集積装置の励起源結合領域は、集積装置の導波路と同じ平面内に光子カプラを含んでいてもよい。格子カプラは、ビーム幅、入射角、および／または入射励起エネルギーの偏向を含む特定のビームパラメータの集合に合わせて構成されてもよい。

40

【0100】

集積装置4-200の断面図が図4-2に示されている。集積装置4-200は、集積装置4-200の層4-223内に形成された少なくとも1つの検体ウェル4-222を含む。集積装置4-200は、集積装置4-200の実質的に同じ平面内に形成される格

50

子カプラ4-216および導波路4-220を含む。いくつかの実施形態において、格子カプラ4-216と導波路4-220は、集積装置4-200の同じ層から形成され、同じ材料を含んでいてもよい。集積4-200内の励起源結合領域4-201は、格子カプラ4-216を含む。図4-2に示されるように、検体ウェル4-222は、集積装置4-200の表面上において、励起源結合領域4-201の外に位置付けられる。集積装置4-200に関して位置付けられる励起源4-214は、励起源結構領域4-201内の集積装置4-200の表面4-215上に入射する励起エネルギーを提供してもよい。励起源結合領域4-201内に格子カプラ4-216を位置付けることによって、格子カプラ4-216は励起源4-214からの励起エネルギーと結合し、励起エネルギーを導波路4-220に結合してもよい。導波路4-220は、1つまたは複数の検体ウェル4-222の付近に励起エネルギーを伝播させるように構成される。

10

【0101】

格子カプラは、1つまたは複数の材料から形成されてもよい。いくつかの実施形態において、高カプラは、導波路内の光の伝播に平行な方向に沿って、交互の異なる材料の領域を含んでいてもよい。図4-2に示されるように、格子カプラ4-216は、材料4-224により取り囲まれる構造を含む。格子カプラを形成する1つまたは複数の材料は、光の結合と伝播に適した1つまたは複数の屈折率を有していてもよい。いくつかの実施形態において、格子カプラは、より大きい屈折率を有する材料より取り囲まれる、1つの材料から形成された構造を含んでいてもよい。一例として、格子カプラは、窒化シリコンにより形成され、二酸化シリコンにより取り囲まれる構造を含んでいてもよい。

20

【0102】

格子カプラを形成するために、何れの適当な寸法および／または格子間隔が使用されてもよい。格子カプラ4-216は、導波路を通る光の伝播に対して垂直の、例えば図4-2に示されるy方向に沿って、約50nm、約100nm、約150nm、または約200nmの寸法を有していてもよい。導波路内の光の伝播に平行な方向に沿った、例えば図4-2に示されるz方向に沿った格子カプラの構造間隔は、何れの適当な距離であってもよい。格子間隔は、約300nm、約350nm、約400nm、約420nm、約450nm、または約500nmであってもよい。いくつかの実施形態において、格子間隔は格子カプラ内で可変的であってもよい。格子カプラ4-216は、集積装置4-200の表面4-215に対して実質的に平行なその1つまたは複数の寸法は、外部励起源4-214との結合に適した面積を提供してもよい。格子カプラ4-216の面積は、励起源4-214からの光のビームの1つまたは複数の寸法とマッチしていてもよく、それによってビームは格子カプラ4-215と重複する。格子カプラの面積は、約10マイクロメートル、約20マイクロメートル、約30マイクロメートル、または約40マイクロメートルの直径のビームに合わせて構成されてもよい。

30

【0103】

集積装置のある例示的な励起源結合領域の一部の断面図が図4-3Aに示されている。励起源結合領域は、格子カプラ4-326と、格子カプラ4-326を通過した励起光を格子カプラ4-326に戻るように反射するように構成された反射層4-336を含む。格子カプラ4-326は、図4-3Aに示されるz方向に沿ってAで表される格子間隔を有する構造を含んでいてもよい。構造は、線形、湾曲または他の何れの適当な形状を有していてもよい。いくつかの実施形態において、格子カプラ4-326は、導波路4-330の両側の矢印で示されるように、y方向に沿って、導波路4-330と同様の寸法を有していてもよい。格子カプラ4-326は、領域4-324によって取り囲まれ、格子カプラ4-324と領域4-324を形成する材料との組合せによって、必要に応じて光を導波路4-330に結合することができてよい。導波路4-330、格子カプラ4-326、および／または取り囲む材料4-324の屈折率は、励起エネルギーの導波路への結合、および導波路4-330への励起エネルギーの全体的な結合効率に影響を与えてもよい。集積装置の励起源結合領域は、約50%より大きい結合効率を有していてもよい。格子カプラ4-326は、励起エネルギー4-314の入射ビームの1つまたは複数の特

40

50

徴、例えば特徴的波長、ビーム径（矢印で示される）、およびビーム入射角（ θ で表される）に合わせて構成されてもよい。格子カプラ4-326は、ビーム径が約10マイクロメートル、約20マイクロメートル、約30マイクロメートル、または約40マイクロメートルの光のビームに合わせて構成されてもよい。格子カプラ4-326は、入射角で約2度、約5度、または約7度の光のビームに合わせて構成されてもよい。格子カプラ4-326は、特定の偏光、例えばTMまたはTE偏光の励起エネルギーと結合するように構成されてもよい。

【0104】

格子カプラを介したビームから導波路への光結合のシミュレーションが図4-3Bに示されている。導波路および格子カプラは、z軸に沿って、y軸の略0の点にある。光ビームは、y方向から約5度の入射角であり、直径は20マイクロメートルである。このシミュレーションで使用された導波路は、高さ（y方向に沿って）が100nmであり、定格カプラの格子間隔は420nmである。導波路および格子カプラ構造の屈折率は約1.87である。導波路および格子構造を取り囲む材料の屈折率は約1.45である。図4-3Bは、格子カプラおよび導波路に結合されるビームの光強度を示しており、導波路内の光のモードは、より暗い領域で示されている。

【0105】

導波路のテーパ領域の1つまたは複数の寸法と、格子カプラに関するテーパ領域の相対的位置決めとによって、励起エネルギーを導波路に十分に結合できる。テーパ領域の曲率およびチャープは、導波路への入射励起エネルギーの伝播の収束および／または発散に対応できる。格子カプラ4-316およびテーパ付き導波路領域4-318を含むある例示的な導波路層の平面図が図4-3Cに示されている。テーパ導波路領域4-318の、光の伝播に対して垂直である図4-3Cの平面内の寸法は、右から左へと漸減し、導波路4-320の寸法が得られる。格子カプラ4-316の、図4-3Cの平面内の面積は、外部励起源との結合に適していてもよい。ビームが格子カプラ4-316領域と実質的に重複するような、ビームの格子カプラ4-316に対する励起エネルギーのアラインメントは、導波路4-320への励起エネルギーの結合を改善してもよい。テーパ領域4-318の格子カプラ4-316に関する配置は、適当な結合効率を提供してもよい。テーパ領域4-318と格子カプラ4-316との角度は、光の伝播に対して垂直な導波路の寸法の減少に伴って励起エネルギーの損失を減らすことにより、励起源から導波路4-320の励起エネルギーの結合の効率を改善するように選択されてもよい。

【0106】

集積装置は、格子カプラの、励起源と反対側の面に形成された、光を反射するように構成された層を含んでもよい。層は、格子カプラを通過する励起エネルギーを格子カプラに向かって反射してもよい。集積装置内にこの層を含めることによって、励起エネルギーの導波路との結合効率が改善されてもよい。反射層の例は、図4-2に示される集積装置4-200の層4-218と図4-3Aに示される層4-336とである。層4-218は、集積装置4-200の励起源結合領域4-201に位置付けられ光を格子カプラ4-216に向かって反射するように構成される。層4-218は、格子カプラ4-216のうち、励起源4-214からの入射励起エネルギーと反対側の面の付近に形成される。層4-218を集積装置4-200のピクセルの外に位置付けることによって、ピクセルの性能能力に対する層4-218の干渉を減少させてもよい。層4-218は、何れの適当な材料を含んでもよい。層4-218は、1つまたは複数の励起エネルギーに対して実質的に反射性であってもよい。いくつかの実施形態において、この層は、Al、AlCu、および／またはTiNを含んでもよい。

B. 導波路

集積装置は、所望の量の励起エネルギーを集積装置の1つまたは複数の検体ウェルに送達するように構成された1つまたは複数の導波路を含んでもよい。1つまたは複数の検体ウェルの付近に、励起エネルギーが導波路に沿って伝播すると、励起エネルギーの一部が1つまたは複数の検体ウェルに結合するように位置付けられた導波路である。導波路

は、複数のピクセルに励起エネルギーを結合し、バス導波路として機能してもよい。例えば、1つの導波路が励起エネルギーを集積装置の行と列とのピクセルに送達してもよい。いくつかの実施形態において、導波路は、複数の特徴的波長を有する励起エネルギーを伝播させるように構成されてもよい。集積装置のピクセルは、導波路の励起エネルギーを検体ウェルの付近に向かって誘導するように構成された追加の構造（例えば、マイクロキャビティ）を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、導波路は、検体ウェル内および／または検体ウェルの付近の領域に延長するように構成されたエバネッセントテールを有する光学モードを搬送してもよい。検体ウェルの付近に配された追加のエネルギー結合構造は、エバネッセンステールからのエネルギーを検体ウェル内に結合してもよい。

【0107】

集積装置の導波路の1つまたは複数の寸法は、導波路に沿って、および／または1つもしくは複数の検体ウェルへと励起エネルギーを必要に応じて伝播させてもよい。導波路は、光の伝播に対して垂直で、導波路の平面に平行な寸法を有していてもよく、これは、断面幅と考えてもよい。導波路の断面幅は、約0.4マイクロメートル、約0.5マイクロメートル、約0.6マイクロメートル、約0.65マイクロメートル、約0.8マイクロメートル、約1マイクロメートル、または約1.2マイクロメートルであってもよい。導波路は、光の伝播に対して垂直で、導波路の平面に垂直な寸法を有していてもよく、これは断面高さと考えてもよい。導波路の断面高さは、約0.05マイクロメートル、約0.1マイクロメートル、約0.15マイクロメートル、約0.16マイクロメートル、約0.17マイクロメートル、約0.2マイクロメートル、または約0.3マイクロメートルであってもよい。いくつかの実施形態において、導波路は、断面高さより断面幅が大きい。導波路は、集積装置内の1つまたは複数の検体ウェルから特定の距離に、例えば図4-2に示される検体ウェル4-222および導波路4-220に示される距離Dに位置付けられてもよく、これは約0.3マイクロメートル、約0.5マイクロメートル、または約0.7マイクロメートルである。

【0108】

ある例示的实施形態において、導波路は、断面幅が約0.5 μm 、断面高さが約0.1 μm であり、検体ウェル層の約0.5 μm 下に位置付けられていてもよい。他の例示的实施形態において、導波路は、断面幅が約1 μm 、断面高さが約0.18 μm で、検体ウェル層の0.3 μm 下に位置付けられていてもよい。

【0109】

導波路は、単一横放射モードをサポートする寸法であってもよく、または複数横放射モードをサポートする寸法であってもよい。いくつかの実施形態において、導波路の1つまたは複数の寸法は、導波路が単一横モードのみを維持するように機能してもよく、TEまたはTM偏光モードは選択的に伝播させてもよい。いくつかの実施例において、導波路はその端に形成された反射率の高い区間を有していてもよく、それによってこれは導波路内の縦の定常波モードをサポートする。1つのモードをサポートすることによって、その導波路では、異なる伝播定数を有するモードの相互結合からのモーダル干渉が減少し得る。いくつかの実施形態において、高反射率区間は、1つの高反射率面を含む。他の実施形態において、高反射率区間は、複数の反射構造を含み、これらの合同によって高い反射率が得られる。導波路は、導波路ビームスプリッタを使用して、より高い出力強度を有する1つの励起源からの励起エネルギーを分割して、1つの励起源から複数の励起エネルギービームを生成するように構成されてもよい。このようなビームスプリッタは、エバネッセント結合メカニズムを含んでいてもよい。それに加えて、またはその代わりに、フォニック結晶が、励起エネルギーの伝播を改善するために導波路構造内で、および／または励起エネルギーの散乱を減少させるために導波路を取り囲む材料中で使用されてもよい。

【0110】

導波路の、集積装置のピクセル内の他の構成要素に関する位置および配置は、検体ウェルに向かう励起エネルギーの結合を改善し、センサによる放出エネルギーの収集を改善し、および／または励起エネルギーにより導入される信号ノイズを低減させるように構成さ

10

20

30

40

50

れてもよい。導波路は、検体ウェルに関して、導波路を伝播する励起エネルギーと、検体ウェルから放出された放出エネルギーとの干渉を減少させる大きさおよび／または位置とされてもよい。集積装置内の導波路の位置決めおよび配置は、導波路と導波路の周囲の材料の屈折率に依存してもよい。例えば、導波路に沿って伝播する光の方向に垂直で、導波路の平面内の導波路の寸法は検体ウェルからの放出エネルギーの実質的な量が、それがピクセルのセンサへと伝播する際に導波路を通過するように増大されてもよい。いくつかの実施例において、検体ウェルと導波路との間の距離および／または導波路の厚さは、導波路とその周辺材料との間の1つまたは複数の接合箇所からの反射を減少させるように選択されてもよい。いくつかの実施形態によれば、導波路からの放出エネルギーの反射は、いくつかの実施形態において約5%未満、いくつかの実施形態において約2%未満、およびいくつかの実施形態においてさらに約1%未満に低減されてもよい。

10

【0111】

導波路が励起エネルギーを伝播させる能力は、導波路の材料と導波路を取り囲む材料との両方に依存してもよい。このようにして、導波路構造は、図4-2に示されるように、導波路4-220等のコア材料、領域4-224等のクラッド材料を含んでいてもよい。導波路とそれを取り囲む材料との両方の材料により、ある特徴的な波長を有する励起エネルギーが導波路内を伝播することが可能となる。導波路またはそれを取り囲む材料の何れかの材料は、特定の屈折率または屈折率の組合せに合わせて選択されてもよい。導波路の材料は、導波路を取り囲む材料より低い屈折率を有していてもよい。例示的な導波路の材料には、窒化シリコン(Si_xN_y)、酸窒化シリコン、シリコンカーバイド、酸化タンタル(TaO_2)、二酸化アルミニウムが含まれる。例示的な導波路を取り囲む材料には、二酸化シリコン(SiO_2)、および酸化シリコンが含まれる。導波路および／または周辺材料は、1つまたは複数の材料を含んでいてもよい。いくつかの例において導波路および／または周辺材料の所望の屈折率は、導波路および／または周辺材料を、複数の材料を含むように形成することによって得られる。いくつかの実施形態において、導波路は、窒化シリコンを含み、周辺材料は二酸化シリコンを含む。

20

【0112】

ある例示的な実施形態において、導波路は窒化シリコンを含み、その屈折率は約1.90であり、断面高さは約100nmであり、それを取り囲む材料二酸化シリコンを含み、その屈折率は約1.46である。いくつかの実施形態において、導波路の屈折率は約1.88であってもよく、それを取り囲む材料の屈折率は約1.46であってもよい。このような実施形態において、導波路の他の屈折率を低くすると、光学損失を低下され得る。他の例示的な実施形態において、導波路は窒化シリコンのコアと二酸化シリコンのクラッドを含み、その特徴的な波長が635nmの励起エネルギーを伝播させるように構成される。コアの屈折率は1.99、寸法は100nm×500nmであってもよい。

30

【0113】

集積装置の導波路は、導波路内および／または複数の導波路間で均一な所望のレベルを有するように構成されてもよい。集積装置内の均一性は、導波路構造のコアおよび／クラッドを1つの導波路に沿って、または複数の導波路にわたり、実質的に同様の寸法および／または屈折率を有するように製造することによって実現できる。それに加えて、導波路は、繰り返し可能な製造プロセスが確実に異なる装置間で特定のレベルの整合性を実現できるようにすることにより、異なる集積装置間で繰り返し可能な方法で形成されてもよい。導波路および／または複数の導波路の断面高さのばらつきは、約2%未満、約3%未満、または約4%未満であってもよい。導波路および／または複数の導波路の屈折率のばらつきは約0.5%未満、約1%未満、または約2%未満であってもよい。導波路および／または複数の導波路の周辺材料またはクラッドの屈折率のばらつきは、約0.5%未満、約1%未満、または約2%未満であってもよい。

40

【0114】

導波路は、検体ウェルとピクセル内の1つまたは複数のセンサとの間に配置されてもよい。例えば、図4-2に示されているように、導波路4-220は、検体ウェル4-22

50

2と、少なくとも1つのセンサを含む層4-230との間に位置付けられる。いくつかの実施形態において、検体ウェル4-222は、導波路とセンサとの間に配置されてもよい。導波路は、例えば、センサと中心同士を合わせて整列されてもよく、それによって導波路の中心は検体ウェルの中心と実質的に整列される。いくつかの実施形態において、導波路は、検体ウェルと中心同士を合わせた整列から特定の距離だけ変位してもよい。いくつかの実施形態において、実質的に平行な2つの導波路は、同じ波長または異なる波長の励起エネルギーをピクセルに送達してもよく、検体ウェルは、これら2つの導波路間に配置されてもよい。いくつかの実施形態において、集積装置内の異なるレベルにある複数の導波路は、励起エネルギーを集積装置上に配置された1つまたは複数の検体ウェルの付近に向かって誘導されてもよい。

10

【0115】

集積装置の1つまたは複数の導波路は曲げ部を含んでいてもよい。導波路を曲げることによって、導波路および／またはピクセルを所望の配置にして、集積装置の1つまたは複数の検体ウェルに十分な量の励起エネルギーが結合されるようにしてもよい。導波路の曲げ部の設計は、曲げたことによる励起エネルギーの損失曲げ部の空間範囲との間のバランスをとってもよい。それに加えて、適切な設計により、導波路内の曲げ部はまた、伝播光の一部をフィルタ処理で排除するために使用されてもよい。導波路の一部を、特定の曲率半径を有するように設計することにより、導波路の曲率により提供されるフィルタ機能を通じて、1つの偏向の光を減少させてもよい。このような曲げは、TMおよびTE等、特定の偏光モードに合わせて選択するために使用されてもよい。いくつかの実施形態において、曲げ部は、TMモードをフィルタで除去し、および／または減衰させ、TMモードを保持するために使用されてもよい。図4-4は、断面高さが100nm、幅が300nm、400nm、500nm、700nm、および1000nmの導波路のための曲げ部に関する曲率半径に関して、曲げによる光の損失をグラフにしたものである。一例として、90度の曲げ部につき少なくとも0.1dBの損失を実現するために、断面幅が500nmの導波路は、その曲げ半径が約35マイクロメートルより大きくてもよく、断面幅が700nmの導波路は、その曲げ半径は約22マイクロメートルより大きくてもよい。

20

【0116】

導波路を1つの導波路から複数の導波路に分割することによって、励起エネルギーは集積装置の検体ウェルの複数の行または列に到達し得る。励起源は入力導波路に結合されてもよく、入力導波路は、複数の出力導波路に分割されてもよく、各出力導波路は励起エネルギー検体ウェルの1つの行または列に送達する。導波路を分割および／または結合するために、任意の適当な技術が使用されてもよい。このような導波路分割および／または結合技術には、スタースプリッタまたはカプラ、Yスプリッタおよび／またはエバネッセントカプラが含まれていてもよい。それに加えて、またはその代わりに、マルチモード干渉スプリッタ(MMI: multi-mode interference splitter)が、導波路を分割および／または結合するために使用されてもよい。検体ウェルに励起エネルギーを提供するために、これらの導波路分割および／または結合技術の1つまたは複数が使用されてもよい。

30

【0117】

ある例示的なスターカプラ4-500が図4-5に示されている。図4-5に示されるように、1つの導波路または2つの導波路4-501および4-502を使用して、2つの波長の光をスターカプラに入力してもよい。各入力波長の大きさおよび形状を別々に使用して、励起光ビーの各々の広がり、出力導波路4-504にマッチするように調整することにより、出力導波路4-504にわたり同様のパワー分布が得られるようにしてもよい。スターカプラは、自由伝播領域4-503を含み、これはスラブ導波路として実施されてもよい。自由伝播領域4-503は高マルチモード領域であり、それによって入力光はスラブ導波路の平面内で基本的に自由に伝播できる。自由伝播領域4-503は、第一の出力導波路から最後の出力導波路までの幅が、例えば300~400マイクロメートルであってもよい。

40

50

【0118】

励起エネルギーの出力導波路4-504への結合は、スターカブラの各種のパラメータを使用して調整されてもよく、これにはスターカブラの個々の構成要素の1つまたは複数の寸法が含まれる。例えば、入力導波路4-501および4-502の各々の横断面の寸法、出力導波路4-504の各々の横断面の寸法、および入力導波路から出力導波路4-504の各々の距離は、励起エネルギーの出力導波路4-504への結合を改善するために調整すべきスターカブラのパラメータであってもよい。いくつかの実施形態において、スターカブラは、出力導波路4-504が相互に関して実質的に等しいパワー分布を有するように形成されてもよい。いくつかの実施形態において、スターカブラの外側の端付近の出力導波路は、中央に近い出力導波路とは異なるサイズを有していてもよい。例えば、端に近い道路は、横帆断面がより大きくてもよく、それによって、横断面積がより小さい、スターカブラの中央付近の出力導波路より多くの光を収集する。いくつかの実施形態において、入力導波路から出力導波路の距離は変化してもよい。例えば、図4-5に示されるように、端に近い出力導波路は、入力導波路4-501および4-502からの距離がスターカブラの中央に近い出力導波路より小さくてもよい。

10

【0119】

スターカブラ4-500は、何れの適当な数の出力導波路を有していてもよい。いくつかの実施形態において、1つのスターカブラが励起エネルギーを集積装置全体に分散させる。そのため、出力導波路の数は、集積装置内のピクセルの行の数と等しい。例えば、128の出力導波路があってもよい。他の実施形態において、複数のスターカブラが使用されてもよい。このような実施形態において、第一のスターカブラは64の出力導波路を有していてもよく、第二のスターカブラは64の出力導波路を有していてもよく、それによって第一および第二のスターカブラの組合せで励起エネルギーが集積装置の128行のピクセルに提供される。

20

【0120】

いくつかの実施形態において、入力導波路を有する代わりに、1つまたは複数の格子カブラが、複数の出力導波路を有するスターカブラの自由伝播領域に励起エネルギーを直接結合してもよい。スターカブラの自由伝播領域に複数の波長を結合するために1つの格子カブラが使用されてもよい。そのようにするために、異なる波長の光が格子カブラに異なる角度で入射してもよい。いくつかの実施形態において、複数の格子カブラが異なる波長の励起エネルギーを結合するために使用されてもよい。例えば、各励起波長のための格子カブラが使用されてもよい。自由伝播領域の一部として構成された格子カブラは、上述の格子カブラの1つと同様に動作してもよいが、光をスターカブラへと光を伝播させる入力導波路に結合するのではなく、4-603等の自由伝播領域を形成するスラブ導波路に光が直接結合される。

30

【0121】

スターカブラの別の例示的構成が図4-6に示されている。2つの波長の光が、導波路4-609および4-610にそれぞれ接続された格子カブラ4-605および4-606を使用してスターカブラに入力されてもよい。格子カブラ4-605および4-606と導波路4-609および4-610とは、曲げ部の数を減らし、および／または自由伝播領域4-607に向かう励起エネルギーの伝播を改善する曲げ角度を選択することによって、励起エネルギーの損失を減少させるように構成されてもよい。スターカブラからの出力導波路4-608は、励起エネルギーをピクセルの行に提供する何れの適正な方法で構成されてもよい。図4-6に示される例において、32の出力導波路がある。自由伝播領域4-607に近接する出力導波路4-608の横断面積は変化してもよく、それによって自由伝播領域4-607の端の付近の出力導波路は自由伝播領域4-607の中央付近出力導波路より大きい横断面積を有する。例えば、図4-6に示されるように、出力導波路4-608aは、自由伝播領域4-607の中心により近い出力導波路4-608bより大きい横断面積を有する。出力導波路4-608にこのような断面積のばらつきがあることによって、出力導波路4-608間の励起エネルギーの分布を改善してもよく、いく

40

50

つかの実施形態において、各出力導波路によりピクセルの行に実質的に同様の量の励起エネルギーが送達されることになる。このようにして、複数の行のピクセルが、ピクセルの行にわたり実質的に同量の励起エネルギーを受けてもよい。

【0122】

導波路分割の設計は、出力導波路の数に対する分割技術の効率に基づいて選択されてもよい。分割効率が高ければ、より多くの出力導波路が生成されてもよく、1つの分割ステップのみが実行されてもよい。いくつかの実施形態において、スプリッタからの1つの出力導波路は、検体ウェルの各行に対応していてもよい。いくつかの実施形態は、複数の分割ステップを含み、集積装置の検体ウェルの一部に励起エネルギーを送達するように構成された十分な数の導波路が実現される。いくつかの実施形態において、導波路は、マルチモード光干渉スプリッタ(MMI)を使用して複数の導波路にさらに分割されてもよい。MMIにおいて、出力導波路は複数の出力導波路に分割されてもよく、MMIの1つまたは複数の寸法によって、出力導波路の数および／または出力導波路に送達される励起エネルギーの量が決定されてもよい。例えば、図4-7に示されるように、MMIスプリッタ4-707は、入力4-710から出力4-708を提供するように構成される。出力4-708は、検体ウェルの行に励起エネルギーを伝播させるように構成された導波路に結合されてもよい。いくつかの実施形態において、MMIスプリッタ4-707は280の出力を有していてもよく、これらは検体ウェルの280行に励起エネルギーを伝播させるように構成される導波路に結合される。いくつかの実施形態において、MMIスプリッタは、複数の入力から行きエネルギーを受け取り、励起エネルギーを複数の出力に誘導するように構成される。図4-7に示されるように、MMIスプリッタ4-717は複数の入力4-720に結合され、複数の出力4-718を提供する。このような実施形態において、出力4-718の数は入力4-720の数より大きくてもよい。いくつかの実施形態において、入力4-720は異なる励起エネルギーをMMIスプリッタ4-717に提供してもよい。他の実施形態において、導波路の分割は、複数の分割ステップで実行されてもよい。一例として、分割は、マルチモード干渉スプリッタの2つの集合を使用して実行されてもよく、第一のMMIスプリッタからの出力導波路が第二のMMIスプリッタのための入力として使用される。例えば、図4-7に示されるように、入力導波路4-730はMMIスプリッタ4-727によって複数の出力に分割され、これには出力4-738を提供するように構成されたMMIスプリッタ4-737に結合される出力4-728が含まれる。いくつかの実施形態において、MMIスプリッタ4-727は、35の出力を提供してもよく、出力の各々は4-737等の他のMMIスプリッタにより8つの出力導波路に分割される。中間の35の導波路の各々が8つの導波路に分割されるため、この非限定的な例において、280の導波路が形成される。

【0123】

いくつかの実施形態において、複数の入力導波路は、MMIスプリッタに相互結合されて、光を集積装置の検体ウェルに結合するための出力導波路を形成する。このような集積装置では、複数の励起源と結合する複数の格子カブラがあってもよい。相互結合されたMMIは、図4-7に示されるように、複数の励起源を相互に結合して、複数の出力導波路を形成するように含められる。複数の入力導波路の各々は格子カブラの1つから開始してもよく、励起源の1つからMMIスプリッタへと光を結合する。複数の励起源のこのような相互結合によって、励起源の劣化および／または故障に対するシステムの堅牢性が改善されてもよい。例えば、複数の励起源の1つが励起エネルギーの生成を停止した場合、残りの励起源を利用して、集積装置の性能の所望のレベルにとって十分な励起エネルギーを提供できる。複数の励起源の1つまたは複数による励起エネルギーの減少を、機能している残りの励起源により提供される強度を高めることによって補償する補償メカニズムも含められてよい。

【0124】

導波路を分割および／または結合するための技術は、導波路が分割および／または結合されるとき、挿入損失を含めた励起エネルギーの損失低減に合わせて選択されてもよい

10

20

30

40

50

。導波路の分割および／または結合によって発生する挿入損失は、約 10 パーセント未満、約 20 パーセント未満、または約 30 パーセント未満であってもよい。導波路の分割技術により、複数の出力導波路間で励起エネルギーを略均等に分割し、励起エネルギーを各出力導波路間で均等に分散させることができ得る。導波路の結合技術により、複数の入力導波路からの励起エネルギーの相対的貢献を出力導波路間で略均一にし得る。いくつかの実施形態において、出力導波路間の均一性は、約 10 パーセント未満、約 20 パーセント未満、または約 30 パーセント未満であってもよい。導波路を設計するために使用される技術は、導波路断面高さ、断面幅、および／または導波路の屈折率を含む製造パラメータの具体的な公差に合わせて選択されてもよい。

【0125】

MMI スプリッタの 1 つまたは複数の寸法は、出力導波路の数および／または導波路分割および／または結合の効率に影響を与える。MMI スプリッタの設計は、MMI スプリッタの寸法を、特定の数の出力導波路および／または特定の分割効率を有するように決定することを含んでいてもよい。図 4-8 は、入力導波路からの光を受け取り、光を 8 つの出力導波路に誘導するように構成された、ある例示的な MMI スプリッタ内の光に関する強度プロファイルのシミュレーションを示している。この例において、入力導波路と出力導波路は、断面幅が 500 nm、MMI スプリッタの寸法は、幅 W において 16.35 マイクロメートル、長さ L において 84.28 マイクロメートルである。出力導波路の各々における透過光を測定することによって、結合の均一性および／または効率が測定されてもよい。図 4-8 に示される例示的な MMI スプリッタに関して、8 つの出力導波路の強度は約 0.1 % 異なってもよい。

【0126】

いくつかの実施形態において、格子カプラは、入力光を複数の出力導波路に誘導するように構成されてもよい。図 4-9 A はスライス格子カプラを示しており、これは、1 つまたは複数の波長を有する光を複数の出力導波路 4-904 に結合するために使用されてもよい。スライス格子は線形の回折格子構造であり、光の波長よりはるかに広い（例えば、幅が数百マイクロメートル）。これは、窒化シリコンと酸化シリコンなどの誘電体との交互の層から形成される。いくつかの実施形態において、異なる波長をスライス格子に、これらが異なる角度で入射するように発射することにより、複数の波長をスライス格子に結合することができる。このような実施形態において、格子カプラに入射する 1 つまたは複数のビームは、図 4-9 A に示されるように、格子構造自体の大きさと略同じスポットサイズ 4-603 を有する。

【0127】

図 4-9 B および 4-9 C は例示的なスライス格子カプラを示しており、図 4-9 C は図 4-9 B に示される領域 4-906 の拡大図であり、スライス格子カプラ 4-903 と出力導波路 4-905 とを含む。このような構成は、異なる励起波長の入力パワーの複数の導波路への結合および分割の両方を提供する。図 4-9 B に示される例において、128 の出力導波路 4-905 がある。複数の励起波長を有する実施形態において、格子領域 4-906 は、複数の励起波長を出力導波路に提供するように設計された格子ピッチを有する。導波路には、格子領域の 1 つのスライスによって電力供給されてもよく、スライスの幅は、格子カプラ上の入力励起エネルギービームの強度のばらつきを補償するために変化してもよい。

C. 検体ウェル

いくつかの実施形態によれば、検体ウェル 5-210 は、集積装置の 1 つまたは複数のピクセルに形成されてもよい。検体ウェルは小さい体積または領域を含んでいてもよく、これらは基板 5-105 の基板に形成され、検体 5-101 が基板の表面上に置かれた試料から検体ウェル内に、またはそれから拡散するように配置されており、それが集積装置の 1 つのピクセル 5-100 を示す図 5-1 および図 5-2 に描かれている。各種の実施形態において、検体ウェル 5-210 は導波路 5-240 からの励起エネルギーを受けるようには配置されていてもよい。検体ウェル内に拡散した検体 5-101 は、接着剤 5-

10

20

30

40

50

211により、検体ウェルの励起領域5-215内に一時的または永久的に保持されてもよい。励起領域において、検体は励起エネルギー（例えば、励起放射5-247）によって励起され、その後、放射を放出し、それが観察されて、評価され、検体が特徴付けられてもよい。

【0128】

動作をさらに詳しく説明すると、解析対象の少なくとも1つの検体5-101は、例えば検体の懸濁流体を含む試料（図示せず）から、検体ウェル5-210内に導入されてもよい。導波路5-240からの励起エネルギーは、検体または検体に取り付けられたか、または検体に関連付けられるタグ内に含まれた少なくとも1つのマーカを、それが検体ウェル内の励起領域5-215内にあるときに励起してもよい。いくつかの実施形態によれば、マーカは発光分子（例えば、蛍光体）または量子ドットであってもよい。いくつかの実施形態において、検体を解析するために使用される複数のマーカがあってもよい（例えば、参照により全体が本願に援用される、J. エイドラ（J. Eid et al.）著、「単一ポリメラーゼ分子からのリアルタイムDNA配列解析（Real-Time DNA Sequencing from Single Polymerase Molecules）」、サイエンス（Science）、323、p. 133（2009年）に記載されているような、単一分子遺伝子配列解析に使用される異なるマーカおよびタグ）。励起中および／または励起後に検体またはマーカは放出エネルギーを放出してもよい。複数のマーカが使用される場合、これらは異なる特徴的エネルギーで放出してもよく、および／または異なる寿命を含む異なる時間的特徴で放出してもよい。検体ウェルからの放出エネルギーは、センサ5-260に放射され、またはそれ以外の方法でそこまで移動し、そこで放出エネルギーが検出され、電気信号に変換され、これは、検体を特徴付けるために使用できる。

【0129】

いくつかの実施形態によれば、検体ウェル5-210は、図5-2に示されるように、部分的に取り囲まれた構造であってもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル5-210は、少なくとも1つの材料の層5-230に形成されたサブミクロンサイズの穴または開口部（少なくとも1つの横寸法 D_{sw} により特徴付けられる）を含む。場合により、穴は「ナノアパーチャ」と呼ばれてもよい。検体ウェルの横寸法は、いくつかの実施形態によれば、約20ナノメートル～約1マイクロメートルであってもよいが、いくつかの実施形態において、それより大きいおよび小さい大きさが使用されてもよい。検体ウェル5-210の体積は、いくつかの実施例において、約 10^{-21} リットル～約 10^{-15} リットルであってもよい。検体ウェルは、導波路として形成されてもよく、これは、伝播モードをサポートしてもしていなくてもよい。検体ウェルは、導波路として形成されてもよく、これは伝播モードをサポートしてもいなくてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルは、直径（または最大横寸法） D_{sw} の円筒形（または同様の形状）を有するゼロモード導波路（ZMW: zero-mode waveguide）として設計されてもよい。ZMWは、1つの金属層内にナノスケール穴として形成されてもよく、これは穴を通る伝播光学モードをサポートしない。

【0130】

検体ウェル5-210の容積は小さいため、検体が調査対象の試料中で、自然環境中に見られるものと同様の濃度に濃縮された場合でも、各ピクセルにおける単一検体イベント（例えば、単一分子イベント）の検出が可能となり得る。例えば、集積装置と接触させられる試料内にはマイクロモル濃度の検体が存在していてもよいが、ピクセルレベルでは、何れの時点においても検体ウェル内には約1つのみの検体（すなわち単一分子イベント）があってもよい。統計的に、いくつかの検体ウェル内には検体がなくてもよく、またいくつかには複数の検体が収容されていてもよい。しかしながら、適当な数の検体ウェルが単一の検体を収容していてもよく（例えば、いくつかの実施形態において、少なくとも30%）、それによって単一分子解析を多数のピクセルで並列に実行できる。単一分子または単一検体イベントがピクセルで解析されてもよいため、集積装置により、アンサンブル平均

では認識されないままであり得る稀なイベントを検出することが可能となる。

【0131】

検体ウェルの横断方向の寸法 D_{sw} は、いくつかの実施形態において、約 500 ナノメートル (nm) ~ 約 1 マイクロメートル、いくつかの実施形態において約 250 nm ~ 約 500 nm、いくつかの実施形態において約 100 nm ~ 約 250 nm、さらに、いくつかの実施形態において約 20 nm ~ 約 100 nm であってもよい。いくつかの実装形態によれば、検体ウェルの横断方向の寸法は、約 80 nm ~ 約 180 nm、または励起波長もしくは放出波長の約 4 分の 1 ~ 8 分の 1 である。他の実装形態によれば、検体ウェルの横断方向の寸法は、約 120 nm ~ 約 170 nm である。いくつかの実施形態において、検体ウェル 5-210 の深さおよび高さは、約 50 nm ~ 約 500 nm であってもよい。いくつかの実装形態において、検体ウェル 5-210 の深さまたは高さは、約 80 nm ~ 約 250 nm であってもよい。

10

【0132】

サブ波長の横寸法を有する検体ウェル 5-210 は、集積装置のピクセル 5-100 の動作を少なくとも 2 つの方法で改善できる。例えば、検体ウェルに試料と反対の面から入射する励起エネルギーは、励起領域 5-215 に結合される間にそのパワーが指数関数的に低減し、検体ウェルを通過して試料に伝播しない。その結果、励起エネルギーは、関心対象の検体を励起させる励起領域において増大され、背景ノイズに寄与するその他の検体を励起する試料内では縮小される。また、ウェルの基部（例えば、センサ 5-260 により近い）に保持された検体からの放出は、好ましくはセンサに向かって誘導され、これは、検体ウェルを通過して上方に伝播する放出を大きく抑えられるからである。これらの効果は何れもピクセルにおける信号対ノイズ比を改善できる。本発明者らは、ピクセルにおける信号対ノイズレベルをさらに高めるために改善可能な検体ウェルのいくつかの態様を認識した。これらの態様は、検体ウェルの形状および構造に関係し、また、励起エネルギーを検体ウェルおよび検体ウェルから放出された放射に結合することを補助する、隣接する光学的およびプラズモン構造（後述）に関係する。

20

【0133】

いくつかの実施形態によれば、検体ウェル 5-210 は、関心対象の特定の波長に関する伝播モードをサポートしないように構成されたナノアパーチャとして形成されてもよい。いくつかの例において、ナノアパーチャは全てのモードが閾値波長より低い場合に構成され、アパーチャはサブカットオフナノアパーチャ (SCN: sub-cut off nano aperture) であってもよい。たとえば、検体ウェル 5-210 は導電層に円筒形の穴またはボアを含んでもよい。検体ウェルの断面は丸である必要はなく、いくつかの実施形態において、楕円、正方形、長方形、または多角形であってもよい。励起エネルギー 5-247（例えば、可視または近赤外放射）は、図 5-2 に示されるように、ウェルの第一の端において検体ウェルの壁 5-214 により画定され得る入口アパーチャ 5-212 を通じて検体ウェル内に入ってもよい。SCN として形成された場合、励起エネルギーはナノアパーチャの長さに沿って（例えば、試料の方向に）指数関数的に減衰する。いくつかの実施例において、導波路は、検体から放出された放射のための SCN を含んでもよいが、励起エネルギーのための SCN でなくてもよい。例えば、検体ウェルにより形成されるアパーチャと導波路は、励起エネルギーのための伝播モードをサポートするのに十分に大きくてもよく、これは、その波長が放出された放射より短いことができるからである。放射は、より長い波長において、導波路の伝播モードに関するカットオフ波長より長くてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル 5-210 は、励起エネルギーのための SCN を含んでもよく、それによって励起エネルギーの最大の強度は、検体ウェル 5-210 への入口において、検体ウェルの励起領域 5-215 に局所化される（例えば、図示されているように、層 5-235 と層 5-230 との間の界面の近くに局所化される）。励起エネルギーのこのような局所化は、検体からの放出エネルギーの局所化を改善し、単一の検体（例えば、単一分子）からの観察される放出が限定される。

30

40

50

【0134】

いくつかの実施形態によれば、ピクセル5-100はその他の構造を含んでもよい。例えば、ピクセル5-100は、1つまたは複数の励起結合構造5-220を含んでもよく、これは励起エネルギーの検体ウェル内の検体への結合に影響を与える。ピクセルはまた、放出誘導構造5-250を含んでもよく、これは検体ウェル内の検体からの放出エネルギーのセンサ5-260への誘導に影響を与える。

【0135】

SCNを含む検体ウェルの入口付近に局所化される励起の例が図5-3に示されている。数値シミュレーションを行って、SCNとして形成された検体ウェル5-210内およびその付近の励起放射の強度を判定した。その結果は、励起放射の強度が検体ウェルの入口開口部において入射エネルギーの約70%であり、検体ウェルの約100nm以内で入射強度の約20%まで低下することを示している。このシミュレーションに関して、励起エネルギーの特徴的波長は633nmであり、検体ウェル5-210の直径は140nmであった。検体ウェル5-210は、金の金属層内に形成された。グラフの各水平区間は50nmである。グラフにより示されるように、検体ウェルで受け取られた励起エネルギーの半分超が検体ウェルの入口開口部5-212から約50nm以内に局所化される。

【0136】

検体ウェルに局所化される励起エネルギーの強度を改善するために、本発明者らは他の検体ウェル構造を開発し、研究した。図5-4は、検体ウェルの励起端において空洞または窪み5-216を含む検体ウェルの実施形態を示している。図5-3のシミュレーション結果からわかるように、検体ウェルの入口開口部5-212の直前に、より高い励起強度の領域が存在する。いくつかの実施形態によれば、検体ウェルに窪み5-216を追加することによって、検体はより励起強度の高い領域へと移動できる。いくつかの実装形態において、窪みの形状および構造は、局所的な励起電場を変化させ（例えば、層5-235と検体ウェル内の流体との間の屈折率の違いによる）、さらに窪み内の励起エネルギーの強度を増大させることができる。窪み5-216は、層5-235内において、検体体積のうちの検体ウェル5-214と窪み5-216とを占有する部分が、層5-216を形成する材料により取り囲まれるように形成されてもよい。

【0137】

窪みは、何れの適当な形状であってもよい。窪みは、検体ウェルの横断方向の形状と実質的に等しい横断方向の形状を有していてもよく、例えば円形、楕円形、正方形、長方形、多角形等である。いくつかの実施形態において、窪みの側壁は、検体ウェルの壁と同様に実質的に直線に縦方向であってもよい。いくつかの実装形態において、窪みの側壁は、図に示されているように傾斜および／または湾曲していてもよい。窪みの横断方向の寸法は、いくつかの実施形態において、検体ウェルの横断方向の寸法と略同じ大きさであってもよく、いくつかの実施形態において、検体ウェルの横断方向の寸法より小さくてもよく、あるいはいくつかの実施形態において、検体ウェルの横断方向の寸法より大きくてもよい。窪み5-216は、検体ウェル層5-230の約10nm～約200nmだけ先まで延びていてもよい。いくつかの実装形態において、窪みは、検体ウェル層5-230の約50nm～約150nmだけ先まで延びていてもよい。いくつかの実施形態において、窪みは、検体ウェル層5-230の約150nm～約250nmだけ先まで延びていてもよい。窪みを形成することにより、励起領域5-215は、図5-4に示されるように検体ウェルの外まで延びることができる。

【0138】

図5-5は、窪みを有する検体ウェルの励起領域における励起エネルギーの改善を示している（左のシミュレーション画像に示される）。比較のために、窪みを有さない検体ウェルについての励起電場のシミュレーションも行い、それが右側に示されている。電場の大きさは、これらのグラフ内でカラーレンダリングから変換され、窪みの底部における暗い領域は検体ウェル内の明るい領域より高い強度を表している。検体ウェルの上方の暗い領域は、最も低い強度を表す。これからわかるように、窪みによって、検体5-101は

より高い励起強度の領域に移動でき、窪みはまた、検体ウェルの励起端における最も高い強度の領域の局所化を増大させる。高い強度の領域は、窪みを有さない検体ウェルでより分散されている点に留意されたい。いくつかの実施形態において、窪み5-216は、励起領域の励起エネルギーを2倍以上に増大させる。いくつかの実施例において、2倍以上の増大は、窪みの形状および深さに応じて得ることができる。これらのシミュレーションにおいて、検体ウェルを含む層はアルミニウムを含み、その厚さは約100nmであり、窪みの深さは約50nmであり、励起エネルギーの波長は635nmである。

【0139】

図5-6Aは、検体ウェルが基板表面の突起5-615の上方に形成されている検体ウェル5-210の他の実施形態を示す。その結果として得られる検体ウェルの構造は、検体における励起エネルギーを、図5-1に示される検体ウェルと比較して2倍以上増大させることができ、検体ウェルからの放出をセンサ5-260に濃縮させることができる。いくつかの実施形態によれば、突起5-615は、第一の材料層5-610にパターンニングされる。いくつかの実施形態において、突起は導波路を含む。突起は、いくつかの実施例において、断面が長方形の畝として形成されてもよく、第二の材料層5-620は、突起の第一の層の上に堆積されてもよい。突起部分では、図のように、第二の層は突起の上方において円筒形部分5-625に近似する形状を形成してもよい。いくつかの実施形態において、導電層5-230（例えば、反射性金属）が第二の層5-620の上に堆積され、突起の上方の導電層内に検体ウェル5-210を形成するようにパターンニングされてもよい。その後、窪み5-216が第二の層内にエッチングされてもよい。窪み5-216は、導電層5-230の約50nm～約150nmだけ下まで延びていてもよい。いくつかの実施形態によれば、第一の層5-610と第二の層5-620とは、任意選択により、透明であってもよく、同じ材料で形成されてもされなくてもよい。いくつかの実施例において、第一の層5-610は、酸化物（例えば、 SiO_2 ）または窒化物（例えば、 Si_3N_4 ）から形成されてもよく、第二の層5-620は、酸化物または窒化物から形成されてもよい。

【0140】

いくつかの実施形態によれば、突起5-615の上方の導電層5-230は、円筒形リフレクタ5-630と近似する形状である。円筒部分の形状は、突起の高さh、突起の幅または横寸法w、および第二の層5-620の厚さtの選択によって制御されてもよい。励起領域の場所および検体の位置は、窪みの深さdの選択によって、円筒形リフレクタの光学焦点に関して調整することができる。円筒形リフレクタ5-630は、励起エネルギーを励起領域5-215に集中させることができ、また、検体から放出された放射を回収し、反射して、放射をセンサ5-260に集中させ得ることがわかるであろう。

【0141】

いくつかの実施形態は、窪みが導波路に近接して位置付けられた検体ウェルを有する集積装置に関する。図5-6Bは、層5-630および層5-636に形成された検体ウェル5-632を有する集積装置を示す。層5-630は金属層であってもよく、1つまたは複数の金属（例えば、Al）を含んでいてもよい。層5-636は誘電層として機能してもよく、1つまたは複数の誘電材料（例えば、二酸化シリコン）を含んでいてもよい。検体ウェル5-632は、層5-630および／または層5-636に平行な方向に可変的な寸法を有していてもよい。検体ウェル5-632は、少なくとも集積装置の層5-630内でz方向に沿って寸法D2を有していてもよく、いくつかの実施形態において、寸法D2は検体ウェル5-632の直径と考えることもよい。検体ウェル5-632の直径D2は約700nm、約800nm、約900nm、約1マイクロメートル、または約1.1マイクロメートルであってもよい。検体ウェル5-632は、集積装置の層5-636内でz方向の寸法D1を有していてもよく、いくつかの実施形態において、検体ウェル5-632の表面における直径と考えることもよい。寸法D1は、約100nm、約150nm、約200nm、または約250nmであってもよい。寸法D1を有する検体ウェル5-632の表面は、導波路5-634からx方向に沿って寸法d1に位置付けられている。検

体ウェル5-632を導波路5-634の付近に距離d1で位置付けることにより、導波路5-634から検体ウェル5-632への励起エネルギーの結合を改善できる。寸法D1は、約50nm、約100nm、約150nm、約200nm、または約250nmであつてもよい。

【0142】

前述のように、検体ウェルは何れの適当な形状で形成されてもよく、円筒形のみに限定されない。いくつかの実施形態において、検体ウェルは円錐形、4面体、多面体等であってもよい。図5-7A~図5-7Fは、いくつかの実施形態において使用できるいくつかの例示的な検体ウェルの形状および構造を示している。検体ウェル5-210は、いくつかの実施形態によれば、励起エネルギーのための出口開口部5-218より大きい入口開口部5-212を有するように形成されてもよい。検体ウェルの側壁は、テーパ状であるか、湾曲していてもよい。このように検体ウェルを形成することによって、より多くの励起エネルギーを励起領域に届け、また、試料に向かって移動する励起エネルギーをかなり減衰させることができる。それに加えて、検体により放射される放出物は、より大きい開口部を有する検体ウェルの端に向かって優先的に放射してもよく、それは、その方向に有利なエネルギー移動による。

【0143】

いくつかの実施形態において、窪み5-216は、図5-7Bに示されるように、検体ウェルの基部より小さい横断方向の寸法を有していてもよい。より小さい窪みは、検体ウェルの側壁を犠牲層で被覆してから、窪みをエッチングし、その後、犠牲層を除去することによって形成されてもよい。より小さい窪みは、検体ウェルの導電壁から、より等距離の領域に検体を保持するように形成されてもよい。検体を検体ウェルの壁から等距離に保持することによって、検体ウェルの壁が放射中の検体に与える望ましくない影響、例えば放射物の急冷および／または放射寿命の変更を減らすことができる。

【0144】

図5-7Cおよび図5-7Dは、検体ウェルの他の実施形態を示す。この実施形態によれば、検体ウェル5-210は、励起エネルギー増大構造5-711と、励起エネルギー増大構造に隣接して形成された接着剤5-211とを含んでいてもよい。エネルギー増大構造5-711は、いくつかの実施形態によれば、光学的に透明な層5-235上の導電材料内に形成された表面プラズモンまたはナノアンテナ構造を含んでいてもよい。図5-7Cは、検体ウェル5-210および付近の構造の立面図であり、図5-7Dは平面図である。励起エネルギー増大構造5-711は、小さい局所化された領域内の励起エネルギーを増大させるような形状および構成であってもよい。例えば、構造は、検体ウェルにおいて鋭角を有する先端の尖った導電体を含んでいてもよく、これが励起領域5-215内の励起エネルギーの強度を増大させる。図の例において、励起エネルギー増大構造5-711は、蝶ネクタイの形態である。領域内に拡散する検体5-101は、接着剤5-211によって一時的または永久的に保持され、検体ウェル5-210に隣接して配置された導波路5-240から送達されてもよい励起エネルギーにより励起されてもよい。いくつかの実施形態によれば、励起エネルギーは、エネルギー増大構造5-711内の表面プラズモン波を駆動してもよい。その結果として得られた表面プラズモン電流は、構造5-711の尖った先端において高い電場を生成してもよく、これらの高い電場は、励起領域5-215内に保持された検体を励起してもよい。いくつかの実施形態において、図5-7Cに示されている検体ウェル5-210は、窪み5-216を含んでいてもよい。

【0145】

検体ウェルの他の実施形態が図5-7Eに示されており、検体ウェル5-210の内壁に沿って形成された励起エネルギー増大構造5-720を示している。励起エネルギー増大構造5-720は、金属または導電体を含んでいてもよく、検体ウェルが形成される基板が堆積中に回転される、傾斜させた（またはシャドウイングを用いた）指向性堆積を使用して形成されてもよい。堆積中、検体ウェル5-210の基部は、ウェルの上壁によって陰になり、堆積される材料が基部に蓄積されない。その結果として得られた構造5-72

0 は、構造の底部の付近で鋭角 5-7 2 2 を形成してもよく、導電体のこの鋭角は、検体ウェル内の励起エネルギーを増大させることができる。

【0146】

図 5-7 E に示されている実施形態において、検体ウェルが形成される材料 5 3-2 3 2 は、導電体である必要はなく、何れの適当な誘電体であってもよい。いくつかの実装形態によれば、検体ウェル 5-2 1 0 と励起エネルギー増大構造 5-7 2 0 とは、誘電体層 5-2 3 5 にエッチングされた止まり穴に形成されてもよく、別の層 5-2 3 2 を堆積させる必要はない。

【0147】

いくつかの実装形態において、その後、図 5-7 E に示される構造にシャドウ蒸着を実行して、金属または導電性のエネルギー増大構造、例えば、破線で示されるような検体ウェルの基部の台形構造または先端の尖った円錐を堆積させてもよい。エネルギー増大構造は、表面プラズモンを通じて検体ウェル内の励起エネルギーを増大させてもよい。シャドウ蒸着後、配向プロセス（例えば、化学機械的研磨ステップまたはプラズマエッチングプロセス）を実行して、ウェル内にエネルギー増大構造を残しながら、検体ウェルの上部に堆積された材料を除去するか、エッチバックしてもよい。

【0148】

いくつかの実施形態において、検体ウェル 5-2 1 0 は、複数の金属層から形成されてもよい。図 5-7 F は、多層構造内に形成された検体ウェルを示し、異なる材料が異なる層に使用されてもよい。いくつかの実施形態によれば、検体ウェル 5-2 1 0 は、第一の層 5-2 3 2（半導体または導電性材料であってもよい）、第二の層 5-2 3 4（絶縁体または誘電体であってもよい）、および第三の層 5-2 3 0（導電体または半導体であってもよい）に形成されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルの層には、縮退ドープ半導体またはグラフェンが使用されてもよい。いくつかの実装形態において、検体ウェルは 2 つの層に形成されてもよく、他の実装形態において、検体ウェルは 4 つ以上の層に形成されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルを形成するために使用される多層材料は、検体ウェルに入射する励起放射により生成され得る界面励起子を増加させ、または抑制するように選択されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルを形成するために使用される多層材料は、検体ウェルの底部での表面プラズモンの生成を増大させ、またはウェルの上部での表面プラズモン放射を抑制するように選択されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルを形成するために使用される多層材料は、励起放射が検体ウェルおよび多層構造を超えてバルク試料中へと伝播するのを抑制するように選択されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルを形成するために使用される多層材料は、検体ウェルに入射する励起放射により生成され得る界面励起子を増加させ、または抑制するように選択されてもよい。

【0149】

様々な材料が、上述の実施形態で説明された検体ウェルを形成するために使用されてもよい。いくつかの実施形態によれば、検体ウェル 5-2 1 0 は少なくとも 1 つの材料層 5-2 3 0 から形成されてもよく、これは導電材料、半導体、および絶縁体の何れの 1 つまたは組合せを含んでもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル 5-2 1 0 は、高導電性金属層、例えば金、銀、アルミニウム、銅を含む。いくつかの実施形態において、層 5-2 3 0 は多層積層体を含んでもよく、これは金、銀、アルミニウム、銅、チタン、窒化チタン、パラジウム、プラチナ、およびクロムの何れか 1 つまたは組合せを含む。いくつかの実施形態において、それに加えてまたはその代わりに、の金属が使用されてもよい。いくつかの実施形態によれば、検体ウェルは AlCu または AlSi 等の合金を含んでもよい。

【0150】

いくつかの実施形態において、異なる金属または合金の複数の層が検体ウェルの形成に使用されてもよい。いくつかの実施例において、検体ウェル 5-2 1 0 が形成される材料、金属と非金属との交互の層、例えば金属と 1 つまたは複数の酸化物との交互の層を含ん

10

20

30

40

50

でいてもよい。いくつかの実施形態において、非金属はポリマー、例えばポリビニルホスホン酸またはポリエチレングリコール（PEG）ーチオールを含んでもよい。

【0151】

検体ウェルが形成される層5-230は、いくつかの実施形態によれば、少なくとも1つの光学的に透明な層5-235の上またはそれに近接して堆積されてもよく、それによって励起エネルギー（可視または近赤外放射等の光放射の形態）および放射エネルギー（可視または近赤外放射等の光放射の形態）が検体ウェル5-210におよびそれから大きく減衰せずに移動してもよい。例えば、導波路5-240からの励起エネルギーは、少なくとも1つの光学的に透明な層5-235内を励起領域5-215へと通過してもよく、検体からの放出は、同じ層内をセンサ5-260へと通過してもよい。この励起エネルギーは、導波路により案内される励起光のエバネッセントテールからのものであってもよい。

10

【0152】

いくつかの実施形態において、検体ウェル5-210の少なくとも1つの表面は、図5-8に示されるように、検体ウェル内の検体の動作に影響を与える材料の1つまたは複数の層5-211、5-280で被覆されてもよい。例えば、薄い誘導体層5-280（例えば、アルミナ、窒化チタン、またはシリカ）を検体ウェルの側壁上の保護コーティングとして堆積させてもよい。このようなコーティングは、励起領域5-215の外側の検体の検体接着を減少させ、または検体と、検体ウェル5-210が形成される材料5-230との間の相互作用を軽減させるために実装されてもよい。検体ウェル内の保護コーティングの厚さは、いくつかの実施形態によれば、約5nm〜約50nmであってもよい。

20

【0153】

いくつかの実装形態において、コーティング層5-280のための材料は、その材料に対する化学物質の親和性に基づいて選択されてもよく、層5-280は、検体の種が層に付着することをさらに阻止するために化学的または生物学的物質で処理されてもよい。いくつかの実施形態によれば、例えば、コーティング層5-280は、ポリリン酸保護層で保護され得るアルミナを含んでもよい。いくつかの実施形態において、追加のまたは代替的なコーティングおよび保護材が使用されてもよい。

【0154】

いくつかの実施形態によれば、検体ウェル5-210および／または窪み5-216の少なくとも底面は、検体の保持を促進するために、化学的または生物学的接着剤5-211（例えば、ビオチン）で処理されてもよい。検体は、永久的にまたは一時的に、例えば少なくとも約0.5ミリ秒〜約50ミリ秒の期間にわたり保持されてもよい。他の実施形態において、接着剤は、検体5-101をより長い期間にわたり一時的に保持するのを促進することができる。各種の実施形態において、何れの適当な接着剤も使用されてよく、ビオチンに限定されない。

30

【0155】

いくつかの実施形態によれば、検体ウェルに隣接する材料の層5-235は、その層の材料に対する接着剤の親和性に基づいて選択されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルの側壁の保護は、側壁上の接着剤のコーティングを阻止してもよく、それによって、接着剤5-211は優先的に検体ウェルの基部に堆積する。いくつかの実施形態において、接着剤コーティングは、検体ウェルの側壁の一部まで延びていてもよい。いくつかの実装形態において、接着剤は、異方性物理的堆積プロセス（例えば、蒸着、スパッタリング）により堆積されてもよく、それによって接着剤は検体ウェルまたは窪みの基部に蓄積され、検体ウェルの側壁上にほとんど形成されない。

40

【0156】

集積装置のための検体ウェル5-210を製造するために、各種の製造方法が利用されてよい。以下にプロセスの数例を説明するが、本発明はこれらの例のみに限定されない。

検体ウェル5-210は、何れの適当なマイクロまたはナノ製造工程により形成されてもよく、これには、フォトリソグラフィ、深紫外線フォトリソグラフィ、浸漬フォトリソ

50

グラフィ、近接場光接触フォトリソグラフィ、EUVリソグラフィ、X線リソグラフィ、ナノインプリントリソグラフィ、干渉リソグラフィ、ステップアンドフラッシュリソグラフィ、直接書込み電子ビームリソグラフィ、イオンビームリソグラフィ、イオンビームミリング、リフトオフ加工、反応イオンエッチング等が含まれていてもよいが、これらに限定されない。いくつかの実施形態によれば、検体ウェル5-210は、フォトリソグラフィおよびリフトオフ加工を使用して形成されてもよい。検体ウェルのリフトオフ加工に関連する例示的な製造ステップが図5-9A~Fに示されている。ピクセルにおいて単一の検体ウェルまたは構造を製造することが典型的に図面に示されているが、基板上に（例えば各ピクセルに）多数の検体ウェルまたは構造が同時製造されてもよいことがわかるであろう。

10

【0157】

いくつかの実施形態によれば、基板上的層5-235（例えば、酸化物層）は、図5-9Aに示されるように、反射防止コーティング（ARC: anti-reflection coating）層5-910とフォトレジスト5-920とで被覆されてもよい。フォトレジストは、フォトリソグラフィおよびレジストの現像を用いて露光され、パターンニングされてもよい。レジストは現像されて、露光部分または非露光部分（レジストの種類による）が除去され、図5-9Bに示されるように、直径が検体ウェルの所望の直径 D_{sw} と略等しいピラー5-922が残されてもよい。ピラーの高さは検体ウェルの所望の深さと実質的に異なってもよい。例えば、ピラーの高さは検体ウェルの所望の深さより実質的に大きくてもよい。

20

【0158】

ピラー5-922のパターンは、例えば、図5-9Cに示されるように、異方性反応イオンエッチング（RIE: reactive ion etching）を使用してARC層5-910に転写されてもよい。この領域は、その後、検体ウェルを形成するのに望ましい少なくとも1つの材料5-230、例えば導電体または金属で被覆されてもよい。堆積された材料の一部は、図5-9Dに示されるように、ピラー5-922の上のキャップ5-232を形成する。フォトレジスト5-920とARC層5-910とは、その後、選択的除去プロセス（例えば、少なくともレジストを溶解させ、キャップを解放または「リフトオフ」する、攪拌のあるまたはないケミカルバスを使用して）剥離されてもよい。ARC層5-910が残っている場合、選択的エッチングを使用して基板から剥離してもよく、それによって図5-9Eに示されるように、検体ウェル5-210が残る。いくつかの実施形態によれば、検体ウェルの側壁5-214は、少なくとも1つの材料2-230の堆積の性質により、傾斜していてもよい。

30

【0159】

本明細書において使用されるかぎり、「選択的エッチング」とは、エッチング液が除去対象でないその他の材料をエッチングする速度より速く（例えば、少なくとも2倍の速度で）除去またはエッチングすることが望まれる1つの材料を、エッチング液が選択的にエッチングするエッチングプロセスを意味する。

【0160】

フォトレジスト5-920とARC層5-910は典型的にポリマー系であるため、これらは軟質材料と考えられ、これは高いアスペクト比（例えば、高さ対幅に関して、約2:1より大きいアスペクト比）を有する検体ウェルを形成するのに適していないことがあり得る。より高いアスペクト比の検体ウェルの場合、硬質材料がリフトオフプロセスに含められてもよい。例えば、ARC層とフォトレジストを堆積させる前に、硬質（例えば、無機材料）の層が堆積されてもよい。いくつかの実施形態において、チタンまたは窒化ケイ素の層が堆積されてもよい。硬質材料の層は、検体ウェルが形成される材料5-230より優先的にエッチングされるはずである。フォトレジストがパターンニングされた後、ピラーのパターンがARC層およびその下の硬質材料5-930に転写されてもよく、図5-9Fに示される構造が得られる。その後、フォトレジストとARC層が剥離され、材料5-230が堆積され、リフトオフステップが実行されて、検体ウェルが形成されてもよ

40

50

い。

【0161】

いくつかの実施形態によれば、リフトオフプロセスは、図5-7Cと図5-7Dに示されるように、エネルギー増大構造5-711を含む検体ウェルを形成するために使用されてもよい。

【0162】

検体ウェルを形成するための代替的なプロセスが、図5-10A~Dに示されている。このプロセスにおいて、検体ウェルは、少なくとも1つの材料5-230中に直接エッチングされてもよい。例えば、検体ウェルがその中に形成される予定の少なくとも1つの材料5-230が、基板の上に堆積されてもよい。層は、図5-10Aに示されるように、ARC層5-910とフォトレジスト5-920とにより被覆されてもよい。フォトレジストは、図5-10Bに示されるように、パターニングされて、検体ウェルの所望の直径と略等しい直径を有する穴が形成されてもよい。穴のパターンは、例えば、図5-10Cに示されるように異方性反応イオンエッチングを使用して、ARCに、および層5-230を通して転写されてもよい。フォトレジストとARC層が剥離され、図5-10Dに示される検体ウェルが得られる。いくつかの実施形態によれば、材料の層5-230内にエッチングにより形成された検体ウェルの側壁は、リフトオフプロセスから得られた側壁より垂直であり得る。

【0163】

いくつかの実施形態において、フォトレジストおよびARC層は、材料5-230上の硬質マスク（例えば、窒化ケイ素または酸化物層であり、図示せず）をパターニングするために使用されてもよい。パターニングされた穴は、その後、硬質マスクに転写されてもよく、これは、その後、パターンを材料の層5-230に転写するために使用される。硬質マスクにより、材料の層5-230内により深くエッチングし、より高いアスペクト比の検体ウェルを形成することができる。

【0164】

上述のリフトオフプロセスおよび直接エッチングによる製造方法は、検体ウェルが形成される材料5-230の積層体を形成するのに異なる材料の複数の層が使用されている場合、検体ウェルを形成するために使用されてもよいことがわかるであろう。ある例示的な積層体が図5-11に示されている。いくつかの実施形態によれば、材料の積層体は、検体ウェルの励起領域への励起エネルギーの結合を改善するために、または励起エネルギーがバルク試料内に透過し、または再放射されるのを減少させるために、検体ウェルの形成に使用されてもよい。例えば、吸収層5-942は、第一の層5-940の上に堆積されてもよい。第一の層は、金属または金属合金を含んでいてもよく、吸収層は、表面プラズモンを阻止する材料、例えばアモルファスシリコン、Ta₂N₅、TiN、またはCrを含んでいてもよい。いくつかの実装形態において、表面層5-944はまた、検体ウェル周辺の表面を保護するために堆積されてもよい（例えば、分子の接着を阻止する）。

【0165】

窪み5-216を含む検体ウェルの形成は、何れの適当な方法で実行されてもよい。いくつかの実施形態において、窪みは、隣接する層5-235、および／または検体ウェルに隣接する何れかの1つまたは複数の介在層内へとさらにエッチングすることによって形成されてもよい。例えば、材料の層5-230内に検体ウェルを形成した後、その層5-230は、図5-12に示されているように、窪みをパターニングするためのエッチマスクとして使用されてもよい。例えば、基板に対して選択的な異方性反応イオンエッチングを行ってもよく、それによって窪み5-216が隣接する層5-235にエッチングされてもよい。例えば、材料5-230が金属であり、隣接する層5-235が酸化シリコンである実施形態において、フィードガスがCHF₃またはCF₄を含む反応イオンプラズマエッチングが、検体ウェルの下に露出された酸化シリコンを優先的に除去し、窪み5-216を形成するために使用されてもよい。本明細書において使用されるかぎり、「酸化シリコン」は一般にSiO_xを指し、例えば二酸化シリコンを含んでいてもよい。

【0166】

いくつかの実施形態において、エッチング中にプラズマ内の状態（例えば、基板に対するバイアスと圧力）は、窪みのエッチング形状を決定するために制御されてもよい。例えば、低圧（例えば、約13332.2 Pa（約100 mTorr）未満）および高いDCバイアス（例えば、約20 Vを超える）では、エッチングは、図に示されているように、異方性が高く、窪みの、実質的に直線に縦方向の側壁を形成してもよい。より高い圧力およびより低いバイアスでは、エッチングはより等方性が強く、窪みのテーパ状および／または湾曲した側壁を生成してもよい。いくつかの実装形態において、ウェットエッチングが窪みの形成に使用されてもよく、これは実質的に等方性で、略球形の窪みを形成し、これは材料5-230の下で横方向に、検体ウェルの側壁の上またはそれを超えるまで延びていてもよい。

10

【0167】

図5-13A～図5-13Cは、検体ウェル5-210（例えば、図5-7Bに示されているような窪み）より横断方向の寸法が小さい窪み5-216を形成するために使用できるプロセスステップを示している。いくつかの実装形態において、検体ウェルを形成した後、検体ウェルを含む領域の上に等角の犠牲層5-960を堆積させてもよい。いくつかの実施形態によれば、堆積層5-960は蒸着プロセス、例えば化学蒸着（CVD: chemical vapor deposition）、プラズマエンハンスドCVD、または原子層堆積（ALD: atomic layer deposition）を使用して堆積されてもよい。その後、犠牲層を、犠牲層5-960に対して選択的な第一の異方性エッチングを使用してエッチバックしてもよく、水平面から層を除去し、図5-13Bに示されているように、検体ウェルの壁の上に側壁コーティング5-962が残るようにする。エッチバックは、いくつかの実施形態において、選択的であり、材料5-230および隣接する層5-235の上で停止してもよく、またはいくつかの実施形態において、非選択的で時間制御されたエッチングであってもよい。

20

【0168】

隣接する層5-235に選択的な第二の異方性エッチングを実行して、図5-13Cに示されるように、窪み5-216を隣接する層にエッチングしてもよい。その後、任意選択により、側壁の犠牲コーティング5-962を選択的なウェットまたはドライエッチングにより除去してもよい。側壁コーティングの除去により、検体ウェルが開き、窪み5-216より大きい横断方向の寸法を有することになる。

30

【0169】

いくつかの実施形態によれば、犠牲層5-960は、隣接する層5-235と同じ材料を含んでいてもよい。このような実施形態において、第二のエッチングにより、側壁が隣接する層5-235の内部までエッチングされる際に、側壁コーティング5-962の少なくとも一部が除去されてもよい。いくつかの実施形態において、側壁コーティングのこのようなエッチバックにより、窪みのテーパ状の側壁を形成できる。

【0170】

いくつかの実装形態において、犠牲層5-960は、検体ウェルの側壁を保護するため（例えば、検体ウェルの側壁への検体の付着を減少させる）ために使用される材料から形成され、またはその層を含んでいてもよい。層5-960の少なくとも一部が、窪みの形成後、検体ウェルの壁に残ってもよい。

40

【0171】

いくつかの実施形態によれば、側壁コーティング5-962の形成は窪みの形成後に行われる。このような実施形態において、層5-960が窪みの側壁をコーティングする。このようなプロセスは窪みの側壁を保護し、検体を窪みの中央領域内に局所化するために使用されてもよい。

【0172】

検体ウェル5-210の底部への接着剤5-211、および保護層5-280の堆積に関するプロセスステップが図5-14に示されている。いくつかの実施形態によれば、

50

検体ウェルは検体ウェルの壁上に第一の保護層 5-280 を含んでいてもよい。第一の保護層は、例えば、図 5-13B または図 5-8 に関して上述したように形成されてもよい。いくつかの実施形態において、第一の保護層 5-280 は、何れの適当な堆積プロセスおよびエッチバックによって形成されてもよい。いくつかの実施形態において、第一の保護層は、その中に検体ウェルが形成される材料 5-230 を酸化することによって形成されてもよい。例えば、検体ウェルはアルミニウムで形成されてもよく、これを酸化して、検体ウェルの側壁にアルミナのコーティングを製作してもよい。

【0173】

接着剤 5-980 または接着剤前駆体（例えば、接着剤と優先的に結合する材料）は、図 5-14A に示されるように、異方性物理堆積プロセス、例えば蒸着を用いて基板上に堆積されてもよい。接着剤または接着剤前駆体は、図 5-14B に示されるように、検体ウェルの基部に接着剤層 5-211 を形成してもよく、その中に検体ウェルが形成される材料 5-230 の上面を被覆してもよい。その後の、図 5-14C に示される、傾斜させた指向性堆積（シャドウデポジション、またはシャドウエバポレーションプロセスと呼ばれることがある）は、保護材料 5-990 の第二の保護層 5-280 を、接着剤層 5-211 を被覆せずに、材料 5-230 の上面に堆積させるために使用されてもよい。シャドウデポジションプロセス中に、基板を基板に垂直な軸の周囲で回転させてもよく、それによって第二の保護層 5-280 は検体ウェルの上側縁の周囲により均一に堆積する。いくつかの実施形態によれば、その結果として得られる構造が図 5-14D に示されている。第二の保護層を堆積させる代わりに、平坦化エッチング（例えば、CMP ステップ）が材料 5-230 の上面から接着剤を除去するために使用されてもよい。

【0174】

いくつかの実装形態によれば、接着剤層 5-211 は、図 5-15 に示されるように、テーパ付きの検体ウェルの基部の中央に堆積されてもよい。例えば、接着剤または接着剤前駆体は、図 5-14A に示されるように、前述のように形成されたテーパ付きの検体ウェル内に指向的に堆積させてもよい。検体ウェルの壁は、接着剤層 5-211 の堆積前または後に酸化プロセスによって保護されてもよい。材料 5-230 の表面上に残る接着剤または前駆体は、図 5-14D に関連して説明したように保護されてもよい。いくつかの実施形態において、材料 5-230 の表面上の接着剤は、化学機械的研磨ステップにより除去されてもよい。接着剤層または接着剤層前駆体を検体ウェルの基部の中央に形成することによって、検体からの放出に対する有害な効果（例えば、検体ウェルからの検体の放射の抑制または急冷、検体ウェルの周囲に形成されたエネルギー結合構造に関して中央に位置付けられていないことによる検体からの好ましくない放射分布、検体に関する発光寿命に対する悪影響）が低減し得る。

【0175】

いくつかの実施形態において、検体ウェルと窪みを形成するために使用されるリフトオフパターンニング、エッチング、および堆積プロセスは、集積 CMOS 回路を集積装置上に形成するために使用される CMOS プロセスと適合可能であってもよい。したがって、集積装置は、従来の CMOS 施設および製造技術を使用して製造されてもよいが、いくつかの実施例では、カスタムまたは専用製造施設が使用されてもよい。

【0176】

上述のプロセスステップの変形形態が、検体ウェルの代替的な実施形態を形成するために使用されてもよい。例えば、図 5-7A または図 5-7B に示されているようなテーパ状検体ウェルは、図 5-14C に示される傾斜堆積プロセスを使用して形成されてもよい。図 5-7B の検体ウェルに関して、堆積プロセス中に堆積の角度を変化させてもよい。このような実施形態の場合、実質的に直線に縦方向の側壁を有する検体ウェルがまず形成され、その後、追加の材料 5-230 が、傾斜堆積により堆積され、検体ウェルの側壁にテーパが付けられる。

【0177】

いくつかの実施形態において、検体ウェルは、複数の層を含む多層積層体から形成され

てもよい。図5-16は、基板層5-105に形成された窪みを有する検体ウェルを示している。この実施形態の検体ウェルは、直径約140~180nmであり、窪みの深さは約40~90nmである。基板5-105は、酸化シリコン等、何れの適当な材料から形成されてもよい。第一の層5-1001が基板5-105の表面に形成されてもよい。この第一の層5-1001は、アルミニウム等、何れの適当な材料で形成されてもよく、例えば、約60nmの厚さであってもよい。第二の層5-1003が第一の層5-1001の上に形成されてもよい。この第二の層5-1003は、チタン等、何れの適当な材料で形成されてもよく、例えば10nmの厚さであってもよい。第三の層5-1005が第二の層5-1003の上に形成されてもよい。この第三の層5-1005は、窒化チタン等、何れの適当なセラミックで形成されてもよく、例えば30nmの厚さであってもよい。第四の層5-1007が第三の層5-1005の上に形成されてもよく、また検体ウェルの縦壁を被覆する。この第四の層5-1007は酸化アルミニウム等の何れの適当な材料で形成されてもよく、約5nmの厚さであってもよい。

10

【0178】

図5-16の検体ウェルは、励起エネルギーを光パルスの形態で検体ウェルに搬送するように構成された導波路5-240の上方約350nmに形成されてもよい。導波路は、例えば250nm~700nmの幅であってもよい。いくつかの実施形態において、導波路は約500nmの幅である。

【0179】

検体ウェルは、何れの適当な方法で形成されてもよい。例えば、第一の3層(5-1001、5-1003、および5-1005)は、上述のように基板5-105の上に形成されてもよい。それに加えて、酸化アルミニウムの薄い層(約5nm)が第一の3層の上に堆積されてもよい。次に、検体ウェルおよび窪みが層内に化学的にエッチングされてもよい。第二の酸化アルミニウム層が堆積されて、窪みの底を含め、検体ウェルの縁辺を等角的に被覆してもよい。第二の酸化アルミニウム層は、いくつかの実施形態によれば、原子層堆積技術より堆積されてもよい。次に、酸化アルミニウムの第二の層に対して窪みの底部から異方性エッチングが行われ、酸化シリコン基板が露出されてもよい。

20

D. 励起エネルギーの検体ウェルへの結合

集積装置の1つまたは複数の検体ウェルへの励起エネルギーの結合は、1つまたは複数の技術を通じて行われてもよい。前述のように、いくつかの実施形態において、導波路は、励起源と共に1つまたは複数の検体ウェルに結合するように位置付けられる。励起エネルギーが導波路に沿って伝播する間、励起エネルギーの一部は様々な光結合技術を通じて1つまたは複数の検体ウェルに結合されてもよい。例えば、導波路は励起エネルギーを実質的に1つの方向に案内してもよく、エバネッセント波またはテールがこの1つの方向に垂直に形成され得、いくつかの例において導波路構造の外部にあり得る。このようなエバネッセントテールは、励起エネルギーの一部を1つまたは複数の検体ウェルに向かって誘導してもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェル層は、励起エネルギーを検体ウェル内の局所化された領域に誘導するように設計され、構成されてもよい。検体ウェルは、検体ウェルの局所化された領域内に検体を保持するように構成されてもよく、それによって励起エネルギーは検体へと誘導される。

30

40

【0180】

図6-1Aおよび6-1Bは集積装置の断面図であり、導波路を使用した励起エネルギーの検体ウェルへの結合の例示的な図を提供する。図6-1Aは、検体ウェル層6-116内の検体ウェル6-108に近接して位置付けられた導波路6-104を示す断面概略図である。励起エネルギーは、導波路に沿って図6-1Aの視野に垂直な方向に伝播する。検体ウェルが導波路に近接していることにより、励起エネルギーを検体ウェルに結合できる。図6-1Bは、検体ウェル6-108と検体ウェル層6-116の領域の拡大図であり、検体ウェル6-108内にある励起エネルギーを示している。

【0181】

それに加えて、集積装置内に、励起エネルギーの検体ウェルへの結合を改善または促進

50

する1つまたは複数の構成要素が形成されてもよい。これらの追加の構成要素はピクセル内に形成されて、導波路からピクセルへ、および検体ウェルに向かって励起エネルギーを結合してもよい。ピクセル内にある1つまたは複数の構成要素は、励起エネルギーの一部を導波路からピクセルに供給する役割を果たしてもよい。このような構成要素は、回折格子構造、散乱構造、マイクロキャビティおよび／またはナノアンテナ等の光学構造を含んでいてもよい。これらの構成要素の1つまたは複数の特徴または構成は、特定の量の励起エネルギーを検体ウェルの行または列内の各検体ウェルに結合するように選択されてもよい。励起エネルギーをピクセルの行に供給するように構成された導波路は、各ピクセル領域内の、励起エネルギーの一部をそのピクセルの行の各ピクセルに提供するための構成要素に結合されてもよい。導波路が励起エネルギーを励起源から1つまたは複数のピクセルに誘導するように構成されている場合、導波路はバス導波路と呼ばれてもよい。

10

【0182】

検体ウェルに隣接して位置付けられた構成要素は、励起エネルギーの導波路から検体ウェルへの結合を改善してもよい。このような構成要素は、タップおよび／またはマイクロキャビティと呼ばれてもよい。マイクロキャビティは、導波路から励起エネルギーの一部を偏向させて、励起エネルギーが検体ウェルに到達するようにしてもよい。1つまたは複数のマイクロキャビティは、励起エネルギーを検体ウェルに結合するために使用されてもよい。1つまたは複数のマイクロキャビティは、金属損失を含む導波路からの励起エネルギーの損失を減少させてもよい。1つまたは複数のマイクロキャビティは、励起エネルギーを検体ウェルに集束させるためのレンズとして機能してもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のマイクロキャビティは、検体ウェル内のマーカーからセンサに向けた発光の誘導を改善してもよい。マイクロキャビティは、円筒形、凸型、凹型、長方形、球形、または楕円形の構成または他の何れの適当な形状であってもよい。マイクロキャビティは、何れの適当な材料から形成されてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、窒化シリコンを含んでいてもよい。

20

【0183】

1つまたは複数のマイクロキャビティは、検体ウェルが存在する集積装置の上から見たときに、導波路の少なくとも一部と重複して、励起エネルギーを検体ウェルに向かって誘導してもよい。導波路の厚さは、励起エネルギーの損失を減少させて、励起エネルギーの1つまたは複数のマイクロキャビティへの結合を改善するように構成されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルの行に沿ったマイクロキャビティは、導波路と各検体ウェルとの間の結合の強度において変化してもよい。マイクロキャビティは、励起エネルギーの伝播方向に沿って結合を増大させることにより、励起エネルギーが導波路から各検体ウェルへと誘導される際の導波路内のパワーの低下に対応できるようにしてもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のマイクロキャビティは、検体ウェルに近接している。検体ウェルの中心とマイクロキャビティの中心との間にオフセット距離があってもよい。他の実施形態において、1つのマイクロキャビティが検体ウェルの下方に配置され、その検体ウェルが存在する集積装置の上から見たときに、検体ウェルの少なくとも一部とマイクロキャビティの一部とが重複する。

30

【0184】

図6-2Aは、導波路6-204が検体ウェル6-208に近接して位置付けられ、導波路6-204と検体ウェル6-208とが重複しない例示的ピクセル領域の平面図を示す。図6-2Aに示されるように、マイクロキャビティ6-218bは、マイクロキャビティ6-218aより小さい断面直径を有する。マイクロキャビティ6-218aおよび6-218bは、導波路6-204および検体ウェル6-208に関して、導波路6-204から検体ウェル6-208へと励起エネルギーを結合するように位置付けられる。マイクロキャビティ6-218aおよび6-218bは共同で、導波路内の励起エネルギーの一部を検体ウェルへと屈折させる。マイクロキャビティ6-218bの一部は、導波路6-204と重複するように位置付けられる。マイクロキャビティ6-218bは、マイクロキャビティ6-218bに近接して位置付けられ、2つのマイクロキャビティ間が十

40

50

分に結合されるようにする。マイクロキャビティ 6-218a はマイクロキャビティ 6-218b より、検体ウェル 6-208 の近くに位置付けられる。このような構成において、マイクロキャビティ 6-218a および 6-218b は、励起エネルギーの一部を導波路 6-204 から検体ウェル 6-208 へと結合するためのタップとして機能してもよい。図 6-2B は、図 6-2A の線 A-A' に沿った視点からの立面図を示す。マイクロキャビティ 6-218a および 6-218b は、検体ウェル 6-208 を形成する層 6-216 に近接して位置付けられる。層 6-216 は金属（例えば、アルミニウム）を含んでもよい。この例示的实施形態において、マイクロキャビティ 6-218a および 6-218b は円筒形の形状を有し、円筒の一方の端は層 6-218 の表面に、または少なくともそれに近接して位置付けられる。導波路 6-204 とマイクロキャビティ 6-218a および／またはマイクロキャビティ 6-218b との間の距離は、所望の量の励起エネルギーが検体ウェル 6-218 に結合されるようにしてもよい。図 6-2C は、図 6-2A に示される線 B-B' に沿った視点からの立面図を示す。マイクロキャビティ 6-218b は導波路 6-204 と重複するように位置付けられ、その一方で、マイクロキャビティ 6-218a は導波路 6-204 と重複しないように位置付けられる。

10

【0185】

図 6-3A-D は、集積装置内の検体ウェルおよび導波路に関する 1 つまたは複数のマイクロキャビティの別の例示的な構成の平面図を示す。1 つまたは複数のマイクロキャビティは、導波路の一部と重複してもよい。いくつかの例において、マイクロキャビティは検体ウェルの下方に配置される。図 6-3A は、導波路 6-304 に関して検体ウェル 6-308 と重複するマイクロキャビティ 6-306 を示している。図 6-3B は、導波路 6-314 に関して検体ウェル 6-318 と重複するマイクロキャビティ 6-316b を示している。他の実施形態において、マイクロキャビティは、検体ウェルからずれた距離に配置され、マイクロキャビティと検体ウェルとが重複しない。図 6-3B は、検体ウェル 6-318 から、マイクロキャビティ 6-316a と検体ウェル 6-318 との間に重複領域がないように位置付けられたマイクロキャビティ 6-318a を示している。同様に、図 6-3C は、検体ウェル 6-328 から、マイクロキャビティ 6-324 に関して、マイクロキャビティ 6-316a と検体ウェル 6-318 との間に重複領域がないように位置付けられたマイクロキャビティ 6-326 を示している。いくつかの実施形態において、複数のマイクロキャビティが検体ウェルからずらして位置付けられていてもよい。図 6-3D は、検体ウェル 6-338 から、導波路 6-334 に関して、検体ウェル 6-338 と 6-336a または 6-336b の何れとの間にも重複領域がないように位置付けられたマイクロキャビティ 6-336a および 6-336b を示している。マイクロキャビティの設計、検体ウェルに関する位置、および／または導波路に関する位置は、全体的な結合損失の低減および導波路と検体ウェルとの間の結合効率の改善に基づいて決定されてもよい。

20

30

【0186】

図 6-4 は、励起エネルギーを導波路 6-404 から層 6-416 内の検体ウェル 6-408 に結合するように位置付けられたマイクロキャビティ 6-418 の断面図を示す。マイクロキャビティ 6-418 および／または導波路 6-404 の 1 つまたは複数の寸法は、所望の量の結合を提供してもよい。集積装置の導波路、例えば導波路 6-404 の断面高さ t は、約 50 nm、約 100 nm、約 150 nm、約 160 nm、約 170 nm、または約 200 nm であってもよい。マイクロキャビティ 6-418 は、断面寸法 D 、例えばマイクロキャビティが円筒形であった場合の直径を有する。断面寸法 D は、約 550 nm、約 600 nm、約 650 nm、約 700 nm、約 750 nm、または約 800 nm であってもよい。マイクロキャビティ 6-418 は、断面高さ h を有していてもよく、これは約 450 nm、約 500 nm、約 550 nm、または約 600 nm であってもよい。マイクロキャビティ 6-418 の導波路 6-408 および検体ウェル 6-408 に関する位置は、導波路 6-408 から検体ウェル 6-408 への励起エネルギーの結合を可能にしてもよい。マイクロキャビティ 6-418 と導波路 6-408 との間の、導波路 6-4

40

50

08内の光の伝播に垂直な距離は、図6-4においてxで示され、約300nm、約350nm、約400nm、約450nm、または約500nmであってもよい。検体ウェル6-408からマイクロキャビティ6-418のずれの距離は、図6-4においてdで示され、約500nm、約550nm、約600nm、約650nm、または約700nmであってもよい。検体ウェル6-408を含む層6-416の断面高さyは、約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。検体ウェル6-408の断面寸法、例えば直径は、約75nm、約100nm、約125nm、約150nm、または約175nmであってもよい。

【0187】

ある例示的实施形態において、導波路6-404の断面幅は667nm、断面高さは100nmである。マイクロキャビティ6-418は、寸法hが591nm、断面直径が750nmであり、導波路6-404からの距離xが398nm、検体ウェル6-408からの距離dが693nmである。このようなピクセル構成の全体的な結合損失は0.28%であり、これは、256のピクセルを有する集積装置で実施された場合、約51%の透過損失、約11%の金属損失となり得る。

【0188】

他の例示的实施形態において、導波路6-404の断面幅は639nm、断面高さは100nmである。マイクロキャビティ6-418は楕円体の形状を有し、その1つの断面寸法600nm、他の断面寸法が639nmであり、寸法hが512nmである。このようなピクセル構成の全体的な結合損失は0.77%であり、これは、64のピクセルを有する集積装置で実施された場合、約30%の透過損失、約35%の金属損失となり得る。

【0189】

図6-5は、検体ウェル6-538と導波路6-534に関して2つのマイクロキャビティ6-536aおよび6-536bを有する構成における光の伝播のシミュレーション結果を示す。図6-5に示されるように、暗い領域は光のより高い強度に対応し、導波路6-534から検体ウェル6-538へと延び、マイクロキャビティ6-536aおよび6-536bによりサポートされる。

【0190】

他の例示的实施形態において、導波路の断面幅は700nm、断面高さは100nmである。マイクロキャビティは、直径が600nmであり、寸法hが650nmである円筒形である。マイクロキャビティは、導波路および検体ウェルに近接して位置付けられ、0.148%の結合、0.09856%の金属損失、0.1225%のリターンロス、および0.1270%の放射損失がある。図6-6A~6-6Cは、このような実施形態を通じた光の伝播のシミュレーションを示す。図6-6Aは、検体ウェル6-638、マイクロキャビティ6-636、および導波路6-634の断面図を示す。導波路6-634は、導波路6-634に沿って伝播する光のモードをサポートし、マイクロキャビティ6-636は、励起エネルギーの一部を検体ウェル6-638へと結合するためのタップとして機能するように位置付けられる。図6-6Aにおいて、より暗い領域は、より光強度の高い領域を示す。図6-6Bは、マイクロキャビティ6-636および検体ウェル6-638の平面図を示し、光はマイクロキャビティ6-636によって検体ウェル6-638へと誘導される。図6-6Cは横断面図を示し、導波路6-634からの光が検体ウェル6-638に結合することを示している。

【0191】

図6-6Dは、導波路6-654と、マイクロキャビティ6-656と、検体ウェル6-658とを含む他の例示的構成のシミュレーションの平面図を示す。この構成において、検体ウェル6-658はマイクロキャビティ6-656と重複し、マイクロキャビティ6-658と導波路6-654とが重複する。図6-6Dは、暗い領域においてより強度の高い光がマイクロキャビティ6-656により支持される検体ウェル6-658へと伝播することを示している。

【0192】

いくつかの実施形態は、検体ウェル層と導波路との間に位置付けられたマイクロキャビティに関しマイクロキャビティが検体ウェル層の表面からずれている。マイクロキャビティは、検体ウェル層の表面から、導波路に沿った光の伝播に垂直な方向にずれていてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティはまた、検体ウェルのある位置から、検体ウェルとマイクロキャビティとが重複しないようにずれていてもよい。マイクロキャビティは、導波路から検体ウェルへと所望の量の励起エネルギーが結合される大きさおよび形状であってもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、導波路を通る光の伝播方向に平行な方向に沿った寸法の方が導波路を通る光の伝播に垂直な寸法より長くてもよい。

【0193】

図6-7Aは、検体ウェル6-708および導波路6-704に近接して位置付けられたマイクロキャビティ6-718を有する集積装置の断面図を示す。検体ウェル6-708は検体ウェル層6-716内に形成される。マイクロキャビティは、導波路6-704を通る光の伝播方向に平行な寸法Dと、導波路6-704を通る光の伝播方向に垂直な寸法hとを有する。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティ6-718の寸法Dは、マイクロキャビティ6-718の寸法hより大きい。マイクロキャビティ6-718の寸法hは約100nm、約150nm、または約200nmであってもよい。マイクロキャビティ6-718の寸法Dは、約500nm、約750nm、または約1000nmであってもよい。マイクロキャビティ6-718は、寸法x1を有する、導波路6-704のy方向に沿った距離と、寸法x2を有する、検体ウェル層6-716の表面からy方向に沿った距離とに位置付けられる。いくつかの実施形態において、寸法x2は寸法x1より小さい。マイクロキャビティ6-718は検体ウェル層6-716からずれていてもよく、いくつかの実施形態において、x2は約200nm、約300nm、または約400nmである。

【0194】

いくつかの実施形態において、マイクロキャビティ6-718は検体ウェル6-708から、導波路6-704を通る光の伝播方向に平行な方向に沿ってある距離だけずれている。マイクロキャビティ6-718は検体ウェル6-708から、中心から中心の距離dだけずれていてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティ6-718は検体ウェル6-708から、マイクロキャビティ6-718と検体ウェル6-708とが重複しないようにずれている。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティ6-718は検体ウェル6-708からある距離だけずれている。マイクロキャビティ6-718の縁と検体ウェル6-708との間のずれの距離は、約50nm、約100nm、約150nm、または約200nmであってもよい。

【0195】

図6-7Bは、励起エネルギーが導波路6-704を通過して伝播し、検体ウェル層6-716内の検体ウェル6-708およびマイクロキャビティ6-718を介して結合する際の光の強度の断面図を示し、これは図6-7Aに示される構成と同様である。励起エネルギーは、導波路6-704を通過してz方向に沿って移動する。図6-7Bに示されるように、励起エネルギーの一部（濃い線で示される）は、マイクロキャビティ6-718と結合することによって検体ウェル6-708に到達する。励起エネルギーは導波路6-704に沿って伝播し続けるため、マイクロキャビティ6-718は、励起エネルギーの一部を導波路6-704から遠ざけ、検体ウェル6-708に向かって誘導することより、タップとして機能する。

【0196】

図6-7Cは、検体ウェル6-708に近接して位置付けられたマイクロキャビティ6-718の平面図を示す。励起エネルギー（暗い領域で示される）は、マイクロキャビティを通過して伝播し、検体ウェル6-708内へと誘導される。図6-7Cに示されるように、マイクロキャビティ6-718は長方形の形状であってもよく、湾曲した縁辺を有し、これが光を検体ウェル6-708に向かって誘導するように機能する。マイクロキャビ

10

20

30

40

50

ティ6-718の縁辺は、励起エネルギーが検体ウェル6-708に所望のレベルで結合する曲率半径を有していてもよい。マイクロキャビティ6-718の、検体ウェル6-708に近接する第一の縁辺は、マイクロキャビティ6-718の、第一の縁辺と反対の第二の縁辺より小さい居率半径を有していてもよい。

【0197】

いくつかの実施形態は、検体ウェルと導波路との間に位置付けられたマイクロキャビティに関し、マイクロキャビティは検体ウェルと重複し、検体ウェルからある距離だけずれている。マイクロキャビティと検体ウェルは、導波路に沿った光の伝播に垂直な方向に重複していてもよい。マイクロキャビティは、励起エネルギーの検体ウェルへの結合を促進するように機能してもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、マイクロキャビティと検体ウェルとの間で実質的に中心同士が整列する状態で、検体ウェルと整列されていてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、検体ウェルより導波路の近くに位置付けられていてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、導波路の表面に位置付けられていてもよい。

【0198】

図6-7Dは、検体ウェル6-728と、導波路6-734と、検体ウェル6-728と導波路6-734との間に位置付けられたマイクロキャビティ6-738とを有する集積装置の断面図を示す。検体ウェル6-728は検体ウェル層6-738内に形成され、検体ウェル層6-738を超えて延び、集積装置の層6-732内に窪みを含んでいてもよい。層6-732は、図6-7Dに示されるように、x方向に沿って寸法hを有していてもよい。マイクロキャビティ6-738は、層6-732内において、層6-732のうちのマイクロキャビティ6-738と検体ウェル6-728との間の部分、および層6-732のうちのマイクロキャビティ6-738と導波路6-734との間の部分があるように位置付けられていてもよい。図6-7Dに示されるように、マイクロキャビティ6-738は検体ウェル6-728からy方向に沿って、寸法d1を有する距離に位置付けられる。マイクロキャビティ6-738は、導波路6-734からy方向に沿って、寸法d2を有する距離に位置付けられている。いくつかの実施形態において、寸法d2はd1より小さい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティ6-738は層6-734内の検体ウェル6-728の表面上に、寸法d1がゼロと等しくなるように位置付けられる。

【0199】

集積装置の導波路の1つまたは複数の寸法は、導波路を通る光の伝播方向において、導波路の長さに沿って変化してもよい。導波路に沿って1つまたは複数の寸法が変化することにより、結合効率と、導波路によって複数検体ウェルに供給される励起エネルギー量の実質的な均一性が改善され得る。いくつかの実施形態において、導波路の断面幅は、ピクセルの行または列に沿って変化してもよい。導波路は、導波路の断面幅が、導波路を通る励起エネルギーの伝播の方向に沿って減少するように、テーパ部を含んでいてもよい。図6-8Aは、集積装置内の導波路6-804の平面図を示す。励起源6-802は、本明細書に記載されている1つまたは複数の技術（例えば、格子カプラ、スターカプラ、MMIスプリッタ等）を使用して導波路6-804に結合される。導波路6-804は図6-8Aに示されるx方向に沿った導波路6-804の寸法が、zに沿った導波路6-804の寸法または導波路6-804を通る光の伝播方向に沿って減少するようにテーパが付けられていてもよい。このようにして、導波路6-804は、入射する励起源6-802に近接する断面幅（x方向に沿う）が、導波路6-804の長さ（z方向に沿った）に沿ってさらに進んだ位置より大きい。導波路6-804をピクセルの行内の検体ウェルと結合するように位置付けることにより、所望の量の励起エネルギーを各検体ウェルに結合するのに十分な構成が得られる。励起エネルギーの一部が各検体ウェルの導波路6-804から結合されるため、導波路6-804により伝播される励起エネルギーの量は、z方向に沿って減少する。導波路6-804に沿って、パワーの量は、励起エネルギーが検体ウェルと結合するにつれて減少する。導波路6-804の断面幅が減少することで、励起エ

エネルギーは、そのようなテーパがない導波路より、導波路 6-804 に沿ってさらに先まで伝播し得る。

【0200】

図 6-8B は、図 8A に示される導波路 6-804 の断面図を示す。導波路 6-804 の y 方向に沿った寸法は実質的に一定に保持され、y 方向に沿った検体ウェル 6-808 と導波路 6-804 との間の距離は、導波路 6-804 の長さに沿って実質的に一定である。破線の曲線は、励起エネルギーが導波路 6-804 に沿って z 方向に伝播する際の広がりを示す。導波路 6-808 の断面幅が狭くなるにつれて、励起エネルギーの広がりはいずれより広くなり、パワーの低下を補償することができる。このようにして、導波路 6-802 の断面幅は、導波路 6-802 により伝播される励起エネルギーのパワーの低下とバランスがとられ、それにより、集積装置の所望の性能のために十分な量の励起エネルギーがピクセルの行内の各検体ウェルに送達される。

10

【0201】

いくつかの実施形態において、テーパ付き導波路は、ピクセルの行について結合効率と同様になるように構成されてもよく、行内のピクセルがマイクロキャビティと検体ウェルを含む。テーパ付き導波路および／またはマイクロキャビティの 1 つまたは複数の寸法の変更の組合せにより、励起エネルギーが行内の各検体ウェルに結合される際の、導波路の長さに沿った励起エネルギーのパワーの低下に対応できる。

【0202】

いくつかの実施形態において、導波路に沿った励起エネルギーの伝播を測定するために、1 つまたは複数のセンサが導波路に関して位置付けられてもよい。追加の構造（例えば、回折格子）は、励起エネルギーの少なくとも一部をセンサに供給するように位置付けられてもよい。図 6-8B に示されるように、モニタセンサ 6-812a および 6-812b は、導波路の端に近接して位置付けられる。回折格子 6-810a および 6-810b は、導波路 6-808 の、センサ 6-812a および 6-812b の反対側に位置付けられる。回折格子 6-810a および 6-810b は、導波路 6-808 内で励起エネルギーをセンサ 6-812a および 6-812b に向けて誘導するように構成されてもよい。回折格子 6-810a とセンサ 6-812a との組合せは、導波路 6-804 への励起エネルギー入力をモニタしてもよい。回折格子 6-810b とセンサ 6-812b との組合せは、励起エネルギーが検体ウェル 6-808 の行に結合された後に導波路 6-804 の端に励起エネルギーが残っていれば、その励起エネルギーをモニタしてもよい。このようにして、センサ 6-812a および 6-812b は、入力端、および出力端、および／または導波路 6-808 に沿った何れかの適当な位置において、導波路 6-804 のパワーをモニタしてもよい。センサ 6-812a および 6-812b は、導波路 6-808 に沿ったある位置におけるパワーレベルを含む情報を検出してもよい。この情報は、励起源を集積装置および／または励起源のパワーと整列させるように機能する構成要素の態様を制御するために使用されてもよい。

20

30

【0203】

いくつかの実施形態において、導波路は、エバネッセント場により検体ウェルに結合されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルに近接して位置付けられた同心円格子リングを有するブルズアイ格子構造は、励起エネルギーの導波路から検体ウェルへの結合を改善してもよい。いくつかの実施形態において、導波路は、検体ウェルの付近において断面幅が減少する領域を含んでいてもよく、それによって、導波路内を伝播する励起エネルギーからのエバネッセント場が検体ウェルと結合する。ピクセルの行について、導波路は導波路の長さに沿って断面幅が減少する複数の領域を含んでいてもよく、それによって行内の検体ウェル間での結合の均一性および効率が改善される。このようにして、導波路は、導波路に沿った特定の位置において挟小部分を有すると考えてもよい。

40

【0204】

1 つまたは複数の検体ウェルを有する集積装置の層は、導波路内の光の伝播に干渉し得る。いくつかの実施形態において、検体ウェル層は金属（アルミニウム）で形成される。

50

検体ウェル層を導波路から特定の距離に位置付けて、損失を減少させ、装置の性能を改善することが望ましいことがあり得る。これらの技術により、導波路から特定の距離に検体ウェル層を位置付け、その一方で、層内の検体ウェルが十分な量の励起エネルギーを受けることができるようにすることにより、所望の性能を実現できる。

【0205】

図6-9Aは、ブルズアイ回折格子構造6-910に関する導波路6-904の平面図を示す。ブルズアイ回折格子構造6-910は、検体ウェルに中心を置く複数の同心円格子を含む。導波路6-904は狭小領域を含み、ここでは導波路6-904の断面幅が、ブルズアイ回折格子構造6-910の中心に近い位置においてより小さくなる。導波路6-904の狭小領域は、導波路6-904に沿った特定の距離だけテーパを付けることにより形成されてもよい。導波路6-904のテーパの長さは、励起エネルギーの損失を減少させ、および／または結合効率を改善するために適当な量であってもよい。導波路は複数の狭小領域を含んでいてもよく、各狭小領域は検体ウェルに関連付けられる。複数の狭小領域の1つまたは複数の寸法は、導波路の長さに沿って変化してもよく、それによって検体ウェルの各々に適当に均一なパワーと結合効率を提供する。図6-9Bは、励起エネルギーを検体ウェル6-908に結合するように構成された導波路6-904の断面図を示す。ブルズアイ回折格子6-910は、その中心が実質的に検体ウェル6-908にあり、励起エネルギーを導波路6-904から検体ウェル6-908に結合するように構成される。導波路6-904の断面幅は、検体ウェル6-908に近接して狭小領域を有し、それによって励起エネルギーの場の広がり、断面幅が狭くなるにつれて広がる。点線は、励起エネルギーの場が導波路6-904から垂直にy方向に延びる範囲を示している。導波路6-904に沿った検体ウェル6-908と重複する位置において、励起エネルギーの場は、励起エネルギーが検体ウェル6-908と結合できる特定の位置にある。

【0206】

狭小領域におけるテーパの1つまたは複数の寸法および／または導波路の狭小領域におけるテーパの形状は、所望のレベルの結合効率を提供してもよい。図6-10は、テーパプロファイルが生じる長さまたはテーパ長さに関する異なるテーパプロファイルに関する全損失のグラフを示しており、テーパ付けプロセスにより生じる損失の量を示す。図10に示されるように、狭小領域によりなだらかなテーパを付けることにより、全体的な結合損失が減少し、結合効率を改善できる。線形またはs字形の構成について、断面幅を0.5マイクロメートルから0.3マイクロメートルへとテーパ状にすると、断面幅を0.5マイクロメートルから0.2マイクロメートルへとテーパ状にした場合より全体的損失が減少する。それに加えて、断面幅が減少される長さを長くすると、全体的な結合損失が改善され得る。いくつかの実施形態において、導波路は狭小領域を含んでいてもよく、ここで導波路の断面幅は、導波路に沿った約20マイクロメートル、約40マイクロメートル、約50マイクロメートル、約60マイクロメートル、約80マイクロメートル、または約100マイクロメートルの長さにわたり、約0.3マイクロメートルから約0.5マイクロメートルへと変化する。

【0207】

いくつかの実施形態において、導波路は、検体ウェルのある領域内で、検体ウェルと導波路との間の距離を短縮することにより、検体ウェルと結合できる。このような構成より、導波路の一部を検体ウェル層から特定の距離に位置付けて、所望の効率と励起エネルギーの損失を提供してもよい。図6-11Aは、検体ウェル6-1108を有する層6-1102に関して位置付けられた導波路6-1104の断面図を示す。ブルズアイ回折格子は、層6-1102に隣接して形成され、実質的に検体ウェル6-1108に中心を置く。このような実施形態において、導波路は、実質的に均一な断面厚さを有し、導波路6-1104から延びる励起エネルギーの場は、導波路6-1104の長さに沿って略均一である。層6-1102を検体ウェル6-1108および導波路6-1104がy方向に沿って特定の距離を有するように形成することによって、励起エネルギーは検体ウェル6-1108と結合してもよい。ブルズアイ回折格子6-1110は、励起エネルギーを導波路

6-1104から検体ウェル6-1108へとさらに結合するように機能してもよい。導波路6-1104に沿った、検体ウェル6-1108から離れたその他の領域は、検体ウェル6-1108に近接する位置より、y方向に沿ってより大きい距離において層6-1102を有していてもよい。このような構成は、検体ウェルディップ構成と考えられ、いくつかの実施形態において、約0.3%の結合効率を提供してもよい。

【0208】

いくつかの実施形態は、導波路上の1つまたは複数の材料層を形成して、導波路から検体ウェルへの励起エネルギーの結合を改善することに関する。図6-11Bは、検体ウェル層6-1116から形成される検体ウェル6-1112の断面図を示す。図6-11Bに示されるように、検体ウェル層6-1116は、検体ウェル6-1112を形成する検体ウェル層6-1116の開口部を有する領域を含む。検体ウェル層6-1116の領域は、集積装置の表面から寸法hだけずれている。寸法hは、約200nm、約250nm、約300nm、約350nm、または約400nmより大きくてもよい。検体ウェル層6-1116のずれた領域は、層6-1120の一部をエッチングし、検体ウェル層6-1116を層6-1120の上に形成することによって形成されてもよい。検体ウェル層6-1116の、検体ウェル6-1112を含む領域は、y方向に沿って導波路6-1118から距離d1に位置付けられる。距離d1は、約250nm、約300nm、約350nm、約400nm、または約450nmであってもよい。層6-1114は導波路6-1118に隣接して形成される。層6-1114は、層6-1120より高い屈折率と導波路6-1118より低い屈折率を有していてもよい。いくつかの実施形態において、層6-1114は異なる材料を有する複数の層を含む。例示の実施形態において、導波路6-1118は窒化シリコンを含み、層6-1114は酸化アルミニウムおよび／または酸化チタンを含む。層6-1114は、検体ウェル層6-1116からの距離d2に位置付けられる。距離d2は、約50nm、約100nm、約150nm、約200nm、または約250nmであってもよい。図6-11Cは、図6-11Bに示される線A-A'に沿った断面図を示す。図6-11Cに示されるように、導波路6-1118は、x方向に沿った横方向の寸法を有していてもよく、これは検体ウェル層6-1116の、検体ウェル6-1112を含む領域と重複する。層6-1114は、導波路6-1118の上に、層6-1114が導波路6-1118の複数の面と接触するように形成されてもよい。

【0209】

それに加えて、またはその代わりに、導波路に沿った行内のピクセル間の間隔は、導波路の損失を低減させるように選択されてもよい。各ピクセルは、検体ウェル、1つまたは複数のセンサ、および／またはブルズアイ回折格子を含んでいてもよい。ピクセルの行間の間隔は、回路等、その他の集積装置構成要素を収容するように選択されてもよい。図6-12は、長方形のアレイに配置されたピクセル6-1208を有する集積装置の平面図を示し、導波路6-1204はピクセル6-1208の行に励起エネルギーを送達するように構成されている。図6-12は、行内のピクセル間の間隔xが行間の間隔yより小さいピクセルアレイの構成を示す。行内のピクセルを特定の距離に位置付けることによって、導波路に沿った導波路の損失を削減できる。行間の間隔をより広くすることによって、ピクセルの1つの行が別の行に対する干渉を軽減させ、および／または回路構成要素を含めた追加の構成要素を装置上に収容するための適当な間隔を提供できる。

【0210】

集積装置のピクセルアレイ全体は、何れの適当な数のピクセルおよび何れの適当なピクセルの配置を有していてもよい。いくつかの実施形態において、ピクセルアレイは正方形および／または長方形の構成を有していてもよい。いくつかの実施形態において、ピクセルのアレイは長方形であってもよく、導波路に平行なその長さは導波路に垂直な長さより長い。他の実施形態において、より多くの導波路および／またはピクセルの行があってもよく、ピクセルの各行の導波路に平行な長さは、導波路に垂直な長さより短くてもよい。

【0211】

いくつかの実施形態は、導波路を通る光伝播に垂直で、1つまたは複数の検体ウェルを

有する集積装置の表面に垂直な方向への可変的な寸法を有する導波路を有する集積装置に関する。いくつかの実施形態において、導波路の寸法は、検体ウェルに近接しているが検体ウェルと重複しない領域においてより大きくなるように変化してもよい。いくつかの実施形態において、導波路の寸法は、導波路の検体ウェルと重複する領域において減少してもよい。集積装置は、検体ウェルの行と結合するように構成された導波路を含んでいてもよく、導波路の寸法の変化によって、実質的に同様の量の励起エネルギーを各検体ウェルに結合できる。

【0212】

図6-13は、検体ウェル層6-1316に形成された検体ウェル6-1308を有する集積装置の断面図を示す。導波路6-1304は領域6-1310を含み、そのy方向x1に沿った寸法x1は導波路6-1304のうち、検体ウェル6-1308と重複する、y方向に沿った寸法x2を有する部分より大きい。図6-13に示されているように、領域6-1310は検体ウェル6-1308からずれ、導波路6-1304に畝部を形成する。領域6-1310は、導波路6-1304から検体ウェル6-1308に所望の量の励起エネルギーを提供する大きさおよび形状であってもよい。図6-14は、検体ウェル層6-1416に形成された検体ウェル6-1408を有する集積装置の断面図を示す。導波路6-1404は、検体ウェル6-1408と重複する領域6-1410を含む。導波路は、領域6-1410において、y方向に沿った寸法x2を有し、これは、領域6-1410外の、y方向の寸法x1を有する導波路の部分より小さい。この構成において、導波路6-1404は、検体ウェル6-1408と重複する領域6-1410内でより小さい寸法を含む。

【0213】

図6-13および6-14は、1つの検体ウェルを示しているが、導波路6-1304および6-1404は、検体ウェルの行に結合され、各検体ウェルに近接して位置付けられた領域6-1310および6-1404と同様の領域を含むように構成されてもよい。いくつかの実施形態において、行内の複数の検体ウェルに近接して位置付けられた領域は、実質的に同様の量の励起エネルギーが各検体ウェルに結合されるように大きさおよび／または形状が変化してもよい。このようにして、導波路の領域は、導波路に沿って伝播する励起エネルギーの、検体ウェルの行に沿った低減に対応できるように構成されてもよい。

E. 放出エネルギーのセンサへの誘導

集積装置は、検体ウェルとピクセルのセンサとの間に位置付けられた、検体ウェル内の検体からの発光のセンサによる収集を改善するための1つまたは複数の構成要素を含んでいてもよい。このような構成要素は、背景信号に対する発光信号の信号対ノイズ比を改善して、発光マーカの検出を改善してもよい。いくつかの構成要素は、検体ウェルからピクセル内の対応するセンサへと発光を誘導してもよい。いくつかの実施形態において、構成要素は検体ウェルへの励起エネルギーの適当な結合と検体ウェルからの発光の結合との両方を提供してもよい。他の構成要素（例えば、フィルタ）は、励起エネルギーならびに検体および／またはマーカに関連していない他の光が、センサにより取得される信号に寄与するのを減少させてもよい。

【0214】

ブルズアイ回折格子は、検体ウェルの周囲の同心円状回折リングから形成されてもよい。ブルズアイ回折格子は検体ウェルと結合されて、検体ウェルからの発光の伝播を改善してもよい。ブルズアイ回折格子構造は、検体ウェルを有するピクセル内のセンサに向けて発光を誘導してもよい。いくつかの実施形態において、ブルズアイ回折格子により誘導される発光の有効径は約5マイクロメートルである。

【0215】

図7-1Aは、検体ウェル7-108からの発光を誘導するように構成されたブルズアイ7-110の平面図を示す。ブルズアイ構造7-110は、複数の同心円格子を含む。同心円格子は、検体ウェル7-108の中心と実質的に整列してもよい。導波路7-10

4は、ブルズアイ構造7-110の少なくとも一部および検体ウェル7-108と重複するように位置付けられてもよい。導波路7-104はテーパ領域を含み、これによって検体ウェル7-108を有するピクセル内に位置付けられたセンサへの発光の通過、およびセンサによる発光の所望の収集レベルが実現されてもよい。テーパ領域により、導波路7-104がセンサによる発光の収集に与える干渉を減少させることができ得る。いくつかの実施形態において、ブルズアイ回折格子は、複数の特徴的発光エネルギーまたは波長をセンサに向けて誘導するように構成されてもよい。図7-1Bは、検体ウェル7-108からの発光を誘導するように構成されたブルズアイ回折格子の断面図を示す。点線は、検体ウェル7-108から結合され得る2つの特徴的波長 λ_1 および λ_2 の広がりを示している。2つの特徴的波長 λ_1 および λ_2 は、検体に標識するために使用される異なるマーカから放出された特徴的波長であってもよい。図7-1Cは、ブルズアイ回折格子7-110の断面図を導波路7-104の横断面で示している。ブルズアイ回折格子7-110と導波路7-104は、検体ウェル7-108から放出された発光が広がり、発光エネルギーが集積装置のうち、導波路7-104以外の領域を通過できるように構成される。ブルズアイ回折格子7-110は、検体ウェル7-108から、ブルズアイ回折格子が存在しない場合より長い特定の距離にわたり発光を誘導し得る。ブルズアイ回折格子7-110は、発光の全体的な散乱を低減させてもよい。ブルズアイ回折格子7-110は、励起エネルギーの検体ウェル7-108に結合し、発光エネルギーを検体ウェル7-108から誘導するように構成されてもよい。

10

【0216】

20

導波路と検体ウェルとを結合し、励起エネルギーが検体ウェルに伝播できるように提供されたマイクロキャビティは、発光を検体ウェルからセンサへと誘導してもよい。図7-2Aは、検体ウェル7-208からずれた導波路7-204の断面図を示す。マイクロキャビティ7-211は、検体ウェル7-208からの発光を誘導するように構成される。図7-2Aは、検体ウェル7-208により放出された発光の強度を示し、発光強度がより高い領域はより暗い。マイクロキャビティ7-211は、発光を導波路7-204から斜めに誘導し、導波路7-204による発光の散乱を軽減させてもよい。図7-2Bは、角度に関する検体ウェルから放出された発光のグラフを示す。図7-2Bに示されるように、マイクロキャビティ7-211は発光をy方向から約15度の角度で誘導してもよい。1つまたは複数のマイクロキャビティは、y軸から約5度、約10度、約15度、約20度、約25度の角度で発光を誘導してもよい。いくつかの実施形態において、センサは、このような角度で誘導された発光を受けるように検体ウェルからずらされてもよい。マイクロキャビティ7-211はまた、導波路から検体ウェルへと励起エネルギーを結合して、マイクロキャビティ7-211が励起エネルギーの検体ウェルへの結合と検体ウェルからの発光の誘導との両方を提供するように構成されてもよい。いくつかの実施形態において、1つの検体ウェルからの発光を結合するために複数のマイクロキャビティが形成されてもよい。

30

【0217】

センサに中心を置く開口部を有するバッフルは、検体ウェルとセンサとの間に形成されてもよい。図4-2に示されるように、バッフル層4-226は、検体ウェル4-22とセンサ層4-230との間に位置付けられる。ピクセル内のバッフルは、ピクセルに関する発光以外のエネルギーの収集を抑制するように設計されてもよい。検体ウェルおよびセンサに関連付けられるバッフルによって、検体ウェルからの発光がセンサに到達でき、その一方で、隣のピクセルからの発光、励起エネルギー、およびそのセンサに関連付けられる検体ウェルからの発光に関連しない他のエネルギーを減少させることができ得る。バッフルの開口部の寸法は、発光がブルズアイにより同じピクセルへと誘導されるように構成されてもよい。図4-2に示されるように、バッフル4-226はz方向に沿って開口部を有し、発光が層4-230に位置付けられたセンサを通過できるようにする。バッフルの材料は、特定の光学特性に合わせて、例えば特定の光波長またはエネルギーが特定の入射角で透過するのを減少させるために選択されてもよい。いくつかの実施形態において、

40

50

バッフルは、異なる屈折率を有する材料の複数の層により形成されてもよい。バッフルは、シリコン、窒化シリコン (Si_3N_4)、シリコン、窒化チタン (TiN)、およびアルミニウム (Al) の1つまたは複数の層を含んでいてもよい。バッフルを形成するように構成された層の断面高さは約20 nm、約20 nm、約50 nm、約60 nm、約70 nm、約80 nm、または約90 nmであってもよい。

【0218】

ある例示的实施形態において、バッフルは4つの層、すなわち断面厚さが22.34 nmの窒化シリコンの層、断面厚さが81.34 nmのアモルファスシリコンの層、断面厚さが30 nmの窒化チタンの層、および断面厚さが50 nmのアルミニウムの層を含む。バッフルの例示的設計の吸収率と反射率が図7-3に示されており、これはpおよびs偏光の両方について、0、20、および35度の異なる入射角での吸収率と反射率を示す。図7-3に示されるように、バッフルは、バッフルへの異なる入射角について吸収率レベルが異なり、入射角が大きいほど吸収率が高い。

10

【0219】

フィルタ構成要素が、センサによる励起エネルギーの収集を減少させるために、導波路とセンサとの間に形成されてもよい。励起エネルギーをフィルタ処理するための何れの適当な方法が提供されてもよい。励起エネルギーをフィルタ処理するための技術には、光の1つまたは複数の特徴に基づくフィルタ処理が含まれていてもよい。このような特徴には、波長および／または偏光が含まれていてもよい。フィルタ構成要素は、散乱した励起エネルギーを選択的に抑制し、その一方で、発光がセンサへと通過できるようにする。図4-2に示される層4-228は、本明細書に記載される1つまたは複数のフィルタ構成要素を含んでいてもよい。

20

【0220】

特定の偏向の光を反射および／または吸収するように構成された偏光フィルタは、集積装置内のフィルタの役割を果たしてもよい。偏光フィルタは、導波路を通して伝播する励起エネルギーが特定の偏光を有し、マーカにより放出された発光が励起エネルギーとは異なる偏光を有していてもよいシステムにおいて使用されてもよい。偏光励起フィルタは、励起エネルギーの偏光をフィルタにかけ、それによって励起エネルギーがセンサにより収集されるのを減少させるように構成される。いくつかの実施形態において、偏光フィルタは、励起により提供される励起エネルギーがTE偏光されるときにTE偏光を吸収するように構成されてもよい。偏光フィルタは、パターン付きワイヤグリッド偏光板からなってもよい。いくつかの実施形態において、ワイヤグリッド内のワイヤはアルミニウムである。ワイヤの向きは、1つまたは複数の導波路の伝播方向に垂直な方向に沿って平行に整列される。励起エネルギーがTE偏光されているとき、ワイヤの向きは、TE偏光励起エネルギーの振動電場と整列されてもよい。このようなワイヤグリッド偏光板の製作によって、適当なフィルタが提供され、その一方で、集積装置全体の厚さはほとんど増大しない。このようなワイヤグリッド偏光板は、約10 dBより大きい散乱励起エネルギーの損失と、約3 dBの発光損失を有していてもよい。いくつかの実施形態において、ワイヤグリッドフィルタの、ワイヤが存在しない開口部は、その下にある1つまたは複数のセンサと整列されてもよい。開口部の寸法は、1つまたは複数のセンサの寸法より小さくても大きくてもよい。開口部により、ピクセルの検体ウェルからの発光がピクセル内のセンサによって収集され、その一方で、周囲のワイヤグリッドパターンは励起エネルギーをフィルタ処理してもよい。

30

40

【0221】

図7-4Aは、複数のワイヤ7-406を含むグリッドを有する偏光励起フィルタの平面図を示す。ワイヤグリッドは開口部7-408を有し、これが集積装置のピクセルアレイ内のピクセル領域を形成する。導波路7-404は、開口部7-408の行を通過するように位置付けられてもよい。図7-4Bは、図7-4Aに示される線A-A'に沿った断面図を示す。ワイヤ7-406は、導波路7-404とセンサ7-410との間に位置付けられる。ワイヤ7-406の開口部7-408は、センサ7-410と少なくとも部

50

分的に重複するように位置付けられる。このようにして、開口部 7-408 とセンサ 7-410 とは、集積装置の同じピクセルに含められてもよい。開口部 7-408 は、発光エネルギーを透過させて、センサ 7-410 が発光を検出し、センサ 7-410 により検出される励起エネルギーの量を減少させることができる。

【0222】

集積装置は、1 つまたは複数の特徴的波長の光を反射して、異なる特徴的波長を有する光を透過させるように構成された波長フィルタを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、波長フィルタにより反射される光は、波長フィルタにより透過される光より短い特徴的波長を有していてもよい。このような波長フィルタは励起エネルギーを反射し、発光を透過させてもよいが、それは、マーカを励起させるために使用される励起エネルギーが、典型的に、マーカが励起エネルギーによって励起状態に到達したことに応答して放出する発光より短い特徴的波長を有するからである。

10

【0223】

波長フィルタは、1 つまたは複数の材料を有する 1 つまたは複数の層を含んでいてもよい。波長フィルタは、二酸化チタン (TiO_2) および／または二酸化シリコン (SiO_2) を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、波長フィルタは屈折率の高い材料と屈折率の低い材料との交互の層を有する複数の層の積層体を含んでいてもよい。各層の断面厚さは、何れの適当な厚さであってもよく、いくつかの例において、光の特定の波長を反射および／または透過させるように構成されてもよい。層の断面厚さは、波長フィルタが透過させる光の波長の約 4 分の 1 であってもよい。波長フィルタの 1 つの層の厚さは、約 10 nm、約 40 nm、約 50 nm、約 60 nm、約 70 nm、約 80 nm、約 90 nm、約 100 nm、約 110 nm、約 130 nm、または約 150 nm であってもよい。いくつかの実施形態において、波長フィルタの 1 つの層は、その層内の厚さのばらつきが 1 % 未満であってもよく、それによって波長フィルタ内で適当な厚さ均一性が提供される。

20

【0224】

いくつかの実施形態において、異なる材料は二酸化チタン (TiO_2) と二酸化シリコン (SiO_2) との交互の層を含んでいてもよい。二酸化チタンと二酸化シリコンとを波長フィルタ内の交互の層として使用することにより、波長フィルタの構造全体の厚さを削減できる。

30

【0225】

交互の層の積層体は、励起エネルギーを所望のレベルでフィルタ処理し、発光の透過を可能にするのに適した何れの厚さを有していてもよい。波長フィルタの厚さは、約 3 マイクロメートル、約 3.5 マイクロメートル、約 4 マイクロメートル、または約 4.5 マイクロメートルであってもよい。波長フィルタは、集積装置の複数のピクセルにわたり形成されてもよい。

【0226】

図 7-5 は、集積装置の波長フィルタ 7-500 の断面図を示す。波長フィルタは、層 7-501 と層 7-502 との交互の層を含む。層 7-501 および層 7-502 は異なる屈折率を有する。例えば、層 7-501 は層 7-502 より高い屈折率を有していてもよい。層 7-501 および層 7-502 の異なる屈折率は、異なる屈折率を有する材料を使用することによって実現できる。いくつかの実施形態において、層 7-501 は二酸化シリコンを含んでいてもよく、層 7-502 は二酸化チタンを含んでいてもよい。波長フィルタ 7-500 は、センサ 7-510 を有するピクセル領域 7-508 に形成されてもよい。波長フィルタ 7-500 は、1 つの特徴的波長 λ_2 を有する光を透過させ、異なる特徴的波長 λ_1 を実質的に反射するように構成されてもよい。マーカは λ_2 を有する発光を放出してもよく、これは励起フィルタ 7-500 を通過でき、センサ 7-510 により検出される。励起エネルギーは λ_1 を含んでいてもよい。このようにして、センサ 7-510 は、マーカの発光に実質的に関係する信号を検出してもよい。

40

【0227】

50

ある例示的实施形態において、導波路フィルタは TiO_2 および SiO_2 が交互にある49層と、 TiO_2 および SiO_2 層の積層体の両側に SiO_2 の層とを含んでいてもよい。積層体全体の厚さは約3.876マイクロメートルである。図7-6は、入射角約10度でのp偏光、平均偏光、s偏光の波長に関する透過率と、入射角約0度での透過率とのグラフである。消光損失は、約21nmの波長範囲にわたり大きく変化し、入射角約10度、約646nmで約30dBであってもよい。このようなフィルタの厚さのばらつきは約1%未満であってもよく、それによって厚さの均一性によりアーチファクトが軽減される。

【0228】

波長フィルタの多層積層体中の層の厚さを交互にすることにより、その透過特性を変化させることができる。波長フィルタ内の1つまたは複数の層の厚さを変えると、フィルタが透過させる光の波長を変更できる。このような技術を用いることにより、フィルタ要素の一部が1つの波長の光を透過させ、他の部分が異なる波長の光を透過させて、多波長フィルタを形成してもよい。多波長フィルタの一部は、その部分を透過する光を受けるように構成されたセンサと重複してもよい。多波長フィルタの交互の層の積層体は2つの部分を有していてもよく、交互の層の厚さは光の波長の約4分の1であり、2つの4分の1波長部分間に半波長を有するスペーサがある。スペーサは、ファブリペロー共振器として機能してもよい。スペーサは可変的な厚さを有し、その第一の領域の厚さが第二の領域の厚さより大きくてもよい。波長フィルタにより透過された光の波長は、スペーサの厚さのばらつきによって、フィルタ全体を通じて変化し得る。第一の領域によって第一の波長を有する光が透過され、第二の領域によって第二の波長を有する光が透過され、第一の波長は第二の波長より長い。それに加えて、フィルタの第一の領域は、第二の波長を有する光を実質的に反射してもよく、フィルタの第二の領域は第一の波長を有する光を実質的に反射してもよい。このようにして、波長フィルタは、スペーサの厚さのばらつきにより提供される波長フィルタ全体にわたる透過光の波長を変化させてもよい。このような多波長フィルタは、複数の発光波長が検出される実施形態において使用されてもよい。多波長フィルタは、10dBより大きい励起エネルギーを反射してもよい。

【0229】

このような波長フィルタの製作中、スペーサは、より長い波長の光を透過させる厚さに形成され、より短い波長の光を透過させる領域がエッチングされてもよい。より短い波長の光を透過させる領域の高屈折率層は、パターン付きエッチング領域を有していてもよい。

【0230】

図7-7は、多波長フィルタ7-700の断面図を示す。ピクセル7-707は、多波長フィルタ7-700の領域7-708および領域7-709と、センサ7-710およびセンサ7-711とを含む。多波長フィルタ7-700は、交互の層7-701および7-702とスペーサ7-706とを含む。層7-701および層7-702は、異なる屈折率を有する。例えば、層7-701は層7-702より高い屈折率を有していてもよい。層7-701および7-702の異なる屈折率は、異なる屈折率を有する材料を使用することによって実現できる。いくつかの実施形態において、層7-701は酸化シリコンを含んでいてもよく、層7-702は二酸化チタンを含んでいてもよい。図7-7に示されるように、スペーサ7-706は可変的な厚さを有し、領域7-708の厚さは領域7-709より小さい。スペーサ7-706の厚さを変えることによって、フィルタ7-700により透過される光の波長は領域7-708から領域7-709で異なる。領域に応じて、スペーサ7-706の厚さは透過光の波長の約半分に等しくてもよい。スペーサ7-706の厚さは、領域7-708において領域7-709より薄く、領域7-708を通る透過光の波長は、領域7-709を通る透過光より小さい。領域7-708および7-709の厚さのばらつきは約5nm、約10nm、約15nm、約20nm、または約25nmであってもよい。図7-7に示されているように、領域7-708は λ_1 の透過を可能にし、領域7-709は λ_2 の透過を可能にし、 λ_2 は λ_1 より大きい。このよ

うにして、領域7-708に位置付けられたセンサ7-710は λ_1 を検出してもよく、領域7-709に位置付けられたセンサ7-711は λ_2 を検出してもよい。それに加えて、多波長フィルタ7-706は、領域7-708および7-709の両方が励起エネルギーを反射するように構成されてもよい。図7-7に示されるように領域7-708および7-709の両方が λ_3 を反射し、これは λ_1 および λ_2 の両方より長い波長を有していてもよい。

【0231】

図7-8は、 TiO_2 および SiO_2 の交互の13の層、ならびに積層体の両側の SiO_2 層および可変的厚さの TiO_2 スペーサを有する例示的波長フィルタの波長に関する偏光の透過のグラフを示す。4分の1波長層を形成する、 TiO_2 および SiO_2 の交互の層の厚さは、それぞれ76.20nmおよび118.51である。 TiO_2 スペーサの厚さは、1つの領域で137.16nm、他の領域で約122.16nmである。積層体全体の全厚は1.3マイクロメートルである。スペーサ層は、フィルタのより短い波長のバンドパス透過領域については、より長い波長のバンドパス透過領域より約15nm薄いエッチング領域を有する。透過領域の中心は、約660nmおよび685nmにある。空洞スペーサを追加することにより、透過率ピークを広げ、より正方形に近くすることができる。消光損失は、約10dB~15dBの範囲であってもよい。このようなフィルタの厚さのばらつきは、厚さの均一性によりアーチファクトを減少させるために、約1%未満であってもよい。

F. センサ

タイムビン情報を取得できる何れの適当なセンサが、発光マーカの寿命検出のための測定に使用されてもよい。例えば、2015年5月20日に出願された、「受け取られた光子の時間的ビニングのための集積装置 (INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS)」という名称の米国仮特許出願第62/164,506号明細書に、光子の到来時間を判定できるセンサが記載されており、その全体が参照により本願に援用される。センサは、各検体ウェルが検体ウェルからの発光を検出するための少なくとも1つのセンサ領域を有するように整列される。いくつかの実施形態において、集積装置は、ガイガモードアバランシェフォトダイオードアレイおよび/または単一光子アバランシェダイオードアレイ (SPAD: single photon avalanche diode array) を含んでいてもよい。

【0232】

本明細書には、入射光子の到達タイミングを正確に測定でき、すなわち「タイムビンに分解」でき、例えば核酸配列解析 (例えば、DNA配列解析) をはじめとする各種用途で使用され得る集積光検出器が記載される。いくつかの実施形態において、集積光検出器は、ナノ秒またはピコ秒の分解能で光子の到来を測定でき、これは入射光子の到来の時間ドメイン解析を容易にすることができる。

【0233】

いくつかの実施形態は、入射光子に应当して電荷キャリアを生成し、電荷キャリアが入射光子の到来により生成された、参照時間 (例えば、トリガイイベント) に関するタイミングを区別できる光検出器を有する集積回路に関する。いくつかの実施形態において、電荷キャリア分離構造は、異なる時間に生成された電気キャリアを分離し、電荷キャリアを1つまたは複数の電荷キャリア保存領域 (「ビン」と呼ばれる) に誘導し、これは異なる期間内に生成された電荷キャリアを集約する。各ビンは、選択された時間間隔内に生成された電荷キャリアを保存する。各ビンに保存された電荷を読み出すことによって、各時間間隔内に到来した光子の数に関する情報を提供できる。このような集積回路は、本明細書に記載されているような様々な用途の何れにおいても使用できる。

【0234】

光検出領域および電荷キャリア分離構造を有する集積回路の一例を説明する。いくつかの実施形態において、集積回路はピクセルのアレイを含んでいてもよく、各ピクセルは、

後述のように、1つまたは複数の光検出領域と、1つまたは複数の電荷キャリア分離構造とを含んでもよい。

【0235】

図7-9Aは、いくつかの実施形態によるピクセル7-900の概略図を示す。ピクセル7-900は、光子吸収／キャリア生成領域7-902（「光検出領域とも呼ばれる」と、キャリア移動／捕捉領域7-906と、1つまたは複数の電荷キャリア保存領域とを有し、本明細書では「電荷キャリア保存ピン」または単に「ピン」とも呼ばれるキャリア保存領域7-908と、電荷キャリア保存ピンから信号を読み出すための読み出し回路7-910とを含む。光生成電荷キャリアは、本明細書において単に「電荷キャリア」と呼ばれてもよい。

10

【0236】

光子吸収／キャリア生成領域7-902は、入射光子を光生成電荷キャリアに変換できる半導体材料（例えば、シリコン）領域であってもよい。光子吸収／キャリア生成領域7-902は、露光されてもよく、入射光子を受け取ってもよい。光子が光子吸収／キャリア生成領域7-902により吸収されるとき、これは光生成電荷キャリア、例えば電子／正孔対等を生成し得る。

【0237】

光子吸収／キャリア生成領域7-902に電場が確立されてもよい。いくつかの実施形態において、電場は「静電場」であってもよく、これはキャリア移動／捕捉領域7-906の充電電場と対照的である。光子吸収／電荷生成領域7-902の電場は、横成分、縦成分、または横および縦成分の両方を含んでもよい。電場の横成分は、図7-9Aの矢印で示される下方に向いていてもよく、これは、光生成電荷キャリアに対する、これらをキャリア移動／捕捉領域106へと駆動する力を示している。電場は、様々な方法で形成されてもよい。

20

【0238】

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の電極は、光子吸収／キャリア生成領域7-902の上に形成されてもよい。電極には、光子吸収／キャリア生成領域7-902に電場を確立させるために電圧が印加されてもよい。このような電極は「フォトゲート」と呼ばれてもよい。いくつかの実施形態において、光子吸収／キャリア生成領域7-902は、電荷キャリアが完全に消耗したシリコンの領域であってもよい。

30

【0239】

いくつかの実施形態において、光子吸収／キャリア生成領域7-902の電場は、PN接合等の接合によって確立されてもよい。光子吸収／キャリア生成領域7-902の半導体材料は、ドーピングによって、光生成電荷キャリアに対して、それらをキャリア移動／捕捉領域7-906へと駆動する力を誘導する電場を生成するような方位および／または形状を有するPN接合を形成してもよい。いくつかの実施形態において、PN接合ダイオードのP端子は、その電圧を設定する端子に接続されてもよい。このようなダイオードは、「埋込」フォトダイオードと呼ばれてもよい。埋込フォトダイオードは、表面のキャリア再結合を促進でき、これはその電圧を設定し、キャリアを引き付ける端子によるもので、それによって暗電流を減少させることができる。捕捉することが望まれる光生成電荷キャリアは、表面の再結合領域の下を通過してもよい。いくつかの実施形態において、横方向の電場は、半導体材料中でドーピング濃度を段階的に使用することによって確立されてもよい。

40

【0240】

図7-9Aに示されるように、時間t1において、光子が捕捉されてもよく、電荷キャリア7-901A（例えば電子）が生成されてもよい。いくつかの実施形態において、光子吸収／キャリア生成領域7-902およびキャリア移動／捕捉領域7-906に沿って電位勾配が確立されてもよく、それによって電荷キャリア7-901Aは図7-9Aの下方に（図7-9Aに示される矢印により示されている）移動する。電位勾配に応答して、電荷キャリア7-901Aは時間t1でのその位置から時間t2の第二の位置、時間t3の第三の位置、時間t4の第四の位置、および時間t5の第五の位置へと移動し得る。

50

そのため、電荷キャリア7-901Aは電位勾配に応答してキャリア移動／捕捉領域7-906内へと移動する。

【0241】

キャリア移動／捕捉領域7-906は、半導体領域であってもよい。いくつかの実施形態において、キャリア移動／捕捉領域7-906は、光子吸収／キャリア生成領域7-902と同じ材料（例えば、シリコン）の半導体領域であってもよいが、ただし、キャリア移動／捕捉領域7-906が（例えば、金属層等の上乗せされた不透明材料によって）入射光から遮蔽されていてもよい。

【0242】

いくつかの実施形態において、以下に詳しく説明するように、電位勾配は、光子吸収／キャリア生成領域7-902およびキャリア移動／捕捉領域7-906内に、これらの領域の上方に位置付けられた電極により確立されてもよい。しかしながら、本明細書に記載されている技術は、電位勾配を生成するために使用される電極の特定の位置に関して限定されない。また、本明細書に記載されている技術は、電極を使った電位勾配の確立にも限定されない。いくつかの実施形態において、電位勾配は、空間的に段階のあるドーププロファイルを使用して確立されてもよい。電位キャリアを、光子吸収／キャリア生成領域7-902およびキャリア移動／捕捉領域7-906に沿って移動させる電位勾配を確立するためには、何れの適当な技術が使用されてもよい。

10

【0243】

異なる時間に生成される電荷キャリアの分離を可能にするために、電荷キャリア分離構造がピクセル内に形成されてもよい。いくつかの実施形態において、電荷キャリア分離構造の少なくとも一部は、キャリア移動／捕捉領域7-906の上に形成されてもよい。後述のように、電荷キャリア分離構造は電荷移動／捕捉領域7-906の上に形成された1つまたは複数の電極を含んでいてもよく、その電圧は、キャリア移動／捕捉領域7-906の電位を変化させるように、制御回路によって制御されてもよい。

20

【0244】

キャリア移動／捕捉領域7-906の電位は、電荷キャリアの補足を可能にするように変化されてもよい。電位勾配は、キャリア移動／捕捉領域7-906の上にある1つまたは複数の電極の電圧を変化させて、所定の空間領域内に電荷を閉じ込めることのできる電位バリアが生成されるようにすることによって変化されてもよい。例えば、図7-9Aのキャリア移動／捕捉領域7-906の破線の上にある電極の電圧は時間t5において、図7-9Aのキャリア移動／捕捉領域7-906内の破線に沿って電位バリアを生じさせ、それによって電荷キャリア7-901Aが捕捉されるように変化されてもよい。図7-9Aに示されるように、時間t5で捕捉されたキャリアは、キャリア保存領域7-908のピン「ピン0」に移動されてもよい。電荷キャリア保存ピンへのキャリアの移動は、キャリア移動／捕捉領域7-906および／またはキャリア保存領域7-908の電位を（例えば、これらの領域の上にある電極の電圧を変化させることによって）変化させ、キャリアを電荷キャリア保存ピン内へと移動させることにより実行されてもよい。

30

【0245】

キャリア移動／捕捉領域7-906の所定の空間領域内のある時点での電位を変化させることにより、特定の期間内に発生した光子吸収により生成されたキャリアの捕捉が可能となり得る。異なる時間および／または位置で光生成電荷キャリアを捕捉することにより、電荷キャリアが光子吸収により生成された時間が区別されてもよい。この意味で、電荷キャリアは、トリガイイベントの発生後、時間および／または空間内の特定の点において電荷キャリアを捕捉することにより「タイムピンに分解」されてもよい。特定のピン内の電荷キャリアのタイムピンへの分解によって、その光生成電荷キャリアが入射光子の吸収により生成された時間に関する情報が提供され、そのため、その光生成電荷キャリアを生成した入射光子の到来をトリガイイベントに関して「タイムピンに分解」する。

40

【0246】

図7-9Bは、時間および空間内の異なる点における電荷キャリアの捕捉を示している

50

。図7-9Bに示されているように、キャリア移動／捕捉領域7-906の破線の上にある電極の電圧は、時間t9において、図7-9Bのキャリア移動／捕捉領域106の破線に沿って電位バリアを発生させるように変化されてもよく、それによって電荷7-901Bを捕捉する。図7-9Bに示されるように、時間t9において捕捉されたキャリアは、キャリア捕捉領域7-908のビン「ビン1」に移動されてもよい。電荷キャリア7-901Bは時間t9で捕捉されるため、これは時間t5で捕捉されるキャリア7-901Aに関する光子吸収イベント（すなわち、t1における）と異なる時間（すなわち、時間t6）で発生する光子吸収イベントを表す。

【0247】

キャリア保存領域7-908の電荷キャリア保存ビン内の電荷キャリアの測定および合計を、電荷キャリアが捕捉された時間に基づいて複数回実行することにより、光子吸収／キャリア生成領域7-902内で光子が捕捉された時間に関する情報が得られる。このような情報は、上述のように、様々な用途において有益となり得る。

【0248】

いくつかの実施形態において、励起パルス後に各タイムビンが捕捉する時間の長さは変化してもよい。例えば、より短いタイムビンは励起パルスの直後に発光を検出するために使用されてもよく、その一方で、より長いタイムビンは、励起パルスからさらに離れた時間において使用されてもよい。タイムビンの間隔を変えることによって、各タイムビンに関連する電気信号の測定の信号対ノイズ比を、あるセンサについて改善できる。光子放出イベントの確率は、励起パルスの直後の方がより高いため、この時間内のタイムビンは、より多くの光子が検出される可能性を考慮して、より短い時間間隔を有してもよい。より長い時間では、光子放出の確率はより低く、この時間内でのタイムビン検出は、光子の数がより少ない可能性を考慮して、より長くてもよい。いくつかの実施形態において、顕著に長い持続時間のタイムビンは、複数の寿命を区別するために使用されてもよい。例えば、タイムビンのほとんどは、約0.1~0.5 nsの範囲の時間間隔を捕捉してもよいが、あるタイムビンは、約2~5 nsの範囲の時間間隔を捕捉してもよい。タイムビンの数および／または各ビンの時間間隔は、検体となる物体から放出される光子を検出するために使用されるセンサに依存してもよい。各ビンの時間間隔の決定には、センサにより提供されたタイムビンの数が検体の解析に使用される発光マーカ間の区別を付けるのに必要な時間間隔を特定するステップを含んでもよい。記録されたヒストグラムの分布を、同様の条件とタイムビンによるマーカの既知のヒストグラムと比較することにより、検体ウェル内のマーカの種類の識別してもよい。本願の異なる実施形態は、マーカの寿命を測定するが、マーカを励起するために使用された励起エネルギー、各ピクセル内のセンサ領域の数、および／またはセンサにより検出される波長は異なり得る。

III. 励起源

いくつかの実施形態によれば、1つまたは複数の励起源が集積装置の外に配置されてもよく、検体ウェルを有する集積装置に光のパルスを送達するように構成されてもよい。例えば、2015年5月20日に出願された「パルスレーザ（PULSED LASER）」という名称の米国仮特許出願第62/164,485号明細書に、励起源として使用可能なパルスレーザ源について記載されており、その全体が参照により本願に援用される。光のパルスは、複数の検体ウェルに連結され、例えば、ウェル内の1つまたは複数のマーカを励起するのに使用されてもよい。1つまたは複数の励起源は、いくつかの実装形態によれば、1つまたは複数の特徴的波長で光のパルスを供給してもよい。場合により、励起源は、その中に集積装置が装填されてもよいベースとなる機器内に取り付けられるか、それに連結される交換式モジュールとしてパッケージされてもよい。励起源からのエネルギーは、少なくとも1つの検体ウェルに、または少なくとも1つの検体ウェル内の少なくとも1つの検体に放射的に、または非放射的に送達されてもよい。いくつかの実装形態において、制御可能強度を有する励起源は、励起エネルギーを集積装置の複数のピクセルに送達するように配置されてもよい。ピクセルは、線形アレイ（例えば、行または列）に、または2Dアレイ（例えば、ピクセルのアレイのサブエリアまたはピクセルのアレイ全体）

に配置されてもよい。

【0249】

励起源には、何れの適当な光源が使用されてもよい。このような実施形態はインコヒーレント光源を使用してもよく、他の実施形態はコヒーレント光源を使用してもよい。非限定的な例として、いくつかの実施形態によるインコヒーレント光源は、有機LED (OLED: organic LED)、量子ドット (QLED: quantum dot)、ナノワイヤLED、および(無機)有機半導体LED等の様々な種類の発光ダイオード(LED: light emitting diode)を含んでいてもよい。限定的な例として、いくつかの実施形態によるコヒーレント光源は、半導体レーザ(例えば、垂直キャビティ面発光レーザ(VCSEL: vertical cavity surface emitting laser)、エッジ発光レーザ、および分散回帰型(DFB: distributed-feedback)レーザダイオード)等の各種のレーザを含んでいてもよい。それに加えて、またはその代わりに、スラブ連結光導波路レーザ(SCOWL: slab-coupled optical waveguide laser)またはその他の非対称シングルモード導波路構造が使用されてもよい。いくつかの実施形態において、コヒーレント光源は、有機レーザ、量子ドットレーザ、および固体レーザ(例えば、レーザダイオードまたはフラッシュランプで励起されるNd:YAGまたはNd:Glass層)を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、レーザダイオード励起ファイバレーザが使用されてもよい。コヒーレント光源は、超短パルスを生成する受動モードロック型であってもよい。集積装置上のピクセルアレイ用として、複数の種類の励起源があってもよい。いくつかの実施形態において、異なる種類の励起源が組み合わせられてよい。励起源は、選択された種類の励起源を製造するために使用される従来の技術により製造されてもよい。

【0250】

紹介のために、本発明を限定することなく、コヒーレント光源の例示的な構成が図8-0Aに示されている。図面は解析機器8-100を示しており、これは励起源として超短パルスレーザ励起源8-110を含んでいてもよい。超短パルスレーザ8-110は、利得媒体8-105(いくつかの実施形態において、固体材料であってもよい)、利得媒体を励起するためのポンプ源(図示せず)と、光レーザキャビティの端面を画定する少なくとも2つのキャビティミラー8-102、8-104とを含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、レーザキャビティには、ビーム整形、波長選択、および/またはパルス形成のための1つまたは複数の追加の光学要素があってもよい。動作時に、パルスレーザ励起源8-110は超短光パルス8-120を生成してもよく、これはキャビティの端面ミラー8-102、8-104間のレーザキャビティ内と利得媒体8-105を通して前後に循環する。キャビティミラー8-104の1つは、励起パルスの一部を部分的に透過させてもよく、光学パルス8-122のトレインがパルスレーザ8-110から、光学構成要素および集積装置等の後続の構成要素8-160に放出される。放出されたパルスは、ビームウェストwにより特徴付けられるビーム(破線で示される)をスweepアウトしてもよい。

【0251】

放出されたパルス8-122の測定された時間的強度プロファイルは、図8-0Bに示されるように見え得る。いくつかの実施形態において、放出パルスのピーク強度値は略等しくてもよく、プロファイルはガウス時間プロファイルを有していてもよいが、sechプロファイル等のその他のプロファイルもあり得る。場合により、パルスは対称の時間プロファイルを有していなくてもよく、他の時間的形狀を有していてもよい。いくつかの実施形態において、利得および/または損失ダイナミクスは非対称プロファイルを有するパルスを生成してもよい。各パルスの持続時間は、図8-0Bに示されるように、半値全幅(FWHM: full-width-half-maximum)値により特徴付けられてもよい。超短光パルスのFWHM値は100ピコ秒未満であってもよい。

【0252】

レーザ励起源からのパルス放出は規則的間隔Tで分離されてもよい。いくつかの実施形態において、Tは、レーザ内の能動的利得および／または損失変調率により決定される。モードロックレーザの場合、Tは、キャビティ端面ミラー8-102、8-104間の往復伝播時間により決定されてもよい。いくつかの実施形態によれば、パルス分離時間Tは約1 ns～約100 nsであってもよい。場合により、パルス分離時間Tは、約0.1 ns～約1 nsであってもよい。いくつかの実装形態において、パルス分離時間Tは約100 ns～約2 μsであってもよい。

【0253】

いくつかの実施形態において、光学システム8-140は、レーザ励起源8-110からパルス8-122のビームで動作してもよい。例えば、光学システムは、ビームを再整形し、および／またはビームの発散を変化させるための1つまたは複数のレンズを含んでもよい。ビームを再整形するステップは、ビームウェストの数値を増減するステップ、および／またはビームの断面形状を変化させる（例えば、楕円形から円形、円形から楕円形、等）ステップを含んでもよい。ビームの発散を変化させるステップは、ビームフラックスを集束または発散させるステップを含んでもよい。いくつかの実装形態において、光学システム8-140は、ビームエネルギーの量を変化させるための減衰器または増幅器を含んでもよい。場合により、光学システムは波長フィルタ要素を含んでもよい。いくつかの実装形態において、光学システムは、パルス整形要素、例えばパルスストレッチャおよび／またはパルスコンプレッサを含んでもよい。いくつかの実施形態において、光学システムは、1つまたは複数の非線形光学要素、例えばパルス波長を短縮するための飽和可能吸収器を含んでもよい。いくつかの実施形態によれば、光学システム8-140は、レーザ励起源8-110からのパルスの偏向を変化させるための1つまたは複数の要素を含んでもよい。

【0254】

いくつかの実装形態において、光学システム8-140は、励起源8-110からの出力波長を、周波数2通倍を介してより短い波長へ、またはパラメトリック増幅を介してより長い波長へ変換するための非線形結晶を含んでもよい。例えば、レーザの出力は、非線形結晶において（例えば、周期的分極ニオブ酸リチウム（PPLN）において）、または他の非分極非線形結晶において周波数2通倍されてもよい。このような周波数2通倍プロセスによって、より効率的なレーザが、選択された蛍光体の励起により適した波長を生成することが可能となり得る。

【0255】

「特徴的波長」または「波長」という語句は、励起源により形成された放射の限定的なバンド幅内の中央または主要波長を指してもよい。場合により、これは、励起源により生成された放射のバンド幅内のピーク波長を指してもよい。励起源の特徴的波長は、例えば、生体解析装置内で使用される発光マーカまたはプローブの選択に基づいて選択されてもよい。いくつかの実装形態において、励起エネルギー源の特徴的波長は、選択された蛍光体の直接励起（例えば、単一光子励起）のために選択される。いくつかの実装形態において、励起源の特徴的波長は、間接的励起（例えば、多光子励起または直接励起を提供する波長への高調波変換）のために選択されてもよい。いくつかの実施形態において、励起放射は、検体ウェルに印加するための特定の波長で励起エネルギーを生成するように構成された光源により生成されてもよい。いくつかの実装形態において、励起源の特徴的波長は、検体からの対応する放出の特徴的波長より小さくてもよい。例えば、励起源は、500 nm～約700 nm（例えば、515 nm、532 nm、563 nm、594 nm、612 nm、632 nm、647 nm）の特徴的波長を有する放射を放出してもよい。いくつかの実装形態において、励起源は、例えば532 nmおよび593 nm等、2つの異なる波長に中心のある励起エネルギーを提供してもよい。

【0256】

いくつかの実装形態において、パルス式励起源は、発光マーカの放出寿命を測定するために、発光マーカを励起するように使用されてもよい。これは、放出物の色または波長で

はなく、放出寿命に基づいて発光マーカを区別するために有益であり得る。一例として、パルス励起源は、発光マーカを周期的に励起することにより、その後の光子放出を生じさせ、検出してもよく、これはマーカに関する寿命の判定に使用される。発光マーカの寿命測定は、発光マーカの寿命より短い期間に、励起源からの励起パルスがピークパルスパワーまたは強度から、より低い（例えば、ほとんど消失した）パワーまたは強度へと推移したときに可能であり得る。励起パルスが迅速に終了し、発光マーカの寿命が評価されている励起後の段階中にそれが発光マーカを励起し直すことがなければ有利であり得る。例えば、ただし限定ではないが、パルスパワーは、250ピコ秒後にピークパワーより約20dB、約40dB、約80dB、または約120dB低い数値まで低下し得る。いくつかの実装形態において、パルスパワーは、100ピコ秒後にピークパワーから約20dB、

10

【0257】

超短励起パルスを使用して発光マーカを励起するその他の利点は、マーカの光脱色を軽減させることである。連続的な励起エネルギーをマーカに印加すると、時間と共に発光マーカを漂白し、および／またはそれに損傷を与え得る。励起源のピークパルスパワーが、連続的な露光されるマーカに急速に損傷を与えるレベルよりはるかに大きくても、超短パルスの使用によって、マーカが励起エネルギーにより損傷を受ける前の時間量と有益な測定の回数を増やすことができる。

【0258】

パルス式励起源を使用して発光マーカの寿命を判別する場合、励起エネルギーのパルス間の時間は、各励起パルス後に放出イベントを観察し、評価するために、マーカの最も長い寿命と同じか、それより長くてもよい。例えば、励起パルス間の時間間隔T（図8-0B参照）は、調査された蛍光体の何れの放出寿命より長くてもよい。この場合、後続のパルスは、先行するパルスからの励起された蛍光体が合理的時間で蛍光を発するまでは到達しない。いくつかの実装形態において、間隔Tは、蛍光体を励起する励起パルスと、励起パルスが終了してから次の励起パルスまでの間に蛍光体により放出される次の光子との間の時間を判定するのに十分な長さである必要がある。

20

【0259】

励起パルス間の間隔Tは、蛍光体の減衰特性を観察するのに十分に長くするべきであるが、Tは、短時間で多くの測定を行うのに十分に短いことも望ましい。例えば、限定ではないが、いくつかの用途で使用される蛍光体の放出寿命は、約100ピコ秒～約10ナノ秒の範囲であってもよい。したがって、このような寿命を検出し、および／または判別するために使用される励起パルスは、その持続時間（FWHM）が約25ピコ秒～約2ナノ秒であってもよく、約20MHz～約1GHzの範囲のパルス繰返し率で供給されてもよい。

30

【0260】

さらに詳しく説明すると、寿命測定のためのパルス式励起源を作るために、何れの適当な励起エネルギー変調方式が使用されてもよい。レーザ等の励起源の直接変調は、励起源の電気駆動信号を変調するステップを含んでいてもよい。放出されるパワーはパルスの形状となる。光学励起パワーを含む光源のための入力パワー、および利得領域の一部からの励起状態キャリア注入および／またはキャリア除去、利得媒体の利得に影響を与えるように変調されてもよく、それによってダイナミック利得整形を通じた励起エネルギーのパルス形成が可能になる。それに加えて、光学共振器の品質（Q）値が、Qスイッチング技術を使用してパルスを形成するための各種の手段で変調されてもよい。このようなQスイッチング技術は能動的および／または受動的であってもよい。レーザの共振キャビティの長手方向モードは、モードロッキングを通じて放出光の一連のパルスを生成するために、フェーズロックされてもよい。このようなモードロッキング技術は、能動的および／または受動的であってもよい。レーザキャビティは、別の吸収区間を含んでいてもよく、それによってキャリア濃度の変調とその区間の吸収損失の制御が可能となり、そのため、励起パルスを整形するための追加のメカニズムが提供される。いくつかの実装形態において

40

50

、連続波（CW：continuous wave）光のビームを励起エネルギーのパルスの形態となるように変調するために、光学モジュレータが使用されてもよい。他の実施形態において、励起源に連結された音響光学モジュレータ（AOM：acoustical optical modulator）に送信される信号は、パルス式励起エネルギーを生成するための出力光の偏向、強度、周波数、位相、および／または偏光を変化させるために使用されてもよい。AOMはまた、連続波ビームスキニング、Qスイッチング、および／またはモードロッキングに使用されてもよい。上記の技術はパルス式励起源を作ることに関して説明されているが、発光マーカの寿命を測定するために、パルス式励起源を生成するための何れの適当な方法が使用されてもよい。

【0261】

いくつかの実施形態において、寿命測定に適したパルス式励起源の技術としては、光子放出を駆動する入力電気信号の変調を含んでいてもよい。いくつかの励起源（例えば、ダイオードレーザとLED）は、入力電流等の電気信号を光信号に変換する。光信号の特徴は、電気信号の特徴に依存していてもよい。パルス光信号を生成する中で、電気信号は時間と共に変化して、可変的な光信号を生成してもよい。電気信号を、特定の波長を有するように変調することにより、特定の波長を有する光信号を生成できる。電気信号は、特定の周波数の正弦波形を有していてもよく、その結果得られる光のパルスは、周波数に関連する時間間隔内で発生してもよい。例えば、周波数が500MHzの電気信号は、2ナノ秒毎に拍動する光信号を生成してもよい。相互に同様でも異なってもよい別々のパルス式励起源により生成される合成ビームは、相対的な経路の差が1mm未満であってもよい。

【0262】

レーザダイオード等のいくつかの励起源において、電気信号はキャリア濃度を变化させ、光子は電子正孔対を再び組み合わせることを通じて生成される。キャリア濃度は光信号に関係しており、キャリア濃度が閾値より高い場合、シミュレーションによる放出を通じて実質的な数のコヒーレント光子が生成される。レーザダイオードに供給される電流は、機器内に電子またはキャリアを注入してもよく、それによってキャリア濃度が高まる。キャリア濃度が閾値より高いと、光子は電流がキャリアに供給されるより高速で生成されてもよく、そのため、キャリアの濃度は閾値より減少し、光子の生成が減少する。光子の生成が減少すると、電流の注入と光子の吸収が続くために、キャリア濃度は再び増大し始め、最終的に再び閾値を超える。このサイクルの結果、キャリア濃度は光子生成のための閾値の周囲で変動し、振動する光信号が得られる。弛緩振動と呼ばれるこのようなダイナミクスは、キャリア濃度の変動によって、光信号内のアーチファクトの原因となり得る。電流がまずレーザに供給されると、キャリア濃度の変動により、光信号が安定下パワーに到達する前に振動があってもよい。パルス式励起源を形成する際、キャリア濃度の変動は、パルス式光信号に関するアーチファクトを導入し得る。例えば、図8-1のグラフは、キャリア濃度がどのように弛緩振動を有するか、および利得スイッチングによる変調を通じて、変動するパワーを有する、それに対応する光信号を示す。このような弛緩信号からのアーチファクトは、パルス式光信号の幅を広げ、および／または光信号のテールを生じさせ得、それによって、励起信号が発光マーカにより放出された光子と重なる可能性があるため、このようなパルス光源により検出可能な寿命が限定される。

【0263】

いくつかの実施形態において、発光マーカを検出するために必要な励起エネルギーを減少させ、それによって発光マーカの漂白およびその他の損傷を減少させ、または遅延させるために、励起パルスの持続時間を短縮するための技術が使用されてもよい。励起パルスの最大値、すなわちピークの後に励起エネルギーのパワーおよび／または強度を低下させ、それによってより短い寿命の検出を可能にするために、励起パルスの持続時間を短縮する技術が使用されてもよい。このような技術は、ピークパワーの後の励起パワーを低下させるために、励起源を電氣的に駆動してもよい。これは、図8-2に示されるようなパルスのテールを抑制し得る。電気駆動信号は、励起エネルギーのパルスの強度を、ピークパ

ルス後できるだけ早くゼロにするように調整されてもよい。調整された電気駆動信号を利得スイッチングと組み合わせた例が、図8-2に示されている。このような技術は、ピークパワーが生成された後に電気駆動信号の符号を反転させるステップを含んでいてもよい。このような調整された電気駆動信号は、図8-2に示される光出力を生成してよい。電気信号は、光信号の第一の弛緩振動または第一の変動の後にキャリア濃度を迅速に減少させるように調整されてもよい。第一の変動の後にキャリア濃度を減少させることによって、第一の変動のみの光パルスを生成できる。電気信号は、信号のピーク後に放出される光子の数を減らすことによって、光信号を迅速にオフにする短いパルスを生成するように構成されていてもよく、これはこのような電気信号の光出力を示す図8-3のグラフにより示されている。ピコ秒のレーザダイオードシステムは、いくつかの実施形態によれば、光パルスを放出するように設計されてもよい。図8-4は、ピーク985mW、幅84.3ピコ秒の例示的な光パルスと、ピークの約250ピコ秒後に約24.3dBだけ減少した信号のグラフを示す。いくつかの実施形態において、半導体可飽和吸収ミラー（SESA M: semiconductor saturable absorber）を含む可飽和吸収手段が光学的テールを抑制するために使用されてもよい。このような実施形態において、可飽和吸収手段の使用は、光学的テールを3~5dBだけ、またはいくつかの例では5dBより大きく抑制できる。励起パルス内のテールの影響を小さくすることによって、励起エネルギーをさらにフィルタ処理する必要性が低下し、および／またはなくなり、測定可能な寿命の範囲が広がり、および／またはパルス速度をより高速にできる可能性がある。励起パルス速度を高めることにより、ある時間内により多くの実験をできることになりえ、これによって検体物質に標識するマーカのための寿命を識別するのに十分な統計を得るために必要な時間も短縮し得る。

【0264】

それに加えて、これらの技術の2つ以上を一緒に使用して、パルス式励起エネルギーを生成してもよい。例えば、直接変調される励起源から放出されるパルス式励起エネルギーは、光変調技術を使用してさらに変調されてもよい。励起パルスを変調し、電気パルス駆動信号をカスタム化するための技術は、寿命測定を実行するためのパルス式励起エネルギーを最適化するために、任意の方法で組み合わせられてもよい。カスタム化された電気駆動信号は、直接変調励起源からのパルス式励起エネルギーに印加されてもよい。

【0265】

いくつかの実施形態において、特定の数のワイヤボンドを有するレーザダイオードがパルス式励起源として使用されてもよい。より多くのワイヤボンドを有するレーザダイオードは、励起源のインダクタンスを低下させることができる。よりインダクタンスの低いレーザダイオードによって、レーザ内への電流がより高周波数で動作できることになる。図8-5に示されているように、50オームの伝送線で18Vパルスにより駆動されると、3オームの直列抵抗成分と36のワイヤボンドを有するレーザ源は、より少ないワイヤボンドのレーザ源より高周波数で高電流を有する。インダクタンスを最小化するパッケージング方法を選択することによって、より高い周波数で励起源に供給されるパワーを改善してもよく、それによって励起パルスの短縮、ピーク後の光パワー減衰の高速化、および／または発光マーカ検出のパルス反復率増大が可能となる。

【0266】

いくつかの実施形態において、伝送線が励起源と共に光パルス生成のために使用されてもよい。伝送線は、光パルスの性能および／または品質を改善するために、レーザダイオードのインピーダンスとマッチしてもよい。いくつかの実施形態において、伝送線のインピーダンス50オームであってもよい。いくつかの例において、終端抵抗は、反射を防止するために線の抵抗と同様であってもよい。その代わりに、またはそれに加えて、終端インピーダンスは、反射防止のために、線インピーダンスと同様であってもよい。終端インピーダンスは、負のパルスを反射するために、線インピーダンスより小さくてもよい。他の実施形態において、終端インピーダンスは、負の反射パルスの形状を制御するために、容量またはインダクタンス成分を有していてもよい。他の実施形態において、伝送線によ

り高周波数のパルスが可能となる。図8-6Aは、伝送線パルサの例示的プロトタイプを示し、図8-6Bは、このような伝送線で得られる例示的な光パルスを示す。伝送線の使用により、40MHz~500MHzの範囲の周波数を有する電気パルスが生成されてもよい。伝送線は、特定の持続時間と具体的な時間間隔を有する光パルスでパルス式光源を生成するために、上述のようなカスタム電気信号と共に使用されてもよい。

【0267】

電気信号をカスタム化して、光パルスの生成を改善するための技術は、励起源を負のバイアス能力を有する回路に接続するステップを含んでもよい。いくつかの実施形態において、光パルス放出の後に励起源に負のバイアスがかけられて、光パルスのテールの放出を減少させてもよい。図8-7は例示的回路を示し、これは、電流源と、ダイオードレーザと、抵抗器と、コンデンサと、スイッチとを含み、これらは光パルスのテールの存在を減少させるために実装されていてもよい。このような回路は、スイッチが閉じているとき、すなわち導電状態のときに、ダイオードレーザをバイパスする定電流を生じさせてもよい。スイッチが開いているとき、スイッチは高抵抗を有していてもよく、電流はダイオードレーザを通して流れることができる。光パルスは、スイッチを開閉してダイオードレーザに間欠的電流を供給することによって生成されてもよい。いくつかの例において、抵抗器は十分に高く、コンデンサは十分に小さくてもよく、それによってスイッチが開くとコンデンサに電圧が生じ、ダイオードレーザが光を放出する。スイッチが閉じていると、コンデンサの電圧がダイオードレーザを逆バイアスする。このような逆バイアスは、光パルス内のテールの存在を減少させ、または除去できる。このような例では、スイッチは、光パルスのピークの後に閉じて、ピーク光パルスの直後のレーザパワーを減少させるように構成されてもよい。回路内の抵抗器の値は、スイッチがその後開き、および／またはその後の光パルスがレーザダイオードにより生成される前に、コンデンサの電荷が放出されるように選択されてもよい。

【0268】

レーザダイオードの電気信号をカスタム化して、光パルスを生成するために、追加の回路構成要素が提供されてもよい。いくつかの実施形態において、複数のコンデンサ、抵抗器、および電圧をネットワーク回路として接続して、レーザダイオードに供給される電気信号の波形を制御してもよい。制御される波形は、N個のコンデンサ分岐回路があるとき、対応する信号S1、S2、...、SNで様々な電圧V1、V2、...、VNを切り換えることによって生成してもよい。4つのコンデンサ分岐回路の例示的なネットワーク回路が図8-8に示されており、制御される電気波形は、それぞれ信号S1、S2、S3、およびS4で電圧V1、V2、V3、およびV4を切り換えることによって生成されてもよい。いくつかの実施形態において、電圧V1、V2、V3、V4は可変であってもよい。図8-8に示される例において、V4はレーザに対して負であり、信号S4に応じて逆バイアスを生じさせてもよい。レーザにより放出される光パルスの周波数のタイミング、各光パルスの持続時間、および各光パルスの特徴は、信号入力S1、S2、S3、およびS4で調整されてもよい。いくつかの実施形態において、別の抵抗を追加してピーク電流を低下させてもよい。このような例において、スイッチS1、S2、S3、S4の1つまたは複数の後に抵抗が追加されてもよい。図8-8は4つのコンデンサと4つの電圧を有する1つの構成を示しているが、レーザダイオードへのカスタム電気信号を生成して、寿命測定のための光パルスを生成するために、何れの適当な構成と、何れの適当な数の追加の回路構成要素が提供されてもよい。

【0269】

いくつかの実施形態において、光パルスを生成するための電気信号は、無線周波数(RF: radio frequency)および／またはマイクロ波構成要素をはじめとする個別構成要素を有する回路を使用してもよい。このような回路に含めることのできる個別部品は、DCブロック、アダプタ、ロジックゲート、ターミネータ、位相シフタ、遅延回路、減衰器、コンパイナ、および／またはRF増幅器である。このような部品は、特定の振幅を有する正の電気信号と、それに続く別の振幅の負の電気信号を生成するために使

10

20

30

40

50

用されてもよい。正および負の電気信号間には遅延があってもよい。図8-9Aは、1つのRF増幅器を有する例示的な回路を示しており、これは、光パルスを放出するためのレーザダイオード等の励起源に供給できる、例えば図8-9Bに示されるパルスプロファイルのカスタム電気信号を出力パルスとして生成するために使用できる。このような回路は、光パルスのパワーを増大させるために使用可能な異なる出力を生成してもよい。回路の個別部品を調整することによって、電気出力信号は、寿命測定に適した光パルスを生成するために調整されてもよい。図8-10Aに示される例において、2つのRF増幅器が使用され、図8-10Bに示されるプロファイルを有する出力パルス信号を生成し、これは、正の電気信号パルスとそれに対応する負の電気信号パルスからなり、正および負の電気信号パルスが重複して同様の幅を有する。

10

【0270】

いくつかの実施形態において、励起源を組み合わせて、寿命測定のための光パルスを生成してもよい。同期させたパルス源を特定の距離にわたり、回路または負荷に接続してもよい。いくつかの実施形態において、励起源を回路に並列に接続してもよい。励起源は、同じソースからでも、複数のソースからでもよい。複数のソースを有するいくつかの実施形態において、複数のソースは異なる種類の励起源であってもよい。ソースを組み合わせる場合、回路と励起源のインピーダンスを考えて、十分なパワーが励起源に供給されるようにすることが重要であり得る。ソースの組合せは、パルス式励起源を生成するための上述の技術の1つまたは複数を使用して実現してもよい。図8-11Aは、1つまたは複数のインピーダンス値を有する4つの異なるソースを組み合わせる場合の概略図を示す。図8-11Bは、インピーダンスに関する電流、パワー効率、および電圧のグラフを示す。この例示的な実施形態は、50オームの伝送線上でパワーを供給する4つのソースを示し、負荷のインピーダンスが個々の線のインピーダンスとソースの数との比と等しいときに最適な電力供給が行われることを示している。

20

【0271】

励起源は、励起源に電源を供給するように配置されたバッテリーまたは他の何れの電源を含んでいてもよい。例えば、励起源はベースとなる機器内に配置されてもよくその動作電力は、それが（例えば、導電電源リードを介して）集積生体解析装置を通じて受け取られてもよい。励起源は、集積生体解析装置の制御とは独立して制御されても、またはそれと連動していてもよい。一例にすぎないが、励起源のための制御信号は、無線で、またはパーソナルコンピュータおよび／または集積生体解析装置との有線相互接続（例えば、USB相互接続）を介して、励起源に供給されてもよい。

30

【0272】

いくつかの実施形態において、励起源は、集積装置の1つまたは複数のセンサとタイムゲート方式および／または同期方式で動作してもよい。例えば、励起源をオンにして発光マーカを励起し、その後、オフにしてもよい。センサは、励起源がオンであるときにオフにされてもよく、その後、励起源がオフにされた後のサンプリング間隔中にオンにされてもよい。いくつかの実施形態において、センサは、サンプリング間隔中にオンにされてもよく、その一方で励起源はオンにされる。

I V. 励起源と集積装置とのアラインメント

40

1つまたは複数の励起源からの励起エネルギーを集積装置上の格子カプラに位置決めすることは、何れの適当な技術を使用して行われてもよい。いくつかの実施形態において、励起エネルギーは、励起源から1つまたは複数の光学構成要素を通じて格子カプラに誘導されてもよい。このような実施形態において、励起エネルギーは集積装置に投射されてもよい。このような励起源のアラインメントは、励起源および／または光学構成要素を位置決めすることによりアクティブ方式で実行されてもよい。他の実施形態において、励起源は、励起源を格子カプラに関して位置決めする構成要素を通じて格子カプラと整列されてもよい。このような励起エネルギー源の位置決めは、フェルール内に励起エネルギーを提供するように構成された光ファイバのパッシブアラインメントを通じて行われてもよい。このような実施形態において、励起源は直接または間接に集積装置に接続されてもよい。

50

A. アクティブアラインメント

1つまたは複数の励起源と集積装置とのアラインメントは、励起エネルギーが検体ウェルに送達される前に1回、および／または集積装置が解析に使用されている間に複数回行われてもよい。励起エネルギーを集積装置に結合するために、1つまたは複数の励起源のアラインメントおよび／または安定化のための何れの適当な技術が使用されてもよい。いくつかの実施形態において、外部励起源を集積装置に整列させ、その後、その位置に固定してもよく、集積回路が解析に使用されている間にわたり、それ以上調整する必要がない。他の実施形態において、励起源と集積装置とのアラインメントを改善するために、フィードバックメカニズムが提供される。フィードバックメカニズムは、手動アラインメントメカニズムを使用するオペレータに関連して使用され、励起源をフィードバック信号に基づいて整列させてもよい。他の例において、自動アラインメントメカニズムが、励起源と集積装置とのアラインメントをフィードバック信号に基づいて自動的に調節してもよい。自動アラインメントは、集積装置が動作する前に、および／または測定値を得る前に行われてもよい。自動アラインメントはまた、集積装置の動作中、測定値が取得されている間に行われてもよい。いくつかの例において、自動アラインメントが行われるタイミングは、センサが能動的に測定値を取得していないときに対応してもよい。励起源と集積装置とのアラインメントを再調整することにより、1つまたは複数の検体についての経時的な励起源の安定性および／またはセンサ測定の一貫性を改善できる。

【0273】

アラインメントは、フィードバック信号に基づき、複数の寸法においてアクティブ式に制御される。複数の寸法には、格子カプラへの励起エネルギービームのx-y横方向位置、格子カプラの方向に沿ったビームの入射角、ビームの焦点のz方向、および／または格子カプラの方向に垂直なビームの直交入射角を含んでいてもよい。励起源は、フレームマウントを通じて集積装置に接続されてもよい。このようなアラインメントメカニズムは、1つまたは複数のサーボ制御光学要素を使用して実行されてもよい。アクティブアラインメントメカニズムは、集積装置内の1つまたは複数の導波路への励起源の全体的な結合効率を増大させてもよい。このようなアラインメントメカニズムにより、他のアラインメント方式と比較して、使い捨て集積装置に関連する追加のコストが削減され、および／または他のアラインメント方式により必要となる集積装置上でのフットプリントが縮小される。それに加えて、アクティブアラインメントメカニズムによれば、オペレータがそのような集積装置および／またはシステムを操作するのに必要となる訓練が減少する。

【0274】

アラインメントを実行する構成要素は、励起源および集積装置の構成によって異なり得る。いくつかの実施形態において、集積装置および励起源は別々のモジュールに構成されてもよい。基本機器は暗箱を含み、これは蓋と、集積装置を電気回路に接続して集積装置上のセンサから電気信号を検出するためのソケットとを有する。励起源モジュールは、1つもしくは複数の励起源、1つしくは複数の励起源のためのソケット接続、および／または光を集積装置に誘導するための光学構成要素を含んでいてもよい。レーザが励起源として使用される場合、励起源モジュールはレーザモジュールと呼ばれてもよい。

【0275】

いくつかの実施形態において、光学構成要素は自由空間で励起源を集積装置に結合する。ミラーおよび／または追加の光学構成要素が励起エネルギーを励起源から導波路に誘導してもよい。降格構成要素は、励起源の焦点深度を増大させてもよい。図9-1は、集積装置9-102を受けるように構成された基本機器9-112を示している。基本機器9-112はミラー9-114を含み、これは励起源モジュール9-110から受け取られた励起エネルギー（破線で示される）を誘導し、励起エネルギーを集積装置9-102のある領域、例えば格子カプラに近接する表面に向かって誘導するように構成される。励起源モジュール9-110は、励起源9-106と調整メカニズム9-108とを含む。アラインメントメカニズム9-108は、励起エネルギーの集積装置への結合を改善するために、励起源および／または光学構成要素を整列させるための励起源9-206のx、y

、z位置、xおよびy入射角、z位置決めまたは焦点を調整してもよい。このような光学構成要素は、ミラー、リフレクタ、レンズ、プリズム、回折格子、および／または傾斜可能ウィンドウ、例えば図9-3において配置されている光学構成要素の例示的集合を含んでいてもよい。励起源9-106のアラインメントは、集積装置9-102からのフィードバック（実線の矢印で示される）を通じて判定され、励起源モジュール9-110により、集積装置9-102に結合されたソケット9-116を通して受け取られてもよい。ソケット9-116により受け取られた電気信号は、励起源9-106のアラインメントを示していてもよい。このような電気信号は、アクティブフィードバックプロセスにおいて、集積装置9-102から受け取られた電気信号を励起源モジュール9-110へと送信し、アラインメントメカニズム9-108および／または励起源9-106の1つまたは複数のパラメータの調整を示す信号をアラインメントメカニズム9-108に供給することによって使用されてもよい。電子信号が励起源モジュール9-110により受け取られると、アラインメントメカニズム9-108は、励起源9-106および／または光学構成要素の位置を調整することから構成されてもよい。このようなアラインメントプロセスは、自動的におよび／または手動で行われてもよい。

10

【0276】

いくつかの実施形態において、ミラーは励起源モジュールの一部として提供される。図9-2は、励起エネルギー（破線で示される）を集積装置9-202に誘導するように構成されたミラー9-214を含む励起源モジュール9-210の概略図を示す。基本機器9-212は、集積装置9-202および励起源モジュール9-210を受け取るように構成され、ミラー9-214が励起エネルギーを励起源9-206から集積装置9-202に誘導するように位置付けられる。アラインメントモジュール9-206は、励起源9-206および／またはミラー9-214の1つまたは複数のパラメータを、励起源モジュール9-210が9-202に結合するように構成されたソケット9-216から受け取られたフィードバック信号（実線の矢印で示される）に基づいて変更してもよい。フィードバック信号は、励起エネルギーの集積装置9-202の領域（例えば、格子カプラ）とのアラインメントの表示を提供してもよい。アラインメントメカニズム9-208は、励起エネルギーの集積装置への結合を改善するために、励起源9-206および／または光学構成要素のx、y、z位置、xおよびy入射角、およびz位置決めまたは焦点を調整してもよい。このような光学構成要素は、ミラー、リフレクタ、レンズ、プリズム、回折格子、および／または傾斜可能ウィンドウ、例えば図9-3において配置されている光学構成要素の例示的集合を含んでいてもよい。

20

30

【0277】

いくつかの実施形態において、励起源モジュールからの励起エネルギーは、図9-4に示される例のように、光ファイバを通じて基本機器に結合される。光ファイバは、励起源からの励起エネルギーを基本機器の入力に接続する。いくつかの実施形態において、光ファイバはシングルモードファイバである。基本機器内の光学構成要素は、励起エネルギーを集積装置へと誘導する。励起エネルギーの集積装置とのアラインメントは、このような光学構成要素を通じて行われてもよい。集積装置により受け取られる電気信号からのフィードバックは、励起エネルギーの集積装置とのアラインメントを改善するための、基本機器内の1つまたは複数の光学構成要素の調整を指示してもよい。

40

【0278】

集積装置の上に置かれる励起モジュールの別の例が図9-5～9-11に示されている。励起源モジュールは、励起エネルギーを9-501に位置付けられる集積装置上の1つまたは複数の格子カプラに励起エネルギーを送達するために、光学およびアラインメント構成要素に加えて1つまたは複数の励起源を含む。アラインメント構成要素はモジュール9-502内に含められ、集積装置9-501の上に位置付けられる。励起源の集積装置との粗いアラインメントは、スチール製の玉軸受を集積装置の表面に載せ、励起源モジュール上に、スチール製玉軸受と自動的に整列する磁化された溝を形成することによって行われてもよい。図9-6に示されるように、集積装置表面9-501に3つの玉軸受9-

50

503が結合されており、励起源モジュールは3つの径方向V字溝9-504を有し、それらが3つの玉軸受と自動的に整列して、全ての並進3自由度および全ての回転3自由度を含め、集積装置に対する励起源モジュールの位置決めを安定化させる。励起源モジュール9-502はヒンジピン9-505を含んでいてもよく、それによって、集積装置にアクセスできるように、モジュールは集積装置と反対方向に上昇位置へと傾けられる。図9-6は、上昇位置にある励起源モジュールを示している。図9-7は下降位置にある同じ励起源モジュールを示しており、このとき、スチールの玉軸受は磁化された溝と整列している。励起源モジュールの表面上に、励起源、この例ではレーザダイオードを有する回路板9-506がある。レーザダイオード、コリメートレンズ9-508、およびヒートシンク9-507を有する回路板9-506が、図9-8にさらに詳しく示されている。プリント回路板は、レーザダイオードを駆動し、支持するための回路を有していてもよい。レーザダイオードからの光を集光するための集光可能コリメートレンズがあってもよい。それに加えて、放熱のためのヒートシンクがレーザダイオードを取り囲む。励起源モジュールは、図9-9に示されるように、コリメートされたレーザビームのための入射ポート9-509を有する。入射ポートは熱伝導ブロック9-510により取り囲まれ、これは、レーザダイオードのヒートシンクを受ける。それに加えて、ロータリアクチュエータ9-511a、9-511b、および9-511cが励起源モジュール上に提供されて、集積装置に送達されるビームのx-y位置と入射角を制御する。ロータリアクチュエータは、回転運動またはトルクを生成する何れの適当なアクチュエータであってもよく、これにはステップモータとサーボが含まれる。ロータリアクチュエータは、光路に沿って傾斜可能なウィンドウとして機能する平坦で平行な平板を制御する。平板の各々の傾斜は、対応するロータリアクチュエータにより制御される。レーザダイオード等の点光源を使用する場合、平坦で平行な平板を光路内の集光レンズの前に組み込むことによって入射角を調整でき、その一方で、平坦で平行な平板を集光レンズの後に組み込むと、ビームのx-y位置を調整できる。励起源モジュール内部の光学構成要素は、図9-10に示される断面図で示されているように、レーザダイオードからの光を誘導し、変調する。光ビームの経路は点線で示されている。光ビームは、励起源モジュールの上面から入り、すなわち図の平面に背後から入り、45度プリズムにより反射されて、図9-10の平面図の上方へと伝播する。平坦で平行な平板9-512を有するロータリアクチュエータ9-511が光路に沿って、入射角が調整可能なアナモルフィックプリズム9-513の前に提供される。アナモルフィックプリズムは、ビームを1方向に拡縮して、ビームの断面を楕円形のプロファイルから実質的に円形のプロファイルに調整する。ビーム拡縮量は、プリズムの入射角により制御される。したがって、光ビームは他のプリズム9-514により反射されて集光レンズ9-515を通過し、ビームを集積装置上で集光させる。次に、ビームはロータリアクチュエータにより駆動されるさらに2つの傾斜可能なウィンドウ9-516を通過し、それによって集積装置上のビームのx-y位置が調整されて、光ビームは図9-10において、図の平面から垂直に、見ている人に向かって伝播する。励起源モジュール内の3つのロータリアクチュエータの位置決めを示す別の視点が図9-11に示されている。

【0279】

励起源から集積装置への励起エネルギーの通路に沿ったアラインメントは、集積装置が基本機器内に位置付けられた後の何れの適当な時期に行われてもよい。いくつかの実施形態において、励起源および／または励起源モジュールまたは基本機器の何れかにおける光学構成要素のアラインメントが当初に得られ、その後の再アラインメントプロセスは行われない。このようなアラインメント手順は、初期静的アラインメントと呼ばれてもよい。初期静的アラインメントプロセスは、手動でも自動でも、または手動および自動プロセスの組合せでもよい。いくつかの実施形態において、励起源および／または光学構成要素のアラインメントでは、連続的なアクティブアラインメントプロセスで複数回にわたり再アラインメントが行われる。連続的なアクティブアラインメントプロセスは、集積装置からのフィードバック電気信号に基づいて自動的に行われてもよい。いくつかの実施形態にお

いて、アラインメントプロセスは、初期の手動アラインメントと、その後の連続的アクティブアラインメントとを含んでいてもよい。

【0280】

励起エネルギーのビームの各種の考え得るパラメータが、アラインメントプロセス中に調整されてもよい。このようなパラメータには、 $x-y-z$ 位置、焦点、導波路に関する角度、導波路に対して垂直な角度、および／またはビームの倍率、アスペクト比、および／または非点収差成分が含まれていてもよい。集積装置に対する投射励起エネルギービームアラインメントの変形形態が図9-12に示されている。

B. パッシブアラインメント

1つまたは複数の励起源の位置決めは、励起エネルギーを搬送する光ファイバの集積装置に対するパッシブアラインメントを通じて行われてもよい。パッシブアラインメント方式は、光ファイバを格子カブラに関して確実に位置決めすることにより、励起エネルギーを導波路に結合する一連の構成要素が含まれていてもよい。コンポーネントは、プラスチックおよび金属を含む何れかの適当な材料で製造される。パッシブアラインメント構成要素は、特定の大きさの光ファイバを収容するための何れかの適当な大きさである。それに加えて、構成要素は、光ファイバを集積装置に容易に接続し、それから切断できる設計とされてもよい。

【0281】

いくつかの実施形態において、パッシブアラインメント構成要素のいくつかは、励起エネルギーを搬送し、フェルールを集積装置に関して整列させる光ファイバのためのフェルールを接続し、位置決めするためのレセプタクルを形成してもよい。レセプタクルは、プラスチックまたは金属等、何れの適当な材料で製作されてもよい。レセプタクルは、フェルールを格納する大きさであってもよい。

【0282】

パッシブアラインメント構成要素は、集積装置に対する光ファイバの位置決めを実現するための機械的基準構成要素を含んでいてもよい。機械的基準構成要素は、集積装置上の格子カブラに関する光ファイバの位置決めにおける精度を向上させることができる。機械的基準構成要素は、集積装置の表面上にあってもよい。いくつかの例において、機械的基準構成要素は、集積装置の表面に対するフェルールのアラインメント角度を設定する。機械的基準構成要素は、集積装置の表面からの距離を、ファイバフェルールが集積装置の表面と接触しないように設定してもよい。それに加えて、またはその代わりに、機械的基準構成要素は、正しいアラインメントが実現できたことを使用者が識別できるようにするためのインジケータを提供してもよい。一例として、機械的基準構成要素は、レセプタクル内のファイバフェルールの正しいアラインメントを視覚的に表示してもよい。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のパッシブアラインメント構成要素に関するファイバフェルールの正しい回転位置決めを実現するために、ファイバフェルールにクリップが取り付けられてもよい。

【0283】

図9-12～9-16には、ファイバフェルールのためのレセプタクルおよび／または機械的基準を形成することのできる例示的なパッシブアラインメント構成要素が示されている。ファイバフェルールはフェルール壁9-1201とシングルモードファイバ(SMF: single-mode fiber)コア9-1202を有する。いくつかの実施形態において、ファイバフェルールの直径は0.5mmであってもよい。図9-12に示されるように、例示的なレセプタクルの平面断面図は構成要素9-1203を含んでいてもよく、これは2つのアラインメント壁を有し、それがレセプタクルを形成し、ファイバフェルールがレセプタクル内に位置付けられるとファイバフェルールと接触する。アラインメント壁は、90度の角度のコーナを形成してもよい。いくつかの実施形態において、アラインメント壁の1つは、任意選択により、集積装置の表面に対する垂直線から5度傾斜されていてもよい。機械的基準構成要素は、ファイバフェルールをレセプタクル内に位置付けてもよい。いくつかの実施形態において、集積装置の表面上の機械的基準構成要素

は、2つのアラインメント壁により形成されるレセプタクルのコーナと整列する第一の機械的基準シリンダと、アラインメント壁構成要素の辺と整列する第二の機械的基準シリンダとを含んでいてもよい。第一の機械的基準シリンダ9-1205は「コーナパッド」と呼んでもよく、第二の機械的基準シリンダ9-1204は「サイドパッド」と呼んでもよい。機械的基準シリンダは、集積装置の表面上に金を電気めっきすることにより形成されてもよい。追加の機械的基準構成要素には、集積装置の表面上に位置付けられた、ファイバフェルールの端と集積装置の表面との間の距離を維持するための1つまたは複数のZストップパッド9-1206が含まれていてもよい。Zストップパッドは、集積装置の表面上に金を電気めっきすることによって形成されてもよい。いくつかの実施形態において、成型プラスチッククリップ9-1207がファイバフェールに取り付けられて、アラインメント壁構成要素に関する回転アラインメントを提供し、アラインメント壁構成要素に取り付けることによってフェルールを2つのアラインメント壁のコーナ内に位置付ける。成型プラスチックの集積装置はまた、フェルールを集積装置の表面からある距離に位置付け、フェルールをレセプタクルに挿入する際のZストップとなるように構成されてもよい。

10

【0284】

図9-13はパッシブレセプタクルのある実施形態の図9-12に示される線A-A'に沿った断面図を示し、ファイバフェルールが集積装置の表面9-1208に関して整列されている。ファイバフェルールの端は、ファイバコア方向に対する垂直線から8度傾斜されていてもよい。このような角度は、ファイバフェルールの端を研磨することにより形成されてもよい。1つまたは複数のZストップパッドおよび/またはコーナパッドが集積装置の表面上に提供されていてもよい。ファイバコアは、レセプタクル内に位置付けられたときに、励起エネルギーを導波路に結合するために、集積装置内の格子カブラ9-1209と重複してもよい。

20

【0285】

ファイバフェルールのアラインメントの他の実施形態が図9-14に示されており、これは図9-12に示される線A-A'に沿った断面を示す。この実施形態において、成型プラスチッククリップ9-1207がファイバフェルール9-1201に取り付けられて、ファイバフェルールをアラインメント壁構成要素9-1203に関し、フェルールがアラインメント壁と接触して、2つのアラインメント壁間の90度コーナ内に押し込まれるように位置決めする。ファイバフェルールに取り付けられた成型プラスチッククリップはまた、ファイバフェルールの端から延びて、成型プラスチッククリップが集積装置と接触したときにファイバフェルールの端が集積装置の表面からある距離に位置付けられるようにする部分を有することによって、ファイバフェルールのためのZストップを提供してもよい。

30

【0286】

他の実施形態において、集積装置の金属表面に段差が形成されて、ファイバフェルールの位置決め時のZストップを提供する。図9-15は、図9-12の線A-A'に沿ったこのような実施形態の断面図を示す。ファイバフェルール9-1201が位置付けられるとき、ファイバフェルールの端が段差9-1210と接触し、ファイバフェルールを集積装置の表面に関して位置決めする。

40

【0287】

図9-16は、アラインメント壁9-1603の1つが集積装置の表面に対する垂直線に関して5度の角度を有する実施形態を示す。このようなレセプタクルに位置付けられる、ファイバフェルールは傾斜したアラインメント壁と接触して、ファイバコアまた、集積装置の表面に対して垂直な角度である。ファイバフェルールの端は、ファイバコアの方向に対して垂直であってもよい。このような実施形態において、ファイバフェルールの端は斜めに研磨されなくてもよく、それは、集積装置の表面に対する光ファイバの角度が、アラインメント壁の角度により実現されるからである。

【0288】

50

いくつかの実施形態において、ファイバフェルールは、成型プラスチック構成要素内に、集積装置の表面に実質的に平行に位置付けられてもよく、成型プラスチック構成要素は、光を誘導するための1つまたは複数のレンズを有していてもよい。このようなファイバフェルールからの励起エネルギーは、光ファイバから、成型プラスチック構成要素を通して伝播し、集積装置の表面の格子カブラと結合してもよい。成型プラスチック構成要素は、励起エネルギーを格子カブラへと誘導するための屈折率を有する材料から製作されてもよい。それに加えて、成型プラスチックは、励起エネルギーを格子カブラへと誘導するためのエッジ角を有するように形成されてもよい。ファイバフェルールは、成型プラスチック構成要素内に位置付けられると、成型プラスチック構成要素内で、屈折率と成型プラスチック構成要素の1つまたは複数のエッジ角との組合せを通じて、励起エネルギーが集積装置の表面の格子カブラへと誘導されるように整列されてもよい。図9-17は、直径500マイクロメートルのファイバフェルールに適合するように構成された例示的成型プラスチック構成要素を示す。光ファイバからの励起エネルギーは、コリメート面を通して傾斜面へと伝播し、傾斜面で反射され、特定の屈折率の成型プラスチックを通して格子カブラへと伝播する。集積装置の表面での励起エネルギーの入射角は、傾斜面の角度と材料の屈折率に依存してもよい。いくつかの実施形態において、傾斜面は、45度から入射角対屈折率の比を差し引いて傾斜させ、励起エネルギーを集積装置に整列させてもよい。

10

【0289】

図9-18は、ファイバフェルール、アラインメント壁構成要素、および集積装置の例示的配置を示している。ファイバフェルールは、集積装置のアラインメント壁構成要素内に位置付けられる。ファイバフェルール直径は0.5mmである。アラインメント壁の厚さは0.75mmである。アラインメントパッドはレセプタクル内に位置付けられ、その直径は200マイクロメートルである。このようなレセプタクル内に位置付けられると、光ファイバからの励起エネルギーは、特定の長さを有する集積装置の方向に整列された初期導波路と結合してもよい。いくつかの実施形態において、初期導波路は、長さ約9mmの集積装置の方向に整列される。

20

【0290】

図9-19は、ファイバコアからの励起エネルギーの、格子カブラを介した導波路への結合を示している。いくつかの実施形態において、励起エネルギーのビームは、直径15マイクロメートルまで拡張してもよい。格子カブラの特徴部の曲率半径は約81マイクロメートルであってもよく、格子カブラは励起ビームを再集光する。したがって、格子カブラは励起エネルギーをホーンおよび最終的に導波路に向かって再集光してもよい。

30

【0291】

いくつかの実施形態において、パッシブアラインメントは、カブラに投射されたビームを通じて行われてもよい。励起エネルギーのビームの投射は、光学装置が正しいアラインメントを可能にするのに十分に安定している場合に行われてもよい。製造中、ビームのアラインメントは、集積装置が正しく位置付けられるとビームが集積装置上の格子カブラに結合するように設定され得る。集積装置は、励起源を含むレーザモジュールに対する挿入された集積装置の正確なアラインメントを必要とする技術を用いて挿入され得る。一例として、挿入された集積装置のアラインメントは、キネマティックボールおよびロッドを使用してパッシブ式に実現されてもよい。この場合、集積装置上に位置付けられたボールにより、レーザモジュールは集積装置と整列し、さらに、集積装置が使用者の手元に置かれた後に、集積装置をレーザモジュール整列させることができる。いくつかの実施形態において、集積装置の位置精度はビーム径以内である。一例として、ボールを集積装置上にセットすることにより、20μmのビームを5μm以内の精度で位置決めすることができる。いくつかの例において、格子カブラに対するビームの角度は、数ミリラジアン以内であってもよい。それに加えて、集積装置上のボール間の間隔は、集積装置を光モジュールに関して手作業でよりよく設置できるように調整されてもよい。一例として、ボールを5mm超だけ離間させることによって、手作業での設置をミリラジアンの精度で行うことができる。このようなパッシブアラインメント方式により、システムに関する全体的コストが

40

50

低減し、システムの動作に干渉し得るアクティブアラインメント方式の必要性が低下し得る。

C. 励起エネルギーモニタセンサ

様々なモニタセンサが集積基板内に形成され、集積装置内の異なる位置における励起エネルギーの強度および／またはパワーをモニタするように構成されてもよい。このようなモニタセンサにより生成される電気信号は、集積装置の動作中、フィードバックプロセスにおいて使用されてもよい。モニタ信号からの電気信号はまた、集積装置を通して伝播した励起エネルギーの品質低下を示していてもよく、オペレータに対してエラー信号を生成する。これには、励起源が故障した、または故障しつつあるとの表示が含まれてもよい。いくつかの例において、モニタセンサは、格子カプラに対する励起エネルギーのアラインメント中にフィードバック信号を提供してもよい。モニタセンサは、光検出器とフォトダイオードをはじめとする光センサを含む何れかの適当なセンサであってもよい。

10

【0292】

モニタセンサは、導波路に沿った励起エネルギーをモニタするために提供されてもよい。センサは、励起エネルギーが最初に導波路と結合する導波路の始点、導波路が検体ウェルの列と結合した後の導波路の端、および／または導波路の長さに沿った何れの箇所を提供されてもよい。格子カプラは、導波路からの励起エネルギーの結合を改善して、センサにより検出されるようにするために形成されてもよい。モニタセンサからの情報は、システムの部品を制御するため、および／または信号処理用の入力として使用されてもよい。

【0293】

20

いくつかの実施形態において、モニタセンサは格子カプラの下に位置付けられて、格子カプラを通過する励起エネルギーを受け取る。このようなセンサにより検出される励起エネルギーの強度に基づく信号は、励起エネルギービームを格子カプラに位置付け、整列させるために使用されてもよい。いくつかの例において、複数のモニタセンサが格子カプラの下に配置される。複数の穴を有し、金属等の不透明材料の層が格子カプラと複数のセンサとの間に配置されてもよい。不透明層の各穴は各センサと重複して、穴を通る励起エネルギーがセンサによって検出される。各穴を通過する励起エネルギーを複数のセンサで検出することにより、格子上の励起エネルギービームの位置が判断されてもよい。図9-20はこのような配置の一例を示し、金属層内の4つの穴9-2010が、光が4つのセンサ9-2008を通過できるように位置付けられており、これらは4眼光検出器と考えることができる。励起エネルギー9-2004は、格子カプラ9-2002およびテーパ付き導波路9-2006に結合すると、励起エネルギーの一部が金属層の穴9-2010を通過してセンサ9-2008の1つまたは複数へと通過してもよい。金属層は、穴9-2010を有さない領域において反射層として機能してもよく、励起エネルギー9-2004の格子カプラ9-2002および導波路9-2006との結合を改善できる。センサ9-2008からの信号は、アラインメントフィードバックのためのベクトルを提供し、これはフィードバックループ内での各調整に必要な大きさおよび符号の両方を推測するための十分な情報を伴う。いくつかの例において、アラインメントフィードバックは、励起エネルギーの各パルスと共に提供されてもよい。アラインメントは、励起エネルギーのビームの中心が4つのセンサ上にあるときに実現されてもよい。

30

40

【0294】

いくつかの実施形態において、各ピクセルに関連付けられる1つまたは複数のセンサは、励起エネルギーのモニタおよび／またはアラインメントに使用されてもよい。励起エネルギーのパワーまたは強度は、「低パワー」などの低い値に設定されてもよく、励起源の位置決めは、 $x-y-z$ 位置および／または集積装置内の導波路に関する角度の1つまたは複数进行调整することによって実行されてもよい。励起エネルギーのアラインメントの改善は、励起エネルギーのビームを、光検出器により検出される強度信号が特定の値まで増加する場所に位置決めすることにより行われてもよい。いくつかの例において、励起源のパラメータの調整は、動作のための十分なアラインメントを示す、特定の値を超える強度信号を判定するために実行されてもよい。

50

【0295】

いくつかの実施形態において、モニタセンサは、各導波路の端に配置して、各導波路に沿って伝播する光の量を検出してもよい。各モニタセンサに関連付けられる格子は、格子およびモニタセンサが導波路の反対側に配置されるように位置付けられてもよい。導波路の両端に提供されたセンサ9-2101aおよび9-2101bと格子9-2102aおよび9-2102bとの例が図9-21に示されている。いくつかの例において、導波路の両端にある信号は、導波路に沿った励起エネルギー損失を補償するための別の信号処理に使用されてもよい。導波路が、励起エネルギーを複数の検体ウェルに供給するように構成されている場合、導波路の長さに沿った励起エネルギーの損失全体の補償が、少なくとも特定の量の励起エネルギーを各検体ウェルに送達するために使用されてもよい。それに加えて、図9-22に示されるように、導波路に光が残っている場合の散乱を減少させるために、導波路の端に吸収要素9-2104が位置付けられてもよい。

10

【0296】

それに加えて、またはその代わりに、モニタセンサは導波路の経路に沿った特定の位置に配置されてもよい。このようなモニタセンサは、マルチモード干渉スプリッタの前、マルチモード干渉スプリッタの後、1つまたは複数の検体ウェルの前、および／または1つもしくは複数の検体ウェルの後に位置付けられてもよい。モニタセンサのためのこのような位置は、励起エネルギーの損失が発生する場所、および／または励起エネルギー損失のモニタが集積装置の全体的動作における要素である場所に基づいて選択されてもよい。

20

【0297】

いくつかの実施形態において、センサは集積装置のピクセルアレイの両側に配置されて、入力励起エネルギーと1つまたは複数の導波路からの出力励起エネルギーとをモニタしてもよい。集積装置は、入力励起エネルギーを1つまたは複数の導波路に結合するための1つまたは複数の格子カプラを有していてもよい。入力導波路は複数の導波路に分割されてもよく、分割された各導波路が励起エネルギーを検体ウェルの行に送達する。片側で、センサは格子カプラ上の入力励起エネルギーの位置をモニタしてもよい。反対側のセンサは、検体ウェルの行の後の、1つまたは複数の導波路の端からの励起エネルギーを測定してもよい。いくつかの実施形態において、集積装置に対する励起源のアラインメントは、まず、ビームのx-y位置を示す入力センサからの信号を使用して励起エネルギービームを格子カプラにセンタリングするステップと、各導波路の端における出力センサからの信号から、焦点および／または入射角などの励起エネルギービームのパラメータをさらに調整するステップとからなってもよい。いくつかの例において、出力センサからの信号は、集積装置を解析に使用する前に、各集積装置について決定され得る校正ステップとして使用されてもよい。それに加えて、出力センサからの信号は、集積装置を用いて得られた測定値を正規化するために使用されてもよい。

30

【0298】

図9-22および9-23は、2列のセンサがピクセルアレイの両側にあるモニタセンサの例示的配置を示す。各センサの中心から中心の間隔は、xおよびy方向へのピクセルピッチの2倍である。このようなセンサの配置は、格子カプラの異なる構成にも対応できる。2列の集合の1つは、図9-20に関して上述したように、正方形に配置された4つのセンサの集合が4眼検出器として使用される場合、入力励起エネルギーをモニタする。格子カプラ9-2201は、入力側の列の4つのセンサ9-2202の上に位置付けられてもよく、格子カプラとセンサとの間に励起エネルギーに対して不透明な層がある。このような構成において、4つのセンサは格子カプラの上の励起エネルギーの位置決めをモニタするために使用されてもよい。例えば、4つのセンサにより測定される強度は、励起エネルギービームのx-y位置および格子カプラへのアラインメントをモニタするために使用されてもよい。出力側の2列は、個々の導波路から出る励起エネルギーをモニタしてもよい。図9-22に示されるように、出力側の列のセンサ9-2204は、個々の導波路9-2203に接続される。格子カプラ9-2205は、励起エネルギーを導波路から出力センサへと結合するために使用されてもよい。出力センサは、検体ウェルの行の後に各

40

50

導波路の端に結合されたパワーを測定することによって、導波路内に誘導される励起エネルギーをモニタしてもよい。図9-22は、入力側モニタセンサの上の入力導波路のための格子カブラの例示的配置、構成要素9-2206による入力側導波路の、励起エネルギーを検体ウェル9-2207に送達する導波路への分割、および出力センサ上に位置付けられた導波路の端にある格子カブラを示し、各出力センサは導波路をモニタするために使用される。図9-23は、ピクセルアレイの両側に2列のモニタセンサ9-2307を有し、上述のように励起エネルギーのアラインメント読取りを行う集積装置の例示的配置を示す。

D. 複数の励起源

複数の励起源が、異なるエネルギーまたは波長を有する光を複数の検体ウェルに供給してもよい。複数の励起源の各々は、異なる特徴波長またはエネルギーを有する光を供給してもよい。1つまたは複数のマーカは、励起源からの光がマーカを励起して、マーカが光子を放出するようにするか否かに基づいて識別されてもよい。このようにして、異なる励起源からの光で検体を照明した後、検体の応答を測定することによって、マーカがその吸収スペクトルに基づいて識別されてもよい。例えば、マーカを有する検体は、第一の励起源からの光、およびそれに続いて第二の励起源からの光で照明されてもよい。マーカが第一の励起源からの光で照明されたことに応答して発光した場合、マーカは第一の励起源の特徴波長と重複する吸収スペクトルを有していてもよい。

【0299】

いくつかの実施形態において、励起エネルギーのために複数の励起源を使用することが可能である。複数の励起源は、例えば複数のダイオードレーザエミッタを含むダイオードレーザバーとして実装されてもよい。レーザダイオードの製造において複数のエミッタが1枚の基板の上にリソグラフィによって共通に製造され、その後、シングルエミッタ部品へとダイシングされ、個々にパッケージングされる。しかし、複数のエミッタを有する基板にダイシングすることも可能である。いくつかの実施形態において、エミッタはほとんど同じであり、相互にリソグラフィ許容度に合わせて相互から均等に離間されていてもよく、これは典型的には0.1マイクロメートルのオーダーである。

【0300】

複数のエミッタからの光を集積装置に結合するために、各エミッタを集積装置上の別々の格子カブラに結像することができる。図9-24は、励起エネルギーを集積装置に結合する2つの方法を示している。図9-24に示される何れの例においても、エミッタのアレイは左側の点線に沿っており、格子カブラのアレイは右側の点線に沿っている。図は、4つのエミッタおよび4つの格子カブラのアレイを示しているが、何れの数のエミッタおよびカブラも可能である。

【0301】

上側の図9-24Aの例において、2つのレンズが使用され、左側のレンズは少なくともエミッタのアレイと同じ大きさであり、右側のレンズは少なくとも格子カブラのアレイと同じ大きさである。この例は、ユニティマグニフィケーションの場合を示しているが、各レンズがその対応するアレイから1つの焦点距離を有するかぎり、またレンズ間の距離がその焦点距離の合計であるかぎり、何れの適当な倍率でも使用できる。

【0302】

下側の図9-24Bの例において、エミッタを格子カブラに結像するためにレンズのアレイが使用されている。レンズの各アレイは、球面または非球面レンズのモノリシックまたはポリリシック (poly lithic) アレイとして、または図面の平面内のシリンドリカルまたは非シリンドリカル (acylindrical) レンズのモノリシックまたはポリリシックアレイに直交方向の1枚のシリンドリカルまたは非シリンドリカルレンズを補足したものとして実装できる。この例は、ユニティマグニフィケーションの場合を示しているが、適当なビーム拡張またはビーム縮小レンズがレンズアレイ間に挿入されるかぎり、何れの適当な倍率でも使用できる。

【0303】

10

20

30

40

50

検体ウェルおよび導波路は、集積装置内において、複数の励起源からの励起エネルギーの複数の検体ウェルとの結合を可能にする何れの適当な方法で配置されてもよい。複数の励起源は、異なる特徴的波長の光を複数の検体ウェルに供給してもよい。複数の励起源からの光を受けるように位置付けられた導波路は、1つまたは複数の検体ウェルに光を送達してもよい。集積装置は、複数の励起源からの光を複数の検体ウェルに送達できるようにするその他の構成要素（例えば、パワースプリッタ、波長コンバイナ）を含んでいてもよい。

【0304】

いくつかの実施形態は、導波路の一方の端から受け取られた複数の特徴的波長を伝播するように構成された導波路を有する集積装置に関する。導波路に近接して位置付けられた検体ウェルは、導波路からの光の一部を結合する。図9-25Aは、2つの励起源からの光を集積装置内で結合するための例示的概略図を示す。第一の励起源は第一の特徴的波長 λ_1 を有する光を提供する。第二の励起源は第二の特徴的波長 λ_2 を有する光を提供する。集積装置は2つの格子カプラを含み、第一の格子カプラは第一の励起源からの λ_1 を有する光を結合するように構成され、第二の格子カプラは第二の励起源からの λ_2 を有する光を結合するように構成される。集積装置は2つのパワースプリッタを含み、各々が格子カプラの一方に結合される。第一の格子カプラに結合されたパワースプリッタは、 λ_1 を有する光を伝播するように構成された複数の出力を提供する大きさおよび形状である。第二の格子カプラに結合されたパワースプリッタは、 λ_2 を有する光を伝播するように構成された複数の出力を提供する大きさおよび形状である。波長コンバイナは、両方のパワースプリッタからの出力を入力として受け、 λ_1 および λ_2 の両方を導波路に結合するように構成された出力を有する大きさおよび形状である。このようにして、導波路に近接して位置付けられた検体ウェルは、第一および第二の励起源からの λ_1 および λ_2 の両方を受けてもよい。

【0305】

いくつかの実施形態は、導波路の反対側から受けた複数の特徴的波長の光を伝播するように構成された導波路を有する。導波路に近接して位置付けられた検体ウェルは、導波路からの光の一部を結合してもよい。図9-25Bは、2つの励起源からの光を集積装置内で結合するための例示的概略図を示す。集積装置内の導波路は、導波路の一方の端からの、第一の特徴的波長 λ_1 を有する光と、導波路の他の端からの、第二の特徴的波長 λ_2 を有する光とを受けるように構成される。集積装置は、2つの格子カプラ、すなわち第一の励起源からの、 λ_1 を有する光を結合するように構成された第一の格子カプラと、第二の励起源からの、 λ_2 を有する光を結合するように構成された第二の格子カプラとを含む。集積装置は2つのパワースプリッタを含み、各々が格子カプラの一方に結合される。第一の格子カプラに結合されたパワースプリッタは、 λ_1 を有する光を伝播させ、導波路の第一の端に結合するように構成された出力を提供する大きさおよび形状である。第二の格子カプラに結合されたパワースプリッタは、 λ_2 を有する光を伝播させ、導波路の第二の端に結合するように構成された出力を提供する大きさおよび形状である。

【0306】

いくつかの実施形態は、検体ウェルに関して、2つの導波路の各々内で伝播する光が検体ウェルに結合するように位置付けられた2つの導波路を有する集積装置に関する。2つの導波路は、異なる特徴的波長を有する光を提供する異なる励起源に結合される。図9-25Cは、2つの励起源からの光を集積装置内で結合するための例示的概略図を示す。第一の導波路は、第一の特徴的波長 λ_1 を有する光を伝播させるように構成される。第二の導波路は、第二の特徴的波長 λ_2 を有する光を伝播させるように構成される。検体ウェルは、第一の導波路からの λ_1 を有する光と第二の導波路からの λ_2 を有する光とを結合するように位置付けられる。第一の導波路は、 λ_1 を有する光を伝播させるように構成された格子カプラおよび／またはパワースプリッタの組合せによって励起源からの光を受け取ってもよい。第二の導波路は、 λ_2 を有する光を伝播させるように構成された格子カプラおよび／またはパワースプリッタの組合せによって励起源からの光を受け取ってもよい。

V. 集積装置と励起源による測定例

検体内の分子の検出、解析、および／または探索のための測定は、本明細書に記載されている集積装置または集積装置と励起源とのあらゆる組合せを使用して取得されてもよい。励起源は、パルス式励起源、またはいくつかの例では連続波源であってもよい。特定の検体にタグ付けされる発光マーカは、検体の存在を示してもよい。発光マーカは、励起エネルギー、発光放出波長、および／またはマーカにより放出された放出エネルギーの寿命により区別されてもよい。同様の発光放出波長を有するマーカは、各マーカの寿命を判定することによって識別されてもよい。それに加えて、同様の寿命を有するマーカは、各マーカに関する発光放出波長により識別されてもよい。マーカを使用することにより、マーカが放出された発光の時間的および／またはスペクトル特性の組合せにより識別される場合、マーカとそれに関連する検体との定量解析および／または識別が実行されてもよい。

10

【0307】

寿命測定は、マーカが検体ウェル内に存在することを判定するために使用されてもよい。発光マーカの寿命は、発光マーカが励起状態へと励起され、その後、光子が放出された時間が測定される実験を複数回にわたり実行することによって識別されてもよい。励起源は励起エネルギーのパルスを生成するためにパルス式とされ、マーカへと向けられる。励起パルスとその後の発光マーカからの光子放出イベントまでの時間が測定される。このような実験を複数の励起パルスについて繰り返すことによって、特定の時間間隔内に光子が放出された回数が測定されてもよい。このような結果は、一連の個別の時間間隔またはタイムビン内で発生する光子放出イベントの数を表すヒストグラムをポピュレートしてもよい。タイムビンの数および／または各ビンの時間間隔は、特定の寿命および／またはマーカの集合を識別するために調整されてよい。

20

【0308】

次に、いくつかの実施形態において発光マーカを識別するために行われる測定の例を説明する。具体的には、発光寿命測定のみ、スペクトルと発光寿命との合同測定、および発光寿命測定のみであるが、使用する励起エネルギーが2種類であるものを使用して発光マーカを識別する例を説明する。実施形態は後述の例に限定されない。例えば、いくつかの実施形態は、スペクトル測定のみを使用して発光マーカを識別してもよい。測定例のさらなる詳細は、2015年5月20日に出願された「核酸配列解析の方法 (METHODS FOR NUCLEIC ACID SEQUENCING)」という名称の米国仮特許出願第62/164,482号明細書に記載されており、その全体が参照によって本願に援用される。

30

【0309】

何れの適当な発光マーカが使用されてもよい。いくつかの実施形態において、市販の蛍光体が使用されてもよい。例として、ただし限定ではなく、以下の蛍光体が使用されてもよい：アットロー (Atto Rhod) 14 (「ATRhod14」)、ディライト (Dylight) 650 (「D650」)、セタタウ (SetaTau) 647 (「ST647」)、CF 633 (「C633」)、CF 647 (「C647」)、アレクサフルー (Alexa fluor) 647 (「AF647」)、ボディパイ (BODIPY) 630/650 (「B630」)、CF 640R (「C640R」)、および／またはアット (Atto) 647N (「AT647N」)。

40

【0310】

それに加えて、および／または任意選択により、発光マーカは、検体解析プロセスの速度と精度を高めるために、何れの適当な方法で変更されてもよい。例えば、フォトスタビライザを発光マーカの共役としてもよい。フォトスタビライザの例としては、脱酸素剤または三重項状態クエンチャが含まれるが、これらに限定されない。フォトスタビライザを発光マーカの共役とすることにより、放出される光子の速度が増大し得、また、発光マーカが光子を放出しない「明滅」効果を低減させ得る。いくつかの実施形態において、生物学的イベントがミリ秒スケールで発生すると、光子放出速度が増し、その生物学的イベントの検出確率が高まり得る。光子イベントの発生率の増加により、その後、発光信号の信

50

号対ノイズ比が増大し、寿命測定が行われる速度も高まり、それが高速でより正確な検体解析につながる。

【0311】

さらに、集積装置の検体ウェル内の環境が、必要に応じてマーカの寿命を操作するように調整されてもよい。これは、マーカの寿命が、環境を使用して調整可能なマーカの状態の密度により影響を受ける点を認識することによって実現できる。例えば、マーカが検体ウェルの下側金属層から遠いほど寿命は長くなる。したがって、マーカの寿命を延ばすために、検体ウェルの底面、例えば窪みの深さを金属層から特定の距離だけ延ばしてもよい。また、検体ウェルを形成するために使用される材料は、マーカの寿命に影響を与える可能性がある。異なるマーカは典型的に、それぞれの寿命が同じ方向に（例えば、より長い 10 か、より短い）シフトするが、影響の大きさはマーカの違いによって異なり得る。したがって、自由空間内の寿命測定では区別不能な2つのマーカは、各種のマーカの寿命を調整するように検体ウェル環境を製造することにより、区別可能となるように操作してもよい。

A. 単一分子検出と配列解析

本願のある態様によれば、単一分子は、複数の別々の光パルスにさらされたときに分子から放出される一連の光子の1つまたは複数の特性に基づいて識別（例えば、反応検体内の他のあり得る分子から区別）できる。いくつかの実施形態において、分子に発光マーカで標識する。いくつかの実施形態において、発光マーカは蛍光体である。いくつかの実施形態において、発光マーカは発光マーカの特性に基づいて識別または区別可能である。発光マーカ（例えば、蛍光体）の特性としては、発光寿命、吸収スペクトル、放出スペクトル、発光量子収量、発光強度、およびこれらの2つ以上の組合せが含まれるが、これらに 20 限定されない。

【0312】

生物検体は、検出（例えば配列解析）のための処理中に加工されてもよい。このような加工は、生物検体からの生体分子（例えば、核酸分子）の分離および／または精製、およびその生体分子のより多くのコピーの生成を含むことができる。いくつかの例において、1つまたは複数の核酸分子は被験者の体液または組織から分離、精製され、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR：polymerase chain reaction）等の核酸増幅を通じて増幅される。その後、1つまたは複数の核酸分子またはそのサブユニットを、 30 例えば配列解析を通じて識別できる。しかしながら、いくつかの実施形態において、核酸検体は、増幅を必要とせずに、本願に記載されているように評価できる（例えば、配列解析）。

【0313】

配列解析は、鋳型生体分子（例えば、核酸分子）の個々のサブユニットを、その鋳型と相補的または相似である他の生体分子を合成し、例えば鋳型核酸分子と相補的な核酸分子を合成し、時間に伴うヌクレオチドの組込みを特定することによる判定を含むことができる。代替案として、配列解析は、生体分子の個々のサブユニットの直接的識別を含むことができる。

【0314】

配列解析中、高分子合成酵素が標的核酸分子のプライミング位置に結合（例えば、付着）してもよい。プライミング位置は、標的核酸分子と相補的なプライマとすることができる。代替案として、プライミング位置は標的核酸分子の二本鎖セグメント内に提供されるギャップまたはニックである。ギャップまたはニックの長さは、0〜少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、または40ヌクレオチドとすることができる。ニックは、二本鎖配列の1本の切れ目を提供でき、これは、例えば鎖置換ポリメラーゼ酵素等の高分子合成酵素のためのプライミング位置を提供できる。

【0315】

場合により、配列解析プライマは、検体ウェル等の固体サポートに固定されてもされなくともよい標的核酸分子にアニールすることができる。いくつかの実施形態において、配 50

列解析プライマは、固体サポートに固定されていてもよく、標的過酢酸分子のハイブリダイゼーションも標的核酸分子を固体サポートに固定する。ヌクレオチドをプライマに追加し、または組み込むことのできる酵素（例えば、ポリメラーゼ）の作用を通じて、ヌクレオチドはプライマに5' - 3' 鋳型結合方式でプライマに追加できる。このようにヌクレオチドをプライマに（例えば、ポリメラーゼの作用を介して）組み込むことは一般に、プライマ伸長反応と呼ぶことができる。各ヌクレオチドは、タグの一部として検出可能マーカに関連付けることができ、これを検出し、プライマに組み込まれた各ヌクレオチドを判定するため、したがって新規に合成された核酸分子の配列解析に使用できる。新規に合成された核酸分子の配列相補性を介して、標的核酸分子の配列も判定できる。場合により、配列解析プライマの標的核酸分子へのアニーリングとヌクレオチドの配列解析プライマへの組み込みは、同様の反応条件（例えば、同じまたは同様の反応温度）でも、異なる反応条件（例えば、異なる反応温度）でも起こり得る。さらに、合成方法による配列解析には、標的核酸分子の集団（例えば、標的核酸のコピー）の存在および／または標的核酸を増幅して標的核酸の集団を実現するステップを含むことができるものもある。

10

【0316】

一本鎖標的核酸鋳型は、配列解析プライマ、dNTP、ポリメラーゼ、および核酸合成に必要なその他の試薬と接触させることができる。いくつかの実施形態において、全ての適当なdNTPを一本鎖標的核酸鋳型と同時に接触させることができ（例えば、全てのdNTPが同時に存在する）、それによってdNTPの組み込みを連続的に起こすことができる。他の実施形態において、dNTPを一本鎖標的核酸鋳型に逐次的に接触させることができ、この場合、一本鎖標的核酸鋳型は適当なdNTPの各々と別々に接触させられ、一本鎖標的核酸鋳型と異なるdNTPとの接触間に洗浄ステップがある。一本鎖標的核酸鋳型と各dNTPとの別々の接触と、その後の洗浄というこのようなサイクルは、識別されるべき一本鎖標的核酸鋳型の連続する各塩基位置について繰り返すことができる。

20

【0317】

配列解析プライマは、一本鎖標的核酸鋳型にアニールされ、その結果、ポリメラーゼがdNTP（またはその他のデオキシリボヌクレオシドポリリン酸）を、一本鎖標的核酸鋳型を介してプライマに組み込む。組み込まれた各dNTPに関連付けられる固有の発光マーカは、dNTPをプライマに組み込んでいる間またはその後に適当な励起光で励起することができ、その放出はその後、本明細書の他の箇所に記載されている検出装置および方法を含む何れの適当な装置およびまたは方法でも検出できる。光の特定の放出の検出は、組み込まれた特定のdNTPへの属性を識別できる。その後、検出された発光マーカの集合から得られた配列を使用して、配列相補性を介して一本鎖標的核酸鋳型の配列を判断できる。

30

【0318】

本開示はdNTPに関するものであるが、本明細書で提供される装置、システム、および方法は、リボヌクレオチドおよびデオキシリボヌクレオチド（例えば、少なくとも4、5、6、7、8、9、または10リン酸基を有するデオキシリボヌクレオシドポリリン酸）等の各種のヌクレオチドに使用されてもよい。このようなリボヌクレオチドおよびデオキシリボヌクレオチドは、リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドにマーカを付着させるためのリンカーを使用することによって、各種のタグを形成できる。

40

【0319】

ヌクレオシドが組み込まれると放出される信号は、メモリに保存し、後の時点で処理して、標的核酸鋳型の配列を判定できる。これには、その信号を参照信号と比較して、組み込まれたヌクレオシドの時間に関する識別を判定するステップを含んでもよい。その代わりに、またはそれに加えて、ヌクレオシドの組み込みの際に放出される信号を実時間で（すなわち、ヌクレオシドの組み込みの際に）収集、処理し、標的核酸鋳型の配列を判定することもできる。

【0320】

複数の一本鎖標的核酸鋳型の核酸配列解析は、本明細書の他の箇所に記載されている装

50

置の場合のように、複数の検体ウェルが利用できれば完全となり得る。各検体ウェルには、一本鎖標的核酸鋳型を提供でき、配列解析反応を各検体ウェル内で完了できる。検体ウェルの各々は、プライマ伸長反応中に核酸合成に必要な適当な試薬（例えば、dNTP、配列解析プライマ、ポリメラーゼ、余因子、適当な緩衝液その他）と接触させてもよく、配列解析反応を各検体ウェル内で進めることができる。いくつかの実施形態において、複数の検体ウェルが全ての適当なdNTPと同時に接触させられる。他の実施形態において、複数の検体ウェルを各々の適当なdNTPと別々に接触させ、異なるdNTPとの接触間で各々洗浄される。dNTPの組込みは、各検体ウェル内で検出でき、前述のように、各検体ウェル内の一本鎖標的核酸に関する配列が判定される。

【0321】

単一分子RNA配列解析に関する実施形態は、RNA鋳型から相補的DNA（cDNA）を合成できる何れの逆転写酵素を使用してもよい。このような実施形態において、逆転写酵素は、dNTPをRNA鋳型にアニールされた逆転写プライマに組み込むことを介してRNA鋳型からcDNAを合成できるという点で、ポリメラーゼと同様の方法で機能できる。したがって、cDNAは配列解析反応に関与でき、その配列が上述のように判定される。その後、判定されたcDNAの配列を、配列相補性を介して使用し、当初のRNA鋳型の配列を判定することができる。逆転写酵素の例には、マウス白血病ウイルス（Moloney Murine Leukemia Virus）逆転写酵素（M-MLV）、トリ骨髄芽球症ウイルス（AMV：avian myeloblastosis virus）逆転写酵素、ヒト免疫不全ウイルス逆転写酵素（HIV-1）、およびテロメラーゼ逆転写酵素が含まれる。

【0322】

配列リードは、被験者のゲノムのより長い領域を再構成するために（例えば、アラインメントによる）使用できる。リードは、染色体領域、染色体全体、またはゲノム全体を再構成するために使用できる。配列リードまたはこのようなリードから生成されるより大きい配列は、被験者のゲノムを解析するため、例えば多様体または遺伝子多型を特定するために使用できる。多様体の例としては、タンデムSNPを含む単一ヌクレオチド多型（SNP：single nucleotide polymorphism）、Indel、すなわち欠失挿入多型（DIP：deletion insertion polymorphism）とも呼ばれる小規模複数塩基欠失または挿入、多塩基多型（MNP：Multi-Nucleotide Polymorphism）、短反復配列（STR：Short Tandem Repeat）、マイクロインサクションを含む挿入、複製、逆転、転座、重複、複雑なマルチサイト多様体、コピー型多型（CNV：copy number variation）が含まれるが、これらに限定されない。ゲノム配列は、多様体の組合せを含むことができる。例えば、ゲノム配列は、1つまたは複数のSNPと1つまたは複数のCNVとの組合せを包含できる。

【0323】

いくつかの実施形態において、分子は発光寿命に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において分子は、発光強度に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、放出された光子の観察に必要な供給励起エネルギーの波長に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、放出された光子の波長に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は発光寿命および放出された光子を観察するのに必要な供給励起エネルギーの波長に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、発光寿命、発光強度、および放出された光子を観察するのに必要な供給励起エネルギーの波長に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、発光寿命と放出された光子の波長との両方に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、発光強度と放出された光子の波長との両方に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、発光強度および放出された光子の波長の両方に基づいて識別または区別される。いくつかの実施形態において、分子は、発光寿命、発光強度、および放出された光

子の波長に基づいて識別または区別される。

【0324】

特定の実施形態において、反応混合または実験中の異なる種類の分子は、異なる発光マーカで標識される。いくつかの実施形態において、異なるマーカは区別可能な異なる発光特性を有する。いくつかの実施形態において、異なるマーカは、異なる発光寿命、異なる発光強度、放出光子の異なる波長、またはその組合せを有することにより区別される。異なる発光マーカを有する複数の種類の分子の存在によって、複雑な反応の異なるステップをモニタすることができ、または複雑な反応生成物の異なる成分を識別できる。いくつかの実施形態において、異なる種類の分子が反応または相互作用する順序を決定できる。

【0325】

特定の実施形態において、異なる発光マーカを有する複数の種類の分子の発光特性を使用して、核酸またはタンパク質等の生体分子の配列を識別する。いくつかの実施形態において、異なる発光マーカを有する複数の分子の発光特性を使用して、生体分子の合成中に組み込まれる単一分子を識別する。いくつかの実施形態において、異なる発光マーカを有する複数の種類のヌクレオチドの放出エネルギーを使用して、シーケンシング反応中に組み込まれる単一ヌクレオチドを識別する。いくつかの実施形態において、本願中に記載の方法、組成物、および装置を使用して、ポリメラーゼ酵素により合成される鋳型依存の核酸シーケンシング反応生成物に組み込まれる一連のヌクレオチドを識別できる。

【0326】

特定の実施形態において、鋳型依存核酸シーケンシング生成は、自然起源の核酸ポリメラーゼによって実行される。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは自然起源のポリメラーゼの変異体または修飾された多様体である。いくつかの実施形態において、鋳型依存核酸シーケンス生成は、鋳型核酸分子鎖と相補的な1つまたは複数のヌクレオチドセグメントを含む。1つの態様において、本願は、鋳型（または標的）の配列を判定する方法を提供する。

【0327】

他の態様において、本願は、複数の核酸フラグメントの配列解析を行うことによって標的核酸の配列を解析する方法を提供し、標的核酸はそのフラグメントを含む。特定の実施形態において、方法は、複数のフラグメント配列を組み合わせ、親の標的核酸のための配列または部分的配列を提供するステップを含む。いくつかの実施形態において、組み合わせるステップは、コンピュータハードウェアとソフトウェアにより実行される。本明細書に記載される方法により、配列識別すべき染色体またはゲノム全体等、関係する標的核酸集合が得られる。

【0328】

「ゲノム」という用語は一般に、有機体の遺伝情報全体を指す。ゲノムは、DNAまたはRNAの何れかで符号化できる。ゲノムは、タンパク質を符号化する符号化領域と非符号化領域を含むことができる。ゲノムには、有機体中の全ての染色体の配列を一緒に含めることができる。例えば、ヒトゲノムは、合計46の染色体を有する。これら全ての配列が一緒にヒトゲノムを構成する。いくつかの実施形態において、ゲノム全体の配列が判定される。しかしながら、いくつかの実施形態において、ゲノムのサブセット（例えば、1つまたは少数の染色体、またはその領域）に関する、または1つもしくは少数の遺伝子（またはそのフラグメント）に関する配列情報があれば、診断、予後、および／または治療の用途にとって十分である。

【0329】

いくつかの実施形態において、単一分子配列解析に使用される標的核酸分子は、一本鎖標的核酸（例えば、デオキシリボ核酸（DNA）、DNA誘導体、リボ核酸（RNA）、RNA誘導体）鋳型であり、これが検体ウェルの底部等の固体サポートに固定または付着された、シーケンシング反応の少なくとも1つの追加分（例えば、DNAポリメラーゼ等のポリメラーゼ、配列解析プライマ）を含む検体ウェルに追加または固定される。場合により、配列解析プライマは、検体ウェル（例えば、ナノアパーチャ）等の固体サポート

10

20

30

40

50

に固定されていても、されていなくてもよい標的核酸分子にアニールできる。いくつかの実施形態において、配列解析プライマは、固体サポートに固定されてもよく、標的核酸分子のハイブリダイゼーションも標的核酸分子を固体サポートに固定する。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは固体サポートに固定され、可溶性プライマおよび標的核酸がポリメラーゼと接触する。しかしながら、いくつかの実施形態において、ポリメラーゼ、標的核酸、およびプライマを含む複合体が溶液中で形成され、この複合体が固体サポートに（例えば、ポリメラーゼ、プライマおよび／または標的核酸の固定を介して）固定される。

【0330】

適当な条件下で、アニールされたプライマ／標的核酸に接触するポリメラーゼ酵素は、1つまたは複数のヌクレオチドをプライマに追加し、または組み込むことができ、ヌクレオチドは5' - 3'の鋳型結合方式でプライマに追加できる。このようにヌクレオチドをプライマに（例えば、ポリメラーゼの作用を介して）組み込むことを一般に、プライマ伸長反応と呼ぶことができる。各ヌクレオチドは検出可能なマーカに関連付けることができ、これを検出して、（例えば発光寿命、放出スペクトル、吸収スペクトル、および／またはその他の特徴に基づいて）識別し、プライマ中に組み込まれた各ヌクレオチドと、したがって、新規に合成された核酸分子の配列を判定するために使用できる。新規に合成された核酸分子の配列相補性を介して、標的核酸分子の配列も判定できる。いくつかの実施形態において、合成方法による配列解析は、標的核酸分子の集合（例えば、標的核酸のコピー）の存在および／または標的核酸を増幅して標的核酸の集合を実現するステップを含むことができる。しかしながら、いくつかの実施形態において、合成による配列解析は、評価中の各反応における単一分子の配列を判定するために使用される（かつ配列解析のための標的鋳型を準備するための核酸増幅が不要となる）。いくつかの実施形態において、本願の態様により、複数の単一分子シーケンシング反応が平行して（例えば、1台の集積装置またはチップ上で）実行される。

【0331】

実施形態は、高精度でロングリード長の、例えば少なくとも約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%、99.999%、または99.9999%の精度および／または約10塩基対（bp）、50bp、100bp、200bp、300bp、400bp、500bp、1000bp、10,000bp、20,000bp、30,000bp、40,000bp、50,000bp、または100,000bpより大きいか、またはそれと等しいリード長さでの単一核酸分子配列解析が可能である。

【0332】

標的核酸分子またはポリメラーゼを検体ウェル、例えば検体ウェルの底部に直接またはリンカーを通じて取り付けることができる。検体ウェル（例えば、ナノアパーチャ）はまた、プライマ伸長反応を介した核酸合成に必要な他の何れの試薬、例えば、適当な緩衝液、余因子、酵素（例えば、ポリメラーゼ）、および蛍光体等の発光マーカを含む、デオキシアデノシン三リン酸（dATP）、デオキシシチジン三リン酸（dCTP）、デオキシグアノシン三リン酸（dGTP）、デオキシユリジン三リン酸（dUTP）およびデオキシチミジン三リン酸（dTTP）dNTPをはじめとするデオキシリボヌクレオシド三リン酸等のデオキシヌクレオシドリン酸も含むことができる。いくつかの実施形態において、dNTPの各クラス（例えば、アデニン含有dNTP（例えば、dATP）、シトシン含有dNTP（例えば、dCTP）、グアニン含有dNTP（例えば、dGTP）、ウラシル含有dNTP（例えば、dUTP）、およびチミン含有dNTP（例えば、dTTP））が異なる発光マーカの共役とされ、マーカから放出される光の検出は新規に合成された核酸に組み込まれたdNTPの識別を示す。発光マーカからの放出光は、例えば本明細書の他の箇所に記載されている検出装置と方法を含む何れの適当な装置および／または方法を介して検出し、その適当な発光マーカ（およびしたがって、関連するdNTP）への属性を特定することができる。発光マーカは、何れの適当なdNTPの共役とされてもよく

、それによって発光マーカの存在は新規に合成された核酸分子鎖への d N T P の組込みまたはポリメラーゼの活動を阻止しない。いくつかの実施形態において、発光マーカは d N T P の末端リン酸（ガンマリン酸）の共役とされる。

【0333】

いくつかの実施形態において、配列解析プライマは、一本鎖標的核酸鋳型にアニールされ、ポリメラーゼは連続的に d N T P（またはその他のデオキリボヌクレシドポリリン酸）を、一本鎖標的核酸鋳型を介してプライマに組み込む。組み込まれた各 d N T P に関連付けられた固有の発光マーカは、d N T P をプライマに組み込んでいる間またはその後に適当な励起光で励起され、その後、本明細書の他の箇所に記載されている検出装置および方法を含む何れの適当な装置および／または方法でもその放出を検出できる。特定の光の放出（例えば、特定の放出寿命、強度、および／またはその組合せを有する）の検出は、組み込まれた特定の d N T P への属性を識別できる。したがって、検出された発光マーカの集合から得られる配列を使用して、一本鎖標的核酸鋳型の配列を、配列相補性を介して判定できる。

【0334】

一例として、図10-1は、単一分子核酸配列解析方法のステップを概略的に示す。この例は、決して本発明を限定しようとするものではない。610は、核酸ポリメラーゼ601と、配列解析対象の標的核酸602と、ポリマー604とを含む単一の複合体を収容するように構成された検体ウェル（例えば、ナノアパーチャ）である。この例において、検体ウェル610の底領域は、標的空間620として描かれている。図10-1において、ポリメラーゼ601を含む複合体は、標的空間620内に閉じ込められる。複合体は任意選択により、検体ウェルの表面への付着によって固定されてもよい。この例において、複合体は、リンカーをポリメラーゼ601に付着させるのに適した1つまたは複数の生体分子（例えばビオチン）を含むリンカー603によって固定される。

【0335】

検体ウェルの空間はまた、ポリメラーゼ複合体が核酸分子鎖を合成するのに必要である適当な溶媒、緩衝液、およびその他の添加物との反応混合物を収容する。反応混合物はまた、複数の種類の発光標識されたヌクレオチドを含む。各種のヌクレオチドは、記号＊-A、@-T、\$-G、#-Cにより表され、A、T、G、およびCは、ヌクレオチド塩基を表し、記号＊、@、\$、および#は、リンカーを通じて、各ヌクレオチドに付着された固有の発光マーカを表す。図10-1において、#-Cヌクレオチドが現在、相補的分子鎖602に組み込まれている。組み込まれたヌクレオチドは標的空間620内にある。

【0336】

図10-1はまた、矢印で、標的空間の付近に供給されている励起エネルギーと、検出器に向かって放出されている発光の概念を示している。矢印は概略的であり、励起エネルギーの供給または発光の特定の方位を示そうとしていない。一部の発光は、検出器に向かっていない（例えば、検体ウェルの側壁に向かう）ベクトル上で放出され得るか、または検出されないことがあり得る。

【0337】

図10-2は、1つの検体ウェル内の時間の経過に伴う配列解析プロセスを概略的に示す。ステージA〜Dは、図10-1に示されるようなポリメラーゼ複合体を収容した検体ウェルを示している。ステージAは、何れかのヌクレオチドがプライマに添加される前の初期状態を示す。ステージBは、発光標識されたヌクレオチド（#-C）の組込みイベントを示す。ステージCは、連続する組込みイベント間の期間を示す。この例において、ヌクレオチドCがプライマに追加されており、発光標識されたヌクレオチド（#-C）に以前に付着されたラベルとリンカーは開裂されている。ステージDは、発光標識されたヌクレオチド（＊-A）の第二の組込みイベントを示す。ステージD以後の相補的分子鎖はプライマと、Cヌクレオチドと、Aヌクレオチドからなる。

【0338】

ステージAおよびCは、何れも組込みイベントの前または連続するイベント間の期間を

示しており、これはこの例において、約10ミリ秒間続くように示されている。ステージAおよびCでは、ヌクレオチドが組み込まれていないため、標的空間（図10-2では図示せず）内に発光標識されたヌクレオチドはないが、組み込まれていない発光標識されたヌクレオチドからの背景発光またはスプリアス発光が検出され得る。ステージBおよびDは、異なるヌクレオチド（それぞれ、#-Cおよび*-A）の組込みイベントを示す。この例において、これらのイベントも約10ミリ秒間継続することが示されている。

【0339】

「未処理ビンデータ」と名付けられた行は、各ステージ中に生成されたデータを示す。例示的実験を通じて、複数の光パルスは標的空間の付近に供給される。各パルスに関して、検出器は検出器により受け取られた全ての放出光子を記録し、検出された光子を、励起エネルギーの最終パルス以降の時間に基づいてタイムビンに割り当てるように構成される。この例では、3つのビンがあり、「未処理ビンデータ」は、1（最短のバー）、2（中間のバー）、または3（最長のバー）の数値を記録し、これはそれぞれ最短、中間、および最長ビンに対応する。各バーは放出光子の検出を示す。

【0340】

ステージAまたはCについては標的空間内に発光標識されたヌクレオチドがないため、格子は検出されない。ステージBおよびDの各々について、組込みステージ中に複数の発光が検出される。発光マーカー#は発光マーカー*より短い発光寿命を有する。ステージBのデータは、そのため、ビンの数値がより高いステージDより低いビン平均値を記録したように示されている。

【0341】

「処理データ」と名付けられた行は、未処理データを、各パルスに関する時間の放出光子の数（カウント）を示すように処理したものを示している。この例において、データは発光寿命を判定するためにのみ処理されているが、データはまた、他の発光特性、例えば発光強度または吸収または放出された光子の波長について評価されてもよい。例示的な処理データは、標的空間内の発光マーカーの発光寿命についての指数関数的減衰曲線の特徴を概算している。発光マーカー#は発光マーカー*より短い発光寿命を有するため、ステージBに関する処理データは、より長い時間にわたり、より少ないカウントを有し、その一方で、ステージDに関する処理データは、より長時間にわたり、比較的より多いカウントを有する。

【0342】

図10-2の例示的実験では、相補的分子鎖に追加された最初の2つのヌクレオチドがCAとして示される。DNAに関して、プライマにアニールされた領域の直後の標的分子鎖の配列は、そのため、GTとして示される。この例において、ヌクレオチドCおよびAは、発光寿命のみに基づいて、複数のC、G、T、およびAから区別できる。いくつかの実施形態において、蛍光強度または吸収もしくは放出された光子の波長等が、1つまたは複数の特定のヌクレオチドを区別するために必要である。

B. 発光特性

本明細書に記載されているように、発光分子は1つまたは複数の光子を吸収する分子であり、その後、1つまたは複数の期間が経過すると1つまたは複数の光子を放出し得る。分子の発光は、いくつかのパラメータにより説明され、これには、発光寿命、吸収および/または放出スペクトル、発光量子収量、および発光強度が含まれるが、これらに限定されない。

【0343】

発光放出イベントからの放出光子は、あり得る波長のスペクトル範囲内の波長で放出される。典型的には、放出光子は、励起光子の波長と比較して、より長い波長を有する（例えば、エネルギーがより低いか、赤方偏移されている）。特定の実施形態において、分子は放出光子の波長を測定することによって識別される。特定の実施形態において、分子は、複数の放出光子の波長を測定することによって識別される。特定の実施形態において、分子は放出スペクトルを測定することによって識別される。

【0344】

発光寿命は、励起イベントおよび放出イベントに関連付けられる持続時間（例えば、放出減衰時間）を指す。いくつかの実施形態において、発光寿命は、指数関数的減衰方程式の定数として表現される。励起エネルギーを供給する1つまたは複数のパルスイベントがあるいくつかの実施形態において、持続時間はパルスとその後の放出イベントとの間の時間である。

【0345】

発光量子収量とは、放出イベントを導くある波長の、またはあるスペクトル範囲内の励起イベントの一部を指し、典型的には1未満である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されている分子の発光量子収量は、0～約0.001、約0.001～約0.01、約0.01～約0.1、約0.1～約0.5、約0.5～0.9、または約0.9～1である。いくつかの実施形態において、分子は、発光量子収量を判定または推定することによって識別される。

10

【0346】

本明細書において単一分子について使用されるかぎり、発光強度とは、パルス式励起エネルギーの供給より励起される分子より放出される単位時間あたりの放出光子の数を指す。いくつかの実施形態において、発光強度はパルス式励起エネルギーの供給によって励起されている分子により放出され、特定のセンサまたはセンサの集合により検出される単位時間あたりの放出光子の検出数を指す。

20

【0347】

1つの態様において、本願は、単一発光分子の発光寿命を判定する方法を提供し、これは、標的空間内に発光分子を提供するステップと、励起エネルギーの複数のパルスを標的空間の付近に送達するステップと、発光分子からの複数の発光を検出するステップとを含む。いくつかの実施形態において、方法は、パルスと発光の各ペア間の複数の持続時間を記録するステップと、パルスと発光の各ペア間の複数の持続時間の分布を評価するステップとをさらに含む。

C. 発光標識されたヌクレオチド

1つの態様において、本明細書に記載されている方法と組成物は1つまたは複数の発光標識されたヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、1つまたは複数のヌクレオチドはデオキシリボヌクレオシドを含む。特定の実施形態において、1つまたは複数のヌクレオチドは、リボースヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態において、全てのヌクレオシドはリボースヌクレオシドを含む。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のヌクレオチドは修飾されたリボース糖またはリボース類似体（例えば、ロックド核酸）を含む。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のヌクレオチドは、自然起源の塩基（例えば、シトシン、グアニン、アデニン、チミン、ウラシル）を含む。いくつかの実施形態において、1つまたは複数のヌクレオチドは、シトシン、グアニン、アデニン、チミン、またはウラシルの誘導体または類似体を含む。

30

【0348】

特定の実施形態において、方法は、ポリメラーゼ複合体を複数の発光標識ヌクレオチドにさらすステップを含む。特定の実施形態において、組成物または装置は、複数の発光標識されたヌクレオチドを含む反応混合物を含む。いくつかの実施形態において、複数のヌクレオチドは4つの異なるヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、4つの異なるヌクレオチドは各々、シトシン、グアニン、アデニン、およびチミンの1つを含む。いくつかの実施形態において、4つの異なるヌクレオチドは各々、シトシン、グアニン、アデニン、およびウラシルの1つを含む。

40

【0349】

「核酸」という用語は、本明細書で使用されるかぎり、一般に1つまたは複数の核酸サブユニットを含む分子を指す。核酸は、アデノシン（A）、シトシン（C）、グアニン（G）、チミン（T）、およびウラシル（U）、またはその多様体から選択された1つまたは複数のサブユニットを含んでいてもよい。いくつかの例において、核酸はデオキリボ核酸

50

(DNA)、またはリボ核酸(RNA)、またはその誘導体である。核酸は、一本鎖でも二本鎖でもよい。核酸は環状であってもよい。

【0350】

「ヌクレオチド」という用語は、本明細書で使用されるかぎり、一般に、核酸サブユニットを指し、これはA、C、G、T、またはU、あるいはその多様体または類似体を含むことができる。ヌクレオチドは、成長する核酸分子鎖内に組み込むことのできるあらゆるサブユニットを含むことができる。このようなサブユニットは、A、C、G、T、もしくはU、または1つもしくは複数の相補的A、C、G、T、もしくはUに特定の、またはプリン(すなわち、AもしくはG、またはその多様体もしくは類似体)またはピリミジン(すなわち、C、T、もしくはU、またはその多様体または類似体)に対して相補的な他のあらゆるサブユニットとすることができる。サブユニットにより、個々の核酸塩基または塩基群(例えば、AA、TA、AT、GC、CG、CT、TC、GT、TG、AC、CA、またはそのウラシル版)を分解することができる。

10

【0351】

ヌクレオチドは一般に、ヌクレオシドと少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるリン酸(PO₃)基を含む。ヌクレオチドは、ヌクレオ塩基と、五炭糖(リボースまたはデオキシリボースの何れか)、および1つまたは複数のリン酸基を含むことができる。リボヌクレオチドは、糖がリボースであるヌクレオチドである。デオキシリボヌクレオチドは、糖がデオキシリボースであるヌクレオチドである。ヌクレオチドは、ヌクレオシドリン酸またはヌクレオシドポリリン酸とすることができる。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオシドポリリン酸、例えば、デオキシリボヌクレオシド三リン酸とすることができ、これは検出可能なマーカ(例えば、蛍光体)を含むデオキシアデノシン三リン酸(dATP)、デオキシシチジン三リン酸(dCTP)、デオキシグアノシン三リン酸(dGTP)、デオキシウリジン三リン酸(dUTP)、およびデオキシチミジン三リン酸(dTTP) dNTPから選択できる。

20

【0352】

ヌクレオシドポリリン酸は、「n」個のリン酸基を有することができ、「n」は2、3、4、5、6、7、8、9、または10より大きいか、これと等しい数である。ヌクレオシドポリリン酸の例には、ヌクレオシド二リン酸およびヌクレオシド三リン酸が含まれる。ヌクレオチドは、末端リン酸標識ヌクレオシド、例えば末端リン酸標識ヌクレオシドポリリン酸とすることができる。このようなマーカは発光(例えば、蛍光または化学発光)マーカ、蛍光発生マーカ、着色マーカ、色素生成マーカ、質量タグ、静電マーカ、または電気化学マーカとすることができる。マーカは、リンカーを通じて末端リン酸に結合できる。リンカーは、例えば、少なくとも1つのまたは複数のヒドロキシル基、スルフィドリル基、アミノ基、またはハロアルキル基を含むことができ、これらは、天然または修飾ヌクレオチドの末端リン酸において、例えばリン酸エステル、チオエステル、アミド垂リン酸エステル、またはアルキルリン酸を形成するに適していてもよい。リンカーは、例えば重合酵素の支援により、末端リン酸からマーカを分離するように開裂可能である。ヌクレオシドとリンカーの例は、米国特許第7,041,812号明細書において提供されており、その全体が参照によって本願に援用される。

30

40

D. マーカ

特定の実施形態において、組み込まれる分子は発光分子であり、例えば、明確な発光マーカが取り付けられていない。典型的なヌクレオチドとアミノ酸は発光せず、または適当な励起および放出エネルギー範囲内で発光しない。特定の実施形態において、組み込まれる分子は発光マーカを含む。特定の実施形態において、組み込まれる分子は発光標識されたヌクレオチドである。特定の実施形態において、組み込まれる分子は発光標識されたアミノ酸または発光標識されたtRNAである。いくつかの実施形態において、発光標識されたヌクレオチドは、ヌクレオチドと発光マーカを含む。いくつかの実施形態において、発光標識されたヌクレオチドは、ヌクレオチド、発光マーカ、およびリンカーを含む。いくつかの実施形態において、発光マーカは蛍光体である。

50

【0353】

ヌクレオチド配列解析に関して、発光標識されたヌクレオチドの特定の組合せが好ましいことができる。いくつかの実施形態において、発光標識されたヌクレオチドの少なくとも1つは、シアニン色素またはその類似体を含む。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの発光標識されたヌクレオチドは、ローダミン色素、またはその類似体を含む。いくつかの実施形態において、発光標識されたヌクレオチドの少なくとも1つは、シアニン色素、またはその類似体を含み、少なくとも1つの発光標識されたヌクレオチドはローダミン色素またはその類似体を含む。

【0354】

特定の実施形態において、発光マーカは、表FL-1から選択される色素である。表FL-1に記載の色素は非限定的であり、本願の発光マーカは、表FL-1に記載されていない色素を含んでいてもよい。特定の実施形態において、1つまたは複数の発光標識されたヌクレオチドの発光マーカは、表FL-1から選択される。特定の実施形態において、4つ以上の発光標識されたヌクレオチドの発光マーカは、表FL-1から選択される。

【0355】

【表 1】

表 FL-1. 蛍光体の例

蛍光体			
5/6-カルボキシロー ダ ミ ン (Carboxirhodamine) 6G	CF532	デ イ ラ イ ト (DyLight) 747-B3	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-781
5-カルボキシローダ ミ ン (Carboxirhodamine) 6G	CF543	デ イ ラ イ ト (DyLight) 747-B4	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-782
6-カルボキシローダ ミ ン (Carboxirhodamine) 6G	CF546	デ イ ラ イ ト (DyLight) 755	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-800
6-TAMRA	CF555	デ イ ラ イ ト (DyLight) 766Q	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-831
アベリアスター (Abberior Star) 440SXP	CF568	デ イ ラ イ ト (DyLight) 775-B2	eFluor 450
アベリアスター (Abberior Star) 470SXP	CF594	デ イ ラ イ ト (DyLight) 775-B3	エオシン(Eosin)
アベリアスター (Abberior Star) 488	CF620R	デ イ ラ イ ト (DyLight) 775-B4	FITC
アベリアスター (Abberior Star) 512	CF633	デ イ ラ イ ト (DyLight) 780-B1	フルオロセイン (Fluorescein)
アベリアスター (Abberior Star) 520SXP	CF633-V1	デ イ ラ イ ト (DyLight) 780-B2	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 405
アベリアスター (Abberior Star) 580	CF640R	デ イ ラ イ ト (DyLight) 780-B3	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 488
アベリアスター (Abberior Star) 600	CF640R-V1	デ イ ラ イ ト (DyLight) 800	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 532
アベリアスター (Abberior Star) 635	CF640R-V2	デ イ ラ イ ト (DyLight) 830-B2	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 555
アベリアスター (Abberior Star) 635P	CF660C	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-350	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 594
アベリアスター (Abberior Star) RED	CF660R	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-350XL	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 647
アレクサフルー (Alexa Fluor) 350	CF680	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-360XL	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 680
アレクサフルー (Alexa Fluor) 405	CF680R	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-370XL	ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 750
アレクサフルー (Alexa Fluor) 430	CF680R-V1	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-375XL	IRDye 680LT
アレクサフルー (Alexa Fluor) 480	CF750	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-380XL	IRDye 750

蛍光体			
アレクサフルー (Alexa Fluor) 488	CF770	ディオミクス (Dyomics)-390XL	IRDye 800CW
アレクサフルー (Alexa Fluor) 514	CF790	ディオミクス (Dyomics)-405	ジョー(JOE)
アレクサフルー (Alexa Fluor) 532	クロメオ(Chromo) 642	ディオミクス (Dyomics)-415	ライトサイクラー (LightCycler) 640R
アレクサフルー (Alexa Fluor) 546	クロミス(Chromis) 425N	ディオミクス (Dyomics)-430	ライトサイクラーレ ッド (LightCycler) Red 610
アレクサフルー (Alexa Fluor) 555	クロミス(Chromis) 500N	ディオミクス (Dyomics)-431	ライトサイクラーレ ッド (LightCycler Red) 640
アレクサフルー (Alexa Fluor) 568	クロミス(Chromis) 515N	ディオミクス (Dyomics)-478	ライトサイクラーレ ッド (LightCycler Red) 670
アレクサフルー (Alexa Fluor) 594	クロミス(Chromis) 530N	ディオミクス (Dyomics)-480XL	ライトサイクラーレ ッド (LightCycler Red) 705
アレクサフルー (Alexa Fluor) 610-X	クロミス(Chromis) 550A	ディオミクス (Dyomics)-481XL	リサミンローダミン (Lissamine Rhodamine) B
アレクサフルー (Alexa Fluor) 633	クロミス(Chromis) 550C	ディオミクス (Dyomics)-485XL	ナフトフロオロセイ ン (Naphthofluorescein)
アレクサフルー (Alexa Fluor) 647	クロミス(Chromis) 550Z	ディオミクス (Dyomics)-490	オレゴングリーン (Oregon Green) 488
アレクサフルー (Alexa Fluor) 660	クロミス(Chromis) 560N	ディオミクス (Dyomics)-495	オレゴングリーン (Oregon Green) 514
アレクサフルー (Alexa Fluor) 680	クロミス(Chromis) 570N	ディオミクス (Dyomics)-505	パシフィックブルー (Pacific Blue)
アレクサフルー (Alexa Fluor) 700	クロミス(Chromis) 577N	ディオミクス (Dyomics)-510XL	パシフィックグリー ン(Pacific Green)
アレクサフルー (Alexa Fluor) 750	クロミス(Chromis) 600N	ディオミクス (Dyomics)-511XL	パシフィックオレン ジ(Pacific Orange)
アレクサフルー (Alexa Fluor) 790	クロミス(Chromis) 630N	ディオミクス (Dyomics)-520XL	PET
AMCA	クロミス(Chromis) 645A	ディオミクス (Dyomics)-521XL	PF350
アット(ATTO) 390	クロミス(Chromis) 645C	ディオミクス (Dyomics)-530	PF405
アット(ATTO) 425	クロミス(Chromis) 645Z	ディオミクス (Dyomics)-547	PF415
アット(ATTO) 465	クロミス(Chromis) 678A	ディオミクス (Dyomics)-547P1	PF488
アット(ATTO) 488	クロミス(Chromis) 678C	ディオミクス (Dyomics)-548	PF505
アット(ATTO) 495	クロミス(Chromis) 678Z	ディオミクス (Dyomics)-549	PF532

10

20

30

40

蛍光体			
アット(ATTO) 514	クロミス (Chromis) 770A	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-549P1	PF546
アット(ATTO) 520	クロミス (Chromis) 770C	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-550	PF555P
アット(ATTO) 532	クロミス (Chromis) 800A	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-554	PF568
アット(ATTO) 542	クロミス (Chromis) 800C	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-555	PF594
アット(ATTO) 550	クロミス (Chromis) 830A	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-556	PF610
アット(ATTO) 565	クロミス (Chromis) 830C	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-560	PF633P
アット(ATTO) 590	Cy3	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-590	PF647P
アット(ATTO) 610	Cy3.5	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-591	クエーサ (Quasar) 570
アット(ATTO) 620	Cy3B	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-594	クエーサ (Quasar) 670
アット(ATTO) 633	Cy5	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-601XL	クエーサ (Quasar) 705
アット(ATTO) 647	デ イ ラ イ ト (DyLight) 350	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-605	ローダミン (Rhoadmine) 123
アット(ATTO) 647N	デ イ ラ イ ト (DyLight) 405	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-610	ローダミン (Rhodamine) 6G
アット(ATTO) 655	デ イ ラ イ ト (DyLight) 415-Co1	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-615	ローダミン (Rhodamine) B
アット(ATTO) 665	デ イ ラ イ ト (DyLight) 425Q	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-630	ローダミングリーン (Rhodamine Green)
アット(ATTO) 680	デ イ ラ イ ト (DyLight) 485-LS	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-631	ローダミングリーン (Rhodamine Green)-X
アット(ATTO) 700	デ イ ラ イ ト (DyLight) 488	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-632	ローダミンレッド (Rhodamine Red)
アット(ATTO) 725	デ イ ラ イ ト (DyLight) 504Q	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-633	ROX
アット(ATTO) 740	デ イ ラ イ ト (DyLight) 510-LS	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-634	セタ (Seta) 375
アットオクサ 12 (ATTO Oxal2)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 515-LS	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-635	セタ (Seta) 470
アットロー 101 (ATTO Rho101)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 521-LS	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-636	セタ (Seta) 555
アットロー 11 (ATTO Rho11)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 530-R2	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-647	セタ (Seta) 632
アットロー 12 (ATTO Rho12)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 543Q	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-647P1	セタ (Seta) 633
アットロー 13 (ATTO Rho13)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 550	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-648	セタ (Seta) 650
アットロー 14	デ イ ラ イ ト	デ イ オ ミ ク ス	セタ (Seta) 660

蛍光体			
(ATTO Rho14)	(DyLight) 554-R0	(Dyomics)-648P1	
アットロー 3B (ATTO Rho3B)	ディライイト (DyLight) 554-R1	ディオミクス (Dyomics)-649	セタ(Seta) 670
アットロー 6G (ATTO Rho6G)	ディライイト (DyLight) 590-R2	ディオミクス (Dyomics)-649P1	セタ(Seta) 680
アットチオ 12 (ATTO Thio12)	ディライイト (DyLight) 594	ディオミクス (Dyomics)-650	セタ(Seta) 700
BD ホライズン (Horizon) V450	ディライイト (DyLight) 610-B1	ディオミクス (Dyomics)-651	セタ(Seta) 750
ボディパイ (BODIPY) 493/501	ディライイト (DyLight) 615-B2	ディオミクス (Dyomics)-652	セタ(Seta) 780
ボディパイ (BODIPY) 530/550	ディライイト (DyLight) 633	ディオミクス (Dyomics)-654	セタ(Seta) APC-780
ボディパイ (BODIPY) 558/568	ディライイト (DyLight) 633-B1	ディオミクス (Dyomics)-675	セタ (Seta) PerCP-680
ボディパイ (BODIPY) 564/570	ディライイト (DyLight) 633-B2	ディオミクス (Dyomics)-676	セタ (Seta) R-PE-670
ボディパイ (BODIPY) 576/589	ディライイト (DyLight) 650	ディオミクス (Dyomics)-677	セタ(Seta)646
ボディパイ (BODIPY) 581/591	ディライイト (DyLight) 655-B1	ディオミクス (Dyomics)-678	セタウ(SeTau) 380
ボディパイ (BODIPY) 630/650	ディライイト (DyLight) 655-B2	ディオミクス (Dyomics)-679P1	セタウ(SeTau) 405
ボディパイ (BODIPY) 650/665	ディライイト (DyLight) 655-B3	ディオミクス (Dyomics)-680	セタウ(SeTau) 425
ボディパイ (BODIPY) FL	ディライイト (DyLight) 655-B4	ディオミクス (Dyomics)-681	セタウ(SeTau) 647
ボディパイ (BODIPY) FL-X	ディライイト (DyLight) 662Q	ディオミクス (Dyomics)-682	スクエア (Square) 635
ボディパイ (BODIPY) R6G	ディライイト (DyLight) 675-B1	ディオミクス (Dyomics)-700	スクエア (Square) 650
ボディパイ (BODIPY) TMR	ディライイト (DyLight) 675-B2	ディオミクス (Dyomics)-701	スクエア (Square) 660
ボディパイ (BODIPY) TR	ディライイト (DyLight) 675-B3	ディオミクス (Dyomics)-703	スクエア (Square) 672
C5.5	ディライイト (DyLight) 675-B4	ディオミクス (Dyomics)-704	スクエア (Square) 680
C7	ディライイト (DyLight) 679-C5	ディオミクス (Dyomics)-730	スルホローダミン (Sulforhodamine) 101
CAL フルーゴールド (Fluor Gold) 540	ディライイト (DyLight) 680	ディオミクス (Dyomics)-731	TAMRA
CAL フルーグリーン (Fluor Green) 510	ディライイト (DyLight) 683Q	ディオミクス (Dyomics)-732	TET
CAL フルーオレンジ (Fluor Orange) 560	ディライイト (DyLight) 690-B1	ディオミクス (Dyomics)-734	テキサスレッド (Texas Red)
CAL フルーレッド (Fluor Red) 590	ディライイト (DyLight) 690-B2	ディオミクス (Dyomics)-749	TMR

10

20

30

40

蛍光体			
CAL フルーレッド (Fluor Red) 610	デ イ ラ イ ト (DyLight) 696Q	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-749P1	TRITC
CAL フルーレッド (Fluor Red) 615	デ イ ラ イ ト (DyLight) 700-B1	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-750	ヤキマイエロー (Yakima Yellow)
CAL フルーレッド (Fluor Red) 635	デ イ ラ イ ト (DyLight) 730-B1	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-751	Zenon
カスケードブルー (Cascade Blue)	デ イ ラ イ ト (DyLight) 730-B2	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-752	Zy3
CF350	デ イ ラ イ ト (DyLight) 730-B3	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-754	Zy5
CF405M	デ イ ラ イ ト (DyLight) 730-B4	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-776	Zy5.5
CF405S	デ イ ラ イ ト (DyLight) 747	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-777	Zy7
CF488A	デ イ ラ イ ト (DyLight) 747-B1	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-778	
CF514	デ イ ラ イ ト (DyLight) 747-B2	デ イ オ ミ ク ス (Dyomics)-780	

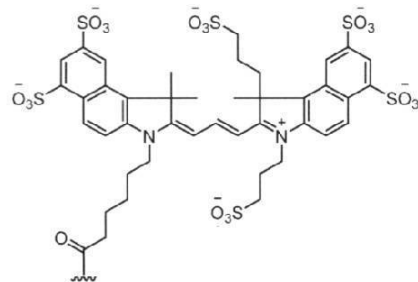
10

特定の実施形態において、発光マーカは化学式

【0356】

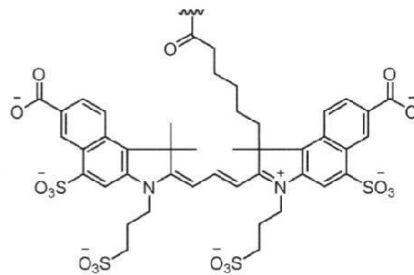
【化1】

20



(色素101),

30



(色素102),

40

の(色素101)または(色素102)またはその類似体であってもよい。いくつかの実施形態において、各スルホン酸塩またはカルボン酸塩は個別に、任意選択によりプロトン化されてもよい。いくつかの実施形態において、上記の色素はリンカーまたはヌクレオチドに、指示された結合点におけるアミド結合の形成により結合される。

【0357】

いくつかの実施形態において、少なくとも1種類、少なくとも2種類、少なくとも3種類、または少なくとも4つの異なる発光標識されたヌクレオチドは、6-TAMRA、5

50

／6-カルボキシローダミン (Carboxyrhodamine) 6G、アレクサフルー (Alexa Fluor) 546、アレクサフルー (Alexa Fluor) 555、アレクサフルー (Alexa Fluor) 568、アレクサフルー (Alexa Fluor) 610、アレクサフルー (Alexa Fluor) 647、アベリアスター (Aberrior Star) 635、アット (ATTO) 647N、アットロー (ATTO Rho) 14、クロミス (Chromis) 630、クロミス (Chromis) 654A、クロメオ (Chromeo) 642、CF514、CF532、CF543、CF546、CF546、CF555、CF568、CF633、CF640R、CF660C、CF660R、CF680R、Cy3、Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、ディオミクス (Dyomics) -530、ディオミクス (Dyomics) -547P1、ディオミクス (Dyomics) -549P1、ディオミクス (Dyomics) -550、ディオミクス (Dyomics) -554、ディオミクス (Dyomics) -555、ディオミクス (Dyomics) -556、ディオミクス (Dyomics) -560、ディオミクス (Dyomics) -650、ディオミクス (Dyomics) -680、ディライト (DyLight) 554-R1、ディライト (DyLight) 530-R2、ディライト (DyLight) 594、ディライト (DyLight) 635-B2、ディライト (DyLight) 650、ディライト (DyLight) 655-B4、ディライト (DyLight) 675-B2、ディライト (DyLight) 675-B4、ディライト (DyLight) 680、ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 532、ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 555、ハイライトフルー (HiLyte Fluor) 594、ライトサイクラー (LightCycler) 640R、セタ (Seta) 555、セタ (Seta) 670、セタ (Seta) 700、セタウ (SeTau) 647、およびセタウ (SeTau665)、または本明細書に記載されている化学式 (色素101) または (色素102) によるものからなる群から選択される発光マーカを含む。

【0358】

いくつかの実施形態において、少なくとも1種類、少なくとも2種類、少なくとも3種類、または少なくとも4つの異なる発光標識されたヌクレオチドは、アレクサフルー (Alexa Fluor) 532、アレクサフルー (Alexa Fluor) 546、アレクサフルー (Alexa Fluor) 555、アレクサフルー (Alexa Fluor) 594、アレクサフルー (Alexa Fluor) 610、CF532、CF543、CF555、CF594、Cy3、ディライト (DyLight) 530-R2、ディライト (DyLight) 554-R1、ディライト (DyLight) 590-R2、ディライト (DyLight) 594、およびディライト (DyLight) 610-B1、または化学式 (色素101) または (色素102) によるものからなる群から選択される発光マーカを含む。

【0359】

いくつかの実施形態において、第一および第二の種類の発光標識されたヌクレオチドは、アレクサフルー (Alexa Fluor) 532、アレクサフルー (Alexa Fluor) 546、アレクサフルー (Alexa Fluor) 555、CF532、CF543、CF555、Cy3、ディライト (DyLight) 530-R2、およびディライト (DyLight) 554-R1からなる群から選択された発光マーカを含み、第三および第四の種類の発光標識されたヌクレオチドは、アレクサフルー (Alexa Fluor) 594、アレクサフルー (Alexa Fluor) 610、CF594、ディライト (DyLight) 590-R2、ディライト (DyLight) 594、およびディライト (DyLight) 610-B1、または化学式 (色素101) または (色素102) によるものからなる群から選択される発光マーカを含む。

E. リンカー

発光マーカは分子に、例えば結合によって直接付着されても、またはリンカーを介して付着されてもよい。特定の実施形態において、リンカーは1つまたは複数のリン酸を含む

。いくつかの実施形態において、ヌクレオシドは発光マーカに、1つまたは複数のリン酸を含むリンカーによって接続される。いくつかの実施形態において、ヌクレオシドは発光マーカに、3つ以上のリン酸を含むリンカーによって接続される。いくつかの実施形態において、ヌクレオシドは、4つ以上のリン酸を含むリンカーにより接続される。

【0360】

特定の実施形態において、リンカーは脂肪族鎖を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは $-(CH_2)_n-$ を含み、 n は1~20（両端値を含む）の整数である。いくつかの実施形態において、 n は1~10（両端値を含む）の整数である。特定の実施形態において、リンカーはヘテロ脂肪族鎖を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはポリエチレングリコール部分を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはポリプロピレングリコール部分を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは $-(CH_2CH_2O)_n-$ を含み、 n は1~20（両端値を含む）の整数である。いくつかの実施形態において、リンカーは $-(CH_2CH_2O)_n-$ を含み、 n は1~10（両端値を含む）の整数である。特定の実施形態において、リンカーは $-(CH_2CH_2O)_4$ を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは1つ以上のアリーレンを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは1つまたは複数のフェニレン（例えば、パラ置換フェニレン）を含む。特定の実施形態において、リンカーはキラル中心を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはプロリンまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはプロリンヘキサマまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはクマリンまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはアンテラセンまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはポリフェニルアミドまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーはクロマノンまたはその誘導体を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは4アミノプバルギル-L-フェニルアラニンまたはその誘導体を含む。特定の実施形態において、リンカーはポリペプチドを含む。

【0361】

いくつかの実施形態において、リンカーはオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、リンカーは2本鎖オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドはデオキシリボースヌクレオチド、リボースヌクレオチド、またはロックドリボースヌクレオチドを含む。特定の実施形態において、リンカーはフォスタビライザを含む。

F. 検体ウェル表面処理

特定の実施形態において、1つまたは発光標識された分子を検出する方法は、標的空間内に分子が閉じ込められた状態で実行される。いくつかの実施形態において、標的空間は検体ウェル（例えば、ナノアパーチャ）内の領域である。特定の実施形態において、検体ウェルは、第一の材料を含む底面と複数の金属または酸化金属層により形成された側壁を含む。いくつかの実施形態において、第一の材料は透明材料またはガラスである。いくつかの実施形態において、底面は平坦である。いくつかの実施形態において、底面は湾曲したウェルである。いくつかの実施形態において、底面は側壁のうち、複数の金属または酸化金属層により形成された側壁の下の部分を含む。いくつかの実施形態において、第一の材料は溶融シリカまたは二酸化シリコンである。いくつかの実施形態において、複数の層の各々は金属（例えば、Al、Ti）または酸化金属（例えば、 Al_2O_3 、 TiO_2 、 TiN ）を含む。

G. 保護膜

1つまたは複数の分子または複合体が表面に固定される場合、機器の他の表面を保護して、望ましくない位置での固定化を防止することが望ましい。いくつかの実施形態において、分子または複合体は検体ウェルの底面に固定され、検体ウェルの側壁が保護される。いくつかの実施形態において、側壁は、金属または酸化金属バリア層を側壁表面上に堆積させるステップと、コーティングをバリア層に塗布するステップによって保護される。いくつかの実施形態において、酸化金属バリア層は酸化アルミニウムを含む。いくつかの実

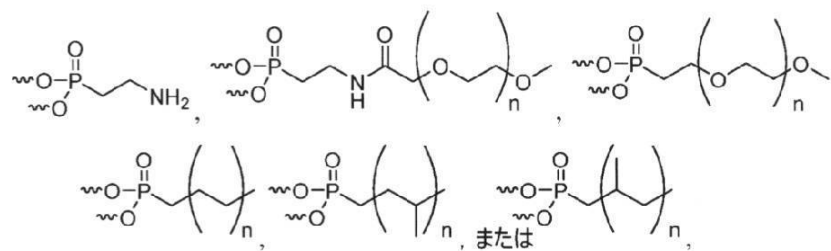
施形態において、堆積させるステップは、側壁面と底面上に金属または酸化金属バリア層を堆積させるステップを含む。いくつかの実施形態において、堆積させるステップは、底面から金属または酸化金属層をエッチングするステップをさらに含む。

【0362】

いくつかの実施形態において、バリア層コーティングはホスホン酸基を含む。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングは、アルキル鎖を有するホスホン酸基を含む。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングは高分子ホスホン酸を含む。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングはポリビニルホスホン酸（PVPA）を含む。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングは置換アルキル鎖を有するホスホン酸基を含む。いくつかの実施形態において、アルキル鎖は1つまたは複数のアミドを含む。いくつかの実施形態において、アルキル鎖は1つまたは複数のポリ（エチレングリコール）鎖を含む。いくつかの実施形態において、コーティングは化学式

【0363】

【化2】



のホスホン酸基を含み、 n は10～100（両端値を含む）の整数であり、

【0364】

【化3】



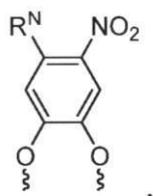
は水素または表面との付着点である。いくつかの実施形態において、 n は3～20（両端値を含む）の整数である。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングは異なる種類のホスホン酸基の混合物を含む。いくつかの実施形態において、バリア層コーティングは、PEG重量の異なるポリ（エチレングリコール）鎖を含むホスホン酸基の混合物を含む。

【0365】

特定の実施形態において、バリア層はニトロドーパ基を含む。特定の実施形態において、バリア層コーティングは化学式

【0366】

【化4】



10

20

30

40

50

の基を含み、 R^N は任意の置換アルキル鎖であり、

【0367】

【化5】

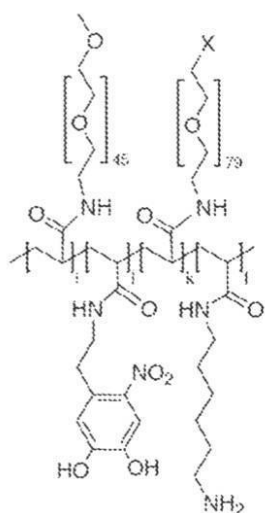


は水素または表面との付着点である。いくつかの実施形態において、 R^N はポリマーを含む。いくつかの実施形態において、 R^N はポリ（リジン）またはポリ（エチレングリコール）を含む。いくつかの実施形態において、バリア層は、リジンモノマーを含むポリ（リジン）のコポリマーを含み、リジンモノマーは独立してPEG、ニトロドーパ基、ホスホン酸基、または一級アミンを含む。特定の実施形態において、バリア層は化学式（P）

10

【0368】

【化6】



(P).

20

のポリマーを含む。

30

【0369】

いくつかの実施形態において、Xは—OMe、ビオチン基、ホスホン酸、またはシランである。いくつかの実施形態において、i、j、k、およびlの各々は独立して0～100（両端値を含む）の整数である。

H. ポリメラーゼ固定

いくつかの実施形態において、1つまたは複数の分子または複合体が表面に固定される場合、この表面は機能化され、分子または複合体の1つまたは複数の付着させることができる。いくつかの実施形態において、機能化表面は検体ウェルの底面である。特定の実施形態において、機能化表面は透明ガラスを含む。特定の実施形態において、機能化表面は溶融シリカまたは二酸化シリコンを含む。いくつかの実施形態において、機能化表面はシランで機能化される。いくつかの実施形態において、機能化表面はイオンの帯電したポリマーで機能化される。いくつかの実施形態において、イオンの帯電したポリマーはポリ（リジン）を含む。いくつかの実施形態において、機能化表面は、ポリ（リジン）—グラフト—ポリ（エチレングリコール）で機能化される。いくつかの実施形態において、機能化表面はビオチン化ウシ血清アルブミン（BSA）で機能化される。

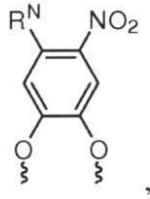
40

【0370】

特定の実施形態において、機能化表面はニトロドーパ基を含むコーティングで機能化される。特定の実施形態において、コーティングは化学式

【0371】

【化 7】



の基を含み、 R^N は任意の置換アルキル鎖であり、

【0372】

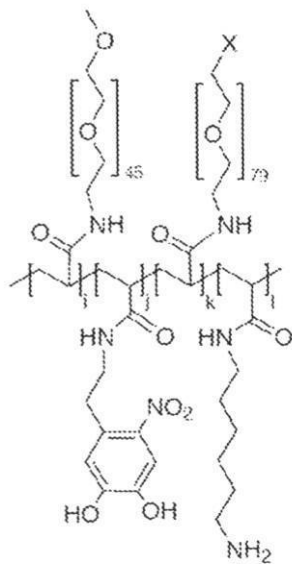
【化 8】



は水素または表面との付着点である。いくつかの実施形態において、 R^N はポリマーを含む。いくつかの実施形態において、 R^N はポリ（リジン）またはポリ（エチレングリコール）を含む。いくつかの実施形態において、 R^N はビオチン化ポリ（エチレングリコール）を含む。いくつかの実施形態において、コーティングは、リジンモノマーを含むポリ（リジン）のコポリマーを含み、リジンモノマーは独立した PEG、ビオチン化 PEG、ニトロドーパ基、ホスホン酸基、またはシランを含む。特定の実施形態において、コーティングは化学式（P）

【0373】

【化 9】



(P).

のポリマーを含む。

【0374】

いくつかの実施形態において、X は -OMe、ビオチン基、ホスホン酸、またはシランである。いくつかの実施形態において、i、j、k、および l の各々は独立して 0 ~ 100（両端値を含む）の整数である。

【0375】

いくつかの実施形態において、機能化表面は、アルキル鎖を含むシリルで機能化される。いくつかの実施形態において、機能化表面は、任意の置換アルキル鎖を含むシリルで機能化される。いくつかの実施形態において、表面は、ポリ（エチレングリコール）鎖を含むシリルで機能化される。いくつかの実施形態において、機能化表面は、カップリング基を含むシリルで機能化される。例えば、カップリング基は化学物質残基、例えばアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基、スルフィドリル基、金属、キレート、およびその他を含んでいてもよい。あるいは、これらは特定の結合元素、例えばビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、ニュートラビジン、レクチン、SNA P-タグ（SNA P-t a g）（商標）、またはそのための基質、会合性または結合ペプチドもしくはたんぱく質、抗体もしくは抗体フラグメント、核酸もしくは核酸類似体、またはその他を含んでいてもよい。それに加えて、またはその代わりに、カップリング基は関心対象の分子とカップリングまたは結合するために使用されるその他の基をカップリングするために使用されてもよく、これは、場合により、化学的官能基および特定結合の要素の両方を含む。例えば、カップリング基、例えばビオチンは、基質表面に堆積され、ある領域において選択的に活性化されてもよい。したがって、中間結合剤、例えばストレプトアビジンは第一のカップリング基にカップリングされてもよい。したがって、この特定の例において、ビオチン化される関心対象の分子はストレプトアビジンに連結される。

10

【0376】

いくつかの実施形態において、機能化表面は、ビオチンを含むシリル、またはその類似体で機能化される。いくつかの実施形態において、表面はポリ（エチレン）グリコール鎖を含むシリルで機能化され、ポリ（エチレングリコール）鎖はビオチンを含む。特定の実施形態において、機能化表面はシリルの混合物で機能化され、少なくとも1種類のシリルはビオチンを含み、少なくとも1種類のシリルはビオチンを含まない。いくつかの実施形態において、混合物は、ビオチンを含まないシリルより、約10倍少ない、約25倍少ない、約50倍少ない、約100倍少ない、約250倍少ない、約500倍少ない、または約1000倍少ないビオチン化シリルを含む。

20

【0377】

図10-3は、シーケンシング反応を開始するために、製造されたチップ（例えば、集積装置）から検体ウェル表面を処理する非限定的な例示のプロセスを示している。検体ウェルは底面（影付きのない長方形）と側壁（影付きの縦長の長方形）で表される。側壁は、複数の層（例えば、Al、Al₂O₃、Ti、TiO₂、TiN）からなってもよい。ステップ（a）で、側壁にAl₂O₃のバリア層を堆積させる。次に、ステップ（b）で、Al₂O₃バリア層をPEGホスホン酸基でコーティングし、これは、例えば表面を1種または複数のPEGホスホン酸で処理することによる。ステップ（c）で、底面を、例えばPEGシリルとビオチン化PEGシリルの混合物で機能化する。楕円形は個々のビオチン基を表し、これは単一分子または複合体、例えばポリメラーゼ複合体の付着のための部位を提供してもよい。ステップ（d）で、ポリメラーゼ複合体を底面のビオチン基に付着させる。ポリメラーゼは、結合剤、例えばストレプトアビジンとビオチンタグによってポリメラーゼ複合体に付着されてもよい。ポリメラーゼ複合体は、鋳型核酸およびプライマ（図示せず）をさらに含んでいてもよい。ステップ（e）は、固定されたポリメラーゼ複合体を発光標識されたヌクレオチドにさらすことによるシーケンシング反応の開始を示している。

30

40

I. ポリメラーゼ

「ポリメラーゼ」という用語は、本明細書で使用されるかぎり、一般に重合反応の触媒として作用できる任意の酵素（または重合化酵素）を指す。ポリメラーゼの例は、限定せずに、核酸ポリメラーゼ、転写酵素、またはリガーゼを含む。ポリメラーゼは、重合化酵素とすることができる。

【0378】

単一分子核酸伸長（例えば、核酸配列解析のため）に関する実施形態は、標的核酸分子

50

と相補的な核酸を合成することのできる何れのポリメラーゼを使用してもよい。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼはDNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼ、逆転写、および／またはその1つもしくは複数の変異体もしくは変質形であってもよい。

【0379】

単一分子核酸配列解析に関する実施形態は、標的核酸分子と相補的な核酸を合成することのできる何れのポリメラーゼを使用してもよい。ポリメラーゼの例には、DNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼ、熱安定ポリメラーゼ、野生型ポリメラーゼ、変質ポリメラーゼ、大腸菌 (*E. coli*) DNAポリメラーゼ I、T7 DNAポリメラーゼ、バクテリオファージ T4 DNAポリメラーゼ ψ 29 (プサイ 29) DNAポリメラーゼ、Taqポリメラーゼ、Tthポリメラーゼ、Tliポリメラーゼ、Pfuポリメラーゼ、Pwoポリメラーゼ、VENTポリメラーゼ、DEEPVENTポリメラーゼ、EX-Taqポリメラーゼ、LA-Taqポリメラーゼ、Ssoポリメラーゼ、Pocポリメラーゼ、Pabポリメラーゼ、Mthポリメラーゼ、ES4ポリメラーゼ、Truポリメラーゼ、Tacポリメラーゼ、Tneポリメラーゼ、Tmaポリメラーゼ、Tcaポリメラーゼ、Tihポリメラーゼ、Tfiポリメラーゼ、プラチナTaqポリメラーゼ、Tbrポリメラーゼ、Tflポリメラーゼ、Tthポリメラーゼ、PfuTuboポリメラーゼ、Pyrobestポリメラーゼ、Pwoポリメラーゼ、KODポリメラーゼ、Bstポリメラーゼ、Sacポリメラーゼ、クレノウ断片、3' - 5' エクソヌクレアーゼ活性を有するポリメラーゼ、およびその変異体、変質生成物、および誘導体が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは単一のサブユニットポリメラーゼである。DNAポリメラーゼの非限定的な例とその特性は、コーンバーグ (Kornberg) およびベーカ (Baker) 著、「DNA複製 (DNA Replication)」、第二版、W. H. フリーマン・アンド・カンパニー (W. H. Freeman)、ニューヨーク、ニューヨーク (1991年) およびその他に詳しく記載されている。

【0380】

標的核酸のヌクレオ塩基と相補的 dNTP との間で塩基対合が起こると、ポリメラーゼは dNTP を新たに合成される核酸鎖内に、新規に合成された鎖の 3' ヒドロキシル端と dNTP のアルファリン酸との間にホスホジエステル結合を形成することによって組み込む。dNTP と共役の発光マーカが蛍光体である例において、その存在は励起により信号化され、組み込みステップ中またはその後、放出パルスが検出される。dNTP の末端 (ガンマ) リン酸と共役の検出マーカに関して、新規に合成された鎖に dNTP を組み込むことにより、ベータおよびガンマリリン酸と検出マーカが放出され、これは検体ウェル内に自由に拡散し、その結果、蛍光体から検出される放出が減少する。

【0381】

いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは処理能力の高いポリメラーゼである。しかしながら、いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは処理能力の低下したポリメラーゼである。ポリメラーゼ処理能力は一般に、核酸鋳型を放出せずに、dNTP を核酸鋳型に連続的に組み込むポリメラーゼの能力を指す。

【0382】

いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは 5' - 3' エクソヌクレアーゼ活性の低下した、および／または 3' - 5' エクソヌクレアーゼを有するポリメラーゼである。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは (例えばアミノ酸置換により) 改質され、5' - 3' エクソヌクレアーゼ活性および／または 3' - 5' 活性がそれに対応する野生型ポリメラーゼと比較して低下されてもよい。DNAポリメラーゼの別の非限定的例には、9°Nm (商標) DNAポリメラーゼ (New England Biolabs)、および Klenow エクソポリメラーゼの P680G 変異体 (タスキーラ (Tuske et al.) (2000年) JBC 275 (31): 23759-23768) が含まれる。いくつかの実施形態において、処理能力が低下したポリメラーゼにより、ヌクレオチドの繰返しの 1 つまたは複数の伸長 (例えば、同じ型の 2 つ以上の連続する塩基) を含む

配列解析鑄型の精度が高まる。

【0383】

単一分子RNA伸長（例えば、RNA配列解析のため）に関する実施形態は、RNA鑄型から相補的DNA（cDNA）を合成可能な何れの逆転写酵素を使用してもよい。このような実施形態において、逆転写酵素は、RNA鑄型にアニールされた逆転写プライマにdNTPを組み込むことを介して、RNA鑄型からcDNAを合成できるという点で、ポリメラーゼと似た方法で機能できる。したがって、cDNAは、上述し、および本明細書の他の箇所に記載したように決定されるシーケンシング反応とそのシーケンスに関与できる。その後、決定されたcDNAの配列を、配列相補性を介して使用し、当初のRNA鑄型の配列を判定できる。逆転写酵素の例には、マウス白血病ウイルス（Moloney Murine Leukemia Virus）（M-MLV）逆転写酵素、トリ骨髄芽球症ウイルス（AMV）逆転写酵素、ヒト免疫不全ウイルス逆転写酵素（HIV-1）およびテロメラーゼ逆転写酵素が含まれる。

10

【0384】

処理能力、エクソヌクレアーゼ活性、異なる種類の核酸に対する相対親和度、または核酸ポリメラーゼのその他の特性は、当業者により、対応する野生型ポリメラーゼに関する変異またはその他の修飾によって増減できる。

J. 寿命測定

寿命測定は、1つの励起エネルギー波長を使用して検体ウェル内のマーカを励起して実行される。異なる寿命を有するマーカの組合せは、寿命測定に基づいて個々のマーカを区別するために選択される。それに加えて、マーカの組合せは、使用される励起源によって照明されたときに励起状態に到達できる。1回の励起を用いて寿命測定のために構成された集積装置は、行に沿って位置付けられた複数のピクセルを含んでいてもよく、各検体ウェルは同じ導波路と結合するように構成される。ピクセルは検体ウェルとセンサを含む。各ピクセルのための検体ウェルに導波路を結合するために、1つまたは複数のマイクロキャビティまたはブルズアイ格子が使用されてもよい。

20

【0385】

パルス式励起源は、前述の技術を使ったパルス式励起源の1つであってもよい。いくつかの例において、パルス式励起源は、レーザダイオードの直接変調電気ポンピングを通じてパルスを放出するように構成された半導体レーザダイオードであってもよい。パルスのパワーはピーク後約250ピコ秒でパルスピークパワーの20dBより小さくなる。各励起パルスの時間間隔は2~200ピコ秒の範囲内である。各励起パルス間の持続時間は1~50ナノ秒の範囲である。例示的な測定がどのように行われたかの概略図が図10-4に示されている。1つの励起エネルギーが使用されるため、センサへの励起エネルギーの透過を減少させるのに適した励起フィルタ、例えば上述の波長励起フィルタが集積装置内に形成されてもよい。

30

【0386】

各ピクセルのためのセンサは、1ピクセルにつき少なくとも1つの感光領域を有する。感光領域の寸法は、5マイクロメートル×5マイクロメートルであってもよい。光子はセンサ到達時の時間間隔内で検出される。タイムビンの数を増やすと、一連のタイムビンにわたって収集される光子の記録ヒストグラムの分解能が改善され、異なる発光マーカを互いに区別することを改善できる。いくつかの実施形態において、集光要素は、関連する検体ウェル内のマーカが放出する光子の収集を改善するために、集光要素をセンサに組み込んでもよい。このような集光要素は、図10-5に示されるように、フレネルレンズを含んでいてもよい。センサが特定の波長を検出するように構成されているとき、4つの発光マーカは、その特定の波長と同様の光を放出してもよい。あるいは、4つの発光マーカが異なる波長の光を放出してもよい。

40

【0387】

寿命測定に基づいて区別可能な4つの発光マーカの集合の一例は、図10-6のグラフで示されるようにATRh014、Cy5、AT647N、およびCF633である。こ

50

れら4つのマーカは、異なる寿命を有し、少なくとも4つのタイムビンが使用されるとき、区別可能なヒストグラムを生成する。図10-7は、16のタイムビンにわたるこれらのマーカの各々の信号プロファイルの概要を示す。信号プロファイルは各マーカについて正規化されている。タイムビンは時間間隔が異なり、マーカの各々について固有の信号プロファイルを提供する。図10-8および10-9は、寿命測定に基づいて区別可能な他の例示的なマーカの集合、アットロー (A T T O R h o) 14、D 6 5 0、S T 6 4 7、およびC F 6 3 3の、それぞれ連続および離散した信号プロファイルを示している。他のマーカの集合には、アットロー (A T T O R h o) 14、C 6 4 7、S T 6 4 7、C F 6 3 3；アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、B 6 3 0、C 6 4 0 R、C F 6 3 3；およびアットロー (A T T O R h o) 14、アット (A T T O) 6 4 7 N、アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、C F 6 3 3が含まれる。

10

K. スペクトル寿命測定

寿命測定は、1つまたは複数の発光マーカのスペクトル測定と組み合わせてもよい。スペクトル測定は、個々のマーカに関する発光の波長に依存していてもよく、ピクセルごとに少なくとも2つのセンサ領域を使用して捕捉される。集積装置の例示的構造はピクセルを含み、各々が2つの異なる領域を有するセンサを有し、各領域は異なる波長を検出するように構成される。例えば図7-7に示され、説明されているような多波長フィルタは、各センサ領域に異なる波長の光を選択的に透過させるために使用されてもよい。例えば、1つのセンサ領域とフィルタとの組合せは赤色光を検出するように構成されていてもよく、他のセンサ領域とフィルタとの組合せは緑色光を検出するように構成されていてもよい。

20

【0388】

寿命測定とスペクトル測定との両方の組合せは、1つの励起エネルギー波長を使用して検体ウェル内のマーカを励起させることにより実行されてもよい。マーカの組合せは、少なくとも2つの異なる発光波長を有するように選択され、ある波長で放出し、異なる寿命を有するマーカが、寿命およびスペクトル測定に基づいて個々のマーカ間で区別するために選択される。それに加えて、マーカの組合せは、使用される励起源により照明されると励起状態に到達できるように選択される。

【0389】

励起源はパルス式励起源であり、上述の技術を使用する励起源の1つであってもよい。いくつかの例において、パルス式励起源は、レーザダイオードの直接変調電気ポンピングを通じてパルスを放出するように構成された半導体レーザダイオードであってもよい。パルスのパワーは、ピークの250ピコ秒後にピークパワーより20dB低下する。各励起パルスの持続時間は20~200ピコ秒である。各励起パルス間の時間間隔は1~50ナノ秒の範囲である。例示的測定がどのように行われるかを示す概略図が、図10-10に示されている。1つの励起エネルギーが使用されるため、図7-5に関して上述した波長励起フィルタ等、センサへの励起エネルギーの透過を減少させるのに適した励起フィルタが使用されてもよい。

30

【0390】

各ピクセルのセンサは、ピクセルごとに少なくとも2つの感光領域を有する。いくつかの実施形態において、ピクセルごとに2つの感光領域がある。他の実施形態において、ピクセルごとに4つの感光領域がある。各感光領域は、異なる波長または波長範囲を検出するように構成される。光子は、それらがセンサに到達した時間間隔内で検出される。タイムビンの数を増やすことにより、一連のタイムビンにわたり収集された光子の記録ヒストグラムの分解能を高めることができ、個々の寿命による異なる発光マーカを互いに区別することを改善できる。いくつかの実施形態において、センサの各領域に2つのタイムビンがある。他の実施形態において、センサの各領域に4つのタイムビンがある。

40

【0391】

寿命測定に基づいて区別可能な4つの発光マーカの集合の一例は、アットロー (A T T O R h o) 14、A S 6 3 5、アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、お

50

よびアット (A T T O) 6 4 7 Nである。これら4つのマーカのうちの2つずつが、1つの同様の波長と他の同様の波長で放出する。同様の波長で放出する各マーカペア内で、マーカペアは異なる寿命を有し、少なくとも4つのタイムビンが使用されるときに区別可能なヒストグラムを生成する。この例において、アットロー (A T T O R h o) 1 4およびA S 6 3 5は同様の発光波長を放出し、異なる寿命を有する。アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7とアット (A T T O) 6 4 7 Nは、アットロー (A T T O R h o) 1 4およびA S 6 3 5により放出される波長と異なる、同様の発光波長を放出し、異なる寿命を有する。図10-11は、このマーカの集合のための放出波長に関する寿命のグラフを示し、これらのマーカの各々が、寿命と放出波長との組合せに基づいてどのように区別可能であるかを示している。図10-12は、アットロー (A T T R h o) 1 4、アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、およびアット (A T T) 6 4 7 Nの波長に関するパワーのグラフを示す。図10-13は、直径135 nmの検体ウェル内に存在するときのこれらのマーカのそれぞれ1つに関する時間に伴う蛍光信号のグラフを示している。図10-14は、4つの感光領域にわたってこれらのマーカの信号プロファイルを示しており、各領域が4つのタイムビンを捕捉する。信号プロファイルは正規化され、4つのタイムビンの各々において感光領域により捕捉される光子の相対数により、異なるマーカ間で区別するために使用される。このようなスペクトル寿命測定のための4つの他の蛍光体の集合は、A T R h o 1 4、D 6 5 0、S T 6 4 7、C F 6 3 3；アットロー (A T T O R h o) 1 4、C 6 4 7、S T 6 4 7、C F 6 3 3；アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、B 6 3 0、C 6 4 0 R、C F 6 3 3；およびアットロー (A T T O R h o) 1 4、アット (A T T O) 6 4 7 N、アレクサフルー (A l e x a F l u o r) 6 4 7、C F 6 3 3である。図10-15は、A T R h o 1 4、D 6 5 0、S T 6 4 7、およびC 6 3 3に関する時間に伴う信号の強度プロファイルのグラフを示している。図10-16は、A T R h o 1 4の信号プロファイルを示す。

L. 寿命-励起エネルギー測定

寿命測定と少なくとも2つの励起エネルギー波長の使用との組合せが、複数のマーカの区別に使用されてもよい。いくつかのマーカは、1つの励起波長が使用され、他の波長は使用されないときに励起されてもよい。異なる寿命を有するマーカの組合せは、各励起波長に関して、寿命測定に基づいて個々のマーカ間で区別するように選択される。この実施形態において、集積装置は、各ピクセルが1つの領域を有するセンサを有するように構成されてもよく、外部励起源は、時間的インタリーブ方式で電氣的に変調されたパルス式ダイオードレーザからの少なくとも2つの励起エネルギー波長を提供するように構成されてもよい。

【0392】

励起源は、少なくとも2つの励起エネルギーの組合せである。励起源はパルス式励起源であり、上述の技術を使った励起源の1つまたは複数であってもよい。いくつかの例において、パルス式励起源は、レーザダイオードの直接変調電気ポンピングを通じてパルスを放出するように構成された2つの半導体レーザダイオードであってもよい。パルスのパワーは、ピークの250ピコ秒後にパルスピークパワーから20 dB低下する。各励起パルスの時間間隔は20~200ピコ秒の範囲であってもよい。各励起パルス間の時間間隔は、1~50ナノ秒の範囲である。1つの励起波長は、パルスごとに放出され、励起波長を知ることにより、異なる寿命のマーカのサブセットが一意的に識別される。いくつかの実施形態において、異なる波長のなかで励起のパルスが交互になる。例えば、2つの励起波長が使用される場合、その後のパルスは1つの波長ともう一方の波長との間で交互になる。例示的測定がどのように行われるかの概略図が図10-17に示されている。複数の励起源を組合せ、異なる波長を有するパルスをインタリーブするために、何れの適当な技術が使用されてもよい。複数の励起波長のパルスを検体ウェルの行に送達するいくつかの技術の例をここで説明する。いくつかの実施形態において、検体ウェル1行につき1つの導波路があり、および2つの励起源があり、これらは励起エネルギーのパルスが2つの励起波長で交互になるように組み合わせられる。いくつかの実施形態において、検体ウェル1行

につき2つの導波路があり、各導波路は、2つの励起波長の一方を搬送するように構成される。他の実施形態において、ピクセルの1行につき1つの導波路があり、1つの波長が導波路の一方の端に結合し、他の波長が他方の端に結合する。

【0393】

各ピクセルのセンサは、ピクセルごとに少なくとも1つの感光領域を有する。感光領域の寸法は5マイクロメートル×5マイクロメートルであってもよい。光子はそれらがセンサに到達する時間間隔内に検出される。タイムビンの数を増やすことにより、一連のタイムビンにわたり収集された光子の記録ヒストグラムの分解能を改善し、異なる発光マーカを互いに区別することを改善できる。センサは少なくとも2つのタイムビンを有する。

【0394】

寿命測定に基づいて区別可能な4つの発光マーカの集合の一例は、アレクサフルー (Alexa Fluor) 546、Cy3B、アレクサフルー (Alexa Fluor) 647、およびアット (ATTO) 647Nである。図10-18に示されるように、アレクサフルー (Alexa Fluor) 546およびCy3Bは、1つの波長、例えば532nmで励起し、異なる寿命を有する。図10-19に示されるように、アレクサフルー (Alexa Fluor) 647およびアット (ATTO) 647Nは、他の波長、640nmで励起し、異なる寿命を有する。640nmで何れも励起されるアット (ATTO) 647NおよびCF633に関する16のタイムビンにわたる区別可能な正規化された信号プロファイルが図10-20に示されている。既知の励起波長の後に光子を検出することによって、これら2つのマーカペアの一方は、前の励起波長に基づいて判定されてもよく、あるペアの各マーカは寿命測定に基づいて識別される。

VI. 製造ステップ

上述の集積装置は、何れの適当な方法で製造されてもよい。以下に、適当な集積装置を作るための、当技術分野で知られている技術とどのようにでも組み合わせられてもよい集積装置の各種の構成要素の製造について説明する。

A. 検体ウェル製造プロセス

検体ウェル (例えば、ナノアパーチャ) は、何れの適当な方法で製造されてもよい。いくつかの実施形態において、検体ウェルは、標準的なフォトリソグラフィプロセスとエッチング方式を使用して製造されてもよい。検体ウェルは、金属 (例えば、Al、TiN)、またはフォトリソグラフィプロセスと適合するあらゆる適当な材料を有する層で形成されてもよい。図11-1は、集積装置の検体ウェルの例示的な製造方法を示す。層11-112は検体ウェルを形成し、AlまたはTiN等の金属を含んでいてもよい。層11-110は、誘電層として機能してもよく、SiO₂または窒化シリコン等の何れの適当な誘電基板から形成されてもよい。方法の1つのステップは、基板11-110に層11-112を直接堆積させるステップを含む。いくつかの実施形態において、層11-112と層11-110との間に追加の層を堆積させてもよい。層11-112は、何れの適当な厚さで堆積させてもよく、いくつかの実施形態において、厚さは結果として得られる検体ウェルの高さを決定してもよい。層11-112の厚さは約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。次に、反射防止コーティング (ARC) 11-122を層11-112の上に堆積させる。エッチマスク11-120 (例えば、フォレジストエッチマスク) をARC 11-122の上に堆積させる。従来のフォトリソグラフィ技術を使用して、エッチマスク11-120とARC層11-122に穴をパターニングする。エッチマスク11-120によりパターニングされる穴は、直径が約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。次に、エッチング、例えば反応イオン法を使用して穴パターンを下層11-112に転写し、検体ウェルを形成する。エッチングは層11-110の表面で停止してもよく、またはエッチングで層11-112の穴の下層11-110に窪みを形成してもよい。従来の方法を使用して、層11-112からエッチマスク11-120およびARC 11-122を剥離する。検体ウェルの寸法は約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。

【0395】

あるいは、検体ウェルは標準的なフォトリソグラフィプロセスとリフトオフ法を使用して製造してもよい。図11-2は、リフトオフ法を使用して検体ウェルを形成する例示的方法を示している。金属（例えば、Al、Au、Cr）を含んでいてもよい層11-212内に検体ウェルを形成する。何れの適当な材料、例えば誘電材料（例えば、SiO₂）を含んでいてもよい基板層11-210の上に層11-212を形成する。層11-212の堆積は、フォトリソグラフィプロセスとは別に、その後に行ってもよい。図11-2に示されるリフトオフ製造プロセスの第一のステップは、基板11-210の上に反射防止コーティング（ARC）11-222を、その後、基板11-210の上に直接フォトレジストエッチマスク11-220を堆積させるステップを含んでいてもよい。従来のフォトリソグラフィ方式を使用して、レジストのピラー11-230が残されるようにフォトレジストをパターニングする。ピラーは、結果として得られる検体ウェルに対応する何れの適当な大きさおよび形状であってもよい。ピラーの直径は、約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。このような技術は、基板のピラーの周辺から、レジストとARC層を溶解させるステップを含んでいてもよい。以下のステップはレジストのピラーと基板の上に直接層11-212を堆積させ、キャップ付ピラーを形成するステップを含んでいてもよい。他の実施形態において、層11-212の堆積の前または後に、追加の層を堆積させてもよい。非限定的な例として、TiNはAlで形成される層11-212の上に堆積させてもよく、任意選択によりその後、Al₂O₃を堆積させる。層11-212は、何れの適当な厚さで堆積させてもよく、いくつかの実施形態において、その厚さは約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。検体ウェルを形成するために、キャップ付ピラーを、フォトレジストが使用された場合は溶剤により、または二酸化シリコンまたは窒化シリコンのハードエッチマスクが使用された場合は選択的エッチングによって剥離してもよい。検体ウェルの直径は、約50nm、約100nm、または約150nmであってもよい。

【0396】

あるいは、検体ウェルは、標準フォトリソグラフィプロセスおよび代替的なリフトオフ法を使用して製造してもよい。図11-3は、集積装置の検体ウェル形成の例示の実施形態を示している。ハードエッチマスク層11-314を基板11-310の上に堆積させる。ハードエッチマスク層11-314は、Tiまたは他の何れの適当な材料を含んでいてもよい。基板11-310は、誘電材料（例えば、SiO₂）または他の何れの適当な材料を含んでいてもよい。次に、ARC層11-322をハードエッチマスク層11-314の上に堆積させてもよく、その後、フォトレジスト層11-320を堆積させる。従来のフォトリソグラフィ法を使用して、フォトレジストをパターニングし、レジストのピラー11-320を形成する。このフォトレジストピラーパターンは、ARC層11-322とハードエッチマスク層11-314をエッチングするためのエッチマスクとして使用される。次に、フォトレジスト層11-320とARC 11-322を剥離して、ハードエッチマスクのピラー11-330を残す。従来の技術を使用して、残りのフォトレジストとARC層をピラーから溶解させてもよい。次のステップは、層11-312をピラー11-330の上に直接堆積させて、キャップ付ピラーを形成するステップを含んでいてもよい。検体ウェルを形成するために、層11-314を腐食させる過酸化水素エッチングまたは他の適当なエッチングによりキャップ付ピラーを剥離し、キャップを「リフトオフ」し、その結果、層11-312内に検体ウェルが形成される。

【0397】

いくつかの実施形態において、検体ウェルは、何れの適当な方法で検体ウェルを通るプラズモン透過を減衰させるために製造されてもよい。例えば、検体ウェルは多層積層体で製造されてもよい。多層積層体は、基板に堆積される金属層、吸収層、および／または表面層を含んでいてもよいが、これに限定されない。表面層は、保護層であってもよい。多層積層体は、何れの適当な方法で製造されてもよい。従来のパターニングおよびエッチング法が使用されてもよい。金属層は基板上に堆積されてもよい。あるいは、吸収層は金属層の上に堆積されてもよい。あるいは、表面保護層は吸収層／金属層積層体の上に堆積さ

10

20

30

40

50

れてもよい。フォトレジストおよび反射防止層が多層積層体の最上層の上に堆積されてもよい。フォトレジスト層は、検体ウェルの寸法でパターンニングされてもよい。多層積層体を直接エッチングして、検体ウェルを形成してもよい。

【0398】

吸収層は、何れの適当な吸収材料を含んでいてもよい。非限定的な例としては、窒化シリコン、TiN、aSi、Ta₂N₅、Geおよび／またはCrが含まれる。名前が挙げられた材料の多様体、例えばSi₃N₄も使用可能である。金属層と表面層は、何れの適当な材料で製作されてもよい。例えば、Al、AlSi、またはAlCuが金属層に使用されてもよい。表面層は、例えばAlまたはAl₂O₃で製作されてもよい。多層積層体の検体ウェルは、上述のプロセスを使用して製造されてもよい。

10

【0399】

それに加えて、および／またはその代わりに、反射層を基板の上に直接堆積させてから、多層積層体を堆積させて、フォトリソグラフィ中の光ビームの焦点を制御してもよい。反射層は、基板の上に直接堆積させ、検体ウェルの寸法でパターンニングしてもよい。任意選択により、反射防止コーティングの層とそれに続くフォトレジスト層をパターンニングされた反射コーティング層の上に堆積させ、ARCとフォトレジストのピラーが基板上のある位置に残されるようにパターンニングしてもよい。次に、多層積層体をピラー、反射層、および基板の上に堆積させてもよい。上述のようにリフトオフプロセスを使用してキャップ付ピラーを除去してもよく、基板のピラーがあった箇所に検体ウェルが形成される。

【0400】

20

同様に、Tiピラーは検体ウェルを形成するために使用されてもよい。第一のステップは、基板上にTi層を堆積させ、その後、反射防止コーティングの層とフォトレジストの層が続いてもよい。Ti層をパターンニングし、エッチングして、Tiピラーを形成してもよい。Tiピラーと基板の上に多層積層体を堆積させてもよい。最後に、Tiピラーを除去してもよく、基板の、Tiピラーがあった場所に対応する箇所に検体ウェルが形成される。

【0401】

何れの適当な堆積方法が使用されてもよい。例えば、PVD、CVD、スパッタリング、ALD、eビーム堆積および／または熱蒸着が、1つまたは複数の層の堆積に使用されてもよい。堆積環境は、堆積間の層の酸化を防止するように制御されてもよい。例えば、環境は1つまたは複数の層の堆積中および堆積間に高真空および／または低酸素状態に保持されてもよい。

30

B. 窪みを有する検体ウェル層

検体ウェル層は、検体ウェル（例えば、ナノアパーチャ）が導波路までの特定の距離に位置付けられるように窪みを含んでいてもよい。検体ウェル層内に窪みを形成するための何れの適当な技術が使用されてもよい。1つの方法は、トポグラフィを有するレジストを形成するために使用されるグレイスケールリソグラフィを含み、その後、エッチングによりトポグラフィを酸化物層に転写する。酸化物層にディップトポグラフィが転写された後、検体ウェルおよび／またはその他の構造が形成されてよい。図11-5は、窪みを有する検体ウェル層を形成する例示的实施形態を示す。導波路11-820が周辺材料層11-810内に形成され、周辺材料層11-810の表面上にレジスト11-830がパターンニングされる。レジスト11-830のパターンニングは、何れの適当な大きさまたは形状であってもよい。層11-810の表面がエッチングされ、レジスト11-830のパターンニングに基づいて所望の窪み形状が形成される。検体ウェル層11-812は、本明細書に記載されている技術の何れかの組合せによって層11-810のエッチングされた表面上に堆積されて、一部は、導波路11-820からある距離に、導波路11-820と検体ウェル11-832との間の適当な結合を提供するために位置付けられた検体ウェル11-832を有する。

40

【0402】

窪みを有する検体ウェル層を形成するための別の技術は、グレイスケールリソグラフィ

50

を使用して酸化物層内にトポグラフィを形成し、導波路を露出させるステップを含んでいてもよく、その後、酸化物が制御された厚さで堆積され、その後、検体ウェルおよび／またはその他の構造が形成される。図11-6は、窪みを有する検体ウェル層を形成する例示的实施形態を示す。導波路11-920は、周辺材料層11-910内に形成される。グレイスケールリソグラフィを使用して、層11-910の表面がエッチングされ、導波路11-920が露出される。層11-910は、制御された厚さで整形される。表面プラズモン構造（図示せず）等の構成要素が形成されてもよい。検体ウェル11-932を形成する検体ウェル層11-912が層11-910の上に形成される。

【0403】

いくつかの実施形態において、検体ウェルのアレイ全体が基板の窪み領域に形成される。例えば、検体ウェルの金属底層と導波路との間の距離は、検体ウェルが形成された領域外で約600nmであるが、検体ウェルアレイのある場所では約350nmまで短縮されてもよい。このようにして、複数の集積装置がウェハ上に形成される場合、ウェハ上での各集積装置の位置は、ウェハの上面の、形成されている個々の集積装置の各々に関連付けられる窪みにより視覚的に識別できる。

C. 同心円回折格子（ブルズアイ）の製造プロセス

同心円回折格子、またはブルズアイは、何れの適当な方法で製造されてもよい。いくつかの実施形態において、同心円回折格子は、標準的なリソグラフィプロセスおよびエッチング法を使用して製造してもよい。何れの適当な誘電材料、例えば SiO_2 または窒化シリコンを同心円回折格子の形成に使用してもよい。図11-7に示される実施形態において、 SiO_2 層11-1010は、同心円回折格子の製造に使用される。製造プロセス内の第一のステップは、ハードエッチマスク11-1014を SiO_2 層11-1010の上に直接堆積させるステップを含んでいてもよい。製造プロセスの次のステップ11-1001は、シリコンを含んでいてもよいハードエッチマスクの上の反射防止コーティング（ARC）層11-1022の上に直接フォトリソレジスト層11-1020を堆積させるステップを含んでいてもよい。従来のフォトリソグラフィ法を使用して、ハードエッチマスク内にブルズアイパターンを作り、これは例えば、ステップ11-1003によってフォトリソレジストに同心円回折格子をパターンニングし、ステップ11-1005によってレジストパターンをARC層およびハードエッチマスクにエッチングすることによる。その後、ステップ11-1007により、ブルズアイパターンを、エッチング、例えば反応イオンエッチング法を使用して下の SiO_2 層に転写し、同心円回折格子を形成する。同心円回折格子の厚さは、何れの適当な厚さとすることもできる。図11-7に示される実施形態において、エッチングの深さは約80nmである。ステップ11-1009により、従来の技術を使い、レジストおよびエッチマスク残留物を剥離し、同心円回折格子の表面を洗浄する。ステップ11-1011により、層11-1012の検体ウェルが、リフトオフまたはエッチプロセスを使用して同心円回折格子の上に直接製造されてもよい。他の実施形態において、同心円回折格子と検体ウェルとの間にその他の層が堆積されてもよい。

【0404】

あるいは、いくつかの実施形態において、検体ウェルは同心円回折格子の中央に位置付けられてもよい。このような検体ウェルの正確な配列は、何れの適当な方法で実現されてもよい。図11-8に示されている実施形態において、検体ウェルの位置決めは、セルフアライン式製造プロセスを使用して実現される。第一のステップは、上述の技術にしたがって同心円回折格子を形成するステップを含んでいてもよい。しかしながら、図11-8において、ステップ11-1101により、Tiハードエッチマスク11-1114が SiO_2 基板11-1110の上に堆積される。ステップ11-1103により、ブルズアイパターンがエッチング、例えば反応イオンエッチングを使用してTi層に転写される。ステップ11-1105により、レジスト層11-1120および反射防止コーティング（ARC）層11-1122がTi層内の2つの中央ギャップの上に堆積され、ギャップおよび中央Tiピラーが被覆される。その後、ステップ11-1107により、従来のエッチング法を使用してブルズアイパターンが SiO_2 基板に転写され、同心円回折格子が

形成される。次に、ステップ11-1109により、例えば過酸化水素を使った等方性ウェットエッチングを使用してTi層が除去されるが、中央Tiピラー11-1116は所定の場所に残る。その後、従来の方法を使用してレジスト層が剥離される。次に、金属検体ウェル層が同心円回折格子およびTiピラーの上に堆積される。最後に、ステップ11-1111により、金属キャップされたTiピラーが、リフトオフプロセスを使用して除去され、同心円回折格子に関して正確に中心に置かれた検体ウェルが残る。

【0405】

検体ウェルの正確な配列は、その他の様々な方法で実現されてもよい。図11-9に示される実施形態において、検体ウェルの位置決めは、代替的なセルフアライン製造プロセスを使用して実現される。第一のステップは、ステップ11-1201により、検体ウェル層（例えば、Al、Ti）11-1212をSiO₂同心円回折格子の基板11-1210の上に直接堆積させるステップを含んでいてもよい。次に、ハードエッチマスク11-1214が層11-1212の上に堆積されてもよい。ステップ11-1203により、ブルズアイパターンが従来のエッチング法を使用して層11-1212に転写される。ステップ11-1205により、レジスト層11-1220と反射防止コーティング層11-1222とが層11-1212内の中心のギャップの上に堆積されて、検体ウェルが形成される位置が被覆される。その後、ステップ11-1207により、ブルズアイパターンが、従来のエッチング法を使用してSiO₂基板に転写され、同心円回折格子が形成される。ステップ11-1209により、層11-1212の上に追加の金属層が堆積され、それによって金属がSiO₂基板11-1210の空洞を埋め、レジスト層11-1214を被覆する。図11-9に示される実施形態において、Alは追加の金属層として使用されているが、フォトリソグラフィプロセスと適合可能な他の適当な金属が使用されてもよい。最後に、ステップ11-1211により、金属キャップされたレジストピラー11-1230がリフトオフプロセスを使用して除去され、同心円回折格子に関して正確に中心に置かれた検体ウェルが残る。

D. マイクロキャビティの製造プロセス

マイクロキャビティは何れの適当な方法で製造されてもよい。いくつかの実施形態において、マイクロキャビティは、標準的なリソグラフィプロセスおよびエッチング法を使用して製造してもよい。マイクロキャビティは窒化シリコンを含んでいてもよい。製造プロセスの第一のステップは、酸化膜の上に窒化シリコンを堆積させるステップを含んでいてもよい。窒化シリコン層がパターンニングされ、エッチングされて、マイクロキャビティ構造が形成されてもよい。窒化シリコンのエッチング後に、酸化物が窒化シリコンの特徴物の上に堆積され、CMP等により平坦に研磨されてもよい。検体ウェルを有する検体ウェル層は、マイクロキャビティの上またはその付近に製作されてもよい。マイクロキャビティは、検体ウェルからずれていてもよい。図11-10は、オフセットマイクロキャビティ構造のための2つの可能な製造設計を示している。

E. 導波路格子カブラの下のリフレクタ層

格子カブラの下のリフレクタ層は、何れの適当な方法で形成されてもよい。リフレクタ層は、励起エネルギーの導波路への結合を改善するために、導波路格子カブラから制御された距離にある金属層であってもよい。例示的な製造プロセスは、リソグラフィおよび／またはエッチングを用いて、酸化物層内の格子カブラの位置に凹部を形成するステップを含む。リフレクタ材料が堆積され、溝が充填される。レジスト層がリフレクタの上に形成され、リソグラフィおよびエッチングを用いて余剰のリフレクタ材料が除去される。酸化物がリフレクタの上に、例えばPECVDを通じて形成され、導波路製造のための平面が形成される。

F. 励起フィルタ

励起フィルタは、高屈折率および低屈折率の材料の交互の層により形成されてもよい。何れの適当な低屈折率材料が使用されてもよい。低屈折率材料の例には、PVD、PECVD、LPCVD、ALD、および／または蒸着方式を使用して形成される二酸化シリコンが含まれる。何れの適当な高屈折率材料が使用されてもよい。高屈折率材料の例には、

10

20

30

40

50

シリコン、窒化シリコン、二酸化チタン、および五酸化タンタルが含まれる。

G. バッフル

ピクセル内のセンサと検体ウェルとの間にバッフルを形成して、導波路からの励起光等の迷光を遮断および／または吸収して、センサにより検出されないようにしてもよい。1つの方法は、酸化物層の隆起部分に吸収層を堆積することであり、隆起部分はセンサと重複し、その後、CMPにより研磨される。他の方法は、吸収薄膜を酸化物層の上に堆積させ、その後、リソグラフィおよびエッチング法を用いて、吸収層内のセンサの上に穴を形成することである。

C. レンズ製造プロセス：屈折レンズ

屈折レンズアレイは、検体ウェルに励起を集中させ、それからの放出光を収集する効率を改善するために、何れの適当な方法で作られてもよい。いくつかの実施形態において、屈折レンズアレイは、レンズアレイ上の「デッドゾーン」を最小限にするための「ギャッププレス」アレイであってもよい。図11-11に示される実施形態において、屈折マイクロレンズアレイが、個々のレンズ間にギャップがないように示されている。いくつかの実施形態において、「ギャッププレス」アレイを製造するステップは2つのエッチングステップを含んでいてもよい。第一のエッチングは、ステップ11-1801により、マイクロレンズトポグラフィの深さを決定してもよい。第二のエッチングは、動作11-1803により、第一のエッチングをたどり、個々のマイクロレンズ間の平坦なギャップを除去してもよく、それによって1つのレンズは端で終了し、そこから別のレンズが始まる。第一および第二のエッチングの合計は、焦点距離を画定する。図11-12に示される実施形態において、マイクロレンズアレイの、第一のHFエッチングの後(1)、第二のHFエッチングの後(2)、マイクロレンズがより高屈折率の材料である窒化シリコンでコーティングされた後(3)、および高屈折率の材料が研磨され、平坦化された後(4)の上面図が示される。

【0406】

屈折レンズアレイ内の各屈折レンズは、何れの適当な方法で製造してもよい。ある例示的な屈折レンズアレイが図11-13に示されており、ナノアパーチャ層11-2007は、基板11-2005の上にある誘電レンズ層11-2003の上にある透明スペーサ層11-2001の上に製造される。いくつかの実施形態において、屈折レンズは、標準的なフォトリソグラフィプロセスおよびエッチング法を使用して製造してもよい。 SiO_2 または窒化シリコン等、何れの適当な誘電材料を屈折レンズの形成に使用してもよい。図11-14に示される実施形態において、窒化シリコンは SiO_2 基板トポグラフィに充填するために使用される。製造プロセス内の第一のステップ11-2101は、ハードエッチマスク11-2114を SiO_2 基板11-2110の上に直接堆積させるステップを含んでいてもよい。 SiO_2 層に使用されるものと同じエッチングプロセス中に溶解しない、何れの適当な金属をハードエッチマスク11-2114に使用してもよい。例えば、Crが使用され、他の金属も使用可能である。次のステップは、フォトレジスト層11-2120をハードエッチマスク11-2114の上に形成するステップを含んでいてもよい。ステップ11-2103により、従来のフォトリソグラフィ法を使用してハードエッチマスクに円形パターンを作る。その後、従来のエッチング法、例えば反応イオンエッチング法を使用して下のCr層に円形パターンを転写する。 SiO_2 層は、 SiO_2 はエッチングできるがハードエッチマスクはエッチングできない何れかの適当な選択的エッチング法を使用してエッチングされる。例えば、HFを用いる等方性ウェットエッチングを使用して、 SiO_2 層に凹面を作る。その後、ステップ11-2105により、従来のエッチング法を使い、ハードエッチマスク11-2114が除去される。任意選択により、HFを用いる第二のウェットエッチングにより、レンズ間のギャップが除去される。屈折レンズを作るために、ステップ11-2107により、 SiO_2 層の空洞に高屈折率材料層11-2118、例えば窒化シリコンが充填される。最後に、ステップ11-2109により、レンズの上面が従来の方法、例えば化学機械研磨等で平坦化される。ステップ11-2111により、層11-2118の上にスペーサ層11-2124が堆積されて

10

20

30

40

50

もよい。例えば、オルモーサ（ORMOCER）（商標）から作られたスペーサ層が窒化シリコン層の上にスピコートされてもよい。あるいは、 SiO_2 の層が堆積されてもよい。検体ウェルは、屈折レンズの上に直接製作されてもよい。他の実施形態において、屈折レンズと検体ウェルとの間に他の層が堆積されてもよい。

【0407】

あるいは、各屈折層は、光学的効率をさらに改善するために、反射防止層を含んでもよい。いくつかの実施形態において、反射防止層は、レンズの底面、上面、または全ての側面を被覆してもよい。図11-15に示される実施形態において、ステップ11-1801により、 SiO_2 空洞11-1810がエッチングされ、ステップ11-1803により、反射防止層11-1822がエッチングされた空洞の上に堆積され、ステップ11-1807により、窒化シリコン層がCMPによって研磨され、ステップ11-1809により、第二の反射防止層11-1826が研磨された窒化シリコン層の上に堆積される。反射防止層の上に、例えば上述され、図11-18において層11-1824として示されているスペーサ層等の追加の層が堆積されてもよい。反射防止層は、以下のパラメータを有していてもよい： $n_c = \sqrt{n_{\text{oxide}} \cdot n_{\text{nitride}}} = \sqrt{1.46 \cdot 1.91} = 1.67$ ；屈折率範囲1.67～1.75；および厚さ $t = \lambda / (4 \cdot n_c) = 675 \text{ nm} / (1.670 \cdot 4) = 101.1 \text{ nm}$ 。反射防止層は何れの適当な方法で堆積されてもよい。例えば、PECVDが使用されてもよい。あるいは、LPCVDが使用されてもよい。

I. D. レンズ製造プロセス：フレネルレンズ

回折光学素子（DOE：diffractive optical element）は何れの適当な形状であってよく、CMOSセンサ上での集光と発光光子の選別を改善するための何れの適当な方法で製造されてもよい。いくつかの実施形態において、DOEはフレネルレンズの一部を含んでもよい。図11-16～11-20に示されるように、DOEはフレネルレンズの中心からずれた正方形部分として特徴付けられる。図11-17に示されるように、DOEは2つのユニットセル層を含んでもよく、第一の層11-2301は「小型の」特徴を含み、第二の層11-2303は「大型の」特徴を含む。ユニットセル層は、何れの適当なピッチを有していてもよく、さらに、フレネルレンズの光学設計に応じて異なるピッチを有していてもよい。図11-17の例に示されるように、小型のDOE層のピッチは220 nmであり、大型のDOE層のピッチは440 nmである。大型のDOE層は小型のDOE層の上に重なっていてもよく（またはその逆もあり）、多層回折光学系が形成される。図11-17は、オフセットフレネルアレイ11-2405の一例を示し、大きい位置合わせマーカがオフセットフレネルレンズを取り囲む。それに加えて、オフセットフレネルアレイは、集光および発光のセンサのスペクトル分離を提供するようにセンサの上に位置付けられ得る。

【0408】

あるいは、回折光学素子（DOE）は、ナノアパーチャの下に埋め込まれてもよく、それによって励起エネルギーのナノアパーチャへの集束とそれからの発光の回収が改善される。いくつかの実施形態において、ナノアパーチャの下に埋め込まれたフレネルレンズとセンサの上方に位置付けられたオフセットフレネルレンズは可変的な周期と可変的なステップサイズの段階的構造を有していてもよい。他の実施形態において、センサの上方に位置付けられたオフセットフレネルレンズのみが、可変的な周期と可変的なステップサイズを有していてもよい。これらの回折レンズは、標準的なフォトリソグラフィプロセスおよびエッチング技術を使用して製造されてもよい。図11-18に示されているように、回折レンズパターン11-2501は、大きいステップ（大型パターン）と、より大きいステップの各々の上の小さいステップ（小型パターン）を含み、それらの周期が左から右に見たときに減少するような段階的構造を有することによって特徴付けられる。可変的な周期のステップ付回折レンズの製造プロセスは、図11-19に示されるように、大きいステップを最初にエッチングし、その後、小さいステップをエッチングするステップを含んで

いてもよく、これは第二のエッチング中に大きいステップの隅部を保護できる。代替的な方法では、図11-23に示されるように、まず平坦な基板上に小さいステップをエッチングし、その後大きいステップをエッチングする。回折レンズの充填層と段階的な層を形成するために、 SiO_2 または窒化シリコン、 TiO_2 または Ta_2O_5 等の何れの適当な誘電材料が使用されてもよい。図11-26に示される実施形態において、窒化シリコンが充填層の製作に使用され、 SiO_2 が段階的な層の製作に使用される。

【0409】

段階的な SiO_2 層の製造プロセスの第一のステップは、ステップ11-2201により、ハードエッチマスク11-2214を SiO_2 層11-2210の上に直接堆積させ、その後、反射防止層11-2222、その後、フォトレジスト層11-2220を堆積させるステップを含んでいてもよい。ハードエッチマスクには何れの適当な材料が使用されてもよい。例えば、図11-26に示されるハードエッチマスクには a-Si が使用されてもよいが、他の材料も使用可能である。次のステップは、a-Si ハードエッチマスクの上に ARC および／またはフォトレジスト層を形成するステップを含んでいてもよい。従来のフォトリソグラフィ法が可変的周期の大型バイナリパターンを製作するために使用されてもよい。パターンを、従来のエッチング法、例えば反応イオンエッチング法を使用して下の SiO_2 層に転写する。図11-19に示されるように、ステップ11-2203により、 SiO_2 層11-2210がエッチングされる。ステップ11-2205により、従来の技術を用いて、 SiO_2 層11-2210が剥離され、洗浄される。

【0410】

大きい回折レンズステップのエッチの深さは、所望の焦点距離を実現する何れの適当な深さとすることもできる。図11-19に示される実施形態において、 SiO_2 層へのこのエッチング深さは、大きいステップについて約 684 nm である。次に、従来の技術を使用して、レジストとエッチングマスクの残留物を剥離し、 SiO_2 層の表面を洗浄する。次のステップは、大きいステップの各々に小さいステップをエッチングするステップを含んでいてもよい。図11-19に示される実施形態において、大きいステップの各々は、4つのより小さいステップを含む。

【0411】

次に、ステップ11-2207により、第二の Si ハードエッチマスク11-2244がパターンニングされた SiO_2 層11-2310の上に堆積される。次に、ARC層11-2342が Si 層11-2610の上に堆積され、それにフォトレジストエッチマスク層11-2640が続く。ステップ11-2209により、第二の可変周期の小さいバイナリパターンがフォトレジストおよび／または ARC 層に転写され、 SiO_2 層11-2210がエッチングされて、フレネルレンズが形成される。

【0412】

代替的な実施形態において、製造ステップは図11-19において説明したものと同様であるが、大きいステップにつき2つの小さいステップがエッチングされ、合計で4つのステップが残される。他の実施形態において、何れの数のステップが使用されてもよい。その後、 SiO_2 層11-2210に小さいステップがエッチングされる。小さい回折レンズのステップの厚さは、何れの適当な厚さであってもよい。

【0413】

製造プロセスにおいて、ステップ11-2801によって段階的な SiO_2 層11-2810が製作された後の追加の段階は、図11-20に示されているように、ステップ11-2803により、空洞を何れかの適当な高屈折率材料11-2818、例えば窒化シリコンで充填するステップと、透明層11-2828を堆積させて、「埋め込みフレネルレンズ」を製作するステップとを含んでいてもよい。「埋め込み型フレネルレンズ」に使用される段階的構造は、オフセットフレネルレンズに使用される段階的な構造と略同じおよび／またはそれより小さい特徴物を有していてもよい。例えば PECVD 等、窒化シリコンを堆積させる何れの方法が使用されてもよい。任意選択により、ステップ11-2805により、窒化シリコン層が SiO_2 材料の最上ステップが露出するまで均一に研磨さ

れてもよい。あるいは、窒化シリコン層 11-2818 は均一に研磨されるが、 SiO_2 材料は露出されない。図 11-21 に示される実施形態において、ステップ 11-2901 により、段階的構造 11-2910 が形成され、ステップ 11-2903 により、高屈折率材料 11-2918 で充填され、ステップ 11-2905 によって研磨される。次に、ステップ 11-2907 により、 SiO_2 の第二の層 11-2928 が PECVD により、研磨された窒化シリコン層 11-2918 上に堆積され、CMP により研磨される。いくつかの実施形態において、スペーサ層 11-2928 の厚さはスペーサ層材料中の焦点距離と等しくてもよい。これに加えて、ステップ 11-2909 により、他の適当な透明スペーサ層が窒化シリコン層の上に堆積されてもよい。その後、検体ウェル層が透明スペーサ層および／またはその他の層の上に製造されてもよい。

10

【0414】

あるいは、図 11-21 に示される実施形態において、回折レンズのための段階的層 11-3018 は窒化シリコンで製作される。窒化シリコン層 11-3018 は、基板 11-3010 の上に何れの適当な厚さで形成されてもよく、その後、エッチマスク 11-3014、ARC 層 11-3022、およびフォトリソスト層 11-3020 が続く。図 11-22 に示される実施形態において、ステップ 11-3001 により、窒化シリコン層は厚さ約 $1\ \mu\text{m}$ である。製造プロセスは、 SiO_2 中に段階的で可変的周期の回折レンズ層を製作することに関して上述したものと同様であってもよい。任意選択により、ステップ 11-3003 により、異なるハードマスクを使用して窒化シリコンの段階的層を製作してもよい。窒化シリコンの段階的層は、 SiO_2 段階層と略同じおよび／またはそれより小さい大きさの特徴物を有していてもよい。窒化シリコンの段階層を作った後に、窒化シリコン層は何れの適当な誘電材料 11-3028 でコーティングされてもよい。図 11-30 に示される実施形態において、ステップ 11-3005 により、窒化シリコン層は透明（例えば、 SiO_2 ）層 11-3028 でコーティングされる。 SiO_2 層は、例えば PECVD 等の従来の堆積プロセスを使用して堆積されてもよい。その後、 SiO_2 層が研磨されて平坦な平面が形成されてもよい。その後、検体ウェル層が SiO_2 層および／または追加の層の上に製造されてもよい。

20

【0415】

回折光学系の特定の特徴は、所望の光学特性を有する構造を得るために、製造プロセス中にある程度の均一性および／または精度が必要となり得る。例えば、大型および小型の段差のエッチング深さには、特定の精度が必要となり得る。いくつかの実施形態において、焦点検体ウェル内に所望のパワー効率を実現するために、標的の 50 または 10 % 以内のエッチング深さが必要であり得る。これに加えて、レンズ特徴物のエッチングには、特定の程度の均一性が必要であり得る。例えば、所望の焦点距離を実現するために、5 %（または 50 nm）以内のエッチング均一性が必要である。

30

【0416】

上述のレンズの何れも、改善された光学特性を作り出すために、何れの適当な堆積およびエッチングプロセスを使用して製造されてよい。例えば、非限定的に PECVD が使用されてもよい。堆積パラメータは、自己発光を減少させ、発光のレンズ吸収を減少させ、および／または高い屈折率にするために、何れの適当な方法で調整されてもよい。例えば、窒化シリコン堆積中に、自己発光とレンズ吸収の低減化は、シリコンナノ結晶を形成し得る Si-Si 結合の密度を低下させることによって実現されてもよい。いくつかの実施形態において、入力ガスとそれらの比は、 Si-Si 結合とシリコンナノ結晶の密度を低下させるために変化させてもよい。例えば、 SiH_4 と N_2 が使用されてもよく、その比は、 Si ナノ結晶の密度を低下させるために何れの適当な方法で調整されてもよい。他の実施形態において、 SiH_4 と NH_3 が使用されてもよく、それらの比は、 Si-Si 結合とシリコンナノ結晶の密度を低下させるための何れの適当な方法で調整されてもよい。例えば、 NH_3 対 SiH_4 の比は少なくとも 10 : 1 であってもよい。これに加えて、PECVD 中のプラズマを制御する周波数の調整を利用して光学特性を改善してもよい。例えば、低周波数（例えば、0.5 MHz 以下）対高周波数（例えば、約 10 MHz）の比

40

50

は少なくとも 1 : 1 であってもよい。

【0417】

それに加えて、上述の堆積パラメータにより、光学特性を改善するようにレンズ屈折率が調整されてもよい。いくつかの実施形態において、適当な低自己発光効果および／または適当な低吸収損失のために、窒化シリコンレンズの屈折率は $n = 1.92$ 未満で、波長 633 nm に関連付けられていてもよい。上述のように調整される品質は、相互に関係し、比例し、相関し、関連付けられ、および／または依存していてもよい。例えば、窒化シリコン製のレンズの場合、 $n = 1.92$ の屈折率は、低発光および低吸収損失を示し、これは Si-Si 結合とシリコンナノ結晶の低密度に関係する。

【0418】

本願の各種の態様は、単独でも、組合せでも、または上述の実施形態で具体的に論じられていない様々な構成でも使用されてよく、したがって、その応用において、上述の説明に記載され、図面に示されている構成要素の詳細および配置に限定されない。例えば、1つの実施形態に記載されている態様は、他の実施形態に記載されている態様と何れの方法で組み合わせてもよい。

【0419】

また、本発明は方法として具現化されてもよく、少なくともその一例を提供した。方法の一部として実行される動作は、何れの適当な方法で順番付けられてもよい。したがって、実施形態は、動作が図と異なる順序で実行されると解釈されてもよく、これには、例示的な実施形態において逐次的動作として示されていても、いくつかの動作を同時に実行することが含まれてもよい。

【0420】

特許請求中に「第一の」、「第二の」、「第三の」等の序数を、請求要素を変更するために使用することは、それ自体が1つの請求要素の他の要素に対するいかなる優先性、優位性、または順序もしくは方法の動作が実行される時間的な順序を暗示しておらず、単に特定の名称を有する1つの請求要素を同じ名称（序数の使用を除く）を有する他の要素と区別して、請求要素を区別するためのラベルとして使用されるにすぎない。

【0421】

また、本明細書で使用される語句および用語は、説明を目的としており、限定的とみなすべきではない。「包含する」、「含む」、または「有する」、「含有する」、「伴う」およびその変化形の使用は、その後に挙げられる用語およびその均等物ならびに追加の項目を包含するものとする。

<付記>

1. 集積装置であって、
該集積装置は、複数のピクセルを含み、前記複数のピクセルのうちの1つのピクセルが
前記集積装置の外部の励起源から励起エネルギーを受け取るように構成された検体ウェルと、
前記検体ウェル内に位置付けられた検体からの発光を受け取り、かつ前記受け取られた発光に基づいて前記検体の識別情報を提供する信号を生成するように位置付けられた少なくとも1つのセンサと
を含む集積装置。
2. 前記信号が前記受け取られた発光の時間的パラメータを示す、付記1に記載の集積装置。
3. 前記時間的パラメータが、前記検体からの前記発光に関連付けられる寿命である、付記2に記載の集積装置。
4. 前記信号が前記発光のスペクトルを示す、付記1に記載の集積装置。
5. 前記信号が前記発光の特徴的波長を示す、付記4に記載の集積装置。
6. 前記信号および前記励起エネルギーが、前記検体の吸収スペクトルを示す、付記1に記載の集積装置。

10

20

30

40

50

7. 前記信号および前記励起エネルギーが、前記検体により吸収される特徴的波長を示す、付記6に記載の集積装置。

8. 集積装置であって、
ピクセル領域であって、

複数のピクセルであって、前記複数のピクセルのうちの1つのピクセルが、
前記集積装置の表面上の検体ウェルであって、検体を受けるように構成された検体ウェルと、

前記検体ウェルからの発光を受け取るように構成された少なくとも1つのセンサを含む複数のピクセルと、

前記検体ウェルの付近に励起エネルギーを送達する少なくとも1つの導波路とを含むピクセル領域と、

励起源結合領域であって、

外部励起エネルギー源から励起エネルギーを受け取り、かつ前記励起エネルギーを前記導波路に結合するように構成された結合構成要素を含む励起源結合領域と
を含む集積装置。

9. 前記検体ウェルが、複数の分子を含む検体から分子を分離するように構成される、付記8に記載の集積装置。

10. 前記結合構成要素が格子カプラを含む、付記8に記載の集積装置。

11. 前記励起源結合領域が、前記格子カプラに向かって励起エネルギーを反射するように位置付けられたリフレクタ層をさらに含む、付記10に記載の集積装置。

12. 前記リフレクタ層が少なくとも1つの穴を含み、前記励起源結合領域が、前記リフレクタ層の前記少なくとも1つの穴を通じて励起エネルギーを受け取り、かつ前記受け取られた励起エネルギーの強度を測定するように位置付けられた少なくとも1つのモニタセンサをさらに含む、付記11に記載の集積装置。

13. 前記受け取られた励起エネルギーの前記強度が、前記格子カプラに対する前記励起エネルギーのアラインメントプロセスのためのフィードバックループの一部として信号を提供する、付記12に記載の集積装置。

14. 前記少なくとも1つのピクセルが、前記検体ウェルと前記導波路との間に、前記導波路から前記検体ウェルに励起エネルギーを結合する少なくとも1つの結合要素をさらに含む、付記8に記載の集積装置。

15. 前記少なくとも1つの結合要素がマイクロキャビティである、付記14に記載の集積装置。

16. 前記少なくとも1つの結合要素がブルズアイ回折格子である、付記14に記載の集積装置。

17. 前記少なくとも1つのピクセルが、励起エネルギーが前記少なくとも1つのセンサにより検出されるのを抑制するパッフルをさらに含む、付記8に記載の集積装置。

18. 前記ピクセル領域が、前記導波路と前記少なくとも1つのセンサとの間に位置付けられている、励起エネルギーを選択的にフィルタ処理するとともに前記検体ウェルからの発光エネルギーを透過させる少なくとも1つの励起フィルタをさらに含む、付記8に記載の集積装置。

19. 前記格子カプラが、前記導波路の方向にテーパが付けられている幅を有する、付記8に記載の集積装置。

20. 前記検体ウェルが、金属材料において形成されたナノアパーチャを含む、付記8に記載の集積装置。

21. 前記金属材料から形成される複数のリングを含む同心円リング回折格子をさらに含む、前記ナノアパーチャが前記複数のリングの最も内側のリング内に配置される、付記20に記載の集積装置。

22. 前記少なくとも1つの導波路が、前記検体ウェル内の励起領域に励起エネルギーを提供するように構成され、前記励起領域内に配置された検体が、前記励起領域を照明す

10

20

30

40

50

る励起エネルギーに応答して励起エネルギーを放出する、付記 8 に記載の集積装置。

23. 前記少なくとも 1 つの導波路が、前記複数のピクセルのうちのピクセルの一部の各ピクセルのための検体ウェルの付近に励起エネルギーを送達するように構成される、付記 8 に記載の集積装置。

24. 前記複数のピクセルのうちの 1 つのピクセルが、前記少なくとも 1 つの導波路に結合し、かつ検体ウェルの付近に励起エネルギーを誘導するように構成された少なくとも 1 つの励起結合構造をさらに含む、付記 8 に記載の集積装置。

25. 前記複数のピクセルのうちの 1 つのピクセルが、検体ウェル内に配置された検体により放出された放出エネルギーと結合するように構成された少なくとも 1 つの表面エネルギー結合要素をさらに含む、付記 8 に記載の集積装置。

26. システムであって、

第一の持続時間を有する励起エネルギーのパルスを放出するように構成された励起源を含む励起源モジュールと、

集積装置であって、

前記励起エネルギーのパルスに結合されると発光を放出する検体を受けるように構成された検体ウェルと、

第二の持続時間にわたり前記発光を検出するセンサであって、前記第二の持続時間が前記第一の持続時間後に発生する、センサと、

第一のエネルギー経路であって、該第一のエネルギー経路に沿って前記励起エネルギーのパルスが前記励起源からエネルギー源結合構成要素へ移動する、第一のエネルギー経路と、

第二のエネルギー経路であって、該第二のエネルギー経路に沿って前記励起エネルギーのパルスが前記エネルギー源結合構成要素から前記検体ウェルへ移動する、第二のエネルギー経路と、

第三のエネルギー経路であって、該第三のエネルギー経路に沿って前記発光が前記検体ウェルから前記センサへと移動する、第三のエネルギー経路とを含む集積装置と

を含むシステム。

27. 前記励起源モジュールおよび前記集積装置が取り付けられる基本機器をさらに含む、付記 26 に記載のシステム。

28. 前記励起源モジュールがヒンジピンを介して前記基本機器に蝶着される、付記 27 に記載のシステム。

29. 前記集積装置が複数のスチール製ボールをさらに含む、

前記励起源モジュールが、前記複数のスチール製ボール上に載るように構成された複数の磁化された径方向 V 字溝を含む、付記 28 に記載のシステム。

30. 前記励起源モジュールが前記基本機器に着脱可能に取り付けられる、付記 27 に記載のシステム。

31. 前記励起源がスライドメカニズムを介して前記基本機器に取り付けられる、付記 27 に記載のシステム。

32. 前記励起源モジュールが、光のパルスの前記集積装置への入射角および／または位置を制御するように構成された少なくとも 1 つの傾斜可能ウィンドウを含む、付記 26 に記載のシステム。

33. 前記集積装置が少なくとも 1 つのモニタセンサをさらに含む、付記 26 に記載のシステム。

34. 前記励起源が、アクティブアラインメントメカニズムを介して前記エネルギー源結合構成要素に整列される、付記 26 に記載のシステム。

35. 検体における分子の存在を検出する方法であって、

複数の発光マーカのうちの 1 つで標識された検体を検体ウェル内に導入するステップであって、前記複数の発光マーカの少なくとも一部が異なる発光寿命値を有する、ステップと、

10

20

30

40

50

- 前記検体ウェルに光のパルス照射するステップと、
前記検体ウェルから放出された光子の到来時間を測定するステップと、
前記光子の前記到来時間に基づいてマーカの識別を判定するステップと
を含む方法。
36. 前記検体ウェルから放出された前記光子の波長を測定するステップと、
前記光子の前記測定された波長に基づいてマーカの識別を判定するステップと
をさらに含む、付記35に記載の方法。
37. 前記検体ウェルの前記照射が前記検体ウェルの付近の導波路を使用して達成され
ることにより、前記光のエバネッセントテールが前記検体ウェルと結合する、付記35に
記載の方法。
38. 前記光がスターカプラを使用して前記導波路に結合される、付記37に記載の方
法。
39. 前記光がスライス回折格子を使用して前記導波路に結合される、付記37に記載
の方法。
40. 前記光がマルチモード干渉スプリッタを使用して前記導波路に結合される、付記
37に記載の方法。
41. 集積装置であって、
複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を受けるように構成された検体ウェル
であって、前記複数の発光マーカの各々が異なる発光寿命値を有する、検体ウェルと、
前記複数の発光マーカのうちの1つからの発光を複数の持続時間にわたって検出するよ
うに構成されたセンサであって、前記複数の持続時間が前記複数の発光マーカが互いに区
別されるように選択される、センサと
を含む集積装置。
42. 励起エネルギーを前記検体ウェルの付近に送達する導波路をさらに含む、付記4
1に記載の集積装置。
43. 前記励起エネルギーを外部エネルギー源から受け取り、かつ前記励起エネルギー
を前記導波路に結合する格子カプラをさらに含む、付記42に記載の集積装置。
44. 前記格子カプラが、前記導波路の方向にテーパが付けられている幅を有する、付
記42に記載の集積装置。
45. 前記検体ウェルが金属材料において形成されたナノアパーチャを含む、付記41
に記載の集積装置。
46. 前記金属材料から形成された複数のリングを含む同心円リング回折格子をさらに
含み、前記ナノアパーチャが前記複数のリングの最も内側のリング内に配置される、付記
45に記載の集積装置。
47. 前記検体ウェルの付近に少なくとも1つのマイクロキャビティをさらに含み、前
記少なくとも1つのマイクロキャビティが、導波路からの励起エネルギーを前記検体ウェ
ルに結合するように構成される、付記45に記載の集積装置。
48. 集積装置であって、
複数の発光マーカのうちの1つで標識された検体を受けるように構成された検体ウェル
であって、前記複数の発光マーカの各々が、複数のスペクトル範囲のうちの1つ内の発光
を放出し、前記複数のスペクトル範囲のうちの1つで発光を放出する前記複数の発光マー
カの一部分がそれぞれ異なる発光寿命値を有する、検体ウェルと、
複数のセンサであって、前記複数のセンサの各センサが、複数の持続時間にわたって前
記複数のスペクトル範囲のうちの1つを検出するように構成され、前記複数の持続時間が
、前記複数の発光マーカの前記一部分が互いに区別されるように選択される、複数のセンサ
と
を含む集積装置。
49. 前記検体ウェルと前記複数のセンサとの間に配置されたパターン付きカラーフィ
ルタをさらに含む、付記48に記載の集積装置。
50. 前記パターン付きカラーフィルタが、前記複数のスペクトル範囲のうちの第一の

10

20

30

40

50

スペクトル範囲内の光を前記複数のセンサのうちの第一のセンサへと透過させ、かつ前記複数のスペクトル範囲のうちの第二のスペクトル範囲内の光を前記複数のセンサのうちの第二のセンサへと透過させる、付記 48 に記載の集積装置。

51. システムであって、

複数の励起エネルギーを放出するように構成された複数の励起源であって、前記複数の励起源の各々が、前記複数の励起エネルギーのうちの 1 つのパルスを放出する、複数の励起源と、

集積装置であって、

複数の発光マーカのうちの 1 つで標識された検体を受けるように構成された検体ウェルであって、前記複数の発光マーカの一部が前記複数の励起エネルギーのうちの 1 つにより照明された後に発光を放出し、各々が異なる寿命値を有する、検体ウェルと、

前記複数の発光マーカのうちの 1 つからの発光を、前記複数の励起エネルギーのうちの 1 つのパルスの後、複数の持続時間にわたって検出するように構成されたセンサであって、前記複数の励起エネルギーのうちの 1 つの前記パルスのタイミングおよび前記複数の持続時間によって、前記複数の発光マーカが互いに区別される、センサとを含む集積装置と

を含むシステム。

52. 集積装置を形成する方法であって、

複数のセンサ領域を形成するステップであって、前記複数のセンサ領域のうちの 1 つのセンサ領域が複数のセンサを含む、ステップと、

複数の検体ウェルを形成するステップであって、前記複数の検体ウェルのうちの 1 つの検体ウェルが、前記複数のセンサ領域の対応する 1 つと整列する、ステップと、

前記複数の検体ウェルから離れて励起エネルギーを結合し、かつ励起エネルギーを少なくとも 1 つの検体ウェルに誘導するように構成された少なくとも 1 つの導波路を形成するステップと

を含む方法。

53. 前記複数の検体ウェルから離れた領域において、前記集積装置の外部の少なくとも 1 つの励起源から励起エネルギーを受け取り、かつ前記励起エネルギーを前記少なくとも 1 つの導波路に結合するように構成された格子カプラを形成するステップをさらに含む、付記 52 に記載の集積装置を形成する方法。

54. 機器であって、

少なくとも 1 つの励起エネルギーを供給する少なくとも 1 つの励起源と、

前記少なくとも 1 つの励起源により放出された前記少なくとも 1 つの励起エネルギーを集積装置の結合領域に整列させる励起源位置決めシステムと、

前記集積装置上のセンサにより検出された放出エネルギーを表す少なくとも 1 つの読取り信号を受け取るように構成された読取り回路と

を含む機器。

55. 前記集積装置に対する前記少なくとも 1 つの励起源のアラインメントを、励起エネルギーを受け取るように構成された少なくとも 1 つのモニタセンサからの読取り信号に基づいて調整するように構成された励起源回路をさらに含む、付記 54 に記載の機器。

56. 標的核酸分子を配列解析する方法であって、

前記標的核酸分子、重合酵素、および複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を収容する検体ウェルを含む集積装置を提供するステップであって、前記複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体のうちの各種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が複数のマーカのうちの 1 つで標識される、ステップと、

重合酵素の存在下で前記標的核酸分子のプライミング位置において伸長反応を実行して、前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の少なくとも一部を、前記標的核酸分子と相補的である成長鎖内に連続的に組み込むステップであって、励起エネルギーによる励起時に、前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を標識する前記マーカが、前記成長鎖内への組込みの際に前記検体ウェルから放出を生成し、放出寿命が前記複数の種類のヌク

10

20

30

40

50

レオチドまたはヌクレオチド類似体について区別可能である、ステップと、

前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を、前記放出寿命を示す、センサから受け取られた信号に基づいて識別することによって前記標的核酸分子を配列解析するステップと
を含む方法。

57. 前記複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が4つの異なる種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含み、前記4つの異なる種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体に関連付けられる前記放出寿命が相互に区別可能である、付記56に記載の方法。

58. 前記放出寿命が、励起に使用された前記励起エネルギーの波長に基づいて区別可能である、付記56に記載の方法。

59. 前記重合酵素が前記検体ウェル内に固定される、付記56に記載の方法。

60. 前記重合酵素が前記検体ウェルの底部に固定される、付記59に記載の方法。

61. 前記重合酵素が、前記検体ウェルの表面に付着されるリンカーを使用して固定される、付記59に記載の方法。

62. 前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が、少なくとも1つの励起エネルギー源からの励起エネルギーによる励起時に放出物を放出する、付記56に記載の方法。

63. 前記少なくとも1つの励起エネルギー源が、少なくとも1つの導波路を通じて前記検体ウェルに動作可能に結合されるレーザ光源であり、前記励起エネルギーが、前記レーザ光源から前記少なくとも1つの導波路を通じて前記検体ウェルに誘導される、付記62に記載の方法。

64. 前記検体ウェルが、複数の検体ウェルのうちの1つであり、前記複数の検体ウェルが前記集積装置の一部である、付記62に記載の方法。

65. 核酸配列解析の方法であって、

複数の検体ウェルと、前記複数の検体ウェルに動作可能に結合された励起エネルギー源とを含む集積装置を提供するステップであって、前記複数の検体ウェルの個々の検体ウェルが、標的核酸分子、重合酵素、およびヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含み、複数のマーカのうちの1つのマーカが前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の各々を標識する、ステップと、

前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体および前記重合酵素の存在下で前記標的核酸分子を重合反応に曝して、前記標的核酸分子と相補的である成長鎖を生成するステップであって、前記ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が前記成長鎖内に組み込まれている間、前記複数のマーカが、励起源からの励起エネルギーによる励起時に放出物を放出する、ステップと、

伸張反応の実行中に前記放出物の寿命を検出するステップであって、前記放出物の前記寿命が前記複数のマーカについて区別可能である、ステップと、

前記標的核酸分子の配列を前記放出物の前記寿命に基づいて識別するステップと
を含む方法。

66. 前記配列が、前記放出物の前記寿命を検出した後に識別される、付記65に記載の方法。

67. 前記複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が4つの異なる種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含み、前記4つの種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体に関連付けられる放出寿命が相互に区別可能である、付記65に記載の方法。

68. 前記放出寿命が、前記集積装置の一部であるセンサにより検出される、付記65に記載の方法。

69. 前記複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が4つの異なる種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含み、前記4つの種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体に関連付けられる吸収スペクトルが相互に区別可能である、付記65に記載の方法。

10

20

30

40

50

70. 前記複数の種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体が4つの異なる種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を含み、前記4つの種類のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体に関連付けられる互いに異なる励起エネルギーに応答する放出物が相互に区別可能である、付記65に記載の方法。

71. 試料を解析する方法であって、

複数のピクセルを有する集積装置の表面上に前記試料を載せるステップであって、各ピクセルが、複数のマーカのうちの第一のマーカで標識された検体を受けるように構成された検体ウェルと、少なくとも1つのセンサを有するセンサ領域とを有する、ステップと、
前記集積装置を、励起エネルギーを第一のピクセルの検体ウェルに結合するための少なくとも1つの励起エネルギー源と、前記第一のピクセルの前記センサ領域の前記少なくとも1つのセンサからの読取り信号を受け取るための読取り回路とを有する機器と整列させるステップと、

前記第一のマーカを励起エネルギーで照明するステップと、

前記第一のピクセルの前記センサ領域の前記少なくとも1つのセンサからの前記読取り信号から、前記第一のマーカによる放出物から生成された放出エネルギーの寿命を検出するステップと
を含む方法。

72. 前記複数のマーカのうちの前記第一のマーカを、前記放出エネルギーの前記寿命に基づいて識別するステップをさらに含み、前記複数のマーカの各々の1つが異なる寿命を有する、付記71に記載の方法。

73. 前記第一のマーカを識別することに基づいて、前記第一のマーカで標識された分子の種類を判定するステップをさらに含む、付記72に記載の方法。

74. 前記分子の種類がヌクレオチドであり、および前記第一のマーカが蛍光体である、付記73に記載の方法。

75. 前記蛍光体がリンカー分子で前記ヌクレオチドに付着される、付記74に記載の方法。

76. 第二の検体を標識する第二のマーカを励起エネルギーで照明するステップと、

前記第一のピクセルの前記センサ領域の前記少なくとも1つのセンサからの前記読取り信号から、前記第二のマーカにより生成された放出エネルギーの寿命を検出するステップと

をさらに含む、付記71に記載の方法。

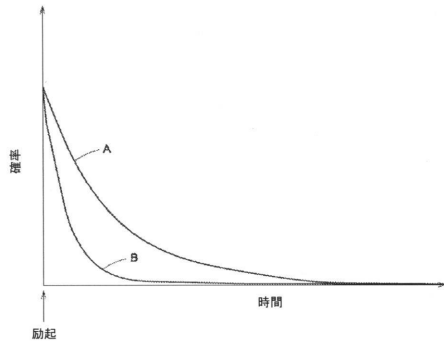
77. 前記第一のマーカが第一のヌクレオチドを標識し、および前記第二のマーカが第二のヌクレオチドを標識する、付記76に記載の方法。

10

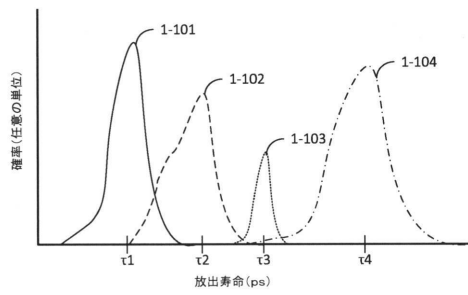
20

30

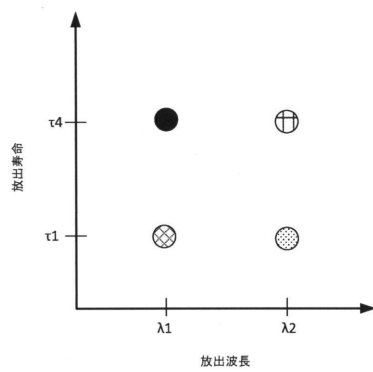
【図 1 - 1】



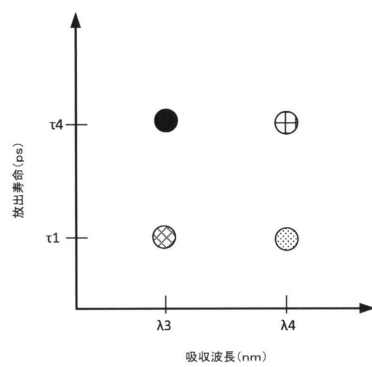
【図 1 - 2 A】



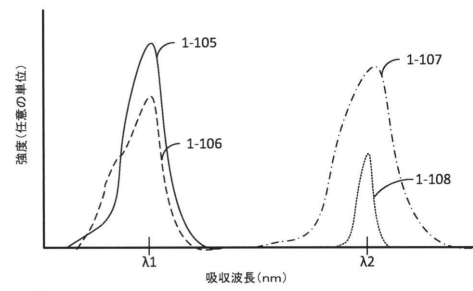
【図 1 - 3 A】



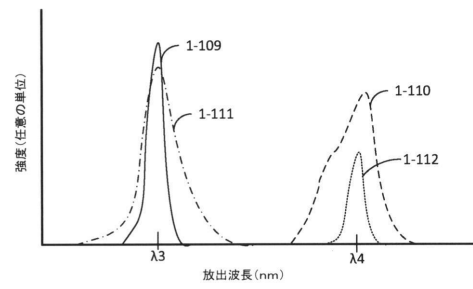
【図 1 - 3 B】



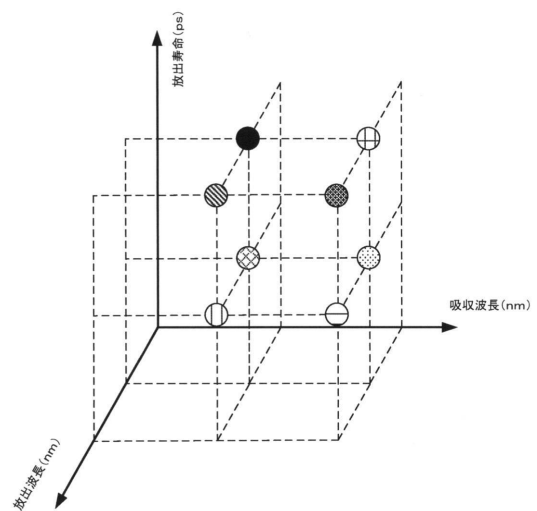
【図 1 - 2 B】



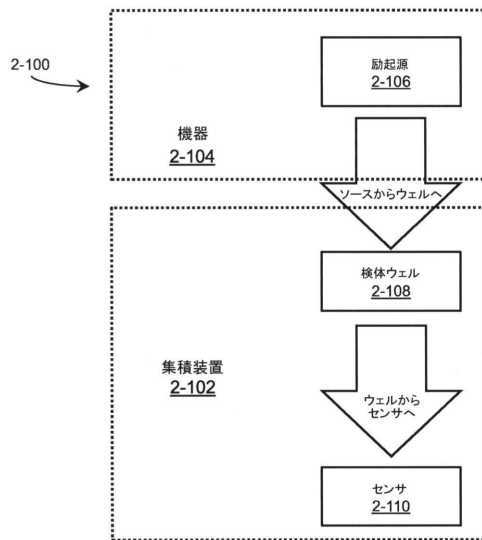
【図 1 - 2 C】



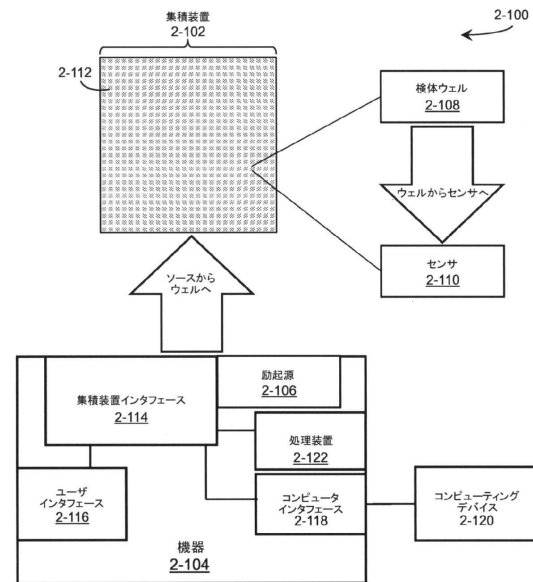
【図 1 - 4】



【図 2 - 1 A】



【図 2 - 1 B】



【図 2 - 2】

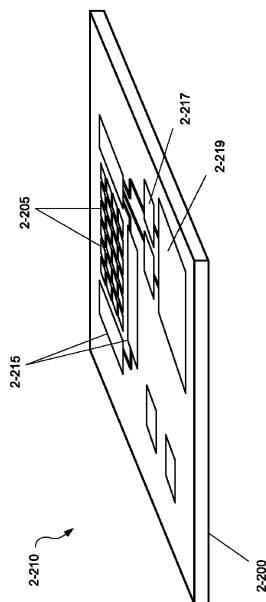
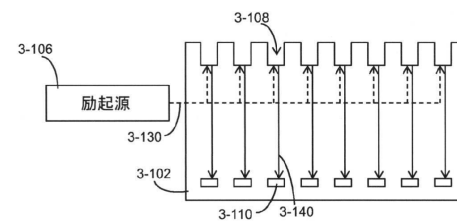
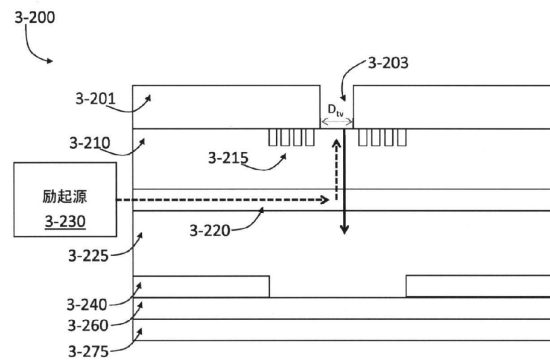


FIG. 2-2

【図 3 - 1 B】



【図 3 - 2】



【図 3 - 1 A】

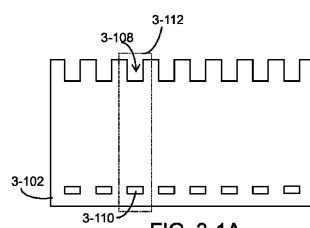


FIG. 3-1A

【图 4-1 A】

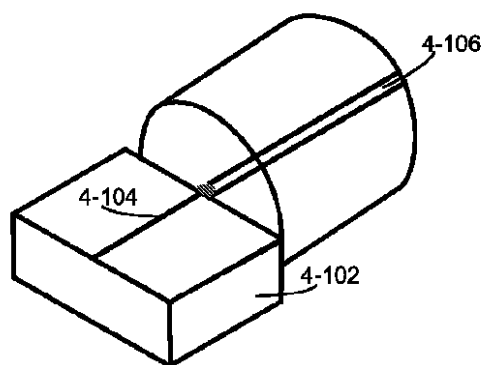


FIG. 4-1A

【图 4-1 B】

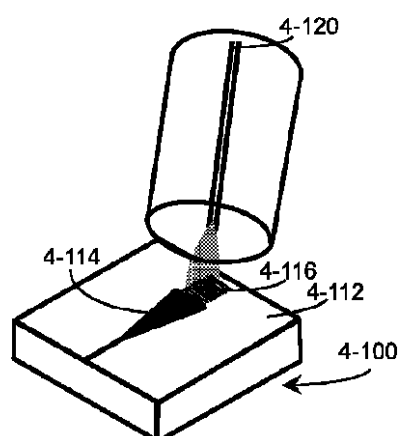
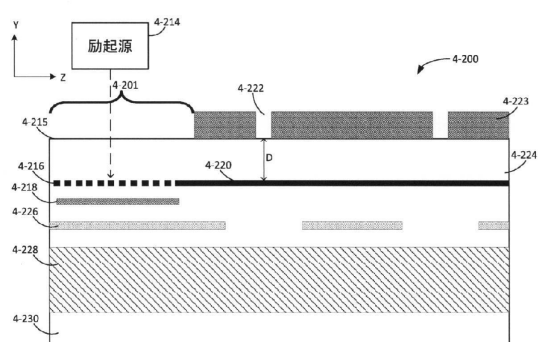
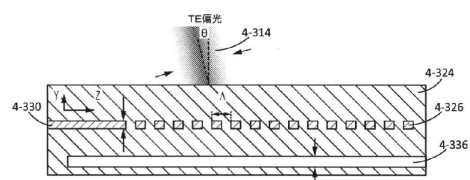


FIG. 4-1B

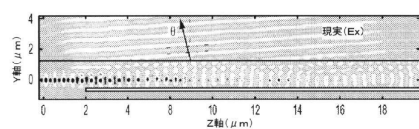
【図 4-2】



【图 4-3 A】



【图 4-3 B】



【図 4-3 C】

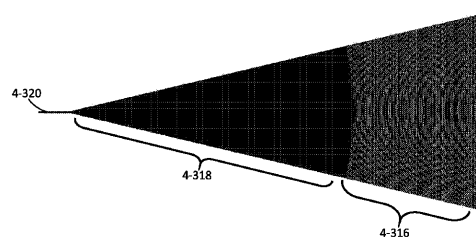
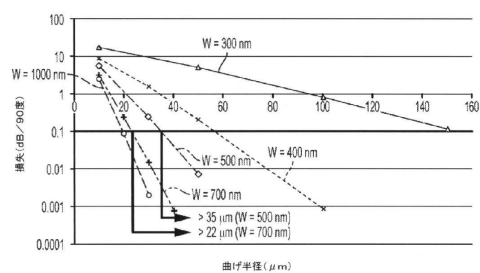
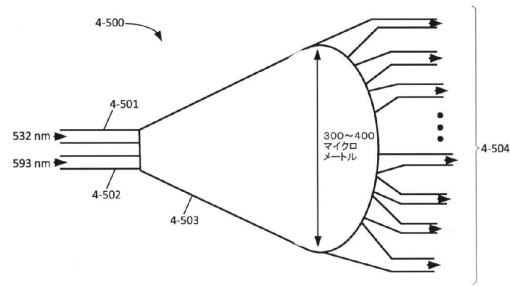


FIG. 4-3C

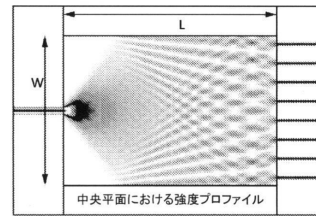
【图 4-4】



【図 4 - 5】



【図 4 - 8】



【図 4 - 6】

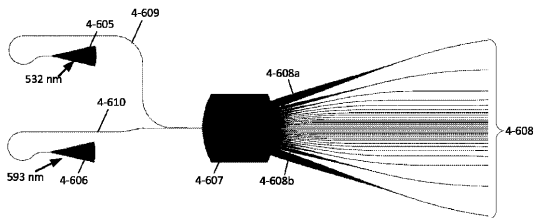


FIG. 4-6

【図 4 - 9 A】

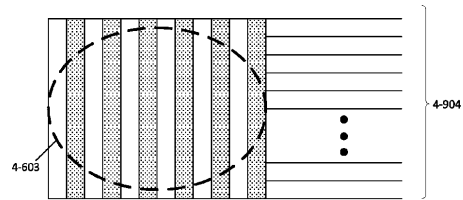


FIG. 4-9A

【図 4 - 7】

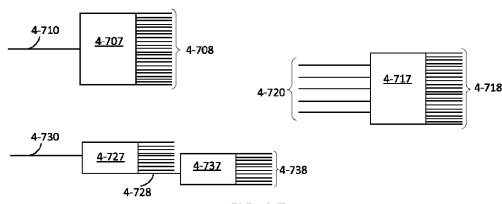


FIG. 4-7

【図 4 - 9 B - 4 - 9 C】

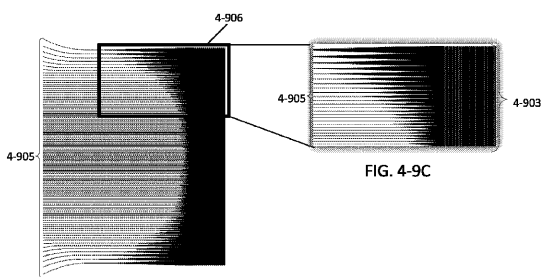


FIG. 4-9B

FIG. 4-9C

【図 5 - 2】

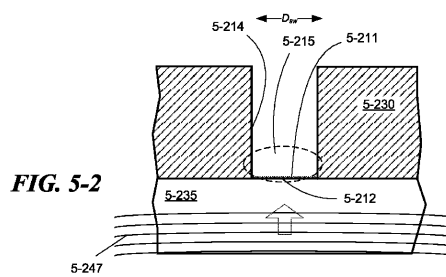


FIG. 5-2

【図 5 - 1】

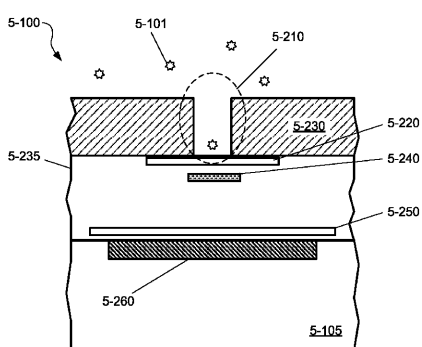
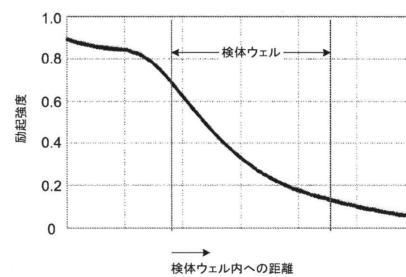
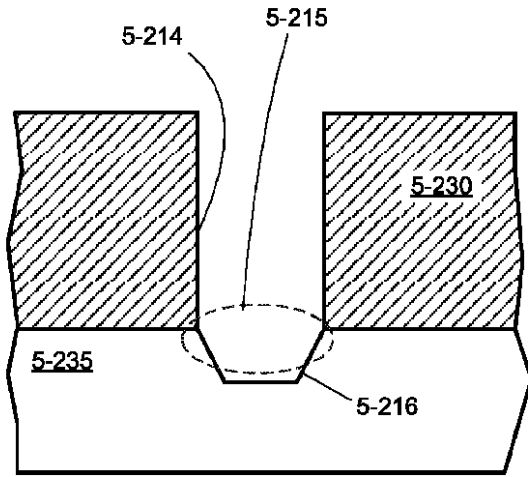


FIG. 5-1

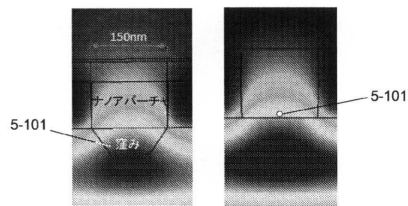
【図 5 - 3】



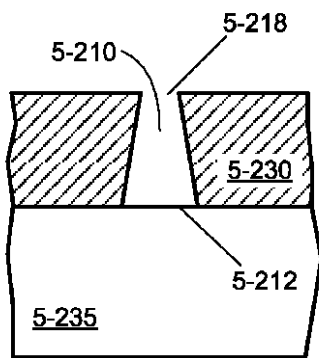
【図 5 - 4】

**FIG. 5-4**

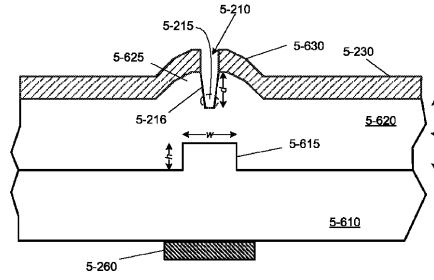
【図 5 - 5】



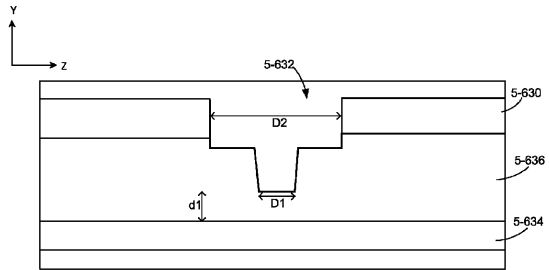
【図 5 - 7 A】

**FIG. 5-7A**

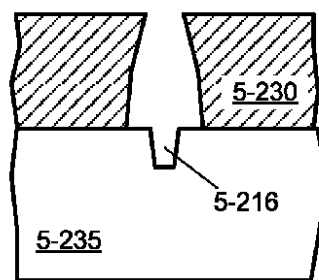
【図 5 - 6 A】

**FIG. 5-6A**

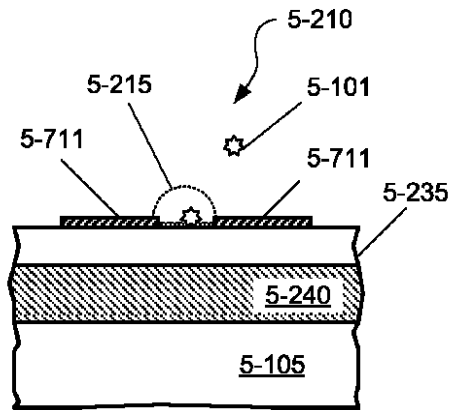
【図 5 - 6 B】

**FIG. 5-6B**

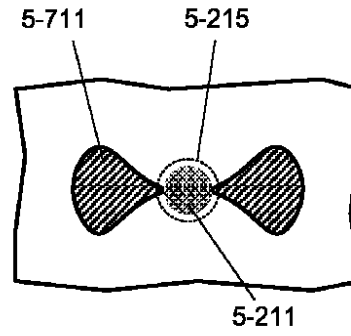
【図 5 - 7 B】

**FIG. 5-7B**

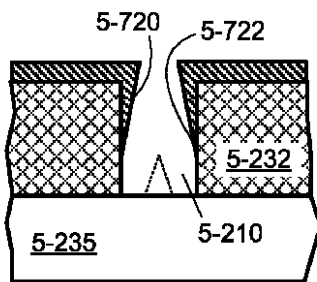
【図 5 - 7 C】

**FIG. 5-7C**

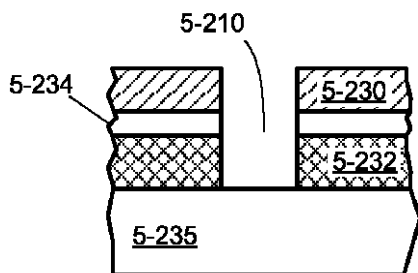
【図 5 - 7 D】

**FIG. 5-7D**

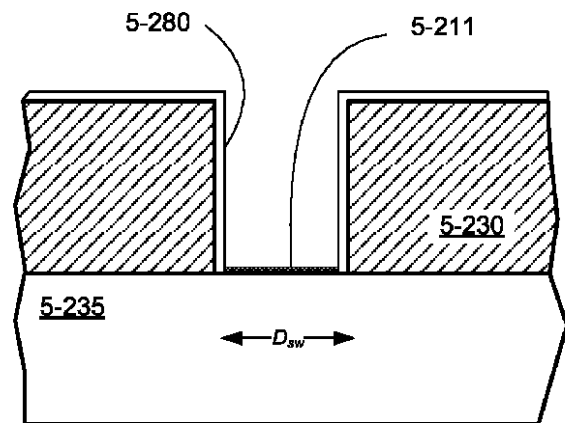
【図 5 - 7 E】

**FIG. 5-7E**

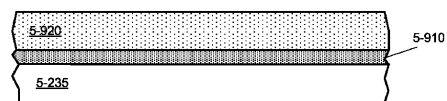
【図 5 - 7 F】

**FIG. 5-7F**

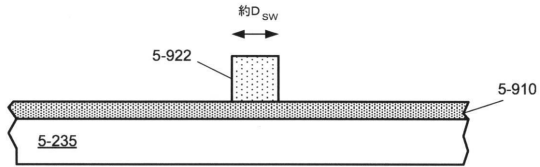
【図 5 - 8】

**FIG. 5-8**

【図 5 - 9 A】

**FIG. 5-9A**

【図 5-9 B】



【図 5-9 C】

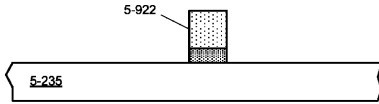


FIG. 5-9C

【図 5-9 D】

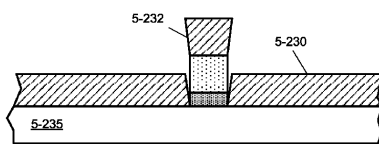


FIG. 5-9D

【図 5-9 E】

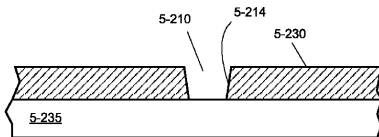


FIG. 5-9E

【図 5-10 D】

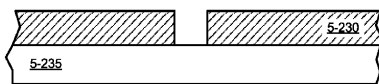


FIG. 5-10D

【図 5-11】

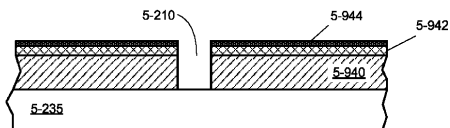


FIG. 5-11

【図 5-12】

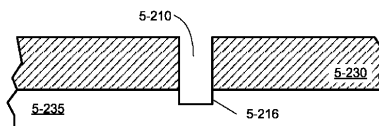


FIG. 5-12

【図 5-13 A】

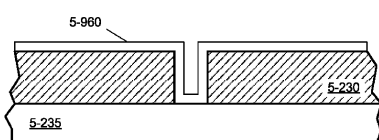


FIG. 5-13A

【図 5-9 F】

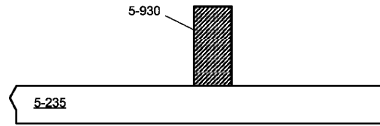


FIG. 5-9F

【図 5-10 A】

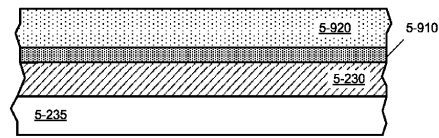
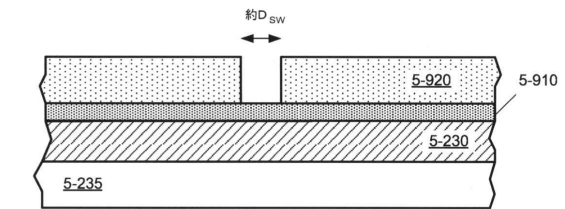


FIG. 5-10A

【図 5-10 B】



【図 5-10 C】

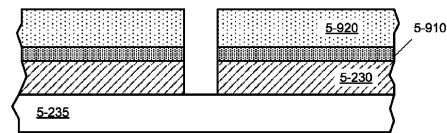


FIG. 5-10C

【図 5-13 B】

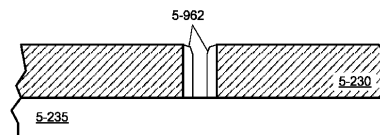


FIG. 5-13B

【図 5-13 C】

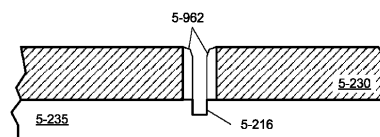


FIG. 5-13C

【図 5-14 A】

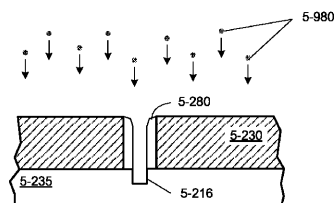
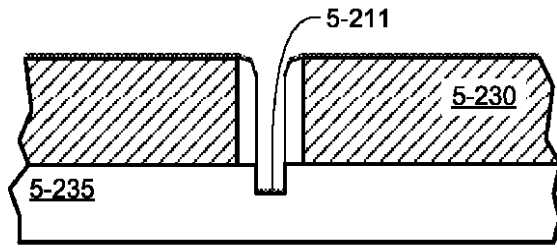
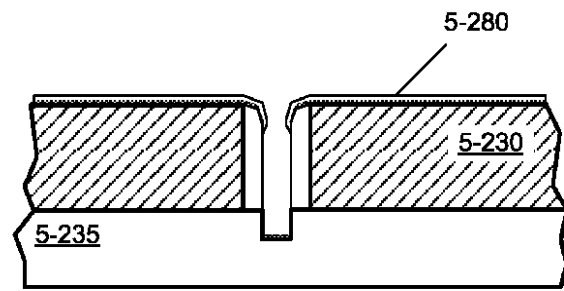


FIG. 5-14A

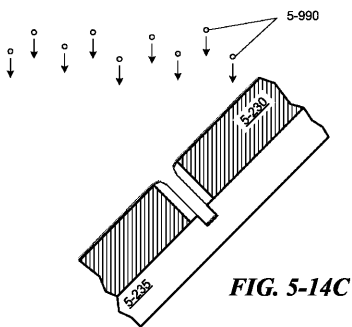
【図 5 - 1 4 B】

**FIG. 5-14B**

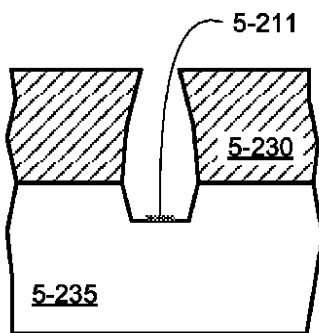
【図 5 - 1 4 D】

**FIG. 5-14D**

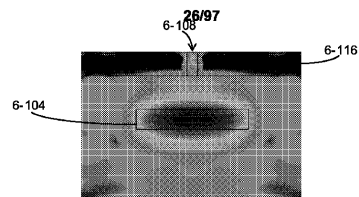
【図 5 - 1 4 C】

**FIG. 5-14C**

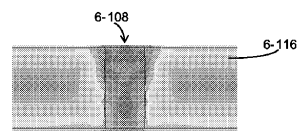
【図 5 - 1 5】

**FIG. 5-15**

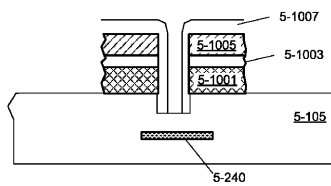
【図 6 - 1 A】

**FIG. 6-1A**

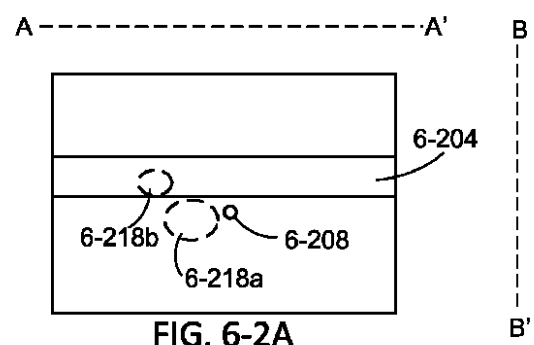
【図 6 - 1 B】

**FIG. 6-1B**

【図 5 - 1 6】

**FIG. 5-16**

【図 6 - 2 A】

**FIG. 6-2A**

【図 6 - 2 B】

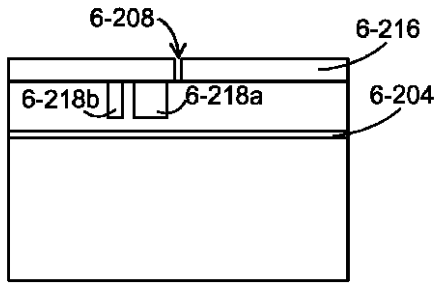


FIG. 6-2B

【図 6 - 2 C】

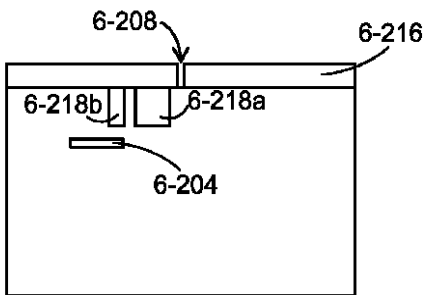


FIG. 6-2C

【図 6 - 3 A】

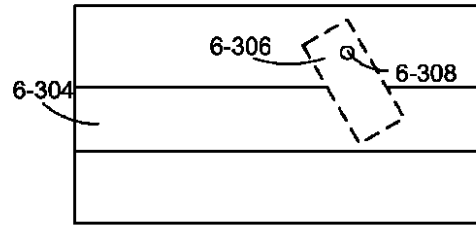


FIG. 6-3A

【図 6 - 3 B】

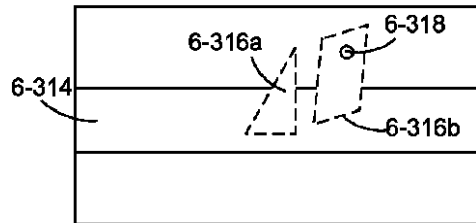


FIG. 6-3B

【図 6 - 3 C】

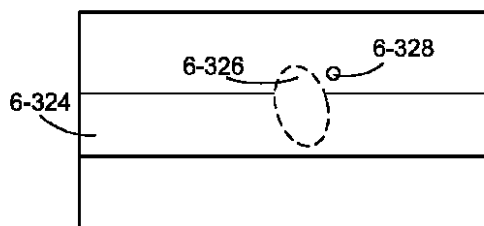


FIG. 6-3C

【図 6 - 4】

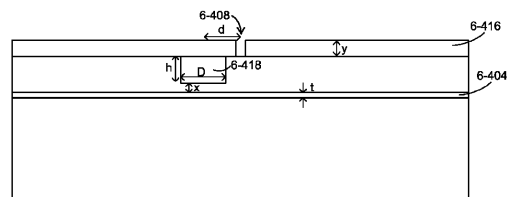


FIG. 6-4

【図 6 - 5】

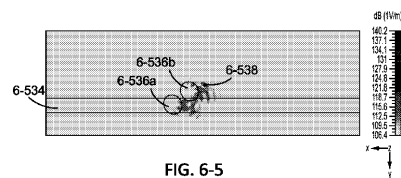


FIG. 6-5

【図 6 - 6 A】

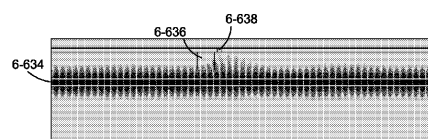


FIG. 6-6A

【図 6-6 B】

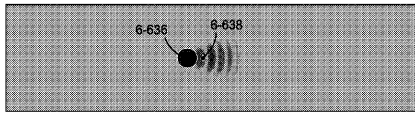


FIG. 6-6B

【図 6-6 C】

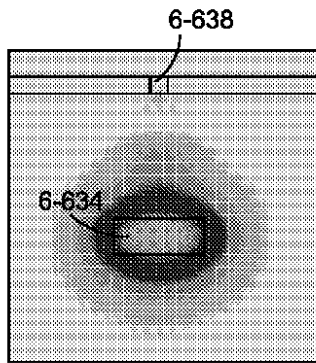


FIG. 6-6C

【図 6-6 D】

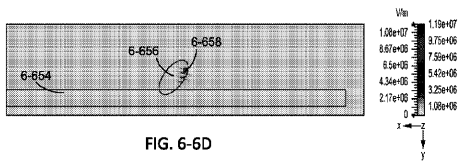


FIG. 6-6D

【図 6-7 D】

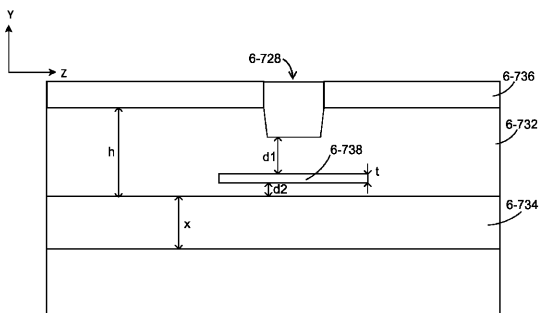


FIG. 6-7D

【図 6-8 A】

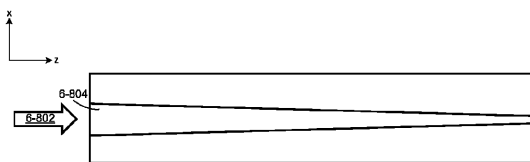


FIG. 6-8A

【図 6-7 A】

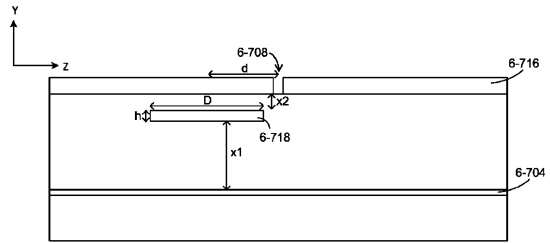


FIG. 6-7A

【図 6-7 B】

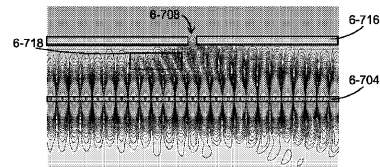


FIG. 6-7B

【図 6-7 C】

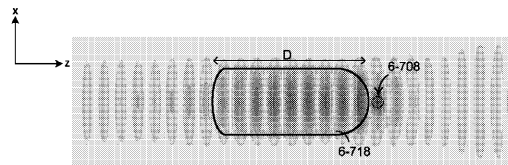


FIG. 6-7C

【図 6-8 B】

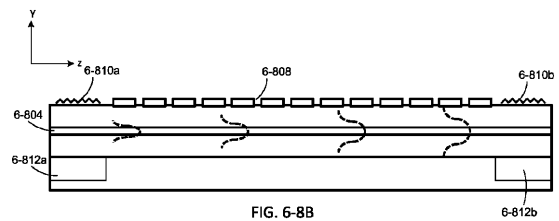


FIG. 6-8B

【図 6-9 A】

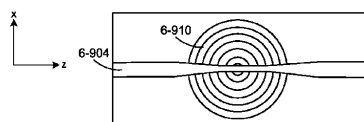


FIG. 6-9A

【図 6-9 B】

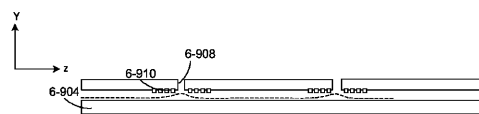
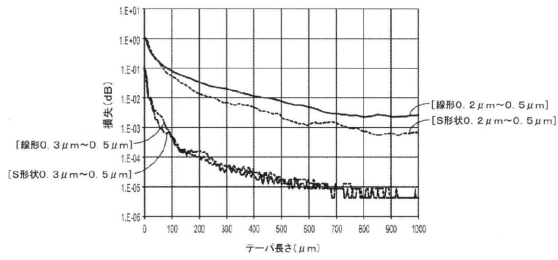
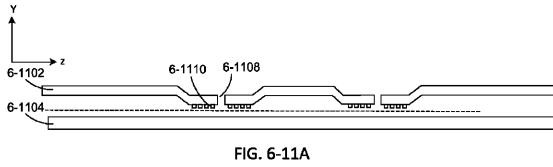


FIG. 6-9B

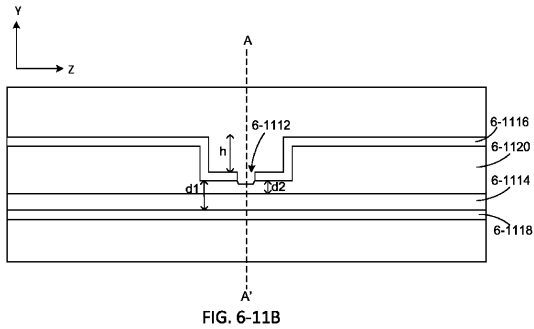
【図 6-10】



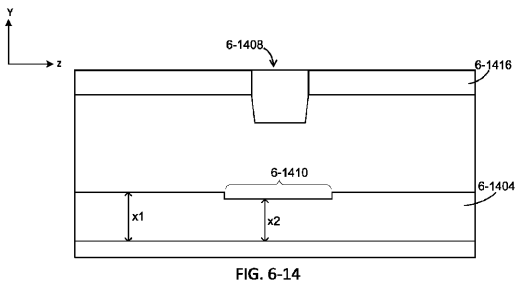
【図 6-11A】



【図 6-11B】



【図 6-14】



【図 7-1A】

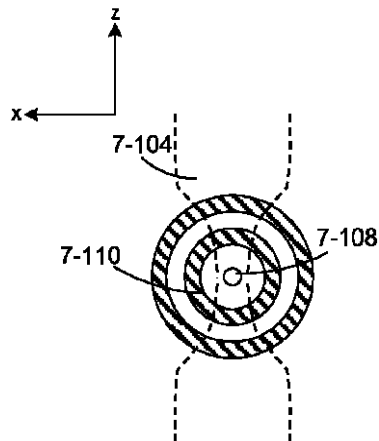


FIG. 7-1A

【図 6-11C】

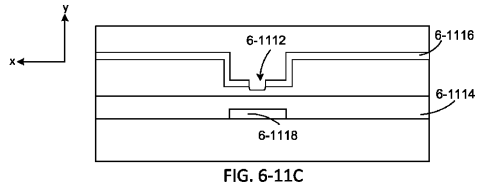


FIG. 6-11C

【図 6-12】

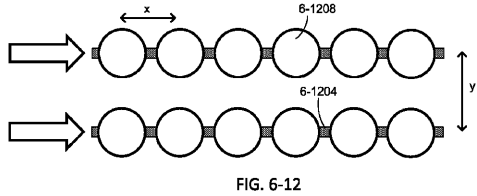


FIG. 6-12

【図 6-13】

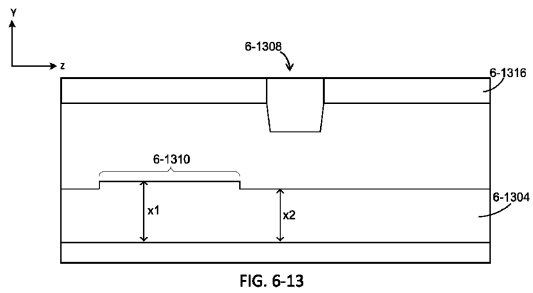


FIG. 6-13

【図 7-1B】

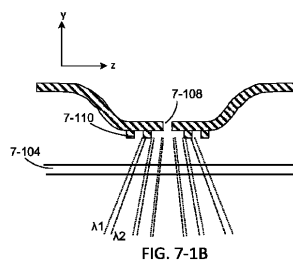


FIG. 7-1B

【図 7-1C】

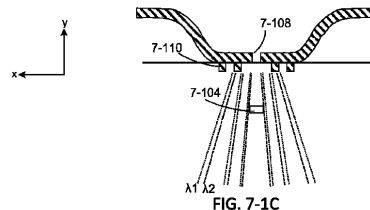


FIG. 7-1C

【図 7-2A】

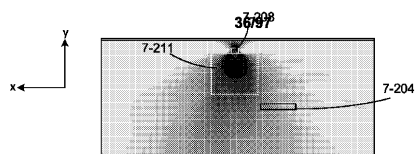
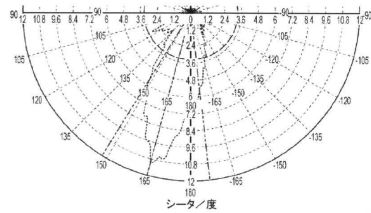
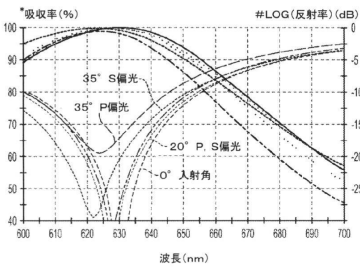


FIG. 7-2A

【図 7-2 B】



【図 7-3】



【図 7-4 A】

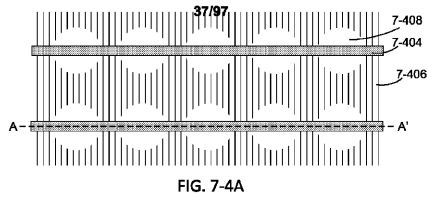
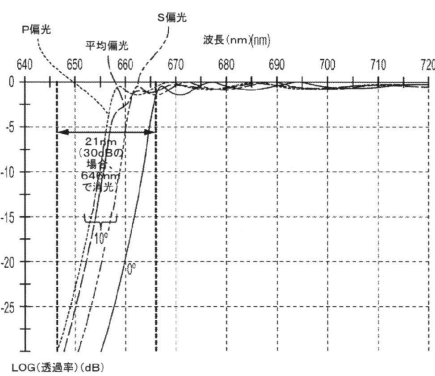


FIG. 7-4A

【図 7-6】



【図 7-4 B】

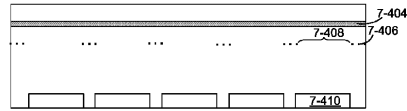


FIG. 7-4B

【図 7-5】

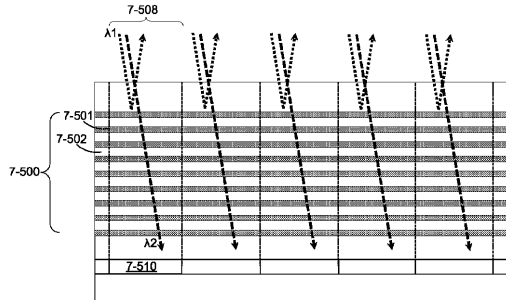
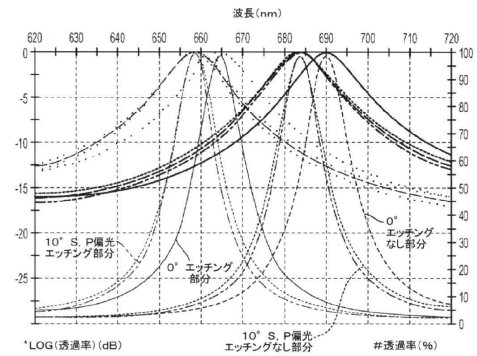


FIG. 7-5

【図 7-8】



【図 7-7】

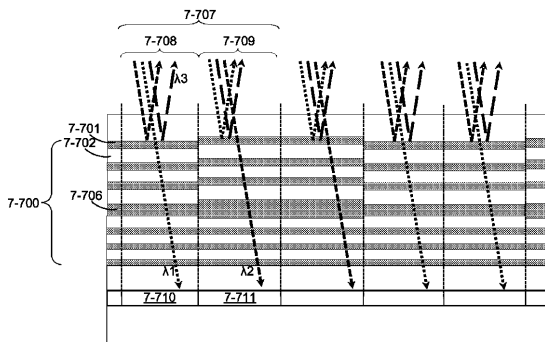
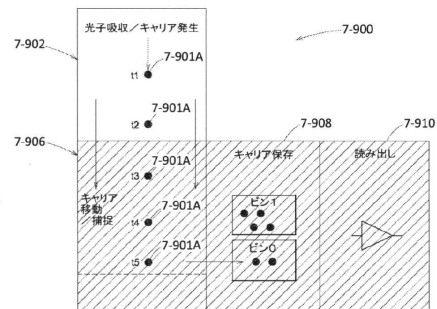
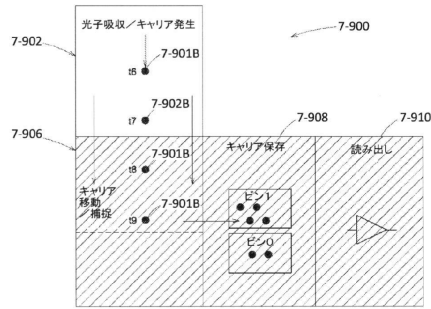


FIG. 7-7

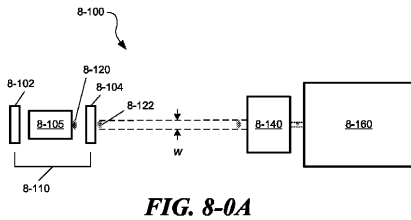
【図 7-9 A】



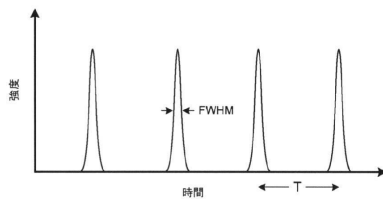
【图 7-9 B】



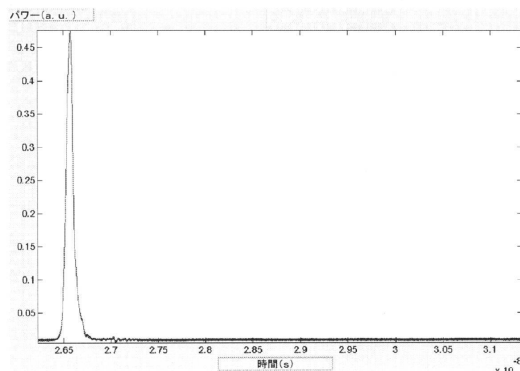
【图 8-0 A】



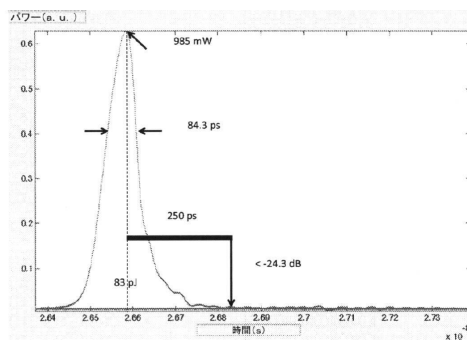
【図 8-0 B】



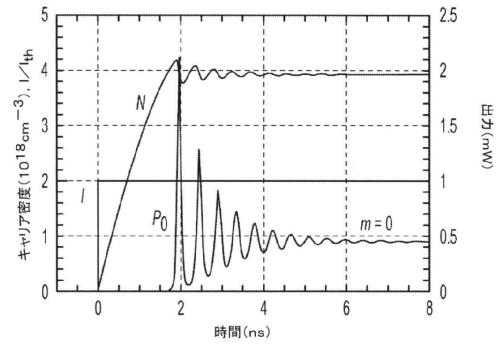
【図 8-3】



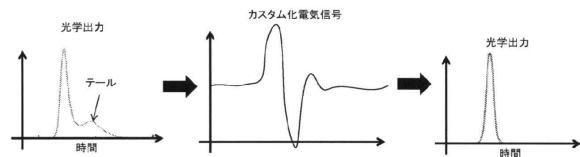
【图 8-4】



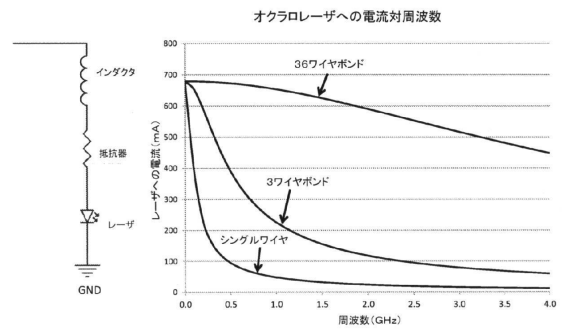
【图 8-1】



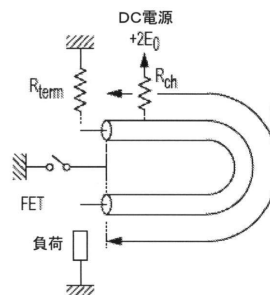
【图 8-2】



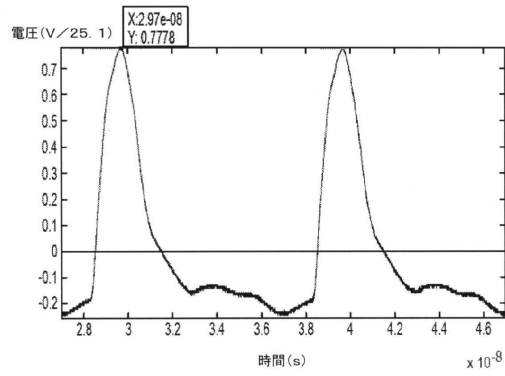
【图 8-5】



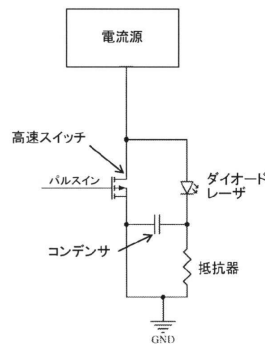
【图 8-6 A】



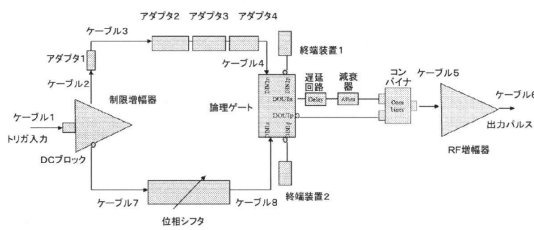
【図 8 - 6 B】



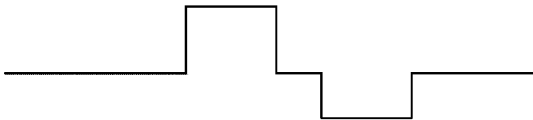
【図 8 - 7】



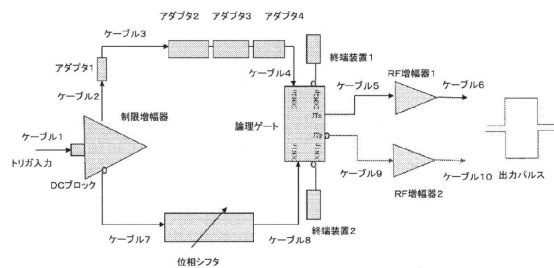
【図 8 - 9 A】



【図 8 - 9 B】



【図 8 - 10 A】



【図 8 - 8】

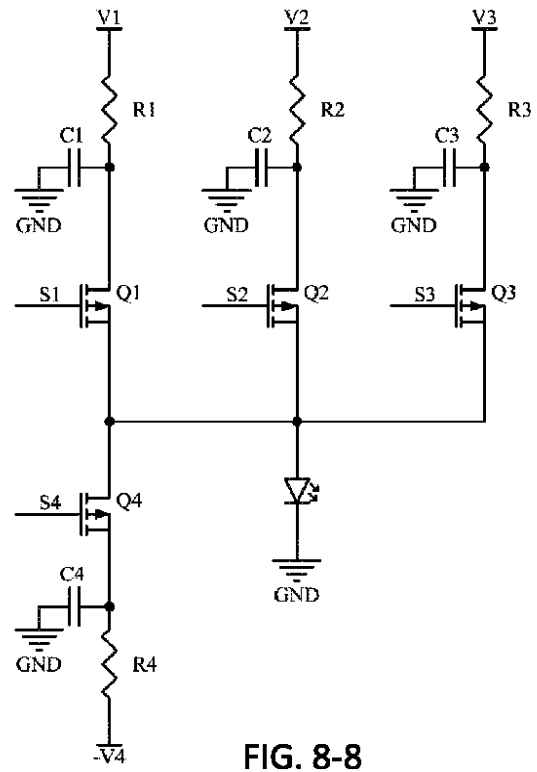
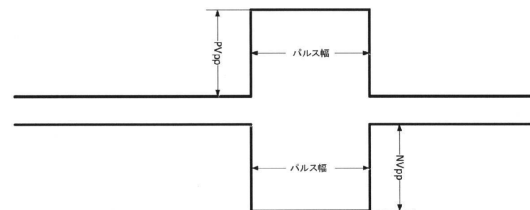


FIG. 8-8

【図 8 - 10 B】



【図 8 - 11 A】

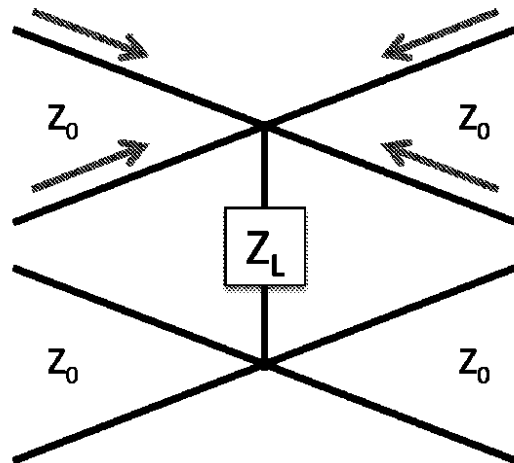
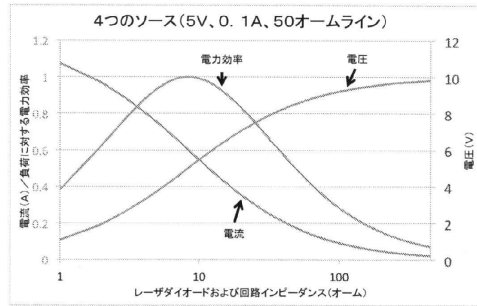
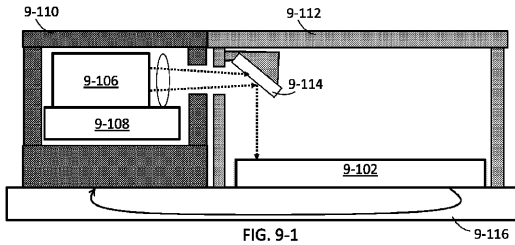


FIG. 8-11A

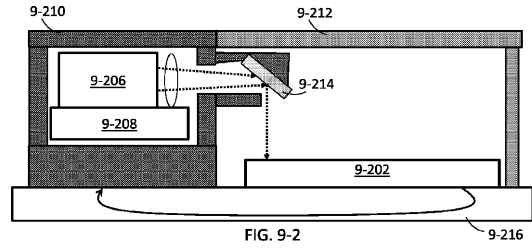
【図 8 - 1 1 B】



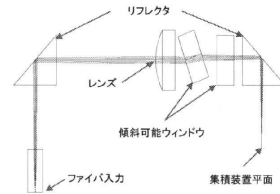
【図 9 - 1】



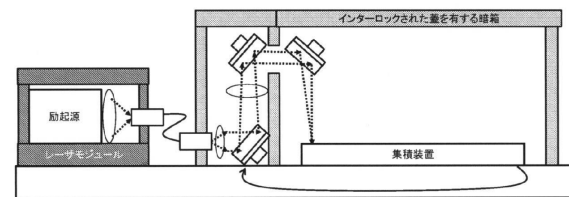
【図 9 - 2】



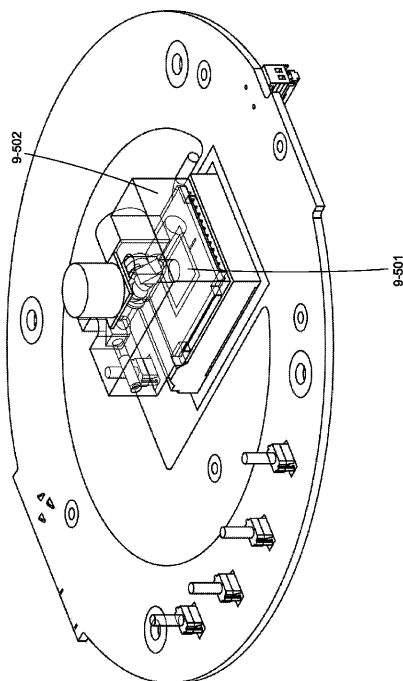
【図 9 - 3】



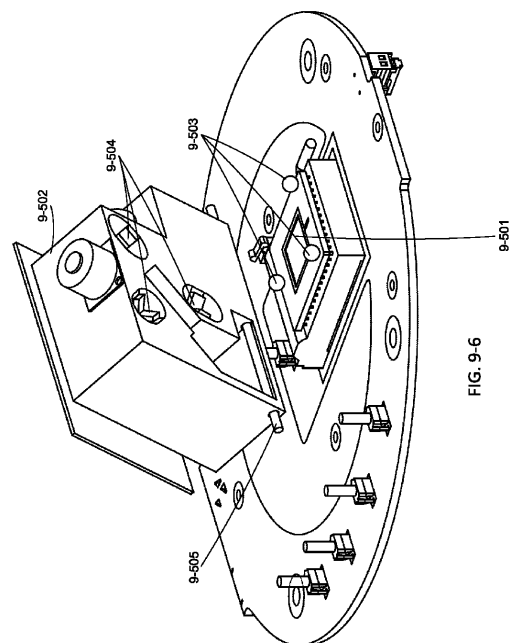
【図 9 - 4】



【図 9 - 5】



【図 9 - 6】



【図 9-7】

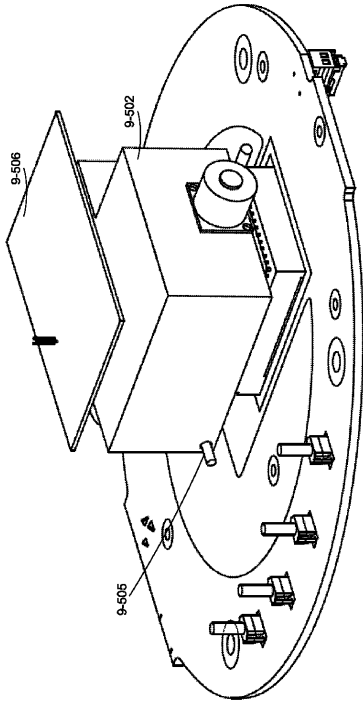


FIG. 9-7

【図 9-8】

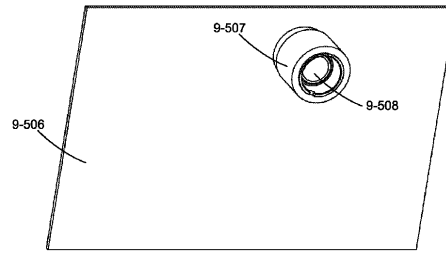


FIG. 9-8

【図 9-9】

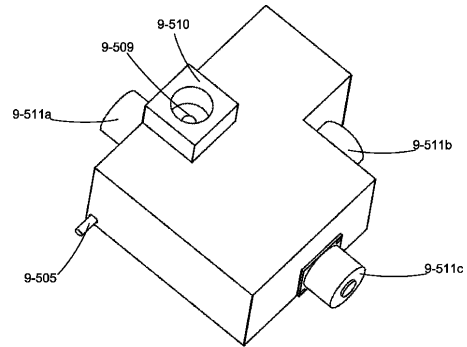


FIG. 9-9

【図 9-10】

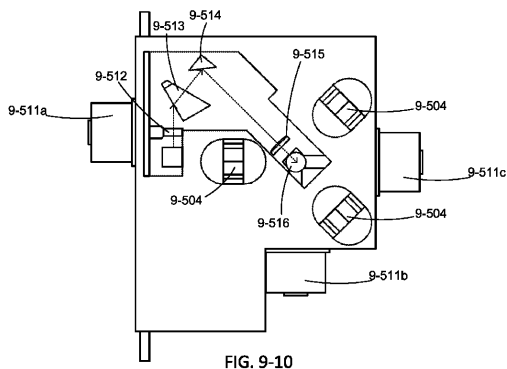


FIG. 9-10

【図 9-11】

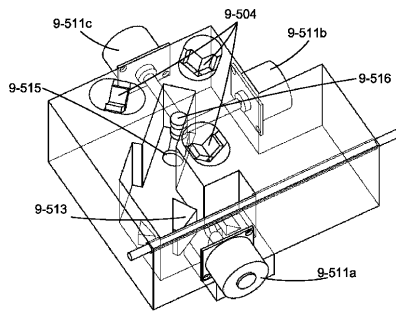


FIG. 9-11

【図 9-12】

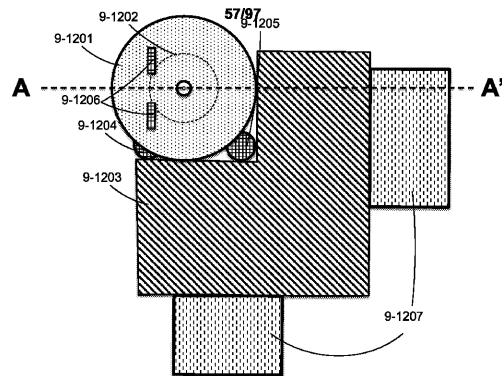


FIG. 9-12

【図 9-13】

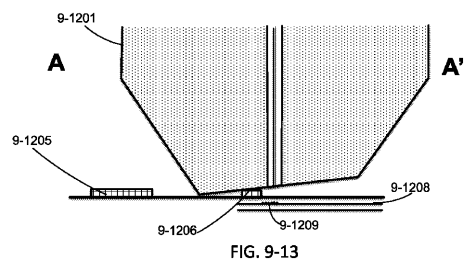
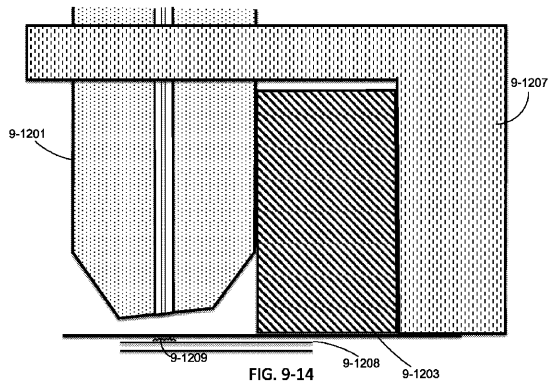
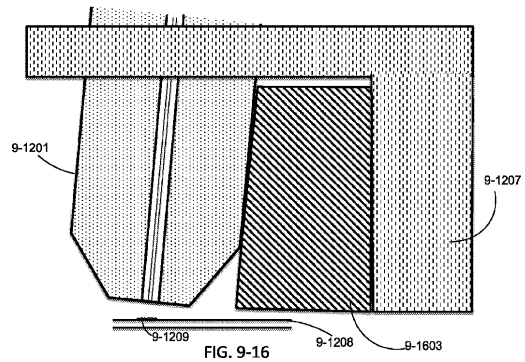


FIG. 9-13

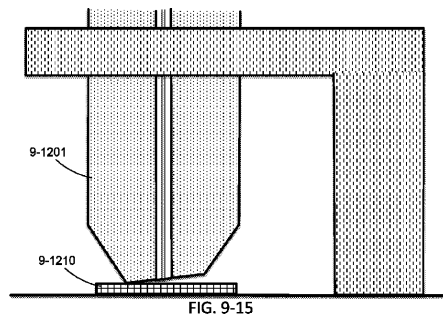
【図 9 - 1 4】



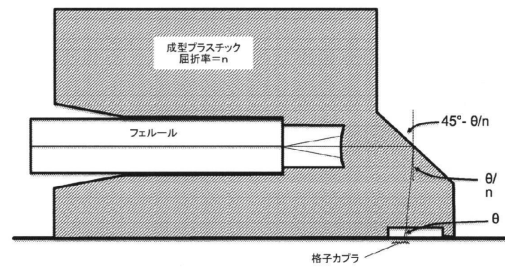
【図 9 - 1 6】



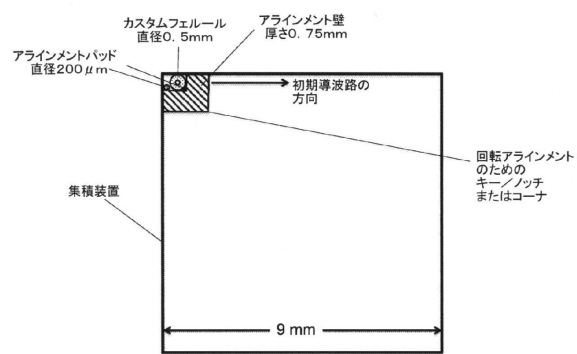
【図 9 - 1 5】



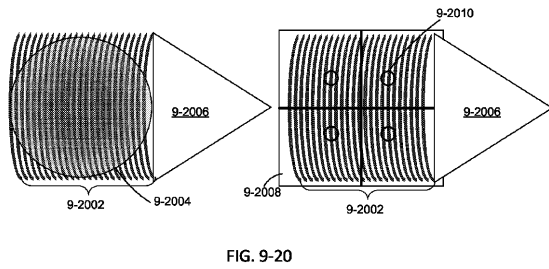
【図 9 - 1 7】



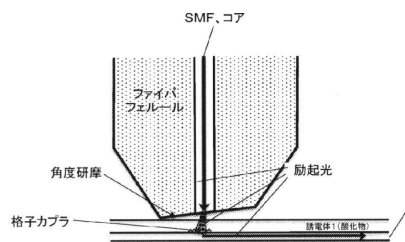
【図 9 - 1 8】



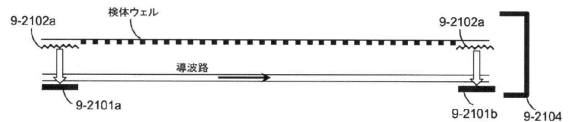
【図 9 - 2 0】



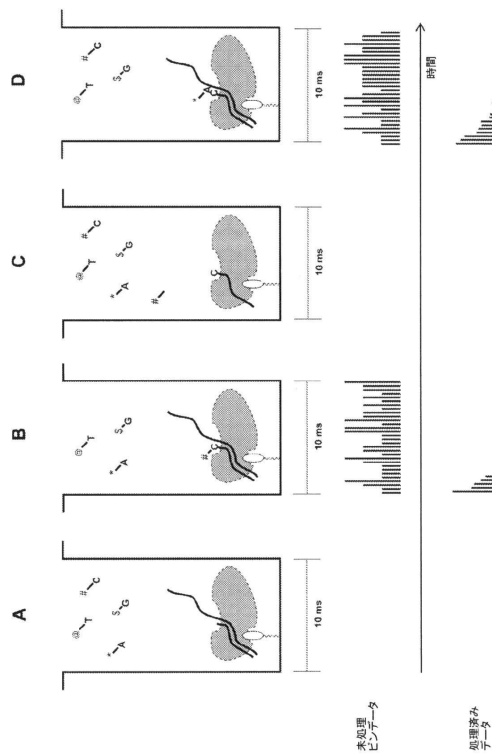
【図 9 - 1 9】



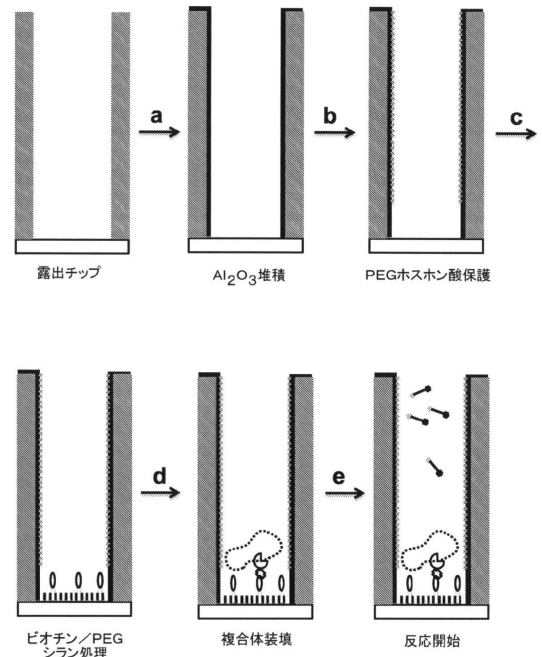
【図 9 - 2 1】



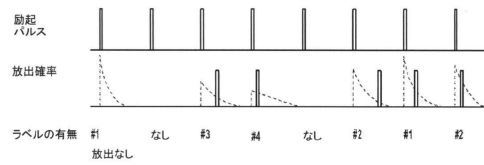
【図 10-2】



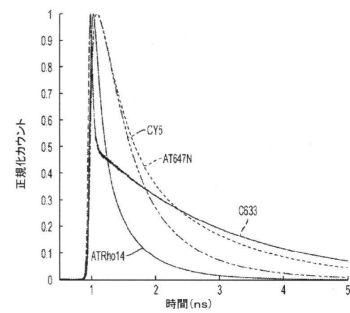
【図 10-3】



【図 10-4】



【図 10-6】



【図 10-5】

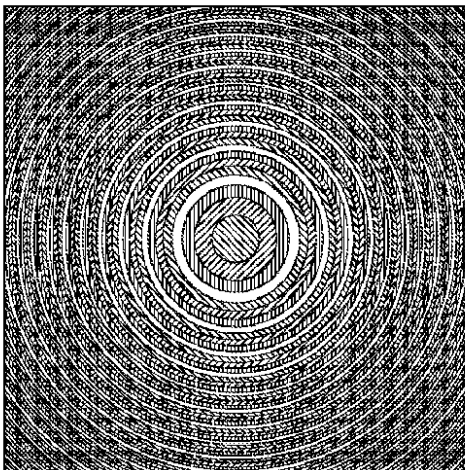


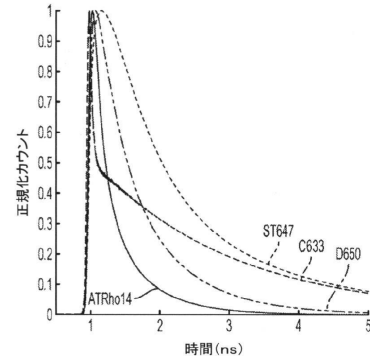
FIG. 10-5

【図 10-7】

	ATTO Rho14	D650	ST647	CF633
0.25	0.081	0.091	0.143	0.038
0.315	0.081	0.091	0.143	0.038
0.397	0.081	0.091	0.143	0.038
0.499	0.081	0.091	0.143	0.038
0.629	0.111	0.121	0.133	0.059
0.792	0.111	0.121	0.122	0.069
0.997	0.111	0.121	0.102	0.079
1.256	0.101	0.111	0.062	0.089
1.581	0.091	0.091	0.061	0.069
1.991	0.071	0.061	0.041	0.099
2.537	0.051	0.041	0.021	0.099
3.156	0.030	0.020	0.010	0.089
3.976	0.020	0.010	0.000	0.079
5.007	0.010	0.000	0.000	0.059
6.306	0.010	0.000	0.000	0.049
7.941	0.010	0.000	0.000	0.029
9.9	0.000	0.000	0.000	0.019

FIG. 10-7

【図 10-8】

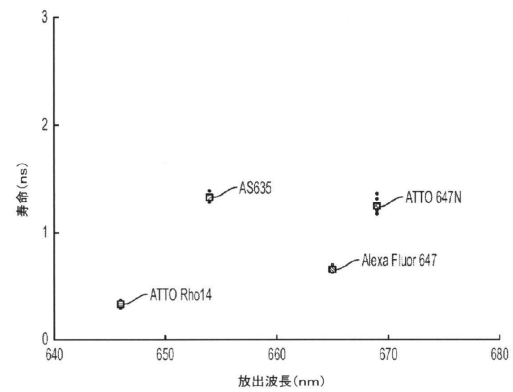


【図 10-9】

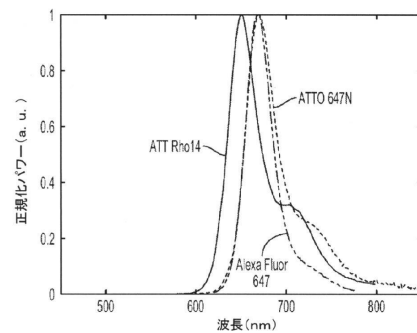
Exc.	ATTO Rho14	D650	ST647	CF633
0.25	0.384	0.287	0.170	0.130
0.51	0.131	0.129	0.090	0.060
0.667	0.182	0.206	0.180	0.140
1.057	0.151	0.186	0.230	0.220
1.915	0.020	0.030	0.050	0.060
2.227	0.040	0.050	0.100	0.120
3.163	0.000	0.000	0.010	0.020
3.319	0.081	0.069	0.140	0.210
7.608	0.000	0.000	0.010	0.010
7.999	0.010	0.010	0.010	0.010
8.701	0.000	0.000	0.000	0.000
8.857	0.010	0.010	0.000	0.010
9.247	0.010	0.010	0.010	0.010
9.91	0.010	0.010	0.010	0.010

FIG. 10-9

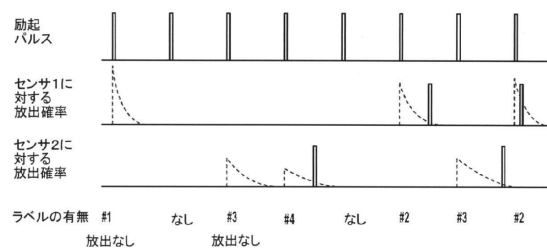
【図 10-11】



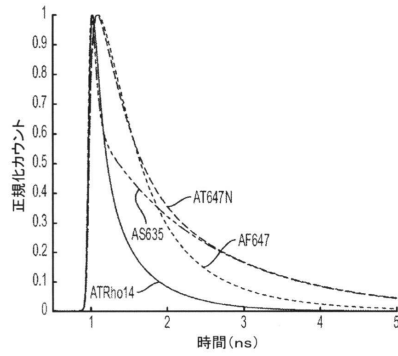
【図 10-12】



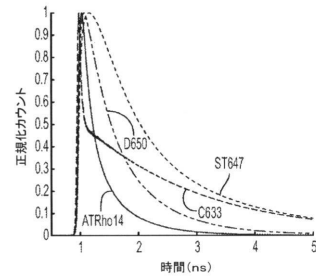
【図 10-10】



【図 10-13】

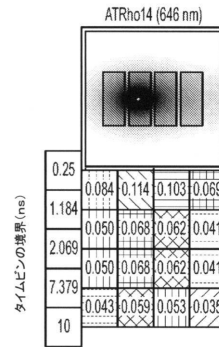
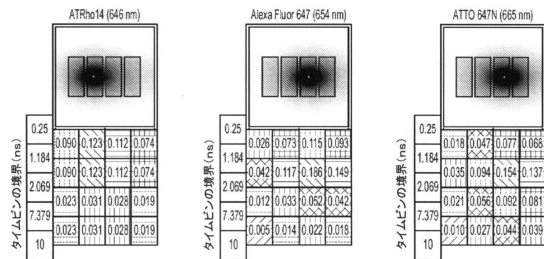


【図 10-15】

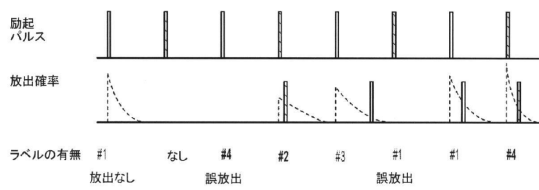


【図 10-16】

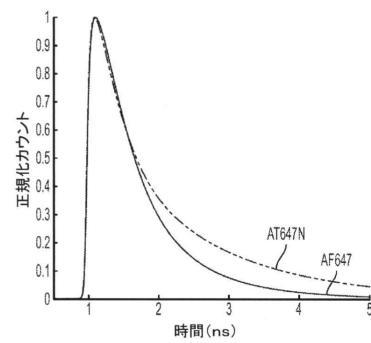
【図 10-14】



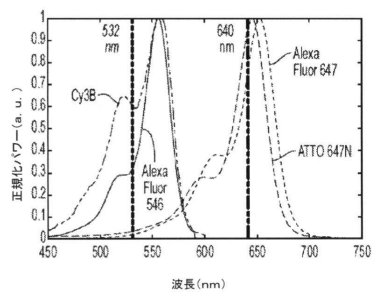
【図 10-17】



【図 10-19】



【図 10-18】



【図 10 - 20】

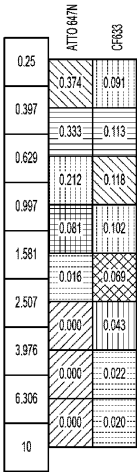
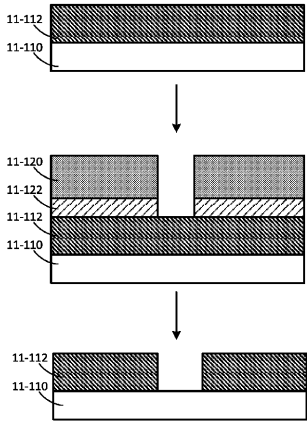
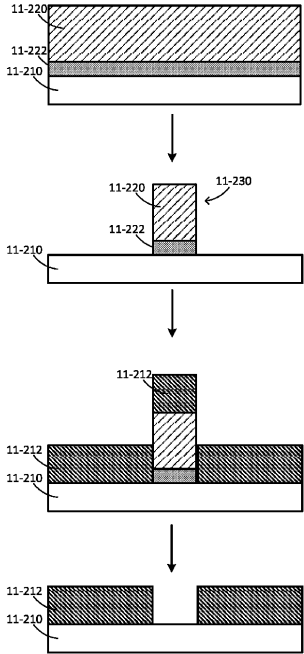


FIG. 10-20

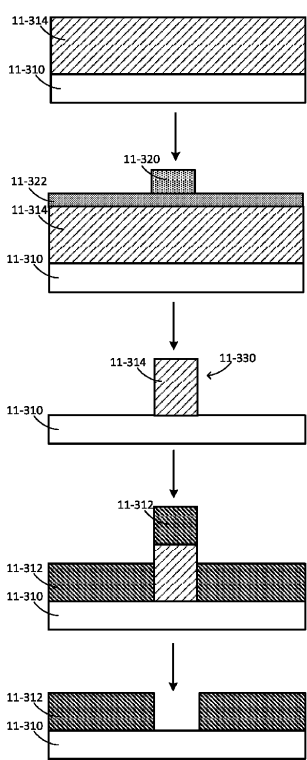
【図 11 - 1】



【図 11 - 2】



【図 11 - 3】



【図 1 1 - 4 A】

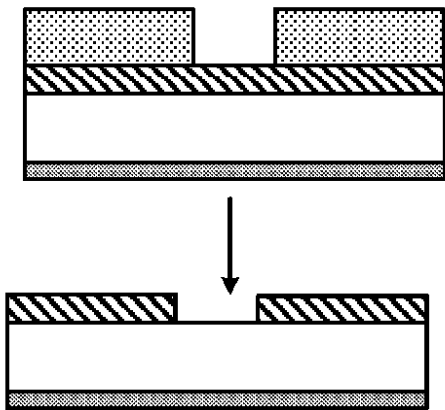


FIG. 11-4A

【図 1 1 - 4 B】

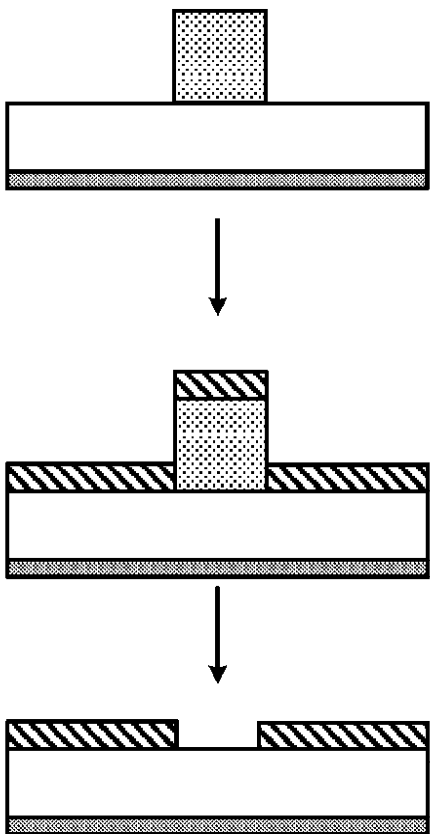


FIG. 11-4B

【図 1 1 - 5】

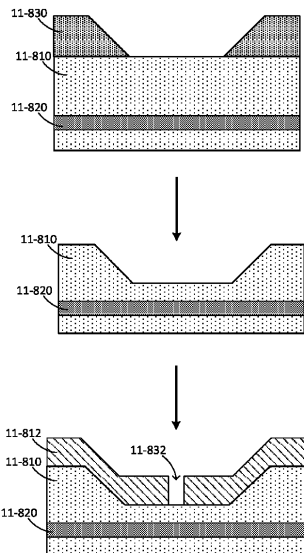


FIG. 11-5

【図 1 1 - 6】

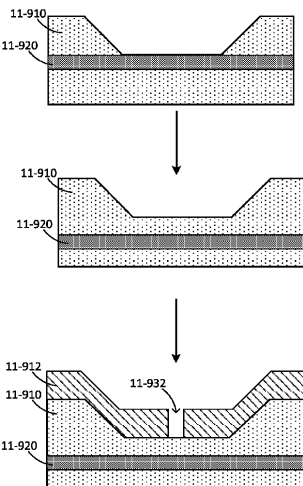
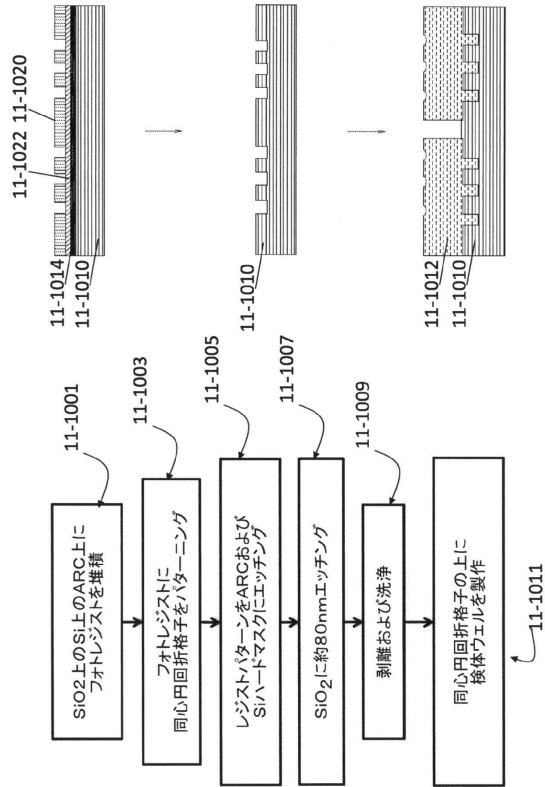
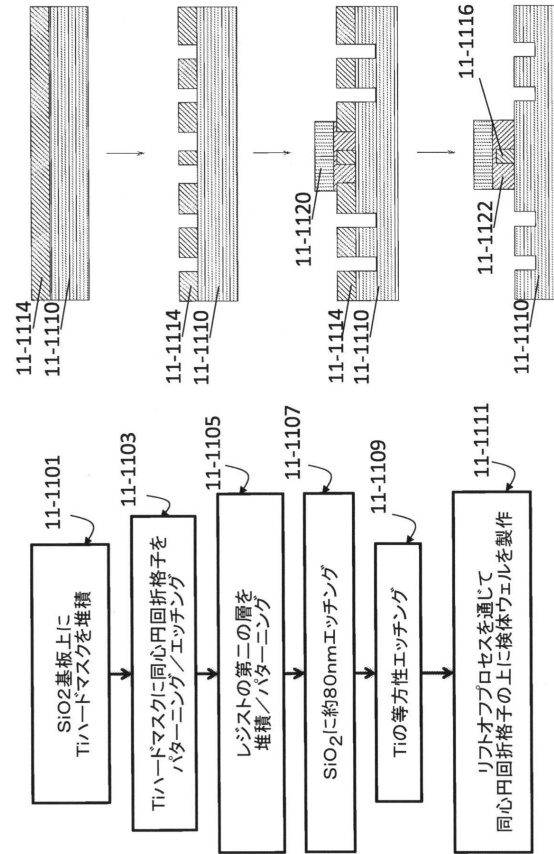


FIG. 11-6

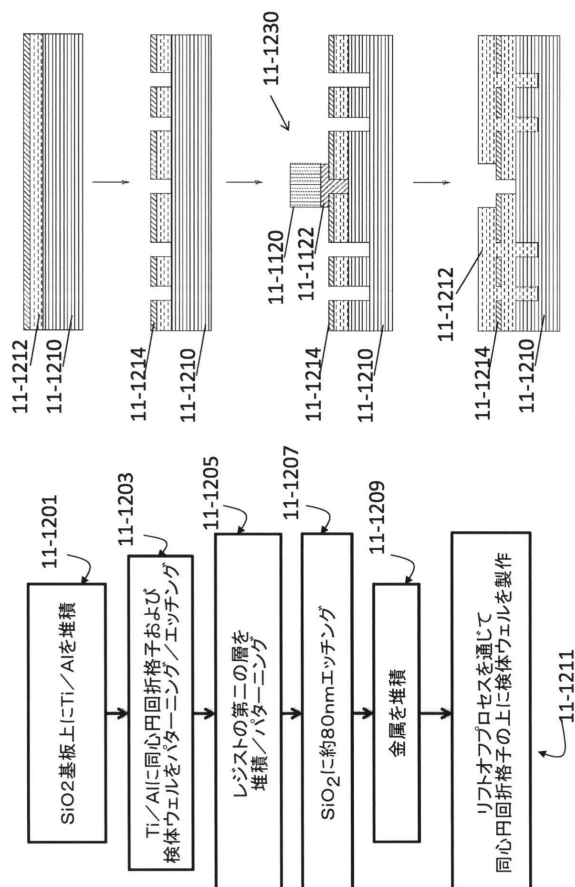
【図 11-7】



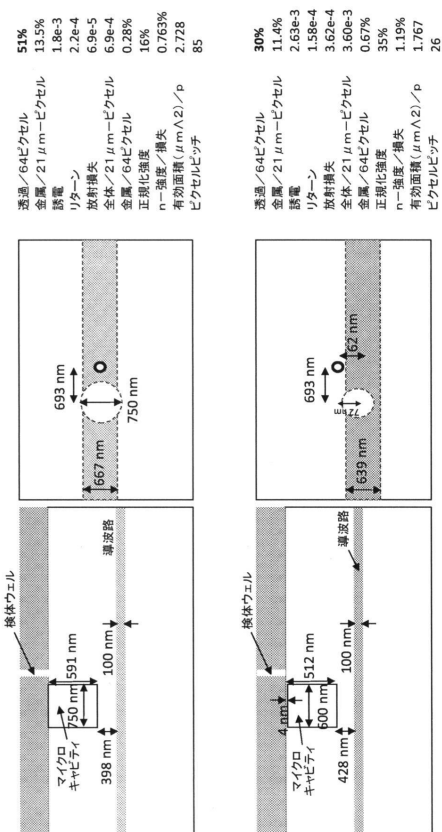
【図 11-8】



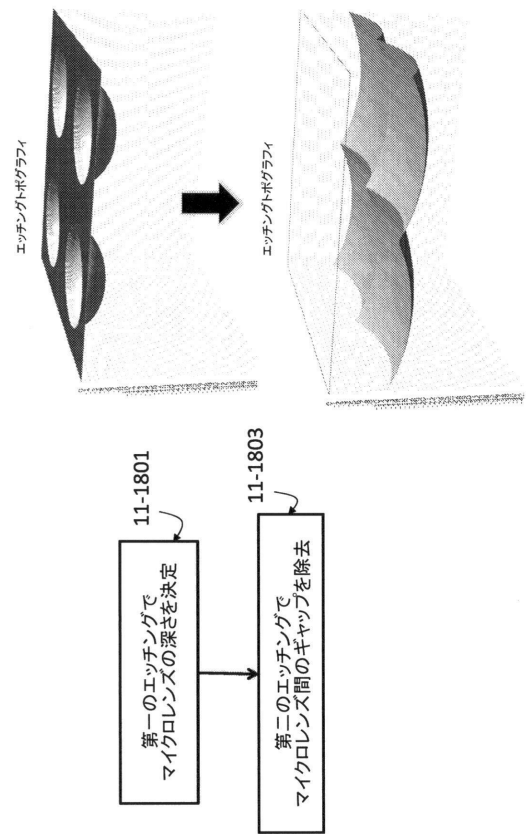
【図 11-9】



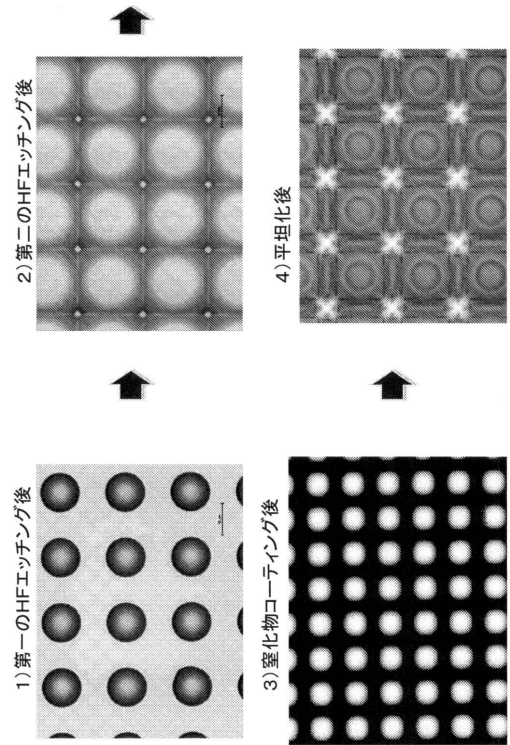
【図 11-10】



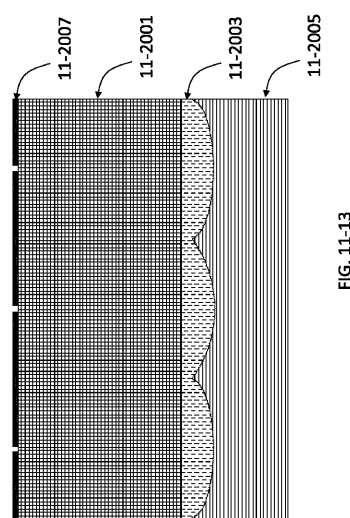
【図 1 1 - 1 1】



【図 1 1 - 1 2】



【図 1 1 - 1 3】



【図 1 1 - 1 4】

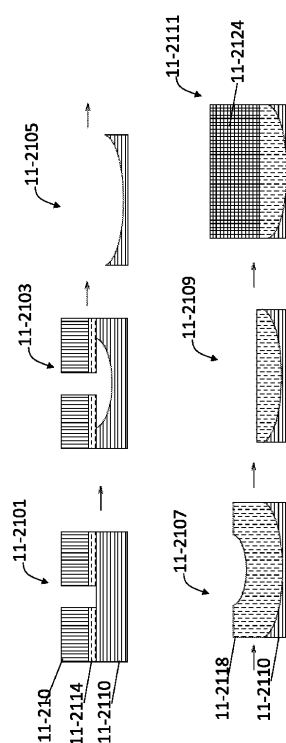
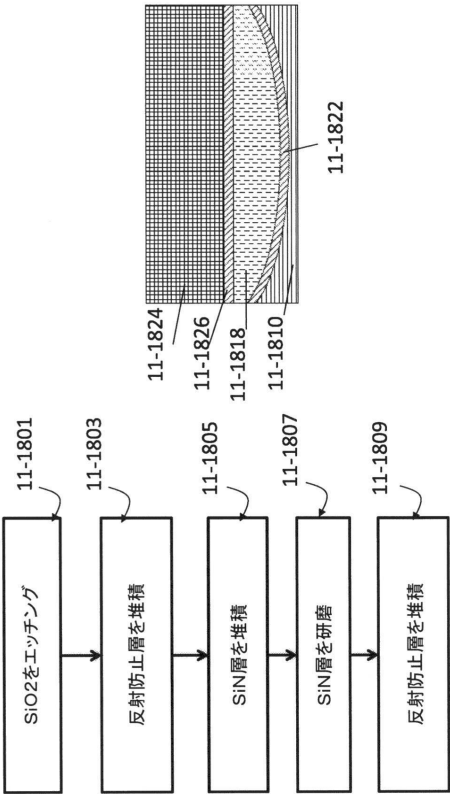


FIG. 11-14

【図 11-15】



【図 11-16】

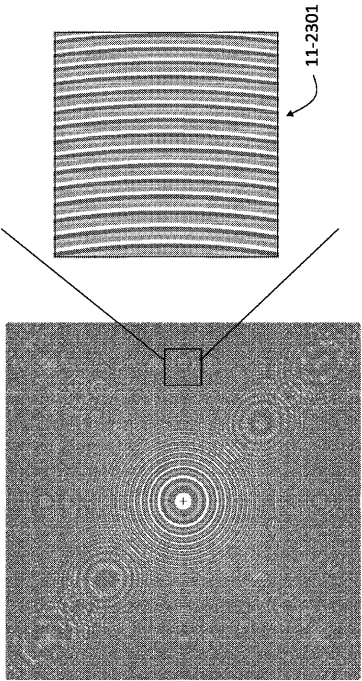


FIG. 11-16

【図 11-17】

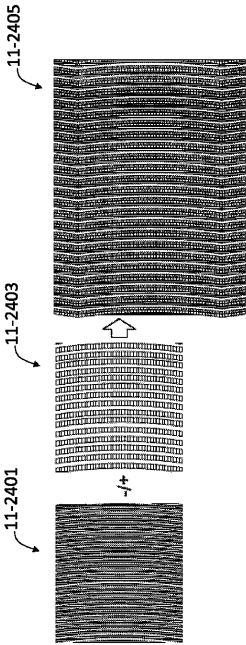


FIG. 11-17

【図 11-18】

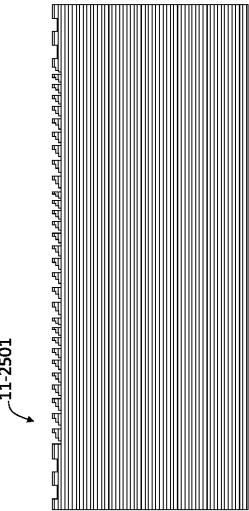
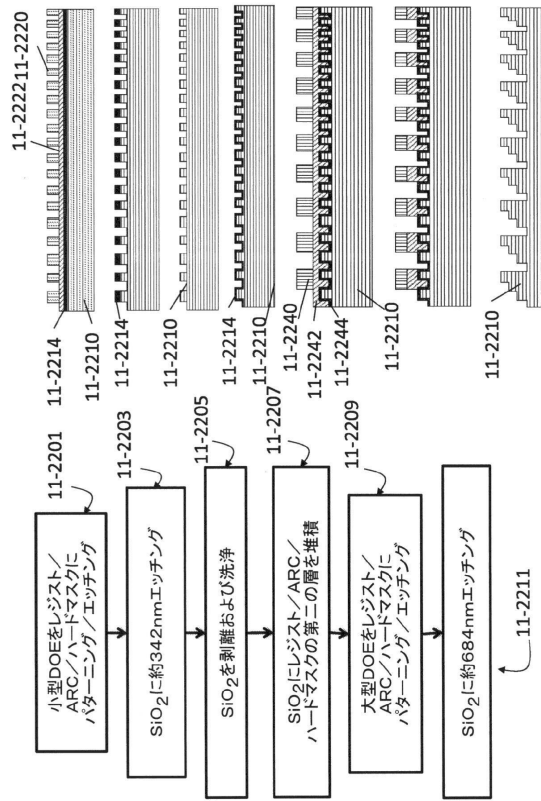
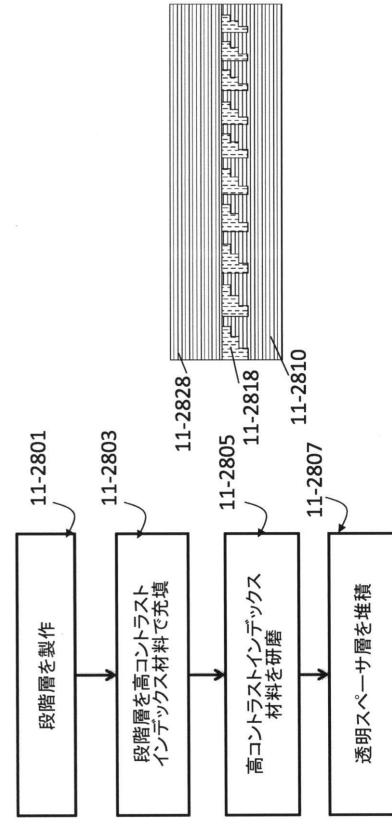


FIG. 11-18

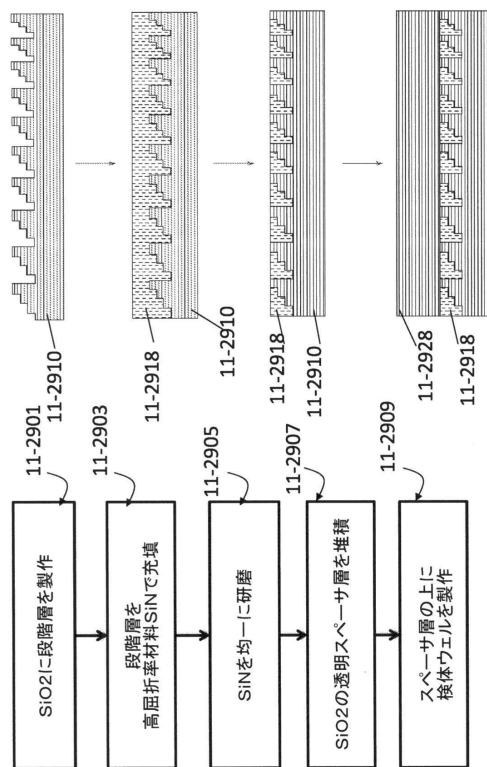
【図 11-19】



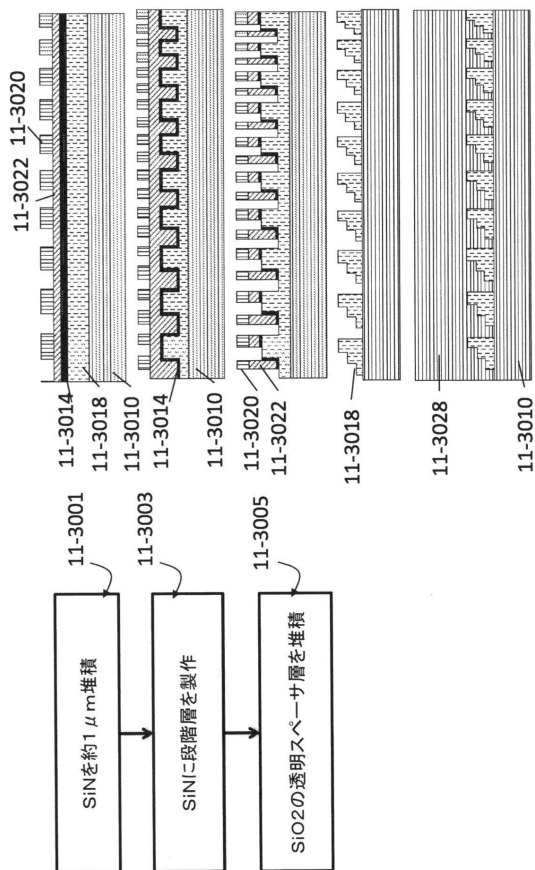
【図 11-20】



【図 11-21】



【図 11-22】



フロントページの続き

- (72)発明者 ロスバーク、ジョナサン エム.
アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード アンカス ポイント ロード 2
15
- (72)発明者 カビリ、アリ
アメリカ合衆国 06443 コネチカット州 マディソン グリーン ヒル ロード 58
- (72)発明者 シックラー、ジェイソン ダブリュ.
アメリカ合衆国 06443 コネチカット州 マディソン ハイ フィールド レーン 10
- (72)発明者 ジャーフィス、ブレット ジェイ.
アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード ナット プレインズ ロード 1
64
- (72)発明者 ラッキー、ジェレミー
アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード ノートンタウン ロード 636
- (72)発明者 シュミッド、ジェラード
アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード ワイルドローズ アベニュー 1
40
- (72)発明者 ウエスト、ローレンス シー.
アメリカ合衆国 95120 カリフォルニア州 サンノゼ ブレアウッド コート 774
- (72)発明者 チプリアニー、ベンジャミン
アメリカ合衆国 06405 コネチカット州 ブランフォード タートル ベイ ドライブ 1
76
- (72)発明者 ファイフ、キース ジー.
アメリカ合衆国 94306 カリフォルニア州 パロ アルト マタデロ アベニュー 635
- (72)発明者 ガセミ、ファーシッド
アメリカ合衆国 06437 コネチカット州 ギルフォード ニュー ウィットフィールド ス
トリート 373 アpartment ビー

審査官 伊藤 裕美

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2010/0065726 (US, A1)
米国特許出願公開第2012/0014837 (US, A1)
国際公開第2012/133292 (WO, A1)
特開2001-042171 (JP, A)
特開2011-203604 (JP, A)
米国特許出願公開第2006/0164637 (US, A1)
国際公開第2013/171197 (WO, A1)
米国特許出願公開第2009/0316429 (US, A1)
米国特許出願公開第2014/0061677 (US, A1)
国際公開第2006/098435 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/00 - G01N 21/74
C12M 1/34
C12Q 1/68 - C12Q 1/70