

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-515682

(P2023-515682A)

(43)公表日 令和5年4月13日(2023.4.13)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 21/64 (2006.01)	G 0 1 N 21/64	B Z N A 2 G 0 4 3
G 0 1 N 21/03 (2006.01)	G 0 1 N 21/64	F 2 G 0 5 7
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	G 0 1 N 21/03	Z 4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/6869(2018.01)	C 1 2 M 1/34	Z 4 B 0 6 3
	C 1 2 Q 1/6869	Z
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全82頁)		

(21)出願番号	特願2022-552603(P2022-552603)	(71)出願人	516144164
(86)(22)出願日	令和3年3月2日(2021.3.2)		クアンタム-エスアイ インコーポレイ
(85)翻訳文提出日	令和4年10月27日(2022.10.27)		テッド
(86)国際出願番号	PCT/US2021/020521		QUANTUM-SI INCORPO
(87)国際公開番号	WO2021/178438		RATED
(87)国際公開日	令和3年9月10日(2021.9.10)		アメリカ合衆国 0 6 4 3 7 コネチカッ
(31)優先権主張番号	62/984,229		ト州 ギルフォード オールド ウィット
(32)優先日	令和2年3月2日(2020.3.2)		フィールド ストリート 5 3 0
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100105957
			弁理士 恩田 誠
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100068755
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁理士 恩田 博宣
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(74)代理人	100142907
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		弁理士 本田 淳
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(72)発明者	シュミッド、ジェラード
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 多次元信号解析用集積センサ

(57)【要約】

いくつかの態様は、集積回路であって、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコントローラとを備える集積回路に関連するものであり、前記情報が、パルス持続時間およびパルス間持続時間を備える群から選択される少なくとも1つのメンバと、波長情報、蛍光寿命情報、強度情報を備える群から選択される少なくとも1つのメンバとを備える。いくつかの実施形態では、前記情報は、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバまたは4つのメンバまたは5つのメンバから構成される。いくつかの実施形態では、取得された情報はサンプルを同定するために使用されてよい。

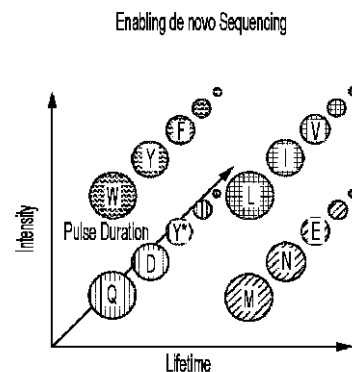


FIG. 5-12

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも 1 つの光検出領域と、

前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも 1 つの電荷蓄積領域と、

前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、強度情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバを備える前記情報を取得するように構成された少なくとも 1 つのコンポーネントとを備える集積回路。

10

【請求項 2】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、波長情報とパルス持続時間情報とを備える、請求項 1 に記載の集積回路。

【請求項 3】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス持続時間情報と強度情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 4】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、発光寿命情報とパルス持続時間情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

20

【請求項 5】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される情報は、パルス持続時間情報とパルス間持続時間情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される情報は、パルス持続時間情報と、波長情報と、強度情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス持続時間情報と、波長情報と、発光寿命情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

30

【請求項 8】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス持続時間情報と、強度情報と、発光寿命情報とを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 9】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される情報に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルを同定するようにさらに構成される、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

40

【請求項 10】

前記サンプルを同定することは、少なくとも 1 つの蛍光マーカを識別することを備え、前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、前記少なくとも 1 つの蛍光マーカが付着している少なくとも 1 つの分子を同定するようにさらに構成されている、請求項 9 に記載の集積回路。

【請求項 11】

前記少なくとも 1 つの分子を同定することは、少なくとも 1 つのアミノ酸を同定することを備える、請求項 10 に記載の集積回路。

【請求項 12】

50

前記少なくとも１つの電荷蓄積領域は、第１の電荷蓄積領域および第２の電荷蓄積領域を備えており、前記第１の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはスペクトル情報を示し、前記第２の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはタイミング情報を示す、請求項１または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項１３】

前記タイミング情報は発光寿命情報を備え、前記スペクトル情報は波長情報を備える、請求項１２に記載の集積回路。

【請求項１４】

前記第１の電荷蓄積領域と前記第２の電荷蓄積領域とは、前記少なくとも１つの光検出領域が前記入射光子を受け取るように構成される光学的方向において異なる深さを有する、請求項１３に記載の集積回路。

【請求項１５】

前記少なくとも１つの光検出領域は、前記電荷キャリアを生成しかつ前記電荷キャリアを前記第１の電荷蓄積領域および前記第２の電荷蓄積領域に転送するように構成された単一の光検出領域を備える、請求項１４に記載の集積回路。

【請求項１６】

前記少なくとも１つの光検出領域は、第１の電荷キャリアおよび第２の電荷キャリアをそれぞれ生成するように構成された第１の光検出領域および第２の光検出領域を備え、前記第１の電荷蓄積領域は、前記第１の電荷キャリアを受け取るように構成され、前記第２の電荷蓄積領域は、前記第２の電荷キャリアを受け取るように構成される、請求項１４に記載の集積回路。

【請求項１７】

前記少なくとも１つの光検出領域と前記第１の電荷蓄積領域との間に配置された第１の電荷転送領域と、

前記少なくとも１つの光検出領域と前記第２の電荷蓄積領域との間に配置された第２の電荷転送領域とをさらに備え

前記第１の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第２の電荷転送領域の上方または下方に配置される、請求項１４に記載の集積回路。

【請求項１８】

前記少なくとも１つの光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された第３の電荷転送領域であって、少なくとも部分的に、前記第１の電荷転送領域および／または前記第２の電荷転送領域の上方または下方に配置される前記第３の電荷転送領域をさらに備える、請求項１７に記載の集積回路。

【請求項１９】

前記少なくとも１つの光検出領域と前記少なくとも１つの電荷蓄積領域とを備えるピクセルであって、４０ミクロン以下の面積を有する前記ピクセルをさらに備える、請求項１または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項２０】

前記入射光子に関する情報は、前記少なくとも１つの電荷蓄積領域に蓄積された前記電荷キャリアの１つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものである、請求項１または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項２１】

前記パルス持続時間情報は、前記少なくとも１つの光検出領域が受け取る入射光子の総数が閾値を超える時間間隔の長さを決定することによって少なくとも部分的に取得される、請求項１または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項２２】

前記パルス間持続時間情報は、前記少なくとも１つの光検出領域が受け取る入射光子の総数が閾値未満である時間間隔の長さを決定することによって少なくとも部分的に取得される、請求項１または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

10

20

30

40

50

【請求項 23】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、

前記パルス持続時間情報と、波長情報、発光寿命情報、強度情報およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも 1 つのメンバとを取得するように構成された第 1 のコンポーネントを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 24】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、

前記パルス持続時間情報を取得するように構成された第 1 のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも 1 つのメンバとを取得するように構成された第 2 のコンポーネントとを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 25】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、少なくとも 1 つのプロセッサを備える、請求項 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 26】

前記少なくとも 1 つのプロセッサは、前記少なくとも 1 つの光検出領域および前記少なくとも 1 つの電荷蓄積領域から遠隔に位置する、請求項 25 に記載の集積回路。

【請求項 27】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも 1 つの光検出領域と、

前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも 1 つの電荷蓄積領域と、

前記入射光子に関する情報であって、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、強度情報、およびパルス持続時間情報を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバを備える前記情報を取得するように構成された少なくとも 1 つのコンポーネントと、を備える集積回路。

【請求項 28】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報と波長情報とを備える、請求項 27 に記載の集積回路。

【請求項 29】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報と強度情報とを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 30】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報と発光寿命情報とを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 31】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報とパルス持続時間情報とを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 32】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報、波長情報、および強度情報を備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 33】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報、波長情報、および発光寿命情報を備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

10

20

30

40

50

【請求項 3 4】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、パルス間持続時間情報、強度情報、および発光寿命情報を備える、請求項 2 7 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 3 5】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルを同定するようにさらに構成される、請求項 2 7 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 3 6】

前記サンプルを同定することは、少なくとも 1 つの蛍光マーカを同定することを備え、前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、前記少なくとも 1 つの蛍光マーカが付着している少なくとも 1 つの分子を同定するようにさらに構成される、請求項 3 5 に記載の集積回路。

10

【請求項 3 7】

前記少なくとも 1 つの分子を同定することは、少なくとも 1 つのアミノ酸を識別することを備える、請求項 3 6 に記載の集積回路。

【請求項 3 8】

前記少なくとも 1 つの電荷蓄積領域は、第 1 の電荷蓄積領域および第 2 の電荷蓄積領域を備え、前記第 1 の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはスペクトル情報を示し、前記第 2 の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはタイミング情報を示す、請求項 2 7 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

20

【請求項 3 9】

前記タイミング情報は発光寿命情報を備え、前記スペクトル情報は波長情報を備える、請求項 3 8 に記載の集積回路。

【請求項 4 0】

前記第 1 の電荷蓄積領域と前記第 2 の電荷蓄積領域とは、前記少なくとも 1 つの光検出領域が前記入射光子を受け取るように構成される光学的方向において異なる深さを有する、請求項 3 9 に記載の集積回路。

【請求項 4 1】

前記少なくとも 1 つの光検出領域は、前記電荷キャリアを生成し前記電荷キャリアを前記第 1 の電荷蓄積領域および前記第 2 の電荷蓄積領域に転送するように構成された単一の光検出領域を備える、請求項 4 0 に記載の集積回路。

30

【請求項 4 2】

前記少なくとも 1 つの光検出領域は、第 1 の電荷キャリアおよび第 2 の電荷キャリアをそれぞれ生成するように構成された第 1 の光検出領域および第 2 の光検出領域を備え、前記第 1 の電荷蓄積領域は、前記第 1 の電荷キャリアを受け取るように構成され、前記第 2 の電荷蓄積領域は、前記第 2 の電荷キャリアを受け取るように構成される、請求項 4 0 に記載の集積回路。

【請求項 4 3】

前記少なくとも 1 つの光検出領域と前記第 1 の電荷蓄積領域との間に配置された第 1 の電荷転送領域と、

40

前記少なくとも 1 つの光検出領域と前記第 2 の電荷蓄積領域との間に配置された第 2 の電荷転送領域と、
を備え、

前記第 1 の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第 2 の電荷転送領域の上方または下方に配置される、請求項 4 0 に記載の集積回路。

【請求項 4 4】

前記少なくとも 1 つの光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された第 3 の電荷転送領域であって、少なくとも部分的に、前記第 1 の電荷転送領域および／または前記第 2 の電荷転送領域の上方または下方に配置される前記第 3 の電荷転送領域をさら

50

に備える、請求項 43 に記載の集積回路。

【請求項 45】

前記少なくとも 1 つの光検出領域と前記少なくとも 1 つの電荷蓄積領域とを備えるピクセルであって、40 ミクロン以下の面積を有する前記ピクセルを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 46】

前記入射光子に関する情報は、前記少なくとも 1 つの電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアの 1 つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものである、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 47】

前記パルス持続時間情報は、前記少なくとも 1 つの光検出領域が受け取る前記入射光子の総数が閾値を超える時間間隔の長さを決定することによって少なくとも部分的に取得される、請求項 27 または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 48】

前記パルス間持続時間情報は、前記少なくとも 1 つの光検出領域が受け取る前記入射光子の総数が閾値未満である時間間隔の長さを決定することによって少なくとも部分的に取得される、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 49】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、

前記パルス間持続時間情報と、波長情報、発光寿命情報、強度情報およびパルス持続時間情報を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバとを取得するように構成された第 1 のコンポーネントを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 50】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、

前記パルス間持続時間情報を取得するように構成された第 1 のコンポーネントと、波長情報、発光寿命情報、強度情報、およびパルス持続時間情報を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバを取得するように構成された第 2 のコンポーネントとを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 51】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、少なくとも 1 つのプロセッサを備える、請求項 27 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 52】

前記少なくとも 1 つのプロセッサは、前記少なくとも 1 つの光検出領域および前記少なくとも 1 つの電荷蓄積領域から遠隔に位置する、請求項 51 に記載の集積回路。

【請求項 53】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも 1 つの光検出領域と

前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも 1 つの電荷蓄積領域と、

前記入射光子に関する情報であって、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも 3 つのメンバを備える前記情報を取得するように構成された少なくとも 1 つのコンポーネントと、を備える集積回路。

【請求項 54】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントによって取得される前記情報は、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される少なくとも 2 つのメンバと、パルス持続時間情報およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される 1 つのメンバとを備える、請求項 53 に記載の集積回路。

【請求項 55】

10

20

30

40

50

前記少なくとも1つのコンポーネントによって取得される前記情報は、波長情報と、強度情報と、パルス持続時間情報およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される1つのメンバとを備える、請求項54に記載の集積回路。

【請求項56】

前記少なくとも1つのコンポーネントによって取得される前記情報は、発光寿命情報と、強度情報と、パルス持続時間情報およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される1つのメンバとを備える、請求項54に記載の集積回路。

【請求項57】

前記少なくとも1つのコンポーネントによって取得される前記情報は、波長情報と、発光寿命情報と、強度情報とを備える、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

10

【請求項58】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、前記少なくとも1つのコンポーネントによって取得される前記情報に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルを同定するようにさらに構成される、請求項53または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項59】

前記サンプルを同定することは、少なくとも1つの蛍光マーカを同定することを備え、前記少なくとも1つのコンポーネントは、前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子を識別するようにさらに構成されている、請求項58に記載の集積回路。

20

【請求項60】

前記少なくとも1つの分子を同定することは、少なくとも1つのアミノ酸を同定することを備える、請求項59に記載の集積回路。

【請求項61】

前記少なくとも1つの電荷蓄積領域は、第1の電荷蓄積領域および第2の電荷蓄積領域を備え、前記第1の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはスペクトル情報を示し、前記第2の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはタイミング情報を示す、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項62】

前記タイミング情報は発光寿命情報を備え、前記スペクトル情報は波長情報を備える、請求項61に記載の集積回路。

30

【請求項63】

前記第1の電荷蓄積領域と前記第2の電荷蓄積領域とは、前記少なくとも1つの光検出領域が前記入射光子を受け取るように構成される光方向において異なる深さを有する、請求項62に記載の集積回路。

【請求項64】

前記少なくとも1つの光検出領域は、前記電荷キャリアを生成し前記電荷キャリアを前記第1の電荷蓄積領域および前記第2の電荷蓄積領域に転送するように構成された単一の光検出領域を備える、請求項63に記載の集積回路。

40

【請求項65】

前記少なくとも1つの光検出領域は、第1の電荷キャリアおよび第2の電荷キャリアをそれぞれ生成するように構成された第1の光検出領域および第2の光検出領域を備え、

前記第1の電荷蓄積領域は、前記第1の電荷キャリアを受け取るように構成されるとともに、前記第2の電荷蓄積領域は、前記第2の電荷キャリアを受け取るように構成される、請求項63に記載の集積回路。

【請求項66】

前記少なくとも1つの光検出領域と前記第1の電荷蓄積領域との間に配置された第1の電荷転送領域と、

前記少なくとも1つの光検出領域と前記第2の電荷蓄積領域との間に配置された第2の

50

電荷転送領域と、
をさらに備え

前記第1の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第2の電荷転送領域の上方または下方に配置される、請求項63に記載の集積回路。

【請求項67】

前記少なくとも1つの光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された第3の電荷転送領域を更に備え、

前記第3の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第1および／または第2の電荷転送領域の上方または下方に配置される、請求項66に記載の集積回路。

【請求項68】

前記少なくとも1つの光検出領域と前記少なくとも1つの電荷蓄積領域とを備えるピクセルであって、40ミクロン以下の面積を有する前記ピクセルをさらに備える、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項69】

前記入射光子に関する前記情報は、前記少なくとも1つの電荷蓄積領域に蓄積された前記電荷キャリアの1つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものであり、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項70】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバを取得するように構成された第1のコンポーネントを備える、請求項53または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項71】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバのうちの第1のメンバを取得するように構成された第1のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも3つのメンバのうちの第2のメンバを取得するように構成された第2のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバのうちの第2のメンバを取得するように構成された第3のコンポーネントと
を備える、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項72】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバのうちの第1のメンバおよび第2のメンバを取得するように構成された第1のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも3つのメンバのうちの第3のメンバを取得するように構成された第2のコンポーネントと

を備える、請求項53または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項73】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、

前記入射光子に関する情報であって、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも4つのメン

10

20

30

40

50

バを備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと、
を備える、集積回路。

【請求項74】

前記少なくとも1つのコンポーネントによって取得される前記情報は、発光寿命情報と、
波長情報と、強度情報と、パルス持続時間情報およびパルス間持続時間情報を備える群
から選択される1つのメンバとを備える、請求項73に記載の集積回路。

【請求項75】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、前記少なくとも1つのコンポーネントによっ
て取得される前記情報に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルを同定するようにさら
に構成される、請求項73または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路
。

10

【請求項76】

前記サンプルを同定することは、少なくとも1つの蛍光マーカを同定することを備え、
前記少なくとも1つのコンポーネントは、前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着してい
る少なくとも1つの分子を同定するようにさらに構成されている、請求項75に記載の集
積回路。

【請求項77】

前記少なくとも1つの分子を同定することは、少なくとも1つのアミノ酸を同定するこ
とを備える、請求項76に記載の集積回路。

【請求項78】

前記少なくとも1つの電荷蓄積領域は、第1の電荷蓄積領域および第2の電荷蓄積領域
を備え、前記第1の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはスペクトル情報を示し、前
記第2の電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアはタイミング情報を示す、請求項73ま
たは他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

20

【請求項79】

前記タイミング情報は発光寿命情報を備え、前記スペクトル情報は波長情報を備える、
請求項78に記載の集積回路。

【請求項80】

前記第1の電荷蓄積領域と前記第2の電荷蓄積領域とは、前記少なくとも1つの光検出
領域が前記入射光子を受け取るように構成される光学的方向において異なる深さを有する
、請求項79に記載の集積回路。

30

【請求項81】

前記少なくとも1つの光検出領域は、前記電荷キャリアを生成し前記電荷キャリアを前
記第1および第2の電荷蓄積領域に転送するように構成された単一の光検出領域を備える
、請求項80に記載の集積回路。

【請求項82】

前記少なくとも1つの光検出領域は、第1の電荷キャリアおよび第2の電荷キャリアを
それぞれ生成するように構成された第1の光検出領域および第2の光検出領域を備え、前
記第1の電荷蓄積領域は前記第1の電荷キャリアを受け取るように構成され、前記第2の
電荷蓄積領域は前記第2の電荷キャリアを受け取るように構成される、請求項80に記載
の集積回路。

40

【請求項83】

前記少なくとも1つの光検出領域と前記第1の電荷蓄積領域との間に配置された第1の
電荷転送領域と、
前記少なくとも1つの光検出領域と前記第2の電荷蓄積領域との間に配置された第2の電
荷転送領域と
をさらに備え、

前記第1の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第2の電荷転送領域の上方また
は下方に配置される、請求項80に記載の集積回路。

【請求項84】

50

前記少なくとも1つの光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された第3の電荷転送領域をさらに備え、

前記第3の電荷転送領域は、少なくとも部分的に、前記第1の電荷転送領域および／または前記第2の電荷転送領域の上方または下方に配置される、請求項83に記載の集積回路。

【請求項85】

前記少なくとも1つの光検出領域と前記少なくとも1つの電荷蓄積領域とを備えるピクセルであって、40ミクロン以下の面積を有する前記ピクセルをさらに備える、請求項73または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項86】

前記入射光子に関する前記情報は、前記少なくとも1つの電荷蓄積領域に蓄積された前記電荷キャリアの1つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものである、請求項73または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項87】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも4つのメンバを取得するように構成された第1のメンバを備える、請求項73または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項88】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも4つのメンバのうちの第1のメンバを取得するように構成された第1のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも4つのメンバのうちの第2のメンバ取得するように構成された第2のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも4つのメンバのうちの第3のメンバを取得するように構成された第3のコンポーネントと、

波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される前記少なくとも4つのメンバのうちの第4のメンバを取得するように構成された第4のコンポーネントとを備える、請求項73または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項89】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、

前記入射光子の情報であって、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備える、集積回路。

【請求項90】

前記入射光子に関する前記情報は、前記少なくとも1つの電荷蓄積領域に蓄積された前記電荷キャリアの1つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものである、請求項89に記載の集積回路。

【請求項91】

前記少なくとも1つのコンポーネントは、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える情報を取得するように構成された第1のコンポーネントを備える、請求項89または他の先行するいずれかの請求項に記載の

10

20

30

40

50

集積回路。

【請求項 9 2】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、
前記波長情報を取得するように構成された第 1 のコンポーネントと、
前記発光寿命情報を取得するように構成された第 2 のコンポーネントと、
前記強度情報を取得するように構成された第 3 のコンポーネントと、
前記パルス持続時間情報を取得するように構成された第 4 のコンポーネントと、
前記パルス間持続時間情報を取得するように構成された第 5 のコンポーネントと
を備える、請求項 8 9 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 9 3】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、
前記パルス持続時間情報および前記パルス間持続時間情報を取得するように構成された
第 1 のコンポーネントと、
前記発光寿命情報を取得するように構成された第 2 のコンポーネントと、
前記波長情報を取得するように構成された第 3 のコンポーネントと、
前記強度情報を取得するように構成された第 4 のコンポーネントと
を備える、請求項 8 9 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 9 4】

前記少なくとも 1 つのコンポーネントは、
前記発光寿命情報、前記パルス持続時間情報、および前記パルス間持続時間情報を取得
するように構成された第 1 のコンポーネントと、
前記波長情報を取得するように構成された第 2 のコンポーネントと、
前記強度情報を取得するように構成された第 3 のコンポーネントと
を備える、請求項 8 9 または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【請求項 9 5】

励起光に応答して放射光を発するサンプルに関する情報を決定するデバイスであって、
前記情報は、前記放射光のパルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から
選択される少なくとも 1 つのメンバと、前記放射光の波長、強度、および発光寿命の特性
を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバとを備える、前記デバイス。

【請求項 9 6】

前記情報は、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持
続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 3 つのメンバを備える、請求項 9 5 に
記載のデバイス。

【請求項 9 7】

前記情報は、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持
続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 4 つのメンバを備える、請求項 9 5 ま
たは他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項 9 8】

前記情報は、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持
続時間の特性を備える、請求項 9 5 または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイ
ス。

【請求項 9 9】

前記サンプルは少なくとも 1 つの蛍光マーカを備え、前記デバイスは前記情報に基づい
て前記少なくとも 1 つの蛍光マーカを同定するように構成される、請求項 9 5 または他の
先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項 1 0 0】

前記デバイスは、前記少なくとも 1 つの蛍光マーカが付着している少なくとも 1 つの分
子を同定するようにさらに構成されている、請求項 9 9 に記載のデバイス。

【請求項 1 0 1】

前記少なくとも 1 つの分子は、少なくとも 1 つのアミノ酸を備える、請求項 1 0 0 に記

10

20

30

40

50

載のデバイス。

【請求項 102】

励起光に応答して放射光を放射するサンプルを受けるサンプルウェルと、
前記放射光に応じた電荷キャリアを生成する光検出器と、
前記電荷キャリアの 1 つ以上の特性に少なくとも部分的に基づいて、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 3 つのメンバを決定する少なくとも 1 つのコンポーネントとを備えるデバイス。

【請求項 103】

前記コンポーネントは、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 3 つのメンバを決定するように更に構成される、請求項 102 に記載のデバイス。

10

【請求項 104】

前記コンポーネントは、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 4 つのメンバを決定するようにさらに構成されている、請求項 102 または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項 105】

前記コンポーネントは、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を決定するようにさらに構成される、請求項 102 または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

20

【請求項 106】

前記コンポーネントは、決定された特性に基づいて前記サンプルを同定するようにさらに構成されている、請求項 102 または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項 107】

前記サンプルは少なくとも 1 つの蛍光マーカを備え、前記サンプルを同定することは前記少なくとも 1 つの蛍光マーカを同定することを備える、請求項 106 に記載のデバイス。

【請求項 108】

前記コンポーネントは、前記少なくとも 1 つの蛍光マーカが付着している少なくとも 1 つの分子を同定するようにさらに構成される、請求項 107 に記載のデバイス。

30

【請求項 109】

前記少なくとも 1 つの分子は少なくとも 1 つのアミノ酸を備える、請求項 108 に記載のデバイス。

【請求項 110】

サンプルを励起光で励起すること、

前記励起光に応答して前記サンプルから放射される光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 3 つのメンバを決定すること
を備える方法。

40

【請求項 111】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも 1 つの追加メンバを決定することを更に備える、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を決定することをさらに備える、請求項 110 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 113】

50

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の決定された特性に基づいて、前記サンプルの少なくとも1つの蛍光マーカを同定することをさらに備える、請求項110または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項114】

前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子を同定することをさらに備える、請求項113に記載の方法。

【請求項115】

前記少なくとも1つの分子は少なくとも1つのアミノ酸を備える、請求項114に記載の方法。

【請求項116】

前記励起光に応答して前記サンプルから放射される光の決定された特性のうちの少なくとも2つに基づいて前記サンプルを同定することをさらに備える、請求項110または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項117】

サンプルを励起光で励起することと、

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射された光のパルス持続時間の特性を決定することと、

前記励起光に応答して前記サンプルから放射された光の波長、強度、寿命、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを決定することと

を備える方法。

【請求項118】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、およびパルス間持続時間の特性を備える群から、少なくとも1つの追加メンバを決定することをさらに備える、請求項117に記載の方法。

【請求項119】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、およびパルス間持続時間の特性を備える群から少なくとも2つの追加メンバを決定することをさらに備える、請求項117または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項120】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される波長、強度、寿命、およびパルス間持続時間の特性の各々を決定することを更に備える、請求項117または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項121】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の決定された特性に基づいて、前記サンプルの少なくとも1つの蛍光マーカを同定することをさらに備える、請求項117または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項122】

前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子を同定することをさらに備える、請求項121に記載の方法。

【請求項123】

前記少なくとも1つの分子は少なくとも1つのアミノ酸を備える、請求項122に記載の方法。

【請求項124】

サンプルを励起光で励起することと、

前記励起光に応答して前記サンプルから放射される光のパルス間持続時間の特性を決定することと、

前記励起光に応答して前記サンプルから放射される光の波長、強度、寿命、およびパルス持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを決定することとを備える方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 5】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、およびパルス持続時間の特性を備える群から少なくとも1つの追加メンバを決定することを更に備える、請求項 1 2 4 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、およびパルス持続時間の特性を備える群から少なくとも2つの追加メンバを決定することをさらに備える、請求項 1 2 4 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される波長、強度、寿命、およびパルス持続時間の特性の各々を決定することをさらに備える、請求項 1 2 4 または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

10

【請求項 1 2 8】

前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の決定された特性に基づいて、前記サンプルの少なくとも1つの蛍光マーカを同定することをさらに備える、請求項 1 2 4 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子を同定することをさらに備える、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記少なくとも1つの分子は少なくとも1つのアミノ酸を備える、請求項 1 2 9 に記載の方法。

20

【請求項 1 3 1】

励起光に応答して放射光を放射するサンプルに関する情報を、前記放射光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも3つのメンバに基づいて決定することを備える方法。

【請求項 1 3 2】

前記放射光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも4つのメンバに基づいて、前記サンプルに関する情報を決定することをさらに備える、請求項 1 3 1 に記載の方法。

30

【請求項 1 3 3】

前記放射光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性に基づいて、前記サンプルに関する情報を決定することをさらに備える、請求項 1 3 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

前記情報は、前記サンプル中の少なくとも1つの蛍光マーカのアイデンティティを備える、請求項 1 3 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

前記情報は、前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子のアイデンティティをさらに備える、請求項 1 3 4 に記載の方法。

40

【請求項 1 3 6】

前記少なくとも1つの分子は少なくとも1つのアミノ酸を備える、請求項 1 3 5 に記載の方法。

【請求項 1 3 7】

前記サンプルに関する情報を決定することは、前記放射光に応じて生成される1つ以上の電荷キャリアの1つ以上の特性に少なくとも部分的に基づくものである、請求項 1 3 1 または他の先行するいずれかの請求項に記載の方法。

【請求項 1 3 8】

サンプルを受け取るように構成された複数のサンプルウェルのうちの1つ以上のサンプルウェルからの放射光のパルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選

50

択される少なくとも1つのメンバと、前記放射光の波長、寿命、および強度の特性を備える群から選択される1つのメンバとを決定し、それら少なくとも2つの特性に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルに関する情報を決定するように構成される1つ以上のプロセッサを備えるデバイス。

【請求項139】

各サンプルウェルが励起光に応答して放射光を放射する前記サンプルを受け取るように構成されている複数のサンプルウェルと、

前記励起光を前記複数のサンプルウェルに導く導波管と、

複数のセンサであって、各センサが前記放射光に応じた電荷キャリアを生成するように構成されている、前記複数のセンサと

をさらに備える請求項138に記載のデバイス。

【請求項140】

前記1つ以上のプロセッサの少なくともいくつかは、前記複数のセンサから遠隔に配置される、請求項139に記載のデバイス。

【請求項141】

複数のサンプルウェルであって、各サンプルウェルが励起光に応答して放射光を放射するサンプルを受け取るように構成される、前記複数のサンプルウェルと、

前記励起光を前記複数のサンプルウェルに導く導波路と、

複数のセンサであって、前記複数のセンサの各センサが前記放射光に応じた電荷キャリアを生成するように構成されている、前記複数のセンサと、

前記複数のサンプルウェルのうちの1つ以上のサンプルウェルからの前記放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも3つのメンバを決定し、少なくとも2つの特性に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルに関する情報を決定するように構成される1つ以上のプロセッサと、を備えるデバイス。

【請求項142】

前記1つ以上のプロセッサは、前記1つ以上のサンプルウェルからの前記放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間および／またはパルス間持続時間の特性のうち少なくとも4つを決定するように構成される、請求項141に記載のデバイス。

【請求項143】

前記1つ以上のプロセッサは、前記1つ以上のサンプルウェルからの前記放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を決定するように構成される、請求項141または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項144】

前記サンプルに関する情報は、前記サンプル中の少なくとも1つの蛍光マーカのアイデンティティを備える、請求項141または他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項145】

前記サンプルに関する情報は、前記少なくとも1つの蛍光マーカが付着している少なくとも1つの分子のアイデンティティをさらに備える、請求項144に記載のデバイス。

【請求項146】

前記少なくとも1つの分子は少なくとも1つのアミノ酸を備える、請求項145に記載のデバイス。

【請求項147】

前記放射光の特性が、前記電荷キャリアの1つ以上の特性に少なくとも部分的に基づいて決定される、請求項141または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

【請求項148】

前記1つ以上のプロセッサの少なくともいくつかは、前記複数のセンサから遠隔に配置される、請求項141または任意の他の先行するいずれかの請求項に記載のデバイス。

10

20

30

40

50

【請求項 1 4 9】

サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記入射光子に関する情報であって、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される3つの特性または4つの特性または5つの特性を備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと

を備えるデバイス。

【請求項 1 5 0】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される3つのメンバまたは4つのメンバまたは5つのメンバを備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと

を備え、

前記少なくとも1つのコンポーネントは、各々が、前記パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される前記3つのメンバまたは前記4つのメンバまたは前記5つのメンバのうちの、異なる1つを取得するように構成される複数のコンポーネントから構成される、

集積回路。

【請求項 1 5 1】

前記複数のコンポーネントは複数のプロセッサを備える、請求項 1 5 0 に記載の集積回路。

【請求項 1 5 2】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される3つの特性または4つの特性または5つの特性を備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと

を備え、

前記少なくとも1つのコンポーネントは、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される3つのまたは4つのまたは5つのメンバの各々を取得するように構成される第1のコンポーネントを備える、

集積回路。

【請求項 1 5 3】

前記第1のコンポーネントはプロセッサを備える、請求項 1 5 2 に記載の集積回路。

【請求項 1 5 4】

サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、

前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される3つの特性または4つの特性または5つの特性を備える前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと

を備え、前記少なくとも1つのコンポーネントは、

パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択されるメンバのうち少なくとも2つを取得するように構成された第1のコンポーネントと、

10

20

30

40

50

パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを取得するように構成される第2のコンポーネントとを備え、

前記第2のコンポーネントによって取得される前記少なくとも1つのメンバは、前記第1のコンポーネントによって取得される前記少なくとも2つのメンバと異なる、集積回路。

【請求項155】

前記第1のコンポーネントは第1のプロセッサを備え、前記第2のコンポーネントは第2のプロセッサを備える、請求項154に記載の集積回路。

【請求項156】

記第1のコンポーネントによって取得される前記少なくとも2つのメンバの少なくとも1つは、パルス持続時間情報またはパルス間持続時間情報を備える、請求項154または他の先行するいずれかの請求項に記載の集積回路。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、何万ものサンプルウェルに対して同時に短光パルスを提供しサンプルウェルからサンプル分析用の蛍光信号を受け取ることによって、サンプルの超並列分析を行うことのできる集積デバイスおよびそれに関連する機器に関する。当該機器はポイント・オブ・ケア遺伝学的シーケンシングや個人化医療に有用であり得る。

【背景技術】

【0002】

様々な用途で光を検出するのに光検出器が使用される。入射光の強度を示す電気信号を生成する集積型光検出器が開発されている。撮像用途の集積型光検出器は、シーン全体から受光した光の強度を検出するピクセルアレイを含む。集積型光検出器の例には、電荷結合素子（CCD）イメージセンサや相補型金属酸化膜半導体（CMOS）イメージセンサが含まれる。

【0003】

生物学的サンプルや化学的サンプルを超並列分析できる機器は、大きなサイズ、可搬性の欠如、当該機器を操作する熟練技術者の要求、電力の必要性、制御された操作環境の必要性、コストといった理由から、一般に研究室での使用に限定されている。このような機器を使用してサンプルを分析する場合、臨床でまたは現場でサンプルを抽出し、そのサンプルを研究室に送り、分析結果を待つのが一般的なパラダイムである。結果を待つ時間は、数時間から数日の幅がある。

【発明の概要】

【0004】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報が、パルス持続時間（pulse duration）情報および／またはパルス間持続時間（interpulse duration）情報のうちの少なくとも1つと、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される少なくとも1つのメンバとを含む、集積回路に関する。

【0005】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子の情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報が

10

20

30

40

50

、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス時間情報、およびパルス間時間情報のうちの少なくとも3つの情報を含む、集積回路に関する。

【0006】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報が、パルス間持続時間情報と、波長情報、発光寿命情報、強度情報、およびパルス持続時間情報を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを含む、集積回路に関する。

10

【0007】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報が、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも3つのメンバを含む、集積回路に関する。

【0008】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報が、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される少なくとも4つのメンバを含む、集積回路に関する。

20

【0009】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記光検出領域から前記電荷キャリアを受け取るように構成された少なくとも1つの電荷蓄積領域と、前記入射光子に関する情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備え、前記情報は、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を含む、集積回路に関する。

30

【0010】

本開示のいくつかの態様は、励起光に応答して放射光を発するサンプルに関する情報を決定するデバイスに関し、前記情報は、前記放射光のパルス持続時間特性およびパルス間持続時間特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバと、前記放射光の波長、強度、および発光寿命特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバとを含む。

【0011】

本開示のいくつかの態様は、励起光に応答して放射光を放射するサンプルを受けるサンプルウェルと、前記放射光に応じた電荷キャリアを生成する光検出器と、前記電荷キャリアの1つ以上の特性に基づいて、前記放射光の波長、強度、発光寿命、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも2つのメンバを決定するコンポーネントと、を備えるデバイスに関する。

40

【0012】

本開示のいくつかの態様は、サンプルを励起光で励起すること、および前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも3つのメンバを決定する方法に関する。

【0013】

本開示のいくつかの態様は、サンプルを励起光で励起すること、前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光のパルス持続時間の特性を決定すること、および、前

50

記励起光に応答して前記サンプルによって放射される前記光の波長、強度、寿命、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを決定すること、を備える方法に関する。

【0014】

本開示のいくつかの態様は、サンプルを励起光で励起すること、前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される光のパルス間持続時間の特性を決定すること、および、前記励起光に応答して前記サンプルによって放射される前記光の波長、強度、寿命、およびパルス持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバを決定すること、を備える方法に関する。

【0015】

本開示のいくつかの態様は、励起光に応答して放射光を放射するサンプルに関する情報を、前記放射光の波長、強度、寿命、パルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも3つのメンバに基づいて決定することを備える方法に関する。

【0016】

本開示のいくつかの態様は、複数のサンプルウェルの各サンプルウェルが励起光に反応して放射光を放射するサンプルを受け取るように構成された前記複数のサンプルウェルと、前記励起光を前記複数のサンプルウェルに導く導波路と、複数のセンサの各センサが前記放射光に応じた電荷キャリアを生成するように構成された前記複数のセンサと、前記放射光のパルス持続時間およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも1つのメンバと、前記複数のサンプルウェルの1つ以上のサンプルウェルからの前記放射光の波長、寿命、および強度の特性を備える群から選択される1つのメンバとを決定し、それら少なくとも2つの特性に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルに関する情報を決定するように構成される1つ以上のプロセッサと、を備えるデバイスに関する。

【0017】

本開示のいくつかの態様は、複数のサンプルウェルの各サンプルウェルが、励起光に反応して放射光を放射するサンプルを受け取るように構成される、前記複数のサンプルウェルと、前記励起光を前記複数のサンプルウェルに導く導波路と、複数のセンサの各センサが前記放射光に応じた電荷キャリアを生成するように構成された前記複数のセンサと、前記複数のサンプルウェルのうちの1つ以上のサンプルウェルからの前記放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の特性を備える群から選択される少なくとも3つのメンバを決定するように、および、前記少なくとも2つの特性に少なくとも部分的に基づいて前記サンプルに関する情報を決定するように構成される1つ以上のプロセッサと、を備えるデバイスに関する。

【0018】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記入射光子に関する情報であって、波長情報、発光寿命情報、強度情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を備える群から選択される3つの特性または4つの特性または5つの特性を含む前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントと、を備えるデバイスに関する。

【0019】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射される入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも1つの光検出領域と、前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される3つのメンバまたは4つのメンバまたは5つのメンバを含む前記情報を取得するように構成された少なくとも1つのコンポーネントとを備える集積回路であって、前記少なくとも1つのコンポーネントが、複数のコンポーネントを備えており、前記複数のコンポーネントの各々は、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される前記3つのメ

10

20

30

40

50

ンバまたは前記 4 つのメンバまたは前記 5 つのメンバのうちの、異なる 1 つを取得するように構成されている、前記集積回路に関する。

【0020】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも 1 つの光検出領域と、前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される 3 つの特性または 4 つの特性または 5 つの特性を含む前記情報を取得するように構成された少なくとも 1 つのコンポーネントと、を備え、前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される前記 3 つのメンバまたは前記 4 つのメンバまたは前記 5 つのメンバの各々を取得するように構成される第 1 コンポーネントを含む、集積回路に関する。

10

【0021】

本開示のいくつかの態様は、サンプルから放射された入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された少なくとも 1 つの光検出領域と、前記入射光子に関する情報であって、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される 3 つの特性または 4 つの特性または 5 つの特性を含む前記情報を取得するように構成された少なくとも 1 つのコンポーネントとを備える集積回路であって、前記少なくとも 1 つのコンポーネントが、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択されるメンバのうち少なくとも 2 つを取得するように構成された第 1 コンポーネントと、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、波長情報、発光寿命情報、および強度情報を備える群から選択される少なくとも 1 つのメンバを取得するように構成される第 2 のコンポーネントとを含んでおり、前記第 2 のコンポーネントによって取得される前記少なくとも 1 つのメンバが、前記第 1 コンポーネントによって取得される前記少なくとも 2 つのメンバと異なる、前記集積回路に関する。

20

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図 1-1 A】いくつかの実施形態による集積デバイスの概略図。

【図 1-1 B】いくつかの実施形態による集積デバイスのピクセルの図。

30

【図 1-1 C】いくつかの実施形態による図 1-B のピクセルの回路図。

【図 1-1 D】いくつかの実施形態による、図 1-1 B および図 1-1 C のピクセルの平面図。

【図 1-2 A】いくつかの実施形態による、異なる減衰特性を有する 2 つの異なるフルオロフォアについての放射確率曲線の図。

【図 1-2 B】いくつかの実施形態による、蛍光放射の時間ビンング検出を示す図。

【図 1-2 C】いくつかの実施形態による、時間ビンング光検出器を示す図。

【図 1-2 D】いくつかの実施形態による、サンプルからの蛍光放射のパルス励起および時間ビンング検出を示す図。

【図 1-2 E】いくつかの実施形態による、サンプルを繰り返しパルス励起した後の様々な時間ビンにおける蓄積蛍光光子カウントのヒストグラムを示す図。

40

【図 2-1】いくつかの実施形態による、時間ゲート電荷蓄積領域と、光検出領域を介して光源から入射光子を受け取るように構成された直接励起電荷蓄積領域とを有する例示的なピクセルの側面図。

【図 2-2】いくつかの実施形態による、時間ゲート電荷蓄積領域と、光検出領域を介して光源から入射光子を受け取るように構成された直接励起電荷蓄積領域とを有する代替的な例示的なピクセルの側面図。

【図 2-3】いくつかの実施形態による、時間ゲート電荷蓄積領域と、光源から入射光子を受け取るように構成された直接励起電荷蓄積領域と、前記直接励起電荷蓄積領域を介して前記入射光子の少なくともいくつかを受け取るように構成された光検出領域とを有する

50

例示的なピクセルの側面図。

【図 2-4】いくつかの実施形態による、深さが異なる 2 つの光検出領域と 2 つの時間ゲート式電荷蓄積領域とを有する例示的なピクセルの側面図。

【図 2-5】いくつかの実施形態による、深さが異なる 3 つの光検出領域を有する例示的なピクセルの側面図。

【図 3-1 A】いくつかの実施形態による、1 つの光検出領域と 4 つの電荷蓄積領域とを有する例示的なピクセルの上面図。

【図 3-1 B】いくつかの実施形態による、図 3-1 A のピクセルの一部分の断面図。

【図 3-2 A】いくつかの実施形態による、1 つの光検出領域と 6 つの電荷蓄積領域とを有する例示的なピクセルの上面図。

【図 3-2 B】いくつかの実施形態による、図 3-2 A のピクセルの一部分の断面図。

【図 3-3 A】いくつかの実施形態による、1 つの光検出領域と 2 つの電荷蓄積領域とを有する例示的なピクセルの上面図。

【図 3-3 B】いくつかの実施形態による、図 3-3 A のピクセルの一部分の断面図。

【図 3-3 C】いくつかの実施形態による、図 3-3 A のピクセルの一部の代替断面図。

【図 3-4】いくつかの実施形態による、一方の電荷蓄積領域が光遮蔽を有する 2 つの電荷蓄積領域を有する例示的なピクセルの側面図。

【図 4-1】いくつかの実施形態による、1 つの光学的選別要素、2 つの光検出領域、および 2 つの時間ゲート式電荷蓄積領域を有する例示的なピクセルの側面図。

【図 4-2】いくつかの実施形態による、1 つの光学的選別要素、2 つの光検出領域、および 2 つの時間ゲート式電荷蓄積領域を有する代替的な例示的なピクセルの側面図。

【図 4-3 A】いくつかの実施形態による、分析中のサンプル分子の特徴的パルスパターンの非限定的な例である。

【図 4-3 B】いくつかの実施形態による、分析中のサンプル分子の特徴的パルスパターンの非限定的な例である。

【図 4-3 C】いくつかの実施形態による、分析中のサンプル分子の特徴的パルスパターンの非限定的な例である。

【図 4-3 D】いくつかの実施形態による、分析中のサンプル分子の特徴的パルスパターンの非限定的な例である。

【図 4-3 E】いくつかの実施形態による、分析中のサンプル分子の特徴的パルスパターンの非限定的な例である。

【図 4-4】いくつかの実施形態による、多次元弁別技術について収集されたデータの一例を示す図。

【図 5-1 A】いくつかの実施形態による集積デバイスおよび機器のブロック図。

【図 5-1 B】いくつかの実施形態による集積デバイスを含む装置の概略図。

【図 5-1 C】いくつかの実施形態による小型モードロックレーザーモジュールを含む分析機器を示すブロック図。

【図 5-1 D】分析機器に組み込まれたいくつかの実施形態による小型モードロックレーザーモジュールを示す図。

【図 5-2】いくつかの実施形態による光パルストレインを示す図。

【図 5-3】いくつかの実施形態による 1 つ以上の導波路を介してパルスレーザーによって光学的に励起させることができる平行な反応チャンバの例を示す図。

【図 5-4】いくつかの実施形態による導波路からの反応チャンバの光励起を示す図。

【図 5-5】いくつかの実施形態による、集積された反応チャンバ、光導波路および時間ビン光検出器のさらなる詳細を示す図。

【図 5-6】反応チャンバ内で生じ得るいくつかの実施形態による生物学的反応の例を示す図。

【図 5-7】いくつかの実施形態による、異なる減衰特性を有する 2 つの異なるフルオロフォアの放射確率曲線を示す図。

【図 5-8】いくつかの実施形態による、蛍光放射の時間ビン検出を示す図。

10

20

30

40

50

【図 5-9】いくつかの実施形態による、時間ビンング光検出器を示す図。

【図 5-10A】いくつかの実施形態による、パルス励起およびサンプルからの蛍光放射の時間ビンングでの検出を示す図。

【図 5-10B】いくつかの実施形態による、サンプルを繰り返しパルス励起した後の、様々な時間ビンにおける蓄積した蛍光光子カウントのヒストグラムを示す図。

【図 5-11】図 5-11A は、いくつかの実施形態による、ヌクレオチド (T) またはヌクレオチド類似体に対応する可能性があるヒストグラムを示し、図 5-11B は、いくつかの実施形態による、ヌクレオチド (A) またはヌクレオチド類似体に対応する可能性があるヒストグラムを示し、図 5-11C は、いくつかの実施形態による、ヌクレオチド (C) またはヌクレオチド類似体に対応する可能性があるヒストグラムを示し、図 5-11D は、いくつかの実施形態による、ヌクレオチド (G) またはヌクレオチド類似体に対応する可能性があるヒストグラムを示す図。

10

【図 5-12】アミノ酸を同定するための三次元弁別技術を示す例示的なグラフ。

【図 5-13】いくつかの実施形態による、エドマン分解による、標識付けされたポリペプチドのシーケンシング方法を示すフロー図。

【図 5-14】いくつかの実施形態による、個別の結合事象が信号出力のシグナルパルスを生じさせるシーケンシングの方法を示すとともに、信号出力を示すグラフを含むフロー図。

【発明を実施するための形態】

【0023】

20

本発明の特徴および利点は、図面とともに、以下に記載される詳細な説明からより明かになり得る。図面を参照して実施形態を説明するとき、方向の言及（「上」、「下」、「頂部」、「底部」、「左」、「右」、「水平」、「垂直」等）を使用することがある。このような参照は、通常の向きで図面を見る読者の助けとなることのみが意図される。これらの方向の言及は具現化されるデバイスの特徴部の好適な向きまたは唯一の向きを記述することを意図するわけではない。デバイスは他の向きを使用しても具現化することができる。

【0024】

（詳細な説明）

【I. 序論】

30

本開示の態様は、単一の分子の同定および核酸シーケンシングを含む、サンプルを並列に分析可能な集積デバイス、機器および関連するシステムに関する。そのような機器は、コンパクトであり、持ち運びが容易であり、操作が容易なものとすることができ、医師または他の提供者が機器を容易に使用すること、および、機器をケアが必要になり得る所望の場所まで輸送することを可能にする。サンプルの分析は、1つ以上の蛍光マーカでサンプルを標識付けすることを含むことができ、これは、サンプルを検出するおよび／またはサンプルの単一の分子を同定する（例えば、核酸シーケンシングの一部として個々のヌクレオチドを同定する）ために使用することができる。蛍光マーカは、励起光（例えば、蛍光マーカを励起して励起状態にすることができる特徴的な波長を有する光）で蛍光マーカを照らすことに反応して、励起されることができ、蛍光マーカが励起されると、放射光（例えば、励起状態から基底状態に戻ることににより蛍光マーカによって放射される特徴的な波長を有する光）を放射することができる。放射光の検出は、蛍光マーカの同定、したがって、蛍光マーカによって標識付けされるサンプルまたはサンプルの分子の同定を可能にすることができる。いくつかの実施形態によると、機器は、超並列サンプル分析を可能とすることができ、何万ものサンプルをより同時的に取り扱うように構成することができる。

40

【0025】

本発明者らは、集積デバイスであって、サンプルを受け取るように構成されたサンプルウェル、および、集積デバイス上に形成される集積される光学系を有する集積デバイス、ならびに、集積デバイスとインターフェースするように構成された機器を使用して、この

50

数のサンプルの分析を達成することができると認識および理解している。機器は、1つ以上の励起光源を含むことができ、集積デバイスは、集積デバイス上に形成される集積される光学コンポーネント（例えば、導波路、光カプラ、光学スプリッタ）を使用して励起光がサンプルウェルに送達されるように、機器とインターフェースすることができる。光学コンポーネントは、集積デバイスのサンプルウェル間の照射の均一性を改善することができ、あるいは、必要となり得る多数の外部の光学コンポーネントを減らし得る。さらに、本発明者らは、集積デバイス上に光検出器（例えば、フォトダイオード）を集積させることによって、サンプルウェルからの蛍光放射の検出効率を高め、他の場合は必要となり得る集光コンポーネントの数を減らし得ると認識および理解している。

【0026】

本発明者らは、サンプルウェルからの蛍光放射の特定の特性が、多くの用途に使用するために測定および解析され得ることを更に認識している。例えば、放射光の特定の特性は、DNA、RNA、および／またはタンパク質のシーケンシングといった、遺伝学的シーケンシング用途を便利にすることができる、分析しているサンプルの同定（例えば、蛍光マーカの同定）を可能にし得る。放射光の強度、波長、寿命、パルス持続時間、パルス間持続時間およびそれらの任意の組み合わせに関する情報を含む放射光の多数個の特性を、化学的または生物学的サンプルを分析するための多次元弁別技術を可能にするために取得し得る。いくつかの実施形態では、デバイスは、分析中の1つ以上のサンプルの2次元、3次元、4次元、および5次元の弁別技術を可能にするために、放射光の特性に関する測定値を取得するように構成される。

【0027】

例えば、本発明者らは、サンプルウェルから放射される入射光の波長などのスペクトル情報を取得するための技術を開発した。例えば、いくつかの態様において、ピクセルは、光源からの入射光子に応じて生成された電荷キャリアを受け取るように構成された1つ以上の電荷蓄積領域を含むことができ、当該電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアがスペクトル情報およびタイミング情報を示す。一例では、2つの電荷蓄積領域は、異なる波長の入射光に応じて生成された電荷キャリアを受け取り、当該入射光のパワースペクトル密度の差がそれら電荷蓄積領域内の蓄積電荷に示されるようにしてよい。それに代えてまたは加えて、いくつかの態様において、ピクセルは、各々が入射光子に応じた電荷キャリアを生成するように構成された、深さの異なる複数の領域を含んでもよい。例えば、一例では、そのピクセルは、異なる波長の複数の入射光子に応じて複数の異なる光検出領域において電荷キャリアが生成されるように、（例えば、光軸に沿った）異なる深さを有する2つ以上の光検出領域を含んでもよい。それに代えてまたは加えて、いくつかの態様において、ピクセルは、深さが異なる複数の電荷蓄積領域を含んでもよく、当該電荷蓄積領域の1つ以上は、入射光子を受け取るとともに電荷キャリアを生成するように構成され得る。当該電荷蓄積領域のうちの別のものは、当該ピクセルの光検出領域において生成された電荷キャリアを受け取るように構成され得る。いくつかの態様では、それに代えてまたは加えて、ピクセルは、少なくとも一部の入射光子を1つの電荷蓄積領域に向けて方向づける（direct）とともに他の入射光子を別の電荷蓄積領域に向けて方向づけるように構成された光学的選別要素を含んでもよい。例えば、一例では、光学的選別要素は、少なくとも部分的に屈折、回折、散乱、および／またはプラズモン素子を含んでもよい。本発明者らは、波長情報が、2次元、3次元、4次元および／または5次元の弁別的サンプル分析技術のいくつかの実施形態において1つの弁別度（one degree of discrimination）として使用され得ると認識している。

【0028】

さらに、本発明者らは、分析中のサンプルについての寿命、パルス持続時間、パルス間持続時間、および強度情報を別々におよび任意の組み合わせで取得する方法を開発した。特に、時間ゲート技術は、分析中のサンプルからの放射についての蛍光寿命、パルス幅／パルス持続時間、および／またはパルス間持続時間の測定値を取得するために使用され得る。いくつかの実施形態では、放射光の強度に関する1つ以上の測定値は、1つ以上の電

荷蓄積領域において入射光子によって生成された電荷キャリアを収集し定量化することによって取得される。本発明者らは、このような蛍光寿命、パルス持続時間、パルス間持続時間、および／または強度情報が、波長情報に加えてまたは代えて、２次元、３次元、４次元および／または５次元の弁別的サンプル分析技術のいくつかの実施形態における弁別度として使用され得ると認識している。例えば、２次元弁別技術では、サンプル弁別は、例えば波長と強度との組み合わせ、寿命と強度との組み合わせなど、組み合わせ使用される任意の２種類の情報に基づくことができる。また、３次元弁別技術では、サンプル弁別は、波長と寿命と強度との組み合わせなど、任意の３種類の情報を組み合わせに基づいて行うことができる。同様に、４次元弁別技術は４種類の情報の組み合わせに基づいて行うことができ、５次元弁別技術は５種類の情報の組み合わせに基づいて行うことができる。

10

【００２９】

したがって、本発明者らは、サンプルからの放射光の波長、寿命、パルス持続時間、パルス間持続時間、および強度の情報および／または任意の他の適切な特性を取得するための本明細書に記載の技術が、本明細書に記載の特性の任意の組み合わせを使用する生物学的または化学的サンプルの多次元解析を便利にするために使用され得ると認識している。いくつかの実施形態では、多次元解析は、放射光が収集および分析される特定のサンプルを同定するために、例えば、特定のアミノ酸または特定のヌクレオチドを同定するために使用され得る。本発明者らは、サンプルの多次元解析が、一次元解析とは対照的に、より正確な分子の同定を提供し得ると認識している。さらに、より多くの次元を使用する技術は、解析用の次元がより少ない技術と比較して、より正確な分子の同定を行い得る。

20

【００３０】

いくつかの実施形態では、サンプルに関連する放射光の特性に基づいてサンプルを分析し同定するために２次元弁別技術が使用される。そのような２次元技術において、例えば、寿命情報と波長情報、および／または波長情報と強度情報といった、任意の適切な特性グループ分けを使用し得る。いくつかの実施形態では、サンプルを分析し同定するために、例えば、波長情報と寿命情報と強度情報を用いたり、波長情報、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、および寿命情報を用いたり、および／または任意の他の適切な特性グループ分けを用いる、３次元弁別技術が使用される。いくつかの実施形態では、サンプルを分析および同定するために、例えば、分析中のサンプルに関連する収集された放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の情報を使用する４次元弁別技術が使用される。いくつかの実施形態では、集積デバイスは、超並列サンプル分析のために構成されており、したがって、一度に大量のサンプルを分析および同定するために多次元分析技術が使用され得る。

30

【００３１】

本明細書に記載される集積デバイスは、本明細書に記載した技術のいずれかまたはすべてを単独でまたは組み合わせで組み込むことができることを理解されたい。

【ＩＩ．集積デバイスの概要】

本明細書に記載される多次元信号解析技術は、いくつかの実施形態では、図１－１Ａに示した集積デバイス１－１０２などの集積デバイスを使用して実装され得る。ピクセル１－１１２の列を示す集積デバイス１－１０２の断面概略図が図１－１Ａに示されている。集積デバイス１－１０２は、結合領域１－２０１、ルーティング領域１－２０２およびピクセル領域１－２０３を含むことができる。ピクセル領域１－２０３は、励起光（破線の矢印として示されている）が集積デバイス１－１０２に結合する箇所である結合領域１－２０１から離れた位置の表面に位置するサンプルウェル１－１０８を有する複数のピクセル１－１１２を含むことができる。サンプルウェル１－１０８は、一または複数であり得る金属層１－１０６を貫通して形成することができる。点線の矩形によって示されている１つのピクセル１－１１２は、サンプルウェル１－１０８と、１つ以上の光検出器１－１１０を含む光検出領域とを含む、集積デバイス１－１０２の一領域である。

40

【００３２】

50

図1-1Aは、励起光のビームを結合領域1-201およびサンプルウェル1-108に結合することによる励起経路（破線）を示す。図1-1Aにおいて示されているサンプルウェル1-108の列は、導波路1-220と光学的に結合するように位置し得る。励起光は、サンプルウェル内に位置付けられるサンプルを照明し得る。サンプルは、励起光によって照明されることに応答して励起状態に達し得る。サンプルが励起状態にある場合、サンプルは放射光を放射することができ、この放射光は、そのサンプルウェルに関連付けられた1つ以上の光検出器によって検出されることができる。図1-1Aは、サンプルウェル1-108から、ピクセル1-112の光検出器1-110への放射光OPTの光軸を概略的に示す。ピクセル1-112の光検出器1-110は、サンプルウェル1-108からの放射光を検出するように構成および位置することができる。好適な光検出器の例は、「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」と題する米国特許出願第14/821,656号（2015年8月7日出願、代理人管理番号R0708.70002US02）に記載されており、参照によりその全体が援用される。個々のピクセル1-112について、サンプルウェル1-108およびそのそれぞれの光検出器1-110は、（図1-1Aに示したY方向に沿った）共通軸線に沿って整列されることができる。このように、光検出器は、ピクセル1-112内でサンプルウェルと重なることができる。

10

【0033】

サンプルウェル1-108からの放射光の指向性は、金属層1-106が放射光を反射するように作用し得るため、金属層1-106に対するサンプルウェル1-108内のサンプルの位置に依存し得る。このように、金属層1-106とサンプルウェル1-108内に位置する蛍光マーカとの間の距離は、蛍光マーカによって放射される光を検出するための、サンプルウェルと同じピクセル内にある光検出器1-110の効率に影響を与える可能性がある。金属層1-106と、動作中にサンプルが位置し得る場所に近接するサンプルウェル1-106の底面との間の距離は、100nm～500nmの範囲、またはその範囲内における任意の範囲内の値であり得る。いくつかの実施形態において、金属層1-106とサンプルウェル1-106の底面との間の距離は、およそ300nmである。

20

【0034】

サンプルと光検出器との間の距離も、放射光を検出する効率に影響を与える可能性がある。光がサンプルと光検出器との間を移動しなければならない距離を減らすことによって、放射光の検出効率を改善することができる。加えて、サンプルと光検出器との間の距離を小さくすると、集積デバイスに占めるピクセルの設置面積小さくすることを可能にすることができる。サンプルウェル1-106の底面と光検出器との間の距離は、5μm～15μmの範囲、またはその範囲内における任意の範囲内の値であり得る。いくつかの実施形態においては、放射光は励起光源およびサンプルウェル以外の手段によって提供できることを理解されたい。したがって、いくつかの実施形態はサンプルウェル1-108を含まなくてもよい。

30

【0035】

フォトニック構造1-230は、サンプルウェル1-108と光検出器1-110との間に位置することができる。励起光が光検出器1-110に到達することを低減または防止するように構成することができる。そうでない場合、励起光は放射光を検出する際の信号ノイズの一因となることがある。図1-1Aに示すように、1つ以上のフォトニック構造1-230は、導波路1-220と光検出器1-110との間に位置することができる。フォトニック構造1-230は、スペクトルフィルタ、偏光フィルタおよび空間フィルタを含む1つ以上の光除去フォトニック構造を含むことができる。フォトニック構造1-230は、共通の軸に沿って個々のサンプルウェル1-108およびそれらのそれぞれの光検出器1-110と位置合わせされるように位置することができる。集積デバイス1-102用の回路として働き得る金属層1-240も、いくつかの実施形態によると、空間フィルタ、または偏光フィルタとして作用することができる。そのような実施形態において、

40

50

1つ以上の金属層1-240は、いくつかまたはすべての励起光が光検出器1-110に到達するのをブロックするように位置することができる。

【0036】

結合領域1-201は、外部の励起源からの励起光を結合するように構成された1つ以上の光学コンポーネントを含むことができる。結合領域1-201は、励起光のビームのいくつかまたはすべてを受け取るように位置する格子カプラ1-216を含むことができる。好適な格子カプラの例は、「OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM」と題する米国特許出願第15/844,403号(2017年12月17日出願、代理人管理番号R0708.70021US01)に記載されており、参照によりその全体が本明細書に援用される。格子カプラ1-216は、励起光を導波路1-220に結合することができ、該導波路は、励起光を1つ以上のサンプルウェル1-108の近傍に伝播するように構成することができる。それに代えて、結合領域1-201は、光を導波路内に結合する他の既知の構造を備えることができる。

10

【0037】

集積デバイスの外に位置付けられるコンポーネントを使用して、励起源1-106を集積デバイスに配置および位置合わせすることができる。そのようなコンポーネントは、レンズ、鏡、プリズム、ウィンドウ、アパーチャ、減衰器および/または光ファイバーを含む光学コンポーネントを含むことができる。付加的な機械的なコンポーネントを、1つ以上の位置合わせコンポーネントの制御を可能にするために機器に含めることができる。そのような機械的なコンポーネントは、アクチュエータ、ステッパモータおよび/またはノブを含むことができる。好適な励起源および位置合わせ機構の例は、「PULSED LASER AND SYSTEM」と題する米国特許出願第15/161,088号(2016年5月20日出願、代理人管理番号R0708.70010US02)に記載されており、参照によりその全体が本明細書に援用される。ビームステアリングモジュールの別の例は、「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」と題する米国特許出願第15/842,720号(2017年12月14日出願、代理人管理番号R0708.70024US01)に記載されており、参照によりその全体が本明細書に援用される。

20

【0038】

分析されるサンプルは、ピクセル1-112のサンプルウェル1-108内に導入することができる。サンプルは、生物サンプル、または、化学的サンプルなどの任意の他の好適なサンプルであり得る。サンプルは複数の分子を含むことができ、サンプルウェルは単一の分子を分離するように構成することができる。いくつかの例においては、サンプルウェルの寸法は、単一の分子をサンプルウェル内に閉じ込めるように作用することができ、測定を単一の分子に対して行うことを可能にする。励起光は、サンプル、またはサンプルに付けられるか、もしくはサンプルウェル1-108内の照射エリア内にある間にサンプルに別様に関連付けられる少なくとも1つの蛍光マーカを励起するように、サンプルウェル1-108内に送達されることができる。

30

【0039】

動作時、サンプルウェル内のサンプルの並列な分析を、励起光を使用してウェル内のサンプルのいくつかまたはすべてを励起し、サンプル放射からの信号を光検出器で検出することによって行う。サンプルからの放射光は、対応する光検出器によって検出されることができ、少なくとも1つの電気信号に変換されることができる。放射光の様々な特性(例えば、波長、蛍光寿命、強度、パルス持続時間および/または他の適切な特性)に関する情報を収集するとともに本明細書に記載するように後続の分析に利用し得る。その電気信号は、集積デバイスとインターフェース接続された機器に接続され得る集積デバイスの回路内の導電線(例えば、金属層1-240)を伝って伝送され得る。その電気信号は、その後、処理および/または分析され得る。電気信号の処理または分析は、機器上にまたは機器から離れて位置付けられる好適なコンピューティングデバイスにおいて行うことができる。

40

50

【0040】

図1-1Bは、集積デバイス1-102のピクセル1-112の断面図を示す。ピクセル1-112は、ピン止めフォトダイオード（PPD）であり得る光検出領域と、蓄積ダイオード（SDO）であり得る電荷蓄積領域とを含む。ピクセル1-112の動作中、励起光はサンプルウェル1-108を照明し、サンプルからの蛍光放射を含む入射光子を光軸OPTに沿って光検出領域PPDに流すことができる。転送ゲートTGOが光検出領域PPDと蓄積領域SDOとの間の半導体領域に第1の電気バイアスを誘導すると、その半導体領域内に転送経路が形成され得る。入射した光子によって光検出領域PPDにおいて生成された電荷キャリア（例えば、光電子）は、転送経路に沿って蓄積領域SDOに流ることができる。いくつかの実施形態において、第1の電気バイアスは、サンプルからの電荷キャリアが選択的に蓄積領域SDOに向けて方向づけられるビニング期間中に印加され得る。あるいは、転送ゲートTGOが光検出領域PPDと蓄積領域SDOとの間の半導体領域に第2の電気バイアスを提供するとき、光検出領域PPDからの電荷キャリアが転送経路に沿って蓄積領域SDOに到達することがブロックされ得る。例えば、いくつかの実施形態では、ドレインゲートREJは、サンプルからの蛍光放射光子が光検出領域PPDに到達する前の除去期間中などの、励起光によって光検出領域PPDにおいて生成されたノイズ電荷キャリアを光検出領域PPDおよび蓄積領域SDOから引き離すためのチャネルをドレインDへ提供し得る。いくつかの実施形態では、読み出し期間中、転送ゲートTGOは第2の電気バイアスを提供するとともに、転送ゲートTXOは、処理のために、蓄積領域SDOに蓄積された電荷キャリアを浮遊拡散（FD）領域であり得る読み出し領域へ流すように電気バイアスを提供し得る。様々な実施形態に従って、本明細書に記載される転送ゲートは、複数であり得る半導体材料および／または金属を含んでよく、電界効果トランジスタ（FET）のゲートや、バイポーラ接合トランジスタ（BJT）のベースや、および／または同様のものを含んでよいと理解される。

10

20

【0041】

いくつかの実施形態では、ピクセル1-112の動作は、1つ以上の除去期間（例えば、ドレイン期間）と1つ以上の収集期間とを含んでもよい。一例では、励起光源の1つ以上のパルスに応じたピクセル1-112の動作は、その光源からの励起光子に応じてピクセル1-112において（例えば、光検出領域PPDにおいて）生成された電荷キャリアを廃棄するなどのための除去期間とともに開始され得る。例えば、励起光子は、サンプルウェルからの蛍光放射光子の到着に先立ってピクセル1-112に到着することができる。電荷蓄積領域のための転送ゲートは、電荷蓄積領域を光検出領域に結合する電荷転送チャネルにおいて低い導電性を有するようにバイアスされ、電荷蓄積領域における電荷キャリアの転送および蓄積をブロックすることができる。ドレイン領域のためのドレインゲートは、光検出領域とドレイン領域との間のドレインチャネルにおいて高い導電性を有するようにバイアスされ、光検出領域からドレイン領域への電荷キャリアの排出を促進することができる。光検出領域に結合された任意の電荷蓄積領域のための転送ゲートは、除去期間中に電荷キャリアが電荷蓄積領域に転送または蓄積されないように、光検出領域と電荷蓄積領域との間の低導電率を有するようにバイアスされ得る。

30

【0042】

その除去期間に続いて収集期間が生じてよく、その収集期間では入射光子に応じて生成された電荷キャリアが1つ以上の電荷蓄積領域に転送される。収集期間中、入射光子が蛍光放射光子を含むことがあり、その結果、電荷貯蔵領域に蛍光放射電荷キャリアが蓄積される。例えば、電荷蓄積領域の1つの転送ゲートは、光検出領域と電荷蓄積領域との間で高い導電性を有するようにバイアスされ、電荷蓄積領域における電荷キャリアの蓄積を促進することができる。光検出領域に結合された任意のドレインゲートは、収集期間中に電荷キャリアが廃棄されないように、光検出領域とドレイン領域との間で低い導電率を有するようにバイアスされ得る。いくつかの実施形態は、複数の電荷蓄積領域に対し異なる時間に電荷キャリアを蓄積するよう、第1の収集期間に続く第2の収集期間などの複数の収集期間を含んでもよい。例えば、複数の収集期間のうちの1つの期間中に、転送ゲートの

40

50

うちの1つが、対応する電荷蓄積領域における電荷キャリアの蓄積を促進するようにバイアスされるとともに、他の転送ゲートが、他の電荷蓄積領域における電荷キャリアの蓄積をブロックするようにバイアスされ得る。いくつかの実施形態では、単一の収集期間中に複数の電荷蓄積領域が電荷キャリアを蓄積し得る。いくつかの実施形態では、ピクセルの動作は、電荷蓄積領域と同数の収集期間を含んでもよい。いくつかの実施形態では、励起光源の各パルスについて本明細書に記載されるような動作が繰り返され得る。いくつかの実施形態では、様々な電荷蓄積領域に対する収集期間が除去期間によって分離され得る。例えば、いくつかの実施形態では、励起光源の各パルスの後に、1つの除去期間と1つの収集期間（例えば、単一の電荷蓄積領域における蓄積を有する）とが続いてよい。

【0043】

本明細書でさらに説明するように、除去期間および／または収集期間は、集積回路の制御回路からの1つ以上の制御信号を用いて、例えば集積回路のピクセルのドレインおよび／または転送ゲートに制御信号を提供することによって、制御され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に記載されるピクセルの動作がこのセクションに記載したように起こり得ると理解されたい。

【0044】

例えば、図1-1Cは、いくつかの実施形態による、図1-1Bのピクセル1-112の回路図である。図1-1Cにおいて、光検出領域PPDは、複数の蓄積領域SD0およびSD1に結合される。蓄積領域SD1および転送ゲートTG1は、蓄積領域SD0および転送ゲートTG0について説明したように構成され得る。ピクセル1-112は、蓄積領域SD0およびSD1のうちの1つのみが所与の時間に光検出領域PPDから電荷キャリアを受け取るように構成され得る。例えば、蓄積領域SD0およびSD1は、時間的に分離されたビニング期間を有することができ、転送ゲートTG0が蓄積領域SD0についてのビニング期間中に蓄積領域SD0へ電荷キャリアを流れるようにするとともに、転送ゲートTG1が蓄積領域SD1についてのビニング期間中に蓄積領域SD1へ電荷キャリアを流れるようにし得る。同様に、ピクセル1-112は、蓄積領域SD0およびSD1のうちの一方のみが電荷キャリアを読み出し領域FDに供給し得るように構成され得る。例えば、蓄積領域SD0、SD1は、時間的に分離された読み出し期間を有することができ、転送ゲートTX0が蓄積領域SD0についての読み出し期間中に蓄積領域SD0から電荷キャリアを流れるようにするとともに、転送ゲートTX1が蓄積領域SD1についての読み出し期間中に蓄積領域SD1から電荷キャリアが流れるようにしてよい。

【0045】

図1-1Dは、図1-1Bおよび図1-1Cのピクセルの平面図であり、光検出領域PPDに対する蓄積領域SD0およびSD1の相対的な位置関係を示す。

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるピクセルのいくつかのコンポーネントは、集積回路の1つ以上の基板層上に配置および／または形成され得る。いくつかの実施形態では、それに代えてまたは加えて、基板層は、他の基板層の上方および／または下方に配置された1つ以上の補助層（例えば、エピタキシャル層）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるピクセルのいくつかのコンポーネントは、基板層および／または補助層の少なくとも一部をエッチング除去することによって形成され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される転送ゲートおよび／またはドレインゲートは、少なくとも部分的に不透明であり得る、ポリシリコンなどの半導体材料を用いて形成され得る。

【0046】

【III. 寿命情報取得技術】

本明細書に記載の技術の一態様によれば、本発明者らは、多次元弁別を用いるサンプル同定を含むサンプル分析を容易にするために、サンプルウェルからの放射光の複数の特性に関する情報を取得する技術を開発した。本発明者らは、生物学的または化学的サンプルを標識付けするために用いられる蛍光マーカは、入射光によって励起されると、特徴的な寿命（例えば、特徴的な放射減衰時間期間）をもって蛍光を発するので、その放射光の寿

10

20

30

40

50

命情報を分析することによって、蛍光マーカが付着（例えば、結合）している特定のサンプルの同定を容易にできると認識している。蛍光寿命とは、本明細書において単に「寿命」とも呼称するが、蛍光マーカが基底状態に戻りかつ光子を放射する前の励起状態で過ごす時間の尺度である。いくつかの実施形態では、蛍光寿命情報は、入射光子によって生成された電荷キャリアを時間ビンニングするための技術を通じて得ることができる。

【0047】

例えば、図1-2Aは、例えば2つの異なる蛍光分子からの蛍光放射を表すことのできる、2つの異なる蛍光放射確率曲線（AおよびB）をプロットしている。曲線A（破線）を参照すると、短光パルスまたは超短光パルスによって励起された後で、第1の分子からの蛍光放射の確率 $p_A(t)$ は、図示されるように、時間とともに減衰することがある。いくつかの場合においては、経時に放射される光子の確率の低下は、指数関数的減数関数 $p_A(t) = P_{A0} e^{-t/\tau_1}$ によって表し得、式中、 P_{A0} は初期の放射確率であり、 τ_1 は、放射減衰確率を特徴付ける第1の蛍光分子に関連付けられる時間的パラメータである。 τ_1 は、第1の蛍光分子の「蛍光寿命」、「放射寿命」または「寿命」と称することもある。いくつかの場合においては、 τ_1 の値は、蛍光分子の局所的な環境によって変わる可能性がある。他の蛍光分子は、曲線Aに示されているものとは異なる放射特徴を有することができる。例えば、別の蛍光分子は、単一の指数関数的減衰とは異なる減衰プロファイルを有することがあり、その寿命は、半減期値または何らかの他のメトリックによって特徴付けることができる。

【0048】

第2の蛍光分子は、図1-2Aにおいて曲線Bについて示されるように、指数関数的であるが、測定可能に異なる寿命 τ_2 を有する減衰プロファイル $p_B(t)$ を有することができる。この例では、曲線Bの第2の蛍光分子の寿命は曲線Aの寿命よりも短く、発光の確率 $p_B(t)$ は第2の分子の励起後すぐに曲線Aの場合よりも高くなる。異なる蛍光分子は、いくつかの実施形態においては、約0.1 ns～約20 nsの範囲の寿命または半減期を有することができる。

【0049】

蛍光放射寿命の差は、異なる蛍光分子の存在または不在を識別するため、および／または蛍光分子がさらされる異なる環境または条件を識別するために使用することができる。場合によっては、（例えば発光波長ではなく）蛍光寿命に基づいて蛍光分子を識別することにより、分析機器を簡略化することができる。一例として、寿命に基づいて蛍光分子を識別する場合、波長弁別光学系（波長フィルタ、波長毎の専用検出器、異なる波長の専用パルス光源、および／または回折光学系など）の数を減らすか、または除去することができる。場合によっては、単一の特性波長で動作する単一のパルス光源を、光スペクトルの同じ波長領域内で発光するが測定可能な異なる寿命を有する異なる蛍光分子を励起するのに使用することができる。異なる波長で動作する複数の光源ではなく、単一のパルス光源を使用して、同じ波長領域で発光する異なる蛍光分子を励起し識別する分析システムは、動作や保守が複雑でなく、よりコンパクトで、より低コストで製造することができる。

【0050】

蛍光寿命分析に基づく分析システムは一定の利点を有し得るが、当該分析システムによって得られる情報量および／または検出精度は、追加の検出技術を許容することによって増加させることができる。例えば、いくつかの分析システムは、本明細書に記載されるように、蛍光波長、パルス持続時間／パルス幅、および／または蛍光強度に基づきサンプルの1つ以上の特性を識別するように追加的に構成されることができる。

【0051】

図1-2Aを再び参照すると、いくつかの実施形態によれば、異なる蛍光寿命は、蛍光分子の励起に続く蛍光放射事象を時間ビンニングするように構成された光検出器を用いて区別することができる。時間ビンニングは、光検出器の単一の電荷蓄積サイクルの間に起こり得る。電荷蓄積サイクルは、時間ビンニング光検出器のビンに光生成されたキャリアが蓄積される、読み出し事象間の間隔である。図1-2Bには、発光事象の時間ビンニングによ

10

20

30

40

50

て蛍光寿命を決定する概念を図式化して紹介している。 t_1 の直前の時点 t_e において、ある蛍光分子または同じタイプ（例えば、図1-2Aの曲線Bに対応するタイプ）の蛍光分子のアンサンブルが、短光パルスまたは超短光パルスによって励起される。分子の大きいアンサンブルの場合、放射の強度は、図1-2Bに示されるように、曲線Bに類似の時間プロファイルを有することができる。

【0052】

しかし、単一の分子または少数分子については、蛍光光子の放射は、この例については、図1-2Aの統計曲線Bに従って発生する。時間ビンング光検出器1-322は、複数の放射事象から生成された複数のキャリアを複数の個別の時間ビンに蓄積させ得る。図1-2Bには3つのビンが示されているが、いくつかの実施形態ではより少数のビンまたはより多数のビンを使用し得る。ビンは、蛍光分子の励起時間 t_e に対して時間的に分解され得る。例えば、第1のビンは、時間 t_e における励起事象の後に生じる、時間 t_1 と時間 t_2 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができる。第2のビンは、時間 t_2 と時間 t_3 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができ、第3のビンは、時間 t_3 と時間 t_4 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができる。多数の放射事象を合計すると、複数の時間ビン電に蓄積されたキャリアは、図1-2Bに示される減衰強度曲線に近似することができ、ビンングされた信号は、異なる蛍光分子同士をまたは蛍光分子が位置する異なる環境同士を区別するのに使用することができる。

【0053】

時間ビンング光検出器1-322の例は、2015年8月7日に出願された「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」と題する米国特許出願第14/821,656号（代理人管理番号R0708.70002US02）、および、2017年12月22日に出願された「INTEGRATED PHOTODETECTOR WITH DIRECT BINNING PIXEL」と題する米国特許出願第15/852,571号（代理人管理番号R0708.70017US01）に記載されており、それぞれ参照によりその全体が本明細書に援用される。説明のために、時間ビンング光検出器の非限定的な実施形態が図1-2Cに示されている。単一の時間ビンング光検出器1-322は、光子吸収／キャリア生成領域1-902、キャリア放電チャネル1-906、および複数のキャリア蓄積領域1-908a、1-908bを備えることができ、すべて半導体基板上に形成される。キャリア転送チャネル1-907は、光子吸収／キャリア生成領域1-902とキャリア蓄積領域1-908a、1-908bとの間を接続することができる。図示した例では、2つのキャリア蓄積領域が示されているが、それより多くても少なくてもよい。キャリア蓄積領域に接続された読み出しチャネル1-910が存在し得る。光子吸収／キャリア生成領域1-902、キャリア放電チャネル1-906、キャリア蓄積領域1-908a、1-908b、および読み出しチャネル1-910は、半導体を局所的にドーピングすることによって、および／または、光検出能力、閉じ込め、およびキャリアの輸送を提供するよう隣接する絶縁領域を形成することによって形成することができる。時間ビンング光検出器1-322はまた、当該デバイスを介してキャリアを輸送するために当該デバイス内に電場を生成するように構成された、基板上に形成された複数の電極1-920、1-921、1-922、1-923、1-924を含むことができる。

【0054】

動作中、パルス光源（例えば、モードロックレーザー）からの励起パルスの一部は、時間ビンング光検出器1-322を介して反応チャンバに供給される。最初に、いくつかの励起放射光子1-901が光子吸収／キャリア生成領域1-902に到達するとともにキャリア（薄い影付きの円として示される）を生成することがある。励起放射光子1-901と共に到着し、（濃い影を付けた円として示す）対応するキャリアを生成する蛍光放射光子1-903がいくつか存在することがある。当初、励起放射によって生成されるキャリアの数は、蛍光放射によって生成されるキャリアの数と比較して過大である場合がある。例えば、時間間隔 $|t_e \sim t_1|$ 中に生成された初期キャリアは、例えば、第1の転送

ゲート 1-920 が電荷転送チャネル 1-906 へとゲート動作することによって除去することができる。

【0055】

後の時点で、ほとんどの蛍光放射光子 1-903 は、光子吸収／キャリア生成領域 1-902 に到着し、反応チャンバ 1-330 からの蛍光放射を表す有用で検出可能な信号を提供する電荷キャリア（濃い影を付けた円として示す）を生成する。いくつかの検出方法によれば、第 2 の電極 1-921 および第 3 の電極 1-923 は、後の時点で（例えば、第 2 の時間間隔 | $t_1 \sim t_2$ | 中に）生成されたキャリアを第 1 のキャリア蓄積領域 1-908a へと方向付けるよう後の時点でゲート動作され得る。続いて、第 4 の電極 1-922 および第 5 の電極 1-924 は、キャリアを第 2 のキャリア蓄積領域 1-908b へと方向付けるよう後の時点で（例えば、第 3 の時間間隔 | $t_2 \sim t_3$ | 中に）ゲート動作され得る。電荷の蓄積は、各キャリア蓄積領域 1-908a、1-908b に相当数のキャリアおよび信号レベルを蓄積するよう、多数の励起パルスにわたる励起パルスの後このように継続することができる。後の時間において、信号をピンから読み出すことができる。いくつかの実装では、各蓄積領域に対応する時間間隔はサブナノ秒の時間スケールであるが、いくつかの実施形態ではより長い時間スケールを使用することができる（例えば、フルオロフォアがより長い減衰時間を有する実施形態など）。

10

【0056】

励起事象（例えば、パルス光源からの励起パルス）後に電荷キャリアを生成し時間ビンニングするプロセスは、単一の励起パルスの後に 1 回生じるか、または時間ビンニング光検出器 1-322 の単一の電荷蓄積サイクル中に複数の励起パルスの後に複数回繰り返されることができる。電荷蓄積が完了した後、読み出しチャネル 1-910 を介して蓄積領域からキャリアが読み出され得る。例えば、電極 1-923、1-924 および少なくとも電極 1-940 に適切なバイアスシーケンスを印加し、蓄積領域 1-908a、1-908b からキャリアを除去することができる。例えば、蓄積領域 1-908a、1-908b からキャリアを除去するよう、電極 1-923、1-924 におよび少なくとも電極 1-940 に適切なバイアスシーケンスを印加することができる。電荷の蓄積と読み出しのプロセスは、光電子チップ上で超並列操作で行うことができ、その結果複数のデータフレームが得られる。

20

【0057】

図 1-2C に関連して説明した例は、複数の電荷蓄積領域 1-908a、1-908b を含むが、いくつかの場合においては、代わりに単一の電荷蓄積領域を使用することができる。例えば、時間ビンニング光検出器 1-322 にはピン 1 のみが存在してよい。そのような場合、単一の蓄積領域 1-908a は、異なる励起事象の後の異なる時間間隔を見るために、可変時間ゲート方式で動作することができる。例えば、第 1 の一連の励起パルスにおけるパルス後に、蓄積領域 1-908a 用の電極が、第 1 の時間間隔中に（例えば、第 2 の時間間隔 | $t_1 \sim t_2$ | 中に）生成されたキャリアを収集するようゲート動作されることができる。蓄積された信号は、第 1 の所定数のパルスの後に読み出されることができる。同じ反応チャンバにおける後続する一連の励起パルスにおけるパルス後、蓄積領域 1-908a の同じ電極は、異なる間隔中に（例えば、第 3 の時間間隔 | $t_2 \sim t_3$ | 中に）生成されたキャリアを収集するようゲート動作されることができる。蓄積された信号は、第 2 の所定数のパルスの後に読み出されることができる。キャリアは、必要に応じて、同様の方法で後の時間間隔で収集されることができる。このようにして、単一のキャリア蓄積領域を使用して、励起パルスが反応チャンバに到着した後の異なる期間中の蛍光放射に対応する信号レベルを生成することができる。

30

40

【0058】

励起後の異なる時間間隔中にいかに電荷蓄積を行うかに関係なく、読み出された信号は、例えば、蛍光放射減衰特徴を表すピンのヒストグラムを提供することができる。図 1-2D および図 1-2E には、2 つの電荷蓄積領域を使用して反応チャンバから蛍光放射を取得する例示的なプロセスが示されている。ヒストグラムのピンは、反応チャンバでのフ

50

フルオロフォアの励起後の各時間間隔中に検出された光子の数を示し得る。いくつかの実施形態では、ビンの信号は、図 1-2 D に示されるように、多数の励起パルス後に蓄積される。励起パルスは、パルス時間間隔 T によって隔てられる時点 t_{e1} , t_{e2} , t_{e3} , $\dots$, t_{eN} で発生することができる。いくつかの場合において、反応チャンバで観察される 1 回の事象（例えば、DNA 分析における 1 回のヌクレオチド組み込み事象）について、電子蓄積領域への信号の蓄積中に反応チャンバに印加される励起パルス（またはその部分）は 10^5 個から 10^7 個存在することができる。いくつかの実施形態では、1 つのビン（ビン 0）は、各光パルスで送達される励起エネルギーの振幅を検出するように構成することができ、基準信号として（例えば、データを正規化するために）使用することができる。他の場合においては、励起パルスの振幅は、安定しており、信号取得中に 1 回以上判断され、各励起パルス後に判断されなくてよく、各励起パルス後にビン 0 の信号取得はない。そのような場合、図 1-2 C に関連して上記説明したように、励起パルスが生成するキャリアは除去されることができ、光子吸収／キャリア生成領域 1-902 から除去およびダンプされることができ。

10

【0059】

いくつかの実施態様においては、図 1-2 D に示すように、励起事象に続いてフルオロフォアから単一の光子のみが放射されることができ、時点 t_{e1} における第 1 の励起事象後、時点 t_{f1} での放射光子は第 1 の時間間隔内（例えば、時点 t_1 と t_2 との間）で生じることができ、結果として生じる電子信号が第 1 の電荷蓄積領域に蓄積される（ビン 1 に寄与する）。時点 t_{e2} での後続励起事象において、時点 t_{f2} での放射光子は第 2 の時間間隔内（例えば、時点 t_2 と t_3 との間）で生じることができ、結果として生じる電子信号はビン 2 に寄与する。時点 t_{e3} での次の励起事象後、第 1 の時間間隔内で発生する時点 t_{f3} で光子が放射し得る。

20

【0060】

いくつかの実施態様においては、反応チャンバで各励起パルスが受け取られた後に放射および／または検出される蛍光光子が存在しないことがある。いくつかの場合において、反応チャンバに送達される励起パルス 10,000 個につき 1 個程度の蛍光光子しか反応チャンバで検出されないことがあり得る。パルス励起源としてモードロックレーザを実装することの 1 つの利点は、モードロックレーザが高強度かつ素早いターンオフ時間を有する短い光パルスを（例えば、50 MHz から 250 MHz の間の）高いパルス繰り返し速度で生成することができることである。このような高いパルス繰り返し速度により、電荷蓄積間隔が 10 ミリ秒内の励起パルス数は 50,000 ~ 250,000 であり得、検出可能信号を蓄積できる。

30

【0061】

多数の励起事象およびキャリア蓄積の後で、時間ビンング光検出器 1-322 のキャリア蓄積領域を読み出して反応チャンバの多値信号（例えば、2 つ以上の値のヒストグラム、N 次元ベクトルなど）を提供することができる。各ビンの信号値は、フルオロフォアの減衰率に応じて変わることがある。図 1-2 B を再び参照すると、例えば、減衰曲線 B を有するフルオロフォアはビン 2 に対するビン 1 の信号比が、減衰曲線 A を有するフルオロフォアよりも高くなるであろう。複数のビンからの複数の値を分析し、校正值に対しておよび／または互いに比較して、存在する特定のフルオロフォアを決定することができる。シーケンシング用途の場合、フルオロフォアの同定は、DNA の成長鎖に組み込まれることになるヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体を決定することができる。他の用途の場合、フルオロフォアの同定は、フルオロフォアにリンクできる、関心対象の分子または関心対象のサンプルのアイデンティティを決定することができる。

40

【0062】

信号分析の理解をさらに助けるために、蓄積されるマルチビン値は、例えば、図 1-2 E に示されるように、ヒストグラムとしてプロットすることができるか、または N 次元空間におけるベクトルもしくは位置として記録することができる。校正実行は、4 つの異なるフルオロフォアに対する多値信号の校正值（例えば、校正ヒストグラム）を取得するた

50

めに別々に実行することができる。校正の実行は、4個の異なるフルオロフォアに関して、多値信号の校正值（例えば、校正ヒストグラム）を取得するように別個に行うことができる。

【0063】

このように、本明細書に記載の時間ビンング技術によって得られる寿命情報を取得することで、サンプルウェル内のサンプルの分析および同定を容易にすることができる。本明細書に記載された技術以外の、電荷キャリアを時間ビンングし、および／またはその他の方法で蛍光寿命情報を取得する他の適切な技術が実施されてよく、本技術の側面はこの点で限定されないことを理解されたい。

【0064】

〔IV．波長情報取得技術〕

本明細書に記載される技術の別の態様によれば、本発明者らは、入射光のスペクトル情報（例えば、波長情報）を弁別するための技術を開発した。例えば、タイミング情報（例えば、寿命情報）を判別するための時間ゲート技術の使用に加えて、またはその代わりに、本明細書に記載のデバイスは、サンプルから得ることができるデータを強化するためにスペクトル情報を弁別するように構成され得る。本発明者らは、寿命と同様に、特定の蛍光マーカからの放射光は、放射光の波長情報を分析することによって、蛍光マーカが付着しているサンプルの同定を容易にし得るような特徴的な波長を有し得ると認識している。したがって、いくつかの実施形態において、放射光の波長は、本明細書に記載される多次元弁別技術において使用される、追加的な弁別次元である。

【0065】

本発明者らは、集積デバイス1-102などの集積デバイスが、本明細書でさらに説明する様々な技術を通じて放射光の波長測定値を取得することができると認識している。例えば、いくつかの実施形態では、深さが異なる複数の光検出器領域を組み込んだ技術を通じて波長測定値を取得することができる。他の実施形態では、深さが異なる複数の電荷転送チャネルを組み込んだ技術を用いて得られてよい。いくつかの実施形態では、波長情報は、光学的遮蔽要素を組み込んだ技術を用いて得られてよい。さらに、いくつかの実施形態では、放射光の波長測定値は、1つ以上の光学的選別要素を用いて得ることができる。本明細書に記載された技術に加えてまたはそれに代わる任意の適切な技術が、サンプルの多次元弁別を促進するために放射光の波長測定値を取得するために使用されてよく、本技術の側面はこの点において限定されないと理解されたい。

【0066】

a．深さが異なる複数の領域を組み込んだ技術

いくつかの態様において、深さ（例えば、半導体接合深さ）が異なる領域を有するピクセルを用いてスペクトル情報を取得することができる。例えば、いくつかの実施形態では、1つ以上の電荷蓄積領域は、異なる深さを有するように構成される。いくつかの実施形態において、1つ以上の光検出領域は、異なる深さを有する1つ以上の電荷蓄積領域を構成することに加えてまたはそれに代えて、異なる深さを有するように構成されてよい。図2-1は、いくつかの実施形態による、光検出領域を介して光源から入射光子を受け取るように構成された時間ゲート式電荷蓄積領域および直接励起電荷蓄積領域を有することがあるピクセル2-112の代替実施形態の側面図である。ピクセル2-112は、図1-1A～図1-1Dに関連してピクセル1-112について説明した方法で構成されてよい。例えば、図2-1には、光検出領域PPDと電荷蓄積領域SD0およびSD1とを含むピクセル2-112が示されている。いくつかの実施形態では、ピクセル2-112は、図2-1に図示された転送ゲートTGOなどの1つ以上の転送ゲートを含んでもよい。いくつかの実施形態では、ピクセル2-112は、図2-1に図示された金属層M0などの1つ以上のバリアを含んでもよい。ピクセル2-112は、任意の数の光検出領域、電荷蓄積領域、および／または転送ゲートを含んでもよいと理解されたい。それに代えてまたは加えて、ピクセル2-112は、1つ以上のドレイン領域および／またはドレインゲートを含んでもよい。

【0067】

いくつかの実施形態では、ピクセル2-112は、軽度pドープされた1つ以上の基板層を含んでもよい。光検出領域PPDおよび電荷蓄積領域SD0、SD1は、n型ドーピング技術を用いて、1つ以上の基板層内にまたは基板層上に形成および／または配置されてよい。1つ以上のバリアは、p型ドーピング技術を用いて、1つ以上の基板層内にまたは1つ以上の基板層上に形成および／または配置されてよい。転送ゲートTG0は、ポリシリコンなどの、基板層よりも不透明な材料を用いて形成されてよい。いくつかの実施形態において、基板層は軽度nドープされてよく、光検出領域PPDおよび電荷蓄積領域SD0およびSD1は、p型ドーピング技術を用いて形成および／または配置されてよいと理解されたい。そのような実施形態では、バリアは、p型ドーピング技術を使用して形成および／または配置されてよい。

10

【0068】

いくつかの実施形態では、ピクセル2-112のいくつかの領域の深さは、ピクセルの他の領域の深さよりも大きいことがある。例えば、図2-1の例では、（例えば、入射光が光源からピクセル2-112へと進む方向に沿う）光軸に平行な方向において電荷蓄積領域SD1の深さは電荷蓄積領域SD0の深さよりも大きい。また、図2-1に示すように、電荷蓄積領域SD1は、光源からおよび／またはサンプルウェルから受け取った入射光子が光検出領域PPDを少なくとも部分的に通過した後に電荷蓄積領域SD1に到達し得るように、少なくとも部分的に光検出領域PPDの下に配置される。いくつかの実施形態では、ピクセル2-112の様々な領域が異なる深さを有すると、ピクセル2-112におけるスペクトル情報および／またはタイミング（例えば、寿命）情報の弁別が容易になり得る。例えば、図2-1に示すように、光源からおよび／またはサンプルウェルからの入射光子は、光軸に沿ってピクセル2-112内へと異なる距離を進むことがある。一部の光子（例えば、第1の波長の光子）は、光検出領域PPDに到達し（図2-1の短い矢印で示す）、収集期間中に電荷蓄積領域SD0に伝導され得る電荷キャリアを生成する。例えば、転送ゲートTG0は、収集期間中、ピクセル2-112の制御回路から制御信号を受け取ってよく、これに応答して光検出領域PPDと蓄積領域SD0とを結合する電荷転送路がより導電性となる。その結果、収集期間中、光検出領域PPDにおいて生成された電荷キャリアは、電荷蓄積領域SD0へと進み電荷蓄積領域SD0に蓄積され得る。他の入射光子（例えば、第1の波長よりも長い第2の波長の入射光子）は、（図2-1の長い矢印で示すように）光検出領域PPDを超えて進み続け、電荷蓄積領域SD1に到達し、電荷蓄積領域SD1において電荷キャリアを生成させ得る。いくつかの実施形態では、ピクセル2-112における電荷キャリアの排出および／または収集の構成（例えば、タイミング）は、図1-1Aから図1-1Dに関連して説明したように生成し得る。

20

30

【0069】

いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0に収集された電荷キャリアと電荷蓄積領域SD1に収集された電荷キャリアとの間の差が、入射光のスペクトル情報および／またはタイミング（例えば寿命）情報を示し得る。例えば、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域に収集された電荷キャリアの数の和および／または差が、サンプルウェルから受け取った蛍光放射の蛍光寿命および／または波長を示し得る。一例では、高波長光子は、電荷蓄積領域SD0に収集される電荷キャリアの数に、より実質的に寄与し得、より短波長の光子は、電荷蓄積領域SD1に収集される電荷キャリアの数に、より実質的に寄与し得る。この例では、より短波長の光子の多くを光検出領域PPDを超えて電荷蓄積領域SD1へと移動し続け、より長波長の光子を光検出領域PPDで止まらせるよう、より短波長の光子は、より長波長の光子よりも高いエネルギーを有してよい。結果として、高波長光子は、収集期間中に電荷蓄積領域SD0に収集される電荷キャリアをより多く生成し得、より短波長の光子は、電荷蓄積領域SD1においてより多くの電荷キャリアを生成し得る。したがって、電荷蓄積領域SD0、SD1に蓄積された電荷キャリアの和および／または差は、入射光の波長といった、入射光のスペクトル情報を示し得る。いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0の深さおよび／または電荷蓄積領域SD1の深さは、各電荷

40

50

蓄積領域が特定の波長および／または波長範囲を有する入射光子を主に収集するように構成され得る。それに代えてまたは加えて、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0および／またはSD1と光検出領域PPDとの深さの差は、各電荷蓄積領域が特定の波長および／または波長範囲を有する入射光子を主に収集するように構成され得る。

【0070】

いくつかの実施形態では、ピクセル2-112に結合される1つ以上のプロセッサ（例えば、マイクロプロセッサ、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）、および／または特定用途向け集積回路（ASIC）、これらの一部またはそれぞれが集積デバイスなどと一体化され得る）は、電荷蓄積領域SD0および／またはSD1に蓄積される電荷キャリアの数に基づいて、寿命情報および／またはスペクトル情報を決定するように構成され得る。それに代えてまたは加えて、電荷蓄積領域SD0および／またはSD1に蓄積された電荷キャリアの数は、入射光の蛍光寿命を示し得ることを理解されたい。いくつかの実施形態では、複数の電荷蓄積領域のうちの1つに収集された電荷キャリアはタイミング情報を示し得、別の電荷蓄積領域に収集された電荷キャリアはスペクトル情報を示し得る。

10

【0071】

本明細書に記載の集積回路は、様々な光学的波長および／または光学的波長範囲を有する複数の入射光子を弁別するように構成され得ると理解されたい。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、600nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、600nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、700nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、600nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、700nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、700nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、600nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、600nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、600nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、550nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、上記の例の高波長光子は、550nmを超える波長を有することができ、低波長光子は、550nm未満の波長を有することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のピクセルは、40平方ミクロン以下の面積を有し得る。

20

30

【0072】

図2-2は、光検出領域を介して光源から入射光子を受け取るように構成された時間ゲート式電荷蓄積領域および直接励起電荷蓄積領域を有し得る、いくつかの実施形態によるピクセル2-212の側面図である。ピクセル2-212は、ピクセル2-112について説明した方法で構成されてよい。例えば、図2-2に示すように、ピクセル2-212は、光検出領域PPD、電荷蓄積領域SD0、SD1、および転送ゲートTGOを含む。それに代えてまたは加えて、図2-2は、金属層M0、および／または金属層M0からピクセル内に延びる図示したバリアのような1つ以上のバリアを含んでもよい。例えば、バリアは、光検出領域PPDが光源からの入射光を受け取る光軸に平行な方向において細長くてよい。図2-1のピクセル2-112は、光検出領域PPDが転送ゲートTGOから光軸に平行に間隔をあけた方向に光を受け取るように構成されてよいが、ピクセル2-212は、ピクセル2-112とは反対の方向に光を受け取るように構成されてよい。例えば、図2-2に示すように、ピクセル2-112は、転送ゲートTGOが光検出領域PPDから光軸に平行に間隔をあけている方向において光を受け取るように構成されてよい。図2-2に例示された構造（例えば、裏面照明）の1つの利点は、入射光子が電荷蓄積領域の深さに到達する前にピクセルの基板層において減衰され得、したがって、電荷蓄積領域に到達し得るおよび／または電荷蓄積領域において生成し得るノイズ光子および／または電荷キャリアの数が減少し、ピクセル動作のシグナル完全性（signal integrity）信号整合性が向上することである。

40

【0073】

50

図 2-1 のように、ピクセル 2-212 のいくつかの領域の深さは、そのピクセルの他の領域の深さよりも大きくてよい。例えば、図 2-2 の例では、電荷蓄積領域 SD1 の深さは、（例えば、入射光が光源からピクセル 2-112 へと進む方向に沿う）光軸に平行な方向において電荷蓄積領域 SD0 の深さよりも大きい。それに代えてまたは加えて、電荷蓄積領域 SD0 および SD1 のひとは、入射光を受け取り、電荷キャリアを生成および蓄積するように構成されてよい。例えば、図 2-2 において、電荷蓄積領域 SD1 は、入射光子が光検出領域 PPD を通過して電荷蓄積領域 SD0 に到達し得るように配置される。いくつかの実施形態では、ピクセル 2-212 のバリアは、電荷蓄積領域 SD0 に蓄積された電荷キャリアが転送ゲート TGO を使用して光検出領域 PPD から主に時間ゲートされるよう、入射光子の少なくとも一部（例えば、斜方入射光子）が電荷蓄積領域 SD0 に達するのをブロックし得る。いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域 SD0 と SD1 および／または光検出領域 PPD との間の深さの差は、それら電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアが入射光の異なる指示タイミング情報および／またはスペクトル情報を示すようにし得る。例えば、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域 SD0 の深さ、電荷蓄積領域 SD1 の深さ、および／または光検出領域 PPD の深さは、各電荷蓄積領域が特定の波長および／または波長範囲を有する入射光子を主に収集するよう、構成され得る。

10

【0074】

図 2-3 は、いくつかの実施形態によるピクセル 2-312 の側面図であり、このピクセル 2-312 は、時間ゲート式電荷蓄積領域と、光源から入射光子を受け取るように構成された直接励起電荷蓄積領域と、その直接励起電荷蓄積領域を介して入射光子の少なくとも一部を受け取るように構成された光検出領域とを備えてよい。ピクセル 2-312 は、図 2-3 に関連してピクセル 2-312 について説明した方法で構成され得る。例えば、図 2-3 において、ピクセル 2-312 は、光検出領域 PPD、電荷蓄積領域 SD0、SD1、および転送ゲート TGO を含む。いくつかの実施形態では、ピクセル 2-312 は、金属層 M0 および／または光軸に平行に細長い示されたバリアなどの 1 つ以上のバリアを含んでもよい。また、図 2-3 に示すように、ピクセル 2-312 は、転送ゲート TGO が光検出領域 PPD から光軸に平行に間隔をあけている方向において光を受け取るように構成されてよい。

20

【0075】

いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域 SD0 と SD1、および／または光検出領域 PPD との間の深さの差は、その電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアが、入射光の異なる指示タイミング情報および／またはスペクトル情報を有するようにし得る。例えば、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域 SD0 の深さ、電荷蓄積領域 SD1 の深さ、および／または光検出領域 PPD の深さは、各電荷蓄積領域が特定の波長および／または波長範囲を有する入射光子を優位に収集するように構成されてよい。しかし、図 2-2 とは異なり、ピクセル 2-312 の光検出領域 PPD は、電荷蓄積領域 SD0 を通過して進んできた入射光子を受け取るように構成される。その結果、高波長光子よりも多くの低波長光子が光検出領域 PPD に到達し得、電荷蓄積領域 SD1 では高波長電荷キャリアよりも多くの低波長電荷キャリアが生成されおよび蓄積され得る。同様に、光検出領域 PPD ではより多くの高波長光子が高波長電荷キャリアを生成し、その結果、転送ゲート TGO を介して時間ゲートにより電荷蓄積領域 SD0 に蓄積される高波長電荷キャリアの数がより多くなり得る。

30

40

【0076】

図 2-4 は、いくつかの実施形態による、深さが異なる 2 つの光検出領域と、2 つの時間ゲート式電荷蓄積領域とを有するピクセル 2-412 の側面図である。ピクセル 2-412 は、図 2-1 に関連してピクセル 2-112 について説明した方法で構成され得る。例えば、図 2-4 に示すように、ピクセル 2-412 は、光検出領域 PPD0、電荷蓄積領域 SD0、SD1、および転送ゲート TGO を含む。図 2-1 と同様に、ピクセル 2-412 は、深さが異なる複数の領域を含んでもよい。例えば、図 2-4 において、ピクセル 2-412 は、光検出領域 PPD1 および転送ゲート TGO1 を含んでもよく、光検出領

50

域 PPD0 および PPD1 は異なる深さを有することが示されている。一例では、高波長入射光子より多くの低波長入射光子が、光検出領域 PPD1 に到達し得る。その結果、転送ゲート TG1 を介した時間ゲートにより、低波長の電荷キャリアの方が高波長の電荷キャリアよりも多く電荷蓄積領域 SD1 に蓄積され得る。同様に、光検出領域 PPD0 では、低波長入射光子よりも高波長入射光子の方が多くの電荷キャリアを生成することがあり、その結果、転送ゲート TG0 を介した時間ゲートにより電荷蓄積領域 SD0 に蓄積される高波長電荷キャリアの数が低波長電荷キャリアの数に比べて多くなる。

【0077】

図2-5は、いくつかの実施形態による、深さが異なる3つの光検出領域を有するピクセル2-512の側面図である。ピクセル2-512は、深さが異なる複数の領域を有するなど、図2-4に関連してピクセル2-415について説明した方法で構成され得る。例えば、図2-5に示すように、ピクセル2-512は、光検出領域PPD0、PPD1、および電荷蓄積領域SD0、SD1を含んでおり、その光検出領域PPD0とPPD1とは異なる深さを有する。また、図2-5に示すように、ピクセル2-512は、光検出領域PPD2および電荷蓄積領域SD2を含んでおり、光検出領域PPD2は、光検出領域PPD0およびPPD1とは異なる深さを有している。図2-5に例示されるようないくつかの実施形態では、光検出領域の隣接するものの間に1つ以上の電荷蓄積領域が配置されてよい。それに代えてまたは加えて、図2-5に図示されるように、ピクセル2-512は、隣接する光検出領域PDの間に配置された1つ以上のバリア2-502（例えば、pドープバリア「Pwell」）を含んでもよい。例えば、バリア2-502は、光検出領域PPD0、PPD1、PPD2がn型ドープされているときにp型ドープされるなど、光検出領域PPD0、PPD1、PPD2の導電タイプとは反対の導電タイプでドープされてよい。

【0078】

2つ以上の光検出領域を有する実施形態では、光検出領域の一部（または全部）が同じ深さを有してよいと理解されたい。それに代えてまたは加えて、（例えば、深さが異なる）複数の光検出領域を有するいくつかの実施形態では、複数の電荷蓄積領域は異なる深さを有してよい。図2-5に例示されるように、深さが異なるより多くの領域を含めることによって、入射光のより多くのタイミング情報および／またはスペクトル情報を処理のために得ることができる。

【0079】

b. 深さが異なる複数の電荷転送チャネルを組み入れる技術

図3-1Aおよび図3-1Bは、いくつかの実施形態による、1つの光検出領域および4つの電荷蓄積領域を有し得るピクセル3-112を示す図である。図3-1Aは、ピクセル3-112の上面図であり、図3-1Bは、線Aに沿ったピクセル3-112の断面図である。ピクセル3-112は、図2-4に関連してピクセル2-412について説明した方法で構成され得る。例えば、図3-1Aおよび図3-1Bに示すように、ピクセル3-112は、光検出領域PPD0、PPD1、および、電荷蓄積領域SD0、SD1（このうち電荷蓄積領域SD1は見えない）、および転送ゲートTG0、TG1を含む。さらに、ピクセル3-112は、電荷蓄積領域SD0、SD1および転送ゲートTG0、TG1から光検出領域PPD0、PPD1の反対側に位置する電荷蓄積領域SD2、SD3（このうち電荷蓄積領域SD2は見えない）および転送ゲートTG2、TG3を含む。一例では、電荷蓄積領域SD0およびSD1はそれぞれ電荷蓄積領域SD2およびSD3と実質的に同一に構成されてよい。例えば、電荷蓄積領域SD0およびSD1は同じ深さを有してよく、同様に同じ深さを有する電荷転送チャネルを介して光検出領域PPD0から電荷キャリアを受け取るように構成されてよい。同様に、電荷蓄積領域SD2およびSD3は、同じ深さを有してよく、同じ深さを有する電荷転送チャネルを介して光検出領域PPD1から電荷キャリアを受け取るように構成されてよい。いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0およびSD3は互いに実質的に同一に構成されてよく、電荷蓄積領域SD1およびSD2は互いに実質的に同一に構成されてよい。いくつかの実施形態では、電

荷蓄積領域SD0およびSD2は互いに実質的に同一に構成されてよく、電荷蓄積領域SD1およびSD3は互いに実質的に同一に構成されてよい。ピクセル3-112の製造誤差に起因するものなどのわずかな相違が、実質的に同一に構成された電荷蓄積領域間のより大きな相違をもたらす可能性があるとして理解されたい。いくつかの実施形態では、ピクセル3-112の電荷蓄積領域は、互いに異なる深さを有するなど、互いに異なるように構成されてよい。

【0080】

ピクセル3-112の複数の領域は異なる深さを有してよい。いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0およびSD3は同じ深さを有してよく、光検出領域PPD0およびPPD1を電荷蓄積領域SD0およびSD3にそれぞれ結合する複数の電荷転送チャンネルは、図3-1Bに示すように、異なる深さを有してよい。例えば、図3-112に示すように、電荷蓄積領域SD3に結合された電荷転送チャンネルは少なくとも部分的に、電荷蓄積領域SD0に結合された電荷転送チャンネルの下に（例えば、光軸に平行な方向において）ある。したがって、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD0、SD1は、同じ周波数範囲にわたって実質的に等しい量の電荷キャリア（例えば、同じ数の低波長電荷キャリアおよび同じ数の高波長電荷キャリア）を蓄積することができる。同様に、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD2、SD3は、互いにその範囲周波数にわたって実質的に等しい量の電荷キャリアを蓄積するが、電荷蓄積領域SD0、SD1とは異なる数の電荷キャリアを様々な周波数において蓄積し得る。例えば、電荷蓄積領域SD2、SD3は、より深い光検出領域PPD1から電荷キャリアを受け取ることによって、電荷蓄積領域SD0、SD1よりも多数の高電荷キャリアを蓄積し得る。従って、電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアは、入射光の分光情報を示し得る。さらに、複数の電荷蓄積領域SD0、SD1（同様にSD2、SD3）を含めて、電荷キャリアを読み出すことで、タイミング情報とスペクトル情報の両方を決定することができる。例えば、一例では、電荷蓄積領域SD0、SD3に蓄積された電荷キャリアはスペクトル情報を示し、電荷蓄積領域SD0、SD1に蓄積された電荷キャリアはタイミング情報を示すし得る。入射光の様々な情報を決定するために電荷蓄積領域SD0、SD1、SD2、SD3の他の組み合わせを使用し得ると理解されたい。

【0081】

図3-2Aおよび図3-2Bは、いくつかの実施形態による、1つの光検出領域および6つの電荷蓄積領域を有し得るピクセル3-212を示す。図3-2Aはピクセル3-212の上面図であり、図3-2Bは線Bに沿ったピクセル3-212の断面図である。ピクセル3-212は、図3-1Aおよび図3-1Bに関連してピクセル3-112について説明した方法で構成され得る。例えば、ピクセル3-112は、図3-2Aおよび3-2Bに示されており、光検出領域PPD0、PPD1、転送ゲートTG0、TG1、TG2、TG4、および電荷蓄積領域SD0、SD1、SD2、SD3（このうち電荷蓄積領域は見えない）を含む。さらに、ピクセル3-212は、光検出領域PPD2、転送ゲートTG4、TG5、および電荷蓄積領域SD4、SD5（このうち電荷蓄積領域SD5は見えない）を含む。図3-2Bに示すように、光検出領域PPD2は、光検出領域PPD0、PPD1とは異なる深さを有してよい。一例では、電荷蓄積領域SD4、SD5は、光検出領域PPD0、PPD1を電荷蓄積領域SD0、SD1、SD2、SD3に結合する電荷転送チャンネルとは深さが異なる電荷転送チャンネルを介して光検出領域PPD2から電荷キャリアを受け取るよう構成されてよい。したがって、いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域SD4、SD5は、他の光検出領域よりも多くの低波長光子が光検出領域PPD2に到達することなどにより、他の電荷蓄積領域よりも多くの低波長電荷キャリアを蓄積し得る。その結果、光検出領域および電荷蓄積領域をより多く含むことは、ピクセル3-212を使用して得ることができる入射光のタイミング情報および／またはスペクトル情報を増加させ得る。

【0082】

c. 光学的遮蔽を組み込んだ技術

いくつかの実施形態において、深さが異なる複数の領域を組み込んでいないピクセルを使用して、スペクトル情報を取得することができると理解されたい。例えば、図 3-3 A ~ 図 3-3 C は、いくつかの実施形態による、1つの光検出領域および2つの電荷蓄積領域を有し得るピクセル 3-3 12を示す。図 3-3 A は、ピクセル 3-3 12の上面図であり、図 3-3 B は、図 3-3 A の線 A に沿うピクセル 3-3 12の断面図であり、図 3-3 C は、図 3-3 C の線 B に沿うピクセル 3-3 12の断面図である。ピクセル 3-3 12は、図 2-2 に関連してピクセル 2-2 12について説明した態様で構成されてよい。例えば、図 3-3 A ~ 図 3-3 C に示すように、ピクセル 3-3 12は、光検出領域 P D、電荷蓄積領域 S D 0、S D 1、および転送ゲート T G 0を含む。また、図 3-3 B および図 3-3 C に示すように、ピクセル 3-3 12は、転送ゲート T G 0が光検出領域 P P D から光軸に平行に間隔をあけている方向において入射光を受け取るように構成されてよい。また、ピクセル 3-3 12は、転送ゲート T G 1を含んでもよい。例えば、1つ以上のバリア（例えば、金属層 M 0）は、電荷キャリアが光検出領域 P D から転送ゲート T G 0を介して時間ゲートにより電荷蓄積領域 S D 0に優位に到達するように、入射光子が電荷蓄積領域 S D 0に到達するのをブロックするように構成されてよい。いくつかの実施形態では、1つ以上のバリアが、図 3-3 C に示されるように、光軸に平行に細長くてよく、電荷蓄積領域 S D 0に隣接して配置され得るおよび／または光検出領域 P P D と電荷蓄積領域 S D 0との間に配置され得る。電荷蓄積領域 S D 0とは対照的に、電荷キャリアは、光検出領域 P D からの転送ゲート T G 1を介した時間ゲートに加えて、直接励起（例えば、入射光子が電荷蓄積領域 S D 1に到達して電荷キャリアを生成すること）により電荷蓄積領域 S D 1に到達しうる。従って、電荷蓄積領域 S D 0、S D 1にそれぞれ蓄積された電荷キャリアは、タイミング情報および／またはスペクトル情報を示し得る。一例として、複数の電荷蓄積領域にそれぞれ蓄積された電荷キャリアの数の差は、入射光の波長成分の差（例えば、低波長入射光の量、高波長入射光の量など）を示し得る。

10

20

【0083】

図 3-4 は、ピクセル 3-4 12の別の例であり、図 3-4 のピクセル 3-4 12は、例えばバリアによって光学的に遮蔽されている少なくとも1つの電荷蓄積領域を有する。例えば、ピクセル 3-4 12は、1つの光検出領域 P D と、2つの電荷蓄積領域 S N A、S N B とを有するように構成され得る。電荷蓄積領域の各々は、処理のために、電荷キャリアを電荷蓄積領域 S N A、S N B から流出させ読み出し領域 F D A、F D B に流入させるために、読み出し領域 F D A、F D B にそれぞれ結合されてよい。いくつかの実施形態において、読み出し領域 F D A、F D B は、フローティングディフュージョン領域である。光検出領域 P P D に入射する放射光は、2つの電荷蓄積領域 S N A、S N B のうちの1つに選択的に蓄積される電荷キャリアを生成し得る。ピクセル 3-3 12は、例えば図 4-4 に関して本明細書で説明するように、電荷蓄積領域 S N A、S N B の各々における電荷キャリアの読み出しを異なる時間間隔で交互に行う「ピンポン」モードで動作するように構成され得る。

30

【0084】

図 3-4 に示すように、電荷蓄積領域の少なくとも1つは、光検出領域 P D を通る以外の電荷蓄積領域への光路を制限するために、例えばバリアを用いて光学的に遮蔽され得る。例えば、図 3-4 では、入射光子が電荷蓄積領域 S N A に到達しないようにバリアが構成される。その代わりに、電荷蓄積領域 S N A が、本明細書に記載の方法に従って、光検出領域 P P D を介して電荷キャリアを受け取り得る。第2の電荷蓄積領域 S N B は、光学的に遮蔽されていない場合があり、したがって、光検出領域 P P D からの電荷キャリアを蓄積するとともに、長波長を有し、したがって電荷蓄積領域 S N B に達することができる入射放射光から、直接電荷キャリアを生成し得る。したがって、電荷蓄積領域 S N A と S N B との電荷蓄積量の差を解析することで、入射放射光の波長情報を効率的に得ることができる。

40

【0085】

d. 1つ以上の光学的選別要素を組み込んだ技術

50

図４－１は、いくつかの実施形態による、光学的選別要素、２つの光検出領域、および２つの時間ゲート式電荷蓄積領域を有し得るピクセル４－１１２の側面図である。ピクセル４－１１２は、図２－４に関連してピクセル２－４１２について説明した方法で構成されてよい。例えば、ピクセル４－１１２は、図４－１に示されており、光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１、電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１、および転送ゲートＴＧ０、ＴＧ１を含む。電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１と同様に、光検出領域ＰＰＤ０とＰＰＤ１が実質的に等しい深さを有することが示されている。ピクセル４－１１２は、光源からの少なくとも一部の入射光子を電荷蓄積領域ＳＤ０に向けて方向づけるとともに光源からの少なくとも一部の他の入射光子を電荷蓄積領域ＳＤ１に向けて方向づけるように構成された光学的選別要素ＯＳＥを更に含むことが示されている。入射光子に応じて電荷蓄積領域ＳＤ０およびＳＤ１に蓄積された電荷キャリアは、異なる情報を示し得る。例えば、電荷蓄積領域ＳＤ０は、電荷蓄積領域ＳＤ０に向けて方向づけられた入射光子に特有のタイミング情報および／またはスペクトル情報を示してよく、電荷蓄積領域ＳＤ１は、電荷蓄積領域ＳＤ１に向けて方向づけられた入射光子についてのそのような情報を示してよい。いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域ＳＤ０に蓄積された電荷キャリアは、タイミング情報を示し、電荷蓄積領域ＳＤ１に蓄積された電荷キャリアは、波長情報を示す。それに代えてまたは加えて、各電荷蓄積領域からの情報は、各電荷蓄積領域によって受け取られた入射光のタイミング情報および／またはスペクトル情報を決定するために組み合わせられてよい。

10

【００８６】

様々な実施形態によれば、光学的選別要素ＯＳＥは、少なくとも部分的に屈折性の、回折性の、散乱性の、および／またはプラズモニックの要素として構成され得る。例えば、いくつかの実施形態では、光学的選別要素ＯＳＥは、入射光の波長に応じてなど、電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１に向かって入射光を屈折させるように構成された、マイクロディスク、マイクロレンズ、および／またはプリズムを含み得る。いくつかの実施形態では、光学的選別要素ＯＳＥは、入射光の波長に応じてなど、入射光を電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１に向けて回折させるように構成された線形格子要素、湾曲格子要素、ゾンプレート、および／またはフォトリソグラフィ結晶を含み得る。いくつかの実施形態では、光学的選別要素ＯＳＥは、異なる屈折率を有する複数の要素を有するなどの散乱要素を含み得る。いくつかの実施形態では、光学的選別要素ＯＳＥは、ナノホールおよび／または異常光透過要素などのプラズモニック要素を含み得る。光学的選別要素ＯＳＥは、異なる周波数を有する入射光子を異なる光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１に向かわせ得るので、電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１に蓄積された電荷キャリアは、異なる波長情報などの、入射光子の異なるスペクトル情報を示し得る。

20

30

【００８７】

いくつかの実施形態では、電荷蓄積領域のうちの１つ以上が、光学的選別要素ＯＳＥから入射光子を受け取り、それに応じて電荷キャリアを生成および蓄積するように構成され得ると理解されたい。

【００８８】

図４－２は、いくつかの実施形態による、光学的選別要素、２つの光検出領域、および２つの時間ゲート式電荷蓄積領域を備え得るピクセル４－２１２の側面図である。ピクセル４－２１２は、図４－１に関連してピクセル４－１１２について説明した方法で構成されてよい。例えば、ピクセル４－２１２は、図４－２に示されており、光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１、電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１、および転送ゲートＴＧ０、ＴＧ１を有する。さらに、ピクセル４－２１２は、光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１とそれらにそれぞれ対応する電荷蓄積領域ＳＤ０、ＳＤ１との間に、少なくとも部分的に配置された１つ以上のバリアを含む。また、図４－２に示すように、ピクセル４－２１２は、転送ゲートＴＧ０、ＴＧ１が光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１から光軸に平行に間隔をあけている方向において入射光子を受け取るように構成されてよく、ピクセル４－１１２は、光検出領域ＰＰＤ０、ＰＰＤ１が転送ゲートＴＧ０、ＴＧ１から光軸に平行に間隔をあけている方向において入射光子を受け取るように構成されてよい。

40

50

【0089】

〔V. パルス持続時間情報取得技術〕

本明細書に記載された技術のさらなる態様によれば、本発明者らは、サンプルウェル内のサンプルからの放射光のパルス持続時間情報を取得するための技術を開発した。例えば、サンプル中の分子に結合した蛍光マーカは、特徴的なパルスおよびパルス間持続時間を有し得るので、特定の蛍光マーカからの放射光のパルスおよびパルス間持続時間の測定値を取得することによって、光が放射された蛍光マーカを容易に同定できる。パルス持続時間は、本明細書ではパルス幅とも呼ばれるが、1つのパルスにわたって測定される時間インターバルを指し、いくつかの実施形態では、1つのパルスの半値全幅で測定される。本明細書においてパルス間幅とも呼ばれるパルス間持続時間は、複数のパルス間の時間的間隔を指す。

10

【0090】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の集積デバイスは、例えば「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」と題する米国特許出願第16/686,028号(2019年11月15日出願、代理人管理番号R0708.70042US02)および「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」と題するPCT出願第PCT/US19/61831号(2019年11月15日出願、代理人管理番号R0708.70042WO00)に記載の技術のような、パルス持続時間情報を取得するための技術を実施するように構成されてよい。これら両出願はいずれも参照によりその全体が本明細書に援用される。例えば、本明細書に記載されるように、サンプル中の分子は蛍光マーカで標識付けされてよい。1つ以上の蛍光マーカは、分子に付着(例えば、結合)し、励起光によって励起されると、それぞれが光子を放射することがあり、これらを総称して蛍光事象と呼ぶことがある。蛍光マーカが繰り返し励起されることによるこのような多数の蛍光事象によって生成される放射光子をシグナルパルスと呼ぶことがある。各シグナルパルスは、蛍光マーカの認識分子と分析中のサンプル分子との会合事象に対応するパルス持続時間(「pd」)を有する。

20

【0091】

例えば、理論に束縛されるものではないが、蛍光マーカの標識付けされた親和性試薬は、結合の会合速度、すなわち「オン」速度(k_{on})と、結合の解離速度、すなわち「オフ」速度(k_{off})とによって定義される結合親和性(KD)に応じて、認識分子と選択的に結する。本明細書で説明するように、蛍光分子が認識分子に結合している場合、そのマーカは蛍光を発して光子を放射するが、蛍光マーカが結合していない場合、そのマーカは、励起光を受けて励起状態に入り励起状態から出ても蛍光を発しない。速度定数 k_{off} および k_{on} は、それぞれ、パルス持続時間(例えば、検出可能な結合事象に対応する時間)およびパルス間持続時間(例えば、検出可能な結合事象間の時間)の重要な決定因子である。いくつかの実施形態において、これらの速度は、最良のシーケンス精度を与えるパルス持続時間およびパルスレート(例えば、シグナルパルスの周波数)を達成するように設計され得る。

30

【0092】

したがって、いくつかの実施形態では、パルス持続時間は、結合の解離速度に特徴的である。さらに、特性パターンの各シグナルパルスは、特性パターンの別のシグナルパルスからパルス間持続時間(「ipd」)だけ離れている。いくつかの実施形態では、パルス間持続時間は、結合の会合速度に特徴的である。いくつかの実施形態では、ベースラインと1つのシグナルパルスのピークとの間の差に基づいて、その1つのシグナルパルスについての大きさの変化(ΔM)が決定され得る。いくつかの実施形態では、パルス持続時間に基づき特性パターンが決定される。いくつかの実施形態では、パルス持続時間およびパルス間持続時間に基づいて特性パターンが決定される。いくつかの実施形態では、パルス持続時間、パルス間持続時間、および大きさの変化のうちのいずれか1つ以上に基づいて特性パターンが決定される。いくつかの実施形態では、一連のパルスが、分析中のサンプ

40

50

ルのアイデンティティの診断となり得るパルスパターン（例えば、特徴的なパターン）を提供する。

【0093】

図4-3A、図4-3B、図4-3Cは、分析中のサンプル分子に対する特徴的なパルスパターンの非限定的な例を示す。図4-3Aは、標識付けされたC l p S 2が可逆的に結合したときの前記3つのN末端残基の間の弁別パルス持続時間（シグナルピークの持続時間）を示すプロットである。図4-3Bは、前記3つのN末端残基の弁別パルス間持続時間（シグナルパルス間の時間）を示すプロットである。図4-3C、図4-3D、図4-3Eは、ペプチドN末端のフェニルアラニン、チロシン、トリプトファン間の弁別パルス時間をさらに説明するプロットである。

10

【0094】

本明細書に記載されるように、シグナルパルス情報は、一連のシグナルパルスにおける特徴的なパターンに基づいて、アミノ酸などの分子を同定するために使用され得る。いくつかの実施形態では、特徴的なパターンは複数のシグナルパルスを備えており、各シグナルパルスがパルス持続時間を有する。いくつかの実施形態では、複数のシグナルパルスは、特性パターンにおけるパルス持続時間の分布の要約統計量（例えば、平均値、中央値、時間減衰定数）により特徴付けられ得る。いくつかの実施形態では、特性パターンの平均パルス持続時間は、約1ミリ秒と約10秒の間（約1ミリ秒と約1秒の間、約1ミリ秒と約100ミリ秒の間、約1ミリ秒と約10秒の間、約10ミリ秒と約10秒の間、約1秒と約10秒の間、約10ミリ秒と約100ミリ秒の間、または約10ミリ秒と約500ミリ秒の間など）である。いくつかの実施形態では、単一のポリペプチド中の異なるタイプの複数のアミノ酸に対応する異なる複数の特性パターンは、要約統計量における統計的に有意な差に基づいて互いに区別され得る。例えば、いくつかの実施形態では、1つの特性パターンは、少なくとも10ミリ秒の平均パルス持続時間の差（例えば、約10ミリ秒と約10秒との間、約10ミリ秒と約1秒との間、約10ミリ秒と約100ミリ秒との間、約100ミリ秒と約10秒との間、約1秒と約10秒との間、または約100ミリ秒と約1秒との間）に基づいて、別の特性パターンと区別可能であり得る。いくつかの実施形態において、異なる特性パターン間の平均パルス持続時間の差が小さい場合に、統計的信頼性をもって相互を区別するためには、各特性パターン内におけるパルス持続時間をより多数必要となることがあると理解されたい。

20

30

【0095】

本明細書で説明するように、蛍光マーカは、サンプル中の関心対象の分子に付着しているときのみ蛍光を発し、解離状態の期間中は蛍光を発しないように構成されてよい。例えば、いくつかの実施形態では、サンプル中の関心対象の分子に付着したときにマーカの蛍光が選択的に発生するように蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）技術が使用される。蛍光マーカ用の標識付けされた親和性試薬は、結合によって誘起された発光（binding-induced luminescence）を有する標識を有し得る。例えば、いくつかの実施形態では、標識付けされたアプタマーは、ドナー標識とアクセプター標識を含む。遊離分子としての標識付けされたアプタマーは、ドナー標識およびアクセプター標識が、それら標識間の検出可能なFRETを制限する距離（例えば、約10nm以上）だけ離れているコンフォメーションを採用し得る。選択的に結合した分子としての標識付けされたアプタマーは、ドナー標識およびアクセプター標識が、それら標識間の検出可能なFRETを促進する距離（例えば、約10nm以下）内にあるコンフォメーションを採用する。さらに他の実施形態では、標識付けされたアプタマーは、消光部分を含んでおり、分子ビーコンのように機能し、標識付けされたアプタマーの発光は、自由分子として内部消光し、選択的に結合した分子として復元する（例えば、Hamaguchiら（2001）Analytical Biochemistry 294, 126-131を参照）。理論に束縛されるものではないが、結合によって誘起された発光のこうしたメカニズムは、有利にはバックグラウンド発光を低減または除去でき、本明細書に記載の方法の全体的な感度および精度を向上させ得ると考えている。

40

50

【0096】

本発明者らは、本明細書に記載の弁別技術を促進するためのパルス持続時間および／またはパルス間持続時間の1つ以上の測定値を取得することが、特に本開示の上記III欄に関し、集積デバイス1-102および本明細書に記載の時間ビンニング技術を使用して達成できると認識している。いくつかの実施形態では、パルス持続時間および／またはパルス間持続時間は、分析中のサンプルウェル内のサンプルを弁別するための寸法として使用され得る。例えば、本明細書に記載されるように、特定の複数の分子が特徴的なパルス持続時間および／またはパルス間持続時間を有することができ、測定されたパルス持続時間および／またはパルス間持続時間を既知の特徴的持続時間と比較することによってサンプルを同定することができる。

10

【0097】

[V E . 強度情報取得技術]

本明細書に記載の技術の別の態様によれば、本発明者らは、いくつかの実施形態において、サンプルウェル内のサンプルの多次元弁別技術を容易にすることができる、放射光強度の1つ以上の測定値を取得するための技術を開発した。本発明者らは、いくつかのフルオロフォアは、それらの減衰率が類似していても、著しく異なる強度で発光するかまたはそれらの励起確率に著しい差（例えば、少なくとも約35%の差）を有する場合があると認識している。ビンニングされた信号を測定された励起エネルギーおよび／または他の取得された信号に対して参照することによって（例えば、電荷キャリアの蓄積を測定することによって、異なる複数のフルオロフォアを強度レベルに基づいて区別することが可能であり得る。したがって、集積デバイス1-102などの集積デバイスは、本明細書に記載されるような様々な読み出し期間を通じて蓄積ビン内の電荷キャリアの蓄積に基づいて強度を測定するように構成されてよく、強度の測定値は、分析中の特定のサンプルを区別するために使用されてよいと理解される。

20

【0098】

いくつかの実施形態では、同じタイプの異なる数のフルオロフォアが、1つのサンプル中の異なる分子に連結され得、各分子が発光強度に基づいて同定され得る。例えば、2つのフルオロフォアが第1の標識付けされた分子に連結されてよく、4つ以上のフルオロフォアが第2の標識付けされた分子に連結されてよい。フルオロフォアの数異なるので、異なる複数の分子に関連する励起およびフルオロフォア発光の確率が異なる場合がある。例えば、信号蓄積間隔の間に、第2の標識付けされた分子についてより多くの発光事象が存在し、ビンの見かけの強度が第1の標識付けされた分子についてよりも著しく高くなる可能性がある。したがって、本発明者らは、いくつかの実施形態において、サンプル中の特定の分子に連結されるフルオロフォアの数制御することが、サンプルの同定を容易にし得ると認識している。したがって、いくつかの実施形態では、強度が、サンプル分析のための多次元弁別技術において使用される多数の特性の少なくとも1つである。

30

【0099】

[V E I . 多次元弁別技術の応用]

ここまでは、サンプルからの放射光の様々な特性（例えば、寿命、波長、強度、パルス持続時間、および／またはパルス間持続時間）に関する情報を取得する複数の技術について説明してきたが、次に、多次元弁別技術の適用例について説明する。例えば、本発明者らは、分析中のサンプル中の1つ以上の分子の同定が、本明細書に記載の多次元技術を使用して識別され得ると認識している。特に、本明細書に記載の集積デバイスなどのデバイスによって、放射光の1つ以上の特性に関する測定値を取得し、収集した測定値を蛍光マーカに関する測定値の既知の特性値と比較して、どの蛍光マーカがその放射光の最も可能性の高い光源であるかを判定してよい。ひいては、蛍光マーカを同定することによって、蛍光マーカが付着することが知られている特定のタイプの分子に基づいて、蛍光マーカが付着している分子のアイデンティティを知ることができる。

40

【0100】

特性の任意の好適な組み合わせが、本明細書に記載される多次元技術において組み合わ

50

され、使用され得る。例えば、いくつかの実施形態では、2次元弁別技術が、サンプルに関連する放射光の寿命、波長、パルス持続時間、パルス間持続時間、および強度のうちの任意の2つの情報に基づいて、関心対象のサンプルを同定し得る。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の波長情報および寿命情報に基づいたものである。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命情報および強度情報に基づいたものである。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の波長情報および寿命情報に基づいたものである。いくつかの実施形態において、3次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命、波長、パルス持続時間、パルス間持続時間、および強度のうちの任意の3つの情報に基づいて、関心対象のサンプルを同定し得る。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための3次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命情報、波長情報、および強度情報に基づいたものである。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための3次元弁別技術は、波長情報、寿命情報、および強度情報のうちのいずれか2つと、サンプルに関連する放射光のパルス持続時間情報およびパルス間持続時間情報のうちのいずれか1つと、に基づいたものである。本明細書に記載の技術の別の態様によれば、4次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命、波長、パルス持続時間、パルス間持続時間、および強度のうちのいずれか4つの情報に基づいて関心対象のサンプルを同定するために使用される。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための4次元弁別技術は、寿命情報、波長情報、強度情報、および、サンプルに関連する放射光のパルス間持続時間情報およびパルス持続時間情報のうちのいずれか1つの情報に基づいたものである。本明細書に記載の技術の別の態様によれば、5次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命、波長、強度、パルス持続時間、およびパルス間持続時間の情報に基づいて、関心対象のサンプルを同定するために使用される。

10

20

【0101】

いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の波長、寿命、強度、パルス持続時間およびパルス間持続時間のうちの任意の2つの測定値に基づいたものである。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の寿命および強度の測定値に基づいたものである。いくつかの実施形態では、関心対象のサンプルを同定するための2次元弁別技術は、サンプルに関連する放射光の波長および強度の測定に基づいたものである。

30

【0102】

例えば、図4-4は、本明細書に記載のいくつかの実施形態による、多次元弁別技術について収集したデータの一例を示す。図4-4に示した例では、サンプルウェル内のサンプルから放射されて光検出器によって収集された放射光の強度、波長、および寿命についての測定値が収集される。図4-4に示したグラフには、2つの蓄積ノードSNA、SNBから収集された信号データが含まれる。蓄積ノードSNA、SNBは、例えば、図3-3の2つの電荷蓄積領域として構成されてよい。蓄積ノードSNA、SNBに適用される「ピン」「ポン」標識は、それぞれの蓄積ノードからの信号がプロセッサによって取得される時間間隔を指す場合がある。複数の蓄積領域に蓄積された複数の電荷キャリアが、プロセッサ、コントローラ、および／または回路などのコンポーネントへと段階的に読み出されてよく、例えば、最初に第1の蓄積ノードSNAの電荷キャリアが2回読み出され（ピン間隔とポン間隔）、その後第2の蓄積ノードSNBの電荷キャリアが2回読み出される（ピン間隔とポン間隔）。この信号は、以前に読み出されたすべての蓄積ノードからの累積電荷を表す。

40

【0103】

様々な時間間隔での信号についての分析により、入射放射光の様々な特性についての情報が得られる。例えば、入射放射光の強度は、電荷キャリア読み出しの初期間隔であるSNAピン間隔についての相対信号測定値を比較することによって最もよく分析され得る。

50

当該グラフおよび添付の表に示すように、パルス１～４の信号はパルス５～８の信号よりも相対的に低いので、パルス１～４は低い強度を有するとみなすことができ、パルス５～８は相対的に高い強度を有するとみなすことができる。ＳＮＡピン間隔とＳＮＡボン間隔との信号の相対的な差を見ることで、寿命情報を分析することができる。例えば、読み出されたＳＮＡボン間隔の信号がＳＮＡピン間隔のものとはほぼ同じである場合、その信号の多くは、先の間隔であるＳＮＡピン間隔中に精製された電荷キャリアによって生成されたものであり、したがって、それらのパルスについては、寿命は比較的短い。読み出されたＳＮＡボン間隔の信号がＳＮＡピン間隔のものより大きい場合、より多くの電荷キャリアは、より後の時間間隔で生成されたものであり、したがって寿命は相対的に長い。その図には、奇数パルスは寿命が短く、偶数パルスは寿命が長いことが示されている。最後に、蓄積ノードＳＮＡ、ＳＮＢの配置に基づいて、波長情報を決定することができる。図３－３に関して説明したように、蓄積ノードが光学的ブロッキング素子で構成されている場合、ブロックされていない蓄積ノードＳＮＢは、ブロックされている蓄積ノードＳＮＡよりも長波長の光を多く受け取ることになる。したがって、ＳＮＡボン間隔とＳＮＢボン間隔の差を解析して、ＳＮＢの電荷キャリア読み出しがＳＮＡの電荷キャリア読み出しよりも相対的に大きいかどうかを判断することで、パルスが相対的に短い波長を有するか長い波長を有するかを示すことができる。例えば、ボン間隔についてＳＮＡとＳＮＢの読み出し信号を比較し、ＳＮＢの読み出し信号がＳＮＡの読み出し信号のおよそ２倍以上であるかどうかを判断することで、入射放射光の波長が相対的に短い相対的に長いかを決定することになる。

10

20

【０１０４】

本発明者らは、比較的高い次元数（例えば、３次元対２次元、４次元対３次元など）の弁別技術が、放射光の光源を正確に同定し、したがって分析中のサンプルを正確に同定する能力を向上させ得ると認識している。本明細書に記載されるように、タンパク質シーケンシングへの多次元弁別技術の適用において、２０種類のアミノ酸を正確に同定することに加えて翻訳後修飾物（*posttranslational modifications*）も正確に同定するために、より高い次元性（例えば、サンプル弁別するための３次元、４次元、および／または５次元）を有する弁別技術を使用することが有利である。特に、高次元技術は、受け取った信号が比較的低い場合（すなわち、放射光強度が比較的低い場合）でも、発光源（例えば、蛍光マーカおよび／または蛍光マーカが付着しているサンプル）の正確な同定を容易にし得る。本発明者らは、比較的低い信号でも機能する弁別技術を開発することで、本明細書に記載のシーケンシング用途の読み取り長を延長し、より大きなアッセイサイズへの技術のスケラビリティを向上させることができると認識している。

30

【０１０５】

サンプルを同定するために使用される弁別技術の次元を増加させることが有利である場合があるけれども、そのようにすることによって、識別情報を取得するための集積デバイスの複雑さが増加してしまう場合がある。さらに、複数の特性（例えば、波長および寿命）に関する情報を取得するように最適化された蛍光マーカを提供するには、その蛍光マーカのおよび／または集積デバイスの増大した労力および複雑さが必要になる場合がある。しかしながら、本発明者らは、本明細書に記載されるように、ある種の情報は、集積デバイスの複雑さを増大させることなく得ることができると認識している。例えば、パルス持続時間情報、パルス間持続時間情報、およびパルス強度情報は、波長情報および／または寿命情報を取得するように構成された既存のデバイスを使用し、そのデバイスに対する最小限の変更によりまたは必要なしで得ることができる。したがって、本発明者らは、サンプルを同定するために、パルス強度情報、パルス持続時間情報、および／またはパルス間持続時間情報を使用することによって弁別技術の次元を増加させると、集積デバイスの複雑さを大幅に増加させずに識別精度を向上させることができると認識している。

40

【０１０６】

本明細書で説明するように、上述の特性、例えば、波長情報、強度情報、寿命情報、パ

50

ルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報は、少なくとも1つの電荷蓄積領域に蓄積された電荷キャリアに基づいて得ることができる。いくつかの実施形態においては集積デバイスの一部であるコンポーネントは、本明細書に記載された特性のうちの1つ以上に関する情報を取得するように構成される。例えば、そのコンポーネントは、ハードウェアモジュール（例えば、1つ以上のコントローラ、1つ以上のプロセッサ、1つ以上のフィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）を介して実装された回路、特定用途向け集積回路（ASIC））および／または本明細書に記載されたコンポーネントの機能を果たすように構成された任意の他の適切なコンポーネントであってよい。

【0107】

いくつかの実施形態では、集積デバイスは、波長情報、強度情報、寿命情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を取得することができる1つのコンポーネントを有するように構成される。いくつかの実施形態では、集積デバイスは、波長情報、強度情報、寿命情報、パルス持続時間情報、およびパルス間持続時間情報を取得することができる複数のコンポーネントを有するように構成されてよい。例えば、いくつかの実施形態では、各タイプの情報（例えば、波長情報、寿命情報など）は、異なるコンポーネントによって取得されてよい。いくつかの実施形態では、第1のコンポーネントは、すべてのタイプの情報ではなく、いくつかのタイプの情報を取得するように構成されてよく、1つ以上の他のコンポーネントは、第1のコンポーネントによって取得されない他のタイプの情報を取得するように構成されてよい。例えば、パルス間持続時間情報およびパルス持続時間情報は、第1のコンポーネントによって取得されてよく、波長情報、発光寿命情報、および強度情報は、1つ以上の他のコンポーネントによって取得されてよい。いくつかの実施形態では、パルス間持続時間情報、パルス持続時間情報、および発光寿命情報は、第1のコンポーネントによって得られてよく、波長情報および発光寿命情報は、1つ以上の他のコンポーネントによって得られてよい。いくつかの実施形態では、複数のコンポーネントが、単一の種類の情報（例えば、波長情報）を取得するように構成されてよい。

【0108】

本発明者らは、多次元弁別技術が様々な用途で実施できると理解しており、そのうちの2つの非限定的な例としては、DNAおよび／またはRNAシーケンシング用途および／またはタンパク質シーケンシング用途があり、それぞれについて本明細書で更に説明する。

【0109】

a. DNAおよび／またはRNAシーケンシング応用

本発明者らは、いくつかの実施形態において、サンプルの多次元弁別のための本明細書に記載の技術は、1つの非限定的な例として、DNAおよび／またはRNAシーケンシング用途において使用され得ると認識している。例えば、本明細書において説明する分析システムは、集積デバイス、および、集積デバイスとインターフェースするように構成された機器を含むことができる。集積デバイスはピクセルのアレイを含むことができ、この場合、ピクセルは、反応チャンバおよび少なくとも1つの光検出器を含む。集積デバイスの表面は、複数の反応チャンバを有することができ、この場合、反応チャンバは、集積デバイスの表面に配置される懸濁液からサンプルを受け取るように構成されている。懸濁液は、同じタイプの複数のサンプル、および、いくつかの実施形態においては異なるタイプのサンプルを含有することができる。この点に関し、本明細書で使用される「対象のサンプル」という句は、例えば、懸濁液に分散される同じタイプの複数のサンプルを指し得る。同様に、本明細書で使用される「対象の分子」という句は、懸濁液に分散される同じタイプの複数の分子を指し得る。複数の反応チャンバは、反応チャンバの少なくとも一部分が懸濁液から1つのサンプルを受け取るように、好適なサイズおよび形状を有することができる。いくつかの実施形態においては、反応チャンバ内のサンプルの数は、いくつかの反応チャンバが1つのサンプルを含有し、他の反応チャンバがゼロ個、2個またはそれ以上のサンプルを含有するように、反応チャンバ間で分配することができる。

【0110】

いくつかの実施形態においては、懸濁液は、複数の一本鎖DNAテンプレートを含むことができ、集積デバイスの表面上の個々の反応チャンバは、シーケンシングテンプレートを受け取るようにサイズ決めおよび形状決めすることができる。シーケンシングテンプレートは、集積デバイスの反応チャンバの少なくとも一部分がシーケンシングテンプレートを含有するように、集積デバイスの反応チャンバ間で分配することができる。懸濁液は、標識付けされたヌクレオチドも含有することができ、これは、次に、反応チャンバに入り、反応チャンバ内の一本鎖DNAテンプレートに対して相補的なDNAの鎖に組み込まれると、ヌクレオチドの同定を可能にすることができる。いくつかの実施形態においては、懸濁液はシーケンシングテンプレートを含有することができ、標識付けされたヌクレオチドは、ヌクレオチドが反応チャンバ内の相補的な鎖に組み込まれると、続いて反

10

応チャンバに導入されることができる。このように、ヌクレオチドの組み込みのタイミングは、標識付けされたヌクレオチドが集積デバイスの反応チャンバに導入される時によって制御することができる。

【0111】

励起光は、集積デバイスのピクセルアレイから離れて位置付けられる励起源から提供される。励起光は、少なくとも一部が集積デバイスの要素によって、1つ以上のピクセルに向かって方向付けられ、反応チャンバ内の照射領域を照らす。次に、マーカが、照射領域内に位置付けられると、励起光によって照らされることに反応して、光を放射することができる。いくつかの実施形態においては、1つ以上の励起源はシステムの機器の一部であり、この場合、機器および集積デバイスのコンポーネントは、励起光を1つ以上のピクセル

20

に向かって方向付けるように構成されている。

【0112】

反応チャンバから（例えば、蛍光ラベルによって）放射される光は、次に、集積デバイスのピクセル内の1つ以上の光検出器によって検出することができる。検出された放射光の特徴は、放射光に関連付けられるマーカを同定するための指示を提供することができる。そのような特徴は、光検出器によって検出される光子の到着時間、光検出器によって経時にわたって蓄積される光子の量、および／または2つ以上の光検出器にまたがる光子の分布を含む、任意の好適なタイプの特徴を含むことができる。いくつかの実施形態においては、光検出器は、放射光に関連付けられる1つ以上の特徴、例えばタイミング特徴（例えば、蛍光寿命）、波長、パルス持続時間、パルス間持続時間、および／または、強度を

30

検出可能にする構造を有することができる。一例では、光検出器は、励起光のパルスが集積デバイスを通じて伝播した後の光子到着時間の分布を検出することができ、到着時間の分布は、放射光のタイミング特徴（例えば、蛍光寿命、パルス持続時間、および／またはパルス間持続時間のプロキシ）の指示を提供することができる。いくつかの実施形態においては、1つ以上の光検出器は、マーカによって放射される光の確率（例えば、蛍光強度）の指示を提供する。いくつかの実施形態においては、複数の光検出器は、放射光の空間的な分布（例えば波長）を捕捉するようにサイズ決めおよび配置することができる。次に、1つ以上の光検出器からの出力信号を使用して、あるマーカを複数のマーカの中から区別することができ、この場合、複数のマーカを使用してサンプルまたはその構造を同定す

40

ることができる。いくつかの実施形態においては、サンプルは、複数の励起エネルギーによって励起させることができ、複数の励起エネルギーに反応した反応チャンバからの放射光および／または放射のタイミング特徴によって、マーカを複数のマーカから区別することが

【0113】

いくつかの実施形態では、DNAおよび／またはRNAシーケンシング用途を便利にするために、本明細書で以前に説明した技術と同様のシステムおよび集積デバイスが実施され得る。例えば、システム5-100の概略的な概説が図5-1Aにおいて示されている。システムは、機器5-104とインターフェースする集積デバイス5-102の双方を備える。いくつかの実施形態においては、機器5-104は、機器5-104の一部として集積される1つ以上の励起源5-106を含むことができる。いくつかの実施形態に

50

においては、励起源は、機器 5-104 および集積デバイス 5-102 の双方の外部にあるものとしてでき、機器 5-104 は、励起光を励起源から受け取るとともに、励起光を集積デバイスに方向付けるように構成することができる。集積デバイスは、集積デバイスを受けるとともに集積デバイスを励起源と光学的に正確に位置合わせして保持するため、任意の好適なソケットを使用して機器とインターフェースすることができる。励起源 5-106 は、集積デバイス 5-102 に励起光を提供するように構成することができる。図 5-1A において概略的に示されているように、集積デバイス 5-102 は、複数のピクセル 5-112 を有し、この場合、ピクセルの少なくとも一部分は、対象のサンプルの独立した分析を行うことができる。ピクセルがそのピクセルとは別々の光源 5-106 から励起光を受け取るため、そのようなピクセル 5-112 は「受動源ピクセル」と称することができる。この場合、この源からの励起光が、ピクセル 5-112 のうちのいくつかまたはすべてを励起する。励起源 5-106 は、任意の好適な光源とすることができる。好適な励起源の例は、2015 年 8 月 7 日に出願され、「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」と題する米国特許出願第 14/821,688 号（代理人管理番号 R0708.70002US02）に記載されており、参照によりその全体が援用される。いくつかの実施形態においては、励起源 5-106 は、励起光を集積デバイス 5-102 に送達するように組み合わせられる複数の励起源を含む。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することができる。

10

20

【0114】

ピクセル 5-112 は、関心対象の単一のサンプルを受け取るように構成された反応チャンバ 5-108、および、励起源 5-106 によって提供される励起光によってサンプルおよび反応チャンバ 5-108 の少なくとも一部分を照らすことに反応して、反応チャンバから放射される放射光を検出する光検出器 5-110 を有する。いくつかの実施形態においては、反応チャンバ 5-108 は、集積デバイス 5-102 の表面に近接してサンプルを保持することができ、これは、サンプルへの励起光の送達、および、サンプルまたは反応成分（例えば、標識付けされたヌクレオチド）からの放射光の検出を容易にすることができる。

【0115】

励起光源 5-106 からの励起光を集積デバイス 5-102 に結合するとともに、励起光を反応チャンバ 5-108 にガイドする光学素子が、集積デバイス 5-102 および機器 5-104 の双方に位置付けられる。源からチャンバへの光学素子は、集積デバイス 5-102 に位置付けられる 1 つ以上の格子カプラを備えることができ、励起光を集積デバイスおよび導波路に結合して、励起光を機器 5-104 からピクセル 5-112 内の反応チャンバに送達する。1 つ以上の光学スプリッタ素子は、格子カプラと導波路との間に位置することができる。光学スプリッタは、格子カプラからの励起光を結合するとともに、励起光を導波路のうちの少なくとも 1 つに送達することができる。いくつかの実施形態においては、光学スプリッタは、励起光を、すべての導波路にわたって実質的に均一に送達することを可能にする構造を有することができ、それによって、導波路のそれぞれは、実質的に同様の量の励起光を受け取る。そのような実施形態は、集積デバイスの反応チャンバによって受け取られる励起光の均一性を改善することによって、集積デバイスの性能を改善することができる。

30

40

【0116】

反応チャンバ 5-108、励起源からチャンバへの光学系の一部分、および、反応チャンバから光検出器への光学系は、集積デバイス 5-102 に位置付けられる。励起源 5-106 および源からチャンバへのコンポーネントの一部分は、機器 5-104 内に位置付けられる。いくつかの実施形態においては、単一のコンポーネントが、励起光を反応チャンバ 5-108 に結合すること、および、反応チャンバ 5-108 からの放射光を光検出器 5-110 に送達することの双方においての役割を果たし得る。励起光を反応チャンバに結合するおよび／または放射光を光検出器に方向付けるための、集積デバイスに含まれ

50

る好適なコンポーネントの例は、2015年8月7日に出願された「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」と題する米国特許出願第14/821,688号（代理人管理番号14/821688）、および、2014年11月17日に出願された「INTEGRATED DEVICE WITH EXTERNAL LIGHT SOURCE FOR PROBING, DETECTING, AND ANALYZING MOLECULES」と題する米国特許出願第14/543,865号（代理人管理番号R0708.70005US00）に記載されており、これらの双方は参照によりその全体が援用される。

【0117】

ピクセル5-112は、それ自体の個々の反応チャンバ5-108および少なくとも1つの光検出器5-110に関連付けられる。集積デバイス5-102の複数のピクセルは、任意の好適な形状、サイズ、および／または寸法を有するように構成することができる。集積デバイス5-102は、任意の好適な数のピクセルを有することができる。集積デバイス5-102内のピクセルの数は、およそ10,000ピクセル～1,000,000ピクセルの範囲内、またはその範囲内における任意の範囲内の値とすることができる。いくつかの実施形態においては、ピクセルは、512個のピクセル×512個のピクセルのアレイに配置することができる。集積デバイス5-102は、任意の好適な方法で機器5-104とインターフェースすることができる。いくつかの実施形態においては、機器5-104は、集積デバイス5-102に着脱可能に結合するインターフェースを有することができ、それによってユーザは、集積デバイス5-102の使用のために集積デバイス5-102を機器5-104に取り付けて懸濁液中の少なくとも1つの関心対象のサンプルを分析するとともに、別の集積デバイスを取り付け可能にするために集積デバイス5-102を機器5-104から取り外し得る。機器5-104のインターフェースは、機器5-104の回路部と結合するように集積デバイス5-102を位置決めし、1つ以上の光検出器からの読み出し信号を機器5-104に送信することを可能にすることができる。集積デバイス5-102および機器5-104は、大きなピクセルアレイ（例えば、10,000超のピクセル）に関連付けられるデータを取り扱うためにマルチチャンネル高速通信リンクを含むことができる。

【0118】

ピクセル5-112の列を示す集積デバイス5-102の断面概略図が、図5-1Bに示されている。集積デバイス5-102は、結合領域5-201、ルーティング領域5-202、およびピクセル領域5-203を含むことができる。ピクセル領域5-203は、結合領域5-201から離れた位置の表面に位置する反応チャンバ5-108を有する複数のピクセル5-112を含むことができる。反応チャンバ5-108は、励起光（破線の矢印として示されている）が集積デバイス5-102に結合する箇所である。反応チャンバ5-108は金属層5-116を貫通して形成することができる。点線の矩形によって示されている1つのピクセル5-112は、集積デバイス5-102の一領域で、反応チャンバ5-108および1つ以上の光検出器5-110を有する光検出領域を含む領域である。

【0119】

図5-1Bは、励起光のビームを結合領域5-201および光検出領域5-108に結合することによる励起の経路（破線で示される）を示す。図5-1Bに示されている反応チャンバ5-108の列は、導波路5-220と光学的に結合するように位置することができる。励起光は反応チャンバ内に位置づけられるサンプルを照らし得る。サンプルまたは反応成分（例えば、蛍光ラベル）は、励起光に照らされることに反応して、励起状態に到達することができる。サンプルまたは反応成分が励起状態にあるとき、サンプルまたは反応成分は光を放射することができ、これを反応チャンバに関連付けられた1つ以上の光検出器によって検出することができる。図5-1Bは、反応チャンバ5-108からピクセル5-112の光検出器5-110への光の経路（実線として示されている）を概略的

10

20

30

40

50

に示している。ピクセル 5-112 の光検出器は、反応チャンバ 5-108 からの放射光を検出するように構成および位置することができる。好適な光検出器の例は、2015 年 8 月 7 日に出願された「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」と題する米国特許出願第 14/821,656 号（代理人管理番号 R0708.70002US02）に記載されており、参照によりその全体が援用される。個々のピクセル 5-112 に関して、反応チャンバ 5-108 およびそのそれぞれの光検出器 5-110 は、共通の軸に沿って（図 5-1B に示された y 方向に沿って）位置合わせすることができる。このように、光検出器はピクセル 5-112 内で反応チャンバに重なることができる。

【0120】

反応チャンバ 5-108 からの放射光の方向性は、金属層 5-116 が放射光を反射するように作用し得るため、金属層 5-116 に対する反応チャンバ 5-108 内におけるサンプルの位置に応じて変わる可能性がある。このように、金属層 5-116 と反応チャンバ 5-108 内に位置する蛍光マーカとの間の距離は、蛍光マーカによって放射される光を検出するための、反応チャンバと同じピクセル内にある光検出器 5-110 の、蛍光マーカによって放射される光を検出する効率に影響を与える可能性がある。金属層 5-116 と、動作中にサンプルが位置可能な場所に近接する反応チャンバ 5-106 の底面との間の距離は、100 nm～500 nm の範囲、またはその範囲内における任意の範囲内の値とすることができる。いくつかの実施形態において、金属層 5-116 と反応チャンバ 5-108 の底面との間の距離は、およそ 300 nm である。

【0121】

サンプルと光検出器との間の距離も放射光を検出する効率に影響を与える可能性がある。光がサンプルと光検出器との間を移動しなければならない距離を減らすことによって、放射光の検出効率を改善することができる。加えて、サンプルと光検出器との間の距離を小さくすると、集積デバイスに占めるピクセルの設置面積を小さくすることを可能にすることができる。これにより、より多くの数のピクセルを集積デバイスに含めるようにすることができる。反応チャンバ 5-108 の底面と光検出器との間の距離は、1 マイクロメートル～15 マイクロメートルの範囲、またはその範囲内における任意の範囲内の値とすることができる。

【0122】

フォトニック構造 5-230 は、反応チャンバ 5-108 と光検出器 5-110 との間に位置することができるとともに、励起光が光検出器 5-110 に到達することを低減または防止するように構成することができる。そうでなければ、励起光は放射光を検出する際の信号ノイズの一因となり得る。図 5-1B に示すように、1 つ以上のフォトニック構造 5-230 は導波路 5-220 と光検出器 5-110 の間に位置することができる。フォトニック構造 5-230 は、スペクトルフィルタ、偏光フィルタおよび空間フィルタを含む 1 つ以上の光除去フォトニック構造を含むことができる。フォトニック構造 5-230 は、共通の軸に沿って個々の反応チャンバ 5-108 およびそれらのそれぞれの光検出器 5-110 と位置合わせするように位置することができる。集積デバイス 5-102 の回路部として作用することのできる金属層 5-240 も、いくつかの実施形態によると、空間フィルタとして作用することができる。そのような実施形態において、1 つ以上の金属層 5-240 は、いくつかまたはすべての励起光が光検出器 5-110 に到達するのをブロックするように位置することができる。

【0123】

結合領域 5-201 は、外部の励起源からの励起光を結合するように構成された 1 つ以上の光学コンポーネントを含むことができる。結合領域 5-201 は、励起光のビームのいくつかまたはすべてを受け取るように位置する格子カプラ 5-216 を含むことができる。好適な格子カプラの例は、2017 年 12 月 15 日に出願された「OPTICAL COUPLER AND WAVEGUIDE SYSTEM」と題する米国特許出願第 15/844,403 号（代理人管理番号 R0708.70021US01）に記載され

10

20

30

40

50

ており、参照によりその全体が援用される。格子カプラ 5-216 は励起光を導波路 5-220 に結合することができ、該導波路は励起光を 1 つ以上の反応チャンバ 5-108 の近傍に伝播するように構成することができる。代替的には、結合領域 5-201 は、光を導波路内に結合する他の周知の構造を備えることができる。

【0124】

集積デバイスから離れて位置付けられるコンポーネントを使用して、励起源 5-106 を集積デバイスに対して位置決めするとともに位置合わせすることができる。このようなコンポーネントは、レンズ、鏡、プリズム、ウィンドウ、アパーチャ、減衰器および／または光ファイバーを含む光学コンポーネントを含むことができる。付加的な機械的なコンポーネントを、1 つ以上の位置合わせコンポーネントの制御を可能にするために機器に含めることもできる。そのような機械的なコンポーネントは、アクチュエータ、ステッパモータおよび／またはノブを含むことができる。好適な励起源および位置合わせ機構の例は、2016 年 5 月 20 日に出願された「PULSED LASER AND SYSTEM」と題する米国特許出願第 15/161,088 号（代理人管理番号 R0708.70010US02）に記載されており、参照によりその全体が援用される。ビームステアリングモジュールの別の例は、2017 年 12 月 14 日に出願された「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」と題する米国特許出願第 15/842,720 号（代理人管理番号 R0708.70024US01）に記載されており、参照によりその全体が援用される。

【0125】

分析されるサンプルは、ピクセル 5-112 の反応チャンバ 5-108 内に導入することができる。いくつかの場合においては、懸濁液は、生物サンプル、または、化学的サンプルなどの任意の他の好適なサンプルとすることができる。サンプルは、複数の関心対象の分子を含むことができ、反応チャンバは、単一の分子を分離するように構成することができる。いくつかの例においては、反応チャンバの寸法は、単一の分子を反応チャンバ内に閉じ込めるように作用することができ、測定を単一の分子に対して行うことを可能にする。励起光は、サンプル、またはサンプルに付けられるか、もしくは反応チャンバ 5-108 内の照射エリア内にある間にサンプルに別様に関連付けられる少なくとも 1 つの蛍光マーカを励起するように、反応チャンバ 5-108 内に送達されることができる。

【0126】

動作時、反応チャンバ内のサンプルの並列な分析を、励起光を使用して反応チャンバ内のサンプルのいくつかまたはすべてを励起し、反応チャンバからの放射光を表す信号を光検出器で検出することによって行う。サンプルまたは反応成分（例えば、蛍光ラベル）からの放射光は、対応する光検出器によって検出されて、少なくとも 1 つの電気信号に変換されることができる。電気信号は集積デバイスの回路部の導電線（例えば、金属層 5-240）に沿って伝送することができ、この導電線は、集積デバイスとインターフェースする機器に接続することができる。電気信号は、続いて処理および／または分析され得る。電気信号の処理または分析は、機器上にまたは機器から離れて位置付けられる好適なコンピュータ処理デバイスにおいて行うことができる。

【0127】

機器 5-104 は、機器 5-104 および集積デバイス 5-102 のうちの少なくとも一方の動作を制御するためにユーザインターフェースを含むことができる。ユーザインターフェースは、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／または設定などの情報をユーザが機器に入力可能とするように構成することができる。いくつかの実施形態においては、ユーザインターフェースは、ボタン、スイッチ、ダイヤル、および、音声命令のためのマイクを含むことができる。ユーザインターフェースは、ユーザが、適切な位置合わせおよび／または集積デバイス上の光検出器からの読み出し信号によって得られる情報などの、機器および／または集積デバイスの性能に関するフィードバックを受け取ることを可能にすることができる。いくつかの実施形態においては、ユーザインターフェースは、スピーカを使用してフィードバックを提供し、可聴フィードバックを提供するこ

とができる。いくつかの実施形態においては、ユーザインターフェースは、ユーザに視覚的なフィードバックを提供するための、インジケータライトおよび／またはディスプレイスクリーンを含むことができる。

【0128】

いくつかの実施形態においては、機器5-104は、コンピューティングデバイスと接続するように構成されたコンピュータインターフェースを含むことができる。コンピュータインターフェースは、USBインターフェース、ファイヤーワイヤーインターフェース、または任意の他の好適なコンピュータインターフェースとすることができる。コンピューティングデバイスは、ラップトップまたはデスクトップコンピュータなどの任意の汎用コンピュータとすることができる。いくつかの実施形態においては、コンピューティングデバイスは、好適なコンピュータインターフェースを介して無線ネットワークを通じてアクセス可能なサーバ（例えば、クラウドベースのサーバ）とすることができる。コンピュータインターフェースは、機器5-104とコンピューティングデバイスとの間の情報の通信を容易にすることができる。機器5-104を制御および／または構成するための入力情報を、コンピュータインターフェースを介して、コンピューティングデバイスに提供するとともに、機器5-104に送信することができる。機器5-104によって生成される出力情報は、コンピュータインターフェースを介してコンピューティングデバイスによって受け取られることができる。出力情報は、機器5-104の性能、集積デバイス5-112の性能、および／または光検出器5-110の読み出し信号から生成されるデータについてのフィードバックを含むことができる。

【0129】

いくつかの実施形態においては、機器5-104は、集積デバイス5-102の1つ以上の光検出器から受け取られるデータを分析するとともに制御信号を励起源2-106に送信する、または集積デバイス5-102の1つ以上の光検出器から受け取られるデータを分析するか、もしくは制御信号を励起源2-106に送信するように構成された処理デバイスを含むことができる。いくつかの実施形態においては、処理デバイスは、汎用プロセッサ、特別に適応されたプロセッサ（例えば、1つ以上のマイクロプロセッサもしくはマイクロコントローラコアなどの中央処理ユニット（CPU）、フィールドプログラマブルゲートアレイ（FPGA）、特定用途向け集積回路（ASIC）、カスタム集積回路、デジタル信号プロセッサ（DSP）、またはそれらの組合せ）を含むことができる。いくつかの実施形態においては、1つ以上の光検出器からのデータの処理は、機器5-104の処理デバイスおよび外部のコンピューティングデバイスの双方によって行うことができる。他の実施形態においては、外部のコンピューティングデバイスを省いてよく、1つ以上の光検出器からのデータの処理は、集積デバイス5-102の処理デバイスのみによって行ってもよい。

【0130】

図5-1Cを参照すると、持ち運び可能な、高度な分析機器5-100は、機器5-100内に交換可能なモジュールとして実装されるか、または機器5-100に別様に結合される、1つ以上のパルス光源を備えることができる。持ち運び可能な分析機器5-100は、光学結合システム5-115および分析システム5-160を含むことができる。光学結合システム5-115は、光学コンポーネント（例えば、レンズ、鏡、光学フィルタ、減衰器、ビームステアリングコンポーネント、ビーム成形コンポーネントの中からいづれも含まないか、1つ以上のコンポーネントを含むことができる）のいくつかの組合せを含み、出力光パルス5-122に対して動作する、および／またはパルス光源5-106から分析システム5-160まで出力光パルス5-122を結合するように構成することができる。分析システム5-160は、サンプル分析のために少なくとも1つの反応チャンバに光パルスを方向付け、少なくとも1つの反応チャンバから1つ以上の光信号（例えば、蛍光、後方散乱放射）を受け取り、受け取った光信号を表す1つ以上の電気信号を生成するように構成された複数のコンポーネントを含むことができる。いくつかの実施形態においては、分析システム5-160は、1つ以上の光検出器を含むことができ、また

光検出器からの電気信号を処理するように構成された信号処理電子部品（例えば、1つ以上のマイクロコントローラ、1つ以上のフィールドプログラマブルゲートアレイ、1つ以上のマイクロプロセッサ、1つ以上のデジタル信号プロセッサ、論理ゲートなど）も含んでもよい。分析システム5-160は、データを外部のデバイス（例えば、機器5-100が1つ以上のデータ通信リンクを介して接続することのできるネットワーク上の1つ以上の外部デバイス）に送信し、データを外部のデバイスから受け取るように構成されたデータ送信ハードウェアも含むことができる。いくつかの実施形態においては、分析システム5-160は、分析される1つ以上のサンプルを保持することができるバイオ光電子チップ5-140を受け取るように構成することができる。

【0131】

図5-1Dは、小型のパルス光源5-108を含む持ち運び可能な分析機器5-100のさらに詳細な実施例を示す。この実施例では、パルス光源5-108は、小型の受動モードロックレーザモジュール5-113を備える。受動モードロックレーザは、外部のパルス信号を印加しなくても、光パルスを自律的に生成することができる。いくつかの実施形態では、モジュールは機器のシャーシまたはフレーム5-103に実装することができる。機器の外部ケーシングの内部に位置付けてよい。いくつかの実施形態によると、パルス光源5-106は、光源を動作させ、光源5-106からの出力ビームを操作するために使用することのできる追加のコンポーネントを含むことができる。モードロックレーザ5-113は、レーザキャビティ内に、またはレーザキャビティに連結されて、レーザの縦周波数モードの位相同期を誘導する要素（例えば、可飽和吸収体、音響光学変調器、カーレンズ）を備えることもできる。レーザキャビティは、一部をキャビティエンドミラー5-111、5-119によって画定することができる。このような周波数モードの同期は、レーザのパルス動作をもたらす（例えば、キャビティ内パルス5-120はキャビティエンドミラー間を往復して跳ね返る）、部分的に伝送している一方のエンドミラー5-111から出力光パルス5-122の流れを生成する。

【0132】

いくつかの場合において、分析機器5-100は、取り外し可能な、パッケージ化された、バイオ光電子チップまたは光電子チップ5-140（「使い捨てチップ」とも称する）を受け入れるように構成される。使い捨てチップは、例えば、複数の反応チャンバ、光励起エネルギーを反応チャンバに送達するように構成される集積された光学コンポーネント、および反応チャンバからの蛍光放射を検出するように構成される集積された光検出器を備えるバイオ光電子チップを含むことができる。いくつかの実施形態において、チップ5-140は1回使用後に使い捨てにすることができるのに対し、他の実施形態では、チップ5-140は2回または3回再利用することができる。チップ5-140が機器5-100によって受け入れられると、パルス光源5-106と分析機器5-160の装置とに電気的および光学的に連通状態にすることができる。電気的連通は、例えば、チップパッケージ上の電気コンタクトを通じて行うことができる。

【0133】

いくつかの実施形態において、また図5-1Dを参照して、使い捨てチップ5-140は、追加の機器電子部品を含むことができるプリント回路基板（PCB）などの電子回路基板5-130上に実装することができる（例えば、ソケット接続により）。例えば、PCB5-130は、電力、1つ以上のクロック信号、および制御信号を光電子チップ5-140に提供するように構成された回路部と、反応チャンバから検出される蛍光放射を表す信号を受け取るように構成された信号処理回路部とを含むことができる。光電子チップから戻されるデータを、機器5-100上の電子部品によって一部または全体を処理することができるが、いくつかの実施形態においては、データはネットワーク接続により1つ以上の遠隔データプロセッサに送信してよい。PCB5-130は、光電子チップ5-140の導波路内に結合される光パルス5-122の光結合および電力レベルに関して、チップからフィードバック信号を受け取るように構成された回路部も含むことができる。フィードバック信号はパルス光源5-106および光学システム5-115の一方または双

10

20

30

40

50

方に提供されて、光パルス 5-122 の出力ビームの 1 つ以上のパラメータを制御することができる。いくつかの場合において、PCB 5-130 は、光源および光源 5-106 内の関連回路部を動作させるために、パルス光源 5-106 に電力を提供または経由させることができる。

【0134】

いくつかの実施形態によると、パルス光源 5-106 は小型のモードロックレーザモジュール 5-113 を備える。モードロックレーザは、利得媒質 5-105（いくつかの実施形態ではソリッドステート材料とすることができる）、出力カプラ 5-111 およびレーザキャビティエンドミラー 5-119 を備えることができる。モードロックレーザの光キャビティは、出力カプラ 5-111 およびエンドミラー 5-119 によって結束することができ、レーザキャビティの光軸 5-125 は、レーザキャビティの長さを増やし、所望のパルス繰り返し速度を提供するために 1 つ以上の折り返し（ターン）を有することができる。パルス繰り返し速度は、レーザキャビティの長さによって決定される（例えば、光パルスがレーザキャビティ内で往復する回数）。

10

【0135】

いくつかの実施形態において、ビーム成形、波長選択および／またはパルス形成のために、レーザキャビティ内に追加の光学要素（図 5-1D には図示せず）が存在することができる。いくつかの場合において、エンドミラー 5-119 は、縦キャビティモードの受動モードロックを誘導し、モードロックレーザのパルス動作を引き起す可飽和吸収ミラー（SAM）を備える。モードロックレーザモジュール 5-113 は、利得媒質 5-105 を励起するために、ポンプ源（例えば、レーザダイオード、図 5-1D には図示せず）をさらに含むことができる。モードロックレーザモジュール 5-113 のさらなる詳細は、2017 年 12 月 15 日に出願された「COMPACT MODE-LOCKED LASER MODULE」と題する米国特許出願第 15/844,469 号で確認することができ、参照により本明細書に援用される。

20

【0136】

レーザ 5-113 がモードロックされる時、キャビティ内パルス 5-120 はエンドミラー 5-119 と出力カプラ 5-111 との間を循環することができ、キャビティ内パルスの一部分を出力パルス 5-122 として出力カプラ 5-111 に送信することができる。したがって、図 5-2 のグラフに示された出力パルス 5-122 のトレインは、キャビティ内パルス 5-120 が出力カプラ 5-111 とレーザキャビティ内のエンドミラー 5-119 との間を往復して跳ね返ると、出力カプラで検出することができる。

30

【0137】

図 5-2 は、図は縮尺通りではないが、出力パルス 5-122 の時間的な強度プロファイルを示している。いくつかの実施形態においては、放射されたパルスのピーク強度値は、ほぼ等しいものとしてことができ、プロファイルは、ガウス型の時間的プロファイルを有することができるが、sech² 型のプロファイルなどの他のプロファイルも可能とすることができる。いくつかの場合においては、パルスは、対照的な時間的プロファイルを有しない場合があり、他の時間的形狀を有する可能性がある。各パルスの持続時間は、図 5-2 に示すように、全値半幅（FWHM）値によって特徴付けることができる。モードロックレーザのいくつかの実施形態によると、超短光パルスは、100 ピコ秒（ps）未満の FWHM 値を有することができる。いくつかの場合においては、FWHM 値は、およそ 5 ps ～ およそ 30 ps とすることができる。

40

【0138】

出力パルス 5-122 は、規則的な間隔 T だけ隔てることができる。例えば、T は、出力カプラ 5-111 とキャビティエンドミラー 5-119 との間の往復移動時間によって求めることができる。いくつかの実施形態によると、パルスを隔てる間隔 T は、約 1 ns から約 30 ns の間にすることができる。いくつかの場合において、パルスを隔てる間隔 T は、約 0.7 メートル～約 3 メートルの間のレーザキャビティ長（レーザキャビティ内の光軸 5-125 のおよその長さ）に対応して、約 5 ns から約 20 ns の間にすること

50

ができる。実施形態において、パルスを隔てる間隔はレーザキャビティ内の往復移動時間に対応し、それによって3メートルのキャビティ長（6メートルの往復距離）がおよそ20 nsのパルスを隔てる間隔Tを提供する。

【0139】

いくつかの実施形態によると、所望のパルスを隔てる間隔Tおよびレーザキャビティ長は、チップ5-140上の反応チャンバの数、蛍光放射特徴、および、光電子チップ5-140からデータを読み取るためのデータ取扱い回路部の速度の組合せによって決めることができる。実施形態において、異なるフルオロフォアを、それらの異なる蛍光減衰率または特徴的な寿命によって区別することができる。したがって、それらの異なる減衰率を区別するために、選択されたフルオロフォアの十分な統計値を収集するように、十分なパルスを隔てる間隔Tがある必要がある。さらに、パルスを隔てる間隔Tが短すぎる場合、データ取扱い回路部は、多数の反応チャンバによって収集される大量のデータについていくことができない。約5 ns～約20 nsのパルスを隔てる間隔Tが、最高で約2 nsの減衰率を有するフルオロフォア、および約60,000個～10,000,000個の反応チャンバからのデータを取り扱うために好適である。

【0140】

いくつかの実施態様によると、ビームステアリングモジュール5-150が、パルス光源5-106から出力パルスを受け取ることができ、光電子チップ5-140の光カプラ（例えば、格子カプラ）への光パルスの少なくとも位置および入射角度を調整するように構成される。いくつかの場合においては、パルス光源5-106からの出力パルス5-122は、光電子チップ5-140上の光カプラにおけるビーム形状およびビームの回転の両方またはいずれかを付加的にまたは代替的に変更するために、ビームステアリングモジュール5-150によって操作することができる。いくつかの実施態様においては、ビームステアリングモジュール5-150は、光カプラへの出力パルスのビームの焦点および／または偏光の調整をさらに提供することができる。ビームステアリングモジュールの1つの例が、2016年5月20日に出願された「PULSED LASER AND BIOANALYTIC SYSTEM」と題する米国特許出願第15/161,088号に記載されており、参照により本明細書に援用される。ビームステアリングモジュールの別の例は、2016年12月16日に出願された「COMPACT BEAM SHAPING AND STEERING ASSEMBLY」と題する別の米国特許出願第62/435,679号に記載されており、参照により本明細書に援用される。

【0141】

図5-3を参照すると、パルス光源からの出力パルス5-122は、例えば、バイオ光電子チップ5-140上の1つ以上の光導波路5-312内に結合することができる。いくつかの実施形態においては、光パルスは、格子カプラ5-310を介して1つ以上の導波路に結合することができるが、いくつかの実施形態においては、光電子チップ上の1つ以上の光導波路の端に結合することを採用することができる。いくつかの実施形態によると、光パルス5-122のビームを格子カプラ5-310に位置合わせすることを助けるために、クアド検出器5-320を半導体基板5-305（例えば、シリコン基板）に位置付けることができる。1つ以上の導波路5-312および反応チャンバまたは反応チャンバ5-330は、基板、導波路、反応チャンバおよび光検出器5-322間に誘電体層（例えば、二酸化ケイ素層）が介在した状態で、同じ半導体基板に集積させることができる。

【0142】

それぞれの導波路5-312は、反応チャンバ5-330の下にテーパ状部分5-315を含み、導波路に沿って反応チャンバに結合される光出力を均質化することができる。先細りテーパは、より多くの光エネルギーを導波路のコアの外に押しやることができ、反応チャンバへの結合を増大させ、反応チャンバ内への光の結合の損失を含む、導波路に沿う光損失を相殺する。第2の格子カプラ5-317を、それぞれの導波路の端に位置付け、光エネルギーを集積されたフォトダイオード5-324に方向付けることができる。集

積されたフォトダイオードは、導波路を下って結合される出力の量を検出し、検出された信号を、例えば、ビームステアリングモジュール 5-150 を制御するフィードバック回路部に提供することができる。

【0143】

反応チャンバ 5-330 は、導波路のテーパ状部分 5-315 と位置合わせし、タブ 5-340 において窪ませることができる。それぞれの反応チャンバ 5-330 について、半導体基板 5-305 に位置付けられる光検出器 5-322 が存在することができる。いくつかの実施形態においては、導波路と各ピクセルの光検出器 5-322 との間に、半導体吸収体（図 5-5 では光学フィルタ 5-530 として示される）を位置付けてよい。金属コーティングおよび多層コーティング 5-350 の両方またはそのいずれかを、反応チャンバの周りおよび導波路の上に形成し、反応チャンバ内にはない（例えば、反応チャンバ上の溶液中に分散している）フルオロフォアの光励起を防止することができる。金属コーティングおよび多層コーティング 5-350 の両方またはそのいずれかは、タブ 5-340 の縁を越えて隆起させ、それぞれの導波路 5-312 の入力端および出力端における導波路内の光エネルギーの吸収損失を低減することができる。

【0144】

光電子チップ 5-140 上には導波路、反応チャンバおよび時間ビニング光検出器の複数の列があるものとする。例えば、いくつかの実施態様においては、128 個の列があるものとする。それぞれが 512 個の反応チャンバを有し、全部で 65,536 個の反応チャンバがある。他の実施態様は、より少ないかまたはより多い反応チャンバを含むことができ、他のレイアウト構造を含むことができる。パルス光源 5-106 からの光出力は、1 つ以上のスターカプラまたはマルチモード干渉カプラを介して、またはチップ 5-140 の光カプラ 5-310 と複数の導波路 5-312 との間に位置付けられる任意の他の手段によって、複数の導波路に分配することができる。

【0145】

図 5-4 は、導波路のテーパ状部分 5-315 内の光パルス 5-122 から反応チャンバ 5-330 までの光エネルギーの結合を示している。図面は、導波路の寸法、反応チャンバの寸法、異なる材料の光学的特性、および反応チャンバ 5-330 からの導波路のテーパ状部分 5-315 の距離を考慮した光波の電磁場シミュレーションから作成した。導波路は、例えば、二酸化ケイ素の周囲の媒体 5-410 において窒化ケイ素から形成することができる。導波路、周囲の媒体、および反応チャンバは、2015 年 8 月 7 日に出願された「INTEGRATED DEVICE FOR PROBING, DETECTING AND ANALYZING MOLECULES」と題する米国特許出願第 14/821,688 号に記載される微細加工方法によって形成することができる。いくつかの実施形態によると、エバネッセント光場 5-420 が、導波路によって運ばれる光エネルギーを反応チャンバ 5-330 に結合する。

【0146】

反応チャンバ 5-330 内で生じる生体反応の非限定的な例が、図 5-5 に示されている。この例は、標的核酸に対して相補的な成長鎖へのヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の順次組み込みを示している。順次組み込みは、反応チャンバ 5-330 内で生じることができ、DNA をシーケンシングする高度な分析機器によって検出することができる。反応チャンバは、約 150 nm ~ 約 250 nm の間の深さ、約 80 nm ~ 約 160 nm の間の直径を有することができる。金属化層 5-540（例えば、電気的な参照電位のための金属化）を、光検出器 5-322 の上にパターンニングし、隣接する反応チャンバおよび他の望ましくない光源からの迷光をブロックするアパーチャまたは虹彩絞りを提供することができる。いくつかの実施形態によると、ポリメラーゼ 5-520 を反応チャンバ 5-330 内に位置付ける（例えば、チャンバのベースに付着させる）ことができる。ポリメラーゼは、標的核酸 5-510（例えば、DNA 由来の核酸の一部）を取り込み、相補的な核酸の成長鎖をシーケンシングして、DNA 5-512 の成長鎖を生成することができる。異なるフルオロフォアで標識付けされたヌクレオチドまたはヌクレオチド類

似体は、反応チャンバの上および反応チャンバ内の溶液中に分散させることができる。

【0147】

標識付けされたヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体 5-610 が、図 5-6 に示されているように、相補的な核酸の成長鎖に組み込まれると、1つ以上の付着しているフルオロフォア 5-630 を、導波路 5-315 から反応チャンバ 5-330 内に結合される光エネルギーのパルスによって繰り返し励起することができる。いくつかの実施形態においては、フルオロフォア（単数または複数） 5-630 は、任意の好適なリンカー 5-620 によって 1つ以上のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体 5-610 に付着させることができる。組み込み事象は、最長で約 100 ms の時間期間にわたって続くことができる。この時間の間に、モードロックレーザからのパルスによるフルオロフォアの励起の結果として生じる蛍光放射のパルスを、例えば、時間ビンング光検出器 5-322 によって検出することができる。いくつかの実施形態においては、信号の取扱い（例えば、増幅、読み出し、ルーティング、信号前処理など）のため、各ピクセルに 1つ以上の追加の集積された電子デバイス 5-323 が存在することができる。いくつかの実施形態によると、各ピクセルは、蛍光放射を通過させるとともに、励起パルスからの放射の透過を低減する少なくとも 1つの光学フィルタ 5-530（例えば、半導体吸収体）を含むことができる。いくつかの実施形態は光学フィルタ 5-530 を使用しなくてよい。異なる放射特徴（例えば、蛍光減衰率、強度、蛍光波長、パルス持続時間、パルス間持続時間）を有するフルオロフォアを、異なるヌクレオチド（A、C、G、T）に付着させることによって、DNA 5-512 の鎖が核酸を組み込む間に、異なる放射特徴を検出および区別することは、DNA の成長鎖の遺伝子配列の決定を可能にする。

10

20

【0148】

入射放射光によって生成された電荷キャリアを時間ビンングして、放射光のタイミング情報（例えば、蛍光寿命、パルス持続時間、パルス間持続時間）を容易に得るための技術は、例えば、III 欄に関して本明細書に記載されている。および V は、DNA および／または RNA シーケンシング用途に適用されてよい。例えば、いくつかの実施形態によると、蛍光放射特徴に基づいてサンプルを分析するように構成された高度な分析機器 5-100 は、異なる蛍光分子間の蛍光寿命および／または強度の差、および／または、異なる環境における同じ蛍光分子の寿命および／または強度の差を検出することができる。説明として、図 5-7 は 2つの異なる蛍光放射確率曲線（A および B）をプロットしており、これは例えば、2つの異なる蛍光分子からの蛍光放射を表し得る。曲線 A（破線）を参照すると、短光パルスまたは超短光パルスによって励起された後で、第 1 の分子からの蛍光放射の確率 $p_A(t)$ は、図示されるように、時間とともに減衰する可能性がある。いくつかの場合においては、経時に放射される光子の確率の低下は、指数関数的減数関数 $p_A(t) = P_{A0} e^{-t/\tau_1}$ によって表し得、式中、 P_{A0} は初期の放射確率であり、 τ_1 は、放射減衰確率を特徴付ける第 1 の蛍光分子に関連付けられる時間的パラメータである。 τ_1 は、第 1 の蛍光分子の「蛍光寿命」、「放射寿命」または「寿命」と称することもある。いくつかの場合においては、 τ_1 の値は、蛍光分子の局所的な環境によって変わる可能性がある。他の蛍光分子は、曲線 A に示されているものとは異なる放射特徴を有することができる。例えば、別の蛍光分子は、単一の指数関数的減衰とは異なる減衰プロファイルを有する可能性があり、その寿命は、半減期値または何らかの他のメトリックによって特徴付けることができる。

30

40

【0149】

第 2 の蛍光分子は、図 5-7 において曲線 B について示されるように、急激であるが、明らかに異なる寿命 τ_2 を有する減衰プロファイル $p_B(t)$ を有することができる。図示される例では、曲線 B の第 2 の蛍光分子の寿命は、曲線 A の寿命よりも短く、放射の確率 $p_B(t)$ は、曲線 A の場合よりも、第 2 の分子の励起後により早く高くなる。異なる蛍光分子は、いくつかの実施形態においては、約 0.1 ns ~ 約 20 ns の範囲の寿命または半減期を有することができる。

【0150】

50

蛍光放射寿命の差を使用することで、異なる蛍光分子の有無を判別するおよび／または蛍光分子が供される異なる環境もしくは状況を判別することができる。いくつかの場合においては、（例えば、放射波長ではなく）寿命に基づいて蛍光分子を判別することは、分析機器 5-100 の態様を簡略化することができる。一例として、寿命に基づいて蛍光分子を判別する場合には、波長弁別光学系（波長フィルタ、それぞれの波長の専用の検出器、異なる波長における専用のパルス光源、および／または、回折光学系）の数を減らすか、またはそれを排除することができる。いくつかの場合においては、単一の特徴的な波長で動作する単一のパルス光源を使用して、光学スペクトルの同じ波長領域内で放射するが、明らかに異なる寿命を有する異なる蛍光分子を励起することができる。同じ波長領域において放射する異なる蛍光分子を励起および判別するために、異なる波長で動作する多数の源ではなく、単一のパルス光源を使用する分析システムは、操作およびメンテナンスするためにあまり複雑ではないものとすることができ、よりコンパクトであり、より低いコストで製造することができる。

10

【0151】

蛍光寿命分析に基づく分析システムには一定の利点があるが、追加の検出技術を行わせることで、分析システムによって得られる情報量および／または検出精度を向上することができる。本明細書に記載されるように、例えば、いくつかの分析システム 5-160 は、蛍光波長、パルス持続時間／幅、パルス間持続時間、および／または蛍光強度に基づいてサンプルの 1 つ以上の特性を識別するようにさらに構成することができる。

20

【0152】

再び図 5-7 を参照すると、いくつかの実施形態によれば、蛍光分子の励起に続く蛍光放射事象を時間ビンニングするように構成された光検出器を用いて、異なる蛍光寿命を区別することができる。時間ビンニングは、光検出器について単一の電荷蓄積サイクル中に行い得る。一電荷蓄積サイクルは、時間ビンニング光検出器のビンに光生成されたキャリアが蓄積される読み出し事象の間の間隔である。放射事象の時間ビンニングによって蛍光寿命を決定する技術的思想は、図 5-8 にグラフで紹介されている。 t_1 の直前の時点 t_e において、ある蛍光分子または同じタイプ（例えば、図 5-7 の曲線 B に対応するタイプ）の蛍光分子のアンサンプルが、短光パルスまたは超短光パルスによって励起される。分子の大きいアンサンプルの場合、放射の強度は、図 5-8 に示されるように、曲線 B に類似の時間プロファイルを有することができる。

30

【0153】

しかし、単一の分子または少数分子については、蛍光光子の放射は、図 5-7 の統計曲線 B に従って発生する。時間ビンニング光検出器 5-322 は、複数の放射事象から生成された複数のキャリアを複数の個別の時間ビンに蓄積させ得る。図 5-8 には 3 つのビンが示されているが、より少数のビンまたはより多数のビンを実施形態において使用し得る。ビンは、蛍光分子の励起時間 t_e に対して時間的に分解され得る。例えば、第 1 のビンは、時間 t_e における励起事象の後に生じる、時間 t_1 と時間 t_2 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができる。第 2 のビンは、時間 t_2 と時間 t_3 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができる。第 3 のビンは、時間 t_3 と時間 t_4 との間の間隔中に生成されたキャリアを蓄積することができる。多数の放射事象を合計すると、複数の時間ビンに蓄積されたキャリアは、図 5-8 に示される減衰強度曲線に近似することができる。ビンニング後の信号は、異なる蛍光分子同士をまたは蛍光分子が位置する異なる環境同士を区別するのに使用することができる。

40

【0154】

時間ビンニング光検出器 5-322 の例は、2015 年 8 月 7 日に出願された「INTEGRATED DEVICE FOR TEMPORAL BINNING OF RECEIVED PHOTONS」と題する米国特許出願第 14/821,656 号、および、2017 年 12 月 22 日に出願された「INTEGRATED PHOTODETECTOR WITH DIRECT BINNING PIXEL」と題する米国特許出願第 15/852,571 号に記載されており、それぞれ参照によりその全体が本明細書

50

に援用される。説明のために、時間ビンング光検出器の非限定的な実施形態が図5-9に示されている。単一の時間ビンング光検出器5-322は、光子吸収／キャリア生成領域5-902、キャリア放電チャネル5-906、および複数のキャリア蓄積領域5-908a、5-908bを備えることができ、すべて半導体基板上に形成される。キャリア転送チャネル5-907は、光子吸収／キャリア生成領域5-902とキャリア蓄積領域5-908a、5-908bとの間を接続することができる。図示した例では、2つの電荷蓄積領域が示されているが、それより多くても少なくてもよい。キャリア蓄積領域に接続された読み出しチャネル5-910が存在し得る。光子吸収／キャリア生成領域5-902、キャリア放電チャネル5-906、キャリア蓄積領域5-908a、5-908b、および読み出しチャネル5-910は、半導体を局所的にドーピングすることによって、および／または、光検出能力、閉じ込め、およびキャリアの輸送を提供するよう隣接する絶縁領域を形成することによって形成することができる。時間ビンング光検出器5-322はまた、基板上に形成された電極5-920、5-921、5-922、5-923、5-924を含むことができ、それらは当該デバイスを介してキャリアを輸送するために、当該デバイス内に電場を生成するように構成されている。

10

20

30

40

50

【0155】

動作中、パルス光源5-106（例えば、モードロックレーザ）からの励起パルス5-122の一部分は、時間ビンング光検出器5-322を介して反応チャンバ5-330に送達される。最初に、いくつかの励起放射光子5-901が光子吸収／キャリア生成領域5-902に到達し、キャリアを生成する（薄い影付きの円として示される）。励起放射光子5-901と共に到着し、（濃い影を付けた円として示す）対応するキャリアを生成する蛍光放射光子5-903がいくつか存在することがある。最初に、励起放射によって生成されるキャリアの数は、蛍光放射によって生成されるキャリアの数と比較して過大である場合がある。例えば、時間間隔 $|t_e \sim t_1|$ 中に生成された初期キャリアは、第1の転送ゲート5-920がキャリア放電チャネル5-906へとゲート動作することによって除去することができる。

【0156】

後の時点で、ほとんどの蛍光放射光子5-903は、光子吸収／キャリア生成領域5-902に到着し、反応チャンバ5-330からの蛍光放射を表す有用で検出可能な信号を提供するキャリア（濃い影を付けた円として示す）を生成する。いくつかの検出方法によれば、第2の電極5-921および第3の電極5-923は、後の時点で（例えば、第2の時間間隔 $|t_1 \sim t_2|$ 中に）生成されたキャリアを第1のキャリア蓄積領域5-908aへと方向付けるよう後の時点でゲート動作され得る。続いて、第4の電極5-922および第5の電極5-924は、キャリアを第2のキャリア蓄積領域5-908bへと方向付けるよう後の時点で（例えば、第3の時間間隔 $|t_2 \sim t_3|$ 中に）ゲート動作され得る。電荷蓄積は、各キャリア蓄積領域5-908a、5-908bに相当数のキャリアおよび信号レベルを蓄積するよう、多数の励起パルスにわたる励起パルスの後このように継続することができる。後の時点で、ピンから信号が読み出されることができる。いくつかの実装では、各蓄積領域に対応する時間間隔はサブナノ秒の時間スケールであるが、（例えば、発蛍光団がより長い減衰時間を有する実施形態など）いくつかの実施形態ではより長い時間スケールを使用することができる。

【0157】

励起事象（例えば、パルス光源からの励起パルス）後にキャリアを生成し時間ビンングするプロセスは、単一の励起パルスの後に1回生じるか、または時間ビンング光検出器5-322の単一の電荷蓄積サイクル中に複数の励起パルスの後に複数回繰り返されることができる。電荷蓄積が完了した後、読み出しチャネル5-910を介して蓄積領域からキャリアが読み出され得る。例えば、蓄積領域5-908a、5-908bからキャリアを除去するよう、電極5-923、5-924におよび少なくとも電極5-940に適切なバイアスシーケンスを印加することができる。電荷の蓄積と読み出しのプロセスは、光電子チップ5-140上で超並列操作で行うことができ、その結果複数のデータフレームが

得られる。

【0158】

図5-9に関連して説明された例は、複数のキャリア蓄積領域5-908a、5-908bを含むが、いくつかの場合においては、代わりに単一の電荷蓄積領域を使用することができる。例えば、時間ビンング光検出器5-322にはピン1のみが存在してよい。そのような場合、単一のキャリア蓄積領域5-908aは、異なる励起事象の後の異なる時間間隔を見るために、可変時間ゲート方式で動作することができる。例えば、第1の一連の励起パルスにおけるパルス後に、キャリア蓄積領域5-908a用の電極は、第1の時間間隔中に（例えば、第2の時間間隔 | $t_1 \sim t_2$ | 中に）生成されたキャリアを収集するようゲート動作されることができ、蓄積された信号は、第1の所定数のパルスの後に読み出されることができる。同じ反応チャンバにおける後続する一連の励起パルスにおけるパルス後、蓄積領域5-908aの同じ電極は、異なる間隔中に（例えば、第3の時間間隔 | $t_2 \sim t_3$ | 中に）生成されたキャリアを収集するようゲート動作されることができ、蓄積された信号は、第2の所定数のパルスの後に読み出されることができる。キャリアは、必要に応じて、同様の方法で後の時間間隔で収集されることができる。このようにして、単一のキャリア蓄積領域を使用して、励起パルスが反応チャンバに到着した後の異なる期間中の蛍光放射に対応する信号レベルを生成することができる。

10

【0159】

励起後の異なる時間間隔中にいかに電荷蓄積を行うかに関係なく、読み出された信号は、例えば、蛍光放射減衰特徴を表すピンのヒストグラムを提供することができる。図5-10Aおよび図5-10Bには、2つの電荷蓄積領域を使用して反応チャンバから蛍光放射を取得する例示的なプロセスが示されている。ヒストグラムのピンは、反応チャンバ5-330でのフルオロフォアの励起後の各時間間隔中に検出された光子の数を示し得る。いくつかの実施形態では、ピンの信号は、図5-10Aに示されるように、多数の励起パルスの後に蓄積される。励起パルスは、パルス時間間隔Tによって隔てられる時点 t_{e1} , t_{e2} , t_{e3} , ..., t_{eN} で発生することができる。いくつかの場合において、反応チャンバで観察される1回の事象（例えば、DNA分析における1回のヌクレオチド組み込み事象）について、電子蓄積ピンへの信号の蓄積中に反応チャンバに印加される励起パルス5-122（またはその部分）は 10^5 個から 10^7 個存在することができる。いくつかの実施形態では、1つの電ピン（ピン0）は、各光パルスで送達される励起エネルギーの振幅を検出するように構成することができ、基準信号として（例えば、データを正規化するために）使用することができる。他の場合においては、励起パルスの振幅は、安定しており、信号取得中に1回以上判断され、各励起パルス後に判断されなくてよく、各励起パルス後にピン0の信号取得はない。そのような場合、図5-9に関連して上記説明したように、励起パルスが生成するキャリアは除去されることができ、光子吸収／キャリア生成領域5-902から除去およびダンプされることが可能である。

20

30

【0160】

いくつかの実施態様においては、図5-10Aに示すように、励起事象に続いてフルオロフォアから単一の光子のみが放射されることができる。時点 t_{e1} における第1の励起事象後、時点 t_{f1} での放射光子は第1の時間間隔内（例えば、時点 t_1 と t_2 との間）で生じることができ、結果として生じる電子信号が第1の電子蓄積領域に蓄積される（ピン1に寄与する）。時点 t_{e2} での後続励起事象において、時点 t_{f2} での放射光子は第2の時間間隔内（例えば、時点 t_2 と t_3 との間）で生じることができ、結果として生じる電子信号はピン2に寄与する。時点 t_{e3} での次の励起事象後、第1の時間間隔内で発生する時点 t_{f3} で光子が放射され得る。

40

【0161】

いくつかの実施態様においては、反応チャンバ5-330で各励起パルスが受け取られた後に放射および／または検出される蛍光光子が存在しないことがある。いくつかの場合において、反応チャンバに送達される励起パルス10,000個につき1個程度の蛍光光子しか反応チャンバで検出されないことがあり得る。パルス励起源5-106としてモー

50

ドロックレーザ 5-113 を実装することの 1 つの利点は、モードロックレーザが高強度から素早いターンオフ時間を有する短い光パルスを（例えば、50 MHz から 250 MHz の間の）高いパルス繰り返し速度で生成することができることである。このような高いパルス繰り返し速度により、電荷蓄積間隔が 10 ミリ秒内の励起パルス数は 50, 000 ~ 250, 000 であり得、検出可能信号を蓄積できる。

【0162】

多数の励起事象およびキャリア蓄積の後で、時間ビニング光検出器 5-322 のキャリア蓄積領域を読み出して反応チャンバの多値信号（例えば、2 つ以上の値のヒストグラム、N 次元ベクトルなど）を提供することができる。各ビンの信号値は、フルオロフォアの減衰率に応じて変わることがある。図 5-8 を再び参照すると、例えば、減衰曲線 B を有するフルオロフォアはビン 2 に対するビン 1 の信号比が、減衰曲線 A を有するフルオロフォアよりも高くなるであろう。複数のビンからの複数の値を分析し、校正値に対しておよび／または互いに比較して、存在する特定のフルオロフォアを決定することができる。シーケンシング用途の場合、フルオロフォアの同定は、DNA の成長鎖に組み込まれることになるヌクレオチドまたはヌクレオチドアナログを決定することができる。他の用途の場合、フルオロフォアの同定は、フルオロフォアにリンクできる、関心対象の分子または関心対象のサンプルのアイデンティティを決定することができる。

10

【0163】

信号分析の理解をさらに助けるために、蓄積されるマルチビン値は、例えば、図 5-10B に示されるように、ヒストグラムとしてプロットすることができるか、または N 次元空間におけるベクトルもしくは位置として記録することができる。校正の実行は、4 つのヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体にリンクする 4 個の異なるフルオロフォアに関して、多値信号の校正値（例えば、校正ヒストグラム）を取得するように別個に行うことができる。一例として、校正ヒストグラムは、図 5-11A（T ヌクレオチドに関連付けられる蛍光ラベル）、図 5-11B（A ヌクレオチドに関連付けられる蛍光ラベル）、図 5-11C（C ヌクレオチドに関連付けられる蛍光ラベル）、および図 5-11D（G ヌクレオチドに関連付けられる蛍光ラベル）において示されるように見える場合がある。（図 5-10B のヒストグラムに対応する）測定された多値信号と、校正用の多値信号との比較によって、DNA の成長鎖に組み込まれているヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体のアイデンティティ「T」（図 5-11A）を求めることができる。

20

30

【0164】

いくつかの実施態様においては、蛍光強度を付加的にまたは代替的に使用して、異なるフルオロフォアを区別することができる。例えば、いくつかのフルオロフォアは、有意に異なる強度で放射するか、または、それらの減衰率が同様であり得る場合であってもそれらの励起の確率に有意な差を有することがある（例えば、少なくとも 35 % の差）。ビニングされた信号（ビン 5-3）を測定された励起エネルギーおよび取得された他の信号、またそのいずれかに参照することによって、強度レベルに基づいて異なるフルオロフォアを区別することを可能にすることができる。

【0165】

いくつかの実施形態においては、同じタイプの異なる数のフルオロフォアを異なるヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体にリンクすることができるため、ヌクレオチドはフルオロフォア強度に基づいて同定することができる。例えば、2 個のフルオロフォアを第 1 のヌクレオチド（例えば、「C」）またはヌクレオチド類似体にリンクさせることができ、4 個以上のフルオロフォアを第 2 のヌクレオチド（例えば、「T」）またはヌクレオチド類似体にリンクさせることができる。異なる数のフルオロフォアのために、異なるヌクレオチドに関連付けられる異なる励起およびフルオロフォア放射確率があり得る。例えば、信号蓄積間隔の間に、「T」ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体についてより多くの放射事象があってもよく、それによってビンの見かけの強度は「C」ヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の場合よりも有意に高くなる。

40

【0166】

50

フルオロフォアの減衰率およびフルオロフォアの強度、またはフルオロフォアの減衰率もしくはフルオロフォアの強度に基づいて、ヌクレオチドまたは任意の他の生物学的サンプルもしくは化学的サンプルを区別することが、分析機器 5-100 における光励起および検出システムの簡略化を可能にする。例えば、光励起を単一の波長源（例えば、多数の源または多数の異なる特徴的な波長で動作する源ではなく、1つの特徴的な波長を生成する源）を用いて行うことができる。付加的に、検出システムにおいて、異なる波長のフルオロフォア間を弁別するのに波長弁別用の光学系やフィルタが必要ではないことがある。また、異なるフルオロフォアからの放射を検出するために、それぞれの反応チャンバに単一の光検出器を使用することができる。しかしながら、いくつかの実施形態では、サンプルを識別するために、強度、寿命、波長、パルス持続時間および／またはパルス間持続時間の複数をを使用して、特定の分子を同定するための追加の弁別の次元を追加することが有利となる場合がある。

10

【0167】

「特徴的な波長」または「波長」という句は、放射の限定された帯域幅内の中央のまたは主な波長を指すのに使用される（例えば、パルス光源によって出力される 20 nm の帯域幅内の中央またはピークの波長）。いくつかの場合においては、「特徴的な波長」または「波長」は、光源によって出力される放射の全帯域幅内のピーク波長を指すのに使用される場合がある。

【0168】

約 560 nm ～ 約 900 nm の範囲の放射波長を有するフルオロフォアが、（CMOS プロセスを使用してシリコンウェハ上に製造することができる）時間ビンニング光検出器によって検出される十分な量の蛍光を提供することができる。これらのフルオロフォアは、遺伝学的シーケンシング用途のヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体などの、関心対象の生体分子にリンクすることができる。この波長範囲の蛍光放射は、より長い波長における蛍光よりも、シリコンベースの光検出器においてより高い感度で検出することができる。付加的に、この波長範囲におけるフルオロフォアおよび関連付けられるリンカーは、DNA の成長鎖へのヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体の組み込みを妨げないものとすることができる。いくつかの実施形態において、約 560 nm ～ 約 660 nm の範囲の放射波長を有するフルオロフォアを、単一波長源によって光学的に励起することができる。この範囲内の例示的なフルオロフォアは、Thermo Fisher Scientific Inc.（マサチューセッツ州ウォルサム）から入手可能な Alexa Fluor 647 である。より短い波長（例えば、約 500 nm ～ 約 650 nm）における励起エネルギーを使用して、約 560 nm ～ 約 900 nm の波長において放射するフルオロフォアを励起することができる。いくつかの実施形態においては、時間ビンニング光検出器は、例えば、Ge などの他の材料を光検出器の活性領域に組み込むことによって、反応チャンバからのより長い波長の放射を効率的に検出することができる。

20

30

【0169】

b. タンパク質シーケンシング用途

本開示のいくつかの態様は、タンパク質シーケンシングに有用であり得る。例えば、本開示のいくつかの態様は、特定のサンプルを同定するために、波長、寿命、強度、パルス持続時間および／またはパルス間持続時間の測定を用いた多次元弁別技術を適用するなど、ポリペプチドからアミノ酸配列情報を決定するために（例えば、1つ以上のポリペプチドの配列を決定するために）有用である。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列情報は、単一のポリペプチド分子に対して決定することができる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドの1つ以上数のアミノ酸が（例えば、直接的または間接的に）標識付けされ、ポリペプチド内の標識付けされたアミノ酸の相対位置が決定される。いくつかの実施形態では、タンパク質中のアミノ酸の相対位置は、一連のアミノ酸標識および開裂ステップを使用して決定される。特に、本明細書に記載される多次元弁別技術は、「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」と題する米国特許出願第 16 / 686, 028 号（2019 年 11 月 15 日出願、代

40

50

理人管理番号R0708.70042US02)および「METHODS AND COMPOSITIONS FOR PROTEIN SEQUENCING」と題するPCT出願第PCT/US19/61831号(2019年11月15日出願、代理人管理番号R0708.70042WO00)に記載のタンパク質シーケンシング方法を用いて実施するように構成されてよい。これら両出願はいずれも参照によりその全体が本明細書に援用される。

【0170】

例えば、図5-12は、アミノ酸を識別するための3次元弁別技術を例示するグラフである。本発明者らは、強度、パルス持続時間、および寿命の特徴的な測定値の少なくとも1つに基づいて、個々のアミノ酸を同定可能であると認識している。特に、蛍光マーカからの放射光の強度、パルス時間、寿命の測定値を取得することで、その放射光が由来する可能性が最も高い蛍光マーカを特定するよう、それら得られた測定値を既知の測定値と比較することができる。特定の蛍光マーカを同定することで、そのマーカが結合しているアミノ酸を知ることができる。特に、強度とパルス持続時間と寿命との3次元弁別を用いることで、20種類すべての標準的な遺伝学的アミノ酸を同定でき、および翻訳後修飾物を同定可能である。示した実施形態では、特定のアミノ酸を同定するための3次元弁別技術が図示されているが、本発明者らは、2次元、4次元、および/または5次元技術を含む多次元技術のいずれかがタンパク質シーケンシング用途に適用され得ることを理解している。加えて、示された実施形態では、強度、寿命、およびパルス持続時間の測定値を用いる3次元弁別技術を示しているが、例えば、強度、寿命、波長、パルス持続時間および/またはパルス間持続時間のうちの任意のものといった、他の適切な組み合わせが本明細書に記載される多次元技術において実施され得ると理解される。

【0171】

いくつかの実施形態において、末端アミノ酸(例えば、N末端またはC末端アミノ酸)のアイデンティティを評価し、その後末端アミノ酸を除去して、末端の次のアミノ酸のアイデンティティを評価し、このプロセスをポリペプチド内の複数の連続するアミノ酸が評価されるまで繰り返す。いくつかの実施形態において、アミノ酸のアイデンティティを評価することは、存在するアミノ酸の種類を判断することを含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸の種類を判断することは、例えば、天然由来の20のアミノ酸のうちのどれが末端アミノ酸であるかを判断することによって(例えば、個々の末端アミノ酸に固有の認識分子を使用して)、実際のアミノ酸のアイデンティティを判断することを含む。しかし、いくつかの実施形態において、末端アミノ酸の種類アイデンティティを評価することは、ポリペプチドの末端に存在する可能性のある候補アミノ酸の部分集合を判断することを含むことができる。いくつかの実施形態において、これはアミノ酸が1つ以上の固有アミノ酸ではない(そのため、他のアミノ酸のいずれかであり得る)と判断することによって実現することができる。いくつかの実施形態において、これは指定されるアミノ酸の部分集合(例えば、サイズ、電荷、疎水性、結合特性に基づいて)のうちのどれが、ポリペプチドの末端にあり得るかを判断することによって実現することができる(例えば、2つ以上の末端アミノ酸の指定部分集合に結合する認識分子を使用して)。

【0172】

ポリペプチドのアミノ酸は、例えば、ポリペプチド上のアミノ酸の1つ以上の種類を選択的に結合するアミノ酸認識分子を使用して、間接的に標識付けすることができる。ポリペプチドのアミノ酸は、例えば、一意に同定可能なラベルを用いて、ポリペプチド上のアミノ酸側鎖の1つ以上の種類を選択的に修飾することによって、直接的に標識付けすることができる。アミノ酸側鎖の選択的な標識付けの方法、ならびに標識付けされたポリペプチドの調製および分析に関する詳細は、当業界において公知である(例えば、Swaminathan, et al., PLoS Comput Biol., 2015, 11(2): e1004080を参照)。したがって、いくつかの実施形態において、アミノ酸の1つ以上の種類は、アミノ酸の1つ以上の種類を選択的に結合する1つ以上のアミノ酸認識分子の結合を検出することによって同定される。いくつかの実施形態において、アミ

ノ酸の1つ以上の種類は、標識付けされたポリペプチドを検出することによって同定される。

【0173】

いくつかの実施形態において、タンパク質における標識付けされたアミノ酸の相対位置は、タンパク質からアミノ酸を除去しなくても求めることができるが、例えば、タンパク質分子における標識付けされたアミノ酸の相対位置を求めるために、標識付けされたタンパク質を空孔（例えば、タンパク質チャンネル）に移行し、空孔に移行中に標識付けされたアミノ酸からの信号（例えば、フェルスター共鳴エネルギー移動（FRET）信号）を検出することによって求めることができる。

【0174】

本明細書で使用されるとき、ポリペプチドのシーケンシングとは、ポリペプチドの配列情報を決定することをいう。いくつかの実施形態において、これはポリペプチドの一部（またはすべて）について各アミノ酸配列のアイデンティティを決定することを伴うことができる。しかし、いくつかの実施形態において、これは、ポリペプチド内のアミノ酸の部分集合のアイデンティティを評価すること（例えば、また、ポリペプチド内の各アミノ酸のアイデンティティを決定せずに、1つ以上のアミノ酸の種類の相対位置を決定すること）を伴うことができる。しかし、いくつかの実施形態において、アミノ酸含有量情報は、ポリペプチド内のアミノ酸の異なる種類の相対位置を直接決定せずに、ポリペプチドから取得することができる。アミノ酸含有量のみを使用して、存在するポリペプチドのアイデンティティを推測することもできる（例えば、アミノ酸含有量をポリペプチド情報のデータベースと比較し、どのポリペプチドが同じアミノ酸含有量を有するかを決定することにより）。

【0175】

いくつかの実施形態において、より長いポリペプチドまたはタンパク質から得られる（例えば、酵素による開裂および化学的な開裂、またはそのいずれかの開裂を介して）複数のポリペプチド生成物についての配列情報を分析して、より長いポリペプチドまたはタンパク質の配列を再構築または推測することができる。したがって、いくつかの実施形態は、ポリペプチドの複数の断片をシーケンシングすることによって、ポリペプチドをシーケンシングのための組成および方法を提供する。いくつかの実施形態において、ポリペプチドをシーケンシングすることは、複数のポリペプチドの断片についての配列情報を組み合わせて、そのポリペプチドの配列を同定および／または決定することを含む。いくつかの実施形態において、配列情報を組み合わせることは、コンピュータハードウェアおよびソフトウェアによって行うことができる。本明細書で説明される方法は、有機体のプロテオーム全体など、関連するポリペプチドの集合をシーケンシングすることを可能にすることができる。いくつかの実施形態において、複数の単一分子シーケンシング反応を並列して行うことができる（例えば、単一のチップ上で）。例えば、いくつかの実施形態において、複数の単一分子シーケンシング反応は、それぞれ単一チップ上の個別のサンプルウェルで行われる。

【0176】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される方法は、タンパク質の複合混合物を含むサンプル内の個々のタンパク質のシーケンシングおよび同定に使用することができる。いくつかの実施形態は、タンパク質の複合混合物内の個々のタンパク質を一意に同定する方法を提供する。いくつかの実施形態において、個々のタンパク質は、タンパク質の部分的なアミノ酸配列を決定することによって、混合サンプル内で検出される。いくつかの実施形態において、タンパク質の部分的なアミノ酸配列は、およそ5～50個のアミノ酸の連続した区間内にある。

【0177】

いかなる特定の理論に束縛されるものではないが、ほとんどのヒトタンパク質はプロテオームデータベースを参照して不完全な配列情報を使用して同定できると考えられている。例えば、ヒトプロテオームの単純なモデリングにより、タンパク質のおよそ

10

20

30

40

50

98%は6～40個のアミノ酸の区間の中からわずか4種類のアミノ酸を検出することによって一意に同定することができることが証明されている（例えば、Swaminathan, et al., PLoS Comput Biol., 2015, 11(2): e1004080およびYao, et al. Phys. Biol. 2015, 12(5): 055003を参照）。そのため、タンパク質の複合混合物は、およそ6～40個のアミノ酸の短いポリペプチド断片に分解する（例えば、化学的に分解する、酵素分解する）ことができ、このポリペプチドライブラリのシーケンシングはオリジナルの複合混合物に存在するタンパク質の各々のアイデンティティおよび存在量を明らかにするであろう。部分的な配列情報を決定することによる選択的なアミノ酸標識付けおよびポリペプチドの同定のための組成および方法は、2015年9月15日に出願された「SINGLE MOLECULE PEPTIDE SEQUENCING」と題する米国特許出願第15/510,962号に詳細に記載されており、参照によりその全体が援用される。

10

【0178】

いくつかの実施形態によるシーケンシングは、チップまたは集積デバイスなどの基板または固体支持体の表面上にポリペプチドを固定化することを伴うことができる。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは基板のサンプルウェルの表面上（例えば、サンプルウェルの底面上）に固定化することができる。いくつかの実施形態において、ポリペプチドの第1の末端が表面に対して固定化され、他の末端が本明細書で説明されるようにシーケンシング反応を受ける。例えば、いくつかの実施形態において、ポリペプチドはC末端側から表面に対して固定化され、末端アミノ酸の認識および分解は、ポリペプチドのN末端側からC末端側に向かって進める。いくつかの実施形態において、ポリペプチドのN末端アミノ酸が固定化される（例えば、表面に付着させられる）。いくつかの実施形態において、ポリペプチドのC末端アミノ酸が固定化される（例えば、表面に付着させられる）。いくつかの実施形態において、1つ以上の非末端アミノ酸が固定化される（例えば、表面に付着させられる）。固定化されたアミノ酸は、例えば、本明細書で説明されるように、任意の好適な共有結合または非共有結合のリンケージを使用して付着することができる。いくつかの実施形態において、複数のポリペプチドが複数のサンプルウェルに（例えば、1つのポリペプチドを、各サンプルウェルの1表面、例えば底面に、付着させる）、例えば、基板上のサンプルウェルのアレイで付着される。

20

【0179】

本開示のいくつかの態様は、末端アミノ酸の修飾および開裂の繰り返しサイクルを受ける標識付けされたポリペプチドのルミネセンスを検出することによって、ポリペプチドをシーケンシングする方法を提供する。例えば、図5-13は、いくつかの実施形態による、エドマン分解により標識付けされたポリペプチドをシーケンシングする方法を示す。いくつかの実施形態において、方法は、一般に、エドマン分解によるシーケンシングの他の方法について、本明細書で説明したように進める。例えば、いくつかの実施形態において、図5-13に示されたステップ（1）および（2）は、エドマン分解反応において、末端アミノ酸修飾および末端アミノ酸開裂についてそれぞれ本明細書の他の箇所では説明したように行うことができる。

30

【0180】

図5-13の例に示されるように、いくつかの実施形態において、方法は、（1）標識付けされたポリペプチドの末端アミノ酸を修飾するステップを含む。本明細書の他の箇所では説明するように、いくつかの実施形態において、修飾することは、末端アミノ酸をイソチオシアネート（例えば、PITC）に接触させて、イソチオシアネート修飾末端アミノ酸を作成することを含む。いくつかの実施形態において、イソチオシアネート修飾5-1210は、末端アミノ酸を、開裂試薬（例えば、本明細書で説明されるように、化学的または酵素による開裂試薬）による除去をより受けやすい形態に変換する。したがって、いくつかの実施形態において、方法は、（2）エドマン分解について本明細書の他の箇所では詳述される化学的または酵素による手段を使用して、修飾された末端アミノ酸を除去するステップを含む。

40

50

【0181】

いくつかの実施形態において、方法は、複数のサイクルにわたりステップ（１）から（２）を繰り返すことを含み、その間標識付けされたポリペプチドのルミネセンスが検出され、末端からの標識付けされたアミノ酸の除去に対応する開裂事象は検出信号の減少として検出することができる。いくつかの実施形態において、図５－１３に示されたステップ（２）の後の信号の無変化は、未知の種類のアミノ酸を特定する。したがって、いくつかの実施形態において、部分的な配列情報は、各逐次ラウンド中にステップ（２）の後に検出される信号を、検出信号の変化に基づいて決定されるアイデンティティごとにアミノ酸の種類を割り当てるか、または検出信号の無変化に基づいてアミノ酸の種類を未知のものとして特定することにより評価して決定することができる。

10

【0182】

本開示のいくつかの態様は、標識付けされたアミノ酸認識分子および標識付けされた開裂試薬（例えば、標識付けされたエキソペプチダーゼ）との末端アミノ酸の結合相互作用を評価することによって、リアルタイムでポリペプチドシーケンシングをする方法を提供する。図５－１４は、個別的な結合事象が信号出力５－１４００のパルスを生じさせるシーケンシングの方法の例を示す。図５－１４の挿入図は、このアプローチによるリアルタイムシーケンシングの一般的スキームを示す。図示されるように、標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０は、末端アミノ酸（ここではリジンとして示される）と選択的に結合および分離し、それが信号出力５－１４００に一連のパルスを生じさせ、それを使用して末端アミノ酸を同定することができる。いくつかの実施形態において、一連のパルスは対応する末端アミノ酸のアイデンティティの診断に役立ち得るパルシングパターンを提供する。

20

【0183】

理論に束縛されるものではないが、標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０は、結合の結合速度（ k_{on} ）および結合の解離速度（ k_{off} ）によって定義される結合親和性（ KD ）に従って選択的に結合する。速度定数 k_{off} および k_{on} は、それぞれパルス持続時間（例えば、検出可能な結合事象に対応する時間）およびパルス間持続時間（例えば、検出可能な結合事象間の時間）の重要な決定因子である。いくつかの実施形態において、これらの速度は、最善のシーケンシング精度を与えるパルス持続時間およびパルスレートを達成するように工作することができる。

30

【0184】

挿入図に示されるように、シーケンシング反応混合物は、標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０のものとは異なる検出可能なラベルを含む標識付けされた開裂試薬５－１４２０をさらに含む。いくつかの実施形態において、標識付けされた開裂試薬５－１４２０は、標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０のものより低い濃度で混合物中に存在する。いくつかの実施形態において、標識付けされた開裂試薬５－１４２０は、末端アミノ酸のほとんどまたはすべての種類を開裂するように広い特異性を呈する。

【0185】

信号出力５－１４００の進行によって示されるように、いくつかの実施形態において、標識付けされた開裂試薬５－１４２０による末端アミノ酸開裂は、一意に識別可能な信号パルスを生じさせ、これらの事象は標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０の結合パルスよりも高波長で発生する。このように、ポリペプチドのアミノ酸をリアルタイムのシーケンシングプロセスでカウントおよび／または同定することができる。信号出力５－１４００にさらに示されるように、いくつかの実施形態において、標識付けされたアミノ酸認識分子５－１４１０は、各種類に対応する異なる結合特性を有する２つ以上の種類のアミノ酸を結合するように工作され、これが一意に識別可能なパルシングパターンを生む。いくつかの実施形態において、複数の標識付けされたアミノ酸認識分子を使用することができ、それぞれが対応する末端アミノ酸を同定するために使用することのできる、特徴的な波長、寿命、強度、パルス持続時間、および／またはパルス管持続時間を含めて、診断に役立つパルシングパターンを有するものである。

40

50

【0186】

〔V I I I . 別例および範囲〕

本開示の技術のいくつかの態様および実施形態をこのように記載したが、様々な改変、変更および改良が当業者に容易に想起されることを理解されたい。そのような改変、変更および改良は、本明細書に記載される技術の精神および範囲内にあることが意図される。したがって、上記の実施形態は例として提示されているものにすぎないこと、ならびに、添付の特許請求の範囲およびその均等物の範囲内で、本発明の実施形態は詳細に記載されているものとは別様に実践され得ることを理解されたい。加えて、本明細書に記載される2つ以上の特徴部、システム、物品、材料、キットおよび／または方法の任意の組み合わせは、そのような特徴部、システム、物品、材料、キットおよび／または方法が相互に矛盾するものでなければ、本開示の範囲内に含まれる。

10

【0187】

また、記載したように、いくつかの態様は、1つ以上の方法として具現化してよい。方法の一部として実施される行為は、任意の好適な形で順序付けることができる。それに応じて、例示的な実施形態では連続的な行為として示されている場合であっても、いくつかの行為を同時に実施することを含み得る、示されているものとは異なる順序で行為が実施される実施形態を構築することができる。

【0188】

本明細書において定義および使用されるすべての定義は、辞書の定義、参照により援用される文献中の定義および定義される用語の通常の意味の両方、またはそのいずれかを超えて統括するものと理解されたい。

20

【0189】

本明細書および特許請求の範囲において使用される不定冠詞「a」および「an」は、明らかにそれとは反対のことが示されない限り、「少なくとも1つ」を意味するものと理解されたい。

【0190】

「および／または」などの句は、本明細書および特許請求の範囲において本願明細書で使用されるとき、そのように連結された要素の「一方または両方」を、すなわち、ある場合には連言的に存在し、他の場合には選言的に存在する要素を意味するものと理解されたい。

30

【0191】

本明細書および特許請求の範囲において本願明細書で使用されるとき、1つ以上の要素の列挙に関して、「少なくとも1つ」という句は、要素の列挙中の要素のうちのいずれか1つ以上から選択される少なくとも1つの要素を意味するものと理解されたいが、必ずしも、要素の列挙内に具体的に列挙されるあらゆる要素のうちの少なくとも1つを含むとは限らず、また要素の列挙中の要素の任意の組み合わせを排除するわけではない。この定義はまた、「少なくとも1つ」という句が言及する要素の列挙内で具体的に特定される要素以外の要素が、具体的に特定されるそれらの要素に関するか関しないかにかかわらず、任意選択的に存在し得ることを可能にする。

【0192】

特許請求の範囲および上記の明細書において、「備える」、「含む」、「担持する」、「有する」、「含有する」、「伴う」、「保持する」、「から構成される」などのようなすべての移行句はオープンエンド、すなわち限定はされないが含むことを意味するものであると理解されたい。「からなる」および「本質的に～からなる」という移行句はそれぞれクローズドまたはセミクローズドの移行句とする。

40

【図面】
【図 1 - 1 A】

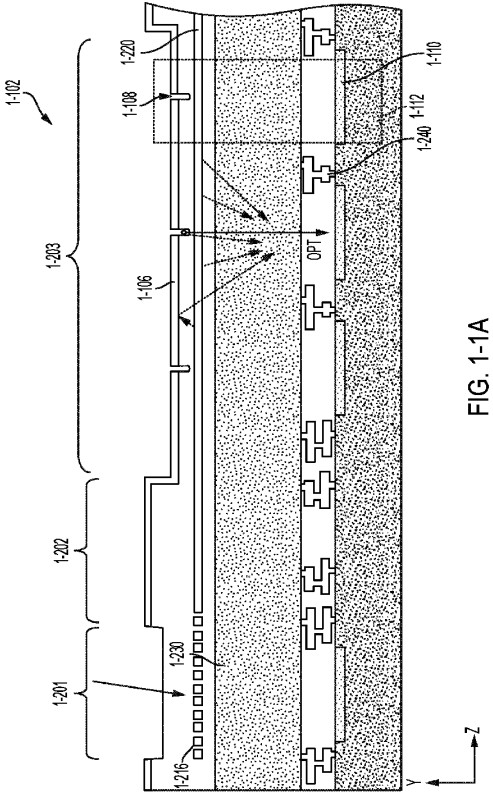


FIG. 1-1A

【図 1 - 1 B】

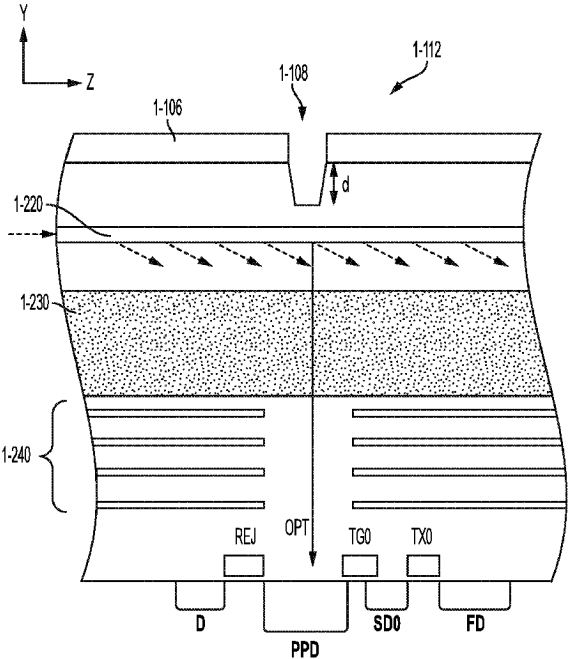


FIG. 1-1B

【図 1 - 1 C】

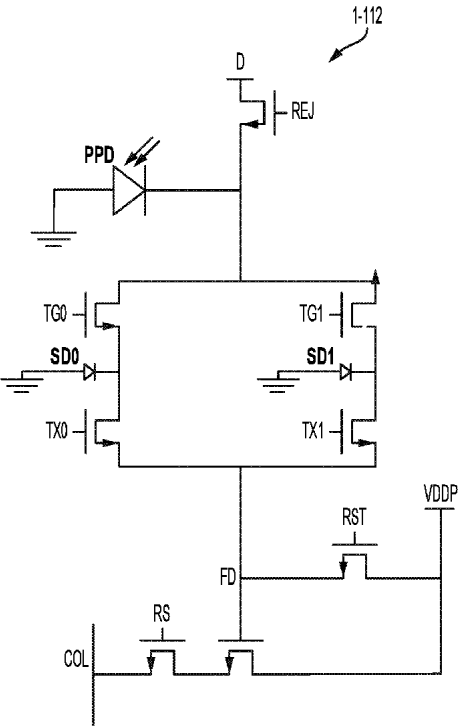


FIG. 1-1C

【図 1 - 1 D】

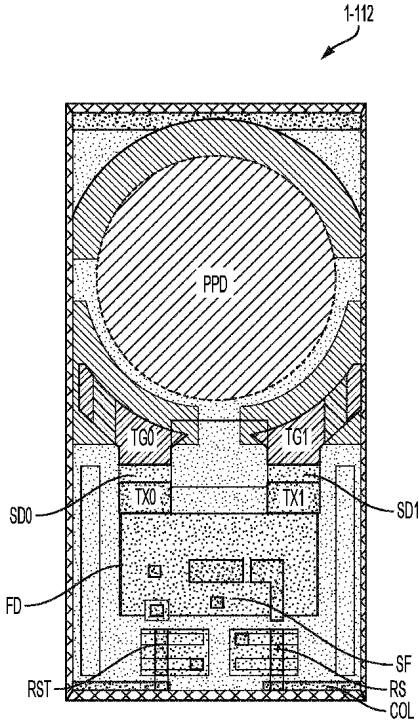


FIG. 1-1D

10

20

30

40

50

【図 1 - 2 A】

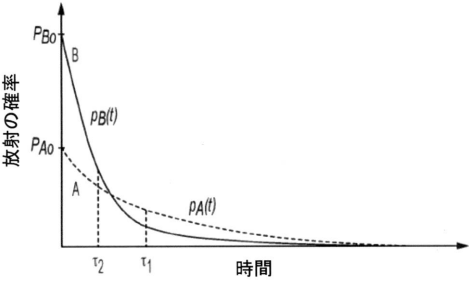


図1-2A

【図 1 - 2 B】

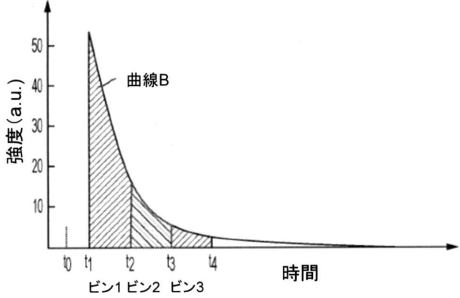


図1-2B

【図 1 - 2 C】

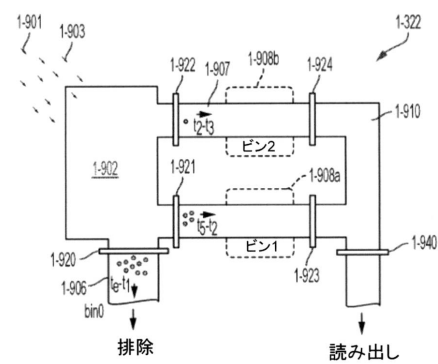


図1-2C

【図 1 - 2 D】

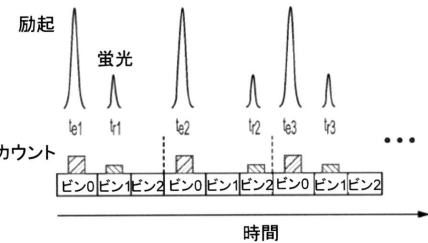


図1-2D

【図 1 - 2 E】



図1-2E

【図 2 - 1】

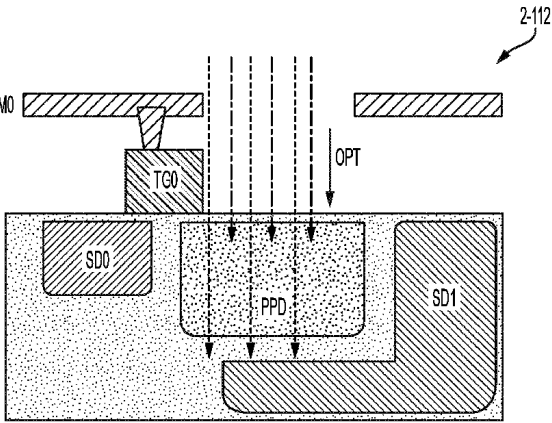


FIG. 2-1

10

20

30

40

50

【 図 2 - 2 】

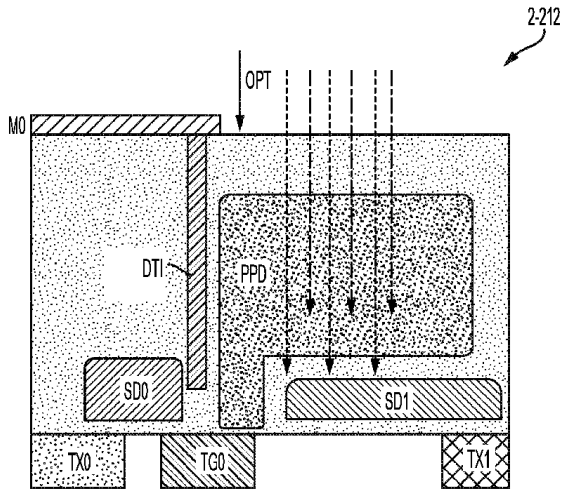


FIG. 2-2

【 図 2 - 3 】

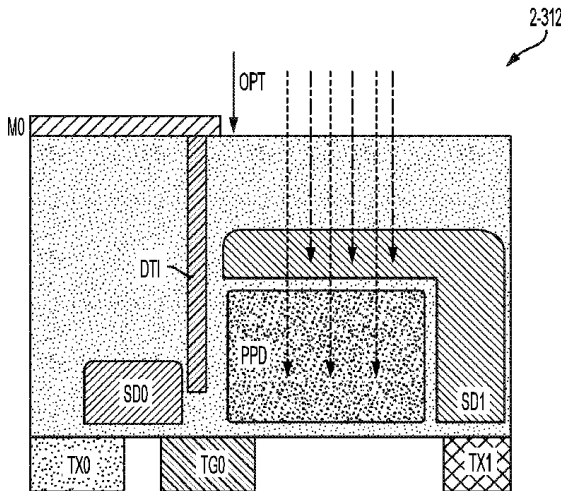


FIG. 2-3

【 図 2 - 4 】

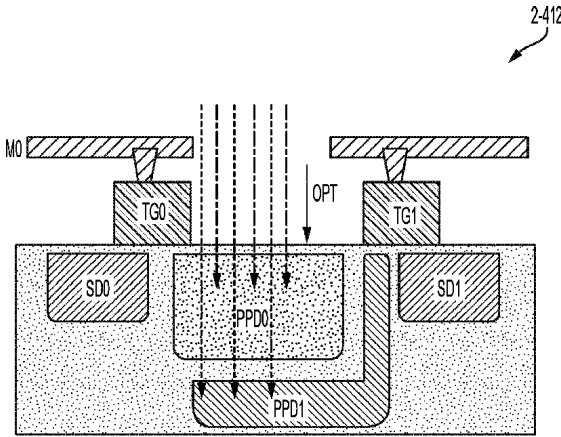


FIG. 2-4

【 図 2 - 5 】

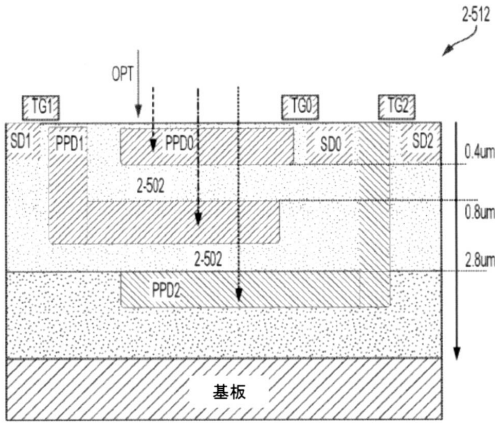


图2-5

10

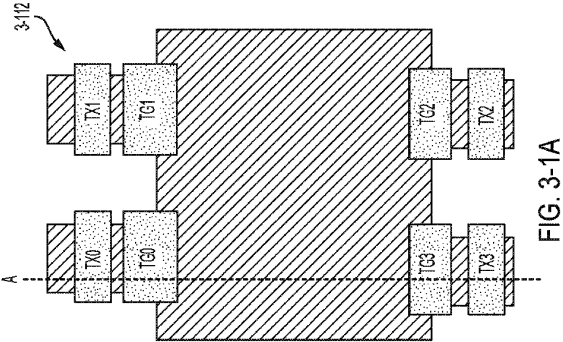
20

30

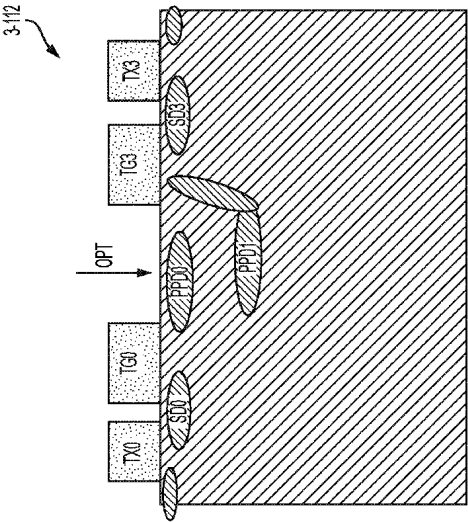
40

50

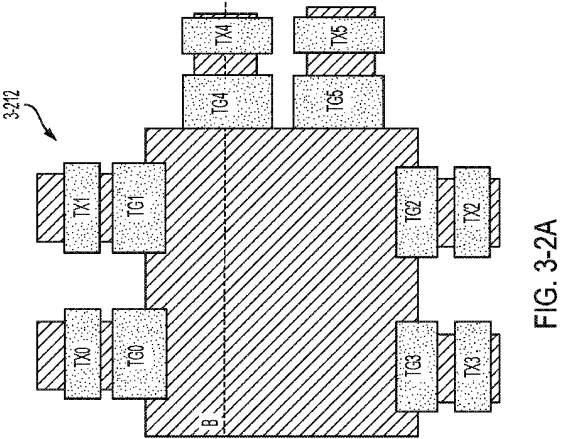
【 図 3 - 1 A 】



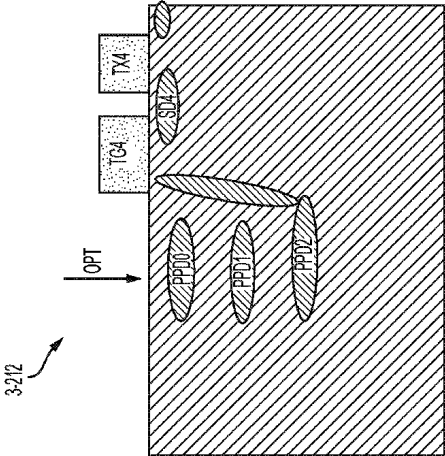
【 図 3 - 1 B 】



【 図 3 - 2 A 】



【 図 3 - 2 B 】



10

20

30

40

50

【図 3 - 3 A】

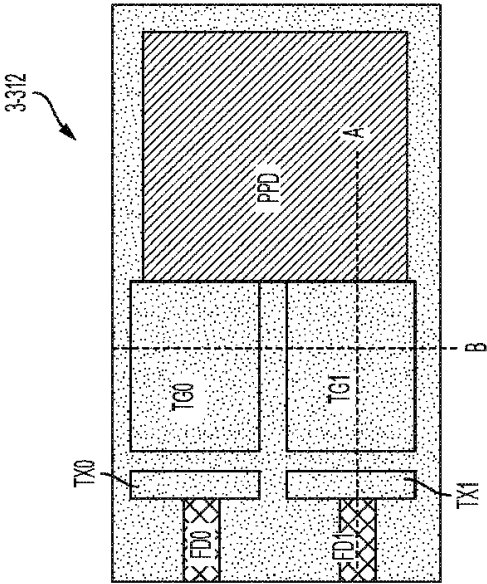


FIG. 3-3A

【図 3 - 3 B】

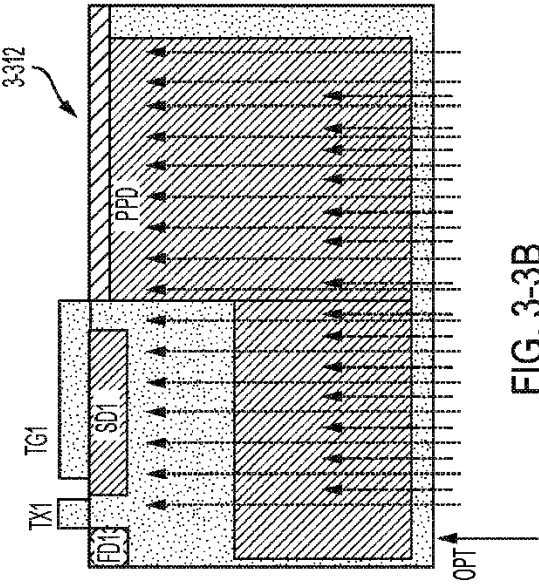


FIG. 3-3B

【図 3 - 3 C】

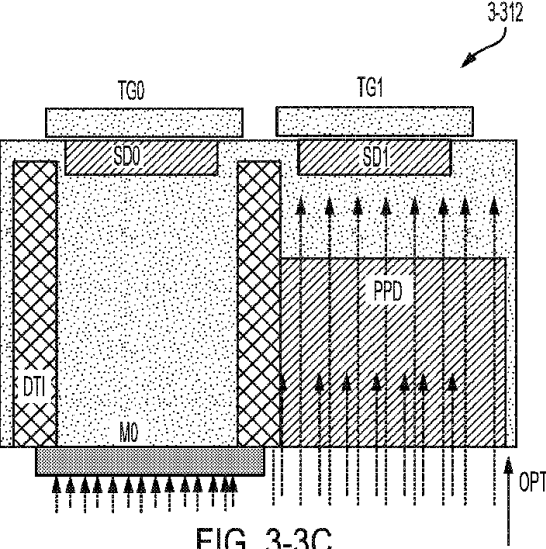


FIG. 3-3C

【図 3 - 4】

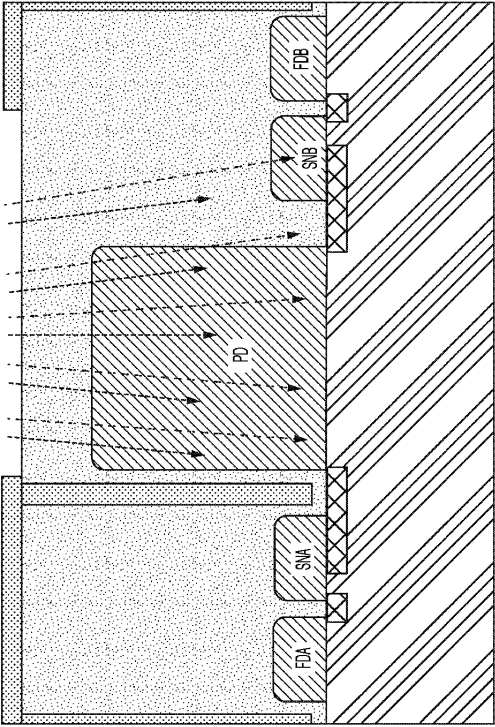


FIG. 3-4

10

20

30

40

50

【図 4 - 1】

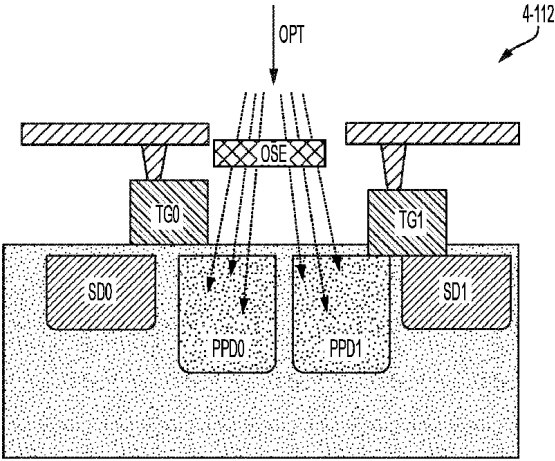


FIG. 4-1

【図 4 - 2】

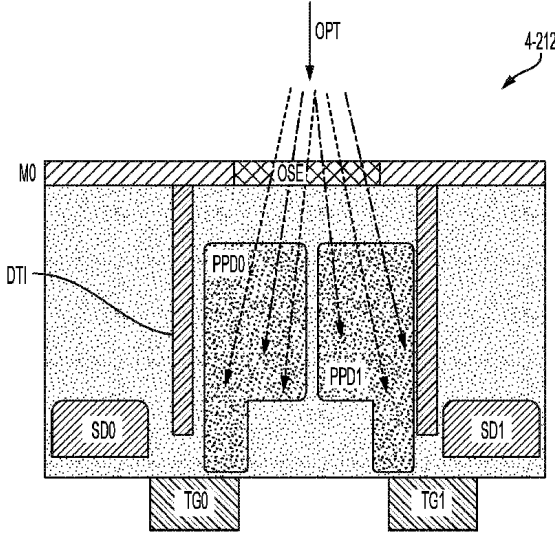


FIG. 4-2

【図 4 - 3 A】

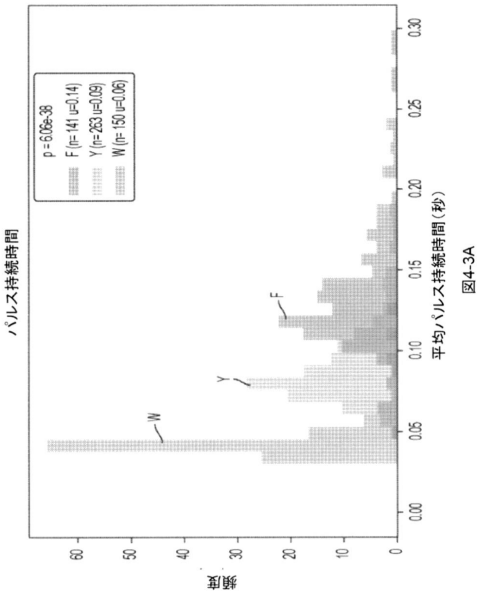


図4-3A

【図 4 - 3 B】

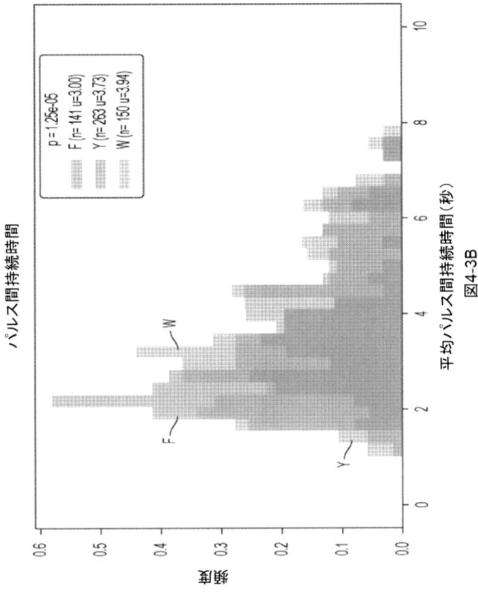


図4-3B

10

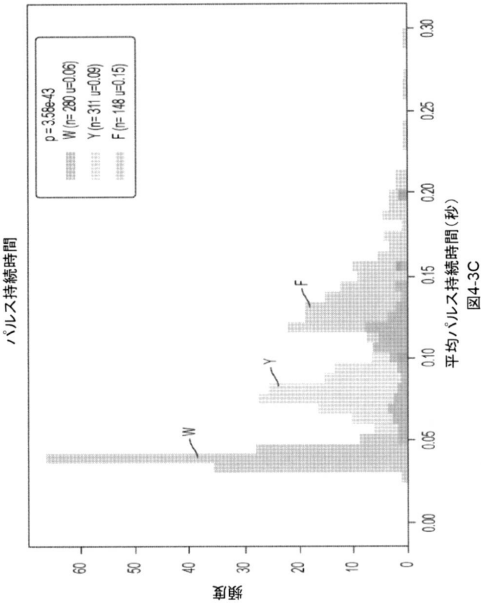
20

30

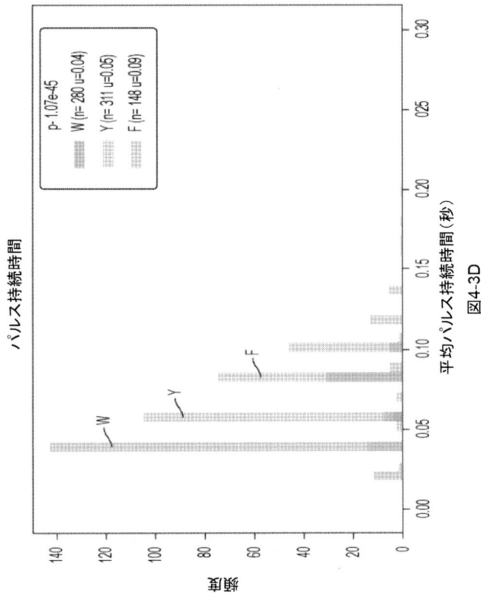
40

50

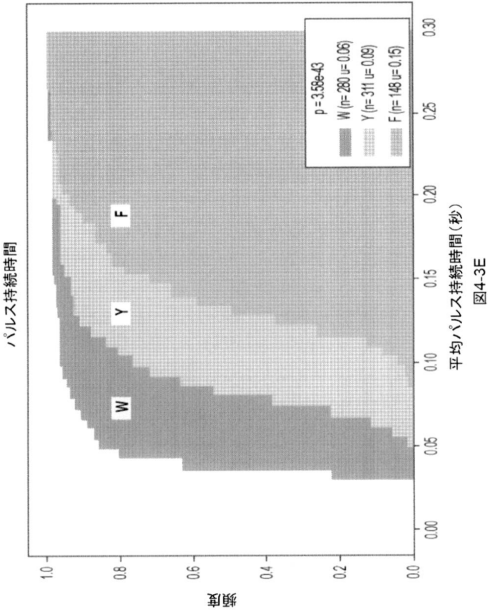
【図 4 - 3 C】



【図 4 - 3 D】



【図 4 - 3 E】



【図 4 - 4】

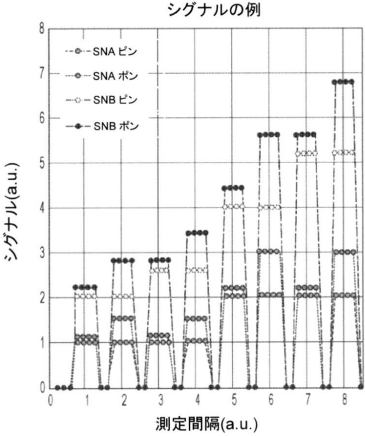


図4-4(つづき)

パルス番号	強度	波長	寿命
1	低	短	短
2	低	短	長
3	低	長	短
4	低	長	長
5	高	短	短
6	高	短	長
7	高	長	短
8	高	長	長

10

20

30

40

50

【図 5 - 1 A】

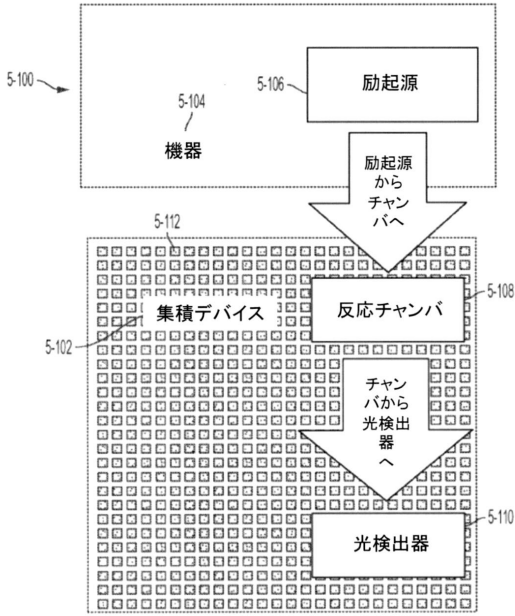


FIG. 5-1A

【図 5 - 1 B】

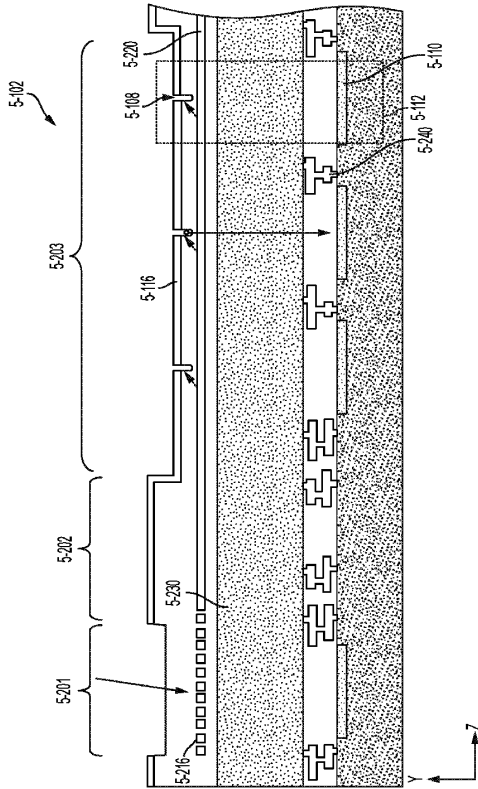


FIG. 5-1B

【図 5 - 1 C】

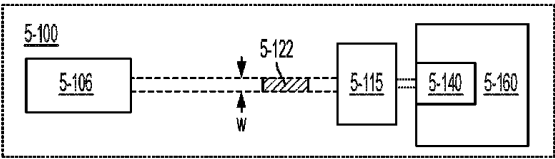


FIG. 5-1C

【図 5 - 1 D】

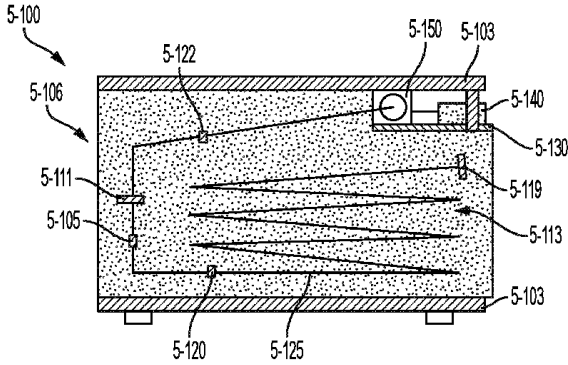


FIG. 5-1D

【 図 5 - 2 】

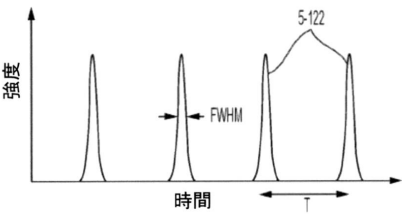


図5-2

【 図 5 - 3 】

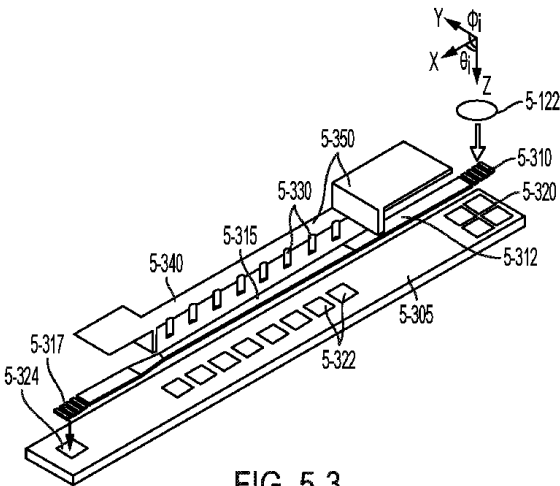


FIG. 5-3

【 図 5 - 4 】

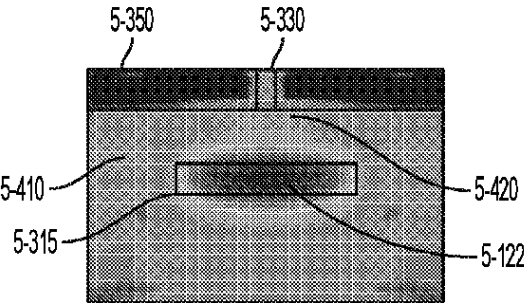


FIG. 5-4

【 図 5 - 5 】

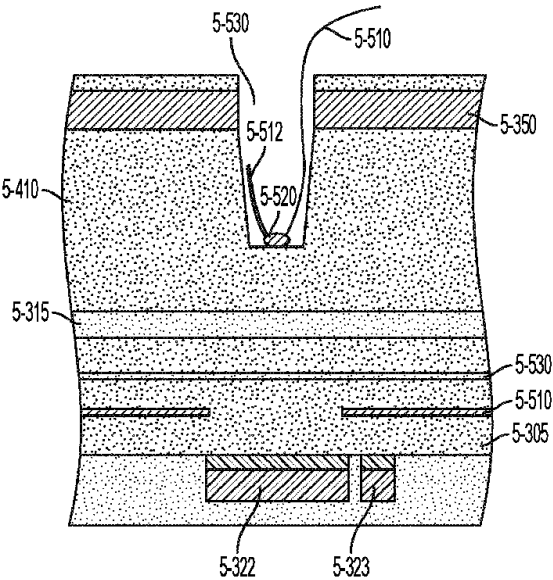


FIG. 5-5

10

20

30

40

50

【 図 5 - 6 】

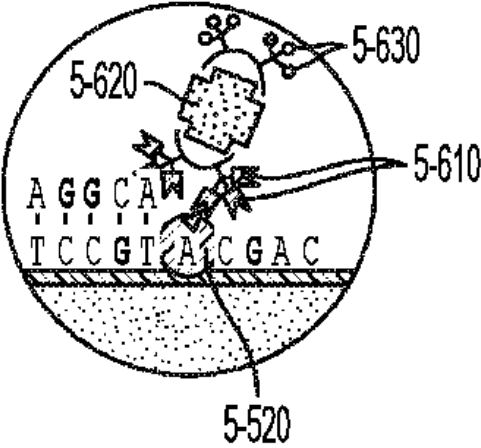


FIG. 5-6

【 図 5 - 7 】

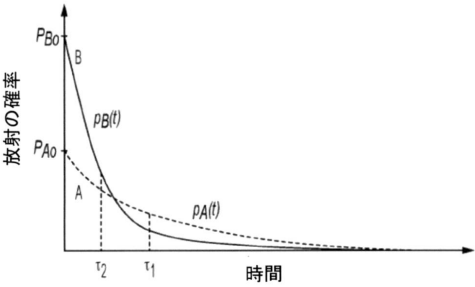


図5-7

10

【 図 5 - 8 】

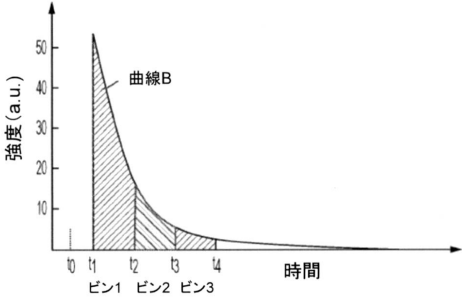


図5-8

【 図 5 - 9 】

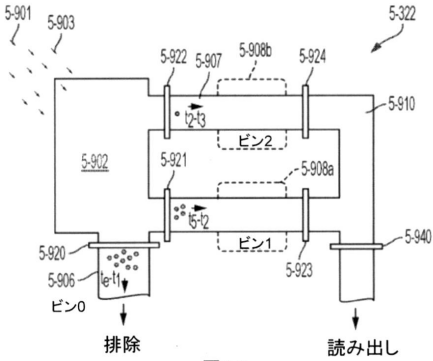


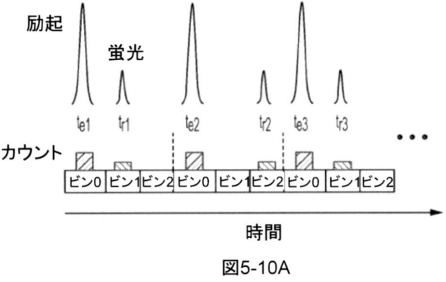
図5-9

30

40

50

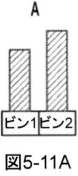
【図 5 - 1 0 A】



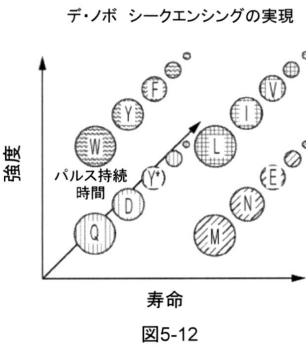
【図 5 - 1 0 B】



【図 5 - 1 1】



【図 5 - 1 2】



10

20

30

40

50

【 図 5 - 1 3 】

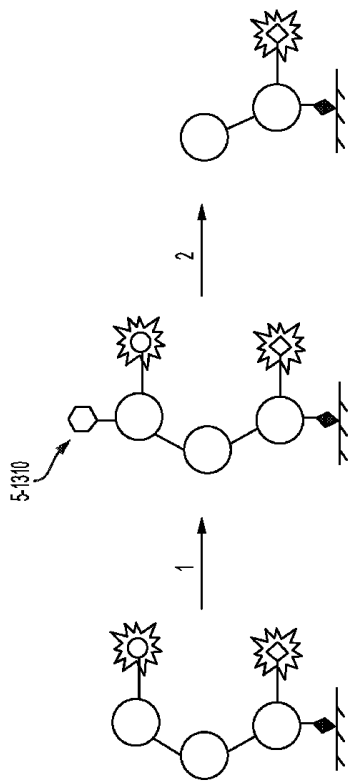


FIG. 5-13

【 図 5 - 1 4 】

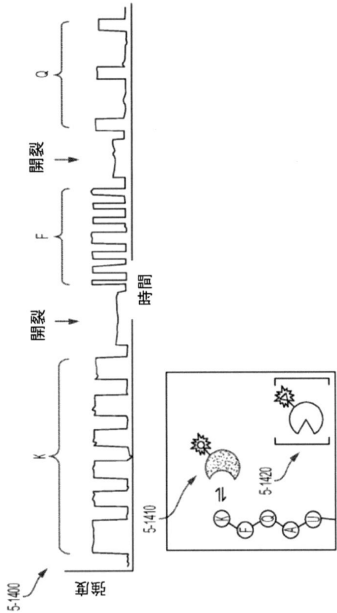


図5-14

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/020521

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N21/64 H01L27/146 H01L27/148 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) H01L G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/133668 A1 (ROTHBERG JONATHAN M [US] ET AL) 12 May 2016 (2016-05-12) cited in the application paragraphs [0011], [0017] - [0019], [0111], [0113], [0115], [0135], [0137], [0138] - [0140], [0194], [0196], [0278]; figures 1B, 2A, 3A, 13 paragraphs [0100], [0121] - [0123]	1-138, 140, 149-156
X	US 2019/237160 A1 (ROTHBERG JONATHAN M [US] ET AL) 1 August 2019 (2019-08-01) paragraphs [0084], [0105] - [0110], [0113], [0121]; figures 3, 4	1-156
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 May 2021		Date of mailing of the international search report 04/06/2021
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Duijs, Eric

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/020521

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
US 2016133668 A1	12-05-2016	AU 2015300766 A1	16-03-2017		
		BR 112017002485 A2	05-12-2017		
		CA 2957540 A1	11-02-2016		
		CN 107112333 A	29-08-2017		
		CN 111710687 A	25-09-2020		
		EP 3194935 A2	26-07-2017		
		EP 3471402 A1	17-04-2019		
		JP 6707520 B2	10-06-2020		
		JP 2017531356 A	19-10-2017		
		JP 2020162127 A	01-10-2020		
		KR 20170042663 A	19-04-2017		
		US 2016133668 A1	12-05-2016		
		US 2016377543 A1	29-12-2016		
		US 2016380025 A1	29-12-2016		
		US 2017322153 A1	09-11-2017		
		US 2018259456 A1	13-09-2018		
		US 2021025823 A1	28-01-2021		
		WO 2016022998 A2	11-02-2016		

		US 2019237160 A1	01-08-2019	AU 2019211435 A1	30-07-2020
BR 112020014542 A2	08-12-2020				
CA 3088687 A1	01-08-2019				
CN 111971748 A	20-11-2020				
EP 3743918 A1	02-12-2020				
JP 2021511829 A	13-05-2021				
KR 20200115590 A	07-10-2020				
TW 201935294 A	01-09-2019				
US 2019237160 A1	01-08-2019				
WO 2019147904 A1	01-08-2019				

フロントページの続き

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 0 6 4 3 7 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 4 0

(72)発明者 ヤン、ダジャン

アメリカ合衆国 9 5 1 1 1 カリフォルニア州 サンノゼ フォンタネル ドライブ 3 0 3

(72)発明者 ウェブスター、エリック エイ．ジー．

アメリカ合衆国 9 5 0 5 1 カリフォルニア州 サンタ クララ ブライヤーウッド ドライブ 2 1 3 9

(72)発明者 ワン、シン

アメリカ合衆国 9 5 1 2 8 カリフォルニア州 サンノゼ ウィローリーフ ドライブ 9 5 9 アパ
ートメント 2 7 0 1

(72)発明者 リアリック、トッド

アメリカ合衆国 0 6 4 1 0 コネチカット州 チェシャー ウィンデミア コート 5

(72)発明者 チェ、チャンフン

アメリカ合衆国 9 4 3 0 3 カリフォルニア州 パロ アルト コリーナ ウェイ 3 8 0 3

(72)発明者 カビリ、アリ

アメリカ合衆国 0 6 4 3 7 コネチカット州 ギルフォード ダーラム ロード 2 9 3

(72)発明者 プレストン、カイル

アメリカ合衆国 0 6 4 3 7 コネチカット州 ギルフォード マウパス ロード 4 6 1

(72)発明者 リード、ブライアン

アメリカ合衆国 0 6 4 4 3 コネチカット州 マディソン ハル ロード 9 4

F ターム (参考) 2G043 AA04 BA16 CA04 DA02 DA06 EA01 FA03 FA06 HA05 LA03
NA01 NA02

2G057 AA04 AB04 BA03 DB03

4B029 AA07 AA27 BB15 BB20 CC01 FA15 GA08 GB06 GB10

4B063 QA13 QQ28 QQ42 QQ52 QQ62 QR08 QR32 QR35 QR42 QR66
QS03 QS34 QS36 QX02