(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106029904 A
(43)申请公布日 2016.10.12

(21)申请号 201480073365.5

(22)申请日 2014.11.17

(30)优先权数据
61/905,282 2013.11.17 US
61/917,926 2013.12.18 US
61/941,916 2014.02.19 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.07.15

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/066013 2014.11.17

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2015/074004 EN 2015.05.21

(71)申请人 宽腾矽公司
地址 美国康涅狄格州

(72)发明人 乔纳森·M·罗思伯格
阿里·卡比里 杰森·W·斯克勒
布雷特·J·格亚凡思
杰瑞米·拉基 杰勒德·施密德
本杰明·西普里亚尼
杰克·朱厄尔 罗伦斯·威斯特
迈克尔·费里尼奥
保罗·E·格伦
安东尼·贝罗菲奥雷

(74)专利代理机构 上海和跃知识产权代理事务所(普通合伙) 31239
代理人 余文娟

(51)Int.Cl.
C12Q 1/68(2006.01)
G01N 21/64(2006.01)
G01N 21/77(2006.01)

权利要求书5页 说明书67页 附图54页

(54)发明名称

用于探测、检测和分析分子的具有外部光源的集成装置

(57)摘要

本发明涉及用于分析单分子和进行核酸测序的器械和方法。一种集成装置包括具有样品阱的多个像素，所述样品阱被配置成接收当被激发时发射出发射辐射的样品；至少一个在特定方向中指引所述发射辐射的元件；以及光路径，所述发射辐射沿所述光路径从所述样品阱向传感器行进。所述器械还包括与所述集成装置通过接口连接的仪器。每个传感器可在各样品阱中检测源于样品的发射辐射。所述仪器包括用于在每个样品阱中激发所述样品的激发光源。

CN 106029904 A

1.一种集成装置,其包括:

像素区,其包括:

多个像素,所述多个像素中的每个像素具有:

在所述集成装置的表面上的样品阱,其中所述样品阱被配置成接收样品;

至少一个组件,其被配置成基于响应于激发能量从所述样品阱中的所述样品发射出的发射能量而生成辐射图式;以及

至少一个传感器,其被配置成检测所述辐射图式中的至少一部分的空间分布;以及

至少一个波导,其被配置成将激发能量输送至所述多个像素中的至少一部分。

2.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述至少一个波导被配置成将激发能量提供至在所述样品阱内的激发区且位于所述激发区内的样品响应于照射所述激发区的激发能量发射出发射能量。

3.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述至少一个波导被配置成接收来自至少一个激发源的激发能量。

4.根据权利要求3所述的集成装置,其中所述至少一个激发源位于所述集成装置的外部。

5.根据权利要求4所述的集成装置,其还包括具有光栅耦合器的激发源耦合区,所述光栅耦合器被配置成接收来自所述至少一个激发源的激发能量并将所述激发能量耦合至所述至少一个波导。

6.根据权利要求3所述的集成装置,其中所述至少一个激发源位于所述集成装置的表面上与所述像素区相分离的区域中。

7.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述至少一个波导被配置成将激发能量输送至所述多个像素的一部分中的每个像素的样品阱的附近。

8.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述多个像素中的每个像素还包括至少一个激发-耦合结构,其被配置成与所述至少一个波导相耦合并将激发能量导至样品阱的附近。

9.根据权利要求8所述的集成装置,其中所述至少一个激发-耦合结构包括至少一个像素波导。

10.根据权利要求9所述的集成装置,其中所述至少一个激发-耦合结构包括至少一个谐振结构。

11.根据权利要求10所述的集成装置,其中所述样品阱被定位在邻近由所述至少一个谐振结构所形成的局部区域处。

12.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述多个像素中的每个像素还包括至少一个表面-能量耦合元件,其被配置成与位于所述样品阱内的样品发射出的发射能量相耦合。

13.根据权利要求12所述的集成装置,其中所述样品标记有多个标记物中的一个且所述至少一个表面-能量耦合元件基于源于所述多个标记物中的每一个的发射能量的光谱范围生成辐射图式。

14.根据权利要求12所述的集成装置,其中所述至少一个表面-能量耦合元件为在所述样品阱周围形成的同心光栅结构。

15.根据权利要求12所述的集成装置,其中所述至少一个表面-能量耦合元件为纳米天线结构。

16.根据权利要求12所述的集成装置，其中所述至少一个表面-能量耦合元件位于邻近所述样品阱处且被配置成将来自所述样品阱的发射辐射导入取决于所述发射辐射波长的多个不同的空间分布。

17.根据权利要求16所述的集成装置，其中所述至少一个传感器为多个传感器，其被配置成检测所述多个标记物中每一个的所述辐射图式中至少一部分的空间分布。

18.根据权利要求17所述的集成装置，其中至少一个分选元件位于所述样品阱和所述多个传感器之间且被配置成将特定波长的发射能量导向所述多个传感器中的一个传感器。

19.一种集成装置，其包括：

样品阱，其被配置成接收标记有多个标记物中的一个的样品，其中所述多个标记物中的每一个响应于照射所述样品的激发能量发射出在多个光谱范围的一个内的发射能量；

发射-能量耦合结构，其位于所述样品阱的附近，以当从所述样品阱发射出发射能量时对所述多个光谱范围中的每个光谱范围生成辐射图式；以及

多个传感器，其被配置成接收所述发射能量中的至少一部分并检测所述多个光谱范围中每个光谱范围的所述辐射图式的空间分布。

20.根据权利要求19所述的集成装置，其中所述多个传感器被成形和布置成检测所述多个光谱范围中每一个的所述辐射图式的不同空间分布。

21.根据权利要求19所述的集成装置，其中所述多个传感器产生至少一个信号，其表示所述多个光谱范围中每个光谱范围的所述辐射图式的空间分布。

22.根据权利要求21所述的集成装置，其中所述多个传感器中的第一传感器产生第一信号，所述多个传感器中的第二传感器产生第二信号，且所述第一信号与所述第二信号的比率对于所述多个标记物中的每个标记物而言是不同的。

23.一种形成集成装置的方法，其包括：

形成多个传感器区域，其中所述多个传感器区域中的每个传感器区域包括多个传感器；

形成多个样品阱，其中所述多个样品阱中的每个样品阱与所述多个传感器区域中相应的一个对准；

形成至少一个波导，其被配置成耦合与所述多个样品阱相分离的激发能量并将激发能量导向至少一个样品阱；以及

形成多个表面-能量耦合元件，其中每个表面-能量耦合元件被配置成在所述多个传感器区域中的一个上形成辐射图式，其中所述辐射图式基于源于所述多个样品阱中相应一个的发射能量。

24.根据权利要求23所述的形成集成装置的方法，其还包括在与所述多个样品阱相分离的区域中形成光栅耦合器，其被配置成接收源于位于所述集成装置外部的至少一个激发源的激发能量并将所述激发能量耦合至所述至少一个波导。

25.根据权利要求23所述的形成集成装置的方法，其中所述多个表面-能量耦合元件为多个同心光栅结构且每个样品阱均相对于所述多个同心光栅结构中的一个而居中。

26.根据权利要求23所述的形成集成装置的方法，其中所述多个表面-能量耦合元件为多个纳米天线结构且每个样品阱位于所述多个纳米天线结构中一个的附近。

27.根据权利要求23所述的形成集成装置的方法，其还包括形成多个分选元件，其中每

个分选元件位于所述多个样品阱中一个样品阱和所述多个传感器区域中一个传感器区域之间且被配置成将特定波长的发射能量导向所述多个传感器中的一个传感器。

28.一种仪器，其包括：

至少一个激发源，其用于提供至少一种激发能量；

激发源定位系统，其用于将所述激发源发射的所述至少一种激发能量与集成装置的耦合区对准；以及

读出电路，其被配置成接收至少一个读出信号，该信号表示在所述集成装置上的传感器所检测的发射能量。

29.根据权利要求28所述的仪器，其还包括：

激发源电路，其被配置成基于来自被配置成接收激发能量的至少一个监控传感器的读出信号，调节所述至少一个激发源与所述集成装置的对准。

30.一种系统，其包括：

一种仪器，其具有

被配置成发射至少一种激发能量的激发能量源；

被配置成将所述集成芯片对准所述仪器的至少一个对准组件；

集成装置，其具有：

具有多个像素的像素区，每个像素具有样品阱以及至少一个传感器，其中所述样品阱被配置成接收样品，当样品被耦合至所述至少一种激发能量时发射出具有光谱范围的发射能量；

至少一个波导，其被配置成将激发能量导向所述样品阱；

至少一个元件，其基于所述发射能量的所述光谱范围生成辐射图式；

至少一个传感器，其被配置成检测所述辐射图式中至少一部分的空间分布；

激发源耦合区，其用于接收源于所述激发能量源的激发能量并将所述激发能量耦合至所述至少一个波导中。

31.根据权利要求30所述的系统，其中所述至少一个元件选自由折射元件、衍射元件、等离激元元件和谐振器所组成的组。

32.根据权利要求30所述的系统，其中所述激发源耦合区包括光栅耦合器，该光栅耦合器被配置成接收激发能量并将激发能量耦合至所述至少一个波导。

33.一种分析样本的方法，所述方法包括：

将所述样本沉积在具有多个像素的集成装置的表面上，其中每个像素具有样品阱和传感器区，样品阱被配置成接收标记有多个标记物中第一标记物的样品，所述传感器区具有多个传感器；

将所述集成装置与具有至少一种激发能量源和读出电路的仪器相对准，所述激发能量源将激发能量耦合至第一像素的样品阱，所述读出电路用于接收源于所述第一像素的所述传感器区的所述多个传感器的读出信号；

用激发能量照射所述第一标记物；以及

根据源于所述第一像素的所述传感器区的所述多个传感器的读出信号检测根据所述第一标记物的发射而生成的发射能量的空间分布。

34.根据权利要求33所述的方法，所述方法还包括基于发射能量的所述空间分布识别

在所述多个标记物中的所述第一标记物，其中所述多个标记物中的每一个具有不同的空间分布。

35.根据权利要求34所述的方法，所述方法还包括基于对所述第一标记物的识别而确定所述第一标记物所标记的分子类型。

36.根据权利要求35所述的方法，其中所述分子类型是核苷酸且所述第一标记物为荧光团。

37.根据权利要求36所述的方法，其中所述荧光团用连接分子被附至所述核苷酸。

38.根据权利要求34所述的方法，所述方法还包括：

用激发能量照射标记第二样品的第二标记物；以及

根据源于所述第一像素的所述传感器区的所述多个传感器的所述读出信号检测由所述第二标记物生成的发射能量的空间分布。

39.根据权利要求38所述的方法，其中所述第一标记物标记第一核苷酸且所述第二标记物标记第二核苷酸。

40.一种对靶核酸分子进行测序的方法，所述方法包括：

提供集成装置，其包括含有所述靶核酸分子、聚合酶和多种类型的核苷酸或核苷酸类似物的样品阱，其中所述多种类型的核苷酸或核苷酸类似物中的每种类型的核苷酸或核苷酸类似物标记有多个标记物中的一个；

在存在有所述聚合酶的情况下在所述靶核酸分子的引发位置上进行延伸反应，以将所述核苷酸或核苷酸类似物中的至少一部分相继结合至与所述靶核酸分子互补的生长链中，其中在通过激发能量进行激发后，标记所述核苷酸或核苷酸类似物的所述标记物在结合至所述生长链中后从所述样品阱产生发射；

根据在所述样品阱中或邻近样品阱处的所述发射生成发射图式；

在接收源于所述样品阱的所述发射图式的传感器处检测所述发射图式的空间分布，其中所述空间分布对于所述多种类型的核苷酸或核苷酸类似物来说是可区别的；以及

基于从所述传感器接收的指示所述空间分布的信号识别所述核苷酸或核苷酸类似物，从而对所述靶核酸分子进行测序。

41.根据权利要求40所述的方法，其中所述核苷酸或核苷酸类似物是在所述传感器检测所述发射图式的所述空间分布后进行识别的。

42.根据权利要求40所述的方法，其中所述多种类型的核苷酸或核苷酸类似物包括四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物，且其中与所述四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的所述发射图式的空间分布彼此是可区别的。

43.根据权利要求42所述的方法，其中所述空间分布是彼此分开进行检测的。

44.根据权利要求40所述的方法，其中所述发射图式的空间分布可基于所述空间分布中每一个的形状和/或强度分布而彼此区别开来。

45.根据权利要求40所述的方法，其中所述发射图式的空间分布可基于所述发射的波长而区别开来。

46.根据权利要求40所述的方法，其中所述引发位置包括与所述靶核酸分子互补的引物。

47.根据权利要求40所述的方法，其中所述聚合酶被固定在所述样品阱中。

48.根据权利要求47所述的方法，其中所述聚合酶被固定在所述样品阱的底部。

49.根据权利要求47所述的方法，其中所述聚合酶是使用被附至所述样品阱的表面的连接子进行固定的。

50.根据权利要求40所述的方法，其中所述聚合酶具有链置换活性。

51.根据权利要求40所述的方法，其中所述核苷酸或核苷酸类似物在通过源自至少一种激发能量源的激发能量进行激发后发射出发射。

52.根据权利要求51所述的方法，其中所述激发能量源为激光光源，其通过所述至少一种波导被操作性地耦合至所述样品阱，且其中所述激发能量通过所述至少一个波导从所述激光光源被导至所述样品阱。

53.根据权利要求51所述的方法，其中所述样品阱是多个样品阱中的一个且所述多个样品阱是所述集成装置的一部分。

54.根据权利要求40或53所述的方法，其中所述激发能量是由与所述集成装置相分离的至少一种激发能量源提供的。

55.根据权利要求40所述的方法，其中所述传感器为所述集成装置的一部分。

56.一种用于核酸测序的方法，其包括：

提供集成装置，其包括多个样品阱和操作性地被耦合至所述多个样品阱的激发能量源，其中所述多个样品阱中的各个样品阱包括靶核酸分子、聚合酶和核苷酸或核苷酸类似物，其中多个标记物中的每个标记物标记所述核苷酸或核苷酸类似物中的每一个；

在存在有所述核苷酸或核苷酸类似物和所述聚合酶的情况下，使所述靶核酸分子进行聚合反应以产生与所述靶核酸分子互补的生长链，其中在所述核苷酸或核苷酸类似物被结合至所述生长链中时，所述多个标记物在通过源自所述激发源的激发能量进行激发后发射出发射；

根据在所述样品阱中或邻近样品阱处的所述发射生成发射图式；

进行所述延伸反应时检测所述发射图式的空间分布，其中所述发射图式的所述空间分布对于所述多个标记物而言是可以区别的；以及

基于所述发射图式的空间分布识别所述靶核酸分子的序列。

57.根据权利要求56所述的方法，其中所述序列是在检测所述发射图式的空间分布后进行识别的。

58.根据权利要求56所述的方法，其中所述多种类型的核苷酸或核苷酸类似物包括四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物，且其中与所述四种类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的所述发射图式的空间分布彼此是可区别的。

59.根据权利要求58所述的方法，其中与所述四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的所述空间分布是彼此分开进行检测的。

60.根据权利要求56所述的方法，其中所述激发能量源为激光光源，且所述激光光源通过至少一个波导被操作性地耦合至所述多个样品阱，且其中所述激发能量通过所述至少一个波导从所述激光光源被导至各个样品阱。

61.根据权利要求56所述的方法，其中所述激发能量源在所述集成装置之外。

62.根据权利要求56所述的方法，其中所述发射图式的空间分布是通过作为所述集成装置一部分的传感器进行检测的。

用于探测、检测和分析分子的具有外部光源的集成装置

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据美国法典第35编第119(e)条要求于2013年11月17日提交的序列号为61/905,282且题为“用于探测、检测和分析分子的集成装置”的美国临时专利申请;于2013年12月18日提交的序列号为61/917,926且题为“用于探测、检测和分析分子的集成装置”的美国临时专利申请;于2014年2月19日提交的序列号为61/941,916且题为“用于探测、检测和分析分子的集成装置”的美国临时专利申请的权益,所有专利均通过引用全部并入本文。

技术领域

[0003] 本申请涉及用于分析生物和化学样本的装置和方法以及涉及生物和化学样品的反应,以及制造该装置的方法。

背景技术

[0004] 照惯例,生物和化学样本的分析可使用大型昂贵的实验室设备进行,这要求熟练的科学工作者进行培训以操作设备并对其结果进行解释。在一些情况下,可使用生物测定(“生物测定”)进行生物样品的检测和分析。照惯例,生物测定是大量进行的,从而使得大量特定类型的样品对于检测和定量来说是必需的。

[0005] 一些生物测定是通过用发射具有特定波长的光的发光标记对样品进行标记而进行的。标记用激发光源进行照射以实现发光,且发光光线是通过光检测器进行检测的以量化由标记发射的发光光线的量。照惯例,使用发光标记的生物测定涉及用于对样品进行照射的昂贵的激光光源以及用于从照射的样品采集发光的复杂且庞大的发光检测光学和电子元件。

[0006] 由于常规的分析设备通常是昂贵的且需要熟练的操作人员,因此需要分析的样本可能需要被发送至现场或场外设施以进行处理。即使是样本的例行分析,这也会引入与其相关联的明显延迟和成本。例如,患者可能需要等待几天并安排回访医生的办公室以了解对患者所提供的样本进行的实验室测试的结果。

发明内容

[0007] 本文所述的技术涉及使用可与移动计算仪器通过接口连接的有源像素集成装置快速分析样本的器械和方法。集成装置可采用被配置成接收少量的样本且并行执行对在样本中的样品的大量分析的一次性或可回收的芯片实验室或封装模块。在一些实施例中,集成装置可被用于检测特定化学或生物分析物的存在,在一些实施例中,其可被用于评估化学或生物反应,且在一些实施例中,其可被用于确定基因序列。根据一些实施方案,集成装置可被用于单分子基因测序。

[0008] 根据一些实施方案,用户将腔室中的样本沉积在集成装置上并将集成装置插入接收仪器中。接收仪器,单独地或与计算机进行通信地,自动与集成装置通过接口连接,从集成装置接收数据,处理所接收的数据并将分析结果提供给用户。如可以理解的,在芯片、接

收仪器和/或计算机上的集成和计算智能降低了用户所需的技能水平。

[0009] 根据本发明的一些实施例，提供了一种集成装置，其包括具有多个像素的像素区。多个像素中的每个像素具有在集成装置的表面上的样品阱，其中样品阱被配置成接收样品；至少一个组件，其被配置成基于响应于激发能量从样品阱中的样品发射出的发射能量而生成辐射图式；以及至少一个传感器，其被配置成检测辐射图式中的至少一部分的空间分布。集成装置还包括至少一个波导，其被配置成将激发能量输送至多个像素中的至少一部分。

[0010] 在一些实施例中，至少一个波导被配置成将激发能量提供至在样品阱内的激发区且位于激发区内的样品响应于照射激发区的激发能量发射出发射能量。在一些情况下，至少一个波导被配置成接收源于至少一个激发源的激发能量。在一些实施例中，至少一个激发源位于集成装置的外部。在一些实施例中，集成装置还包括激发源耦合区，其具有被配置成接收源于至少一个激发源的激发能量并将激发能量耦合至至少一个波导的光栅耦合器。

[0011] 在一些实施例中，至少一个激发源位于在与像素区相分离的区域中的集成装置的表面上。在一些情况下，至少一个波导被配置成将激发能量输送至用于多个像素的一部分中的每个像素的样品阱的附近。

[0012] 在一些实施例中，多个像素中的每个像素还包括至少一个激发-耦合结构，其被配置成与至少一个波导相耦合并将激发能量引向样品阱的附近。在一些实施例中，至少一个激发-耦合结构包括至少一个像素波导。在一些实施例中，至少一个激发-耦合结构包括至少一个谐振结构。在一些情况下，样品阱被定位在邻近由至少一个谐振结构所形成的局部区域处。

[0013] 在一些实施例中，多个像素中的每个像素还包括至少一个表面-能量耦合元件，其被配置成与位于样品阱内样品发射出的发射能量相耦合。在一些情况下，样品标记有多个标记物中的一个且至少一个表面-能量耦合元件基于源于多个标记物中的每一个的发射能量的光谱范围生成辐射图式。在一些实施例中，至少一个表面-能量耦合元件为在样品阱周围形成的同心光栅结构。在一些实施例中，至少一个表面-能量耦合元件为纳米天线结构。在一些实施例中，至少一个表面-能量耦合元件位于邻近样品阱处且被配置成将源于样品阱的发射辐射引向取决于发射辐射的波长的多个不同的空间分布。在一些实施例中，至少一个传感器为多个传感器，其被配置成为多个标记物中的每一个检测辐射图式中的至少一部分的空间分布。在一些实施例中，集成装置还包括至少一个分选元件，其位于样品阱和多个传感器之间且被配置成将特定波长的发射能量引向多个传感器中的一个传感器。

[0014] 根据本发明的一些实施例，提供了一种集成装置，其包括被配置成接收用多个标记物中的一个进行标记的样品的样品阱。多个标记物中的每一个响应于照射样品的激发能量发射出在多个光谱范围中一个内的发射能量；集成装置还包括发射-能量耦合结构，其位于样品阱的附近以当从样品阱发射出发射能量时为多个光谱范围中的每个光谱范围生成辐射图式。集成装置还包括多个传感器，其被配置成接收发射能量中的至少一部分并检测多个光谱范围中的每个光谱范围的辐射图式的空间分布。

[0015] 在一些实施例中，多个传感器被成形和布置成检测多个光谱范围各自的辐射图式的不同空间分布。在一些情况下，多个传感器产生至少一个信号，其表示多个光谱范围中的每个光谱范围的辐射图式的空间分布。在一些实施例中，多个传感器中的第一传感器产生

第一信号，多个传感器中的第二传感器产生第二信号，且第一信号与第二信号的比率对于多个标记物中的每个标记物而言是不同的。

[0016] 根据本发明的一些实施例，提供了一种形成集成装置的方法，其包括形成多个传感器区域和形成多个样品阱。多个传感器区域中的每个传感器区域包括多个传感器。多个样品阱中的每个样品阱与多个传感器区域中相应的一个相对准。该方法还包括形成至少一个波导，其被配置成耦合与多个样品阱相分离的激发能量并将激发能量引向至少一个样品阱；并形成多个表面-能量耦合元件，其中每个表面-能量耦合元件被配置成在多个传感器区域的一个上形成辐射图式。辐射图式是基于源于多个样品阱中的相应一个的发射能量的。

[0017] 在一些实施例中，该方法还包括在与多个样品阱相分离的区域中形成光栅耦合器，其被配置成接收源于位于集成装置外部的至少一个激发源的激发能量并将激发能量耦合至至少一个波导。在一些实施例中，多个表面-能量耦合元件为多个同心光栅结构且每个样品阱均相关于多个同心光栅结构中的一个而居中。在一些实施例中，多个表面-能量耦合元件为多个纳米天线结构且每个样品阱位于多个纳米天线结构中的一个的附近。在一些实施例中，该方法还包括形成多个分选元件，其中每个分选元件位于多个样品阱的一个样品阱和多个传感器区域中的一个传感器区域之间且被配置成将特定波长的发射能量导引至多个传感器中的一个传感器。

[0018] 根据本发明的一些实施例，提供了一种仪器，其包括用于提供至少一种激发能量的至少一个激发源、用于将激发源所发射的至少一种激发能量对准至集成装置的耦合区的激发源定位系统和被配置成接收表示由在集成装置上的传感器所检测的发射能量的至少一个读出信号的读出电路。在一些实施例中，仪器还包括激发源电路，其被配置成基于源于被配置成接收激发能量的至少一个监控传感器的读出信号调节至少一个激发源与集成装置的对准。

[0019] 根据本发明的一些实施例，提供了一种系统，其包括仪器和集成装置。仪器包括被配置成发射至少一种激发能量的激发能量源和至少一个对准组件。集成装置包括具有多个像素的像素区。每个像素具有样品阱和至少一个传感器。样品阱被配置成接收样品，当其被耦合至至少一种激发能量时，其发射出具有光谱范围的发射能量。每个像素还包括至少一个波导，其被配置成将激发能量引向样品阱；基于发射能量的光谱范围生成辐射图式的至少一个元件；以及被配置成检测辐射图式的至少一部分的空间分布的至少一个传感器。集成装置还包括激发源耦合区，其用于接收源于激发能量源的激发能量并将激发能量耦合至至少一个波导中。至少一个对准组件被配置成将集成装置对准至仪器，从而使至少一种激发能量耦合至激发源耦合区的至少一部分。

[0020] 在一些实施例中，至少一个元件选自由折射元件、衍射元件、等离激元元件和谐振器所组成的组。在一些实施例中，激发源耦合区包括被配置成接收激发能量并将激发能量耦合至至少一个波导的光栅耦合器。

[0021] 根据一些实施例，一种分析样本的方法包括将样本沉积在具有多个像素的集成装置的表面上。每个像素具有被配置成接收标记有多个标记物中的第一标记物的样品的样品阱以及具有多个传感器的传感器区。该方法还包括将集成装置与一仪器相对齐，该仪器具有用于将激发能量耦合至第一像素的样品阱的至少一种激发能量源以及用于接收源于第

一像素的传感器区的多个传感器的读出信号的读出电路。该方法还包括用激发能量照射第一标记物且根据源于第一像素的传感器区的多个传感器的读出信号检测由第一标记物生成的发射能量的空间分布。

[0022] 在一些实施例中，该方法还包括基于发射能量的空间分布识别在多个标记物中的第一个标记物，其中多个标记物中的每一个具有不同的空间分布。在一些实施例中，该方法还包括基于对第一标记物的识别而确定第一标记物所标记的分子类型。在一些实施例中，分子类型是核苷酸且第一标记物为荧光团。在一些实施例中，荧光团用连接分子被附至核苷酸。

[0023] 在一些实施例中，该方法还包括用激发能量照射标记第二样品的第二标记物且根据源于第一像素的传感器区的多个传感器的读出信号检测由第二标记物生成的发射能量的空间分布。在一些实施例中，第一标记物标记第一核苷酸且第二标记物标记第二核苷酸。

[0024] 根据一些实施例，一种对靶核酸分子进行测序的方法包括提供集成装置，其包括含有靶核酸分子、聚合酶和多种类型的核苷酸或核苷酸类似物的样品阱。多种类型的核苷酸或核苷酸类似物中的每种类型的核苷酸或核苷酸类似物均用多个标记物中的一个进行标记。该方法还包括提供至少一个激发源，其被配置成将激发能量引向样品阱。该方法还包括在存在有聚合酶的情况下在靶核酸分子的引发位置上进行延伸反应以将多种类型的核苷酸或核苷酸类似物中的一部分相继结合至与靶核酸分子互补的生长链中，其中在通过激发能量进行激发后，标记一种类型的核苷酸或核苷酸类似物的标记物在一种类型的核苷酸或核苷酸类似物结合至生长链中时从样品阱产生发射。该方法还包括在被配置成接收源于样品阱的发射的传感器处检测至少一部分的发射并接收用于每个所检测的发射的源于传感器的信号集，其中信号集表示所检测的发射的空间分布并在多种类型的核苷酸或核苷酸类似物中进行区别。该方法还包括基于所接收的信号集识别核苷酸或核苷酸类似物的类型，从而对靶核酸分子进行测序。

[0025] 在一些实施例中，核苷酸或核苷酸类似物是在传感器检测发射图式的空间分布后进行识别的。在一些实施例中，多种类型的核苷酸或核苷酸类似物包括四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物，且其中与四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的发射图式的空间分布彼此是可区别的。在一些实施例中，空间分布是彼此分开进行检测的。在一些实施例中，发射图式的空间分布可基于空间分布中的每一个的形状和/或强度分布而彼此区别开来。在一些实施例中，发射图式的空间分布可基于发射的波长而区别开来。在一些实施例中，引发位置包括与靶核酸分子互补的引物。在一些实施例中，聚合酶被固定在样品阱中。在一些实施例中，聚合酶被固定在样品阱的底部。在一些实施例中，聚合酶是使用被附至样品阱的表面的连接子进行固定的。在一些实施例中，聚合酶表现出链置换活性。在一些实施例中，核苷酸或核苷酸类似物在通过源自至少一种激发能量源的激发能量进行激发后发射出发射。在一些实施例中，激发能量源为激光光源，其通过至少一种波导被操作性地耦合至样品阱，且其中激发能量是通过至少一个波导而从激光光源被引至样品阱的。在一些实施例中，样品阱是多个样品阱中的一个。在一些实施例中，多个样品阱是集成装置的一部分。在一些实施例中，激发能量是由与集成装置相分离的至少一种激发能量源提供的。在一些实施例中，传感器为集成装置的一部分。

[0026] 根据本申请的一些实施例，一种用于核酸测序的方法包括提供集成装置，其包括

多个样品阱和被操作性地耦合至多个样品阱的激发能量源。多个样品阱中的各个样品阱包括靶核酸分子、聚合酶和核苷酸或核苷酸类似物。该方法还包括使靶核酸分子进行聚合反应以在存在有核苷酸或核苷酸类似物和聚合酶的情况下产生与靶核酸分子互补的生长链。标记各个核苷酸或核苷酸类似物的多个标记物中的一个标记物在相应的核苷酸或核苷酸类似物被结合至生长链中时通过源自激发源的激发能量进行激发后发射出发射光。该方法还包括在进行延伸反应时检测发射的空间分布图式，其中发射光的空间分布图式对于多个标记物而言是可以区别的；并基于发射光的空间分布识别靶核酸分子的序列。

[0027] 在一些实施例中，序列是在检测发射图式的空间分布后进行识别的。在一些实施例中，多种类型的核苷酸或核苷酸类似物包括四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物，且其中与四种类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的发射图式的空间分布彼此是可区别的。在一些实施例中，与四种不同类型的核苷酸或核苷酸类似物相关联的空间分布是彼此分开进行检测的。在一些实施例中，激发能量源为激光光源，且激光光源通过至少一个波导被操作性地耦合至多个样品阱，且其中激发能量是通过至少一个波导而从激光光源被引至各个样品阱的。在一些实施例中，激发能量源位于集成装置的外部。在一些实施例中，发射图式的空间分布是通过作为集成装置的一部分的传感器进行检测的。

[0028] 实施例包括用于对核酸分子进行测序的方法。根据一些实施例，第一种对核酸分子进行测序的方法包括将激发能量提供至在衬底上的第一像素处的样品阱并在第一像素处形成的传感器上接收源于样品阱的第一发射，其中第一发射与不同类型的核酸亚基中的一种类型的核酸亚基相关联。该方法还可包括通过传感器产生表示所接收的第一发射的第一信号和第二信号，分析第一信号和第二信号并基于对第一信号和第二信号的分析识别核酸亚基的类型。

[0029] 根据第一种方法的一些实施方案，样品阱包括零模式波导或子截止纳米孔。在一些方面中，第一发射确定第一信号和第二信号的非零信号电平。在一些实施方案中，传感器包括至少两个空间上分离的光检测器段，且第一信号和第二信号代表用于第一发射的第一光谱带的空间分布图式。

[0030] 根据一些方面，第一种方法还可包括在第一时间获取第一信号并在第二时间获取第二信号。可在相同的电荷累积期间在用于第一发射的传感器获取第一信号和第二信号。在该电荷累积期间且在获取第一信号和第二信号之间，在电荷累积节点或传感器节点处的电压或多个电压可不进行复位。在一些实施方案中，分析包括评估用于第一信号和第二信号的信号电平的比率。

[0031] 前述与第一种方法的方面和实施方案相关联的特性和动作可按任何合适的组合被包括在一种对核酸分子进行测序的方法的一个或多个实施例中。

[0032] 前述与第二种方法的方面和实施方案相关联的特性和动作可按任何合适的组合被包括在一种对靶核酸分子进行测序的方法的一个或多个实施例中。

[0033] 可考虑集成装置的各种实施例。根据一些实施例，一种用于并行分析多个样品的集成装置包括多个被布置在衬底上的像素，其中多个像素中的各个像素包括(1)具有被配置成保持生物样品的激发区的样品阱，(2)位于邻近样品阱或在其中并被配置成实现将至少一种激发能量耦合至激发区中的第一结构，以及(3)传感系统，其包括被配置成在源于样品阱的两个不同的发射之间进行区别的传感器，其中两个不同的发射包括光谱和/或时间

差异。第一结构可额外地实现将源于样品阱的发射耦合至传感器。

[0034] 在集成装置的一些方面，第一结构包括三维、微米或纳米级的等离激元结构，其改善了经在第一结构激发的等离激元进行的激发能量至激发区中的耦合。在一些实施方案中，第一结构包括分子或量子点，其接收至少一些激发能量并非辐射地将激发能量传递至激发区中的样品。在一些实施方案中，第一结构包括至少一个半导体装置，其被配置成非辐射地将能量输送至在激发区内的样品。在一些实施方案中，第一结构包括微光学或纳米光学结构，其增加了在激发区内的激发能量的强度。

[0035] 在集成装置的一些实施方案中，像素还包括位于邻近样品阱处的第二结构，其被配置成将从样品阱发射的辐射引向取决于发射辐射的波长的多个不同空间分布中并在多个不同方向中的每个方向上聚集发射的辐射。根据一些实施方案，传感系统包括至少一个分子或量子点，其被配置成非辐射地接收源于在激发区内的样品的能量。根据一些实施方案，传感系统包括至少一个半导体装置，其被配置成非辐射地接收源于在激发区内的样品的能量。

[0036] 在集成装置的一些方面，多个像素以N×M阵列被布置在衬底上，其中N为阵列在第一方向上延伸的像素数量，且M为阵列在第二方向上延伸的像素数量。在一些方面，N和M中的每一个具有50像素至100000像素之间的数值。

[0037] 根据一些实施方案，集成装置还可包括形成在多个像素的周围的有壁室，其被配置成保持样本。在一些实施方案中，样本可以是流体样本。集成装置还可包括被布置为在有壁室的上方进行闭合的盖子，从而防止在有壁室外的光照射多个像素。在一些实施方案中，集成装置和室均被封装在单个模块中，该模块具有被布置成与仪器的接收坞的触点进行电连接的外部电触点。

[0038] 根据集成装置的一些方面，样品阱在至少第一层材料中具有子截止纳米孔。根据集成装置的一些方面，样品阱包括在至少第一层材料中形成的子截止纳米孔。在一些方面，集成装置还包括从样品阱延伸至邻近第一层的光学透明材料中的凹穴，其中激发区包括凹穴。在一些方面，光学透明材料为电介质。在一些方面，第一层为导电层。在一些实施方案中，导电层包括邻近样品阱的至少一个集成元件的电极。在一些实施方案中，至少一个集成元件为有机发光二极管。

[0039] 在集成装置的一些实施方案中，集成装置和样品阱被布置为接收流体悬浮液的样品。在一些实施方案中，样品阱的壁是沿纵向弯曲的。在一些实施方案中，样品阱的壁是锥形的。根据一些实施方案，锥形壁形成邻近在样品阱的第一端的样本的开口，其横截面小于在样品阱的第二端的样品阱的入口孔。

[0040] 根据一些方面，集成装置还包括在样品阱中形成的等离激元结构，其中等离激元结构加强了在激发区内的激发能量。在一些实施方案中，样品阱包括入口孔，其中在该入口孔接收激发能量。在一些实施方案中，入口孔的直径小于激发能量的特征波长。在一些实施方案中，孔的直径为约30纳米和约250纳米之间。在一些实施方案中，孔的直径小于约500纳米。

[0041] 根据一些实施方案，集成装置还包括与样品阱相间隔的反射器，其中反射器和其中形成样品阱的材料包括谐振腔或谐振器，其增加了在激发区的激发能量的强度。在一些方面，反射器可以是反射堆。在一些实施方案中，样品阱还包括被布置在激发区内的粘附

剂。粘附剂可被配置成在激发区中保持样品。粘附剂可被设置在样品阱和/或凹穴的至少一个底表面上。在一些实施方案中，粘附剂可以是生物素。在一些方面，粘附剂被配置成在约1毫秒和约1秒之间的时间段内保持样品。在一些方面中，粘附剂包括在样品阱内的至少一个表面上形成的生物或化学物质。在一些实施方案中，粘附剂包括分子、酶、蛋白质、小分子、抗体、配体或抗原。

[0042] 根据集成装置的一些实施方案，样品阱还包括被布置在样品阱内的抑制剂，其中抑制剂被配置成抑制样品至样品阱的至少一个表面的粘附。抑制剂可包括在样品阱和/或凹穴壁上的涂层。在一些实施方案中，抑制剂可包括钝化层，其抑制样品至样品阱壁的粘附。在一些实施方案上，样品阱被配置成将样品保持在距离第一结构为约30nm的距离中。例如，粘附剂可位于在第一结构的30nm内的样品阱的表面上。根据一些实施方案，样品阱的至少一部分位于邻近半导体结处。在一些方面，样品阱的至少一部分位于半导体结的100nm内。

[0043] 在集成装置的一些实施方案中，第一结构包括用于激发能量的特征频率的谐振结构，且样品阱位于与谐振结构的耦合区相应的位置上。耦合区可以是在谐振结构内或邻近谐振结构的区域，与在谐振结构内或邻近谐振结构的其他区域相比，在该处的激发能量以增强的强度耦合至样品阱中。例如，耦合区可以是在谐振结构内的具有增强的强度的节点。在一些方面，谐振结构位于与样品阱相同的层中。在一些实施方案中，谐振结构可包括在样品阱周围形成的光子晶体。在一些实施方案中，谐振结构位于与样品阱不同的层中。在一些方面，谐振结构为Gire-Tournois谐振器。在一些实施方案中，谐振结构为线性谐振器或环谐振器。在一些实施方案中，谐振结构包括分布式布拉格反射器。

[0044] 根据集成装置的一些实施方案，第一结构包括至少一个能量传递粒子，其被布置成接收激发能量并非辐射性地将转换的能量输送至样品。在一些实施方案中，激发能量经福斯特谐振能量传递(FRET)、双电子能量传递或德克斯特能量传递(DET)被输送至样品。

[0045] 根据其中的第一结构包括等离激元结构的集成装置的一些实施方案，等离激元结构位于样品阱内且加强了在激发区内的激发能量。在一些实施方案中，等离激元结构包括由导电材料形成的纳米粒子。根据一些方面，等离激元结构位于邻近样品阱处且加强了在激发区内的激发能量。在一些方面，等离激元结构包括纳米天线。在一些实施方案中，等离激元结构包括谐振结构。在一些实施方案中，等离激元结构包括等离激元线性或环谐振器。在一些方面，等离激元结构形成于装置的至少一个电极中，其中至少一个电极位于邻近样品阱处。在一些实施方案中，等离激元结构被配置成在一个以上的频率上谐振，其中一个以上的频率包括激发能量的特征频率和/或源于样品阱的发射的特征频率。

[0046] 根据集成装置的一些方面，第一结构包括至少一个能量传递粒子，其通过连接子被结合至样品，其中选择能量传递粒子以非辐射地将至少一部分的激发能量传递至样品。在一些实施方案中，第一结构包括多个被布置在样品阱内以使激发能量可从能量传递粒子中的至少一个被非辐射地传递到样品的能量传递粒子。在一些方面中，至少一个能量传递粒子适于经福斯特谐振能量传递(FRET)将能量传递至样品。根据一些实施方案，第一结构包括多个被布置在邻近样品阱处以使激发能量可从能量传递粒子中的至少一个被非辐射地传递到样品的能量传递粒子。在一些实施方案中，至少一个能量传递粒子包括量子点。在一些方面，至少一个能量传递粒子将激发能量的第一特征频率转换为至少一个更高的特征

频率以用于要从能量传递粒子被输送至样品的能量。根据一些方面，与第一特征频率相应的波长在约900nm和1100nm之间且至少一个与更高的特征频率相应的至少一个波长为约480nm和约700nm之间。在一些方面，至少一个能量传递粒子将激发能量的第一特征频率转换为更低的特征频率以用于要从能量传递粒子被输送至样品的能量。根据一些方面，与第一特征频率相对应的波长在约500nm和700nm之间且至少一个与更低的特征频率相对应的波长为约620nm和约720nm之间。在一些实施方案中，多个能量传递粒子被布置在与形成有样品阱的层相分离的层中。

[0047] 根据其中第一结构包括半导体装置的集成装置的一些实施方案，半导体装置包括在邻近样品阱处形成的至少一个半导体层，且还包括在半导体层和样品阱之间形成的一层能量传递粒子，其中该层能量传递粒子适于将能量从至少一个半导体层传递至样品阱中的样品。从粒子至样品的能量传递可以是辐射过程(例如，上转换或下转换)或非辐射过程(例如，FRET或DET)。在一些实施方案中，在半导体层和能量传递粒子层之间或在能量传递粒子层和样品之间的能量传递是非辐射性的。在一些方面，半导体装置包括在邻近样品阱处形成的至少一个半导体层，且还包括被结合至样品阱中的样品的至少一个能量传递粒子，其中至少一个能量传递粒子适于将能量从至少一个半导体层传递至样品。根据一些实施方案，在半导体层和至少一个能量传递粒子或在至少一个粒子传递粒子和样品之间的能量传递是非辐射性的。在一些方面，在半导体层和至少一个能量传递粒子或在至少一个粒子传递粒子和样品之间的能量传递是非辐射性的。在一些实施方案中，半导体装置包括p-n结。在一些实施方案中，半导体装置包括有机半导体。在一些实施方案中，半导体装置包括无机半导体。根据一些方面，从至少一个半导体层传递至样品的能量中的至少一些是经福斯特谐振能量传递(FRET)进行的。

[0048] 根据集成装置的一些实施方案，第一结构包括在样品阱周围形成的二维或三维光子晶体。在一些方面，光子晶体包括在样品阱处的缺陷。在一些方面，光子晶体包括微结构的周期阵列，其具有不同于其中形成周期阵列的层的第二折射率的第一折射率。根据一些实施方案，第一结构包括被配置成在激发区聚集激发能量的衍射光学元件。

[0049] 在集成装置的一些实施方案中，第一结构包括邻近样品阱的薄有损膜。在一些实施方案中，集成装置还包括被设置在薄有损膜和样品阱之间的电介质层。在一些方面，薄有损膜的折射率在激发能量的波长具有与薄有损膜的消光系数相同的数量级。在一些方面，薄有损膜是由硅或锗或其组合物而形成的。在一些方面，薄有损膜为约3nm和约80nm之间。在一些实施方案中，薄有损膜包括由至少两种不同材料制成的多层。在一些实施方案中，薄有损膜包括有机材料。在一些实施方案中，薄有损膜包括无机材料。

[0050] 根据集成装置的一些实施方案，第一结构包括位于邻近样品阱处且被配置成在激发区聚集激发能量的微腔。在一些方面，微腔被配置成在包括激发能量的波长的一个以上的光学波长谐振。在一些方面，第一结构包括邻近样品阱形成的Gire-Tourneois谐振结构。在一些方面，微腔被配置成以包括激发能量的波长的一个以上的光学波长谐振。根据一些实施方案，Gire-Tourneois谐振结构的第一反射器包括其中形成有样品阱的导电层。在一些方面，Gire-Tourneois谐振结构的第二反射器包括邻近导电层所形成的多层堆。

[0051] 根据集成装置的一些实施方案，传感系统包括被配置成在传感器抑制一定量的激发能量的波长鉴别滤波器。在一些方面，波长鉴别滤波器包括多层堆叠。在一些实施方案，

波长鉴别滤波器包括频率选择性表面。频率选择性表面可包括在像素内的图案层，该像素包括影响横越频率选择性表面的光学辐射的幅度和/或相位的幅度和/或相位结构。根据一些实施方案，传感系统包括阻挡至少一些激发能量的遮光罩。在一些实施方案中，传感系统包括至少一个光学相位掩模。相位掩模可包括在像素内的图案层，该像素包括影响越过相位掩模的光学辐射的相位的相位结构。在一些实施方案中，相位掩模可能不会明显地影响超过相位掩模的光学辐射的幅度。

[0052] 根据包括位于邻近样品阱处且被配置成将发射的辐射从样品阱引至多个不同空间分布中的第二结构的集成装置的一些实施方案，第二结构包括等离激元结构。在一些实施方案中，等离激元结构形成在样品阱的光学近场中。在一些实施方案中，等离激元结构至少部分地形成在与其中形成有样品阱的层相同的层中。根据一些方面，等离激元结构包括形成在层中并定心在样品阱上的多个环形突起。在一些实施方案中，在多个环形突起中的每一个之间的径向距离大约是相同的。在一些实施方案中，在多个环形突起中的每一个之间的径向距离为约25纳米和约600纳米之间。在一些实施方案中，等离激元结构包括螺旋光栅。在一些实施方案中，等离激元结构包括纳米天线阵列。根据一些实施方案，纳米天线阵列包括分布在目标体积周围的圆孔阵列，其中孔形成在导电层中。在一些方面，其中形成孔的导电层与其中形成样品阱的层是相同的。根据一些方面，圆孔具有多个不同的直径。在一些实施方案中，纳米天线阵列包括分布在样品阱周围的圆盘阵列，其中圆盘形成在导电材料中。根据一些方面，圆盘具有多个不同的直径。在一些实施方案中，等离激元结构包括至少一层，其由选自由金、铜、铑、铝、钛、铬、镍、钯、铂和银所组成的一组的一种或多种金属所组成的。

[0053] 根据包括位于邻近样品阱处且被配置成将发射的辐射从样品阱引至多个不同的空间分布中的第二结构的集成装置的一些实施方案，第二结构包括形成在样品阱的光学远场中的光学结构。在一些实施方案中，第二结构包括衍射光学元件。在一些方面，衍射光学元件为圆形光栅。在一些方面，衍射光学元件为螺旋光栅。在一些方面，衍射光学元件为孔阵列。在一些实施方案中，第二结构包括带片。根据一些实施方案，第二结构还包括微透镜。在一些实施方案中，第二结构包括电介质谐振天线。在一些实施方案中，第二结构包括菲涅耳透镜。

[0054] 根据其中传感系统包括被配置成非辐射性地接收源于样品的能量的至少一个分子或量子点的集成装置的一些实施方案，至少一个分子或量子点被布置在装置上邻近样品阱处以将所接收的能量转换成通过CMOS电路所检测的电信号。在一些实施方案中，半导体装置包括位于邻近样品阱的p-n结且被配置成将所接收的能量转换成通过CMOS电路所检测的电信号。

[0055] 在集成装置的一些方面，传感器包括靶心光检测器，其具有中央光检测器；以及至少一个与中央光检测器相间隔并围绕其的环形光检测器。在一些实施方案中，中央光检测器包括第一光电二极管且至少一个环形光检测器包括至少一个第二光电二极管。在一些实施方案中，中央光检测器包括第一量子点检测器且至少一个环形光检测器包括至少一个第二量子点检测器。根据一些实施方案，传感器包括至少两个空间上分离的检测器。在一些方面，传感器包括至少两个环形扇区检测器。在一些方面，传感器包括至少两个条形探测器。在一些方面，传感器包括至少两个按四分象图案进行布置的检测器。在一些实施方案中，传

感器包括至少两个堆叠的检测器。根据一些实施方案，集成装置还可包括读出电路，其被配置成辨别由两个或多个空间上分离的检测器所检测的对源于样品的四种不同发射能量的检测。在一些实施方案中，传感器和读出电路包括CMOS电路元件。根据一些实施方案，检测器的敏感表面是由具有高于用于样本的折射率的第一光学折射率的材料制成的。在一些方面，传感器还包括形成在邻近至少一个检测器处的至少一个临界耦合谐振器，其中临界耦合谐振器被配置成容许与源于样品阱的第一发射相关联的第一波长并大大地阻挡与源于样品阱的第二发射相关联的第二波长。临界耦合谐振器可具有谐振腔，其为源于样品阱的发射的特征波长的一半或为其整数倍(如通过临界耦合谐振器腔的折射率所修改的)。在一些方面，至少一个临界耦合谐振器由至少一个电介质层所形成。

[0056] 在集成装置的一些实施方案中，至少一个激发源包括至少一个光学辐射源，其具有在约350nm和约1000nm之间的特征波长且被配置成在至少一个样品阱进行激发。在一些方面，至少一个激发源包括至少一个光学辐射源，其具有在约1微米和约5微米之间的特征波长且被配置成在至少一个样品阱进行激发。在一些实施方案中，至少一个激发源包括第一激发能量源，其具有第一特征波长且被配置成在第一样品阱进行激发；以及第二激发能量源，其具有不同于第一特征波长的第二特征波长且被配置成在第二样品阱进行激发。根据一些实施方案，至少一个激发源为被配置同时激发第一组的多个像素的单个激发源。

[0057] 根据集成装置的一些实施方案，电路包括用于至和从位于集成装置外部的计算装置进行数据的发送和接收的通信接口。在一些实施方案中，通信接口包括USB接口、雷电接口和/或高速数字接口。在一些方面，计算装置包括个人计算机、膝上型计算机、平板计算机、个人数字助理、智能电话或移动装置。根据一些实施方案，电路包括CMOS电路，其包括多通道模拟-数字转换器。在一些方面，CMOS电路包括至少一个现场可编程门阵列(FPGA)和/或至少一个应用型专用集成电路(ASIC)。在一些实施方案中，至少一个样品阱形成在金属层中。

[0058] 也可以考虑可将仪器配置成进行接收并与集成装置进行通信。根据一些实施方案，被配置成进行接收和与集成装置进行通信的便携式仪器可包括至少一个处理器、被配置成接收如在上述实施例中任一个中所述的集成装置的坞、被配置成排除大部分的外部光进入坞的盖子以及被配置成连接至在集成装置上的多个第二电触点的多个第一电触点，其中电力可通过多个第一电触点中的至少一些被提供至集成装置且源于每个传感器的至少一个信号可通过多个第一电触点中的至少一些进行接收。在一些实施方案中，多个第一电触点形成在用户可移动的封装基板上。在一些实施方案中，多个第一电触点被配置成与在用户可更换的封装基板上的多个第三触点进行接触。根据一些实施方案，便携式仪器还包括通信接口，其中通信接口包括USB接口、雷电接口和/或高速数字接口。

[0059] 根据一些实施方案，并行分析多个样品的第三种方法可包括在衬底的表面上接收含有样品的样本，在位于衬底上的多个像素中的多个样品阱中保持源于流体悬浮液的样品并将激发能量提供至源于至少一个激发源的样品阱中的一个或多个。第三种方法还可包括至少为多个像素中的一个在被配置成接收源于样品阱的发射的传感器检测源于样品阱的发射，接收检测的发射的源于传感器的信号集并基于对信号集的分析识别保持在样品阱中的样品的特性。

[0060] 在第三种方法的一些实施方案中，信号集包括两个非零信号，其是传感器根据发

射产生的并表示发射的空间和/或时间分布。在一些方面，传感器包括多段传感器。在一些实施方案中，第三种方法还包括分析信号集。在一些实施方案中，分析包括评估在信号集内的信号比率并基于所评估的比率识别生成发射的发射体的类型。

[0061] 前述与第三种方法的方面和实施方案相关联的特性和动作可按任何合适的组合被包括在并行分析多个样品的方法的一个或多个实施例中。

[0062] 也可考虑与集成装置的制造相关联的方法。根据一些实施方案，制造与样品阱相对齐的样品阱和光学结构的第一种方法可包括下列动作，在相同的图案化步骤中形成用于样品阱并用于在被设置在衬底上的第一抗蚀剂层中的光学结构的图案，用第二抗蚀剂层覆盖至少样品阱的图案，并将光学结构的图案蚀刻至衬底中，移除第一抗蚀剂层未被第二抗蚀剂层覆盖的部分，移除第二抗蚀剂层，在衬底上沉积材料并移除第一抗蚀剂层的保留部分。

[0063] 在用于制造样品阱的第一种方法的一些实施方案中，形成用于样品阱的图案包括在具有直径小于500nm的第一抗蚀剂层中形成圆柱形支柱。在一些实施方案中，形成用于光学结构的图案包括形成圆形光栅的图案，其中用于样品阱的图案位于圆形光栅的图案的中心。根据一些方面，在衬底上沉积材料包括沉积导电层。根据一些方面，在衬底上沉积材料包括沉积包括导电层的多层。根据一些实施方案，移除第一抗蚀剂层的保留部分将样品阱限定在沉积材料中。在一些实施方案中，衬底包括光学透明材料。

[0064] 前述与形成样品阱的第一种方法的方面和实施方案相关联的特性和动作可按任何合适的组合被包括在形成样品阱的方法的一个或多个实施例中。

[0065] 根据一些实施例，第二种制造样品阱的方法可包括在相同的图案化步骤中形成用于样品阱和用于在被设置在衬底上的第一层中的光学结构的图案，将样品阱和光学结构的图案蚀刻至衬底中，用抗蚀剂层覆盖至少样品阱的图案，在衬底上沉积材料，其中材料通过对光学结构的图案的蚀刻而填充被蚀刻至衬底中的空隙，并移除抗蚀剂层。在一些实施方案中，第一层包括导电材料。在一些方面，光学结构包括圆形光栅。在一些实施方案中，衬底为光学透明的。根据一些实施方案，移除抗蚀剂层使样品阱具有小于500nm的横向尺寸并包括在被蚀刻至衬底中的样品阱的底部的凹穴。

[0066] 前述与形成样品阱的第二种方法的方面和实施方案相关联的特性和动作可按任何合适的组合被包括在形成样品阱的方法的一个或多个实施例中。

[0067] 尽管可参照单个元件(例如，样品阱、传感器、激发耦合结构、发射耦合结构)描述前述方法和装置，但可并行进行方法以并行制造大量的装置(例如，使用微和纳米制造工艺)。进一步地，大量装置可被布置在集成装置上。

[0068] 术语“像素”在本发明中可被用于指代集成装置的单元体。单元体可包括样品阱和传感器。单元体还可包括激发源。单元体还可包括至少一个激发耦合光学结构(可被称之为“第一结构”)，其被配置成加强从激发源至样品阱的激发能量的耦合。单元体还可包括至少一个发射耦合结构，其被配置成加强从样品阱至传感器的发射的耦合。单元体还可包括集成电子装置(例如，CMOS装置)。在集成装置上还可以有按阵列而在的多个像素。

[0069] 术语“光学”可在本发明中被用于指代可见、近红外和短波长红外光谱带。

[0070] 术语“标记”可在本发明中被用于指代被附至要进行分析的样品或被附至可在样品中进行反应的反应物的标记、探针、标记物或报告物。

[0071] 短语“激发能量”可在本发明中被用于指代被(例如,辐射性或非辐射性地)输送至在样品阱内的样品和/或标记的任何形式的能量。辐射激发能量可包括在一个或多个特征波长上的光学辐射。

[0072] 短语“特征波长”可在本发明中被用于指代在有限辐射带宽内的中心或主波长。在一些情况下,其可指代辐射带宽的峰值波长。荧光团的特征波长的实例为563nm、595nm、662nm和687nm。

[0073] 短语“特征波长”可在本发明中被用于指代与特征波长相关联的能量。

[0074] 术语“发射”可在本发明中被用于指代源于标记和/或样品的发射。这可包括辐射性发射(例如,光学发射)或非辐射性能量传递(例如,德克斯特能量传递或福斯特谐振能量传递)。发射是由源于样品阱内的样品和/或标记的激发而产生的。

[0075] 短语“源于样品阱的发射”或“源于样品的发射”可在本发明中被用于指代来自样品阱内的标记和/或样品的发射。

[0076] 术语“自对准”可在本发明中用于指代微制造工艺,其中至少两个不同的元件(例如,样品阱和发射耦合结构,样品阱和激发源)可在不使用两个分离的光刻图案化步骤的情况下进行制造并与彼此相对齐,在这两个步骤中,第一个光刻图案化步骤(例如,光刻、离子束光刻、EUV光刻)打印出第一元件的图案,且第二个光刻图案化步骤与第一个光刻图案化步骤相对齐并打印出第二个元件的图案。自对准工艺可包括在单个光刻图案化步骤中包括第一和第二元件的图案或可包括使用第一元件的制造结构的特征形成第二元件。

[0077] 术语“传感器”可在本发明中被用于指代一个或多个集成电路装置,其被配置成感测源于样品阱的发射并产生表示所感测发射的至少一个电信号。

[0078] 术语“纳米级”可在本发明中被用于指代一种结构,其具有在150纳米(nm)或更小,但不超过约500nm的级别上的至少一个尺寸或最小特性大小。

[0079] 术语“微米级”可在本发明中被用于指代一种结构,其具有在约500nm和约100微米之间的至少一个尺寸或最小特征大小。

[0080] 短语“加强激发能量”可在本发明中被用于指代在样品阱的激发区增加激发能量的强度。例如,强度可通过聚集和/或谐振在样品阱上入射的激发能量而增加。在一些情况下,强度可通过允许激发能量进一步地穿透至样品阱的激发区中的抗反射涂层或有损层而增加。激发能量的加强可以是不包括用于在样品阱的激发区加强激发能量的结构的实施例的比较照应。

[0081] 术语“约”、“大约”和“基本上”可在本发明中被用于指代数值且旨在包含加减可接受变化的参考值。变化量在一些实施例中可小于5%,在一些实施例中小于10%且在一些实施例中更小于20%。在其中器械可在大数值范围,例如包括一个或多个数量级的范围中正确运行的实施例中,变化量可以是2的因数。例如,如果对于范围在20至350的数值而言器械可合适运行,那么“约80”则可包含在40和160之间的数值。

[0082] 术语“邻近”可在本发明中被用于指代被布置成彼此紧邻的两个元件(例如,在小于像素的横向或竖向尺寸的约五分之一的距离内)。在一些情况下,在相邻的元件之间可具有中间结构或层。在一些情况下,相邻的元件可在不具有中间结构或元件的情况下而彼此紧邻。

[0083] 术语“检测”可在本发明中被用于指代在传感器接收源于样品阱的发射并产生代

表发射或与其相关联的至少一个电信号。术语“检测”可在本发明中被用于指代基于源于样品阱的发射而确定特定样品的或在样品阱中的标记的存在或识别其特性。

附图说明

[0084] 熟练的技术人员将理解本文所述的附图仅用于说明的目的。在某些情况下，要理解的是本发明的各个方面可夸张或放大地示出以便理解本发明。在附图中，相同的参照字符在所有的各个附图中通常指代相同的特性、功能上类似的和/或结构上类似的元件。附图无需按比例绘制，而是将重点放在说明本教义的原理上。附图并不旨在以任何方式限定本发明的范围。

[0085] 图1-1示出根据一些实施例的发射波长光谱。

[0086] 图1-2A示出根据一些实施例的吸收波长光谱。

[0087] 图1-2B示出根据一些实施例的发射波长光谱。

[0088] 图2-1A为表示根据一些实施例的可用于生物和化学样本的快速移动分析的器械的方框图表示。

[0089] 图2-1B为根据一些实施例的集成装置和仪器的方框图。

[0090] 图2-2示出根据一些实施例的集成装置。

[0091] 图3-1A示出根据一些实施例的集成装置的一行像素。

[0092] 图3-1B示出根据一些实施例的被耦合至一行像素中的样品阱的激发能量和从每个样品阱被引向传感器的发射能量。

[0093] 图4-1A示出根据一些实施例的至波导的激发源的边缘耦合。

[0094] 图4-1B示出根据一些实施例的用于将集成装置耦合至激发源的光栅耦合器。

[0095] 图4-2示出根据一些实施例的被布置在集成装置中的波导。

[0096] 图4-3A示出根据一些实施例的集成装置的激发源区的截面视图。

[0097] 图4-3B示出根据一些实施例的集成装置的像素阵列区的截面视图。

[0098] 图4-4示出根据一些实施例的经波导进行的多个激发源至多个像素的耦合。

[0099] 图4-5A和4-5B示出根据一些实施例的通过波导进行的激发辐射至样品阱的耦合的数值模拟。

[0100] 图5-1示出根据一些实施例的在集成装置的像素区中形成的样品阱。

[0101] 图5-2示出根据一些实施例的在样品阱上入射的激发能量。

[0102] 图5-3示出根据一些实施例的沿作为零模式波导形成的样品阱的激发能量的衰减。

[0103] 图5-4示出包括凹穴的样品阱，其在一些实施例中增加了在与样品阱相关联的激发区处的激发能量。

[0104] 图5-5根据一些实施例对于具有且不具有凹穴的样品阱的激发强度进行比较。

[0105] 图5-6示出根据一些实施例的在突起处形成的样品阱和凹穴。

[0106] 图5-7A示出根据一些实施例的具有锥形侧壁的样品阱。

[0107] 图5-7B示出根据一些实施例的具有弯曲侧壁和具有更小横向尺寸的凹穴的样品阱。

[0108] 图5-7C和5-7D示出从表面等离激元结构形成的样品阱。

[0109] 图5-7E示出根据一些实施例的包括沿样品阱的侧壁形成的激发能量加强结构的样品阱。

[0110] 图5-7F示出根据一些实施例的在多层堆中形成的样品阱。

[0111] 图5-8示出根据一些实施例的在样品阱的表面上形成的表面涂层。

[0112] 图5-9A至图5-9E示出根据一些实施例的与形成样品阱的剥离工艺相关联的结构。

[0113] 图5-9F示出根据一些实施例的与形成样品阱的替代剥离工艺相关联的结构。

[0114] 图5-10A至图5-10D示出根据一些实施例的与形成样品阱的直接蚀刻工艺相关联的结构。

[0115] 图5-11示出根据一些实施例的可通过使用剥离工艺或直接蚀刻工艺在多层中形成的样品阱。

[0116] 图5-12示出根据一些实施例的与可被用于形成凹穴的蚀刻工艺相关联的结构。

[0117] 图5-13A至图5-13C示出根据一些实施例的与形成凹穴的替代工艺相关联的结构。

[0118] 图5-14A至图5-14D示出根据一些实施例的与用于沉积粘附剂和钝化层的工艺相关联的结构。

[0119] 图5-15示出根据一些实施例的与用于在样品阱内中心沉积粘附剂的工艺相关联的结构。

[0120] 图6-1示出根据一些实施例的线性谐振器。

[0121] 图6-2示出根据一些实施例的环谐振器。

[0122] 图6-3A至图6-3F示出根据一些实施例的等离激元环谐振器的实例。

[0123] 图6-4示出根据一些实施例的在光子晶体中的腔体。

[0124] 图7-1A至图7-1D示出了根据一些实施例的耦合至总线波导的像素波导。

[0125] 图7-2A和图7-2B示出根据一些实施例的多波导层设计。

[0126] 图8-1A和图8-1B示出根据一些实施例的将激发光引向多个样品阱的衍射光学元件。

[0127] 图9-1A和图9-1B示出仅根据一个实施例的表面-等离激元结构。

[0128] 图9-1C示出根据一些实施例的邻近样品阱形成的表面-等离激元结构。

[0129] 图9-1D和图9-1E示出根据一些实施例的在样品阱中形成的表面-等离激元结构。

[0130] 图9-2A至图9-2C示出根据一些实施例的周期性表面等离激元结构的实例。

[0131] 图9-2D示出根据一些实施例的在邻近周期性表面等离激元结构形成的样品阱处的激发辐射的数值模拟。

[0132] 图9-2E至图9-2G示出根据一些实施例的周期性表面等离激元结构。

[0133] 图9-2H和图9-2I示出根据一些实施例的包括表面等离激元结构的纳米天线。

[0134] 图9-3A至图9-3G示出根据一些实施例的与用于形成表面等离激元结构的工艺步骤相关联的结构。

[0135] 图9-4A至图9-4G示出根据一些实施例的与用于形成表面等离激元结构和自对准样品阱的工艺步骤相关联的结构。

[0136] 图9-5A至图9-5E示出根据一些实施例的与用于形成表面等离激元结构和自对准样品阱的工艺步骤相关联的结构。

[0137] 图9-6A示出根据一些实施例的邻近样品阱形成的薄有损膜。

[0138] 图9-6B和图9-6C示出根据一些实施例的源于在样品阱和薄有损膜附近对激发辐射进行数值模拟的结果。

[0139] 图9-6D示出根据一些实施例的与样品阱相间隔的薄有损膜。

[0140] 图9-6E示出根据一些实施例的邻近样品阱形成的薄有损膜堆。

[0141] 图9-7A示出根据一些实施例的可被用于形成邻近样品阱的谐振腔的反射堆。

[0142] 图9-7B示出根据一些实施例的可被用于在样品阱聚集激发辐射的电介质结构。

[0143] 图9-7C和图9-7D示出根据一些实施例的可邻近样品阱进行图案化的光子带隙结构。

[0144] 图9-8A至图9-8G示出根据一些实施例的与形成电介质结构和自对准的样品阱的工艺步骤相关联的结构。

[0145] 图9-9A和图9-9B示出根据一些实施例的用于经无辐射工艺将激发能量耦合至样品的结构。

[0146] 图9-9C示出根据一些实施例的用于经多个无辐射工艺将激发能量耦合至样品的结构。

[0147] 图9-9D示出根据一些实施例的经辐射或无辐射工艺结合一个或多个能量转换粒子以将激发能量耦合至样品的结构。

[0148] 图9-9E示出根据一些实施例的与激发能量至样品的下转换相关联的光谱。

[0149] 图9-9F示出根据一些实施例的与激发能量至样品的上转换相关联的光谱。

[0150] 图10-1示出根据一些实施例的同心圆形光栅。

[0151] 图10-2示出根据一些实施例的螺旋光栅。

[0152] 图10-3至图10-6示出根据一些实施例的对于各种发射波长源于同心圆形光栅的发射空间分布图式。

[0153] 图11-1A至图11-2B示出根据一些实施例的纳米天线。

[0154] 图11-3示出根据一些实施例的螺旋纳米天线的图案。

[0155] 图11-4示出根据一些实施例的源于对在图11-3所示的螺旋纳米天线附近中的电磁场进行数值模拟的结果。

[0156] 图11-5至图11-7示出根据一些实施例的纳米天线的各种配置。

[0157] 图11-8至图11-11示出根据一些实施例的源于对与从纳米天线所围绕的样品阱发射出的不同波长相关联的空间分布图式进行数值模拟的结果。

[0158] 图12-1A和图12-1B示出根据一些实施例的远场光谱分选元件。

[0159] 图12-2A和图12-2B示出根据一些实施例的远场光谱滤波元件。

[0160] 图13-1A以正视图示出根据一些实施例的在像素内的传感器2-260。

[0161] 图13-1B示出根据一些实施例的具有两个分离的且同心的有源区的靶心传感器。

[0162] 图13-1C示出根据一些实施例的具有四个分离的有源区的条形传感器。

[0163] 图13-1D示出根据一些实施例的具有四个分离的有源区的四路传感器。

[0164] 图13-1E示出根据一些实施例的具有四个分离的有源区的弧段传感器。

[0165] 图13-1F示出根据一些实施例的堆叠段(stacked-segment)传感器。

[0166] 图13-2A示出根据一些实施例、源于样品阱的在第一波长发射出的辐射的发射分布。

[0167] 图13-2B示出根据一些实施例的与图13-2A中所示的发射分布相应的由靶心传感器所接收的辐射图式。

[0168] 图13-2C示出根据一些实施例、源于样品阱的在第二波长发射的辐射的发射分布。

[0169] 图13-2D示出根据一些实施例的与图13-2C中所示的发射分布相应的由靶心传感器所接收的辐射图式。

[0170] 图13-2E示出根据一些实施例的对具有两个有源区的靶心传感器针对来自样品的第一发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0171] 图13-2F表示根据一些实施例的对与图13-2E相关联的靶心传感器针对来自样品的第二发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0172] 图13-2G表示根据一些实施例的对与图13-2E相关联的靶心传感器针对来自样品的第三发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0173] 图13-2H表示根据一些实施例的对与图13-2E相关联的靶心传感器针对来自样品的第四发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0174] 图13-2I示出根据一些实施例的对具有四个有源区的靶心传感器针对来自样品的第一发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0175] 图13-2J表示根据一些实施例的对与图13-2I相关联的靶心传感器针对来自样品的第二发射波长的信号检测进行数值模拟的结果。

[0176] 图13-3A示出根据一些实施例可用来从包括两个有源区的传感器读取信号的集成装置上的电路。

[0177] 图13-3B示出根据一些实施例的在传感器段可包括的用于信号累积和读出的三晶体管电路。

[0178] 图13-3C示出根据一些实施例的在可用来从包括四个有源区的传感器读取信号的集成装置上的电路。

[0179] 图13-4A示出根据一些实施例的用来进行样品分析的两种不同发射体的时间发射特征。

[0180] 图13-4B示出根据一些实施例的源于样品的激发源和发光的时间演变。

[0181] 图13-4C示出根据一些实施例的时间延迟采样。

[0182] 图13-4D示出根据一些实施例的两个不同发射体的时间发射特征。

[0183] 图13-4E示出根据一些实施例的在传感器的电荷累积节点的电压动态。

[0184] 图13-4F示出根据一些实施例的不进行重设的传感器段的二次读取。

[0185] 图13-4G和图13-4H示出根据一些实施例的与具有时间上不同的发射特征的两个发射体相关联的第一和第二读取信号强度。

[0186] 图14-1示出根据一些实施例的可被用于生物和化学样本的快速移动分析的紧凑器械的操作的方法。

[0187] 图14-2示出根据一些实施例的校准程序。

[0188] 图14-3示出根据一些实施例的数据分析程序。

[0189] 图15-1示出根据一些实施例的计算系统的实施例。

[0190] 通过下面结合附图的详细描述，本发明的特性和优点将变得更加显而易见。

[0191] 当参照附图描述实施例时，可使用方向参照(“上”、“下”、“顶部”、“底部”、“左”、

“右”、“水平”、“竖直”等)。这种参照仅旨在协助读者在正常定向上查看附图。这些方向参照并不旨在描述具体化的装置的优选或唯一的定向。装置可在其他定向中进行具体化。

具体实施方式

[0192] I.发明人对问题及其解决方案的认识

[0193] 发明人已认识并理解到用于进行生物测定的常规器械是大型且昂贵的且可能需要先进的实验室技术来执行。许多类型的生物测定取决于对样本中的单个分子的检测。单个分子检测可能需要用于生成激发分子所需的高强度光的大型庞大的激光系统。此外,庞大的光学组件可被用于将激光引向样本且额外的光学组件可被用于将发光光线从样本导向传感器。这些常规的光学组件可能需要精确的对齐和稳定化。使用这种常规设备所需的常规实验室设备和培训可能导致复杂且昂贵的生物测定。

[0194] 发明人已经认识并理解到需要一种可简单并廉价地分析生物和/或化学样本以确定其组成部分身份的装置。这种装置的应用可用于对生物分子,如具有多个氨基酸的核酸或多肽(例如,蛋白质)进行测序。用于进行单分子或粒子的检测和定量的紧凑的高速器械可降低对生物和/或化学样品进行复杂定量测量的成本并快速推进生化技术发现的速率。此外,易于运输的具有成本效益的装置不仅能变换在发达世界中进行生物测定的方式,还第一次使在发展中区域中的人们可进行能显著地改善其健康和福利的必要诊断测试。例如,在一些实施例中,用于进行生物测定的器械被用于进行生物样品,如血液、尿液和/或唾液的诊断测试,其可由个人在家中使用,由医生在发展中国家中的偏远诊所中或任何其他位置,如在乡村医生的办公室中使用。这种诊断测试可包括检测受试者的生物样品的生物分子,如核酸分子或蛋白质。在一些实例中,诊断测试包括对受试者的生物样品中的核酸分子进行测序,如对受试者的生物样品中的无细胞的脱氧核糖核酸分子或表达产物进行测序。

[0195] 如本文所使用的,术语“核酸”一般是指包括一个或多个核酸亚基的分子。核酸可包括选自腺苷酸(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)或其变体的一个或多个亚基。在一些实例中,核酸是脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)或其衍生物。核酸可以是单链或双链的。核酸可以是圆形的。

[0196] 如本文所使用的,术语“核苷酸”通常指核酸亚基,其可包括A、C、G、T或U或其变体或类似物。核苷酸可包括可被结合至生长核酸链的任何亚基。这种亚基可以是A、C、G、T或U或任何其他亚基,其特定于一个或多个互补的A、C、G、T或U或与嘌呤(即,A或G或其变体或类似物)或嘧啶(即,C、T或U或其变体或类似物)互补。亚基可使各个核酸碱基或碱基团(例如,AA、TA、AT、GC、CG、CT、TC、GT、TG、AC、CA或其尿嘧啶的相对物)被溶解。

[0197] 核苷酸通常包括核苷酸和至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多的磷酸(PO3)基团。核苷酸可包括核碱基、五碳糖(核糖或脱氧核糖)和一个或多个磷酸基团。核糖核苷酸是其中的糖为核糖的核苷酸。脱氧核糖核苷酸是其中的糖为脱氧核糖的核苷酸。核苷酸可以是一磷酸核苷或多磷酸核苷。核苷酸可以是多磷酸脱氧核糖核苷酸,如三磷酸脱氧核糖核苷酸,其可以选自三磷酸脱氧腺苷(dATP)、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)、脱氧三磷酸鸟苷(dGTP)、三磷酸脱氧尿苷(dUTP)和脱氧胸苷三磷酸(dTTP)dNTP,其包括可检测标记,如发光标记或标记物(例如,荧光团)。

[0198] 多磷酸核苷可具有“n”个磷酸基团，其中“n”是一个大于或等于2、3、4、5、6、7、8、9或10的数字。多磷酸核苷的实例包括二磷酸核苷和三磷酸核苷。核苷酸可以是末端磷酸标记的核苷酸，如末端磷酸标记的多磷酸核苷。这种标记可以是发光(例如，荧光或化学发光)标记、荧光标记、有色标记、生色标记、质量标记、静电标签或电化学标记。标记(或标记物)可通过连接子被耦合至末端磷酸。连接子可包括，例如，至少一个或多个羟基、巯基、氨基或卤代烷基，其可适于在天然或修改的核苷酸的末端磷酸形成，例如，磷酸酯、硫酯、氨基磷酸酯或烷基磷酸酯键。连接子是可分离的以从末端磷酸分离标记，如在聚合酶的帮助下进行。在通过引用整体并入本文的美国专利号7,041,812中提供了核苷酸和连接子的实例。

[0199] 如本文所使用的，术语“聚合酶”一般是指能够催化聚合反应的任何酶(或聚合酶)。聚合酶的实例包括但不限于核酸聚合酶、转录酶或连接酶。聚合酶可以是聚合酶。

[0200] 术语“基因组”一般指生物体全部遗传信息。基因组可在DNA或RNA中进行编码。基因组可包括为蛋白质进行编码的编码区以及非编码区。基因组可包括在生物体中的所有染色体在一起的序列。例如，人类基因组总共具有46个染色体。所有这些在一起的序列构成了人类基因组。

[0201] 本发明提供了用于检测生物分子或其亚基，如核酸分子的装置、系统和方法。这种检测可包括测序。可从源于受试者获得的生物样品中提取出生物分子。生物样品可从受试者的体液或组织，如呼气、唾液、尿液或血液(例如，全血或血浆)中提取出来。受试者可能被怀疑具有健康状况，如疾病(例如，癌症)。在一些实例中，从受试者的体液或组织提取一个或多个核酸分子。一个或多个核酸分子可从源于受试者获得的一个或多个细胞，如受试者的组织的一部分提取出来或从源于受试者的无细胞的体液，如全血获得。

[0202] 生物样品可在用于检测的准备中进行处理(例如，测序)。这种处理可包括将生物分子(例如，核酸分子)从生物样品分离和/或纯化出来并生成生物分子的更多拷贝。在一些实例中，一个或多个核酸分子从受试者的体液或组织进行分离和纯化，并通过核酸扩增，如聚合酶链反应(PCR)而进行扩增。随后，可识别，如通过测序而识别一个或多个核酸分子或其亚基。

[0203] 测序可包括通过合成与模板互补或类似的另一个生物分子，如通过合成与模板核酸分子互补的核酸分子并识别核苷酸随时间的结合(即，通过合成进行的测序)而确定模板生物分子(例如，核酸分子)的各个亚基。作为一个替代方案，测序可包括直接识别生物分子的各个亚基。

[0204] 在测序期间，表示生物分子的各个亚基的信号指示可在存储器中进行采集并实时或在稍后的时间点进行处理以确定生物分子的序列。这种处理可包括将该信号与启用各个亚基的识别的参考信号比较，其在一些情况下会产生读数。读数可以是可用于识别更大的序列或区域，例如，可与染色体或基因区或基因上的位置相对齐的具有充分长度的序列(例如，至少为约30个碱基对(bp))。

[0205] 序列读数可被用来重建受试者的基因组的较长区域(对齐)。读取可被用于重建染色体区、整个染色体或整个基因组。从这些读数生成的序列读数或更大序列可被用于分析受试者的基因组，如识别变体或多态性。变体的实例包括但不限于单核苷酸多态性(SNPs)，其包括串联SNPs、小规模多基缺失或插入，其也被称为插入缺失或缺失插入多态性或DIPs、多核苷酸多态性(MNPs)、短串联重复序列(STRs)、缺失，包括微缺失、插入，包括微插入、结

构变化，包括复制、倒置、易位、乘法、复杂的多点变体、拷贝数变异(CNV)。基因组序列可包括变体的组合。例如，基因组序列可包含一个或多个SNP以及一个或多个CNV的组合。

[0206] 生物分子的各个亚基可使用标记物进行识别。在一些实例中，发光标记物被用于识别生物分子的各个亚基。发光标记物(本文中也被称之为“标记物”)也可以是外源性或内源性标记物。外源性标记物可以是被用作用于发光标记的报告物和/或标记的外部发光标识。外源性标记物的实例可包括但不限于荧光分子、荧光团、荧光染料、荧光染色、有机染料、荧光蛋白质、酶、参与荧光谐振能量传递(FRET)的种类、酶和/或量子点。这种外源性标记物可被结合至探针或官能团(例如，分子、离子和/或配体)，其特异性结合至特定的靶或组分。将外源性标记或报告物附至探针允许通过检测外源性标记或报告物的存在而识别靶。探针的实例可包括蛋白质、核酸(例如，DNA、RNA)分子、脂质和抗体探针。外源性标记物和官能团的组合可以形成任何合适的用于检测的探针、标记和/或标签，包括分子探针、标记探针、杂交探针、抗体探针、蛋白探针(例如，生物素结合的探针)、酶标记、荧光探针、荧光标记和/或酶报告物。

[0207] 尽管本发明参照了发光标记物，但其他类型的标记物也可用本文所提供的装置、系统和方法一起使用。这种标记物可以是质量标记或静电标记。

[0208] 虽然外源标记物可被添加至样品，但内源性标记物可能已是样品的一部分。内源性标记物可包括在存在有激发能量的情况下可发光或“自发荧光”的任何发光标记物。内源性荧光团的自发荧光可在不要求引入外源性荧光团的情况下提供无标记和无创性的标记。通过示例而非限制的形式，这种内源性荧光团的实例可包括血红蛋白、氧合血红蛋白、脂质、胶原和弹性蛋白交联、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)、氧化的黄素(FAD和FMN)、脂褐质、角蛋白和/或卟啉。

[0209] 虽然一些实施例可能针对通过检测样本中的单分子而进行的诊断测试，但发明人还已认识到一些实施例可使用单分子检测能力以进行一个或多个核酸段，如基团或多肽的核酸(例如，DNA、RAN)测序。核酸测序允许确定在靶核酸分子中的核苷酸的顺序和位置。核酸测序技术在用于在测序工艺中确定核酸序列以及速率、读取长度和错误的发生率的方法中可有所不同。例如，一些核酸测序方法是基于通过合成进行的测序，其中随着核苷酸被结合至与靶核酸分子互补的新合成的核酸链中确定核苷酸的身份。一些通过合成方法进行的测序要求存在有靶核酸分子的群体(例如，靶核酸的拷贝)或对靶核酸进行扩增以实现靶核酸的群体的步骤。

[0210] 在测序期间，聚合酶可耦合(例如，附接)至靶核酸分子的引发位置。引发位置可以是与靶核酸分子互补的引物。作为一个替代方案，引发位置为在靶核酸分子的双链段内设有的间隙或缺口。间隙或缺口可具有为0-至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30或40个核苷酸的长度。缺口可提供在双链序列中的一个链中的断裂，其可提供聚合酶，如链置换聚合酶的引发位置。

[0211] 在一些情况下，测序引物可被退火至靶核酸分子，其可能或可能未被固定至固体载体，如样品阱。在一些实施例中，测序引物可被固定至固体载体且靶核酸分子的杂化还将靶核酸分子固定至固体载体。经能够将核苷酸添加或结合至引物中的酶(例如，聚合酶)的作用，核苷酸可按模板结合方式被添加至引物的5’至3’位置。核苷酸至引物的这种结合(例如，经聚合酶的作用而进行的)通常可被称为引物延伸反应。每个核苷酸可与可检测标记相

关联，该可检测标记可被检测并被用于确定被结合至引物中的每个核苷酸且从而确定新合成的核酸分子的序列。经新合成的核酸分子的序列互补性，还可确定靶核酸分子的序列。在一些情况下，在类似的反应条件(例如，相同或类似的反应温度)或在不同的反应条件(例如，不同的反应温度)下可发生测序引物至靶核酸分子的退火以及核苷酸至测序引物中的结合。此外，一些通过合成方法进行的测序可包括存在有靶核酸分子的群体(例如，靶核酸的拷贝)或对靶核酸进行扩增以实现靶核酸的群体的步骤。

[0212] 实施例能够以高精度和长读取长度对单核酸分子进行测序。在一些实施例中，用于单分子测序中的靶核酸分子是单链靶核酸(例如，脱氧核糖核酸(DNA)、DNA的衍生物、核糖核酸(RNA)、RNA的衍生物)模板，其被添加或固定至含有被固定或附至固体载体，如样品阱的底部的测序反应的至少一个额外组分(例如，聚合酶，如DNA聚合酶、测序引物)的样品阱。靶核酸分子或聚合酶可直接地或通过连接子被附至样品阱，如在样品阱的底部。样品阱还可含有经引物延伸反应进行核酸合成所需的任何其他试剂，如合适的缓冲液、辅助因子、酶(例如，聚合酶)和多磷酸脱氧核苷酸，如脱氧核糖核苷三磷酸，包括三磷酸脱氧腺苷(dATP)、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)、脱氧三磷酸鸟苷(dGTP)、三磷酸脱氧尿苷(dUTP)和脱氧胸苷三磷酸(dTTP)dNTP，其包括发光标记，如荧光团。每个种类的dNTP(例如，含腺嘌呤的dNTP(例如，dATP)、含胞嘧啶的dNTP(例如，dCTP)、含鸟嘌呤的dNTP(例如，dGTP)、含尿嘧啶的dNTP(dUTP)和含胸腺嘧啶的dNTP(例如，dTTP))被结合至不同的发光标记，从而使对源于标记的光的检测表明被结合至新合成的核酸中的dNTP的身份。源于发光标记的发射光可经任何合适的装置和/或方法，包括本文其他地方所述的用于检测的这种装置和方法进行检测并归于其合适的发光标记(且，从而为相关联的dNTP)。发光标记可在任何位置上被结合至dNTP，从而使发光标记的存在不会抑制dTNP至新合成的核酸链的结合或聚合酶的活性。在一些实施例中，发光标记被结合至dTNP的末端磷酸(γ磷酸)。

[0213] 单链靶核酸模板可与测序引物、dNTP、聚合酶和核酸合成所需的其他试剂相接触。在一些实施例中，所有合适的dNTP可同时与单链靶核酸模板相接触(例如，所有dNTP均同时存在)，从而使dNTP的结合可连续发生。在其他实施例中，dNTP可相继与单链靶核酸模板相接触，其中单链靶核酸模板分别与每个合适的dNTP相接触，且在使单链靶核酸模板与不同的dNTP相接触之间存在有清洗步骤。对于要进行识别的单链靶核酸模板的每个连续的碱基位置，可重复进行单链靶核酸模板与每个dNTP分别接触并随后进行清洗的这种循环。

[0214] 测序引物退火至单链靶核酸模板且聚合酶经单链靶核酸模板将dNTPs(或其他多磷酸脱氧核糖核苷酸)连续地结合至引物中。与每个结合的dNTP相关联的唯一发光标记可在将dNTP结合到引物中期间或之后用合适的激发光进行激发，且其发射可随后使用任何合适的装置和/或方法，包括在本文的其他地方描述的用于检测的装置和方法进行检测。特定的光发射的检测可归于所结合的特定dNTP。由采集所检测的发光标记而获得的序列可随后被用于经序列互补性确定单链靶核酸模板的序列。

[0215] 虽然本发明参照了dNTPs，但本文所提供的装置、系统和方法可与各种类型的核苷酸，如核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸(例如，具有至少4、5、6、7、8、9或10个磷酸基的多磷酸脱氧核糖核苷酸)一起使用。这种核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸可包括各种类型的标记(或标记物)和连接子。

[0216] 在结合核苷酸后发射出的信号可被存储在存储器中且可在稍后的时间点上进行

处理以确定靶核酸模板的序列。这可包括将信号与参照信号进行比较以确定作为时间函数的所结合核苷酸的身份。替代地或额外地，在结合核苷酸后发射出的信号可进行采集并实时进行处理(即，在核苷酸结合后)以实时确定靶核酸模板的序列。

[0217] 可完成多个单链靶核酸模板的核酸测序，其中多个样品阱是可用的，如在本文的其他地方所描述的装置中的情况一样。每个样品阱可设有单链靶核酸模板且可在每个样品阱中完成测序反应。样品阱中的每一个可在引物延伸反应期间与核酸合成所需的合适的试剂(例如，dNTPs、测序引物、聚合酶、辅助因子、合适的缓冲液等)进行接触且可在每个样品阱中进行测序反应。在一些实施例中，多个样品阱同时与所有合适的dNTP相接触。在其他实施例中，多个样品阱与每个合适的dNTP分别接触，且每一个均在与不同的dNTP接触之间进行清洗。在每个样品阱中可检测到结合的dNTP且如上所述确定在每个样品阱中的单链靶核酸模板的序列。

[0218] 针对单分子核酸测序的实施例可使用任何能够合成与靶核酸互补的核酸的聚合酶。聚合酶的实例包括DNA聚合酶、RNA聚合酶、热稳定聚合酶、野生型聚合酶、改性聚合酶、大肠杆菌DNA聚合酶I、T7DNA聚合酶、噬菌体T4DNA聚合酶ψ29(psi29)DNA聚合酶、Taq聚合酶、Tth聚合酶、Tli聚合酶、Pfu聚合酶、Pwo聚合酶、VENT聚合酶、DEEPVENT聚合酶、EX-Taq聚合酶、LA-Taq聚合酶、Sso聚合酶、Poc聚合酶、Pab聚合酶、Mth聚合酶、ES4聚合酶、Tru聚合酶、Tac聚合酶、Tne聚合酶、Tma聚合酶、Tca聚合酶、Tih聚合酶、Tfi聚合酶、白金Taq聚合酶、Tbr聚合酶、Tfl聚合酶、Tth聚合酶、Pfutubo聚合酶、Pyrobest聚合酶、Pwo聚合酶、KOD聚合酶、Bst聚合酶、Sac聚合酶、Klenow片段、具有3'-5'核酸外切酶活性和变体的聚合酶、改性产物及其衍生物。在一些实施例中，聚合酶为单亚基聚合酶。在一些实施例中，聚合酶为具有高工艺性的聚合酶。聚合酶的工艺性一般是指聚合酶在不释放核酸模板的情况下将dNTPs相继结合至核酸模板中的能力。在靶核酸的核碱基和互补的dNTP之间进行碱基配对后，聚合酶通过在新合成链的3'羟基末端和dNTP的α磷酸之间形成磷酸二酯键而将dNTP结合至新合成的核酸链中。在其中被结合至dNTP的发光标记为荧光团的实例中，其存在是通过激发而发出信号的，且发射脉冲是在结合步骤期间进行检测的。对于被结合至dNTP的末端(γ)磷酸的检测标记而言，dNTP至新合成链的结合导致β和γ磷酸和检测标记的释放，其在样品阱中自由地扩散，这使得从荧光团检测的发射减少。

[0219] 针对单分子RNA测序的实施例可使用任何能够根据RNA模板合成互补DNA(cDNA)的逆转录酶。在这种实施例中，逆转录酶可按类似于聚合酶的方式运行，这是因为cDNA可根据RNA模板经dNTP至被退火至RNA模板的逆转录引物的结合而进行合成。随后，cDNA可参与测序反应且按如上所述的方式确定其序列。随后可经序列互补性使用所确定的cDNA的序列以确定原始RNA模板的序列。逆转录酶的实例包括莫洛尼氏鼠白血病病毒逆转录酶(M-MLV)、禽成髓细胞瘤病毒(AMV)逆转录酶、人类免疫缺陷病毒逆转录酶(HIV-1)和端粒酶逆转录酶。

[0220] 发明人已认识到需要用于进行单分子检测和/或核酸测序的简单且不那么复杂的器械，且已考虑使用标记组，如光学(例如，发光)标记来标记不同的分子而检测单分子的技术。这种单分子可以是具有标记的核苷酸或氨基酸。标记可在当被绑定至单分子时、从单分子释放后、或在被绑定至单分子且在从单分子释放后进行检测。在一些实例中，标记为发光标记。在所选组中的每个发光标记与各个分子相关联。例如，一组四个标记可被用于“标记”

存在于DNA中的核碱基-该组中的每个标记与不同的核碱基相关联，例如，第一标记与腺嘌呤(A)相关联，第二标记与胞嘧啶(C)相关联，第三标记与鸟嘌呤(G)相关联，且第四标记与胸腺嘧啶(T)相关联。此外，在该组标记中发光标记中的每一个具有可被用于将该组中的第一标记与该组中的其他标记相区别的不同特性。以这种方式，每个标记可使用这些有区别的特征中的一个或多个而唯一地进行识别。通过示例而非限制的方式，可被用于将一个标记与另一个进行区别的标记的特征可包括响应于激发特定标记的激发光的激发和/或波长和/或能量而由标记发射出的光的发射能量和/或波长。

[0221] 实施例可使用标记特征的任何合适的组合以将一组标记中的第一标记与在同一组中的其他标记区别开来。例如，一些实施例可仅使用源于标记的发射光的波长而识别标记。在这种实施例中，在所选组中的每个标记具有与在该组中的其他标记不同的峰值发射波长且发光标记均是通过源于单个激发源的光进行激发的。图1-1示出根据一个实施例的源于四个发光标记的发射光谱，其中四个标记在不同的发射波长表现出其各自的强度峰值，其在本文被称之为标记的“峰值发射波长”。源于第一发光标记的第一发射光谱1-101具有在λ1的峰值发射波长，源于第二发光标记的第二发射光谱1-102具有在λ2的峰值发射波长，源于第三发光标记的第三发射光谱1-103具有在λ3的峰值发射波长，且源于第四发光标记的第四发射光谱1-104具有在λ4的峰值发射波长。在该实施例中，四个发光标记的发射峰值可具有满足关系λ1<λ2<λ3<λ4的任何合适的数值。四个发射光谱可能或可能不会重叠。然而，如果两个或多个标记的发射光谱重叠，则需要选择发光标记组，以使一个标记在每个各自的峰值波长发射出比任何其他标记多相当多的光。在该实施例中，四个标记中的每一个最大化地从激发源吸收光的激发波长基本上是相等的，但这不是必须的情况。使用上述标记组，四个不同的分子可用源于标记组的各个标记进行标示，标记可使用单个激发源进行激发，且标记可通过使用光学系统和传感器检测标记的发射波长而彼此进行区别。虽然图1-1示出四个不同的标记，但应理解的是也可使用任何合适数量的标记。

[0222] 其他实施例可使用源于标记的发射光的波长以及标记吸收光波长来识别标记。在这种实施例中，在所选标记组中的每个标记具有与该组中其他标记不同的发射波长和激发波长组合。因此，在选定标记组中的一些标记可能具有相同的发射波长，但可通过具有不同波长的光进行激发。相反地，在选定标记组中的一些标记可能具有相同的激发波长，但却可发射出具有不同波长的光。图1-2a示出根据一个实施例的源于四个发光标记的发射光谱，其中标记中的两个具有第一峰值发射波长，且另外两个标记具有第二峰值发射波长。源于第一发光标记的第一发射光谱1-105具有在λ1的峰值发射波长，源于第二发光标记的第二发射光谱1-106也具有在λ1的峰值发射波长，源于第三发光标记的第三发射光谱1-107具有在λ2的峰值发射波长，且源于第四发光标记的第四发射光谱1-108也具有在λ2的峰值发射波长。在该实施例中，四个发光标记的发射峰值可具有满足关系λ1<λ2的任何合适的数值。图1-2b示出源于四个发光标记的吸收光谱，其中标记中的两个具有第一峰值吸收波长，且另外两个标记具有第二峰值吸收波长。第一发光标记的第一吸收光谱1-109具有在λ3的峰值吸收波长，第二发光标记的第二吸收光谱1-110具有在λ4的峰值吸收波长，第三发光标记的第三吸收光谱1-111具有在λ3的峰值吸收波长，且第四发光标记的第四吸收光谱1-112具有在λ4的峰值吸收波长。要注意的是在图1-2a中共享发射峰值波长的标记在图1-2b中并不共享吸收峰值波长。甚至当仅有两个用于四种染料的发射波长时，使用这种标记组允许在

四个标记之间进行区别。使用在不同的波长进行发射的两个激发源或能够在多个波长进行发射的单个激发源会使这种情况成为可能。如果对于每个检测的发射事件而言已知激发光的波长，那么则可确定所存在的是哪个标记。激发源可在第一激发波长和第二激发波长之间交替，这被称之为交织。替代地，可使用第一激发波长的两个或多个脉冲，且随后使用第二激发波长的两个或多个波长。

[0223] 虽然未在图中示出，其他实施例可仅基于吸收频率确定发光标记的身份。如果激发光可被调谐至与标记组中的标记的吸收光谱相匹配的特定波长，那么这种实施例则是可能的。在这种实施例中，用于指引和检测从每个标记发射出的光的光学系统和传感器无需能够检测发射光的波长。这在一些实施例中可能是有利的，这是因为其减少了光学系统和传感器的复杂性，这是由于在这种实施例中不需要检测发射波长。

[0224] 如上面所讨论的，发明人已认识和理解到需要能够使用标记的各种特征将不同的发光标记彼此区别开来。用于确定标记身份的特征类型影响了用于进行该分析的物理装置。本发明公开了用于进行这些不同实验的器械、装置、仪器和方法的几个实施例。

[0225] 简要地说，发明人已经认识并理解到具有相对较大数量(例如，几百、几千、几百万或更多)的像素的像素化传感器装置允许并行检测多个单个分子或粒子。至少部分地，可独立地解决像素中的子集或全部。通过示例而非限制地，分子可以是蛋白质和/或核酸(例如，DNA、RNA)。此外，可按多于每秒一百帧的速度获取数据的高速装置允许对在被分析的样品内随时间发生的动态过程或变化进行检测和分析。

[0226] 发明人已认识和理解到包括光学元件和传感器的低成本单次使用的一次性集成装置可与包括用于测量从生物样品发射出的发光光线的激发源的仪器连接起来使用。使用低成本集成装置减少了进行给定生物测定的成本。生物样品被置于集成装置上，且在完成生物测定后，可进行丢弃。集成装置与可用许多不同的一次性集成装置重复使用的更昂贵的多用途仪器通过接口连接。与紧凑的便携式仪器通过接口连接的低成本集成装置可在世界上的任何地方使用，而不会受需要用于分析样品的实验室专门技术的高成本生物实验室的约束。因此，自动化的生物分析可被用于之前不能进行生物样品的定量分析的世界上的地区。例如，可通过将血液样品置于一次性集成装置上，将一次性集成装置置于用于分析的小的便携式仪器中并用连接至通过用户进行立即审核的计算机处理结果而进行用于婴儿的血液测试。数据还可通过数据网络被传输至要进行分析和/或存档以用于后续临床分析的远程位置。替代地，仪器可包括用于分析从集成装置的传感器获得的数据的一个或多个处理器。

[0227] 下面将更详细地描述各种实施例。

[0228] II.系统的概述

[0229] 系统包括集成装置和被配置成与集成装置连接的仪器。集成装置包括像素阵列，其中每个像素包括样品阱和至少一个传感器。集成装置的表面具有多个样品阱，其为被配置成从被置于集成装置的表面上的样本接收样品的开口。多个样品可被包括在样本中且样品阱可被设计为接收一个样品，从而使每个样品阱含有不同的样品。例如，含有多个单链DNA模板的样本被置于集成装置的表面上且每个样品阱可接收单链DNA模板。样本还可含有标记的dNTPs，其随后随着结合至DNA的互补链中而进入样品阱以识别核苷酸。在这样的实例中，“样品”可指代当前通过聚合酶结合的单链DNA和标记的dNTP。

[0230] 从位置远离集成装置像素的源提供激发能量。激发能量是至少部分地通过集成装置的元件被引向一个或多个像素以在样品阱内照射照射区。随后，当位于照射区内并响应于通过激发能量进行的照明时，标记物或标记可发射出发射能量。在一些实施例中，一个或多个激发源为系统仪器的一部分，其中仪器和集成装置的组件被配置成将党的激发能量导向一个或多个像素。在其他实施例中，一个或多个激发源位于集成装置上，但却位于与像素阵列相分离的区域中，且在集成装置中的组件被配置成将激发能量从激发源区导向一个或多个像素。

[0231] 由样品发射出的发射能量可随后通过在集成装置的像素内的一个或多个传感器进行检测。在一些实施例中，多个传感器可调整大小并被布置成捕获发射能量的空间分布。源于一个或多个传感器的输出信号可随后被用于在多个标记物中区别一个标记物，其中多个标记物可被用于识别在样本内的样品。

[0232] 在图2-1A和2-1B中示出了系统2-100的示意图。系统包括与具有激发源2-106的仪器2-104通过接口连接的集成装置2-102。集成装置使用任何适于接收集成装置并将其保持为与激发源成精确光学对齐的插口与仪器通过接口连接。在仪器2-104中的外部激发源2-106被配置成将激发能量提供至集成装置2-102。虽然激发源被示为位于仪器上，但在一些情况下激发源仍可位于集成装置上与像素相分离的区域中。如在图2-1B中示意性所示，集成装置2-102具有多个像素，其中每个像素2-112能够对样品进行独立分析。这种像素可被称之为“无源像素”，这是因为像素从与像素相分离的源接收激发能量，其中源激发多个像素。每个像素2-112具有用于保持并分析样品的样品阱2-108以及用于响应于用激发源2-106所提供的激发能量照射样品而检测样品所发射的发射能量的传感器2-110。在一些实施例中，每个传感器可包括多个子传感器，每个子传感器被配置成检测源于样品的发射能量的不同波长。

[0233] 用于将激发能量引导和耦合至样品阱2-108的光学元件位于集成装置2-102和仪器2-104两者上。一些源至阱的元件可包括位于集成装置上以将激发能量耦合至集成装置的光栅耦合器、用于将激发能量输送至每个像素的波导以及在集成装置上用于将从仪器接收的激发能量导向样品阱的透镜、等离激元元件和电介质涂层。额外地，位于集成装置上的光学元件将发射能量从样品阱导向传感器。这种阱至样品的元件可包括将发射能量引向辐射图式中的组件，其中辐射图式取决于通过样品阱中的样品所发射出的发射能量。样品阱、激发源至阱光学元件的一部分以及样品阱至传感器光学元件位于集成装置上。激发源和源至阱组件中的一部分位于含有激发源2-106的仪器2-104中。在一些实施例中，单个组件可发挥将激发能量耦合至样品阱并将发射能量从样品阱输送至传感器的作用。

[0234] 如在图2-1B中所示，集成装置包括多个像素，每个像素2-112与其自身的各个样品阱2-108和传感器2-110相关联。多个像素可按阵列进行布置，且可具有任何适当数量的像素。例如，集成装置根据一些实施例可包括100至1000个像素，根据一些实施例可包括1000至10000个像素，根据一些实施例可包括10000至100000个像素，根据一些实施例可包括100000至1000000个像素且根据一些实施例还可包括1000000至10000000个像素。在一些实施方案中，在集成装置上可具有更少或更多的像素。集成装置2-112和仪器2-104可包括用于处理与大像素阵列(例如，多于1000个像素)相关联的数据的多通道高速通信链路。

[0235] 仪器通过集成装置接口2-114与集成装置成接口连接。集成装置接口2-114可包括

用于将集成装置定位和/或与仪器相对齐从而改善激发能量从激发源至集成装置的耦合的组件。在一些实施例中，激发源2-106包括多个激发源，其组合在一起以将激发能量输送至集成装置2-112。多个激发源可被配置成产生多个激发能量或波长。集成装置接口2-114可从位于集成装置上的像素中的传感器接收读出信号。额外地，集成装置接口2-114可进行设计以使集成装置通过将集成装置固定至集成装置接口2-114而附接至仪器。

[0236] 仪器2-104包括用于控制仪器的操作的用户接口2-116。用户接口2-116被配置成允许用户将信息，如用于控制仪器的运转的命令和/或设置输入仪器。在一些实施例中，用户接口2-116可包括按钮、开关、拨号盘和用于语音命令的麦克风。额外地，用户接口2-116可允许用户接收关于仪器和/或集成装置的性能的反馈，如通过源于集成装置上的传感器的读出信号获得的合适的对齐和/或信息。在一些实施例中，用户接口2-116可提供反馈，即使用扬声器以提供听觉反馈以及使用指示灯和/或显示屏以提供视觉反馈。在一些实施例中，仪器2-104包括用于与计算装置2-120相连接的计算机接口2-118。可使用任何合适的计算机接口2-118和计算装置2-120。例如，计算机接口2-118可以是USB接口或火线接口。计算装置2-120可以是任何通用计算机，如笔记本电脑或台式电脑。计算机接口2-118便于在仪器2-104和计算装置2-120之间进行信息通信。用于控制和/或配置仪器2-104的输入信息可通过被连接至仪器的计算机接口2-118的计算装置2-120而提供。额外地，输出信息可通过计算机接口2-118而由计算装置2-120进行接收。这种输出信息可包括关于仪器2-104和/或集成装置2-112的性能的反馈以及源于传感器2-110的读出信号的信息。仪器2-104还可包括用于分析从传感器2-110接收的数据和/或将控制信号发送至激发源2-106的处理装置2-122。在一些实施例中，处理装置2-122可包括通用处理器、专门改装的处理器(例如，中央处理单元(CPU)，如一个或多个微处理器或微控制器核、现场可编程门阵列(FPGA)、应用专用集成电路(ASIC)、定制的集成电路、数字信号处理器(DSP)或其组合)。在一些实施例中，对源于传感器2-110的数据的处理可通过处理装置2-122和外部计算装置2-120两者进行。在其他实施例中，计算装置2-120可以省略且对源于传感器2-110的数据的处理可仅通过处理装置2-122进行。

[0237] 在图3-1A中示出集成装置3-102的截面示意图，其示出一行像素。每个像素3-112包括样品阱3-108和传感器3-110。传感器3-110可被对齐和定位至样品阱3-112。当激发源被耦合至集成装置时，激发能量被提供至一个或多个像素。图3-1B为示出将激发源3-106耦合至集成装置3-102的示意图。激发源3-106在集成装置3-102中提供了激发能量3-130(以虚线示出)。图3-1B示出从激发能量源3-106至像素3-112中的样品阱3-108的激发能量的路径。位于远离集成装置的组件可被用于将激发源3-106定位和对齐至集成装置。这种组件可包括光学组件，包括透镜、镜子、棱镜、孔、衰减器和/或光纤。额外的机械组件可被包括在被配置成允许对一个或多个对齐组件进行控制的仪器中。这种机械组件可包括致动器、步进马达和/或旋钮。集成装置包括将激发能量3-130引向在集成装置中的像素的组件。在每个像素3-112内，激发能量被耦合至与像素相关联的样品阱3-108。虽然图3-1B示出至一行像素中的每个样品阱的激发能量的耦合，在一些实施例中，激发能量可能未耦合至一行中的所有像素。在一些实施例中，激发能量可耦合至在集成装置的一行像素中的像素或样品阱中的一部分。激发能量可照射位于样品阱内的样品。样品可响应于通过激发能量进行的照明而到达激发状态。当样品处于激发状态中时，样品可发射出发射能量且发射能量可通过

传感器进行检测。图3-1B示意性地示出从像素3-112的样品阱3-108至传感器3-110的发射能量3-140的路径(以实线示出)。在像素3-112中的传感器3-110可进行配置和定位以检测源于样品阱3-108的发射能量。在一些实施例中,传感器3-110可包括一个或多个子传感器。

[0238] 当含有多个样品的样本用多个标记物进行标记且多个标记物可通过发射能量进行识别时,在样品阱和传感器之间的像素中的路径可包括有助于基于发射能量识别多个标记物的一个或多个组件。组件可将发射能量向传感器集中且可额外地或替代地对具有特征能量或波长的发射能量进行空间上的分离。在一些实施例中,集成装置可包括将发射能量导入取决于发射能量光谱范围的辐射图式的组件。含有多个子传感器的传感器或传感器区可检测取决于辐射图式的发射能量的空间分布。发射不同发射能量和/或光谱范围的标记物可形成不同的辐射图式。传感器或传感器区可检测关于可被用于识别多个标记物中的一个标记物的发射能量的空间分布的信息。

[0239] 发射能量或能量可通过传感器进行检测并被转换成至少一个电信号。电信号可沿通过集成装置接口,如在图2-1B中所示的仪器2-104的集成装置接口2-114被连接至仪器的集成装置的电路中的导电线进行传输。电信号可随后进行处理和/或分析。电信号的处理或分析可发生在位于仪器2-104上或远离仪器处的合适的计算装置,如在图2-1B中所示的计算装置2-120上。

[0240] 集成装置可按在图2-2中所示的方式出现。电子、光学和相关结构均可被结合至单个衬底2-200上。集成装置可包括有源像素2-205的阵列和集成电子电路。集成电子电路可包括被耦合至像素阵列的传感器的驱动器和读出电路2-215,和信号处理电路。信号处理电路可包括模拟-数字转换器2-217以及一个或多个现场可编程门阵列和/或数字信号处理器2-219。一些实施例可具有更多的电路组件,且一些实施例可具有在衬底上集成的更少的电路组件。尽管在图2-2中是以单个层次示出集成装置的组件的,但组件也可按多个层次在衬底2-200上进行制造。

[0241] 在一些实施例中,可以有位于集成装置上的光学元件(未示出),其被布置成将激发能量从一个或多个激发源引导和耦合至样品阱。这种源至阱的元件可包括等离激元结构和位于邻近样品阱处的其他微制造结构。额外地,在一些实施例中,可以有位于集成装置上的光学元件,其被布置成将发射能量从样品阱引导至相应的传感器。这种阱至样品的元件可包括等离激元结构和位于邻近样品阱处的其他微制造结构。在一些实施例中,单个组件可发挥将激发能量耦合至样品阱并将发射能量从样品阱输送至相应传感器的作用。

[0242] 在一些实施方案中,集成装置可包括被用于在样品阱激发样品的一个以上类型的激发源。例如,可以有多个被配置成产生多种激发能量或波长以激发样品的激发源。在一些实施例中,单个激发源可被配置成发射多个被用于在样品阱中激发样品的波长。在一些实施例中,在集成装置的像素处的每个传感器可包括多个被配置成检测源于样品的不同发射能量特征的子传感器。

[0243] 在操作中,在样品阱内对样品的并行分析是通过使用激发源激发在孔内的样品并用传感器检测源于样品发射的信号而进行的。源于样品的发射能量可通过相应的传感器进行检测并被转换成至少一个电信号。在一些实施例中,所产生的信号或多个信号可在集成装置上进行处理或通过处理装置和/或计算装置被传输至仪器以进行处理。源于样品阱的信号可独立于与其他像素相关联的信号进行接收和处理。

[0244] 当激发源将激发能量输送至样品阱时，在阱内的至少一个样品可发光且所产生的发射可通过传感器进行检测。如本文所使用的，短语“样品可发光”或“样品可发射出辐射”或“源于样品的发射”表示发光标记、标记物或报告物，样品本身或与样品相关联的反应产物可产生发射的辐射。

[0245] 在一些实施例中，样品可用一个或多个标记进行标记，且与标记相关联的发射可通过仪器辨别。例如，集成装置的组件可很好地影响源于样品的发射以产生取决于发射波长的空间发射分布图式。用于样品阱的相应传感器可被配置成检测源于样品阱的空间分布图式并产生在不同的发射波长之间进行区别的信号，如下面进一步所描述的。

[0246] III.集成装置

[0247] 集成装置可被配置成从外部激发能量源接收激发能量。在一些实施例中，装置的区域可被用于耦合至位于远离集成装置的激发能量源。集成装置的组件可将激发能量从激发源耦合区引导至至少一个像素。在一些实施例中，至少一个波导可被配置成将激发能量输送至具有样品阱的至少一个像素。位于样品阱内的样品可响应于用激发能量进行的照射而发射出发射能量。位于像素内的一个或多个传感器被配置成接收发射能量。

[0248] A.激发源耦合区

[0249] 在一些实施例中，集成装置具有被配置成与外部激发能量源相耦合并将激发引向在集成装置的像素区中的至少一个像素的激发源耦合区。可使用将激发能量耦合入波导的任何合适的机构。源于外部激发源的激发能量可通过边缘耦合被耦合至波导。作为在图4-1A中所示的实例，被配置成传播激发能量的光纤4-106进行定位以与集成装置4-102上的波导4-104相耦合。光纤4-106至波导4-104的对齐可进行监控，从而实现将光纤所提供的激发能量耦合至波导。

[0250] 额外地或替代地，激发源耦合区可包括被配置成与外部激发源相耦合的结构组件。这种结构组件可包括光栅耦合器和具有锥形区的波导。在这种实施例中，激发源可进行定位以经光栅耦合器将激发能量耦合至锥形波导。可形成光栅耦合器的特性，如大小、尺寸和/或光栅配置以改善激发能量从激发源至波导的耦合。额外地，可形成在波导中的锥形以改善激发能量至波导的传播。这种光栅耦合器和波导锥形的组合可允许在将激发源对齐和定位至集成装置中有更多的容许度。作为在图4-1B中所示的实例，集成装置4-112可包括位于激发源耦合区中的光栅耦合器4-116和具有锥形的波导4-114。光纤4-120可进行定位并被对齐至光栅耦合器4-116以将激发能量耦合至波导。

[0251] 激发源可形成在集成装置的激发源耦合区上。激发源耦合区可与像素阵列区中的集成装置的像素相分离和/或横向偏移。像素阵列区包括多个像素，每个像素与至少一个波导(像素从该波导接收激发光)相关联。在集成装置中的波导可与激发源相耦合并被配置成将激发能量输送至在像素阵列中的至少一个样品阱。可选地，波导可包括用于进行二次谐波产生、三次谐波产生或和频产生的频率转换区以转换从激发源发射出的光的波长。如在图4-2中所示，集成装置4-202包括激发源耦合区4-206和像素阵列区4-210。多个像素位于集成装置的像素阵列区内。形成波导4-204以将激发源耦合区4-206连接至像素阵列区4-210。位于激发源耦合区上的激发源可将激发能量耦合至被定位成将激发能量输送至位于像素阵列区中的一个或多个样品阱的至少一个波导。在一些实施例中，频率转换区4-208可位于激发源耦合区4-206和像素阵列区4-210之间。频率转换区4-208可将激发源发射出的

光的波长转换成另一个波长。

[0252] 图4-3A为集成装置4-302a的激发源区的截面示意图。在该实例中，激发源4-306位于在集成装置4-302a中的波导4-304a的一部分上方。激发源4-306至波导4-304a的相对定位和对准允许将激发源发射出的激发能量耦合至波导。波导可被配置成将激发能量朝集成装置上的至少一个像素导向。虽然图4-3a示出了单个激发源耦合至单个波导，在激发源耦合区中可提供任何合适数量和布置的激发源和/或波导。例如，一个激发源可耦合至多个波导。额外地或替代地，多个激发源可耦合至一个或多个波导。多个激发源可被用于激发一个或多个标记物或样品。

[0253] 图4-3B示出了在集成装置4-302b的像素阵列区中的像素区的示例性截面视图。在图4-3B中示出的像素包括在样品阱材料层4-316中形成的样品阱4-308以及传感器4-310a和4-310b。波导4-304b位于邻近样品阱4-308处以将位于激发源耦合区中的激发源所提供的激发能量耦合至样品阱4-308。传感器4-310b和4-310a位于与样品阱4-308相对齐的像素区内以接收由位于样品阱4-308中的样品所发射的发射能量。尽管在该实例中示出了两个传感器，但如将进一步讨论的，任何合适数量和布置的传感器可位于像素区内。额外地或替代地，可以有一个以上的波导，其被配置成将激发能量输送至在像素内的样品阱。

[0254] 作为一个实例，作为激发源，垂直共振腔面射型雷射(VCSELs)可形成在激发源耦合区上。激发源区包括多个位于相应波导上方的VCSEL。VCSEL发射激发光，其随后被耦合至波导，且波导将激发光导向像素阵列区，其中每个波导将激发光的一部分耦合至与该波导相关联的每个像素。对波导进行定位以将激发光导向至少一个样品阱。在一些实施例中，一行或一列像素与单个波导相关联。在一些情况下，频率转换区可创建具有不同于VCSELs所发射的光的波长的光。例如，频率转换区可将VCSELs发射的光转换成具有更短波长的光。在其他实施例中，频率转换区可将VCSELs发射的光转换成具有更长波长的光。

[0255] 多个激发源可被用于将激发能量提供至位于集成装置上的像素。在一些实施例中，每行像素可通过被耦合至多个激发源中的一个的波导进行照射。如在图4-4中所示，多个激发源4-406a、4-406b和4-406c可耦合至被配置成将激发能量运向位于集成装置4-402上的像素4-412的波导。可使用用于激发源、波导和像素布置的任何合适的配置。在图4-4中示出的示例性配置交替使用被用于照射每行像素的激发源。例如，激发源4-406a通过波导4-404a耦合至第一行像素，并通过额外的波导耦合至第四行像素、第七行像素和第十行像素。类似地，激发源4-406b耦合至第二、第五、第八和第十一行像素，如通过连接至第十一行像素的波导4-404b而进行。激发源4-406c耦合至第三、第六、第九和第十二行像素。在一些实施例中，激发源4-406a、4-406b和4-406c可包括多个激发源。例如，在具有VCSEL光源的一些实施例中，可使用多列VCSELs以使每个VCSEL与源于另一列的至少一个VCSEL垂直重叠。每行像素用单独的VCSEL进行照亮且该列VCSELs交替用于每行像素，如在图4-4中所示的实例配置中的情况一样。

[0256] B.波导

[0257] 在具有波导的集成装置的实施例中，波导可按任何合适的方式进行设计以将激发能量输送至一个或多个样品阱。波导可充当总线，以将激发能量耦合至多个像素。随着激发能量沿与一个或多个样品阱相关的波导进行传播，激发能量中的一部分可被输送至样品阱。单个波导可将激发能量输送至集成装置中的一行或一列像素。波导可将具有延伸的衰

逝尾的光学模式运至样品阱和/或接近样品阱的区域中。位于接近样品阱的额外的能量耦合结构可将源自衰逝尾的能量耦合至样品阱中。替代地或额外地，可包括将源自波导的能量导向样品阱附近的结构。

[0258] 波导相关于在集成装置的像素中的其他组件的位置和布置可被配置成改善激发能量向样品阱的耦合，改善通过传感器进行的发射能量的采集和/或减少通过激发能量引入的信号噪声。波导可调整大小和定位在邻近样品阱处以减少对从样品阱发射的发射能量的干扰。例如，波导的宽度可增加以随着其传播至像素的传感器而使源于样品阱的发射均等地通过相同的材料。在一些实施方案中，在样品阱和波导之间的距离和波导厚度可进行选择以使源于波导材料界面的反射最小化。距离和厚度将取决于波导和周围材料的折射率。在一些实施例中，波导层是由具有约为1.90的折射率和约为100nm的厚度的氮化硅所组成的，且周围材料是具有约为1.46的折射率的二氧化硅。根据一些实施例，波导对发射能量的反射在一些实施例中可被减少至小于约5％，在一些实施例中被减少至小于约2％且在一些实施例中被减少至小于约1％。

[0259] 波导可穿过像素并位于样品阱和传感器之间，如在图4-3B的示例性集成装置中所示。然而，在一些实施例中，样品阱可位于波导和传感器之间。例如，波导可按中心至中心的方式与传感器相对齐，从而使波导的中心基本上与样品阱的中心相对齐。在一些实施例中，波导可偏离与样品阱的中心至中心的对齐。在一些实施例中，两个大致平行的波导可将具有相同波长或不同波长的激发能量输送至像素，且样品阱可位于两个波导之间。在一些实施例中，多个在集成装置内不同级别上的波导可将激发能量引向位于集成装置上的一个或多个样品阱的附近。

[0260] 波导可调整尺寸以支持单横向辐射模式或可调整尺寸以支持多横向辐射模式。在一些实施方案中，波导可具有形成在其端部上的高度反射部分，从而使其支持在波导内的纵向驻立模式(longitudinal standing mode)。在一些实施例中，高度反射部分包括单个高度反射的表面。在其他实施例中，高度反射部分包括多个反射结构，其总地产生高反射率。波导可被配置成使用波导分束器将来自具有较高输出强度的单个激发源的激发能量分裂以从单个激发源创建多个激发能量束。这种分束器可包括衰逝耦合机构。

[0261] 波导的一个或多个参数可进行选择以传播激发能量的一个或多个波长。波导和周围材料的材料可进行选择以改善激发能量通过波导的传播。在图4-3B中示出波导4-304b和周围材料4-318的实例。用于波导或周围材料的材料可进行选择以用于特定的折射率或折射率的组合。实例波导材料包括氮化硅(Si_xN_y)、氧氮化硅、碳化硅、氧化钽(TaO_2)、二氧化铝。实例波导周围材料包括二氧化硅(SiO_2)和氧化硅。材料的组合可进行选择以用于波导和/或围绕波导的材料。在一些实施例中，波导是由二氧化硅围绕的氮化硅制成的。

[0262] 额外地，可选择波导的尺寸以改善激发能量的传播。作为一个示例性实施例，波导可具有约为0.5μm的截面宽度以及约为0.1μm的截面高度，且被定位在样品阱层下约0.5μm的位置。在一些情况下，波导可定位在样品阱层下约0.5μm的位置。在另一个示例性实施例中，波导可具有约为1μm的截面宽度以及为0.18μm的截面高度，且被定位在样品阱层下0.3μm的位置。

[0263] C.样品阱

[0264] 根据一些实施例，样品阱5-210可形成在集成装置的一个或多个像素处。样品阱可

包括小体积或区域，其形成在衬底5-105表面上并进行布置以使样品5-101可从被沉积在衬底表面上的样本扩散进和出样品阱，如在图5-1中所示。在各种实施例中，样品阱5-210可被布置成从激发源5-240接收激发能量。扩散至样品阱中的样品5-101可通过粘附剂5-211被暂时或永久地保持在样品阱的激发区5-215中。在激发区中，样品可通过激发能量激发(例如，激发辐射5-247)且随后发射可进行观测和评价以对样品进行特征化的辐射。

[0265] 在进一步的操作细节中，要进行分析的至少一个样品5-101可被导入样品阱5-210中，例如，从含有样品的流体悬浮液的样本(未示出)导入。在样品位于样品阱内的激发区5-215内时，源于衬底上的激发源5-240的能量可激发样品或激发被附至样品或以其他方式与样品相关联的至少一个标记(也被称之为生物标记物、报告物或探针)。根据一些实施例，标记可以是发光分子(例如，发光标记或探针)或量子点。在一些实施方案中，可以有一个以上的被用于分析样品的标记(例如，被用于单分子基因测序的不同标记，如在通过引用并入本文的J.Eid等人的，科学323，p.133(2009)的“源于单聚合酶分子的实时DNA测序”中所述)。在激发期间和/或之后，样品或标记可发射出发射能量。当使用多个标记时，其可在不同的特征能量进行发射和/或用不同的时间特征进行发射。源于样品阱的发射可辐射或以其他方式行进至传感器5-260，在该传感器5-260处发射被检测和被转换成可被用于对样品进行特征化的电信号。

[0266] 根据一些实施例，样品阱5-210可以是部分封闭的结构，如在图5-2中所示。在一些实施方案中，样品阱5-210包括形成在至少材料层5-230中的亚微米大小的孔或开口(其特征在于至少一个横向尺寸D_{sw})。在一些情况下，孔可被称为“纳米孔”。根据一些实施例，样品阱的横向尺寸可以在约20纳米和约1微米之间，然而在一些实施方案中也可使用较大和较小的尺寸。在一些实施方案中，样品阱5-210的体积可以在约10^{-21}升和约10^{-15}升之间。样品阱可被形成为波导，其可能支持或可能不支持传播模式。在一些实施例中，样品阱可被形成为纳米孔，其具有直径(或最大横向尺寸)D_{sw}的圆柱形状(或其他形状)。当样品阱为不支持用于在波导结构上入射的所选辐射波长传播模式的波导结构时，那么样品阱则如下所述。当样品阱在这种情况下时，样品阱可充当零模式波导(ZMW)。ZMW可形成在单金属层中作为不支持通过孔的传播光学模式的纳米级孔。

[0267] 由于样品阱5-210具有小体积，因此即使样品可按类似于在自然环境中找到的那些的浓度浓缩于所检查样本中，也可在每个像素实现对单样品事件(例如，单分子事件)的检测。例如，样品的微摩尔浓度可存在于被置于与集成装置相接触的样本中，但在像素级别上，在任何给定的时间在样品阱内可能仅有约一个样品(或单分子事件)。据统计，一些样品阱可能不含有样品且一些可能含有一个以上的样品。然而，可观数量的样品阱可含有单个样品，从而可对大量的像素并行进行单分子分析。集成装置的样品阱可调整大小以使其在统计学上最有可能不含有样品或含有一个样品，从而可进行单分子分析。然而，样品阱可含有一个以上的样品。由于可在每个像素分析单分子或单样品事件，因此集成装置可检测采用其他方式将在总体均值中被忽视的罕见事件。

[0268] 样品阱的横向尺寸D_{sw}在一些实施例中可以是约500纳米(nm)和约1微米之间，在一些实施例中为约250nm和约500nm之间，在一些实施例中为约100nm和约250nm之间且在一些实施例中为约20nm和约100nm之间。根据一些实施方案，样品阱的横向尺寸为约80nm和约180nm之间或为激发波长或发射波长的约四分之一和八分之一之间。根据其他实施方案，样

品阱的横向尺寸为约120nm和约170nm之间。在一些实施例中，样品阱5-210的深度或高度可以是约50nm和约500nm之间。在一些实施方案中，样品阱5-210的深度或高度可以是约80nm和约250nm之间。

[0269] 具有亚波长横向尺寸的样品阱5-210可按至少两个方式改善集成装置的像素5-100的操作。例如，在样品阱上从与样本相对的一侧入射的激发能量可按指数下降的功率耦合至激发区5-215中且不会传播通过样品阱至样本。其结果是，激发能量在其激发相关样品的激发区中增加并在其将激发将造成背景噪声的其他样品的样本中有所减少。此外，源于保持在阱的底部(例如，最接近传感器5-260)的样品的发射优选为指向传感器，这是因为传播通过样品阱的发射受到高度抑制。这两种效应均会改善在像素的信噪比。发明人已认识到可改善样品阱的几个方面以进一步地提高在像素的信噪水平。这些方面涉及样品阱形状和结构且涉及有助于将激发能量耦合至样品阱和来自样品阱的发射辐射的相邻光学和等离激元结构(如下所述)。

[0270] 根据一些实施例，样品阱5-210可被形成为纳米孔，其被配置成不支持用于相关特定波长的传播模式。在一些情况下，纳米孔进行配置，其中所有模式均位于阈值波长和孔的子截止纳米孔(SCN)以下。例如，样品阱5-210可包括在导电层中的圆柱形的洞孔或钻孔。在一些实施例中，样品阱的横截面不需要是圆形的且可以是椭圆形、正方形、矩形或多边形。激发能量5-247(例如，可见或近红外辐射)可通过由样品阱在阱的第一端的壁5-214所限定的入口孔5-212进入样品阱，如在图5-2中所示。当被形成为SCN时，激发能量可沿纳米孔的长度呈指数衰减(例如，在样本的方向上)。在一些实施方案中，波导可包括用于源于样品的发射辐射的SCN，但可能不是用于激发能量的SCN。例如，由样品阱所形成的孔和波导可足够得大以支持用于激发能量的传播模式，这是因为其可具有比发射辐射更短的波长。在较长波长的发射可超越用于波导中的传播模式的截止波长。根据一些实施例，样品阱5-210可包括用于激发能量的SCN，从而使激发能量的最大强度被集中至位于样品阱5-210的入口处的样品阱的激发区5-215(例如，接近在层5-235和层5-230之间的接口处进行局部化)。这种激发能量的局部化可改善对源于样品的发射能量的局部化并限制从单个样品(例如，单个分子)发射出的进行观测的发射。

[0271] 在图5-3中示出了接近SCN入口处的激发局部化的实例。进行数值模拟以确定在被形成为SCN的样品阱5-210中和接近其的激发辐射的强度。其结果显示激发辐射的强度为在样品阱的入口孔处入射能量的约70％并在样品阱中的约100nm内下降至入射强度的约20％。对于该模拟而言，激发能量的特征波长为633nm且样品阱5-210的直径为140nm。样品阱5-210形成在金的金属层中。在图中每个水平划分为50nm。如该图所示，在样品阱中接收的激发能量的一半以上被局部化至样品阱的入口孔5-212内约50nm处。

[0272] 为了改善集中在样品阱的激发能量的强度，发明人开发和研究了其他样品阱结构。图5-4示出包括在样品阱激发端的容腔或凹穴5-216的样品阱的一个实施例。能从图5-3的模拟结果看出的，具有较高激发强度的区域仅存在于样品阱的入口孔5-212之前。根据一些实施例，向样品阱添加凹穴5-216允许将样品移至具有较高激发强度的区域中。在一些实施方案中，凹穴的形状和结构改变了局部激发场(例如，由于在层5-235和在样品阱中的流体之间的折射率差异)且可进一步地增加在凹穴中激发能量的强度。

[0273] 凹穴可具有任何合适的形状。凹穴可具有大致等于样品阱的横向形状的横向形

状，例如，圆形、椭圆形、正方形、矩形、多边形等。在一些实施例中，凹穴的侧壁可基本上为直的和竖直的，像样品阱的壁一样。在一些实施方案中，凹穴的侧壁可以是倾斜的和/或弯曲的，如在图中所示。凹穴的横向尺寸在一些实施例中可具有与样品阱的横向尺寸大致相同的大小，在一些实施例中可小于样品阱的横向尺寸或在一些实施例中可大于样品阱的横向尺寸。凹穴5-216可延伸越过样品阱约10nm至约200nm。在一些实施方案中，凹穴5-216可延伸越过样品阱约50nm至约150nm。通过形成凹穴，激发区5-215可延伸出样品阱，如在图5-4中所示。

[0274] 图5-5示出含有凹穴的样品阱的在激发区的激发能量的提高(在左模拟图中所示)。为了进行比较，也为不具有凹穴的样品阱模拟了激发场，其在右图中示出。场幅值已从这些图中的显色性进行了转换，且在凹穴底部的暗区表示比在样品阱内的明区更高的强度。在样品阱上的暗区表示最低强度。如可以看到的，凹穴允许样品5-101移至具有更高激发强度的区域，且凹穴还增加了在样品阱的激发端的具有最高强度的区域的局部化。要注意的是对于不具有凹穴的样品阱，高强度的区域更分散。在一些实施例中，凹穴5-216提供了在激发区处激发能量增加二倍或更大。在一些实施方案中，可根据凹穴的形状和深度获得大于二倍的增加。在这些模拟中，含有样品阱的层包括铝并具有约为100nm的厚度，凹穴具有约为50nm的深度且激发能量波长为635nm。

[0275] 图5-6示出样品阱5-210的另一个实施例，其中样品阱形成在位于衬底表面上的突起5-615中。与图5-1中所示的样品阱相比，所产生的样品阱的结构可按大于2倍的因子增加样品处的激发能量，且可将源于样品阱的发射集中至传感器5-260。根据一些实施例，突起5-615在第一层5-610材料中进行图案化。在一些实施例中，突起包括波导。突起在一些实施方案中可被形成为具有矩形横截面的脊且第二层5-620材料可沉积在第一层和突起的上方。在突起处，第二层可在接近圆柱形部分5-625的突起上方形成一个形状，如图所示。在一些实施例中，导电层5-230(例如，反射金属)可被沉积在第二层5-620上且进行图案化以形成在突起上的导电层中的样品阱5-210。凹穴5-216可随后被蚀刻入第二层中。凹穴可在导电层5-230下延伸约50nm至约150nm。根据一些实施例，第一层5-610和第二层5-620可以是光学透明的且可以或可以不用相同的材料制成。在一些实施方案中，第一层5-610可由氧化物(例如，SiO_2)或氮化物(例如，Si_3N_4)制成且第二层5-620可由氧化物或氮化物制成。

[0276] 根据一些实施例，在突起5-625上方的导电层5-230被大致形成为圆柱形反射器5-630。圆柱形部分的形状可通过选择突起高度h、突起的宽度或横向尺寸w和第二层5-620的厚度t而进行控制。激发区的位置和样品的位置可通过选择凹穴深度d而相对于圆柱形反射器的光学焦点而进行调整。可理解的是圆柱形反射器5-630可在激发区5-215集中激发能量且可采集从样品发射的辐射并向传感器5-260反射和集中辐射。

[0277] 如上所述，样品阱可按任何合适的形状形成且并不仅限于圆柱形。在一些实施方案中，样品阱可以是圆锥的、四面体、五面体等。图5-7A至图5-7F示出可用于一些实施例中的一些实例样品阱形状和结构。根据一些实施例，样品阱5-210可被形成为具有比激发能量的出口孔5-218更大的入口孔5-212。样品阱的侧壁可以是锥形的或弯曲的。以这种方式形成样品阱可容许更多的激发能量至激发区且仍明显衰减向样本行进的激发能量。额外地，由于在该方向上的有利的能量传递，因此由样品辐射的发射优选为向具有较大孔径的样品阱的一端进行辐射。

[0278] 在一些实施例中，凹穴5-216可具有比样品阱的底部更小的横向尺寸，如在图5-7B中所示。较小的凹穴可通过在蚀刻凹穴之前用牺牲层涂覆样品阱的侧壁且随后移除牺牲层而形成的。可形成较小的凹穴以将样品保持在与样品阱的导电壁更加等距的区域中。将样品保持为与样品阱的壁成等距的方式可减少样品阱壁对辐射样品的不良影响，例如，对发射的抑制和/或对辐射寿命的改变。

[0279] 图5-7C和5-7D示出样品阱的另一个实施例。根据该实施例，样品阱5-210可包括激发能量加强结构5-711和在邻近激发能量加强结构处形成的粘附剂5-211。根据一些实施例，能量加强结构5-711可包括形成在光学透明层5-235上的导电材料中的表面等离激元或纳米天线结构。图5-7C示出样品阱5-210和附近结构的正视图且图5-7D示出平面图。激发能量加强结构5-711可被成形和布置为在小局部化区域中加强激发能量。例如，结构可包括在样品阱处具有锐角的尖导体，其增加了在激发区5-215内的激发能量的强度。在所示的实例中，激发能量加强结构5-711采用蝴蝶结的形式。扩散至该区域中的样品5-101可通过粘附剂5-211而暂时或永久地保持且可通过可从位于邻近样品阱5-210处的激发源5-240进行输送的激发能量进行激发。根据一些实施例，激发能量可驱动在能量加强结构5-711中的表面等离激元波。所产生的表面等离激元电流可在结构5-711的尖点产生高电场且这些高场可激发被保持在激发区5-215中的样品。在一些实施例中，在图5-7C中所示的样品阱5-210可包括凹穴5-216。

[0280] 样品阱的另一个实施例被示于图5-7E中并示出了沿样品阱5-210的内壁所形成的激发能量加强结构5-720。激发能量加强结构5-720可包括金属或导体且可使用成角度的(或阴影)定向沉积而形成，其中上面形成有样品阱的衬底在沉积期间发生旋转。在沉积期间，样品阱5-210的底部被阱的上壁遮蔽，从而使所沉积的材料不会在底部发生累积。所产生的结构5-720可在结构的底部形成锐角5-722且导体的该锐角可加强在样品阱内的激发能量。

[0281] 在图5-7E中所示的实施例中，其中形成样品阱的材料5-232不必是导体且可以是任何合适的电介质。根据一些实施方案，样品阱5-210和激发能量加强结构5-720可形成在被蚀刻至电介质层5-235中的盲孔处且无需沉积单独层5-232。

[0282] 在一些实施方案中，可随后在图5-7E中所示的结构上进行阴影蒸发以将金属或导电能量加强结构，例如，梯形结构或尖锥沉积在样品阱的底部，如虚线所示。能量加强结构可经表面等离激元加强在样品阱内的激发能量。在阴影蒸发后，可进行平坦化工艺(例如，化学-机械抛光步骤或等离子体蚀刻工艺)以移除或回蚀在样品阱顶部的沉积材料，且同时将能量加强结构留在阱内。

[0283] 在一些实施例中，样品阱5-210可由一个以上的单金属层制成。图5-7F示出在多层结构中形成的样品阱，其中不同的材料可被用于不同层。根据一些实施例，样品阱5-210可形成在第一层5-232(其可以是半导体或导体材料)、第二层5-234(其可以是绝缘体或电介质)和第三层5-230(其可以是导体或半导体)中。在一些实施例中，可使用简并掺杂的半导体或石墨烯以用于样品阱的一层。在一些实施方案中，样品阱可形成在两层中，且在其他的实施方案中，样品阱可形成在四层或更多的层中。在一些实施例中，用于形成样品阱的多层材料可进行选择以增加或抑制可通过样品阱上入射的激发辐射生成的界面激子。在一些实施例中，用于形成样品阱的多层材料可进行选择以增加在样品阱底部的表面-等离激元的

生成或抑制在阱的顶部的表面等离激元的辐射。在一些实施例中，用于形成样品阱的多层材料可进行选择以抑制激发辐射传播越过样品阱和多层材料进入大样本中。在一些实施例中，用于形成样品阱的多层材料可进行选择以增加或抑制可通过样品阱上入射的激发辐射生成的界面激子。

[0284] 各种材料可被用于形成在上述实施例中所述的样品阱。根据一些实施例，样品阱5-210可由至少材料层5-230制成，其可包括导电材料、半导体和绝缘体中的任一个或其组合。在一些实施例中，样品阱5-210包括高度导电的金属层，例如，金、银、铝、铜。在一些实施例中，层5-230可包括多层堆，其包括金、银、铝、铜、钛、氮化钛、钯、铂和铬中的任一个或其组合。在一些实施方案中，可额外地或替代地使用其他金属。根据一些实施例，样品阱可包括合金，如AlCu或AlSi。

[0285] 在一些实施例中，多层不同金属或合金可被用于形成样品阱。在一些实施方案中，其中形成有样品阱5-210的材料可包括交替的金属和非金属层，例如，交替的金属和一种或多种氧化物层。在一些实施例中，非金属可包括聚合物，如聚乙烯基磷酸或聚乙二醇(PEG)硫醇。

[0286] 根据一些实施例，其中形成有样品阱的层5-230可被沉积在至少一个光学透明层5-235上或邻近其处，从而使激发能量(采用光学辐射的形式，如可见或近红外辐射)和发射能量(采用光学辐射的形式，如可见或近红外辐射)可行进至样品阱5-210和从其开始行进而不造成显著的衰减。例如，源于激发源5-240的激发能量可通过至少一个光学透明层5-235至激发区5-215，且源于样品的发射可通过相同的一层或多层至传感器5-260。

[0287] 在一些实施例中，样品阱5-210的至少一个表面可涂覆有一层或多层5-211和5-280材料，其影响样品阱内样品的作用，如在图5-8中所示。例如，薄电介质层5-280(例如，氧化铝、氮化钛或二氧化硅)可被沉积为样品阱的侧壁上的钝化涂层。可实现这种涂层以减少在激发区5-125外的样品的样品粘附或减少在样品和其中形成样品阱5-210的材料5-230之间的交互作用。根据一些实施例，在样品阱内的钝化涂层的厚度可以是约5nm和约50nm之间。

[0288] 在一些实施方案中，用于涂层5-280的材料可基于用于材料的化学剂的亲和性来进行选择，从而使该层5-280可用化学或生物物质进行处理以进一步地抑制样品种类至该层的粘附。例如，根据一些实施例，涂层5-280可包括氧化铝，其可用多磷酸盐钝化层进行钝化。在一些实施例中可使用额外或替代的涂层和钝化剂。

[0289] 根据一些实施例，至少样品阱5-210和/或凹穴5-216的底表面可用化学或生物粘附剂5-211(例如，生物素)进行处理以促进对样品的保持。样品可永久或暂时地进行保持，例如，至少在约0.5毫秒至约50毫秒的一段时间内。在另一个实施例中，粘附剂可在更长的时间段内促进对样品5-101的暂时性的保持。在各种实施例中，可使用任何合适的粘附剂，但这并不限于生物素。

[0290] 根据一些实施例，邻近样品阱的材料层5-235可基于用于该层材料的粘附剂的亲和性进行选择。在一些实施例中，样品阱的侧壁的钝化可抑制在侧壁上的粘附剂的涂覆，从而使粘附剂5-211优选为沉积在样品阱的底部。在一些实施例中，粘附剂涂层可延伸样品阱侧壁的一部分。在一些实施方案中，粘附剂可通过各向异性物理沉积工艺(例如，蒸发、溅射)进行沉积，从而使粘附剂在样品阱或凹穴的底部累积且不会明显地在样品阱的侧壁上

形成。

[0291] 可采用各种制造技术以制造用于集成装置的样品阱5-210。下面描述了几种实例工艺，但本发明并不仅限于这些实例。

[0292] 样品阱5-210可通过任何合适的微米或纳米制造工艺而制成，其可包括但不限于与光刻、深度紫外线光刻、浸渍光刻、近场光学接触光刻、EUV光刻、x射线光刻、纳米压印光刻、干涉光刻、步进和闪光光刻、直接写入电子束光刻、离子束光刻、剥离处理、反应性离子蚀刻等相关联的处理步骤。根据一些实施例，样品阱5-210可使用光刻和剥离处理而制成。与样品阱的剥离处理相关联的实例制造步骤在图5-9中示出。虽然在图中典型地仅示出在像素处的单个样品阱或结构的制造，但将要理解的是可并行地在衬底(例如，在每个像素)上制造大量的样品阱或结构。

[0293] 根据一些实施例，在衬底上的层5-235(例如，氧化物层)可覆盖有抗反射(ARC)层5-910和光致抗蚀剂5-920，如在图5-9A中所示。光致抗蚀剂可使用光刻和抗蚀剂的显影而进行暴露和图案化。抗蚀剂可进行显影以消除暴露部分或未暴露部分(这取决于抗蚀剂的类型)，这留下了其直径大致等于用于样品阱的所需直径的支柱5-922，如在图5-9B中所示。支柱的高度可与样品阱的所需深度有很大的不同。例如，支柱的高度可比样品阱的所需深度大得多。

[0294] 支柱5-922的图案可经各向异性反应性离子蚀刻(RIE)被转移至ARC层5-910，如在图5-9C中所示。该区域可随后涂覆至少一种形成样品阱所需的材料5-230，例如，导体或金属。沉积材料或多种材料的一部分形成在支柱5-922上的帽子5-232，如在图5-9D中所示。抗蚀剂和ARC可随后使用选择性移除工艺(例如，使用具有或不具有至少溶解抗蚀剂并释放或“剥离”帽子的搅拌的化学浴)而从衬底进行剥离。如果ARC仍然存在，其可使用选择性蚀刻而从衬底进行剥离，从而留下样品阱5-210，如在图5-9E中所示。根据一些实施例，由于至少一种材料5-230的沉积性质，样品阱的侧壁5-214可以是倾斜的。

[0295] 如在本文所使用的，“选择性蚀刻”表示蚀刻过程，其中蚀刻剂对要移除或蚀刻的一种材料所进行的选择性蚀刻的速率高于蚀刻剂对不要进行移除的其他材料的蚀刻速率(例如，至少为其两倍)。

[0296] 由于抗蚀剂和ARC通常是基于聚合物的，其被认为是可能不适于形成具有高的高宽比的样品阱的软材料(例如，关于高度与宽度为大于约2:1的高宽比)。对于具有较高的高宽比的样品阱而言，硬材料可被包括在剥离工艺中。例如，在沉积ARC和光致抗蚀剂之前，可沉积一层硬材料(例如，无机材料)。在一些实施例中，可沉积一层钛或氮化硅。该层硬材料应表现出在其中形成有样品阱的材料或多种材料5-230上的择优蚀刻。在对光致抗蚀剂进行图案化后，支柱的图案可被转移至ARC和下面的硬材料5-930中，从而产生如在图5-9F中所示的结构。光致抗蚀剂和ARC可随后被剥离，沉积材料5-230并进行剥离步骤以形成样品阱。

[0297] 根据一些实施例，剥离工艺可被用于形成包括能量加强结构5-711的样品阱，如在图5-7C和图5-7D中所示。

[0298] 在图5-10中示出了用于形成样品阱的替代工艺。在该工艺中，样品阱可被直接蚀刻至至少一种材料5-230中。例如，其中要形成样品阱的至少一种材料5-230可被沉积至衬底上。该层可被ARC层5-910和光致抗蚀剂5-920覆盖，如在图5-10A中所示。光致抗蚀剂可进

行图案化以形成其直径大致等于样品阱的所需直径的孔，如在图5-10B中所示。孔的图案可使用各向异性反应性离子蚀刻被转移至ARC并通过层5-230，如在图5-10C中所示。抗蚀剂和ARC可进行剥离，从而产生如在图5-10D中所示的样品阱。根据一些实施例，由蚀刻至该材料层5-230所形成的样品阱的侧壁比剥离工艺所产生的侧壁更加竖直。

[0299] 在一些实施例中，光致抗蚀剂和ARC可被用于在材料5-230上对硬掩模(例如，氮化硅或氧化层，未示出)进行图案化。图案化的孔可随后被转移至硬掩模，其随后被用于将图案转移至该材料层5-230中。硬掩模可允许至该材料层5-230中的更大的蚀刻深度，从而形成具有更高的高宽比的样品阱。

[0300] 将理解的是，当不同材料的多层被用于形成其中形成有样品阱的材料堆5-230时，如上所述的剥离工艺和直接蚀刻制造技术可被用于形成样品阱。在图5-11中示出了实例堆。根据一些实施例，材料堆可被用于形成样品阱以改善激发能量至样品阱的激发区的耦合或减少激发能量至大样本的传输或再辐射。例如，可在第一层5-940上沉积吸收层5-942。第一层可包括金属或金属合金，且吸收层可包括抑制表面等离激元的材料，如无定形硅、TaN、TiN或Cr。在一些实施方案中，还可沉积表面层5-944以钝化围绕样品阱的表面(例如，抑制分子的粘附)。

[0301] 可按任何合适的方式形成包括凹穴5-216的样品阱。在一些实施例中，凹穴可通过进一步地蚀刻至相邻层5-235中和/或邻近样品阱的任何中间层或多层中而形成。例如，在材料层5-230中形成样品阱后，该层5-230可被用作用于对凹穴进行图案化的蚀刻掩模，如在图5-12中所示。例如，衬底可进行选择性、各向异性的反应性离子蚀刻，从而使凹穴5-216可被蚀刻至相邻层5-235中。例如，在其中材料5-230为金属的且相邻层5-235为氧化硅的实施例中，具有包括CHF3或CF4的进料气的反应性离子等离子体蚀刻可被用于优先移除位于样品阱下暴露的氧化硅并形成凹穴5-216。如本文所使用的，“氧化硅”通常指SiO_x且可包括例如二氧化硅。

[0302] 在一些实施例中，在蚀刻期间在等离子体内的状况(例如，至衬底的偏压和压力)可进行控制以确定凹穴的蚀刻断面图。例如，在低压(例如，小于约100毫托)和高DC偏压(例如，大于约20V)下，蚀刻可以是高度各向异性的且形成凹穴的大致为直的和竖直的侧壁，如在图中所示。在较高的压力和较低的偏压下，蚀刻可以是更加各向同性的，从而产生凹穴的锥形和/或弯曲的侧壁。在一些实施方案中，湿法蚀刻可被用于形成凹穴，其可以是基本上为各向同性的且形成可在材料5-230下横向延伸至或越过样品阱的侧壁的近似为球形的凹穴。

[0303] 图5-13A至图5-13C示出可被用于形成其横向尺寸小于样品阱5-210的凹穴5-216(例如，像图5-7B中所示的凹穴)。在一些实施方案中，在形成样品阱后，可在包括样品阱的区域上沉积保形牺牲层5-960。根据一些实施例，牺牲层5-960可通过气相沉积工艺，例如，化学气相沉积(CVD)、等离子体增强的CVD或原子层沉积(ALD)进行沉积。牺牲层可随后使用对于牺牲层5-960来说为选择性的第一各向异性蚀刻进行回蚀，从水平表面移除该层并在样品阱的壁上留下侧壁涂层5-962，如在图5-13B中所示。回蚀在一些实施例中可以是选择性的并停止在材料5-230和相邻层5-235上或在一些实施例中可以是非选择性的定时蚀刻。

[0304] 可执行对于相邻层5-235来说为选择性的第二各向异性蚀刻以将凹穴5-216蚀刻至相邻层中，如在图5-13C中所示。随后，牺牲侧壁涂层5-962可选地可通过选择性湿法或干

法蚀刻进行移除。移除侧壁涂层打开样品阱以具有比凹穴5-216更大的横向尺寸。

[0305] 根据一些实施例，牺牲层5-960可包括与相邻层5-235相同的材料。在这种实施例中，随着凹穴被蚀刻至相邻层5-235中第二蚀刻可移除侧壁涂层5-962中的至少一些。在一些实施例中，该侧壁涂层的回蚀可形成凹穴的锥形侧壁。

[0306] 在一些实施方案中，牺牲层5-960可由用于钝化样品阱侧壁的一层材料制成或包括一层材料(例如，减少在样品阱侧壁处的样品的粘附)。随后，在形成凹穴后，该层5-960中的至少一些可被留在样品阱的壁上。

[0307] 根据一些实施例，在形成凹穴后，形成侧壁涂层5-962。在这种实施例中，层5-960涂覆凹穴的侧壁。这种工艺可被用于钝化凹穴的侧壁并将样品集中在凹穴的中心区内。

[0308] 在图5-15中示出了与在样品阱的底部沉积粘附剂5-211相关联的工艺步骤以及钝化层5-280。根据一些实施例，样品阱可包括在样品阱的壁上的第一钝化层5-280。可形成第一钝化层，如上面结合图5-13B或图5-8所述的。在一些实施例中，第一钝化层5-280可由任何合适的沉积工艺和回蚀而形成。在一些实施例中，第一钝化层可通过氧化其中形成有样品阱的材料5-230而形成。例如，样品阱可由铝制成，其可进行氧化以创建在样品阱的侧壁上的氧化铝涂层。

[0309] 粘附剂5-980或粘附剂前体(例如，优先结合粘附剂的材料)可使用各向异性物理沉积工艺，例如，蒸发淀积被沉积在衬底上，如在图5-14A中所示。粘附剂或粘附剂前体可在样品阱的底部形成粘附剂层5-211，如在图5-14B中所示，且可涂覆其中形成样品阱的材料5-230的上表面。在图5-14C中所示的后续有角度的定向沉积(有时被称为阴影沉积或阴影蒸发工艺)可被用于在材料5-230的上表面上沉积第二钝化层5-280而不用覆盖粘附剂层5-211。在阴影沉积工艺期间，衬底可绕垂直于衬底的轴线旋转，从而使第二钝化层5-280更均匀地沉积在样品阱的上缘周围。根据一些实施例，在图5-14D中示出了所得到的结构。作为沉积第二钝化层的替代方案，可使用平坦化蚀刻(例如，CMP步骤)以将粘附剂从材料5-230的上表面移除。

[0310] 根据一些实施方案，可在锥形样品阱的底部中心沉积粘附剂层5-211，如在图5-15中所示。例如，在如上所述形成的锥形样品阱中定向沉积粘附剂或粘附剂前体，如在图5-14A中所示。在沉积粘附剂层5-211前或后，样品阱的壁可通过氧化工艺进行钝化。留在材料5-230表面上的粘附剂或前体可按结合图5-14D所述的方法进行钝化。在一些实施例中，在材料5-230的上表面上的粘附剂可通过化学机械抛光步骤消除。通过在样品阱底部中心处形成粘附剂层或粘附剂层前体，可减少对源于样品的发射的有害影响(例如，对源于样品壁的样品辐射的抑制或压制、由于相对于在样品阱周围形成的能量耦合结构不位于中心处而导致的源于样品的不利辐射分布以及对样品的发光寿命的不利影响)。

[0311] 在一些实施例中，用于形成样品阱和凹穴的剥离图案化、蚀刻和沉积工艺可与用于形成在集成装置上的集成CMOS电路的CMOS工艺相兼容。额外地，集成装置可使用常规CMOS设施和制造技术进行制造，然而在一些实施方案中也可使用定制化或专门的制造设施。

[0312] 如上所述的工艺步骤中的变化可被用于形成样品阱的替代实施例。例如，可使用在图5-14C中所示的成角度的沉积工艺形成如在图5-7A或图5-7B中所示的锥形样品阱。对于图5-7B的样品阱而言，在沉积过程中，沉积角度可发生变化。对于这种实施例而言，可先

形成具有大致为直且竖直的侧壁的样品阱，随后可通过成角度的沉积进行额外材料5-230的沉积以使样品阱的侧壁成锥形。

[0313] 在一些实施例中，在形成激发源后，可在像素处形成样品阱5-210。例如，可在像素内或外在另一区域和/或在集成装置上的另一水平面上形成用于像素的激发源。激发源的类型可对用于制造样品阱5-210的步骤产生处理约束。例如，如果激发源包括有机发光二极管(OLED)，用于制造样品阱5-210的处理步骤则不会超过大于约100℃的温度。进一步地，处理步骤不会使OLED处于恶劣的化学环境或氧化性的环境中。

[0314] D.将激发能量耦合至样品阱

[0315] 激发能量至集成装置的一个或多个样品阱的耦合可通过一种或多种技术而发生。如前面所讨论的，在一些实施例中，对波导进行定位以与激发源相耦合以到达一个或多个样品阱。当激发能量沿波导传播时，激发能量中的一部分可通过多种光耦合技术被耦合至一个或多个样品阱。例如，波导可大致沿一个方向引导激发能量，且衰逝波或尾可形成为垂直于该一个方向，且在一些情况下，其可位于波导结构之外。这种衰逝尾可将激发能量的一部分导向一个或多个样品阱。在一些实施例中，样品阱层可进行设计和配置以将激发能量引向在样品阱内的局部区域中。样品阱可被配置成将样品保持在样品阱的局部区域内，从而将激发能量引向样品。

[0316] 图4-5A和4-5B为集成装置的截面视图并提供了使用波导将激发能量耦合至样品阱的示意图。图4-5A为示出位于接近在样品阱层4-516中的样品阱4-508的波导4-5A的截面示意图。激发能量沿垂直于图4-5A的视图中场的方向的波导进行传播。样品阱邻近波导的可允许激发能量耦合至样品阱中。图4-5B示出样品阱4-508的区域和样品阱层4-516区域的更近的视图并示出位于样品阱4-508内的激发能量。

[0317] 可在集成装置中形成额外的组件以改善或加强激发能量至一个或多个样品阱中的耦合。在每个像素中可形成这些额外的组件，其将激发能量从波导耦合至像素中并向样品阱进行耦合。位于像素中的一个或多个组件可起作用以将激发能量的一部分从波导接入至像素中。这种组件可包括光学结构，如光栅结构、散射结构和/或纳米天线。这些组件中的一个或多个的特性或配置可进行选择以将一定量的激发能量耦合至一行样品阱内的每个样品阱中。被配置成将激发能量提供至一行像素的波导可耦合至每个像素中的组件，从而将激发能量的一部分提供至一行像素中的每个像素。当波导被配置成将激发能量从激发源导向一个或多个像素时，波导可被称之为总线波导。

[0318] 在一些实施例中，一个或多个像素包括位于像素区内的至少一个波导。这种像素波导可被配置成将激发能量引向像素的样品阱。像素波导可被配置成耦合至总线波导和至像素内的样品阱。当激发能量沿总线波导传播时，激发能量中的一部分可经像素波导被引向像素和/或样品阱。总线波导可使用任何合适的耦合器，如衰逝波导耦合器耦合至像素波导。在一些实施例中，多个耦合器可被用于将激发光的一个或多个波长耦合至像素波导。像素波导的一部分可被配置成充当至总线波导的耦合器。在一些实施例中，像素波导的耦合器或一部分可被设计为耦合特定的激发能量、波长和/或光谱范围。通过将像素波导的耦合部分配置为光的某些波长，在总线波导和像素波导之间的耦合的方向性可进行控制和/或调谐。例如，像素波导的第一耦合器或一部分可耦合至通过总线波导传播的具有第一波长的激发光的一部分，而像素波导的第二耦合器或一部分可耦合到至像素波导的具有第二波

长的激发光的一部分。像素波导的第一耦合器或一部分可将可忽略量的第二波长的激发光从像素波导耦合至总线波导。这种配置可允许第二波长的激发光保持在像素波导中。同样地，像素波导的第二耦合器或一部分可将可忽略量的第一波长的激发光从像素波导耦合至总线波导，从而使在第一波长的激发光可保持在像素波导中。

[0319] 额外地，可在像素区内形成一个或多个谐振结构以将激发能量向样品阱进行耦合。充当光学总线的第一波导可允许通过第二波导将激发能量耦合至谐振结构。谐振结构可被配置成通过耦合至总线波导和/或像素波导接收激发能量。谐振结构可将激发能量指引和/或增强至样品阱的激发区中。谐振结构可在局部区域中集中激发能量且通过将样品阱定位在接近局部区域处，谐振结构可起作用以增强耦合至样品阱的激发能量的量。通过形成谐振结构，激发能量可具有多个机会以与样品阱中的样品进行交互。可为谐振结构内的特定场增强和/或品质因数配置谐振结构的整体配置。波导和谐振器是用折射率高于其嵌入的周围电介质材料的电介质材料制成的。例如，波导和/或谐振器可由氮化硅、氧化硅、碳化硅或其任何组合制成。波导和/或谐振器可被设计成在可见和/或红外光谱范围内传播激发波长。

[0320] 谐振结构可位于像素波导内和/或在像素波导的附近。将激发能量引向像素的波导，如总线波导可通过像素波导与谐振结构相耦合且谐振结构可将激发能量引向在像素内的样品阱。样品阱可位于谐振结构的上方，其高度可进行调整以控制在谐振结构和样品阱之间的交互。在一些实施例中，多种激发能量可被提供至一个或多个像素并与在多个激发能量或波长谐振的谐振结构进行耦合。可使用任何合适的谐振结构，如波导环谐振器、光子晶体空腔谐振器和波导线性谐振器。波导线性谐振器的实例包括在像素波导中的一对布拉格反射器，其在该对反射器之间形成了谐振腔。在一些实施例中，谐振结构可以是等离激元谐振结构，如等离激元环谐振器或光子晶体腔。

[0321] 在一些实施例中，谐振结构可被包括在与集成装置的像素相关联的像素波导中。这种谐振结构可包括在像素波导内的多个反射器并允许激发能量在像素波导的局部区内进行谐振。通过将样品阱定位在由谐振结构形成的局部区域附近，激发能量可被引至样品阱中。在一些实施例中，一层可使谐振结构与样品阱分离。例如，在样品阱层和谐振结构之间的集成装置中可形成电介质层。额外地或替代地，环谐振器可形成在接近像素波导处且源于总线波导的激发能量可通过像素波导耦合至环谐振器。样品阱可被定位在环谐振器的附近，从而使源于环谐振器的激发能量耦合至样品阱。在一些实施例中，波导环谐振器被配置为接近样品阱，从而使集中的激发能量被直接定位在紧邻样品阱的底部。

[0322] 在图6-1至6-4中示出了谐振结构的实例。在图6-1中示出了线性波导谐振器的实例，其中波导6-104被配置成传播激发光，且反射器进行定位以创建形成谐振腔6-136的波导区域。反射器被定位成一对或多对，如反射器6-132和6-134，从而使谐振腔6-136在一对或多对之间形成。图6-1示出关于谐振腔6-136的样品阱6-108的示例性位置。样品阱可被定位在与含有波导6-104和反射器6-132和6-134的一层相分离的另一层中。参照图6-2，示出了环谐振器的实例，其中波导6-204被定位在环谐振器6-226的附近。随着激发能量通过波导6-204传播，如图6-2中的箭头所示，激发能量中的一部分可通过环谐振器6-226接收。在波导和环谐振器之间的距离可进行设计以将特定的激发波长耦合至环谐振器中和/或耦合一定量的激发能量。样品阱可关于环谐振器进行定位，从而使环谐振器耦合至样品阱以将

激发能量提供至样品阱的激发区中。图6-2示出在区域6-208的样品阱的示例性的位置，其中样品阱位于集成装置的分离层中。在一些实施例中，等离激元环谐振器可形成在集成装置中以将激发能量耦合至一个或多个样品阱。这种等离激元环谐振器可进行定位以与总线波导和/或像素波导耦合。样品阱可定位在直接位于等离激元环谐振器的一部分上或在邻近等离激元环谐振器的位置。关于图6-3A-F示出了等离激元环谐振器的非限制性实例。在图6-3C中示出了邻近等离激元环谐振器结构的样品阱6-308的示例性位置。在一些实施例中，谐振器结构可包括在光子晶体中的容腔。图6-4示出了具有容腔以使容腔充当用于激发能量的谐振器的示例性光子晶体6-400。样品阱可相对于光子晶体中的容腔进行定位，如在位置6-408且可接收激发能量。

[0323] 在图7-1A中以集成装置7-102的截面视图示出像素的示例性部分。集成装置7-102包括含有至少一个样品阱7-108的样品阱层7-116和波导层7-114。样品阱层可由金属、半导体、高度简并掺杂的半导体、绝缘体或石墨烯制成。波导层可包括折射率比周围材料更高的结构。作为一个实例，波导结构可由氮化物材料组成且周围材料可由电介质或氧化物材料组成。可选地，可形成在样品阱层7-116和波导层7-114之间的层7-118。例如，层7-118可由电介质材料或氧化物材料或氮化物材料制成。波导层可含有总线波导和像素波导。像素波导可形成在邻近总线波导处且被配置成从总线波导接收激发能量。图7-1B示出沿图7-1A中线A-A'的像素7-112b的示例性平面图，其示出总线波导7-104b和像素波导7-120b。总线波导可被配置成接收和导向一种或多种激发能量。在图7-1B中所示的实例配置中，总线波导7-104b被配置成在一端接收第一波长λ1的激发能量且在另一端接收第二波长λ2的激发能量。

[0324] 像素波导7-120b可包括被配置成与总线波导7-104b相耦合并接收激发能量的部分或耦合器7-128b和7-130b。位于样品阱层中的样品阱可被定位在谐振结构7-126b的附近，从而从像素波导7-120b接收激发能量。样品阱可位于线性谐振器的上方，其高度可进行调整以控制在线性谐振器和样品阱之间的交互。例如，图7-1B示出样品阱层中的样品阱关于波导层中的特征位于7-108b处。当激发光沿总线波导7-104b传播时，激发能量的一部分可耦合至像素波导7-120b。在一些情况下，耦合器可被配置成用于激发光的特定波长。当使用两种激发能量时，每个耦合器可被配置成与两种激发能量中的一种相耦合。作为一个实例，在图7-1B中所示的实施例中，位于像素波导上的两个耦合器中的每一个可被配置成接收不同的激发光波长，其中耦合器7-128b基本上接收第一波长λ1的激发能量，而耦合器7-130b则基本上接收第二波长λ2的激发能量。

[0325] 谐振结构可位于像素波导内，如在像素波导7-120b中的谐振结构7-126b。这种谐振结构可包括多个空间上相分离的反射器，反射器被配置成反射一个或多个波长。反射器可发挥作用以增强在至少两个反射器之间区域的激发能量的强度。例如，反射器可充当波导线性谐振器，其包括在图7-1中所示波导中的一对或多对分布式布拉格反射器。一对反射器可在限定用于线性谐振器的谐振腔的边界的一对反射器之间形成谐振腔。在其中使用两种激发波长的实施例中，谐振结构7-126b可在激发能量的两个波长、两个波长的组合和/或任一波长的整数倍发生谐振。例如，谐振结构7-126b可被配置成在波长λ1和λ2都发生谐振。在波长λ1和λ2的激发能量可传递至样品阱。

[0326] 束流收集器7-122b和7-124b相关于像素波导7-120b进行定位以吸收激发光和/或

对激发光进行重定向离开像素7-112b、一个或多个传感器和/或集成装置。束流阻挡器可被配置成减少一个或多个波长的激发能量传播至传感器，从而增强对传感器所接收的发射能量的检测。束流收集器的非限制性实例为无定形硅塞，其被配置成吸收通过像素波导的一端传输的光。吸收激发光的任何合适的材料可被用作束流阻挡器。至少一个束流阻挡器被置于位于像素中的波导的每一端处以从波导吸收激发光。在一些实施例中，束流收集器可被配置成重定向或吸收具有特定波长的激发光。当使用两种激发能量时，一个束流收集器被配置成吸收和/或重定向一种波长的激发能量，而另一个束流收集器则吸收和/或重定向另一种波长的激发能量。在图7-1B中所示的实例中，束流收集器7-122b可被配置成基本上吸收或重定向第一波长λ1的激发光，而束流收集器7-124b则基本上吸收或重定向第二波长λ2的激发光。

[0327] 在一些实施例中，谐振结构与像素波导相分离且被配置成与像素波导耦合。这种谐振结构的实例可包括位于波导层内且与像素波导相分离的环谐振器。环谐振器被定位在位于接近总线波导处的像素波导的旁边。可被称之为波导耦合器的像素波导将激发能量耦合至环谐振器。环谐振器使一个或多个波长谐振并将在这些波长的激发能量传递至样品阱。样品阱可被定位在样品阱层内并接近环谐振器，从而使环谐振器可将激发能量耦合至样品阱。样品阱可被形成为直接在环谐振器的上方和在其顶部，其高度进行调整以控制在谐振器和样品阱之间的交互。

[0328] 图7-1C示出具有像素波导7-120c和环谐振器7-126c的像素7-112c的示例性实施例。像素波导7-120c具有两个部分7-128c和7-130c，该两个部分充当至总线波导7-104c的耦合器。随着激发光沿总线波导7-104c传播，激发能量的一部分可耦合至像素波导7-120c且环谐振器耦合至像素波导以接收激发能量。位于样品阱层中并定位在关于波导层中其他特征的位置7-108c处的样品阱可被配置成从环谐振器7-126c接收激发能量。被配置成吸收和/或重定向激发光的束流收集器可位于像素波导的端部。例如，像素7-112c包括在像素波导7-120c的任一端上的束流收集器7-122c和7-124c。在一些实施例中，总线波导7-104c可被配置成在一端接收一个波长λ1的激发光且在另一端接收第二波长λ2的激发能量。耦合器7-128c可被配置成耦合第一波长λ1的激发能量，而耦合器7-130c则被配置成耦合第二波长λ2的激发能量。这两种激发能量可耦合至环谐振器7-126c。环谐振器可被配置成在两个激发波长、两个波长的组合或任一波长的整数倍发生谐振。

[0329] 在一些实施例中，额外的波导可位于像素区内以允许将用于未引向样品阱的激发光的路径重定向至样品阱。额外的波导可进行定位以与环谐振器相耦合且可传播多个激发波长。在这种实施例中，样品阱可被定位在环谐振器的上方，该环谐振器处于耦合至总线波导的波导和额外的波导之间。至少一个束流阻挡器被定位在该额外波导的任一端上，从而吸收激发能量以免被导向集成装置的其他区域，如传感器。这种波导可由任何作为其他波导和谐振器结构的合适材料制成。图7-1D示出具有耦合至环谐振器7-126d的第二波导7-134d的像素区7-112d的示例性布置。激发能量通过沿总线波导7-104d传播被输送至像素区7-112d并耦合至像素波导7-120d。环谐振器7-126d从像素波导7-120d接收激发能量且样品阱位于样品阱中的位置7-108d以从环谐振器7-126d接收激发能量。激发能量的一部分可保持在环谐振器中并耦合至波导7-134d，该波导被配置成将激发能量重定向至环谐振器。波导7-134d可通过将激发能量导向一个或多个束流收集器而将激发能量传递远离像素。在图

7-1D中所示的实例中，束流收集器7-132d和7-136d位于波导7-134d的每一侧上且被配置成吸收和/或重定向激发能量。

[0330] 集成装置可包括在集成装置内不同层面上的多个波导。在集成装置内不同层面上的多个波导可被配置成将一个或多个波长的激发光引向位于像素中的样品阱附近。第一波导可与激发源耦合并充当总线波导，从而将激发光运送至多个像素。位于像素区内的一个或多个波导可与第一波导耦合并将激发能量中的一部分导向像素中的样品阱。波导可衰逝地彼此耦合或通过其他耦合技术，如使用多模干涉耦合器而进行耦合。源于第一波导的激发能量中的一部分可通过额外的波导被导向像素，而在第一波导内的激发能量可沿第一波导传播以与其他像素中的其他组件相耦合。

[0331] 源于第一波导的激发光中的一部分可耦合至位于像素内的第二波导。第二波导可位于与第一波导相分离的层中。例如，第二波导可位于第一波导和含有一个或多个样品阱的样品阱层之间。在一些实施例中，位于像素内的第三波导可与第二波导相耦合以将激发能量中的一部分从第二波导导向像素中的样品阱。在几个层中具有多个波导的配置可提供在用于每个元件的波导轮廓中的灵活性和分离层的隔离。在波导之间的耦合可通过衰逝耦合器发生，其中波导以非正交且非平行的角度发生重叠。当波导的定位稍有移位或偏离时，波导的定位和波导之间的重叠可提供对波导之间的耦合的容忍。

[0332] 多层波导配置的实例被示于图7-2A中所示的截面视图中。样品阱层7-216包括样品阱7-208。第一波导或光学总线7-204被配置成向含有样品阱7-208的像素区传输激发能量。位于第一波导7-204和样品阱层7-216之间的第二波导7-242进行定位以将源于第一波导7-204的激发能量耦合至第二波导7-242并发挥作用以向样品阱导引激发能量。额外地，被定位在第二波导7-242和样品阱层7-216之间的第三波导，如在图7-2A中所示的7-244可向样品阱7-208耦合激发能量。在一些实施例中，多层波导配置可包括谐振器，如在位于像素区内一个或多个波导上的线性波导谐振器。如在图7-2B的平面图中所示，线性波导谐振器可被包括在波导中的一个中，其将激发能量从总线波导7-204引向位于在位置7-208上方的样品阱。在这种实例中，波导7-242a和7-242b将激发能量从总线波导7-204耦合至波导7-244a和7-244b，其中波导7-242a耦合至波导7-244a且波导7-242b耦合至波导7-244b。两个波导7-244a和7-244b均具有由至少一对反射器组成的线性波导谐振器，如波导7-244a的反射器7-232。波导7-244a和7-244b的线性波导谐振器重叠。在一些实施例中，两个线性波导谐振器可垂直重叠并形成允许空间上垂直谐振的双谐振器。这种双谐振器可在限制容腔大小的两个波导之间的重叠区域中形成具有激发能量的增强场的双谐振腔。位于分离的样品阱层中的样品阱7-208的位置位于两个线性谐振器之间，其中激发能量可进行局部集中以将激发能量从双谐振器耦合至样品阱。

[0333] 在一些实施例中，衍射光学元件可被用于将激发光从激发源导向样品阱的子阵列，每个样品阱与子阵列中的像素相关联。以这种方式，激发源可周期性地位于像素的整个阵列中。例如，像素阵列的“单位格”可包括一个激发源、衍射光学元件和多个样品阱。单位格可平铺以形成像素化阵列。在一些实施例中，激发源可沿一个或多个传感器的方向发射激发光且衍射光学元件可反射性地向激发源衍射回激发光，但却具有不同的横向轨迹。以这种方式，激发光被转换成多个激发光束，多个激发光束中的每一个与各个样品阱相关联。

[0334] 图8-1A和8-1B示出使用衍射光学元件将激发光导向多个样品阱的非限制性示例

性实施方案。图8-1A为示出将激发光提供至单元体中多个像素的激发源8-106的截面示意图。样品阱，如样品阱8-108位于样品阱层8-116中。衍射光学元件8-150被配置成从激发源接收激发光并将激发光重定向至单元体中的样品阱，如箭头所示。图8-1B示出顶部平面图，其示出在单元体中的样品阱，包括样品阱8-108的情况，其中样品阱进行定位以从激发源8-106接收已通过位于激发源下方的衍射光学元件进行重定向的激发光。

[0335] 源于激发源的能量至样品阱的耦合可通过在样品阱内和/或邻近样品阱处形成激发-耦合结构而进行改善或受到影响。激发-耦合结构在一些实施例中可包括在样品阱周围制成的微米或纳米级结构或在一些实施例中可包括在样品阱形成的结构或粒子。激发-耦合结构在一些实施方案中可影响样品的辐射激发且在一些实施方案中可影响样品的非辐射激发。在各种实施例中，辐射激发-耦合结构可增加在样品阱的激发区内的激发能量的强度。非辐射激发-耦合结构可改善和/或改变从激发源(其可以是辐射的或非辐射的)至样品的非辐射性能量传递路径。

[0336] E.辐射等离激元激发-耦合结构

[0337] 有许多不同类型的辐射激发-耦合结构，其可被用于影响从激发源至样品阱内的激发区的激发能量的耦合。一些辐射耦合结构可由导体(例如，包括金属层)制成并支持局部影响激发能量(例如，局部改变电磁场)的表面等离激元振荡。在一些情况下，表面-等离激元结构可按二倍或更大的因子加强在样品阱的激发区内的激发能量。一些辐射耦合结构可改变激发场的相位和/或幅度以加强在样品阱内的激发能量。在本部分中描述了辐射激发-耦合结构的各种实施例。

[0338] 图9-1A仅示出可被用于加强激发能量至样品阱中的耦合的表面-等离激元结构9-120的一个实例。该图示出围绕表面-等离激元结构9-120的区域的平面图并表示出围绕该结构的电场强度的数值模拟的结果。该图示出表面-等离激元结构，其包括具有紧邻样品阱(未示出)的尖顶的三个三角形特征。根据一些实施例，表面-等离激元结构可包括金属或导体(例如，具有下列金属或金属合金：Al、Au、Ag、Ti、TiN中的任一个或其组合的图案化薄膜)。膜的厚度在一些实施例中可以是约10nm和约100nm之间，然而在其他实施例中也可使用其他厚度。表面-等离激元结构在一些实施例中可包括紧邻样品阱(例如，在约100nm内)的尖锐特征9-110。

[0339] 图9-1B示出在虚线处截取的图9-1A的表面-等离激元结构的截面正视图。模拟示出邻近表面-等离激元结构的三角形顶点的激发能量的局部高强度区域5-505。对于该模拟而言，表面-等离激元结构9-120位于在波导9-130上方的电介质层9-135(二氧化硅)上。表面-等离激元结构接通源于波导的衰逝场的能量并加强在样品阱的强度。

[0340] 在一些实施例中，通过表面-等离激元结构进行的激发能量的加强可被局部化至不需要样品阱5-215的程度。例如，如果高强度区5-505被形成为具有约为100nm的直径且其峰强度值大于在该区域外的强度的约80％，那么则可能不需要深的样品阱。仅有在高强度区5-505内的样品会有助于形成明显发射以用于检测。

[0341] 当入射电磁场与表面-等离激元结构交互时，在该结构中生成表面-波电流。结构的形状可影响这些表面-等离激元的强度和分布。这些局部化电流可与紧邻表面-等离激元结构的入射电磁场进行交互并显著地改变和强化该入射电磁场，例如在图9-1B中由高强度区5-505所示的。在一些实施例中，在表面-等离激元结构附近发射辐射的发射体(例如，荧

光标记)可使其发射通过结构进行改变,从而改变源于发射体的远场辐射图式。

[0342] 在图9-1C的平面图中示出了表面-等离激元结构9-122的另一个实施例。所示的蝴蝶结结构包括位于邻近样品阱5-210处的两个三角形金属结构。例如,结构可在样品阱的下方和/或邻近样品阱的激发区进行图案化。在一些实施方案中,在样品阱和表面-等离激元结构的尖锐特征9-125之间可以有间隙9-127。根据一些实施例,间隙9-127可以是约10nm和约200nm之间。在一些实施方案中,间隙9-127可以是约10nm和约100nm之间。尖锐特征9-125可包括在表面-等离激元结构的边缘中的尖点或尖锐弯曲部,如在图中所示。尖锐特征可具有任何合适的形状。在一些实施例中,尖锐特性9-125的弯曲部的半径可小于与入射激发能量相关联的约5个波长。在一些实施例中,尖锐特征9-125的弯曲部的半径可小于与入射激发能量相关联的约2个波长。在一些实施例中,尖锐特征9-125的弯曲部的半径可小于与通过入射激发能量激发的表面-等离激元波相关联的约5个波长。在一些实施例中,尖锐特征9-125的弯曲部的半径可小于与通过入射激发能量激发的表面-等离激元波相关联的约2个波长。

[0343] 根据一些实施例,表面-等离激元结构9-122可在样品阱5-210内进行图案化,如在图9-1D的正视图中所示。在一些实施例中,在样品阱内的表面-等离激元结构可包括被图案化至样品阱的侧壁上的一个或多个指状物(例如,金属指状物),如在图中所示。图9-1E示出样品阱5-210的平面图,其示出在样品阱内侧壁上形成的表面-等离激元结构9-122。在一些实施例中,这些表面-等离激元结构9-122的下端形成电磁场将被增强的尖锐特征或弯曲部。表面-等离激元结构9-122可以或可以不延伸至样品阱的底部。

[0344] 在一些实施例中,表面-等离激元结构9-122可被布置成影响激发能量的偏振和/或源于样品阱的发射辐射。例如,如在图9-1E中所示的图案可被用于影响源于样品阱内的发射体的线性或椭圆激发偏振的优选定向和/或线性或椭圆偏振的优选定向。

[0345] 表面-等离激元结构可被图案化为除了在图9-1A至图9-1E中所示的那些以外的形状。例如,根据一些实施例,表面-等离激元结构可被图案化为规则的或周期性的结构,如在图9-2A中所示。例如,表面-等离激元结构可被图案化为在其中形成有样品阱5-210的材料5-230的下表面上的突出特征9-210的阵列。周期性的表面-等离激元结构可以规则阵列,例如光栅、网格、晶格、圆形光栅、螺旋光栅、椭圆光栅或任何其他合适的结构形成。在一些实施方案中,在表面-等离激元结构的突起9-210之间可以有大致均匀的间隔s。在一些实施方案中,间隔s可具有在约40nm和约250nm之间的任何数值。根据一些实施例,突起可具有在约20nm和约100nm之间的高度h。在一些实施方案中,间隔s可以是不均匀的或可以是线性调频的(其在较大的径向距离具有减小的值)。在一些实施例中,表面-等离激元结构的突起9-210可被图案化为菲涅耳带片(Fresnel zone plate)。根据一些实施例,表面-等离激元结构9-210可形成在邻近透明层和/或电介质层5-245处。

[0346] 在一些实施方案中,表面-等离激元结构9-212可与其中形成有样品阱的材料5-230相间隔,如在图9-2B中所示。例如,在表面-等离激元结构9-212和材料5-230之间可具有中间电介质层9-247。根据一些实施例,表面等离激元结构9-212可位于邻近样品阱的凹穴5-216处,如在图中所示。例如,表面-等离激元结构9-212可位于邻近凹穴5-216的侧壁处,如在图9-2B中所示。

[0347] 图9-2C示出被形成为同心圆形光栅的表面-等离激元结构9-214。根据一些实施

例，结构9-214可包括同心导电环9-215。这些环可通过规则的间隔s分离且具有高度h，如结合图9-2A所述的。根据一些实施例，具有可选的凹穴的样品阱5-210可位于环的中心。圆形光栅可在邻近样品阱的底部处进行图案化。

[0348] 根据一些实施例，可选择表面-等离激元结构的周期性以形成谐振结构。例如，表面-等离激元结构的间隔s可进行选择以大致为在结构中通过激发能量生成的表面-等离激元波的二分之一波长。当被形成为谐振结构时，表面-等离激元结构可沿周期性表面-等离激元结构的方向进行累积和谐振激发能量。这种谐振行为可强化在样品阱内或邻近样品阱的电磁能量，如在图9-2D中所示。

[0349] 图9-2D表示在样品阱的底部和在周期性表面-等离激元结构周围产生的数值模拟电磁场。表面-等离激元结构9-216位于邻近其中形成有样品阱的材料5-230处且邻近样品阱5-210的底部。表面-等离激元结构可采用以规则的间隔在远离样品阱且在模拟区外的区域中重复的光栅或圆形光栅的形式。例如，表面-等离激元结构可以有3至50个重复的光栅突起。在样品阱5-210的底部可以看到高强度区域9-240。在该区域中的强度可仅在表面-等离激元结构下方的周围区域的上方以大于2倍的因子进行加强。

[0350] 图9-2E以正视图示出谐振表面-等离激元结构9-218的替代实施例。根据一些实施例，表面-等离激元结构可被形成为周期性光栅或网格图案且可按多层9-247进行图案化。根据一些实施例，样品阱5-210可通过多层9-247进行图案化且位于谐振表面-等离激元结构9-218内。在一些实施方案中，谐振表面-等离激元结构可包括在图9-2F的平面图中示出的离散的导电元件9-222。在一些实施方案中，谐振表面-等离激元结构可包括连续的晶格图案9-250，如在图9-2G中所示。电介质填料9-252可位于导电材料9-250的空隙中且样品阱5-210可用空隙进行定位。

[0351] 有许多不同表面-等离激元结构，其可被用于加强至样品阱中的耦合或影响源于样品阱内的样品的发射。图9-2H以平面图示出表面-等离激元结构的替代实施例。在图9-2I中示出了该结构的正视图。根据一些实施方案，表面-等离激元结构可包括围绕样品阱5-210分布的圆盘阵列。在一些实施方案中，代替使用导电圆盘9-260，表面-等离激元结构可包括导电层，通过导电层形成分布式孔的图案。这种结构可被称之为“纳米天线”。

[0352] F.等离激元激发-耦合结构的制造

[0353] 可使用各种不同的工艺对邻近样品阱的表面-等离激元结构进行图案化。图9-3A至图9-5E示出根据一些实施例的与可用于形成邻近样品阱的表面-等离激元结构的工艺步骤相关联的结构。现在参照图9-3A，用于形成表面-等离激元结构的工艺可包括在掩模层9-330上的抗反射涂层(ARC)9-320上形成抗蚀剂层9-310。根据一些实施方案，这些层可设置在透明的电介质层5-245上。抗蚀剂层9-310可包括可光刻图案化的光致抗蚀剂或电子或离子束抗蚀剂。根据一些实施例，掩模层9-330可包括由无机材料(例如，硅或氮化硅或任何其他合适的材料)制成的硬掩模。

[0354] 在一些实施方案中，光刻工艺可被用于对抗蚀剂9-310进行图案化，如在图9-3B中所示。所选的图案可包括将被用于形成所需表面-等离激元结构的突起或孔的布局。在抗蚀剂9-310显影后，将暴露ARC的区域，且图案可被蚀刻至ARC层9-320中并随后至掩模层9-330中。抗蚀剂和ARC可从衬底进行剥离，且所产生的结构可能按图9-3C中所示方式出现。掩模层9-330随后可被用作蚀刻掩模，从而使图案可经选择性各向异性蚀刻被转移至下面的电

介质层5-235中，如在图9-3D中所示。

[0355] 导电材料5-230或包括导电的一层材料可随后被沉积在该区域上方，如在图9-3E中所示。任何合适的导电材料可被用于形成表面等离激元结构，而无论其是否被沉积为与材料5-230相分离的层。例如，在一些情况下，第一导电材料可被沉积为其中形成有表面-等离激元结构的材料5-230的底层。可被用于形成表面-等离激元结构的材料的实例包括但不限于Au、Al、Ti、TiN、Ag、Cu和其合金或组合层。

[0356] 材料5-230或材料层可通过任何合适的沉积工艺，包括但不限于物理沉积工艺或化学气相沉积工艺进行沉积。在一些实施方案中，材料5-230可具有约80nm和约300nm之间的厚度。在一些实施方案中，材料5-230可进行平坦化(例如，使用CMP工艺)，然而平坦化并不是必需的。样品阱可使用本文结合制造样品阱所述的任何合适的工艺而在材料5-230中形成。

[0357] 发明人已认识到根据图9-3A至图9-3E中所示的步骤形成表面-等离激元结构可能需要将样品阱准确地对齐至表面-等离激元结构。例如，如图9-2C中所示的包括同心光栅的表面-等离激元结构会需要将样品阱5-210准确地对齐至表面-等离激元结构9-214的中心。为了避免与这种准确对齐相关联的制造上的困难，发明人已开发出在图9-4A至图9-5E中所示的自对准工艺。

[0358] 现在参照图9-4A，形成表面-等离激元结构和自对准至表面-等离激元结构的样品阱的工艺可包括在透明的电介质层5-235上形成掩模层9-410。根据一些实施例，掩模层可包括由无机材料，如硅或氮化硅制成的硬掩模。掩模层9-410的厚度可大致等于样品阱5-210的所需高度。例如，掩模层的厚度根据一些实施例可以是约50nm和约200nm之间，然而在其他实施例中也可使用其他厚度。

[0359] 掩模层9-410可进行图案化以创建具有将在电介质层5-235中进行图案化的表面-等离激元结构的所需图案的空隙9-430。可用任何合适的光刻工艺(例如，光刻、电子束光刻、离子束光刻、EUV光刻、x射线光刻)完成掩模层9-410的图案化。所产生的结构可按图9-4B中所示的方式出现。结构可包括中心支柱9-420，其随后将被用于形成自对准样品阱。

[0360] 抗蚀剂9-440(例如，光致抗蚀剂)可随后在图案化的掩模层9-410的上方进行图案化，如在图9-4C中所示。用于对抗蚀剂9-440进行图案化的对齐(例如，掩模对衬底对齐)不需要是高度精确的且仅要求抗蚀剂9-440覆盖中心支柱9-420而不用覆盖将被用于形成表面-等离激元结构的空隙9-430。

[0361] 然后，选择性各向异性蚀刻则被用于蚀刻电介质层5-235并将表面-等离激元结构的图案转移至电介质中，如根据一些实施例的在图9-4D中所示。随后，选择性各向同性蚀刻可被用于移除掩模层9-410的暴露部分。各向同性蚀刻可以是湿法蚀刻，例如，然而在一些实施例中也可使用各向同性干法蚀刻。由于抗蚀剂9-440覆盖中心支柱9-420，中心支柱将不进行蚀刻且保留在衬底上，如在图9-4E中所示。抗蚀剂9-440可随后从衬底剥离暴露支柱9-420，如在图9-4F中所示。

[0362] 根据一些实施例，金属导电材料5-230或一堆包括导电材料的材料可随后被沉积在该区域的上方，如在图9-4G中所示。中心支柱9-420和在支柱上沉积材料的帽子可通过对支柱进行选择性湿法蚀刻并剥离帽子而进行移除。移除中心支柱留下了自对准至下面的表面-等离激元结构9-450的样品阱。

[0363] 替代工艺可被用于形成自对准至表面-等离激元结构的样品阱且在图9-5A至图9-5E中所示。根据一些实施例，一个或多个导电层9-510、9-520可使用任何合适的光刻工艺被图案化至透明的电介质层5-235上，如在图9-5A中所示。在一些实施方案中，第一层9-510可包括铝且第二层9-520可包括氮化钛，然而在各种实施例中也可使用其他材料组合。根据一些实施例，一层或多层的总厚度可大致等于样品阱的所需高度。图案化可在一个或多个金属层中形成样品阱5-210和邻近样品阱的空隙9-525。空隙可按所需表面-等离激元结构的图案进行布置。

[0364] 在一些实施方案中，电介质层5-235可进行蚀刻以将表面-等离激元结构和样品阱5-210的图案转移至电介质层中，如在图9-5B中所示。根据一些实施例，至电介质中的蚀刻深度可以是约20nm和约150nm之间。抗蚀剂9-440可进行图案化以覆盖样品阱，如在图9-5C中所示。用于对抗蚀剂进行图案化的对齐不需要是高度精确的且仅需要覆盖样品阱，而不用覆盖将被用于形成表面-等离激元结构的电介质层5-235的相邻蚀刻区。

[0365] 如在图9-5D中所示，导电材料9-512或包括导体的材料层可使用任何合适的沉积工艺被沉积在该区域的上方。材料9-512可填充电介质层的蚀刻区且可在一层或多层9-510、9-520的上方延伸。抗蚀剂9-440和覆盖抗蚀剂的材料可随后根据剥离工艺进行移除。在图9-5E中所示的所产生的结构留下了自对准至周围表面-等离激元结构的样品阱。样品阱包括凹穴5-216。

[0366] 在一些实施例中，在图9-5A至图9-5E中所示的工艺可被用于形成不具有凹穴5-216的样品阱。例如，在蚀刻电介质层5-235前，抗蚀剂9-440可在样品阱5-210的上方进行图案化。电介质层5-235可随后进行蚀刻，其将把表面-等离激元结构的图案转移至电介质层但不形成凹穴。该工艺可随后按图9-5D和图9-5E中所示的方式进行以创建不具有凹穴的自对准样品阱。

[0367] G.幅度/相位激发-耦合结构

[0368] 除了或作为表面-激发能量结构的替代方案，其他结构可在样品阱5-210附近进行图案化以增加在样品阱内的激发能量。例如，一些结构可改变入射激发场的相位和/或幅度，从而增加在样品阱内的激发能量的强度。图9-6A示出可被用于改变入射激发辐射的相位和幅度并增加在样品阱内的电磁辐射的强度的薄有损膜9-610。

[0369] 根据一些实施例，薄有损膜可创建激发辐射的相长干涉，从而在样品阱的激发区内产生场增强。图9-6B示出在样品阱上入射的激发辐射的数值模拟，其中薄有损膜9-610已形成在紧邻样品阱处。对于该模拟而言，样品阱具有约为80nm的直径且形成在约为20nm厚的金的金属层中。样品阱可包括SCN并抑制激发辐射通过样品阱的传播。薄有损膜9-610为约10nm厚、由锗形成且覆盖包括二氧化硅的下面的透明电介质。薄有损膜延伸越过样品阱的入口孔。该模拟示出激发辐射的强度在样品阱的入口孔处为最高值。在该亮区9-620中的激发辐射的强度比样品阱的左边和右边的强度值大两倍多。

[0370] 薄有损膜可由任何合适的材料制成。例如，薄有损膜可由其中折射率n大致与材料的消光系数k的数量级相同的材料制成。在一些实施例中，薄有损膜可由其中折射率n位于与材料的消光系数k的值的差在两个数量级以内的材料制成。在可见波长的这种材料的非限制性实例为锗和硅。

[0371] 薄有损膜可具有任何合适的厚度，其可取决于与激发源或多个源相关联的特征波

长或多个波长。在一些实施例中，薄有损膜为约1nm至约45nm厚。在其他实施例中，薄有损膜为约15nm至约45nm厚。在其他实施例中，薄有损膜为约1nm至约20nm厚。

[0372] 在图9-6C的图中示出薄有损膜对源于其中形成样品阱的材料5-230的反射、对薄有损膜内的激发能量损失和在材料5-230内的激发能量损失的影响。在图中绘制的一个曲线表示反射曲线9-634并示出源于材料5-230和薄有损膜9-610的反射是如何随着薄有损膜的厚度从0nm至100nm的变化而发生变化的。根据模拟的实施例，反射在约25nm处达到最小值。反射率最小值将根据用于薄有损膜和材料5-230的激发能量和材料的特征波长而出现在不同的厚度上。在一些实施方案中，选择薄有损膜的厚度，从而使反射率大致为其最小值。

[0373] 在一些实施例中，薄有损膜9-610可与样品阱5-210和材料5-230相间隔，如在图9-6D中所示。例如，薄电介质层9-620(例如，氧化硅SiOx)可形成在薄有损膜的上方，且样品阱5-210可形成在邻近电介质层9-620处。电介质层9-620的厚度根据一些实施例可以是约10nm和约150nm之间，然而在一些实施例中也可使用其他厚度。

[0374] 虽然被示作单层，但薄有损膜可包括由两种或多种材料构成的多层。在一些实施方案中，包括薄有损膜9-610和电介质层9-620的交替层的多层堆可形成在邻近样品阱5-210处，如在图9-6E中所示。根据一些实施例，薄有损膜9-610在多层堆中的厚度可以是约5nm和约100nm之间，且电介质层9-620在该堆中的厚度可以是约5nm和约100nm之间。在一些实施方案中，多层堆可包括具有约2nm和约8nm之间的厚度的一层二氧化硅，具有约5nm和约20nm之间的厚度的硅层以及具有约2nm和约12nm之间的厚度的锗层，然而在其他实施例中也可使用其他厚度。在一些实施方案中，多层堆可包括二氧化硅层(约4.2nm厚)，硅层(约14.4nm厚)以及锗层(约6.5nm厚)，然而在其他实施例中也可使用其他厚度。

[0375] 薄有损膜可由表现出至少一些入射辐射损失的任何合适的材料制成。在一些实施例中，薄有损膜可包括半导体材料，如硅和锗，然而也可使用其他材料。在一些实施方案中，薄有损膜可包括无机材料或金属。在一些实施例中，薄有损膜可包括合金或化合物半导体。例如，薄有损膜可包括合金，其包括Si(57.4重量%)、Ge(25.8重量%)和SiO_2(16.8重量%)，然而在其他实施例中也可使用其他比率和组合物。

[0376] 根据一些实施例，薄有损膜可使用任何合适的覆盖沉积工艺，例如物理沉积工艺、化学气相沉积工艺、旋涂工艺或其组合而形成在衬底上。在一些实施例中，薄有损膜可在沉积后进行处理，例如进行烘焙、退火和/或离子注入。

[0377] 额外地或替代地，可使用其他相位/幅度改变结构以增强在样品阱内的激发能量。根据一些实施方案且如在图9-7A中所示，反射堆9-705可与样品阱5-210间隔开来。在一些实施例中，反射堆可包括具有交替折射率的材料的电介质堆。例如，第一电介质层9-710可具有第一折射率，且第二电介质层9-720可具有不同于第一折射率的第二折射率。反射堆9-705在一些实施例中可表现出对激发辐射的高反射性且表现出对源自样品阱内的发射体的辐射性发射的低反射性。例如，反射堆9-705可表现出对激发辐射大于约80%的反射率以及对源自样品的发射低于约40%的反射率，然而在一些实施例中也可使用其他反射率值。发射激发能量的电介质层9-730可位于反射堆和样品阱之间。

[0378] 根据一些实施方案，在图9-7A中所示的反射堆9-705可与其中形成样品阱5-210的材料5-230形成谐振器。例如，反射堆可通过大致等于在电介质材料9-730内的激发辐射的

波长的一半或其整数倍的距离与材料5-230间隔开来。通过形成谐振器，激发能量可通过反射堆、谐振并在材料5-230和反射堆9-705之间的空间中聚积。这可增加在样品阱5-210内的激发强度。例如，强度在一些实施例中可按超过2倍的因子在谐振结构内增加，在一些实施例中按超过5倍的因子增加且在一些实施例超过10倍增加。

[0379] 根据一些实施例，在样品阱形成的谐振腔可包括Gires-Tournois谐振器。在一些实施方案中，谐振结构可包括线性谐振腔或环谐振器。在一些实施方案中，谐振结构可包括邻近样品阱形成的分布式布拉格反射器。分布式布拉格反射器可包括交替的具有不同折射率的材料层。在一些实施方案中，谐振腔可包括微腔。微腔可具有微米级尺寸。在一些方面，微腔可具有大致等于激发源的特征波长的一半或其倍数的大小(如通过谐振腔的折射率n进行修改)。例如，微腔的尺寸可以是$M\lambda/2n$，其中M为整数。

[0380] 在样品阱的附近可添加额外的结构，如在图9-7B和图9-7C中所示。根据一些实施例，具有高于电介质层9-730的第二折射率的第一折射率的电介质塞9-740可在邻近样品阱5-210处形成，如在图9-7B中所示。该塞可采用其直径大致等于样品阱直径的圆柱形，然而也可使用其他形状和大小。由于其较高的折射率，电介质塞9-740可向样品阱集中和引导激发辐射。

[0381] 根据一些实施例，电介质结构，如塞9-740可与或不与反射堆9-705一起使用。这种电介质结构可被称之为电介质谐振天线。电介质谐振天线可具有任何合适的形状，例如，圆柱形、矩形、正方形、多边形、梯形或金字塔形。

[0382] 图9-7C和图9-7D示出根据一些实施例的可形成在样品阱5-210附近的光子带隙(PBG)结构。光子带隙结构可包括规则的光学衬度结构(optical contrast structure)9-750阵列或晶格。根据一些实施例，光学衬度结构可包括电介质材料，其具有不同于周围电介质材料的折射率的折射率。在一些实施方案中，光学衬度结构9-750可具有不同于周围介质的损失值。在一些实施方案中，样品阱5-210可位于晶格中的缺陷处，如在图9-7D中所示。根据各种实施例，在光子晶格中的缺陷可在缺陷的区域内限定光子，其可增强在样品阱的激发能量的强度。由于光子带隙结构实现的限定可大致沿与衬底表面成横向的两个尺寸进行。当与反射堆9-705相结合时，限定可沿样品阱的三个尺寸进行。在一些实施例中，光子带隙结构可在不具有反射堆的情况下使用。

[0383] 已考虑了用于制造如在图9-6A至图9-7D中所示的激发-耦合结构的各种方法。根据一些实施例，需要薄的平面膜(例如，具有交替折射率的电介质膜)的结构可通过平面沉积工艺形成。平面沉积工艺可包括物理沉积(例如，电子束蒸发或溅射)或化学气相沉积工艺。例如，需要以三维形状形成的离散嵌入电介质的结构，如图9-7B中所示的电介质谐振天线9-740或在图9-7C中所示的光学衬度结构9-750的结构可通过使用光刻图案化和蚀刻工艺以将图案蚀刻至衬底中并随后使用电介质层的沉积和衬底的平坦化而形成。还考虑了用于在样品阱5-210的附近形成电介质谐振天线以及光子带隙结构的自对准加工技术。

[0384] H.幅度/相位激发-耦合结构的制造

[0385] 图9-8A至图9-8G示出了仅与可被用于形成光子带隙结构和自对准的样品阱的一种自对准工艺的工艺步骤相关联的结构，如在图9-7C中所示。根据一些实施例，反射堆9-705可首先形成在位于电介质层5-245上的衬底上，如在图9-8A中所示。第二电介质层9-730可随后沉积在反射堆上。电介质层9-730的厚度可大致等于材料中的激发辐射的波长的约

一半或其整数倍。可随后进行结合图9-4A至图9-4E所述的工艺步骤以在电介质层9-730上方形成支柱9-420以及用于光子带隙结构的蚀刻特征9-810的图案。蚀刻特征可延伸至电介质层9-730中并可选地至反射堆9-705中。所产生的结构可按图9-8A中所示的方式出现。

[0386] 覆盖支柱9-420的抗蚀剂9-440可从衬底剥离且进行保形沉积以用填充材料9-820填充蚀刻特征，如在图9-8B中所示。根据一些实施例，填充材料9-820可与用于形成支柱9-420的材料相同。例如，填充材料9-820和支柱9-420可由氮化硅制成，且电介质层9-730可包括氧化物，例如，SiO_2。

[0387] 然后，可进行各向异性蚀刻以回蚀填充材料9-820。根据一些实施例，可回蚀填充材料以暴露电介质层9-730的表面，这产生了如在图9-8C中所示的结构。蚀刻可留下支柱9-830，其包括原始支柱9-420和从填充材料9-820留下的侧壁9-822。

[0388] 然后，抗蚀剂9-440可在衬底上进行图案化，如在图9-8D中所示。例如，抗蚀剂可被涂覆至衬底上，在抗蚀剂中对孔进行图案化并对抗蚀剂进行显影以在围绕支柱9-830的抗蚀剂中打开一个区域。孔至支柱的对准不需要是高度精确的且仅需暴露支柱9-830而不用暴露嵌入电介质层9-730中的下面的光子带隙结构。

[0389] 在暴露支柱9-830后，可使用各向同性蚀刻以减少支柱的横向尺寸。根据一些实施例，所产生的支柱形状可按图9-8E中所示的方式出现。抗蚀剂9-440可随后从衬底进行剥离且可在该区域上方沉积材料5-230或材料层。在一些实施例中，材料5-230可使用CMP工艺进行回蚀以使该区域平坦化，如在图9-8F中所示。接着，可使用选择性干法或湿法蚀刻以移除剩余的支柱结构，从而留下样品阱5-210，如在图9-8G中所示。如附图所示，样品阱5-210被自对准至在电介质层9-730中进行图案化的光子带隙结构。

[0390] 作为一个替代工艺，填充材料9-820可包括与用于形成支柱9-420的材料不同的材料。在该工艺中，可省略与图9-8D和图9-8E相关联的步骤。在对材料5-230进行沉积和进行平坦化后，如在图9-8F中所示，可进行选择性蚀刻以移除支柱9-420。这可以留下衬填样品阱5-210的填充材料9-820的侧壁。

[0391] I.非辐射激发-耦合结构和制造

[0392] 发明人也已考虑了用于将激发能量非辐射性地耦合至样品阱内的样品的结构。在图9-9A中仅示出了非辐射耦合结构的一个实施例。根据一些实施例，非辐射耦合结构可包括紧邻样品阱5-210形成的半导体层9-910。半导体层9-910在一些实施例中可以是有机半导体或在一些实施例中可以是无机半导体。在一些实施方案中，凹穴5-216可以或可以不形成在半导体层中。半导体层9-910根据一些实施例可具有约5nm和约100nm之间的厚度，然而在一些实施例中也可使用其他厚度。根据一些实施方案，源于激发源的激发辐射或光子9-930可撞击半导体层9-910并产生激子9-920。激子可扩散至样品阱的表面，在该表面其可非辐射性地重组并将能量传递至邻近样品阱的壁的样品。

[0393] 图9-9B示出另一个实施例，其中半导体层9-912可被用于非辐射地将能量从激发源传递至样品。在一些实施例中，半导体层9-912可形成在样品阱的底部或在样品阱5-210的凹穴中，如在附图中所示。根据一些实施例，半导体层9-912可通过使用本文中结合用于将粘附剂沉积在样品阱的底部的工艺步骤描述的定向沉积工艺而形成在样品阱中。半导体层9-912根据一些实施例可具有约5nm和约100nm之间的厚度，然而在其他实施例中也可使用其他厚度。入射辐射可在半导体层内生成激子，其可随后扩散至样品阱5-210的底表面。

激子可随后非辐射性地将能量传递至样品阱内的样品。

[0394] 发明人也已考虑了用于将激发能量传递至样品的多个非辐射路径。根据一些实施方案且如在图9-9C中所示，可在样品阱内沉积能量传递粒子9-940。能量传递粒子在一些实施例中可包括量子点或在一些实施例中可包括分子。在一些实施方案中，能量传递粒子9-940可通过连接分子被官能化至样品阱的表面。薄半导体层9-910可形成在邻近样品阱处或在样品阱内，且根据在半导体层上入射的激发辐射可在半导体层内生成激子，如在附图中所示。激子可扩散至样品阱的表面且非辐射地将能量传递至能量传递粒子9-940。能量传递粒子9-940可随后非辐射地将能量传递至样品阱内的样品5-101。

[0395] 根据一些实施方案，在样品阱内可能有一个以上的能量传递粒子9-940。例如，可在样品阱，如在图9-9C中所示的样品阱内沉积一层能量传递粒子9-942。

[0396] 在一些实施方案中，能量传递粒子9-942或单个能量传递粒子9-940可被沉积在样品阱的底部，如在图9-9D中所示。能量传递粒子或多个粒子可辐射性或非辐射性地将激发能量传递至样品阱内的样品5-101。例如，能量传递粒子可吸收入射辐射以形成能量传递粒子的激发状态且随后辐射性或非辐射性地将能量传递至样品5-101。

[0397] 在一些实施方案中，能量传递粒子可吸收入射激发能量并随后在不同于所吸收的激发能量的波长的波长上重新发射辐射能量。重新发射的能量可随后被用于激发在样品阱内的样品。图9-9F表示与下转换能量传递粒子相关联的光谱图。根据一些实施例，下转换能量传递粒子包括量子点，其可吸收短波长辐射(较高能量)并发射一种或多种较长波长的辐射(较低能量)。实例吸收曲线9-952在图中被示作用于半径为6至7nm的量子点的虚线。量子点可发射由曲线9-954所示的第一辐射带、由曲线9-956所示的第二辐射带以及由曲线9-958所示的第三辐射带。

[0398] 在一些实施方案中，能量传递粒子可从激发源对能量进行上转换。图9-9F示出与从能量传递粒子进行的上转换相关联的光谱。根据一些实施例，量子点可以在约980nm的辐射进行激发且随后重新发射至三个光谱带中的一个中，如在图中所示。第一带的中心可在约483nm处，第二带的中心可在约538nm处且第三带的中心可在约642nm处。从量子点重新发射的光子比用于激发量子点的辐射的光子更有活力。因此，源于激发源的能量是上转换。发射光谱带中的一个或多个可被用于激发在样品阱内的一个或多个样品。

[0399] J.将发射能量导至传感器

[0400] 一个或多个组件可形成在样品阱和像素中的相应传感器之间以改善通过传感器对源于样品阱中样品的发射能量的采集。这种组件可改善发射能量信号与背景信号的信噪比，从而改善对识别样本内样品的标记物的检测。这种组件可被设计为在空间上指引和/或在空间上分离具有不同特征波长的发射能量。这种组件可将激发能量从样品阱指向像素中的一个或多个相应的传感器。在一些实施例中，选择样品阱相对于结构的位置以将源于样品阱的发射能量沿特定路线导向一个或多个传感器。当基于发射能量识别一个或多个标记物时，元件可被配置成将发射能量导向取决于由标记物发射出的特征波长的辐射分布图式中。每一个均在不同光谱范围内进行发射的多个标记物可通过当发射能量耦合至在集成装置内的发射指引组件时形成的辐射图式进行区别。其他组件，如滤波器可减少激发能量和不与像素中的样品相关联的其他能量到达像素的相应的一个或多个传感器。

[0401] 1.表面光学元件

[0402] 当位于样品阱内时，位于接近像素的样品阱的像素内的组件可被配置成与样品发射的发射能量相耦合。这种组件可被形成在集成装置的两层之间的界面处。例如，一些发射能量耦合元件可形成在样品阱层和与形成样品阱处相对的邻近样品阱层的层之间的界面处。在一些情况下，在样品阱层以下的层为电介质层且发射能量耦合元件可支持表面等离激元。在其他实施例中，样品阱层可以是邻近光学透明材料的导电材料。表面-能量耦合元件可以是由源于样品阱的辐射性发射激发并与其进行交互的表面光学结构。表面光学结构可被配置成形成用于具有不同特征波长的发射能量的不同空间辐射图式。术语“特征波长”或“特征能量”可被用于指代从源发射的在有限辐射带宽内的中心或主波长。荧光团的特征波长的实例为563nm、595nm、662nm和687nm。

[0403] 表面光学结构的特征尺寸，如光栅周期、特性大小或与样品阱的距离可进行选择以最大化地将发射能量动量矢量的平行分量耦合至用于表面等离激元的表面波动量矢量。例如，根据一些实施例，发射能量动量矢量的平行分量可与用于由该结构支持的表面等离激元的表面波动量矢量相匹配。在一些实施例中，从样品阱至表面光学结构边缘的或至表面光学结构的特性化特征的距离d可进行选择，从而沿选定的方向(如垂直于表面或从表面的法线按角度θ倾斜)指引源于样品阱的发射能量。例如，距离d可以是表面-等离激元波长的整数倍以垂直于表面指引发射。在一些实施例中，距离d可被选择为分数表面-等离激元波长或其波长模数以按从表面的法线成角度θ的方式指引发射。

[0404] 在操作中，表面能量-耦合组件和样品阱可被配置成增加从样品阱向含有样品阱的像素中的一个或多个传感器辐射的发射能量的量。在不具有表面能量-耦合的情况下，激发样品可各向同性地发射辐射且由于辐射可能不会传播通过纳米孔，因此充当零模式波导的样品阱的存在可限制大部分发射至半壳或朗伯分布。添加表面能量-耦合组件可创建高度各向异性的发射分布。

[0405] 根据一些实施例，表面光学结构可在第一方向和/或第一特征空间图中耦合源于样品阱的第一特征波长的辐射发射能量。耦合能量可沿狭窄的各向异性辐射图式中的第一方向被导引。在一些实施例中，表面光学结构可进一步在不同于第一方向和/或第一特征空间图的第二方向和/或第二特征空间图中耦合源于样品阱的第二特征波长的辐射发射能量。第二发射也可以是在狭窄的各向异性辐射图式中的方向上的。在一些实施例中，在垂直于形成表面光学结构的表面的窄波瓣中指引具有第一特征波长的辐射，且在与表面法线成角度的环形波瓣中指引具有第二特征波长的辐射。

[0406] 表面光学结构的实例为同心光栅。同心光栅结构可形成在集成装置的像素中以向像素的一个或多个传感器指引发射能量。同心光栅环或靶心结构可形成在样品阱的周围。同心光栅结构可与样品阱耦合以改善发射能量从样品阱向外进行的传播。额外地，同心光栅结构可将由在样品阱中的样品发射的发射能量引向辐射图式中，其中辐射图式是根据发射能量的特征波长而形成的。

[0407] 作为表面等离激元结构的同心圆形光栅表面10-102的实例在图10-1中示出。圆形光栅可包括任何合适数量的环且在图10-1中示出的环的数量为非限制性实例。圆形光栅可包括源于导电膜表面的突出环。例如，圆形光栅可形成在样品阱层和形成在样品阱层下面的电介质层的界面上。样品阱层可以是导电材料且同心光栅可通过在导电材料和电介质之间的界面上对光栅结构进行图案化而形成。圆形光栅的环可按规则的周期间隔布置或可在

环之间具有不规则或非周期性间隔。样品阱可位于或圆形光栅的中心附近。在一些实施例中，样品阱可位于偏离圆形光栅的中心处且可位于与光栅的中心成一定距离的地方。在一些实施例中，光栅型表面能量-耦合组件可包括螺旋光栅。在图10-2中示出了螺旋光栅10-202的实例。螺旋光栅10-202可包括在导电膜中的螺旋孔。螺旋光栅的任何合适的尺寸可被用于形成螺旋光栅。

[0408] 光栅结构可形成在接近样品阱处，从而使发射能量可与光栅结构相耦合。光栅结构可被配置成基于发射能量的特征波长形成发射能量的空间分布图式。可形成不同的空间分布图式以用于不同的特征波长。在图10-3至10-6上示出了由于具有位于样品阱下的同心光栅而形成的可能的空间分布图式的实例。例如，集成装置的层10-306可含有具有位于样品阱下的同心光栅结构10-302的样品阱。当具有第一特征波长的发射能量由样品阱中的样品发射时，发射能量与同心光栅相耦合并形成在图10-3中所示的第一空间分布图式10-304。额外地，当具有第二特征波长的发射能量由样品阱中的样品发射时，可形成第二分布图式，如在图10-4中所示的分布图式10-404。同样地，图10-5示出用于具有第三特征波长的发射能量的第三空间分布图式10-504且图10-6示出具有第四特征波长的第四空间分布图式10-604。不同的空间分布图式可通过在像素内的空间上相分离的传感器进行检测以在第一、第二、第三和第四特征波长之间进行区别。

[0409] 表面光学元件或表面等离激元结构的另一个实例为纳米天线结构。纳米天线结构可被设计为在空间上指引和/或在空间上分离具有不同特征波长的发射能量。在一些实施例中，选择样品阱相对于纳米天线结构的位置以将源于样品阱的发射能量沿特定路线引向一个或多个传感器。纳米天线可包括纳米级偶极天线结构，其被设计为当被发射能量激发时产生定向辐射图式。纳米天线可分布在样品阱的周围。定向辐射图式可由对天线的电磁场的求和而产生。在一些实施例中，定向辐射图式可有天线电磁场的求和而产生，其中该电磁场是直接地从样品中发射。在一些实施方案中，直接从样品发射的场可通过样品阱和纳米天线结构之间的表面等离激元进行介导。

[0410] 形成纳米天线结构的各个纳米天线的尺寸可进行选择以用于总纳米天线结构的用于产生一种或多种发射能量的特定分布图式的组合能力。例如，各个纳米天线的直径可在纳米天线结构内发生改变。然而，在一些情况下，直径在一组纳米天线内可以是相同的。在其他实施方案中，在整个纳米天线结构中可使用几个选择的直径。一些纳米天线可分布在半径为R的圆周上且一些可在径向上偏离该圆周。一些纳米天线可在半径为R的圆周周围等间隔布置(例如，定心在相等的极角增量上)且一些可在圆周周围以相等间隔进行偏离。在一些实施例中，纳米天线可在样品阱的周围按螺旋配置进行布置。额外地或替代地，纳米天线的其他配置是可能的，如在样品阱周围的矩阵阵列、十字分布和星形分布。各个纳米天线可具有除了圆周以外的形状，如正方形、矩形、十字形、三角形、蝴蝶结形、环形环、五边形、六边形、多边形等。在一些实施中，孔或圆盘的圆周可大致为分数波长的整数倍，例如，$(N/2)\lambda$。

[0411] 纳米天线阵列可将发射能量从样品引向具有取决于发射能量的特征波长的空间图的集中辐射波瓣中。当样品发射能量时，其可激发表面等离激元，表面等离激元从样品阱传播至在样品阱周围分布的纳米天线。随后，表面等离激元可激发辐射模式或在纳米天线处的偶极发射体，纳米天线垂直于样品阱层的表面发射辐射。在纳米天线的激发模式或偶

极的相位将取决于纳米天线与样品阱的距离。选择在样品阱和各个纳米天线之间的距离控制了从纳米天线发射出的辐射相位。在纳米天线激发的空间分布模式将取决于纳米天线的几何形状和/或大小。选择各个纳米天线的大小和/或几何形状控制了从纳米天线发射出的空间辐射模式。源于阵列中的所有纳米天线且在一些情况下为样品阱的贡献可确定形成辐射图式的总的辐射波瓣或多个波瓣。如可理解的，从各个纳米天线发射出的相位和空间辐射模式可取决于波长，从而使形成辐射图式的总的辐射波瓣或多个波瓣还将取决于波长。可采用电磁场的数值模拟以确定用于具有不同特征波长的发射能量的总的辐射波瓣图。

[0412] 纳米天线可包括在导电膜中的孔或孔口阵列。例如，纳米天线结构可形成在导电样品阱层和下面的电介质层之间的界面处。孔可包括按围绕中心点的同心圆周分布的孔组。在一些实施例中，样品阱位于阵列的中心点，而在其他实施例中，样品阱可偏离中心。各按圆形分布的孔组可包括围绕圆形分布的从最小到最大进行布置的不同直径的集合。孔的直径在各组之间可以是不同的(例如，在一组中的最小孔可大于在另一组中的最小孔)且对于各组圆周而言，最小孔的位置可被取向在不同的极角上。在一些实施例中，在纳米天线中可能有一至七组按圆形分布的孔。在其他实施例中，可以有七个以上的组。在一些实施例中，孔可能不是圆形的且可以是任何合适的形状。例如，孔可以是椭圆形、三角形、矩形等。在其它实施例中，孔的分布可能不是圆形的，而是可以形成螺旋形状。

[0413] 图11-1A和11-1B示出由导电层中的孔或孔口组成的示例性纳米天线结构。图11-1A示出具有被孔11-122所围绕的样品阱11-108的集成装置的表面的顶部平面图。纳米天线孔大致围绕半径为R的圆周进行分布。在该非限制性实例中，孔的直径通过围绕一圈孔的圆周逐渐增加而发生变化。图11-1B示出在图11-1A中所示的集成装置沿线B-B'的截面视图。包括样品阱11-108的样品阱层11-116和孔口11-122为纳米天线结构的一部分。集成装置的层11-118位于样品阱层11-116的下面。层11-118可以是电介质材料和/或光学透明材料。

[0414] 在一些实施例中，纳米天线结构可包括多个圆盘。纳米天线结构的圆盘可被形成为从导电材料的表面突出的导电圆盘。导电材料可邻近光学透明材料。在一些实施例中，纳米天线可分布在样品阱的周围。在一些情况下，纳米天线可大致按半径为R的圆周分布在样品阱的周围。纳米天线阵列可包括多组纳米天线，其大致分布在样品阱周围的具有不同半径的额外圆周上。

[0415] 图11-2A和11-2B示出包括从导电层突出的圆盘的纳米天线结构的示例性实施例。图11-2A示出具有被圆盘11-224所围绕的样品阱11-208的集成装置的表面的顶部平面示意图。纳米天线圆盘大致分布在半径为R的圆周周围。在该非限制性实例中，两个直径被用于圆盘，且圆盘围绕一圈纳米天线的圆周在这两个直径之间交替。图11-2B示出在图11-2A中所示的集成装置沿线C-C'的截面视图。包括样品阱11-208的样品阱层11-216和圆盘11-224为纳米天线结构的一部分。圆盘11-224从样品阱层11-216突出一定距离。在一些实施例中，圆盘从样品阱层延伸的距离可在纳米天线结构内发生变化。集成装置的层11-218位于样品阱层11-216的下面。层11-18可以是电介质材料和/或光学透明材料。样品阱层11-216和突出的圆盘可以是导电材料。

[0416] 形成纳米天线结构的孔和/或圆盘可采用任何合适的图案或分布，从而使源于样品阱的发射能量与纳米天线结构的纳米天线中的一个或多个相耦合。在图11-3中示出了纳米天线的另一个实例。样品阱可位于样品阱层内相关于纳米天线结构11-302的位置11-308

处。当从样品阱发射出发射能量时，表面等离激元可形成在纳米天线结构的区域中。图11-4示出在纳米天线结构内的表面等离激元的传播的示例性示意图。在图11-5、11-6和11-7中示出了在像素内形成纳米天线结构的纳米天线的其他示例性图案和分布。

[0417] 纳米天线结构可被用于区别在不同特征波长的发射。纳米天线结构可产生源于样品阱的在用于不同特征波长的发射能量的不同方向上延伸的辐射波瓣。辐射波瓣形成根据发射能量的特征波长而有所不同的空间分布图式。在图11-8、11-9、11-10和11-11中示出了由于具有位于样品阱下的纳米天线结构而形成的可能的空间分布图式的实例。例如，集成装置的层11-806可含有具有位于样品阱下的纳米孔结构11-802的样品阱。当具有第一特征波长的发射能量由样品阱中的样品发射时，发射能量与纳米天线结构中的纳米天线耦合，其将发射能量导向在图11-8中所示的第一空间分布图式11-904中。额外地，当具有第二特征波长的发射能量由样品阱中的样品发射时，可形成第二分布图式，如在图11-9中所示的分布图式11-1004。同样地，图11-10示出用于具有第三特征波长的发射能量的第三空间分布图式11-1104且图11-11示出具有第四特征波长的第四空间分布图式11-1204。不同的空间分布图式可通过在像素内的空间上相分离的传感器进行检测以在第一、第二、第三和第四特征波长之间进行区别。

[0418] 2.远场光学元件

[0419] 从样品阱中的样品发射出的发射能量可按各种方式被传输至像素的传感器，下面将详细地描述出其中的一些实例。一些实施例可使用光学和/或等离激元组件以增加特定波长的光被导向专用于检测该特定波长的光的传感器的区域或一部分的可能性。传感器可包括用于同时检测具有不同波长的发射能量的多个子传感器。

[0420] 图12-1a为根据一些实施例的集成装置的单个像素的示意图，其中至少一个分选元件被用于将具有特定波长的发射能量导引至各个子传感器。形成在导电材料12-103中的样品阱12-101接收样品且可发射出发射能量12-104。为了清楚起见，未示出样品阱和任何近场光学和等离激元组件的细节。发射能量12-104行进通过电介质材料12-105直到其达到分选元件12-107。分选元件12-107将发射能量12-104的波长耦合至空间自由度，从而将发射能量分成其组成波长分量，其被称之为分选的发射能量。图12-1a示意性地示出被分成四个通过电介质材料12-109的分选发射能量路径的发射能量12-104，四个路径中的每一个与像素的子传感器12-111至12-114相关联。以这种方式，每个子传感器与光谱的不同部分相关联，其形成了用于集成装置的每个像素的光谱仪。

[0421] 任何合适的分选元件12-107可被用于分离发射能量的不同波长。实施例可使用光学或等离激元元件。光学分选元件的实例包括但不限于全息光栅、相位掩模光栅、幅度掩模光栅和偏移菲涅尔透镜(offset Fresnel lenses)。等离激元分选元件的实例包括但不限于相控纳米天线阵列和等离激元准晶体。

[0422] 图12-1b为根据一些实施例的集成装置的单个像素的示意图，其中至少一个滤波元件被用于将具有特定波长的发射能量导引至各个子传感器并防止其他波长的发射能量到达子传感器。其中，图12-1b所示的组件类似于图12-1a的那些，且使用相同的参考数字。形成在导电材料12-103中的样品阱12-101接收样品且可发射出发射能量12-104。为了清楚起见，未示出样品阱和任何近场光学和等离激元组件的细节。发射能量12-104行进通过电介质材料12-105直到其达到滤波元件12-121至12-124中的一个。每一个与特定的子传感器

12-111至12-114相关联的滤波元件12-121至12-124各自被配置成通过吸收发射能量(未在图12-1b中所示)和/或反射发射能量而传输具有各个波长的发射能量并拒绝其他波长的发射能量。在通过各个滤波元件后,所滤波的发射能量行进通过电介质材料12-109并撞到像素的相应的子传感器12-111至12-114。以这种方式,每个子传感器与光谱的不同部分相关联,其形成了用于集成装置的每个像素的光谱仪。

[0423] 任何合适的滤波元件可被用于分离发射能量的不同波长。实施例可使用光学或等离激元滤波元件。光学分选元件的实例包括但不限于反射多层电介质滤波器或吸收性滤波器。等离激元分选元件的实例包括但不限于被设计成在特定波长传输能量的频率选择性表面、和光子带隙晶体。

[0424] 替代地或除了上述分选元件和滤波元件外,额外的滤波元件可被置于邻近每个子传感器12-11至12-114处。额外的滤波元件可包括薄有损膜,其被配置成创建用于特定波长的发射能量的相长干涉。薄有损膜可以是单层或多层膜。薄有损膜可由任何合适的材料制成。例如,薄有损膜可由其中折射率n大致与材料的消光系数k的数量级相同的材料制成。在其他实施例中,薄有损膜可由其中折射率n位于与材料的消光系数k的值的差在约两个数量级以内的材料制成。在可见波长的这种材料的非限制性实例为锗和硅。

[0425] 薄有损膜可具有任何合适的厚度。在一些实施例中,薄有损膜可以是1-45nm厚。在其他实施例中,薄有损膜可以是15-45nm厚。在其他实施例中,薄有损膜可以是1-20nm厚。图12-2a示出一个实施例,其中薄有损膜12-211至12-214中的每一个具有至少部分地通过与每个子传感器12-11至12-114相关联的波长确定的不同厚度。膜的厚度至少部分地确定将选择性地通过薄有损膜至子传感器的不同波长。如在图12-211中所示,薄有损膜12-211具有厚度d1,薄有损膜12-212具有厚度d2,薄有损膜12-213具有厚度d3且薄有损膜12-214具有厚度d4。每个后续薄有损膜的厚度小于之前的薄有损膜,从而使d1>d2>d3>d4。

[0426] 额外地或替代地,薄有损膜可由具有不同性能的不同材料制成,从而使不同波长的发射能量在各个相应子传感器处发生相长干扰。例如,可选择折射率n和/或消光系数k以优化特定波长的发射能量的传输。图12-2b示出薄有损膜12-221至12-224,其具有相同厚度但每一个薄有损膜均是由不同的材料制成的。在一些实施例中,可选择薄有损膜的材料和薄有损膜的厚度,从而使具有所需波长的发射能量发生相长干扰并传输通过该膜。

[0427] 在一些实施例中,可使用光子晶体谐振器结构。在这种实施例中,光子晶体结构的对称性可在传感器导致激发光的相消干扰,从而减少从激发光产生的到达传感器的背景光的量。

[0428] K.传感器

[0429] 发明人已考虑了传感器、传感器操作和信号处理方法的各种实施例。根据一些实施例,在像素的传感器5-260可包括任何合适的传感器,其能够从样品阱中的一个或多个标记接收发射能量并产生代表所接收的发射的一个或多个(例如,至少2、3或4个)电信号。在一些实施例中,传感器可包括至少一个、两个、三个或四个光检测器。每个光检测器可包括在半导体衬底中形成的p-n结。图13-1A仅示出可在集成装置的像素5-100内进行制造的传感器的一个实施例。

[0430] 根据一些实施例,传感器5-260可形成在集成装置的每个有源像素5-100处。传感器可绕样品阱5-210定心并按约1微米和约20微米之间的距离与样品阱相间隔。在样品阱和

传感器之间可以有一个或多个透明层13-110，从而使源于样品阱的发射可行进至传感器而不会产生显著的衰减。传感器5-260根据一些实施例可形成在像素底部的半导体衬底13-120中且可位于样品阱的与激发源(未示出)相同侧上。

[0431] 传感器可包括一个或多个半导体结光检测器段。每个半导体结可包括第一导电类型的阱。例如，每个半导体结可包括形成在p型衬底中的n型阱，如在图中所示。根据一些实施例，传感器5-260可按靶心检测器13-162进行布置，如在图13-1B中的平面图中所示。第一光检测器13-124可位于传感器的中心且第二环形光检测器13-122可围绕中心光检测器。至阱的电触头可被制成通过在第一或后续的金属化层的导电迹线13-134并通过导电导通孔13-132。在导通孔的接触区可以有高度掺杂的半导体材料13-126的区域。在一些实施例中，场氧化物13-115可形成在光检测器之间的表面处和/或可覆盖每个光检测器的一部分。在一些实施方案中，在邻近传感器5-260的像素内可形成有额外的半导体装置13-125(例如，晶体管、放大器等)。在像素内可具有额外的金属化层13-138、13-136。

[0432] 在一些实施方案中，金属化层13-136可延伸横跨大部分的像素且具有在样品阱5-210下的开口，从而使源于样品阱的发射可到达传感器。在一些情况下，金属化层13-136可充当参考电位或接地面并额外地起光学阻挡的作用以防止至少一些背景辐射(例如，源于激发源或源于周围环境的辐射)到达传感器5-260。

[0433] 如在图13-1A和图13-1B中所示，传感器5-260可被分成在空间上和电学上彼此分离的多个光检测器段13-122、13-124。在一些实施例中，传感器5-260的各段可包括相反掺杂(oppositely-doped)半导体材料的区域。例如，用于第一传感器段的第一电荷累积阱13-124可通过掺杂衬底的第一区以在第一阱内具有第一导电类型(例如，n型)而形成。衬底可以是p型的。用于第二传感器段的第二电荷累积阱13-122可通过掺杂衬底的第二区以在第二阱内具有第一导电类型而形成。第一和第二阱可通过衬底的p型区进行分离。

[0434] 传感器5-260的多个段可按除了靶心布局以外的任何合适的方式进行布置，且在传感器中可具有两个以上的分段。例如，在一些实施例中，多个光检测器段13-142彼此可横向分离以形成条形传感器13-164，如在图13-1C中所示。在一些实施例中，四分(或四分象)的传感器13-166可通过按四分象图案布置各段13-144而形成，如在图13-1D中所示。在一些实施方案中，弧形分段13-146可结合靶心图案而形成，如在图13-1E中所示，从而形成弧形分段的传感器13-168。另一种传感器配置可包括饼片部分，其可包括在圆周的分开部分中进行布置的各个传感器。在一些情况下，传感器段可围绕样品阱5-210对称地进行布置或围绕样品阱不对称地进行布置。传感器段的布置并不仅限于前述布置，且可使用任何合适的传感器段的分布。

[0435] 发明人已发现四分象传感器13-166、饼扇区传感器或类似的扇区传感器可比其他传感器设计更有利地缩放至更小的像素大小。四分象和扇区检测器可为若干所检测的波长和有源传感器区消耗更小的像素区域。四分象和扇区检测器可结合纳米天线阵列或表面-等离激元结构使用以产生可通过检测器辨识的不同的空间分布图式。传感器可按各种几何配置进行布置。在一些实例中，传感器按正方形配置或六边形配置进行布置。

[0436] 本发明的传感器可独立地(或个别地)进行寻址。可个别寻址的传感器能够检测源于相应的样品阱的发射并提供独立于其他传感器的输出信号。可单独寻址的传感器可单独地进行读取。

[0437] 在一些实施例中，堆叠传感器13-169可通过以垂直堆叠制造多个分离的传感器段13-148而形成，如在图13-1F中所示。例如，各段可以一个位于另一个的上方，且在堆叠的各段之间可以有或可以没有绝缘层。每个垂直层可被配置成吸收特定能量的发射能量且使不同能量的发射通过。例如，第一检测器可吸收和检测较短波长的辐射(例如，源于样品的在约500nm以下的蓝色波长辐射)。第一检测器可使源于样品的绿色和红色波长发射通过。第二检测器可吸收和检测绿色波长辐射(例如，在约500nm和约600nm之间)并使红色发射通过。第三检测器可吸收和检测红色发射。在一些实施例中，反射膜13-149可被结合在该堆中以反射回选定的波长带的光使其通过分段。例如，膜可反射回尚未被第二分段吸收的绿色波长辐射以使其通过第二分段，从而增加其检测效率。

[0438] 在一些具有垂直堆叠传感器分段的实施例中，发射耦合组件可不包括在样品阱处以产生取决于发射波长的样品发射的不同空间分布图式。根据一些实施例，可通过分析堆叠段的信号比用垂直堆叠的传感器13-169实现光谱不同的发射的识别。

[0439] 在一些实施例中，传感器5-260的分段是由硅制成的，然而也可使用任何合适的半导体(例如，Ge、GaAs、SiGe、InP等)。在一些实施例中，传感器段可包括有机光电导膜。在其他实施例中，量子点光检测器可被用于传感器段。量子点光检测器可基于量子点的大小而响应不同的发射能量。在一些实施例中，多个具有不同大小的量子点可被用于区别从样品阱接收的不同发射能量或波长。例如，第一分段可由具有第一尺寸的量子点制成，且第二分段可由具有第二尺寸的量子点制成。在各个实施例中，传感器5-260可使用常规CMOS工艺制成。

[0440] 如上所述，在一些实施例中，发射-耦合组件可在邻近样品阱处制造出来。发射-耦合组件可改变源于样品阱5-210内样品的发射，从而产生取决于发射波长的样品发射的不同空间分布图式。图13-2A示出可在第一波长从第一样品产生的第一空间分布图式13-250的实例。例如，第一空间分布图式13-250可具有指向靶心传感器13-162的中心段的主中心波瓣。仅作为一个实例，这种图案13-250可从由圆形光栅13-220的发射-耦合结构围绕的样品阱产生，其中样品在约663nm的波长进行发射。在传感器上入射的投影图式13-252可按在图13-2B中所示的方式出现。

[0441] 图13-2C示出根据一些实施例的从源于相同的样品阱的在第二波长发射的第二样品产生的空间分布图式13-260。第二空间分布图式13-260可包括两个辐射波瓣且不同于第一空间分布图式13-250。根据一些实施例，第二空间分布图式13-260的投影图式13-262可按图13-2D中所示的方式出现。仅作为一个实例，第二空间分布图式13-260可从由圆形光栅13-220的发射-耦合结构围绕的相同样品阱产生，其中样品在约687nm的波长进行发射。

[0442] 根据一些实施例，传感器5-260的各段可进行布置以检测特定发射能量。例如，邻近样品阱的发射-耦合结构以及传感器的各段可结合起来进行设计以增加在特定发射能量之间的信号分化。发射能量可对应于将与集成装置一起使用的所选标记。作为一个实例，靶心传感器13-162可使其分段调整大小和/或进行定位以更好地匹配源于样品的投影图式13-260、13-262，从而使具有较高强度的区域更居中地落在传感器的有源段内。替代地或额外地，发射-耦合结构可被设计为改变投影图式13-260、13-262，从而使强区域更居中地落在传感器的各段内。

[0443] 尽管传感器5-260可包括两个分段，但在一些实施例中也可分辨源于样品的两个

光谱以上不同的发射带。例如，每个发射带可在传感器段上产生不同的投影图式并生成源于传感器段的不同信号组合。信号组合可进行分析以分辨和识别发射带。图13-2E至图13-2H表示来自被暴露于四个不同发射图式的两段式传感器5-260的信号数值模拟的结果。发射图式被模拟为从具有在邻近样品阱处形成的圆形光栅的样品阱在四个波长(565nm、595nm、663nm、687nm)产生。如可以看出的，源于两个传感器段的每个信号组合是不同的且可被用于在四个波长的发射体之间进行区别。对于该模拟而言，由于靶心传感器13-162的外检测器段具有较大区域，因此集成了更多的信号以用于该检测器。额外地，撞击在检测器之间区域的光生成载体，其可向任一检测器段漂移并促成源于这两个分段的信号。

[0444] 在一些实施例中，每个像素可以有N个光检测器段，其中N可以是任何整数值。在一些实施例中，N可大于或等于1且小于或等于10。在其他实施例中，N可大于或等于2且小于或等于5。可通过N个检测器检测的可予以辨别的样品发射(例如，源于不同发光标记的不同发射波长)的数量M可等于或大于N。根据一些实施例，M个样品发射的辨别可通过评估源于每个传感器段的信号比而实现。在一些实施方案中，所接收信号的比率、总和和/或幅度可进行测量和分析以确定源于样品阱的发射的特征波长。

[0445] 在一些实施例中，一个以上的发射体可在样品阱内5-210在给定的时间窗中以不同的特征波长进行发射。传感器5-260可同时检测在不同波长的源于多个发射的信号并提供求和信号以进行数据处理。在一些实施方案中，多波长发射可作为源于传感器段的另一组信号值(例如，不同于在图13-2E至图13-2H中所示的那些的信号值)而进行区别。信号值可进行分析以辨别已出现的多波长发射并识别与发射相关联的特定发射体的组合。

[0446] 发明人也已考虑和分析了具有至少两个、三个或四个同心分段的靶心传感器。在图13-2I和图13-2J中分别示出了用于与图13-2G和图13-2H相关联的相同发射条件的源于各段的信号。四段靶心传感器还示出可进行分析以识别在样品阱内的特定发射体的可辨别信号。

[0447] 当在每个传感器段使用波长滤波时或光谱分离很高时，传感器的每个分段可大致仅检测选定的发射带。例如，第一波长可由第一分段检测，第二波长可由第二分段检测且第三波长可由第三分段检测。

[0448] 再次参照图13-1A，在像素2-205内可以有额外的电子电路13-125，其可用于从传感器5-260的每段采集和读出信号。图13-3A和图13-3D示出根据一些实施例的可结合多段传感器一起使用的电路。作为一个实例，信号采集电路13-310可包括用于每个传感器段的三个晶体管。根据一些实施方案，在图13-3B中示出三个晶体管的布置。在与每个分段相关联的电荷累积节点13-311处的信号电平可在电荷累积期间之前通过复位晶体管RST进行复位，且用于该分段的信号电平(由在电荷累积节点的电荷量所确定的)可在电荷累积期间和/或在电荷累积期间结束时用读取晶体管RD进行读出。如上所述，信号可被提供至处理器(未示出)以进行分析以辨别通过N个空间上分离的检测器进行的对源于样品的M个不同发射波长的检测。

[0449] 根据一些实施例，像素电路可进一步包括扩增和相关双采样电路13-320。例如，扩增和双采样电路可包括被配置成对源于传感器段的信号进行放大的晶体管以及被配置成当在传感器上不存在有发射辐射时(例如，在施加在样品阱的激发能量前)复位在电荷累积节点处的电压电平和读取背景或“复位”的在节点处的信号并读取后续的发射信号的晶体

管。

[0450] 根据一些实施例，采用相关双采样以通过从检测的发射信号电平减去背景或复位的信号电平而减少背景噪声。与传感器的每个分段相关联的所采集的发射信号和背景信号可被读出至列线13-330上。在一些实施例中，发射信号电平和背景信号被时间多路复用至共同的列线上。可以有用于每个传感器段的单独列线。源于列线的信号可进行缓冲和/或用扩增电路13-340(其可位于有源像素阵列外)进行扩增，并被提供用于进行进一步的处理和分析。在一些实施例中，双采样信号的减除是通过，例如系统处理器在芯片外进行计算的。在其他实施例中，减除可在芯片上或在基座仪器的电路中进行。

[0451] 相关双采样的一些实施例可通过选择至样品的一行而进行操作，其中与该行相关联的传感器具有在采样期的积分信号电荷并含有信号电平。信号电平可同时读出至列线上。在对积分的信号电平进行采样后，在所选行中的所有像素可进行复位并立即进行采样。该复位电平可与下一个积分信号相关联，该下一个积分信号在释放复位后开始累积且当稍后再次选择相同的行时完成对一帧时间的积分。在一些实施例中，帧的复位值可在芯片外进行存储，从而当信号已完成积分和已进行采样时，可减除所存储的相关复位值。

[0452] 在一些实施例中，具有两个分段的传感器5-260可能需要额外的电路。图13-3C示出与四分象传感器相关联的信号采集、扩增和双采样电路。根据一些实施例，源于两个或多个分段的信号可被时间多路复用至在像素上的共同的信号信道上。时间多路复用的信号可包括用于噪声消除的用于每个分段的采样背景信号。额外地，源于两个或多个分段的信号可被时间多路复用至共同的列线上。

[0453] 根据一些实施例，时间信号获取技术可被用于从激发源或多个源减少背景信号电平和/或分辨源于与样品相关联的不同发射体的不同发射。图13-4A示出根据一些实施例的可用于标记样品的源于两个不同发射体的荧光发射和衰减。两个发射具有明显不同的时间衰减特征。源于第一发射体的第一时间衰减曲线13-410可对应于常用的荧光分子，如若丹明。第二时间衰减曲线13-420可能特征在于第二发射体，如量子点或磷光发射体。两个发射体均表现出在发射体进行初始激发后延伸一段时间的发射衰减尾。在一些实施例中，在发射衰减尾期间应用的信号采集技术可进行定时以在一些实施例中从激发源减少背景信号并且在一些实施例中在发射体之间进行区别。

[0454] 根据一些实施方案，可在发射衰减尾期间采用时间延迟的取样以减少由于激发源的辐射而产生的背景信号。图13-4B和图13-4C示出根据一些实施例的时间延迟采样。图13-4B示出源于激发源的激发辐射的激发脉冲13-440以及源自在样品阱内激发的样品的随后的后续发射脉冲13-450的时间演变。激发脉冲13-440可能是由于用驱动信号13-442驱动激发源一个短暂的时间段而产生的，如在图13-4C中所示。例如，驱动信号可开始于第一时间t_1并结束于第二时间t_2。根据一些实施例，驱动信号的持续时间(t_2-t_1)可以是约1皮秒至约50纳秒，然而在一些实施方案中也可使用更短的持续时间。

[0455] 在用于激发源的驱动信号终止后的时间t_3上，在像素处的传感器5-260(或传感器段)可被选通以在从时间t_3至t_4的第二时间间隔期间在电荷累积节点13-312累积电荷。根据一些实施例，第二时间间隔可以是约1纳秒至约50微秒，然而在一些实施方案中也可使用其他持续时间。如能参照图13-4B看出的，由于发射样品且由于激发源，电荷累积节点将采集更多的信号电荷。因此，可获得改善的信噪比。

[0456] 再次参照图13-4A，由于发射体的不同时间发射特征，传感器的相应信号的峰值可出现在不同的时间。在一些实施方案中，在发射衰减尾期间应用的信号获取技术可被用于分辨不同的发射体。在一些实施例中，时间检测技术可结合空间和光谱技术使用(例如，如上所述的结合图13-2使用)以分辨不同的发射体。

[0457] 图13-4D至图13-4H示出在传感器或传感器段的双采样是如何被用于区别具有不同时间发射特征的两个发射体的。图13-4D分别示出与第一发射体和第二发射体相关联的发射曲线13-470、13-475。作为一个实例，第一发射体可以是常用的荧光团，如若丹明，且第二发射体可以是量子点或磷光发射体。

[0458] 图13-4E示出可响应于图13-4D的两个不同发射特征出现的在电荷累积节点13-312处的动态电压电平。在该实例中，由于较短的发射跨度，与荧光发射体相应的第一电压曲线13-472可更快地发生改变并在第一时间t_1达到其最大值(或最小值，这取决于节点的极性)。由于第二发射体的较长的发射特征，第二电压曲线13-477可更慢地发生改变并在第二时间t_2达到其最大值(或最小值)。

[0459] 在一些实施例中，电荷累积节点的采样可在样品激发后的两个时间t_3、t_4完成，如在图13-4F中所示。例如，可施加第一读取信号13-481以在第一时间t_3从电荷累积节点读出第一电压值。接下来，可施加第二读取信号13-482以在第二时间t_4从电荷累积节点读出第二电压值而不用在第一读数和第二读数之间复位电荷累积节点。随后，可使用对两个采样信号值的分析以识别两个发射体中的哪一个提供了所检测的信号电平。

[0460] 图13-4G示出了源于第一读数和第二读数的两个信号的实例，该两个读数可对具有如在图13-4D中所示的发射曲线13-470的第一发射体获得。图13-4H示出了源于第一读数和第二读数的两个信号的实例，该两个读书可对具有如在图13-4D中所示的发射曲线13-475的第二发射体获得。例如，在图13-4F中所示的用于第一发射体的采样序列将对曲线13-472进行采样并在两个读取时间获得大致相同的值。在使用第二发射体的情况下，在图13-4F中所示的采样序列在两个读取时间对曲线13-477的两个不同值进行采样。由两个读取时间产生的信号对在两个发射体之间进行区别且可进行分析以识别每个发射体。根据一些实施例，也可进行用于背景减除的双采样以从第一和第二读取信号减除背景信号。

[0461] 根据一些实施例，传感器可包括邻近样品阱5-210形成的半导体结。例如，在一些实施方案中，半导体结可被形成为多层结构，且样品阱可形成在多层结构中，如在图5-7F中所示。在一些实施例中，激发的样品可经FRET或DET非辐射性地将发射能量传递至邻近样品阱形成的半导体结，从而在半导体结形成激子。半导体结可包括p-n或p-i-n结，其将接收的能量转换成通过与样品阱相关联的CMOS电路所检测的电信号。在一些实施方案中，量子点或分子可经连接子(linker)被附至半导体结且可参与从激发样品至半导体结的非辐射能量传递。

[0462] 在操作中，集成装置的传感器5-260可在从要进行分析的样本进行数据采集前进行波长校准程序。波长校准程序可包括向传感器施加具有特征波长的不同的已知能量，特征波长可能或可能不对应于可与集成装置一起使用的荧光团波长。不同的能量可按序列进行施加，从而可从传感器记录用于每种能量的校准信号。随后，校准信号可作为参照信号进行存储，其可被用于处理真实数据采集并确定传感器检测的是什么发射波长或多个波长。

[0463] IV.仪器操作、使用方法和用户界面

[0464] 仪器2-104可使用软件和/或硬件进行控制。例如，仪器可使用处理装置2-122，如ASIC、FPGA和/或执行软件的通用处理器进行控制。

[0465] 图14-1示出了根据一些实施例的仪器2-104操作的流程图。在用户已获得要进行分析的样本后，用户在动作14-101中开始新的分析。这可通过经用户界面2-116通过，例如，按下按钮而向仪器2-104提供指示。在动作14-103，仪器2-104检测源于之前进行的分析的集成装置2-102(本文中也被称为“芯片”)是否仍被插在该仪器2-104中。如果确定老的芯片存在时，则可在动作14-105中关闭至激发源的电源，在动作14-107中使用用户界面2-116的指示器提示用户弹出之前的芯片且仪器2-104在动作14-109中等待老芯片被弹出。

[0466] 当用户弹出之前的芯片时或如果仪器2-104在动作14-103中确定已移除之前的芯片，则在动作14-111提示用户插入新的集成装置2-102以进行新的分析。然后，在动作14-113中仪器2-104等待新集成装置2-102被插入。当用户插入新芯片时，在动作14-115中通过用户界面的指示器提示用户将要进行分析的样本置于集成装置2-102的暴露的顶面上且还提示用户关闭在仪器2-104上的盖子。然后，在动作14-117中仪器2-104等待盖子被关闭。当盖子被用户关闭时，在动作14-119中，可驱动激发源产生激发能量以激发存在于集成装置2-102的样品阱中的样本的样品部分。在动作14-121中，源于样品的发射能量是通过传感器2-110检测的且源于传感器2-110的数据被流传输至处理装置2-122以进行分析。在一些实施例中，数据可被流传输至外部计算装置2-120。在动作14-123中，仪器2-104检测是否完成了数据获取。数据获取可在特定时间长度后完成，且已识别了源于激发源或一个特定目标的特定数量的激发脉冲。当完成数据获取时，在14-125完成数据分析。

[0467] 图14-2示出根据一些实施例的实例自校准例程。在分析样本前可在任何合适的时间执行校准例程。例如，这可在发货至终端用户前由每台仪器的制造商一次性地完成。替代地，终端用户可在任何合适的时间进行校准。如上面所讨论的，仪器2-104能够在从不同样品发射出的具有不同波长的发射能量之间进行区别。仪器2-104和/或计算装置2-120可以用与每个特定的光颜色相关联的校准来校准，每个特定的光颜色与，例如，用于标记被分析的样本的分子的发光标记。以这种方式，可确定与特定颜色相关联的精确输出信号。

[0468] 为了校准装置，一次向一台仪器2-104提供与单个发光标记相关联的校准样本。当用户将包括发射单个波长的发射能量的发光标记的样本置于集成装置2-102上并将集成装置2-102插入仪器2-104中时，在动作14-201中开始自校准。使用用户界面2-116，用户指示仪器2-104开始自校准。作为响应，在动作14-203中，仪器2-104通过用激发能量照亮集成装置2-102并测量源于校准样本的单波长发射能量运行校准分析。仪器2-104可随后在动作14-205中保存在用于传感器阵列的每个像素的传感器2-110的子传感器阵列上测量的检测图。用于每个发光标记的检测图可被认为是与发光标记相关联的检测签名。以这种方式，签名可被用作培训数据集，其被用于分析从在后续分析运行中进行分析的未知样品接收的数据。

[0469] 随后，可执行上述校准例程以用于与单个发光标记相关联的每个校准样本。以这种方式，在完成校准例程后，在动作14-207中进行的后续分析期间，像素阵列的每个传感器2-110可与可被用于确定在样品阱中存在的发光标记的校准数据相关联。

[0470] 图14-3还示出了根据一些实施例的可如何获取和使用校准数据以分析数据。在动作14-301中，从传感器获得校准数据。这可使用前述的自校准例程完成。在动作14-303中，

基于校准数据生成变换矩阵。变换矩阵将传感器数据映射至样品的发射波长且是一个m×n的矩阵，其中m是具有不同发射波长的发光标记的数量且n是用于检测每个像素的发射能量的子传感器的数量。因此，变换矩阵中的每一列表示用于传感器的校准值。例如，如果有每个像素的四个子传感器和五个不同的发光标记，那么变换矩阵则是4×5的矩阵(即，四行和五列)且每一列均与不同的发光标记相关联，在列中的数值与自校准例程期间从子传感器获得的测量值相对应。在一些实施例中，每个像素可具有其自己的变换矩阵。在其他实施例中，源于像素中的至少一些的校准数据可进行平均且所有像素可基于平均数据使用相同的变换矩阵。

[0471] 在动作14-305中，从传感器获得与生物测定相关联的分析数据。这可按上述方式中的任一种完成。在动作14-307中，发射能量的波长和/或发光标记的身份可使用变换矩阵和分析数据进行确定。这可按任何合适的方式完成。在一些实施例中，分析数据与变换矩阵的伪逆矩阵相乘，从而产生m×1的矢量。与具有最大值的矢量分量相关联的发光标记可随后被识别为存在于样品阱中的发光标记。实施例并不限于该技术。在一些实施例中，为了防止在获取具有小值的矩阵的逆子矩阵可能产生的可能异常状态，可进行受约束的优化例程，如最小二乘法或最大似然技术以确定存在于样品阱中的发光标记。

[0472] 使用校准数据以分析源于传感器的数据的前述方法可由任何合适的处理器执行。例如，仪器2-104的处理装置2-122可进行分析或计算装置2-120可进行分析。

[0473] 图14-2示出根据一些实施例的对集成装置2-102像素进行的前述相关双采样的基础仪器的控制。在数据获取的新帧开始时，将行移位寄存器复位。源于前一帧的像素复位值是通过递增列寄存器而进行读取的。同时，当前帧的像素采样电平被存储在芯片上的读取元件内。一旦到达要测量的列的所需数量时，将列寄存器复位。随后，源于当前帧的像素采样电平是通过递增列寄存器并一次性地将八个像素样品值输出至缓冲器，在一些实施例中，可丢弃采样电平中的第一帧。缓冲器可位于存储器中芯片外或在一些实施例中其被本地存储在芯片上。一旦满足要测量的列的数量，则递增行寄存器。重复该过程直到完成一帧。在完成一帧数据后，再次开始该过程，其改变了从之前的帧复位电平减除的帧的采样电平。

[0474] V.计算装置

[0475] 图15-1示出在其上可执行实施例的合适的计算系统环境15-100的实例。例如，图2-1B的计算装置2-120可根据计算系统环境15-100而予以实施。额外地，计算系统环境15-100可充当控制系统，其被编程用于控制仪器进行测定。例如，控制系统可控制激发源向集成装置的样品阱发射和指引光；控制传感器以允许对源于样品阱中的一个或多个样品的发射光进行检测；并分析源于传感器的信号以识别，例如，通过分析发射能量的空间分布而进行，存在于样品阱中的样品。计算系统环境15-100仅是合适的计算环境的一个实例且不旨在建议任何关于本发明的用途或功能范围的限制。计算环境15-100不应被解释为具有任何关于在示例性操作环境15-100中所示的组件中的任一个或组合的依赖性或要求。

[0476] 实施例可用许多其他通用或专用计算系统环境或配置进行操作。可适于与本发明一起使用的公知的计算系统、环境和/或配置的实例包括但不限于个人计算机、服务器计算机、手持式或膝上型装置、多处理器系统、基于微处理器的系统、机顶盒、可编程消费电子产品、网络PC、小型计算机、大型计算机、包括上述系统或装置中的任一个的分布式计算环境

等。

[0477] 计算环境可执行计算机可执行指令，如程序模块。一般地，程序模块包括例程、程序、对象、组件、数据结构等，其进行特定任务并实施特定抽象数据类型。本发明还在分布式计算环境中进行了实践，在该环境中，任务是由通过通信网络链接的远程处理装置执行的。在分布式计算环境中，程序模块可位于包括存储器存储装置的本地和远程计算机存储介质中。

[0478] 参照图15-1，用于实施本发明的示例性系统包括采用计算机15-110形式的通用计算装置。计算机15-110的组件可包括但不限于处理单元15-120、系统存储器15-130和将包括系统存储器的各种系统组件耦合至处理单元15-120的系统总线15-121。系统总线15-121可采用几种类型的总线结构中的任一种类型，包括使用多种总线架构中的任一种的存储器总线或存储器控制器、外围总线和本地总线。通过示例而非限制的方式，这种架构包括工业标准架构(ISA)总线、微通道体系(MCA)总线、增强型ISA(EISA)总线、视频电子标准协会(VESA)本地总线和也被称为夹层总线(Mezzanine bus)的外围组件互连(PCI)总线。

[0479] 计算机15-110通常包括多种计算机可读介质。计算机可读介质可以是可由计算机15-110存取的且包括易失性和非易失性介质、可移动和不可移动介质的任何可用介质。通过示例而非限制的方式，计算机可读介质可包括计算机存储介质和通信介质。计算机存储介质包括易失性和非易失性介质、可移动和不可移动介质，其是按用于信息存储的任何方法或技术，如计算机可读指令、数据结构、程序模块或其他数据予以实施的。计算机存储介质包括但不限于RAM、ROM、EEPROM、闪存或其它存储器技术、CD-ROM、数字多功能盘(DVD)或其它光盘存储器、磁带盒、磁带、磁盘存储器或其他磁存储装置或可用于存储所需信息并可通过计算机15-110存取的任何其他介质。通信介质通常在调制数据信号，如载波或其他传输机制中包含计算机可读指令、数据结构、程序模块或其他数据并包括任何信息传递介质。术语“调制数据信号”表示具有其特征组中的一个或多个或按一种方式进行改变以在信号中对信息进行编码的信号。通过示例而非限制的方式，通信介质包括有线介质，如有线网络或直接有线连接和无线介质，如声学、RF、红外和其他无线介质。上述任一组的组合也应被包括在计算机可读介质的范围内。

[0480] 系统存储器15-130包括采用易失性和/或非易失性存储器如只读存储器(ROM)15-131和随机存取存储器(RAM)15-132的形式的计算机存储介质。包含有助于在计算机15-110的元件之间传递信息，如在启动期间进行的基本例程的基本输入/输出系统15-133(BIOS)通常被存储在ROM 15-131中。RAM 15-132通常包含可由处理单元15-120立即存取的和/或当前在处理单元15-120上进行操作的数据和/或程序模块。通过示例而非限制的方式，图15-1示出操作系统15-134、应用程序15-135、其他程序模块15-136和程序数据15-137。

[0481] 计算机15-110还可包括其他可移动/不可移动、易失性/非易失性计算机存储介质。仅通过示例的方式，图15-1示出硬盘驱动器15-141，其从不可移动的非易失性磁介质进行读取或写入其中；磁盘驱动器15-151，其从可移动的非易失性磁盘15-152进行读取或写入其中；和光盘驱动器15-155，其从可移动的非易失性光盘15-156，如CD ROM或其他光学介质进行读取或写入其中。可在示例性操作环境中使用的其他可移动/不可移动、易失性/非易失性计算机存储介质包括但不限于磁带盒、闪存卡、数字多功能盘、数字录影带、固态RAM、固态ROM等。硬盘驱动器15-141通常通过不可移动的存储器接口，如接口15-140被连接

至系统总线15-121且磁盘驱动器15-151和光盘驱动器15-155通常通过可移动存储器接口，如接口15-150被连接至系统总线15-121。

[0482] 如上所讨论的且在图15-1示出的驱动器及其相关联的计算机存储介质提供了对用于计算机15-110的计算机可读指令、数据结构、程序模块和其他数据的存储。在图15-1中，例如，硬盘驱动器15-141被示为存储操作系统15-144、应用程序15-145、其它程序模块15-146和程序数据15-147。要注意的是，这些组件可与操作系统15-134、应用程序15-135、其他程序模块15-136和程序数据15-137相同或与其不同。在这里，对操作系统15-144、应用程序15-145、其他程序模块15-146和程序数据15-147给出不同的标号以在最低限度上示出其为不同的副本。用户可通过输入装置，如键盘15-162和指示装置15-161，其通常被称为鼠标、轨迹球或触摸板将命令和信息输入计算机15-110中。其他输入装置(未示出)可包括麦克风、操纵杆、游戏手柄、碟形卫星天线、扫描仪等。这些和其它输入装置通常通过被耦合至系统总线的用户输入接口15-160被连接至处理单元15-120，但也可通过其他接口和总线结构，如并行端口、游戏端口或通用串行总线(USB)进行连接。监视器15-191或其他类型的显示装置也经接口，如视频接口15-190被连接至系统总线15-121。除了监视器外，计算机还可包括其他外围输出装置，如扬声器15-197和打印机15-196，其可通过一个输出外围接口15-195相连。

[0483] 计算机15-110可在使用至一个或多个远程计算机，如远程计算机15-180的逻辑连接的联网环境中进行操作。远程计算机15-180可以是个人计算机、服务器、路由器、网络PC、对等装置或其他常用网络节点且通常包括上面关于计算机15-110所述的许多或所有元件，然而在图15-1中仅示出了一个存储器存储装置15-181。在图15-1中所示的逻辑连接包括局域网(LAN)15-171和广域网(WAN)15-173，但也可以包括其他网络。这样的联网环境常见于办公室、企业范围的计算机网络、内联网和互联网中。

[0484] 当用于LAN联网环境中时，计算机15-110通过网络接口或适配器15-170被连接至LAN 15-171。当用于WAN联网环境中时，计算机15-110通常包括调制解调器15-172或其它用于在WAN 15-173，如互联网上建立通信的工具。可以是内置或外置的调制解调器15-172可经用户输入接口15-160或其他适当的机构被连接至系统总线15-121。在联网环境中，关于计算机15-110或其部分描述的程序模块可被存储在远程存储器存储装置中。通过示例而非限制的方式，图15-1示出远程应用程序15-185，如驻留在存储器装置15-181上。将理解的是所示的网络连接是示例性的且可使用在计算机之间建立通信链路的其他工具。

[0485] VI.结论

[0486] 至此已描述了本发明的至少一个实施例的若干方面，但要理解的是，本领域的技术人员将很容易地想到各种变更、修改和改进。

[0487] 这种变更、修改和改进旨在成为本发明的一部分且旨在落在本发明的精神和范围之内。进一步地，虽然指出了本发明的优点，但应理解的是不是本发明的每个实施例均要包括每个所描述的优点。一些实施例可能并未实现如在本文和在一些情况下被描述为有利的任何特性。因此，前面的描述和附图仅用于示例。

[0488] 本发明的上述实施例可按多种方式中的任一方式进行实施。例如，实施例可使用硬件、软件或其组合而进行实施。当在软件中实施时，软件代码可在任何合适的处理器或处理器的集合上执行，其可以是在单个计算机或多个分布式计算机中进行提供的。这种处理

器可被实现为在集成电路组件中具有一个或多个处理器的集成电路，其包括在本领域中通过名称如CPU芯片、GPU芯片、微处理器、微控制器或协处理器而已知的可商购的集成电路组件。替代地，处理器可在定制电路，如ASIC或由配置可编程逻辑装置而产生的半定制电路中实现。作为进一步的替代方案，处理器可以是较大电路或半导体装置的一部分，其可以是可商购的、半定制或定制的。作为一个特定实例，一些可商购的微处理器具有多个内核，从而使这些内核中的一个或子集可构成处理器。然而，处理器可使用采用任何适当格式的电路而实现。

[0489] 进一步地，应理解的是计算机可按多个形式如机架式计算机、台式计算机、膝上型计算机或平板计算机中的任一个进行具体化。额外地，计算机可被嵌入通常不被认为是计算机但却具有适当的处理能力的装置，包括个人数字助理(PDA)、智能电话或任何其他合适的便携式或固定式电子装置中。

[0490] 此外，计算机可具有一个或多个输入和输出装置。此外，这些装置可被用于表示用户界面。可被用于提供用户界面的输出装置的实例包括用于输出的视觉表示的打印机或显示屏和用于输出的听觉表示的扬声器或其他声音生成装置。可被用于用户界面的输入装置的实例包括键盘和指示装置，如鼠标，触摸垫和数字化平板。作为另一个实例，计算机可通过语音识别或以其他可听的格式接收输入信息。

[0491] 这种计算机可通过采用任何适当形式的一个或多个网络，包括局域网或广域网，如企业网络或因特网而进行互连。这种网络可基于任何适当的技术且可根据任何适当的协议而进行操作且可包括无线网络、有线网络或光纤网络。

[0492] 此外，本文概述的各种方法或工艺可被编码成可在采用多种操作系统或平台中的任一个的一个或多个处理器上进行执行的软件。额外地，这种软件可使用多个合适的编程语言和/或编程或脚本工具中的任一个进行写入且还可被编译为在框架或虚拟机上执行的可执行机器语言代码或中间代码。

[0493] 在这个方面，本发明可被具体化为计算机可读存储介质(或多个计算机可读介质)(例如，计算机存储器、一个或多个软盘、压缩盘(CD)、光盘、数字视频盘(DVD)、磁带、闪速存储器、在现场可编程门阵列中的电路配置或其他半导体装置或其他有形计算机存储介质)，其是用一个或多个程序进行编码的，当在一个或多个计算机或其他处理器上执行时，该程序进行了执行上面所讨论的本发明的各种实施例的方法。如从上面的实例可明显看出的，计算机可读存储介质可在足够长的时间内保留信息以按非短暂性形式提供计算机可读指令。这种计算机可读存储介质可以是可传输的，从而使存储在其上面的程序可被加载至一个或多个不同的计算机或其他处理器上以执行如上面所讨论的本发明的各种方面。如本文所使用的，术语“计算机可读存储介质”仅包含了可被认为是制造品(即，制造出的产品)或机器的计算机可读介质。替代地或额外地，本发明可被具体化为除了计算机可读存储介质以外的计算机可读介质，如传播信号。

[0494] 术语“程序”或“软件”在本文中是按一般的意义使用的以指代任何类型的计算机代码或计算机可执行指令组，其可被用于对计算机或其他处理器进行编程以执行如上面所讨论的本发明的各种方面。额外地，应理解的是根据该实施例的一个方面，当被执行时进行本发明的方法的一个或多个计算机程序不需要存在于单个计算机或处理器上，但却可按模块化的方式分布在多个不同的计算机或处理器中以实现本发明的各个方面。

[0495] 计算机可执行指令可采用许多形式，如程序模块，其是通过一个或多个计算机或其他装置执行的。一般地，程序模块包括例程、程序、对象、组件、数据结构等，其进行特定任务并实施特定抽象数据类型。通常，在各种实施例中，程序模块的功能可按需要进行组合或分布。

[0496] 此外，数据结构可被存储在采用任何适当形式的计算机可读介质中。为了实现说明的简单性，数据结构可被示为具有为数据结构中的相关直通位置的字段。这种关系可同样通过对在计算机可读介质中具有位置的字段分配存储，该计算机可读介质传达在字段之间的关系。然而，任何适当的机构均可被用于在数据结构的字段中的信息之间建立关系，包括通过使用在数据元件之间建立关系的指针、标记或其他机构。

[0497] 本发明的各个方面可单独、组合地或按前述的实施例中未具体讨论的各种布置方式使用且因此不将其应用限制于在前面描述中阐明的或在附图中所示的组件的细节和布置。例如，在一个实施例中描述的各个方面可按任何方式与在其他实施例中所述的方面进行组合。

[0498] 此外，本发明还被具体化为一种方法，本文已提供了该方法的一个实例。作为本发明的一部分进行的动作可按任何合适的方式进行排序。因此，可构造按不同于所示顺序的顺序进行动作的实施例，其可以包括同时进行一些即使在所示的实施例中被示为连续动作的动作。

[0499] 在权利要求中使用序数术语，如“第一”、“第二”、“第三”等修饰要求保护的元素时，其本身并不表示所进行方法的动作的任何优先性、优先或一个要求保护的元素与另一个的顺序或时间顺序，而是仅用作标记以区别具有某个名称的一个所要求保护的元素与另一个具有相同名称的元素(如果不使用序数术语则无法进行区别)，从而区别所要求保护的元素。

[0500] 此外，本文所使用的措辞和术语用于描述且不应被认为是限制。使用“包括”、“包含”或“具有”、“含有”、“涉及”及其变型表示含有之后所列的项目及其等同物，以及额外的项目。

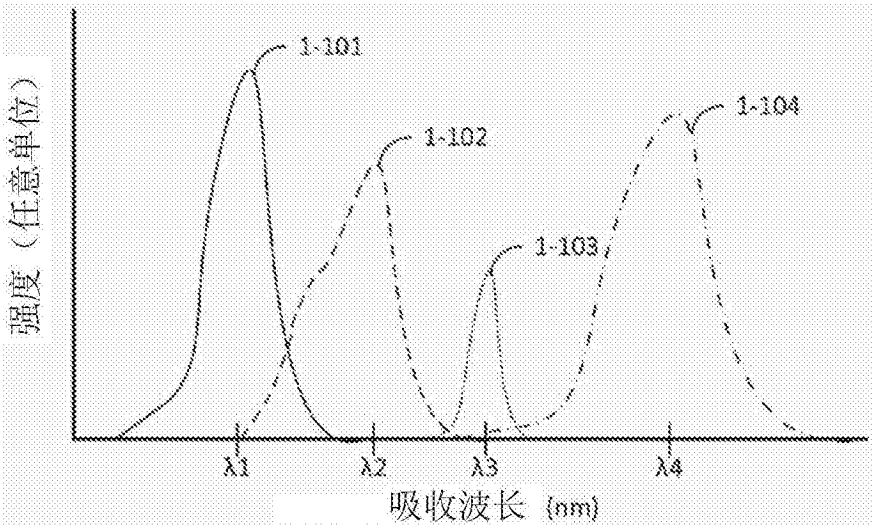
1-101
1-102
1-103
1-104
强度（任意单位）
λ1
λ2
λ3
λ4
吸收波长 (nm)

图1-1

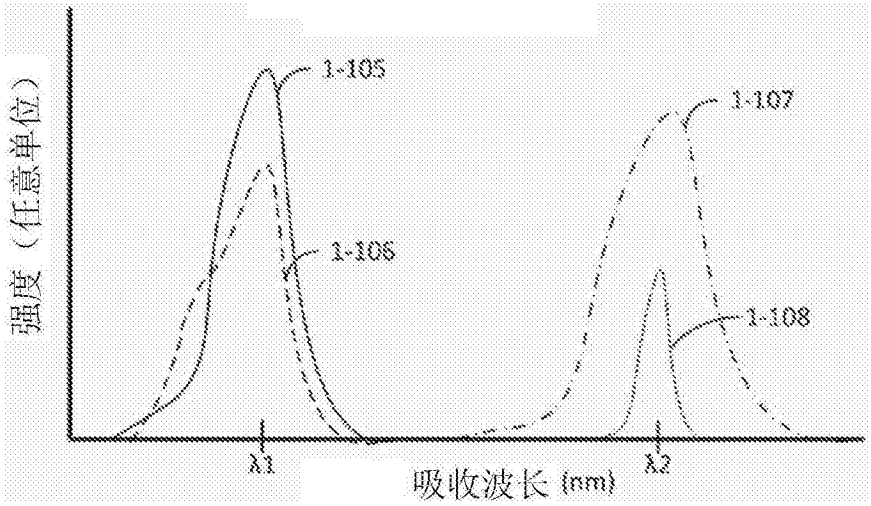
1-105
1-106
1-107
1-108
强度（任意单位）
λ1
λ2
吸收波长 (nm)

图1-2A

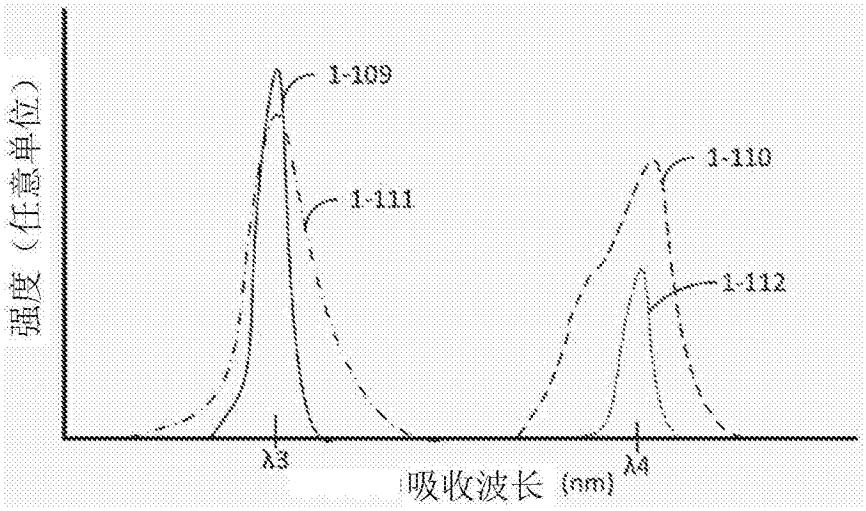
强度（任意单位）
1-109
1-111
1-110
1-112
λ3
λ4
吸收波长 (nm)

图1-2B

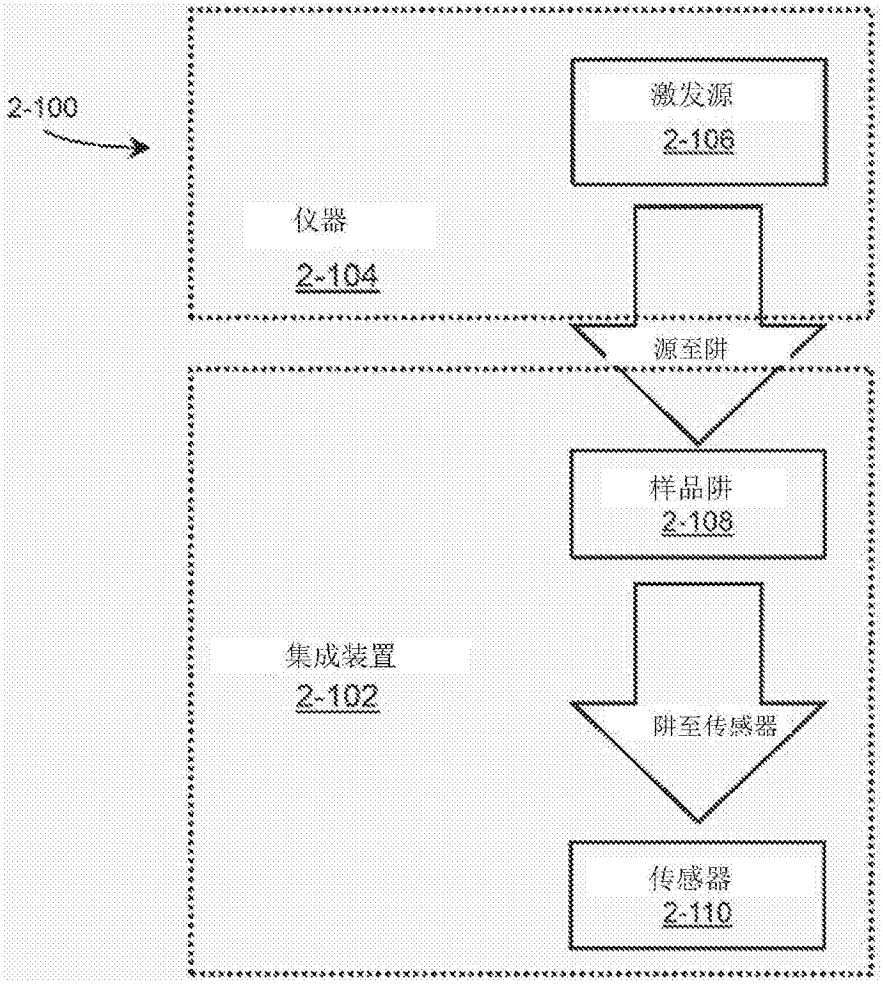
2-100
激发源
2-106
仪器
2-104
源至阱
样品阱
2-108
集成装置
2-102
阱至传感器
传感器
2-110

图2-1A

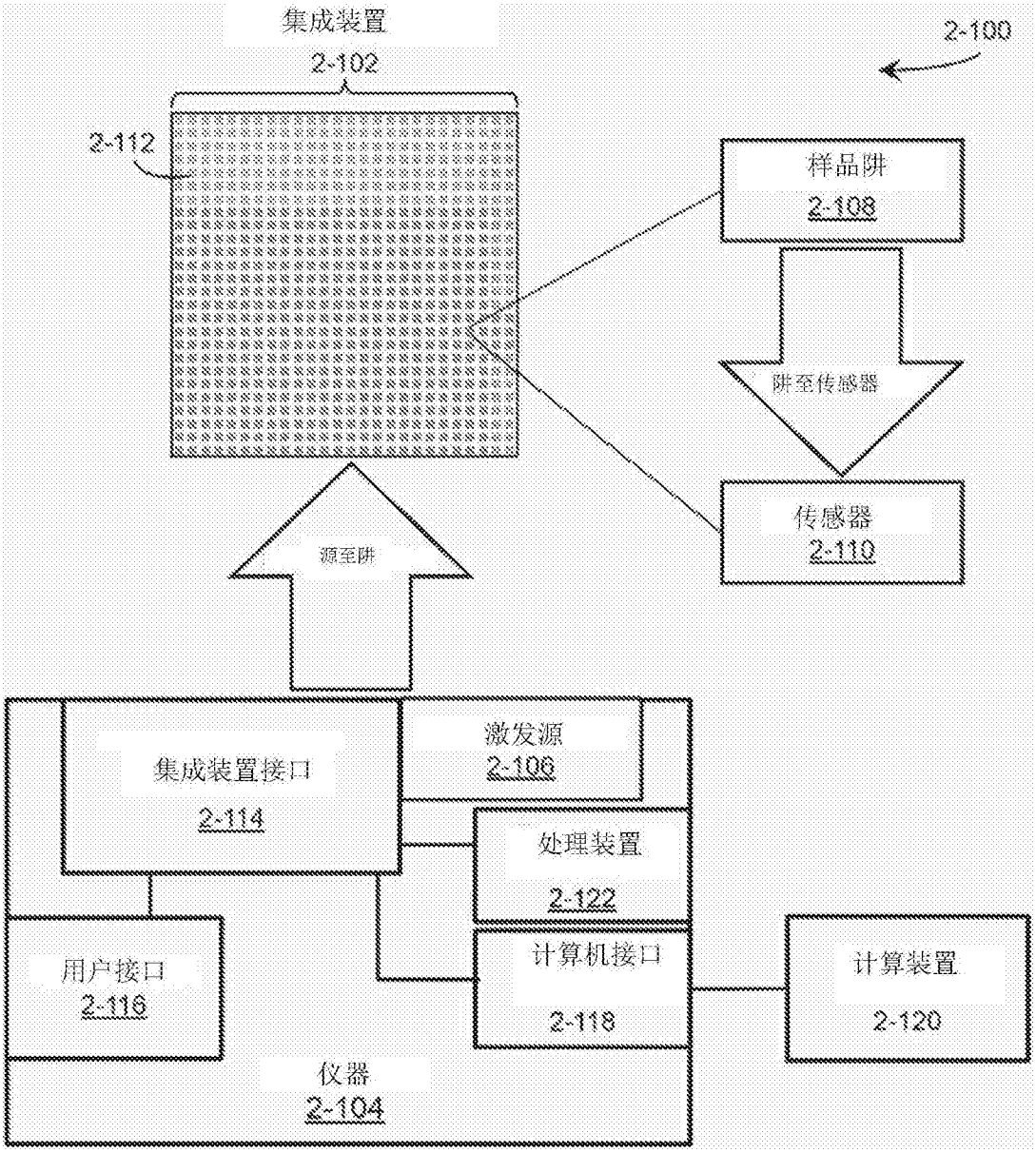
集成装置
2-102
2-100
2-112
样品阱
2-108
阱至传感器
传感器
2-110
源至阱
集成装置接口
2-114
激发源
2-106
处理装置
2-122
用户接口
2-116
计算机接口
2-118
计算装置
2-120
仪器
2-104

图2-1B

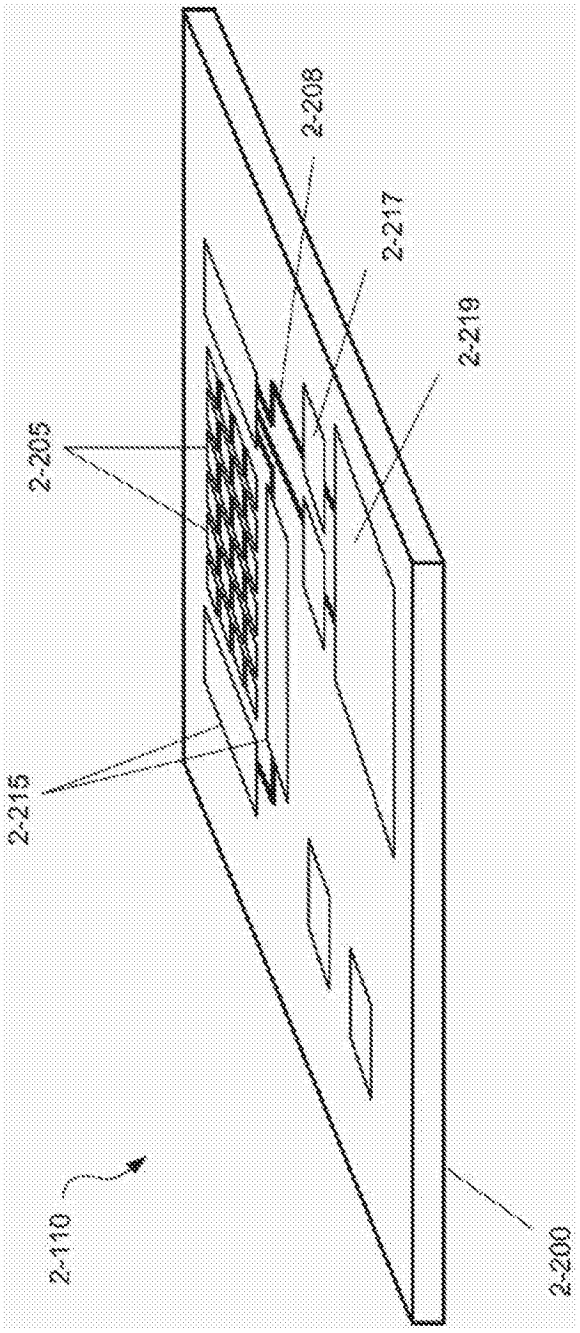

图2-2

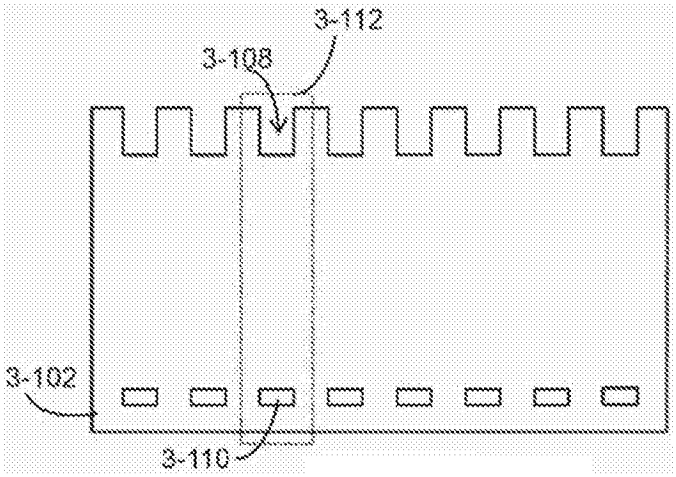

图3-1A

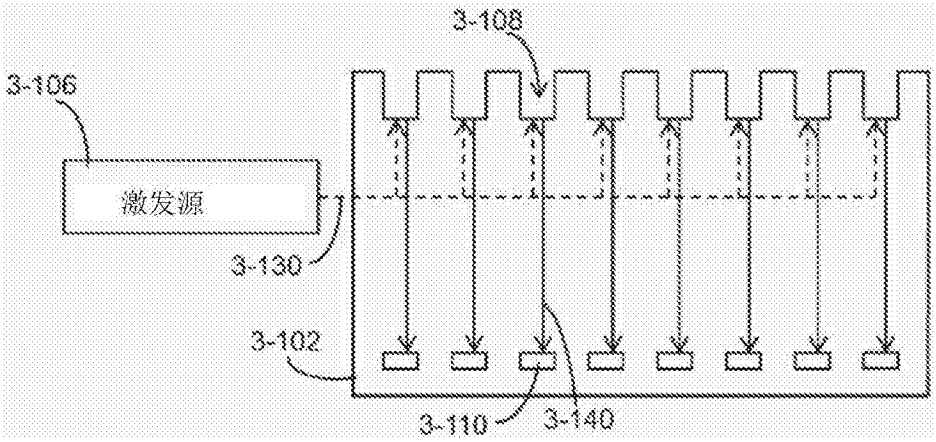

图3-1B

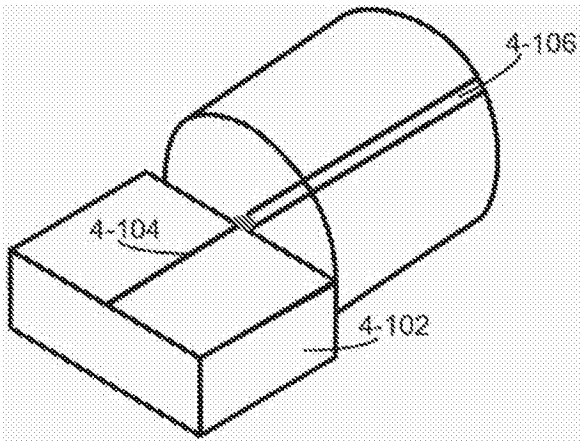

图4-1A

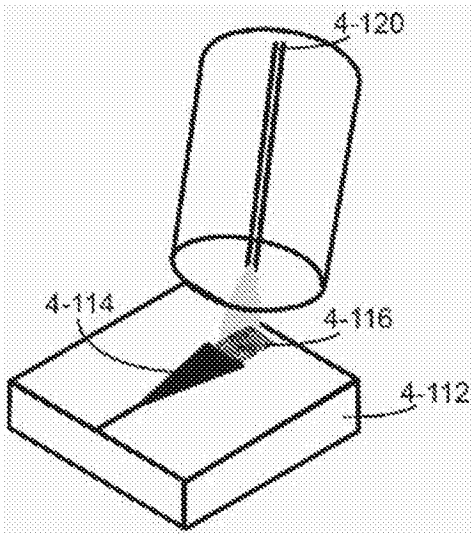

图4-1B

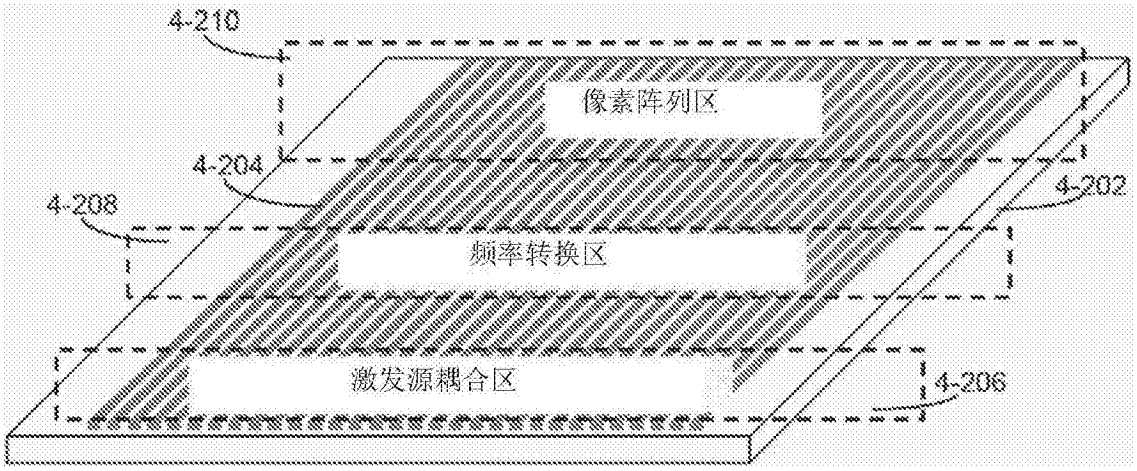

图4-2

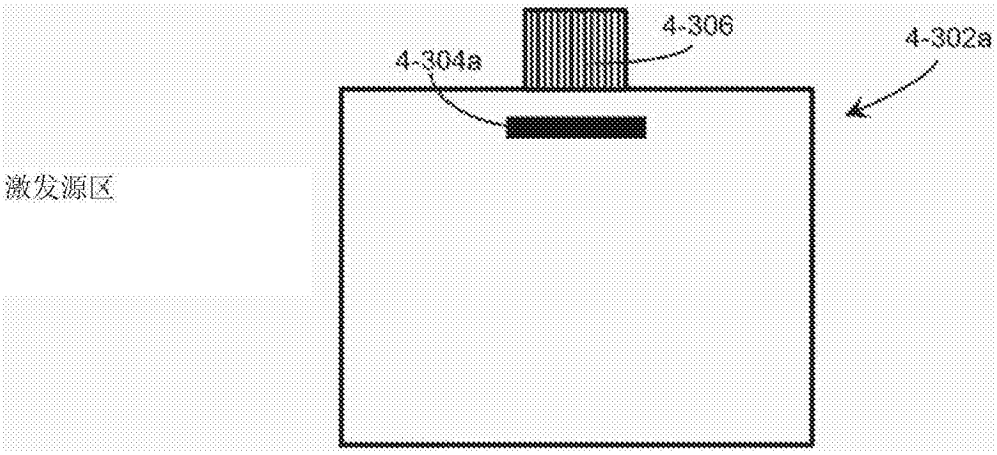

图4-3A

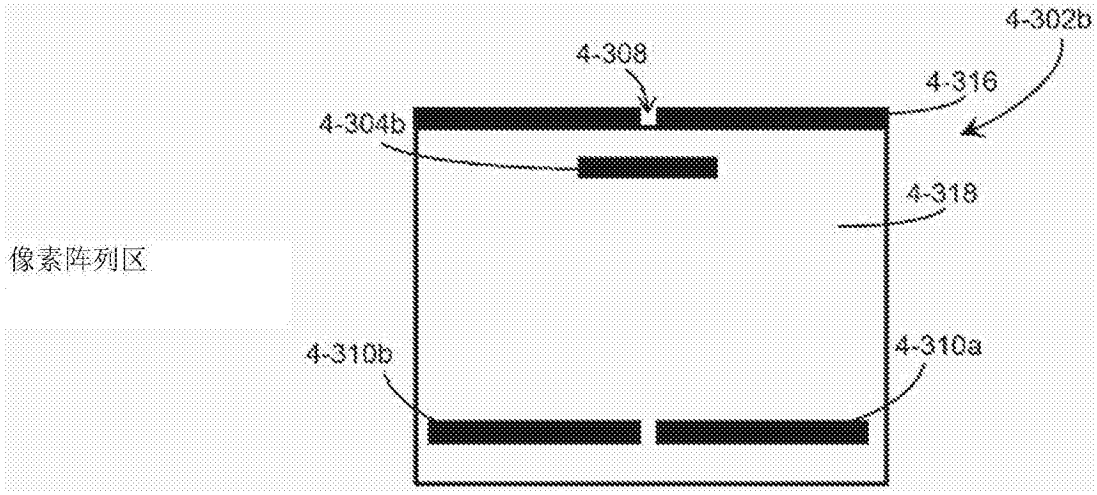

图4-3B

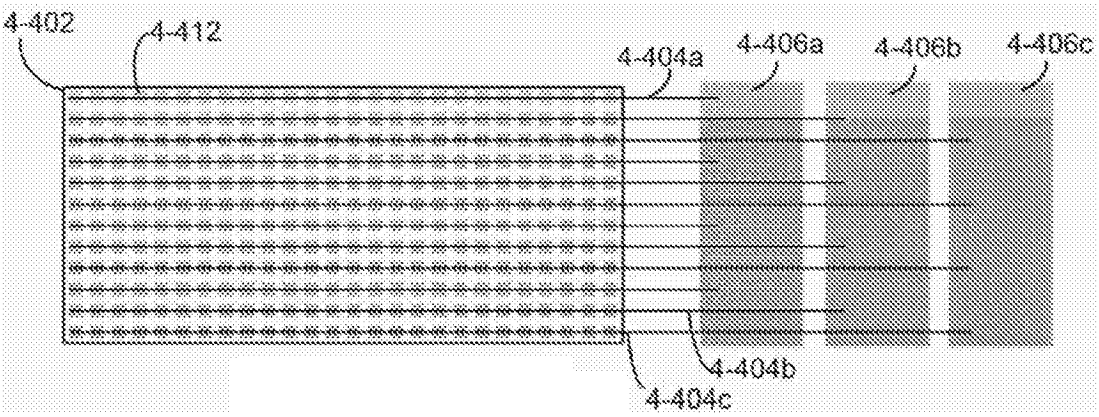

图4-4

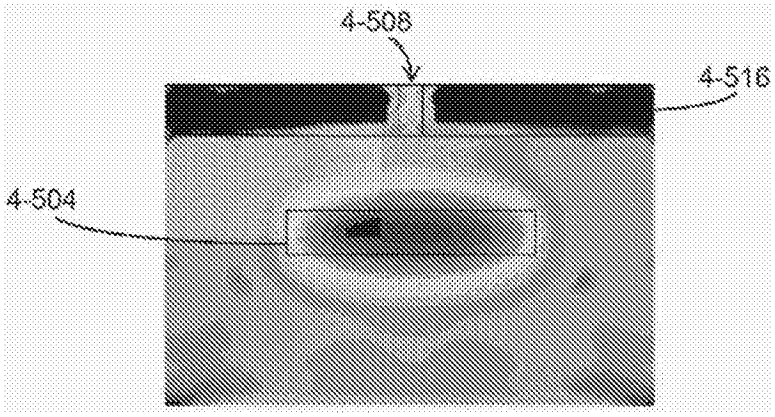

图4-5A

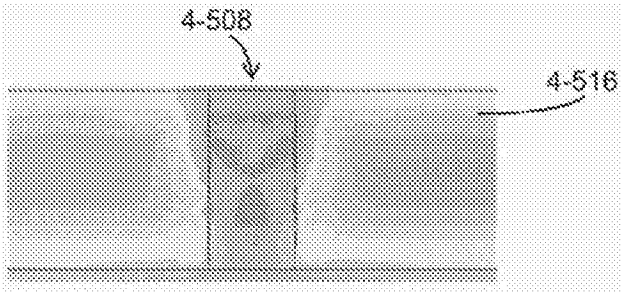

图4-5B

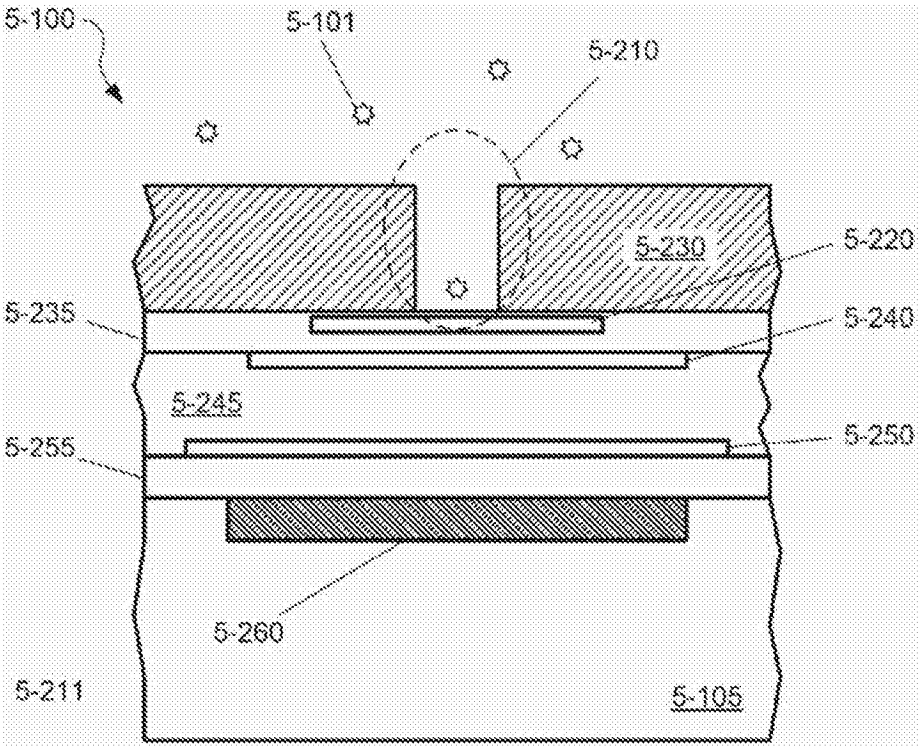
5-100
5-101
5-210
5-230
5-220
5-235
5-240
5-245
5-255
5-250
5-260
5-211
5-105

图5-1

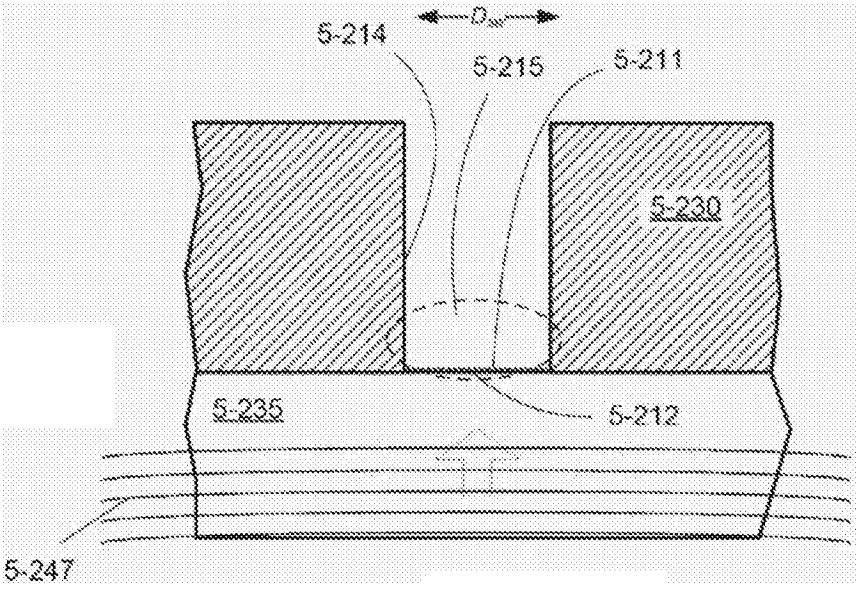
5-214
D_w
5-215
5-211
5-230
5-235
5-212
5-247

图5-2

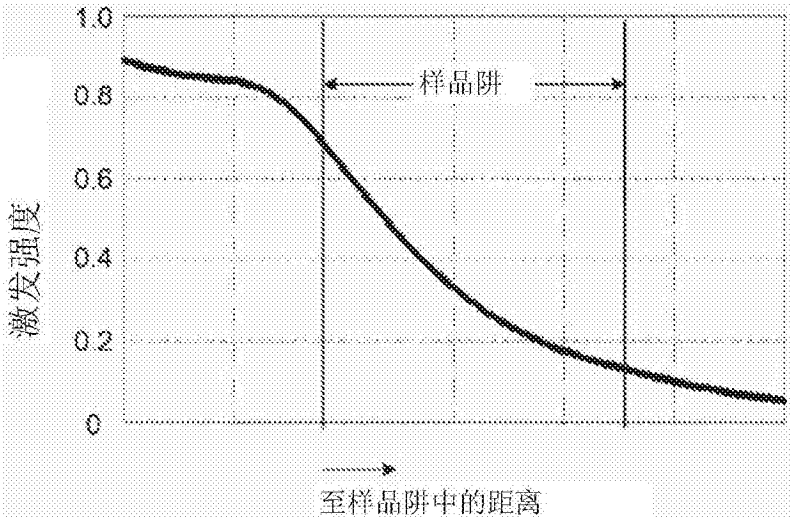
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
样品阱
激发强度
至样品阱中的距离

图5-3

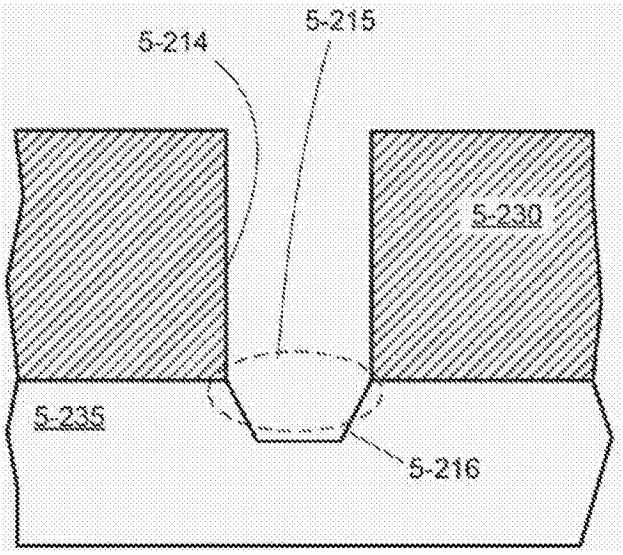
5-214
5-215
5-230
5-235
5-216

图5-4

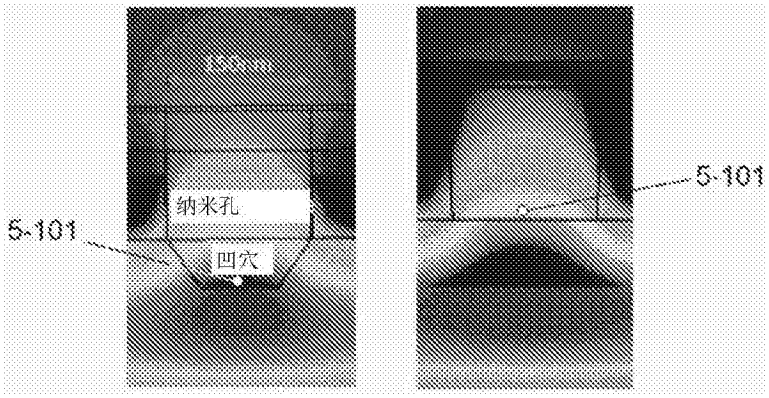
纳米孔
凹穴
5-101
5-101

图5-5

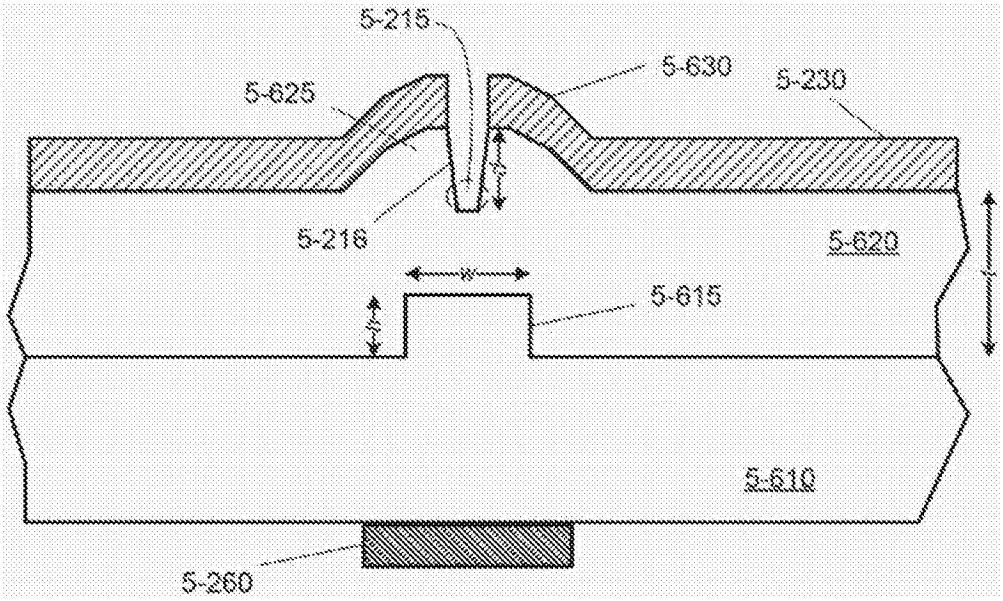

图5-6

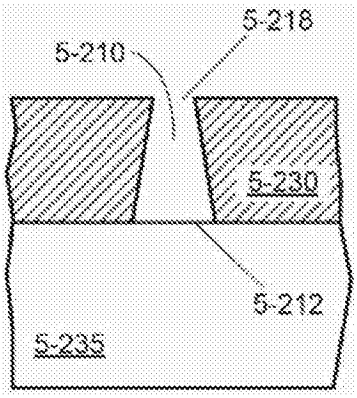

图5-7A

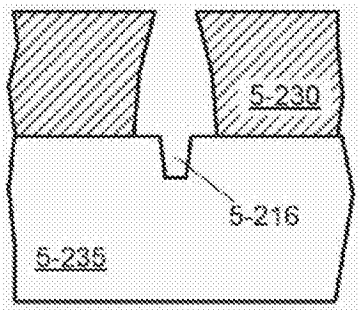

图5-7B

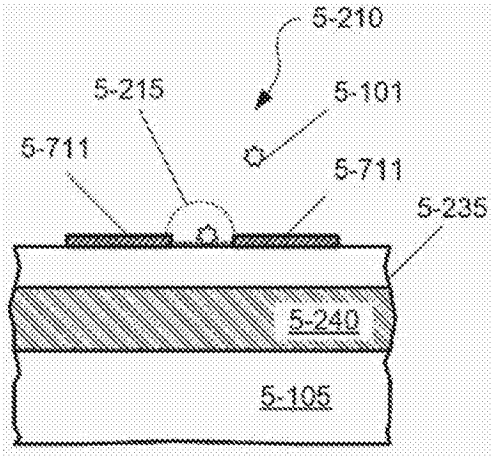

图5-7C

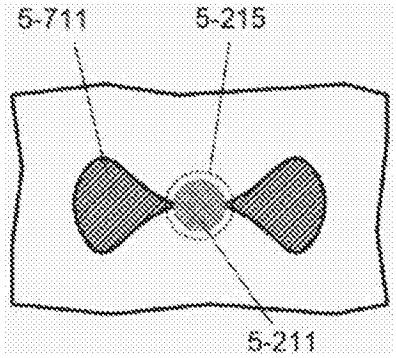

图5-7D

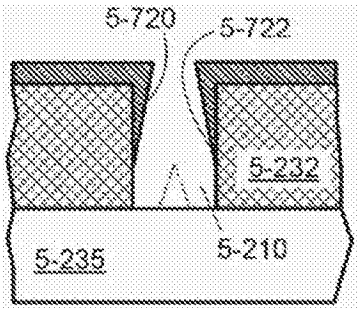

图5-7E

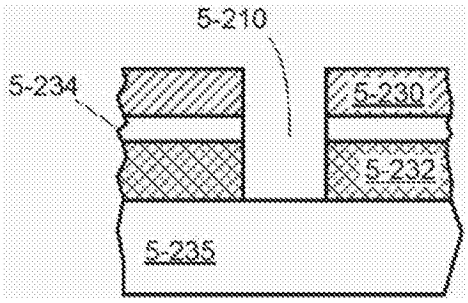

图5-7F

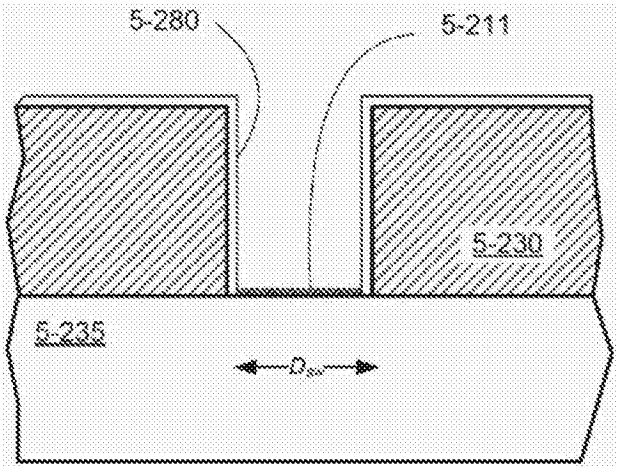

图5-8

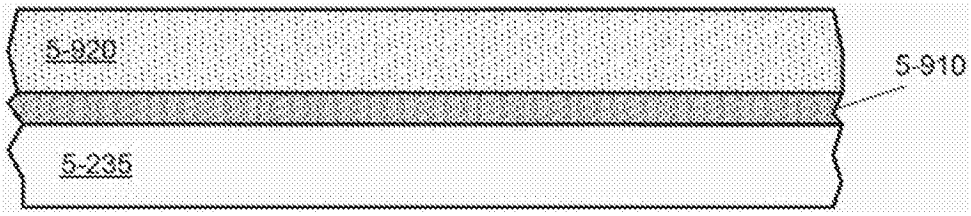

图5-9A

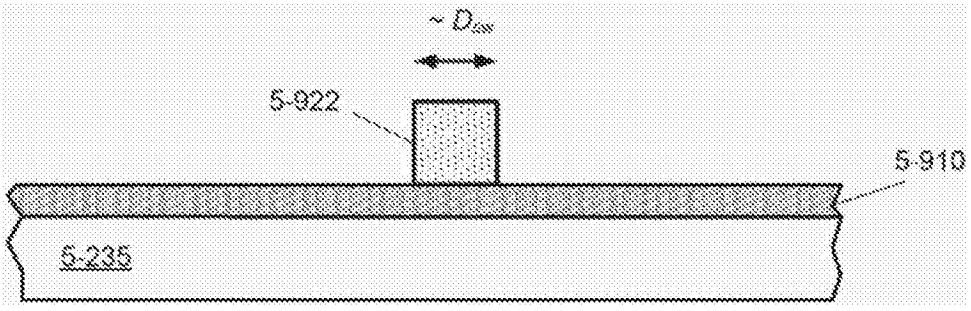

图5-9B

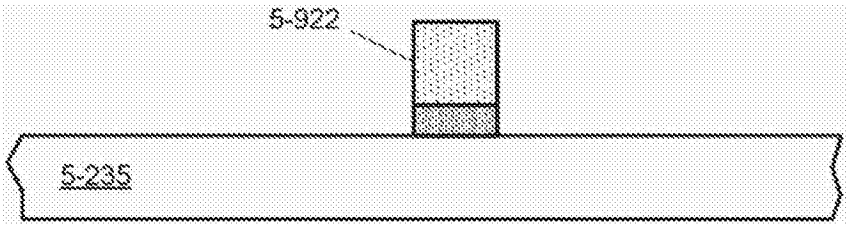

图5-9C

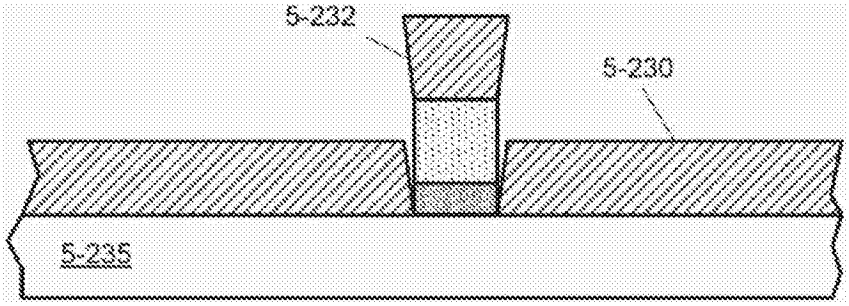

图5-9D

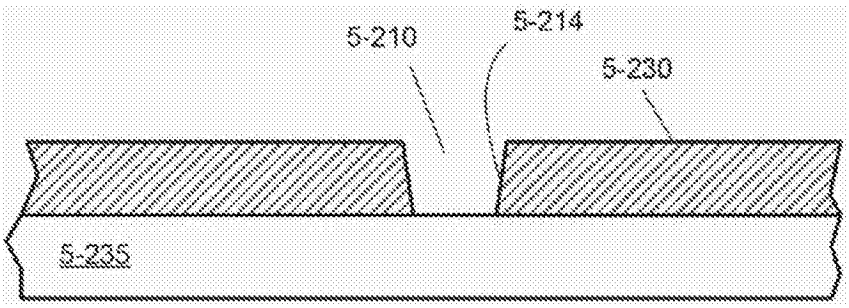

图5-9E

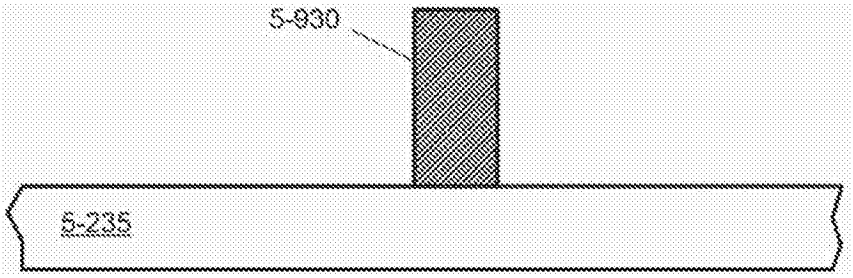

图5-9F

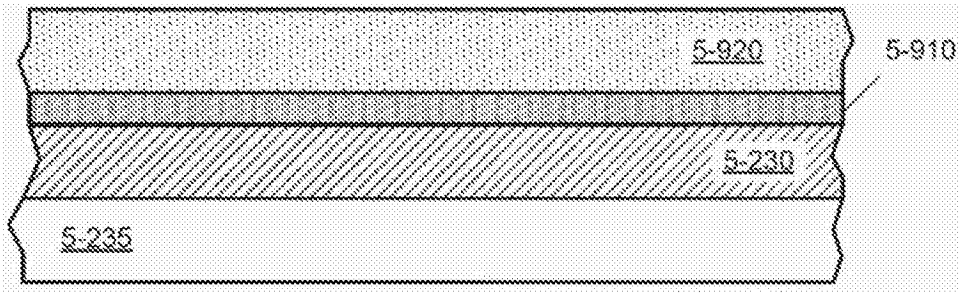

图5-10A

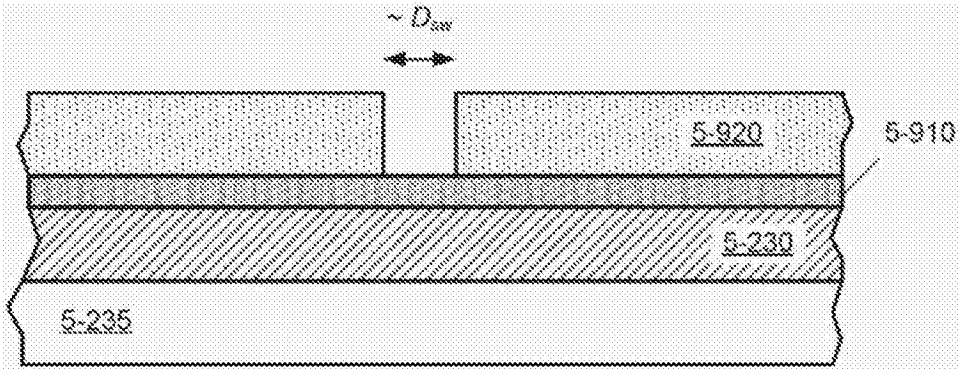

图5-10B

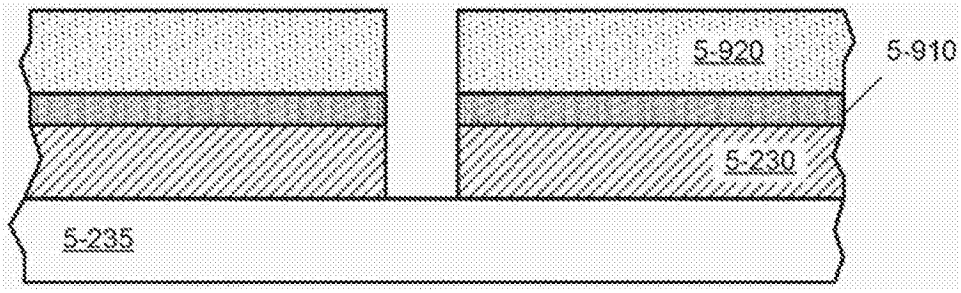

图5-10C

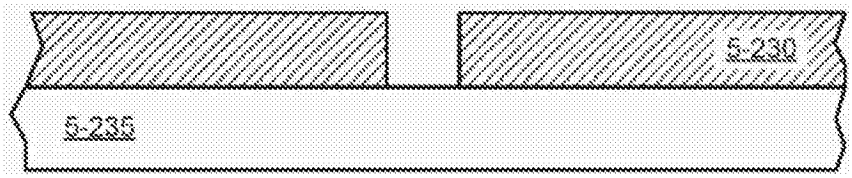

图5-10D

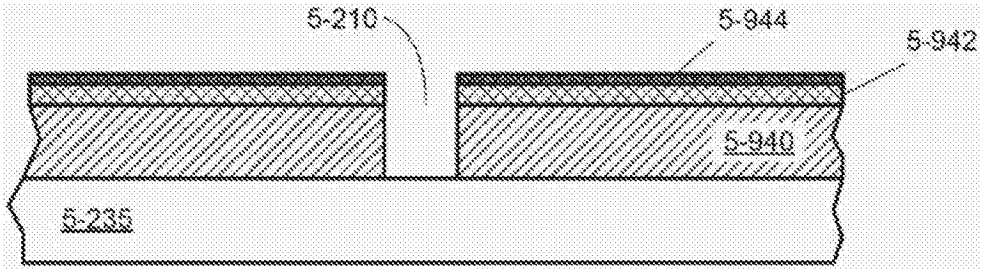

图5-11

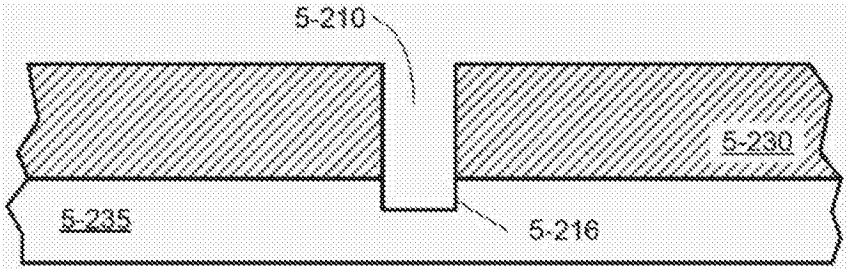

图5-12

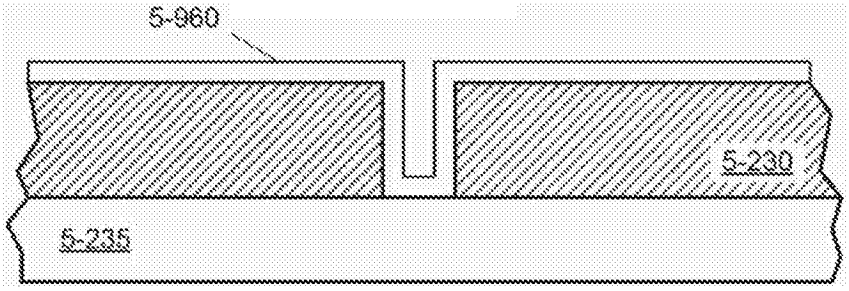

图5-13A

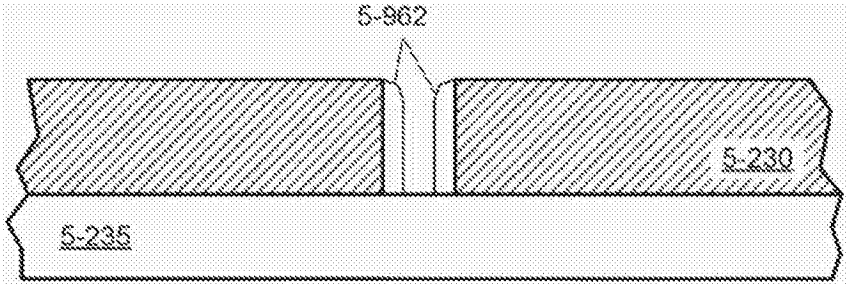

图5-13B

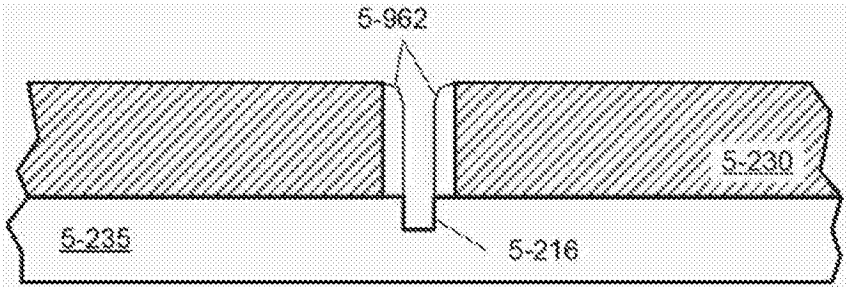

图5-13C

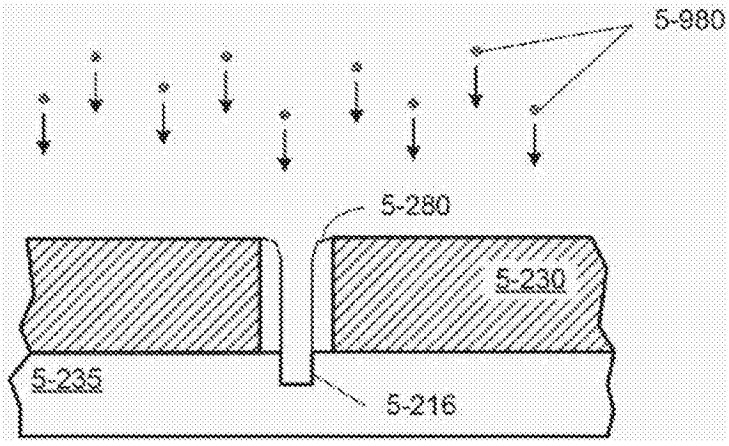

图5-14A

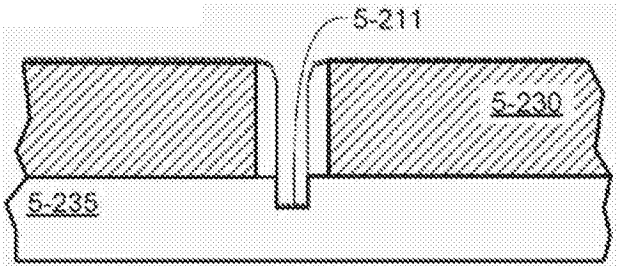

图5-14B

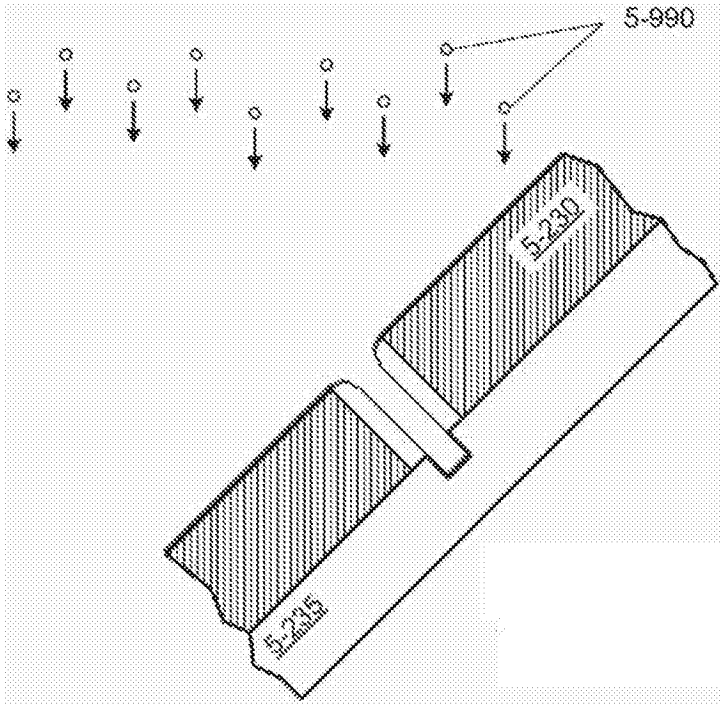

图5-14C

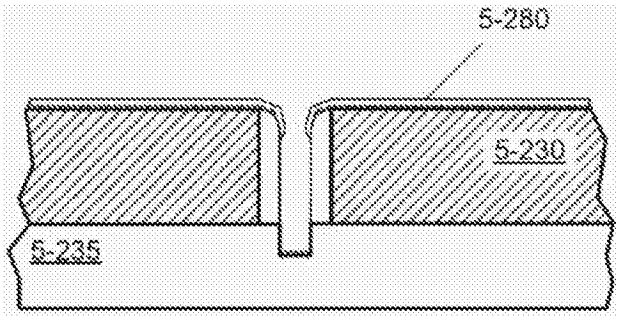

图5-14D

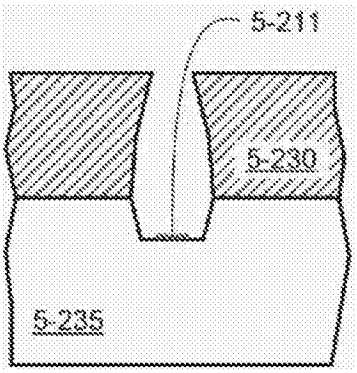

图5-15

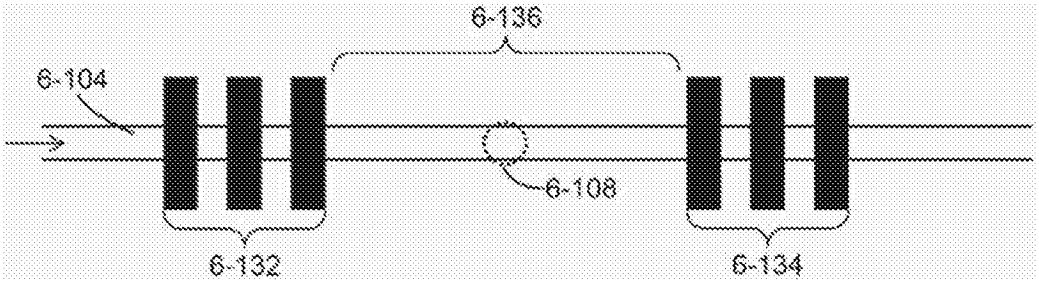

图6-1

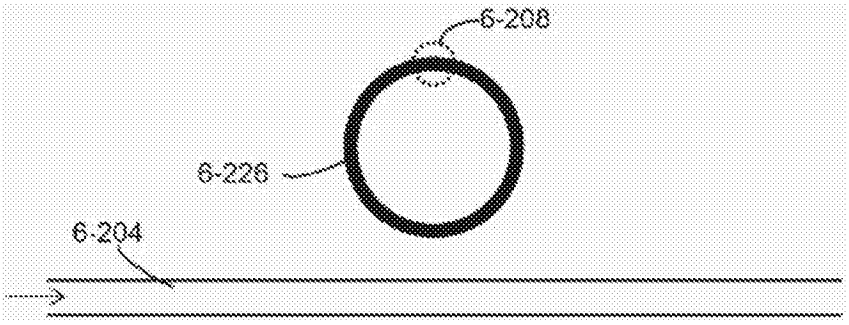

图6-2

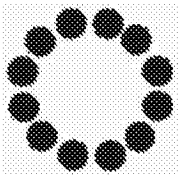

图6-3A

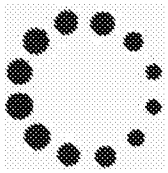

图6-3B

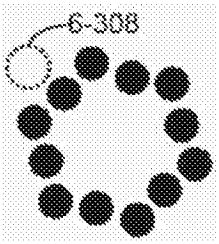

图6-3C

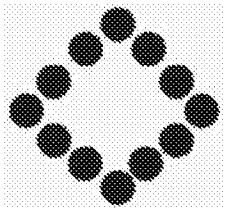

图6-3D

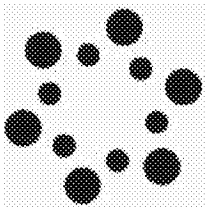

图6-3E

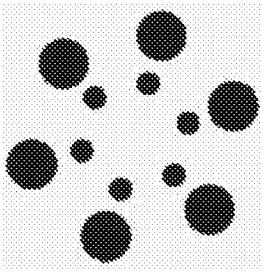

图6-3F

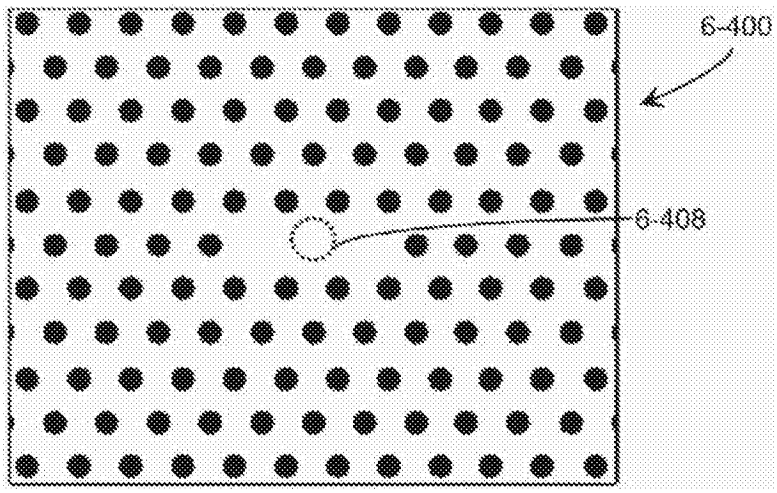

图6-4

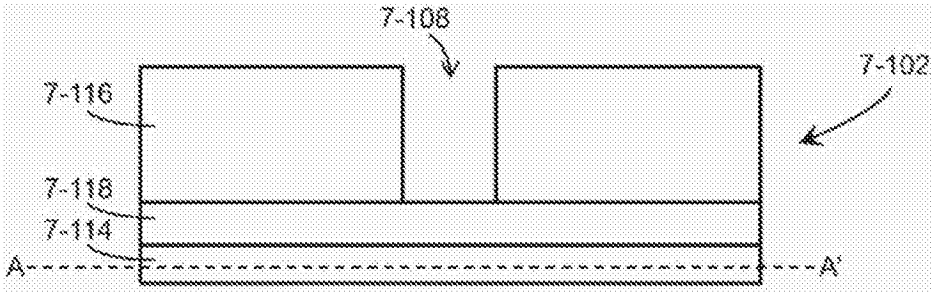

图7-1A

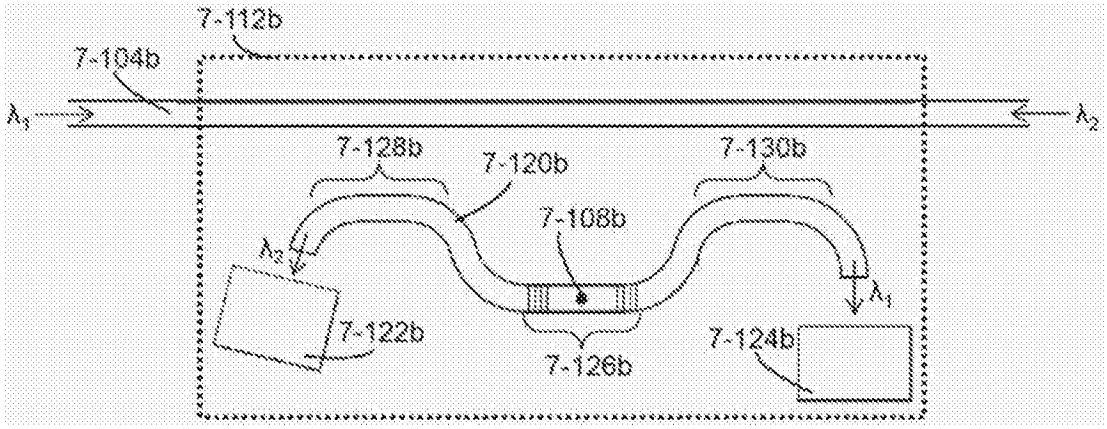

图7-1B

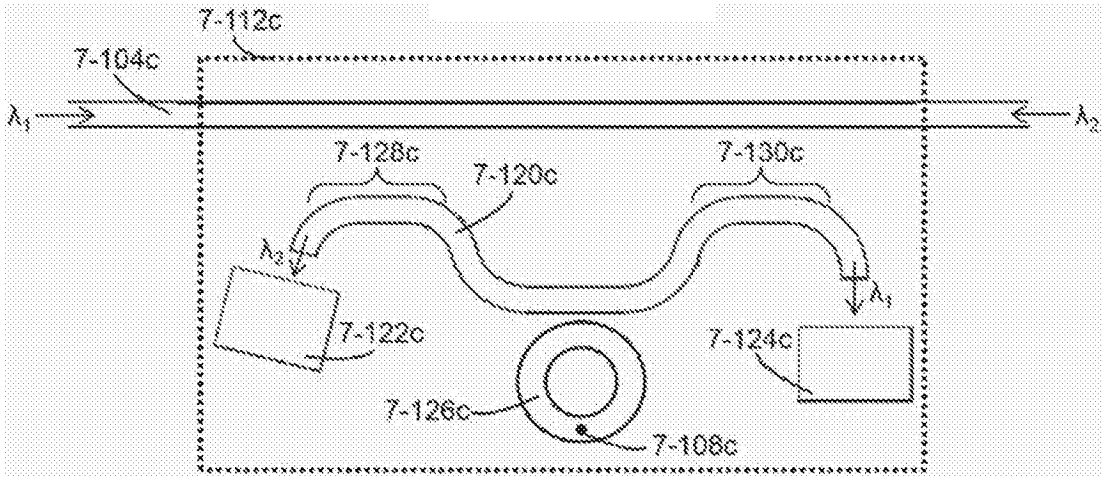

图7-1C

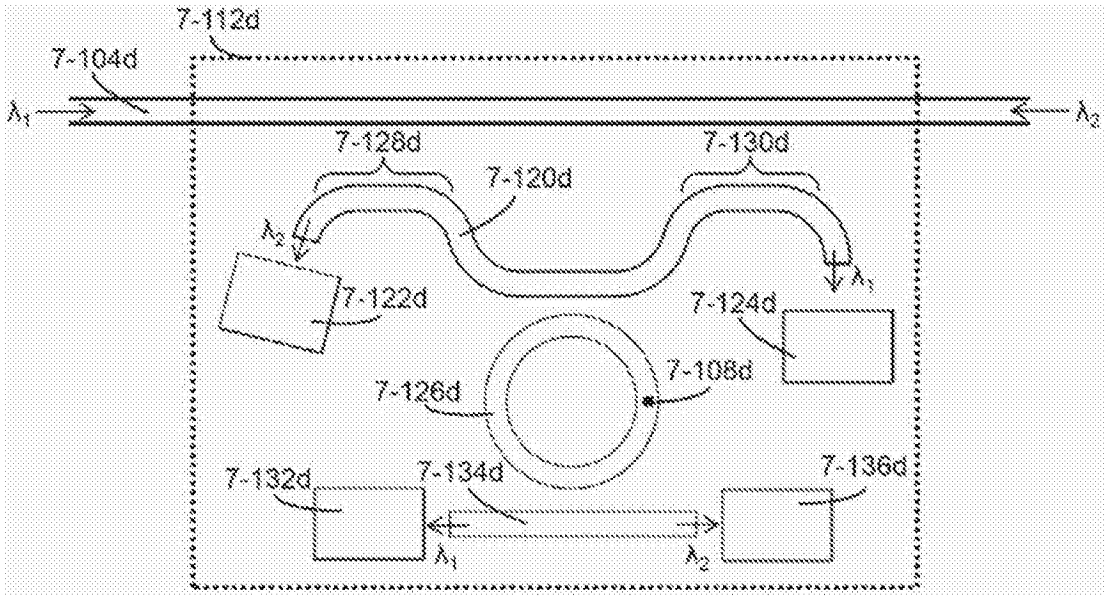

图7-1D

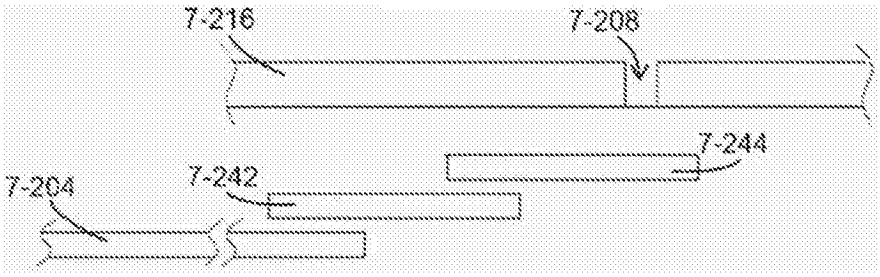

图7-2A

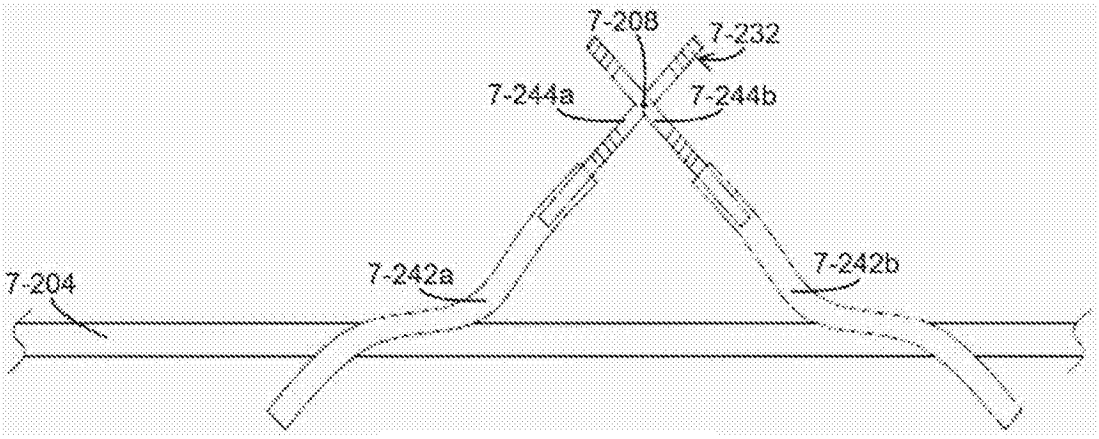

图7-2B

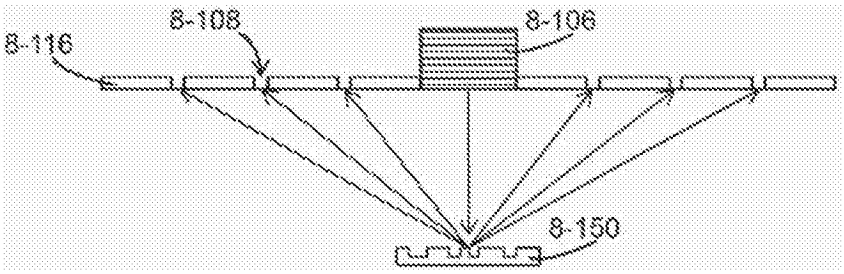

图8-1A

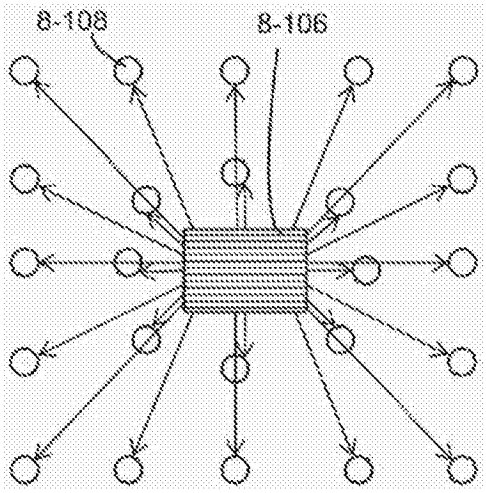

图8-1B

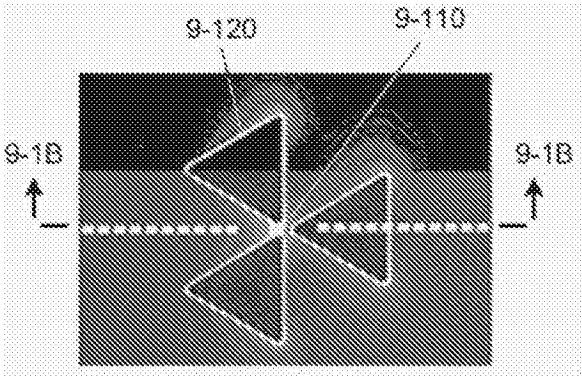

图 9-1A

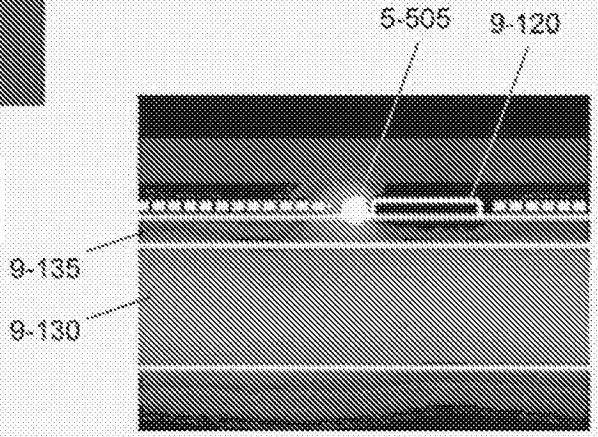

图 9-1B

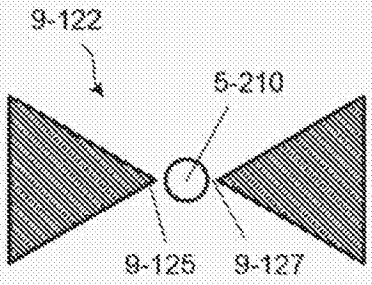

图 9-1C

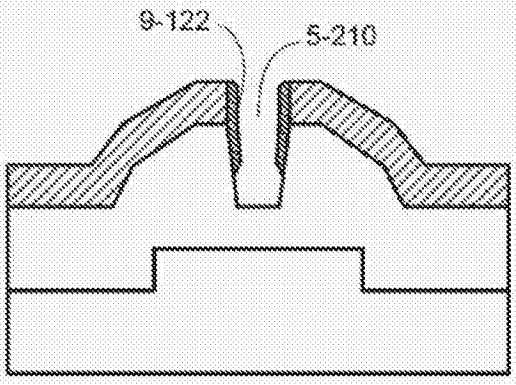

图 9-1D

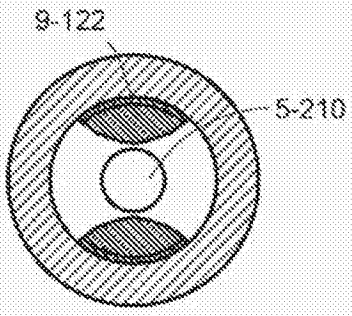

图 9-1E

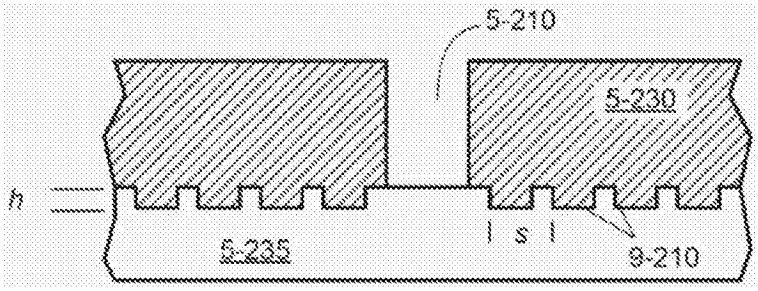

图9-2A

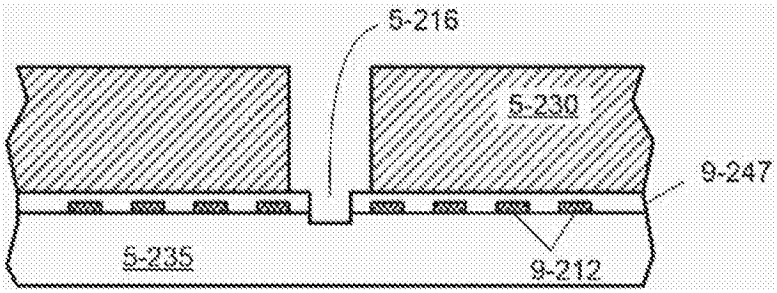

图9-2B

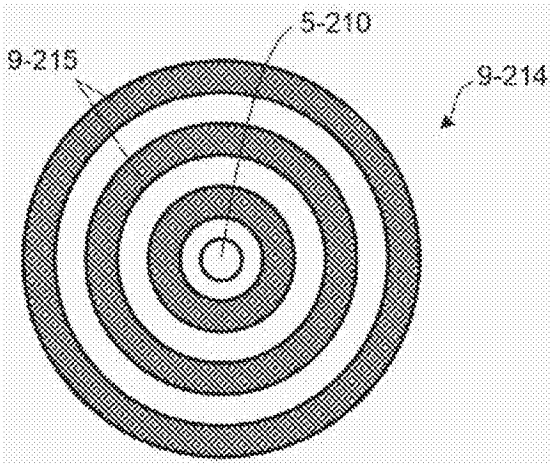

图9-2C

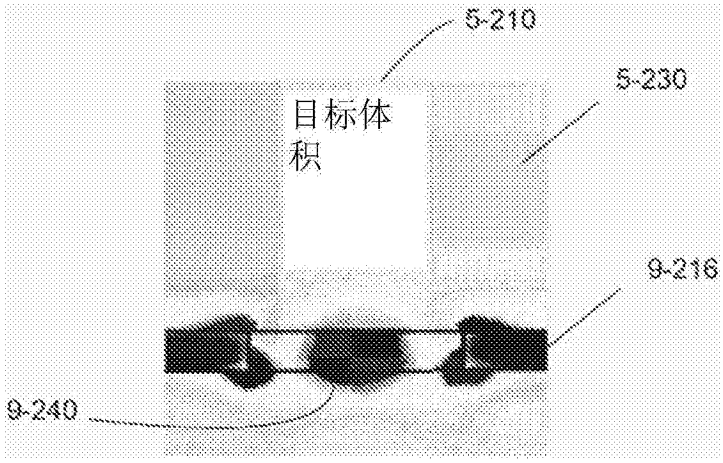

图9-2D

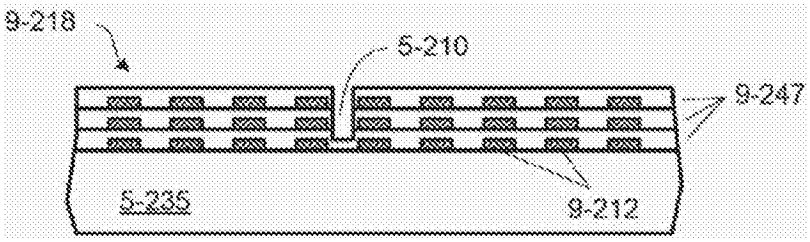

图9-2E

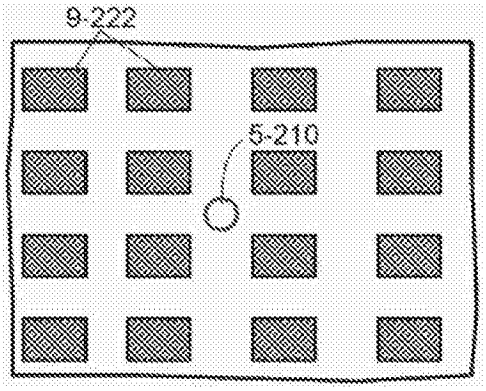

图9-2F

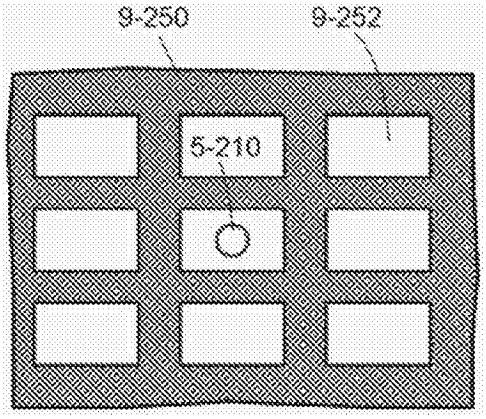

图9-2G

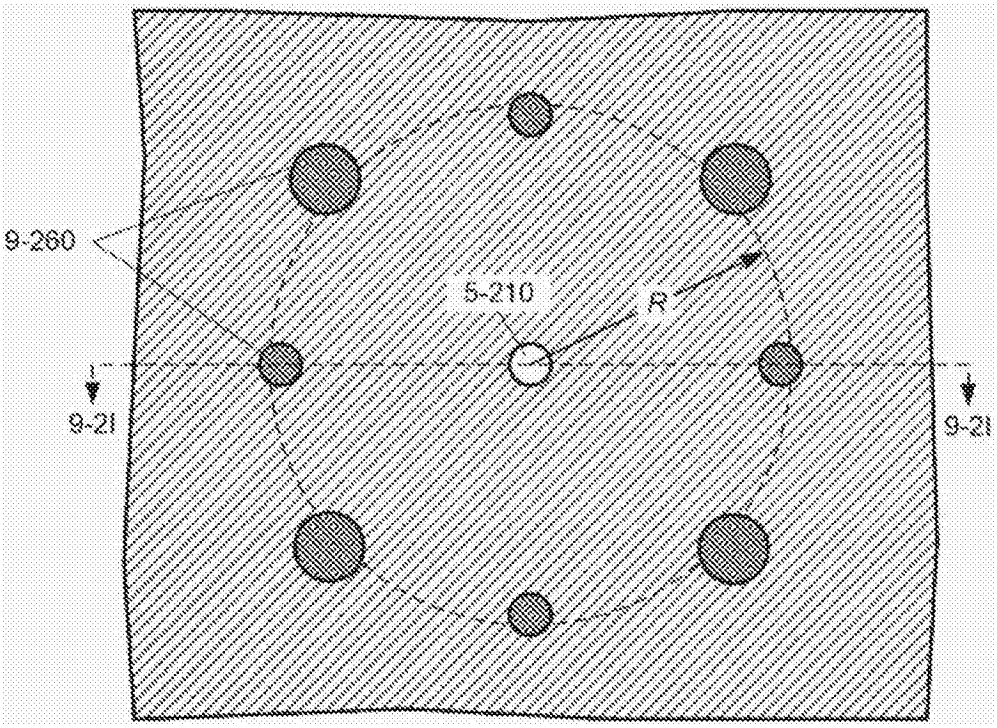

图9-2H

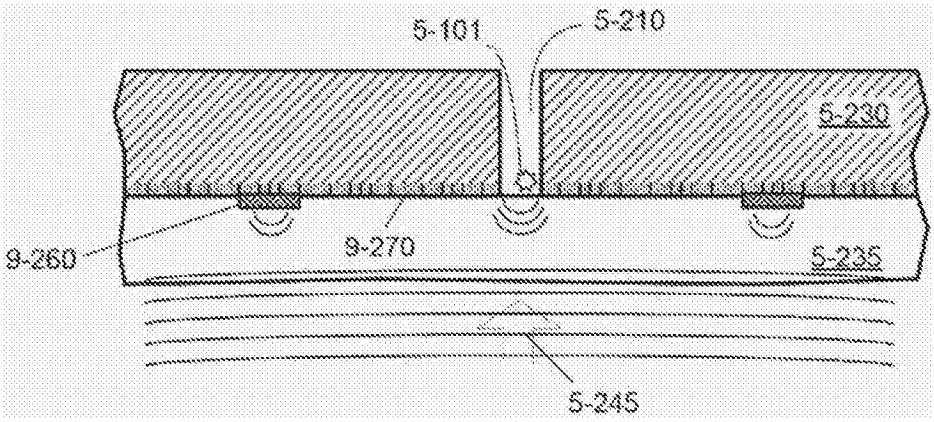

图9-2I

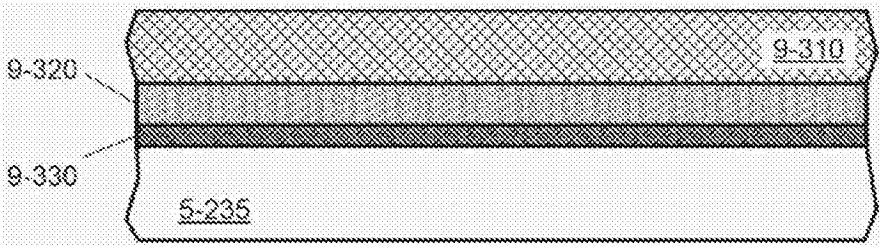

图9-3A

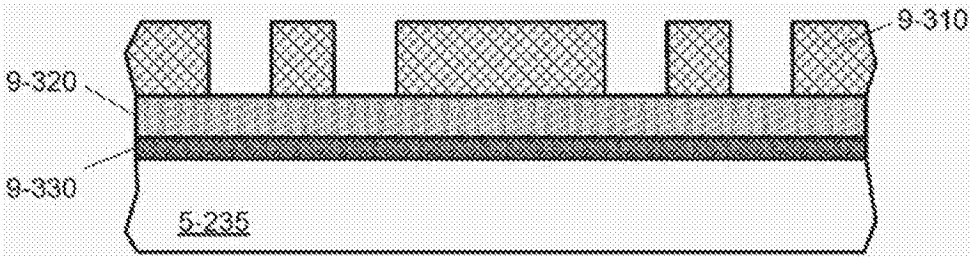

图9-3B

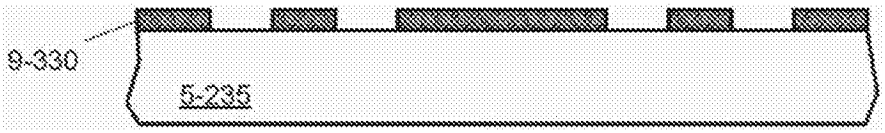

图9-3C

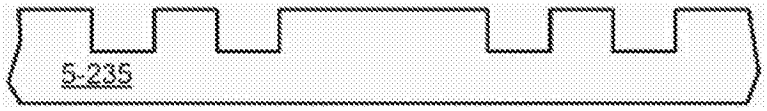

图9-3D

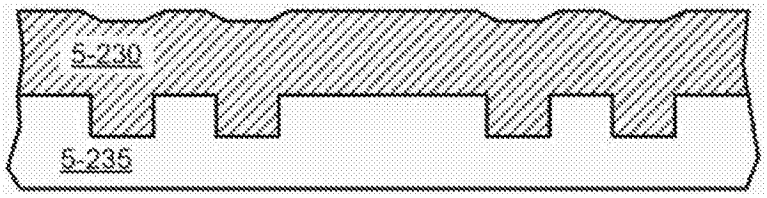

图9-3E

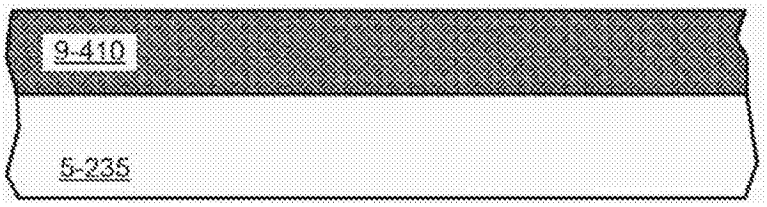

图9-4A

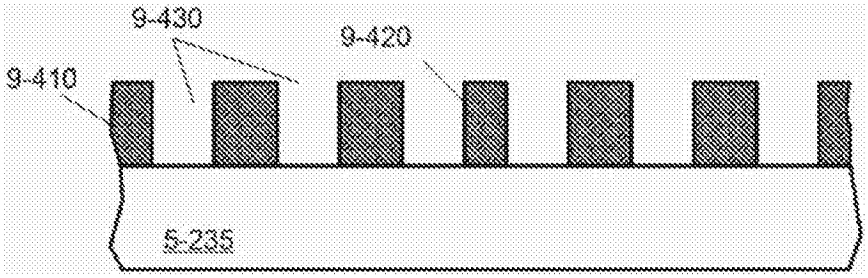

图9-4B

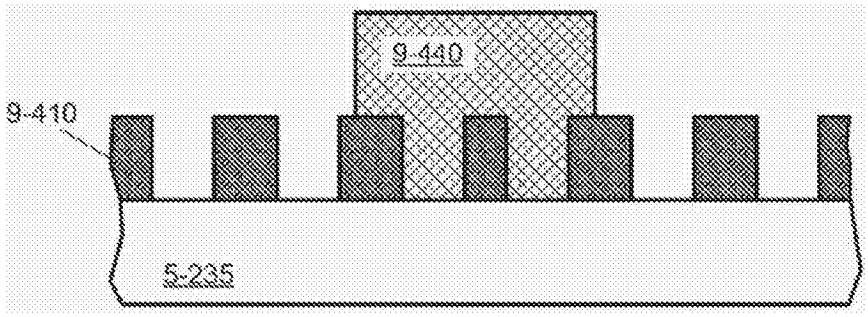

图9-4C

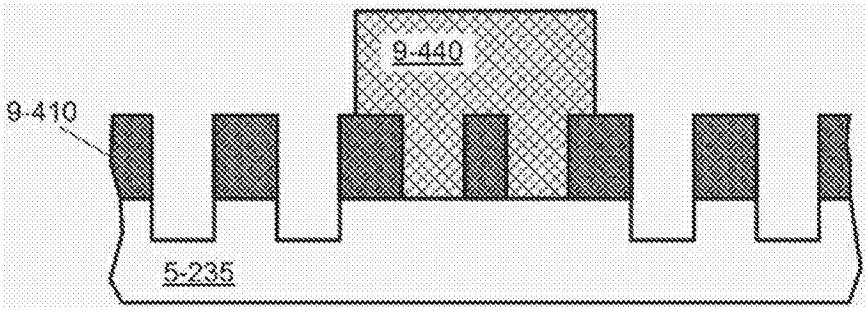

图9-4D

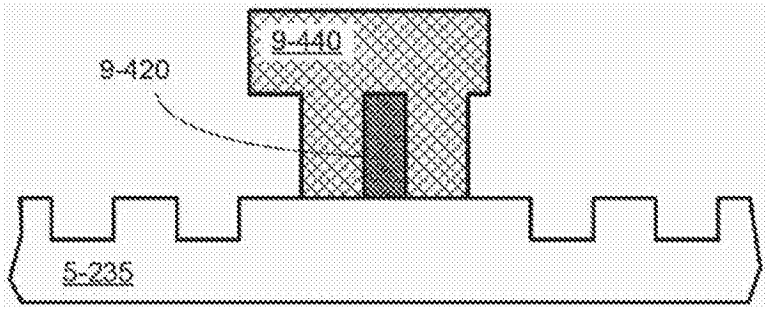

图9-4E

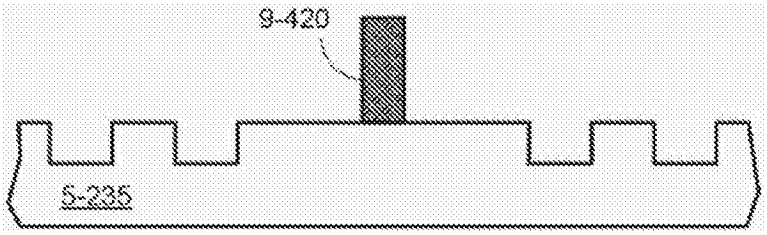

图9-4F

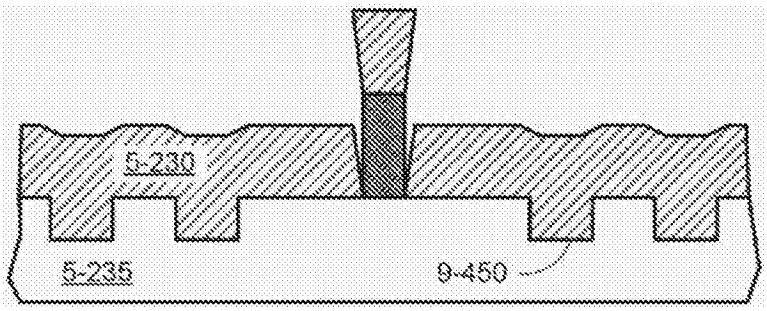

图9-4G

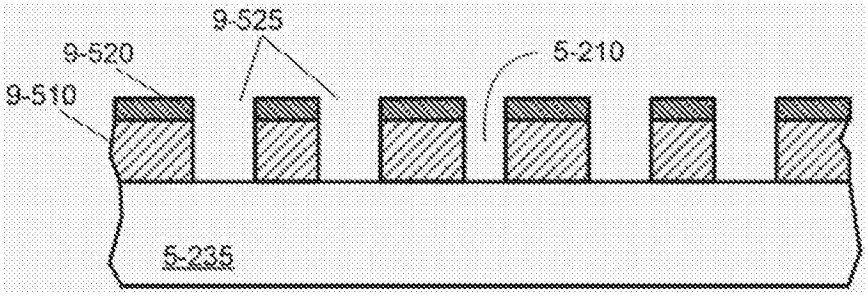

图9-5A

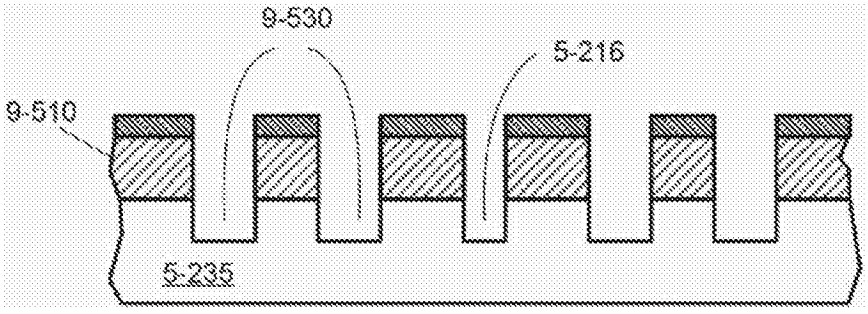

图9-5B

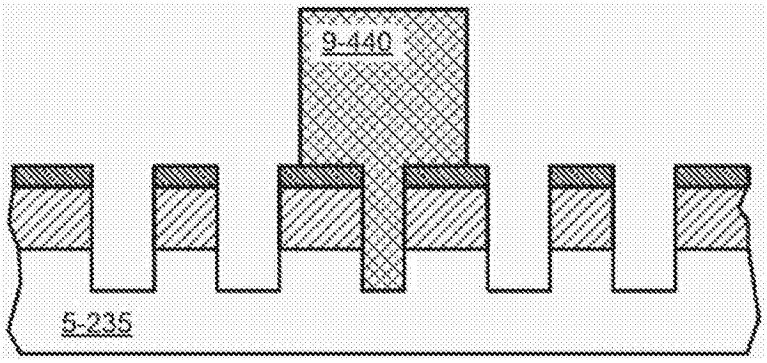

图9-5C

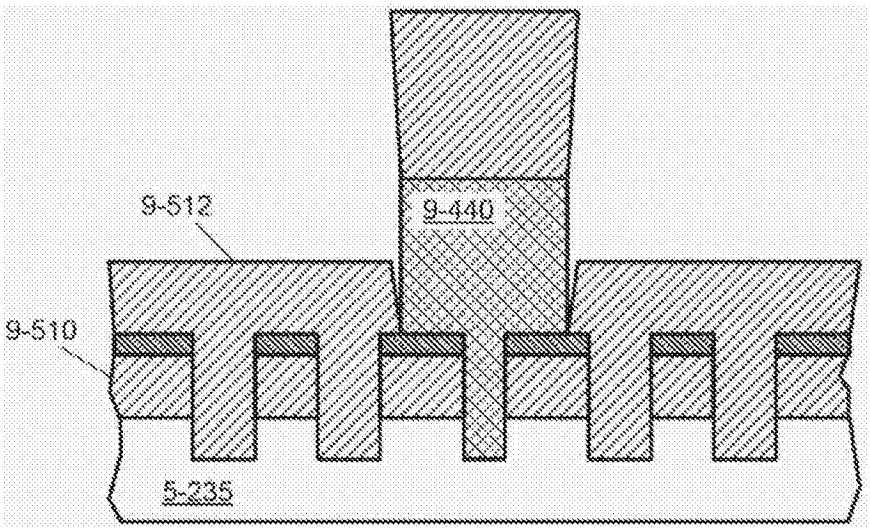

图9-5D

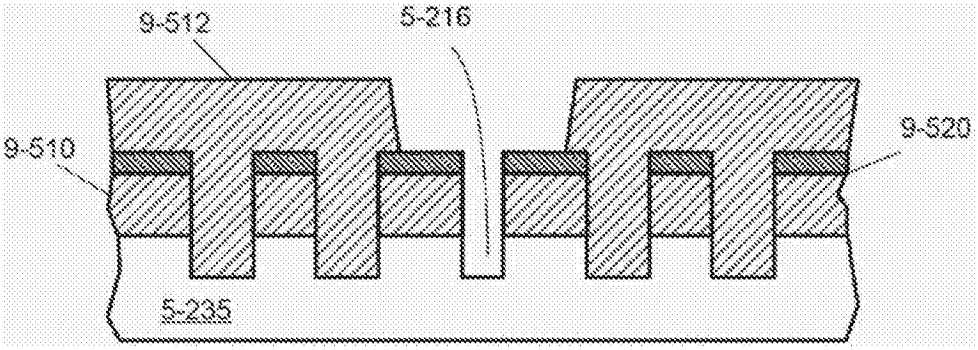

图9-5E

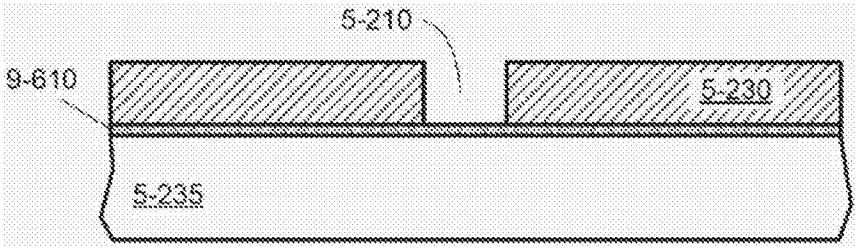

图9-6A

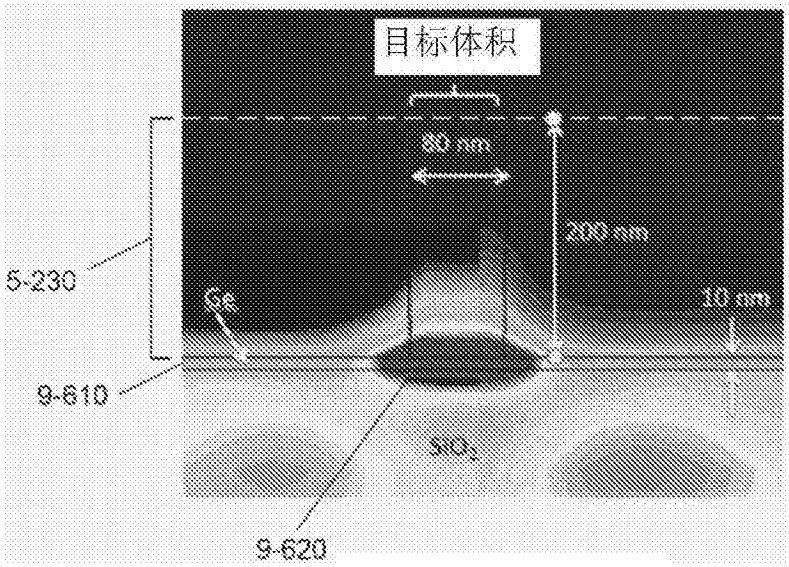

图9-6B

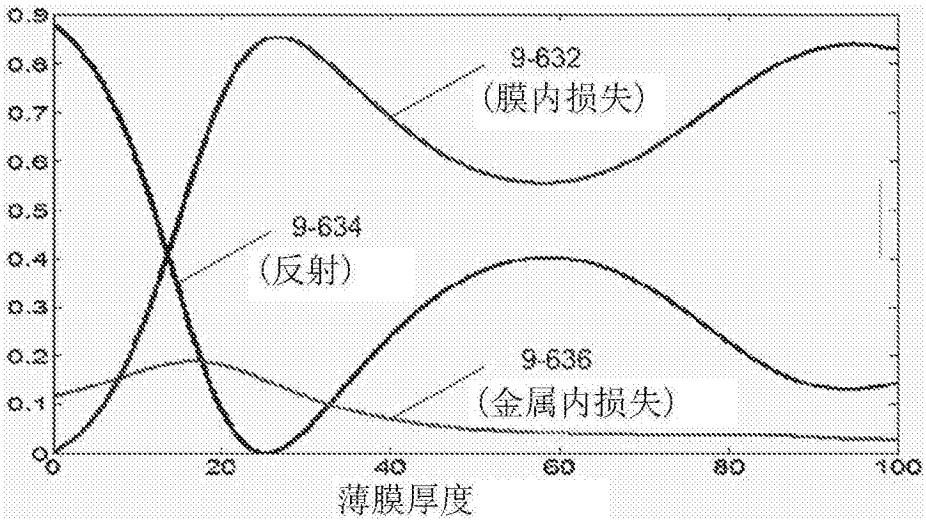

图9-6C

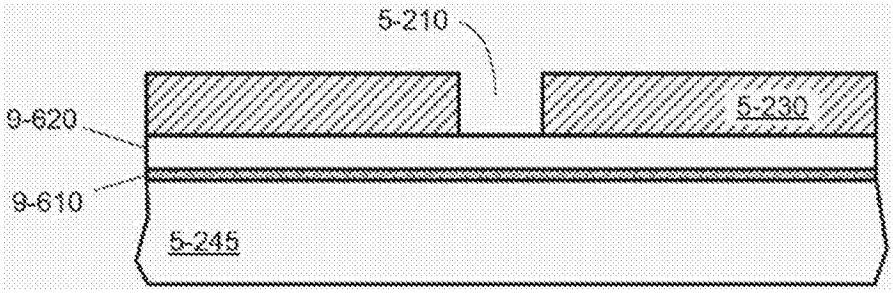

图9-6D

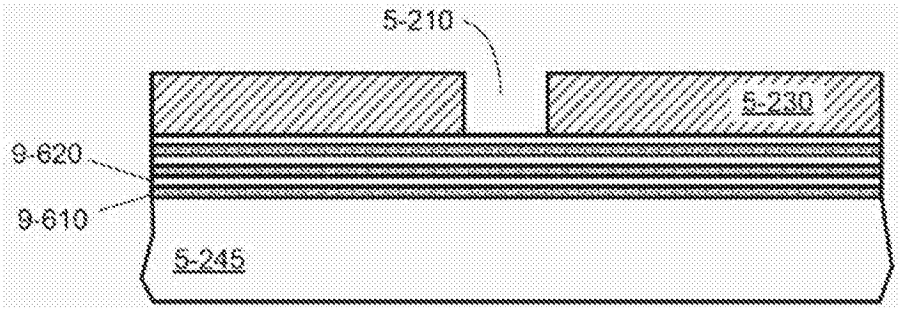

图9-6E

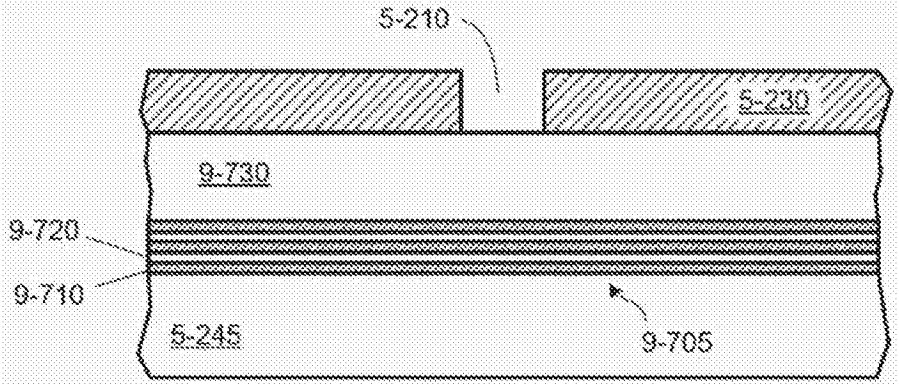

图9-7A

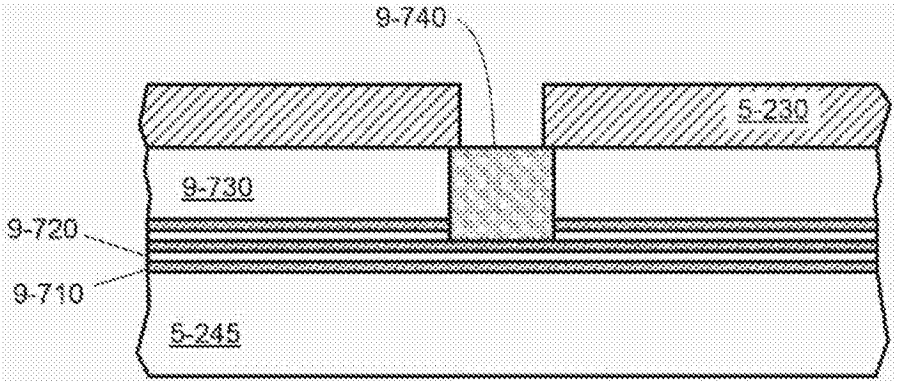

图9-7B

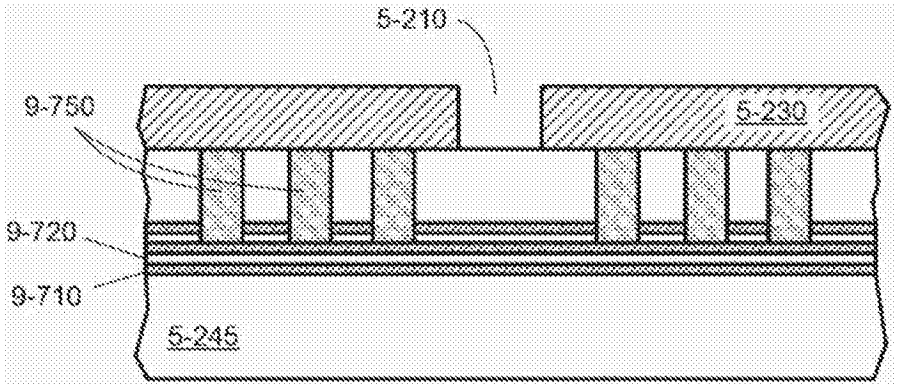

图9-7C

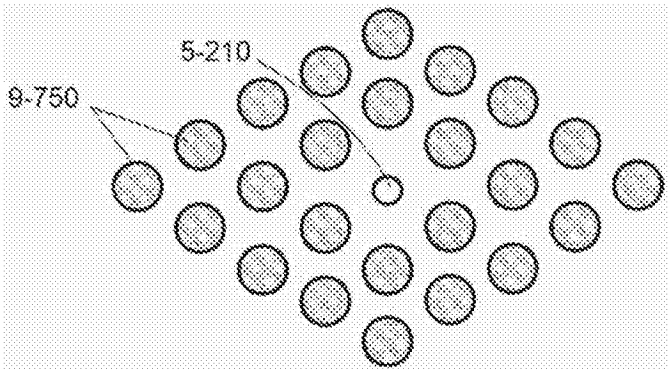

图9-7D

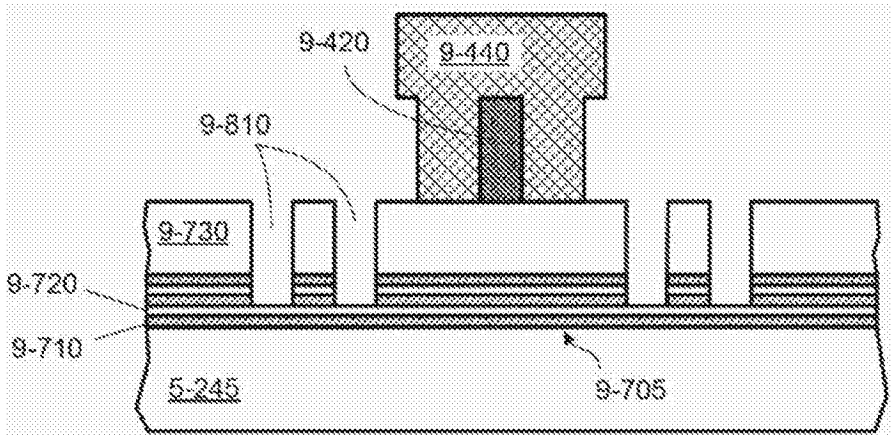

图9-8A

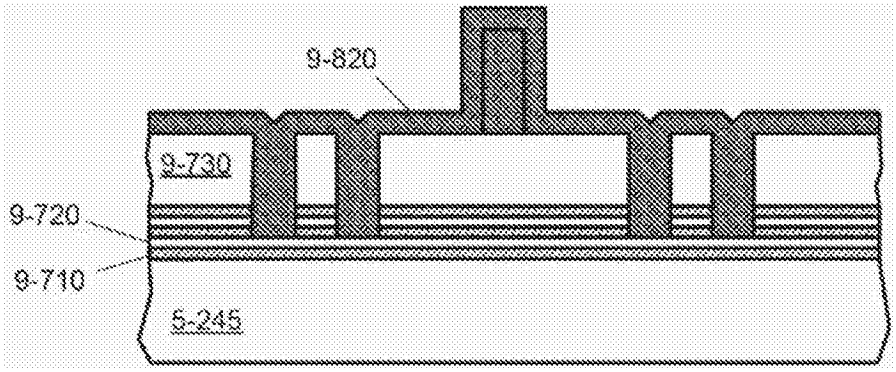

图9-8B

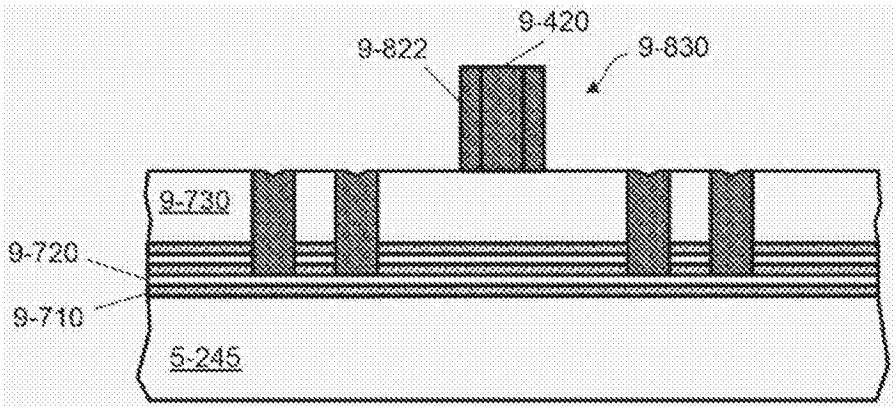

图9-8C

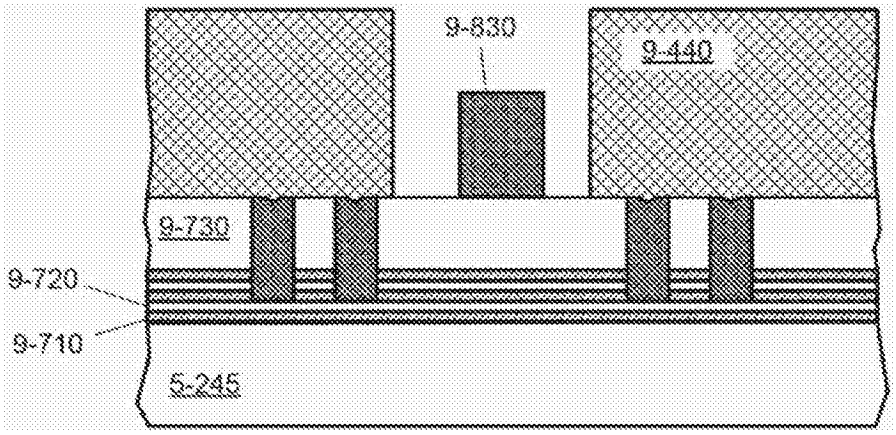

图9-8D

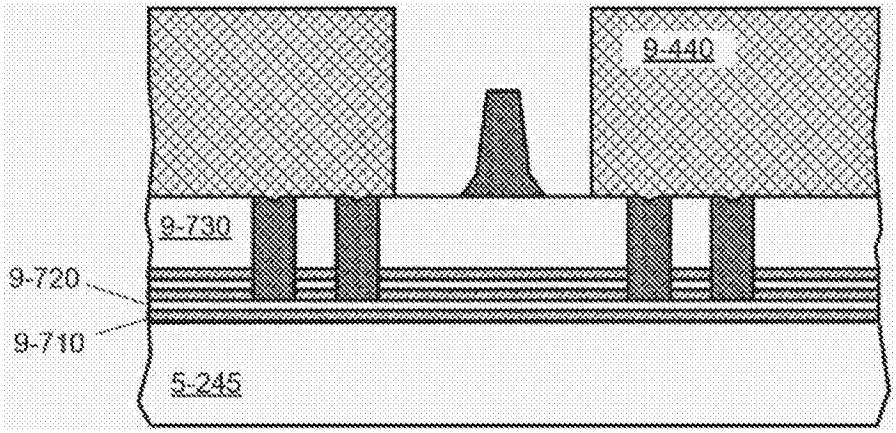

图9-8E

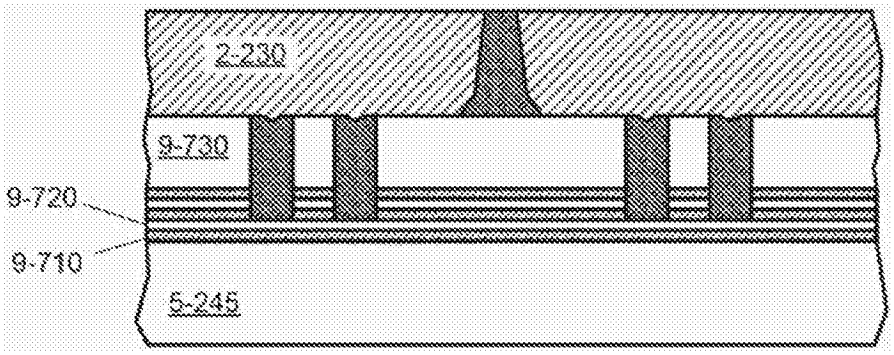

图9-8F

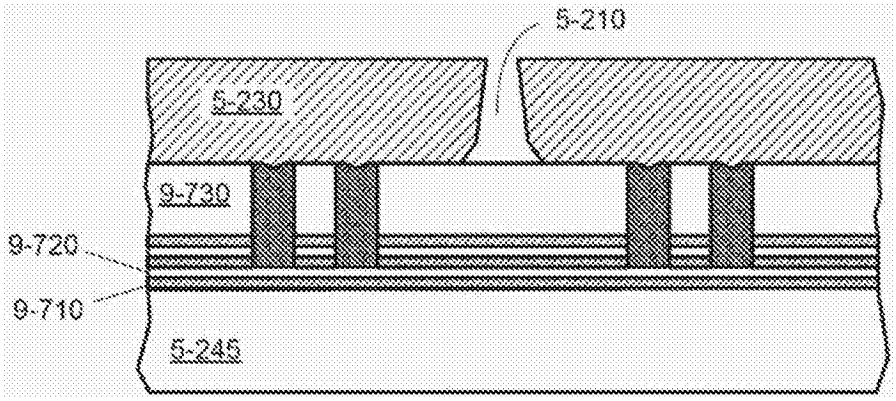

图9-8G

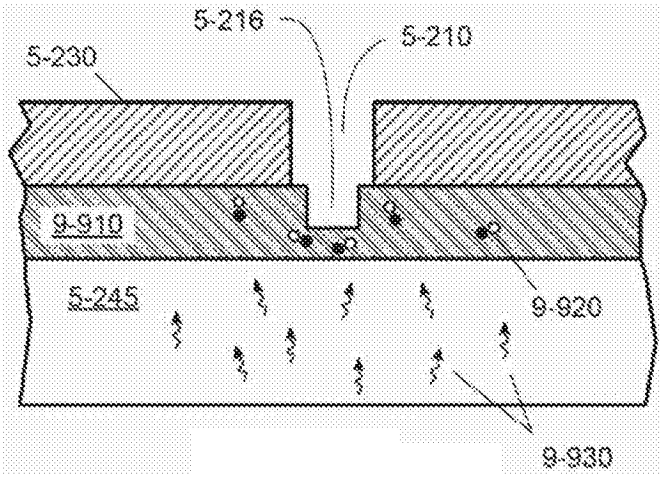

图9-9A

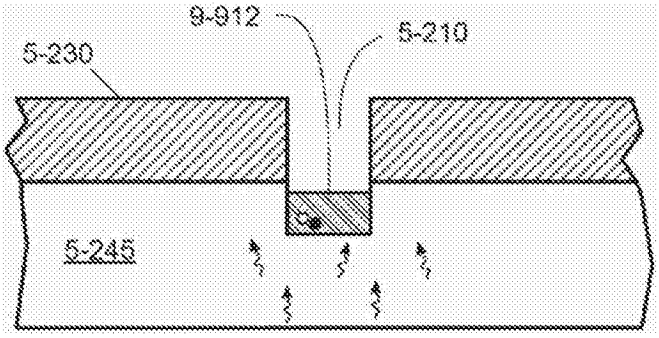

图9-9B

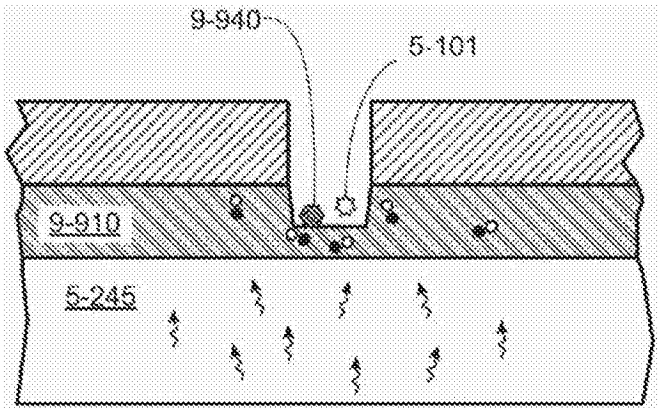

图9-9C

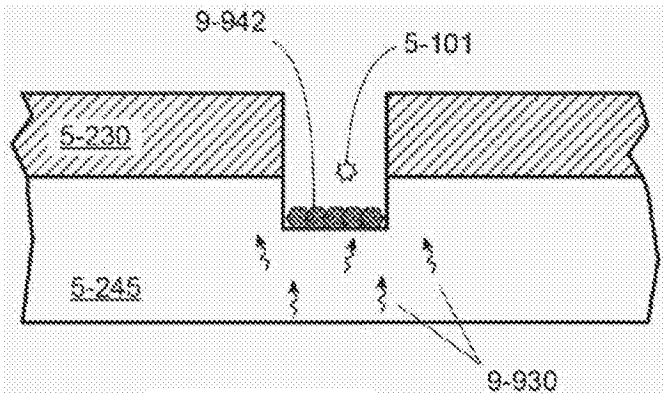

图9-9D

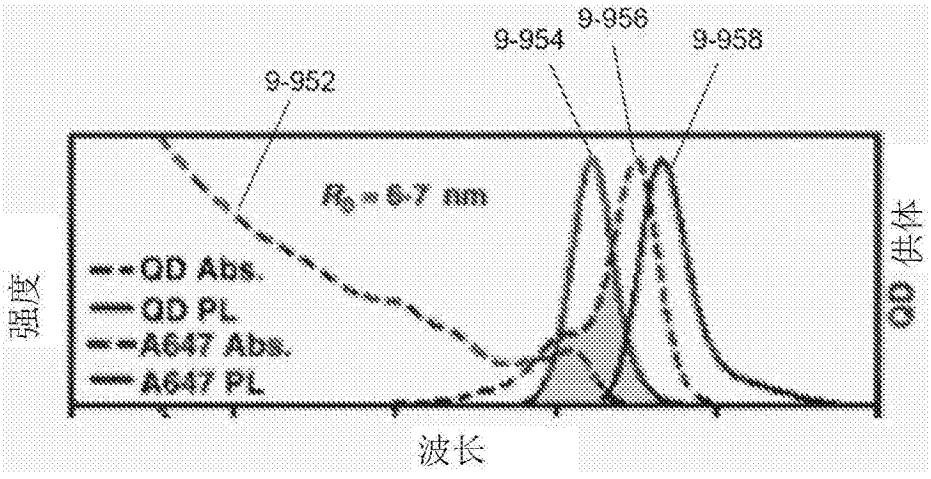

图9-9E

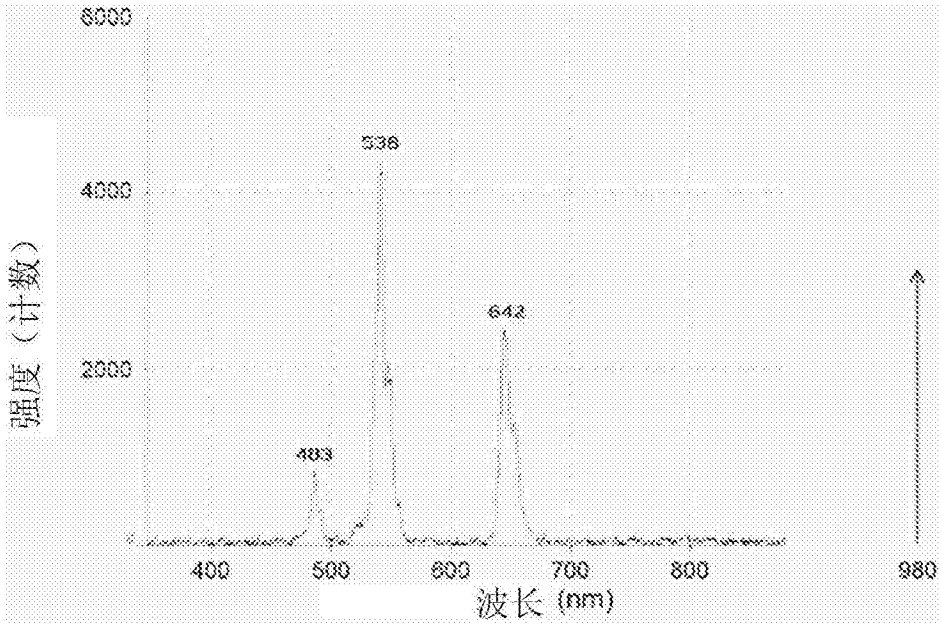

图9-9F

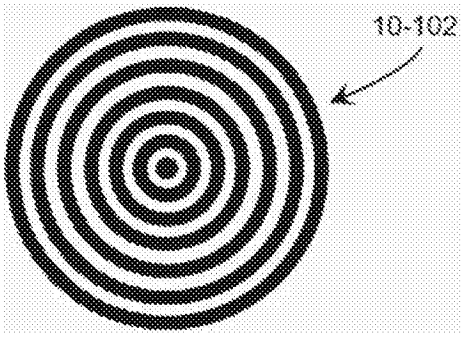

图10-1

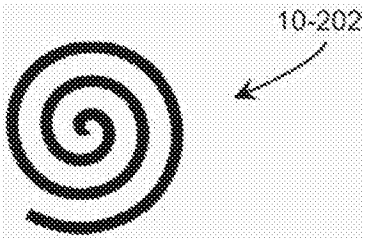

图10-2

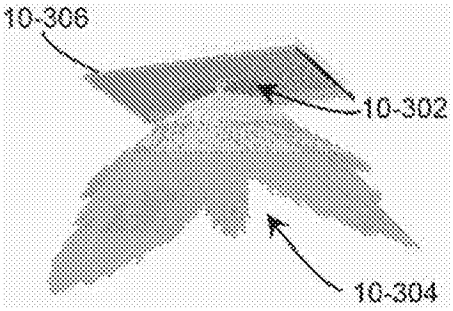

图10-3

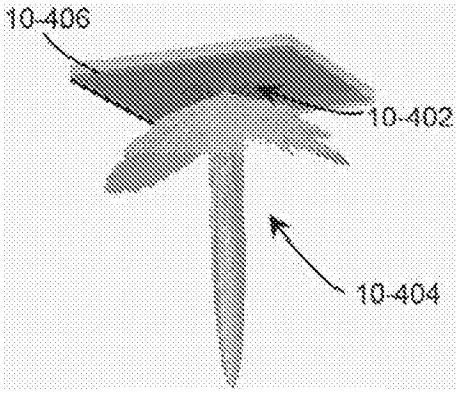

图10-4

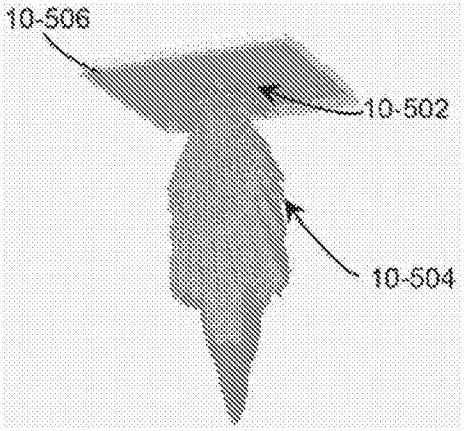

图10-5

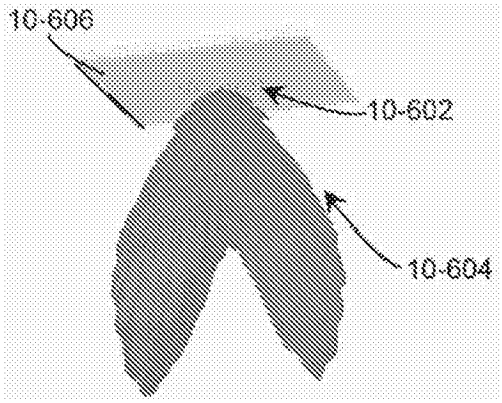

图10-6

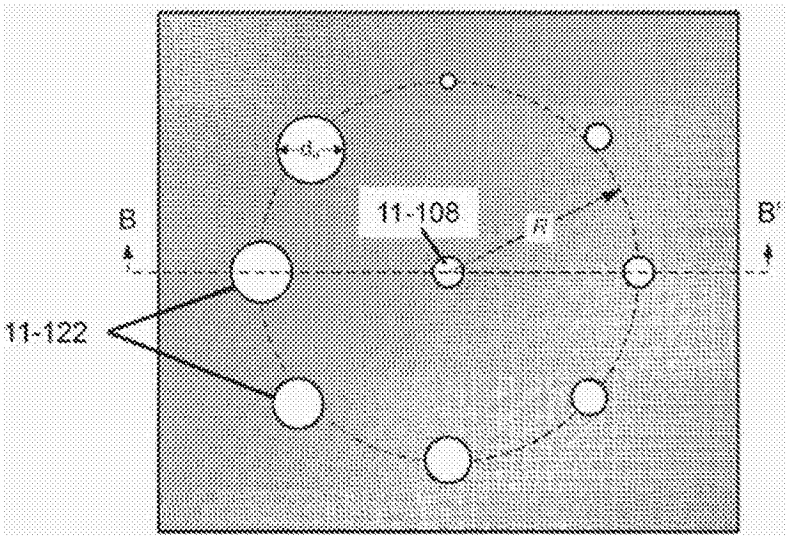

图11-1A

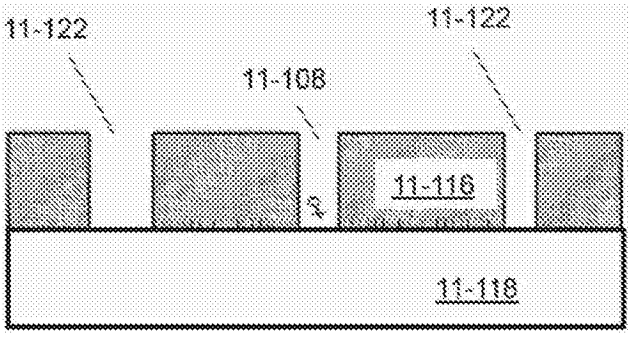

图11-1B

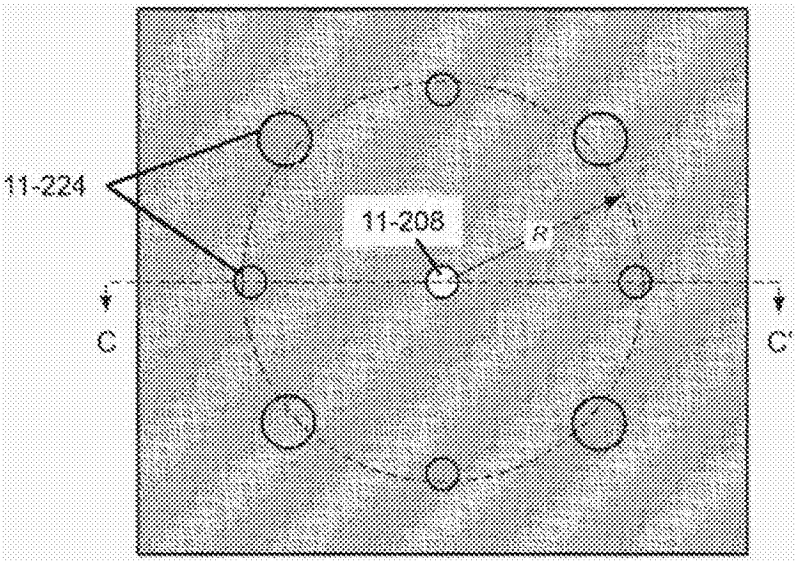

图11-2A

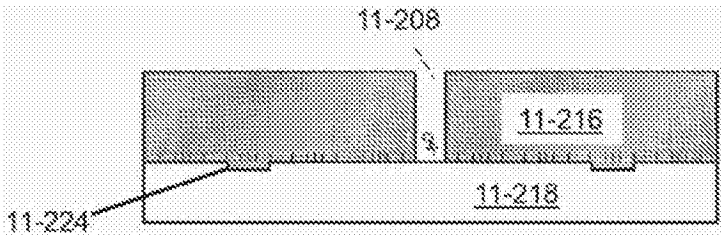

图11-2B

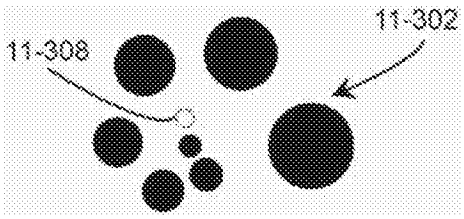

图11-3

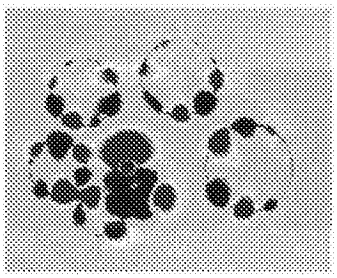

图11-4

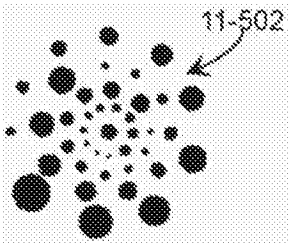

图11-5

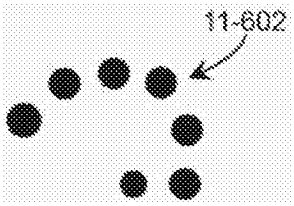

图11-6

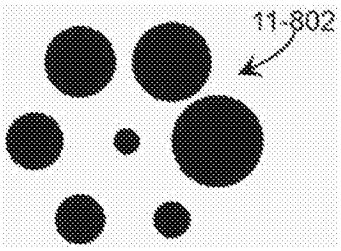

图11-7

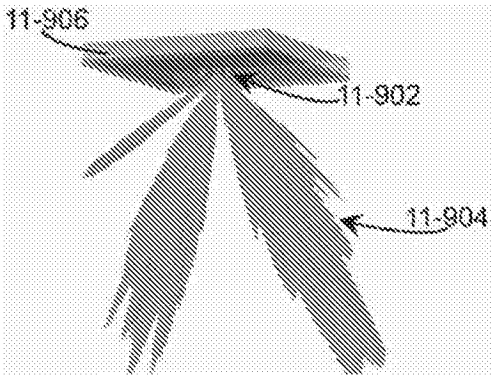

图11-8

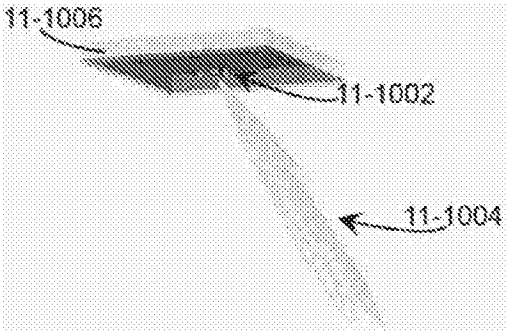

图11-9

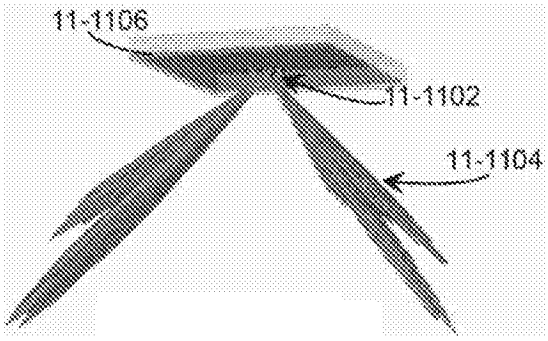

图11-10

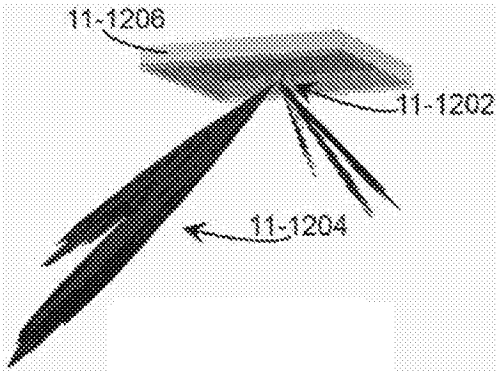

图11-11

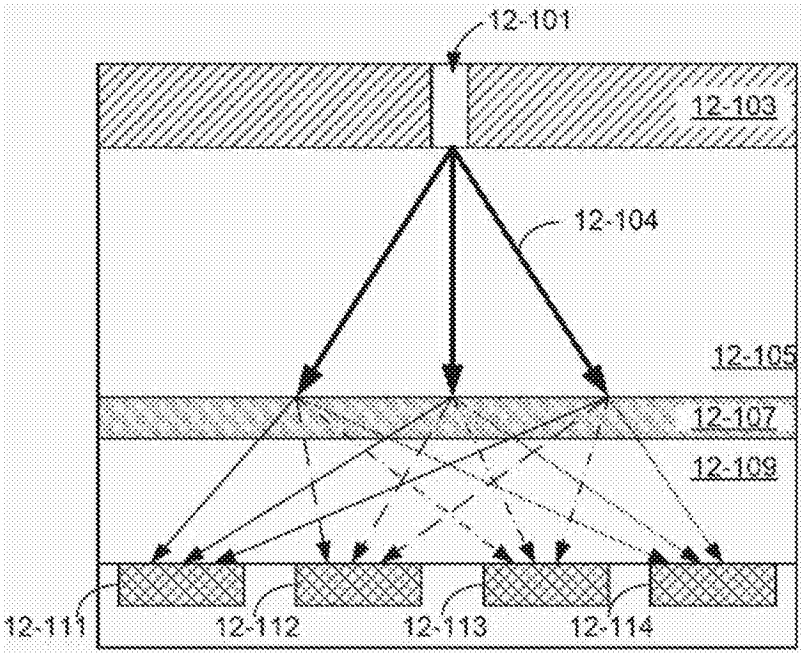
12-101
12-103
12-104
12-105
12-107
12-109
12-111
12-112
12-113
12-114

图12-1A

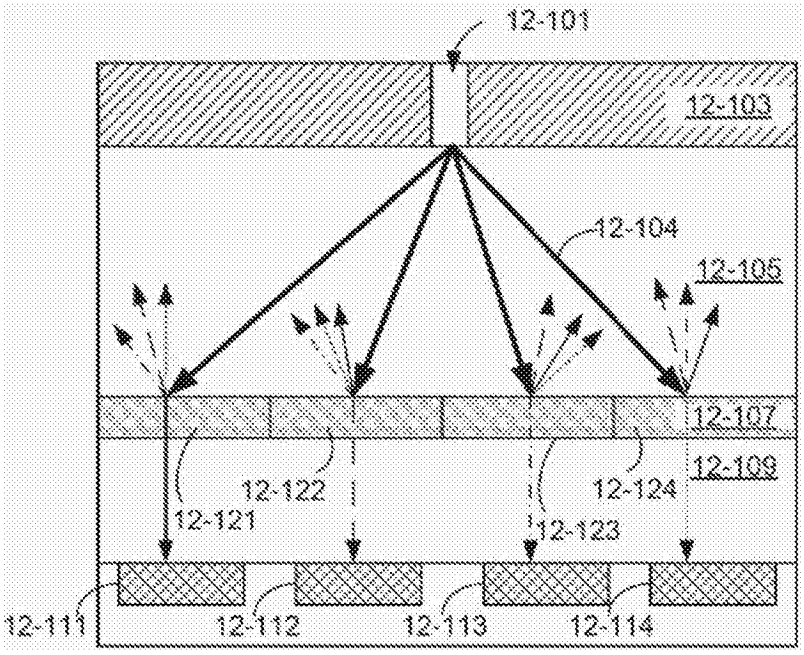
12-101
12-103
12-104
12-105
12-107
12-109
12-122
12-121
12-123
12-124
12-111
12-112
12-113
12-114

图12-1B

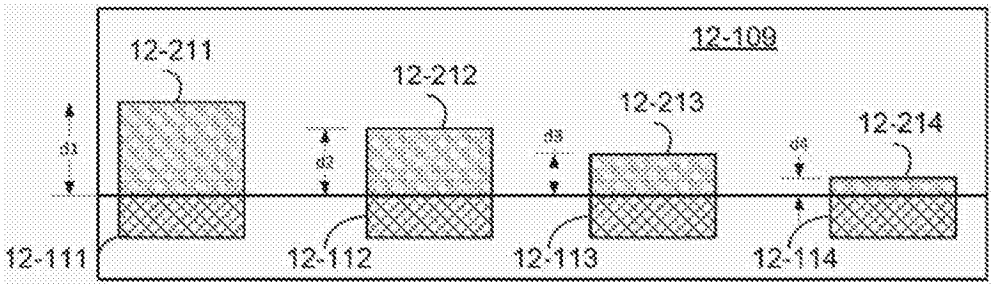

图12-2A

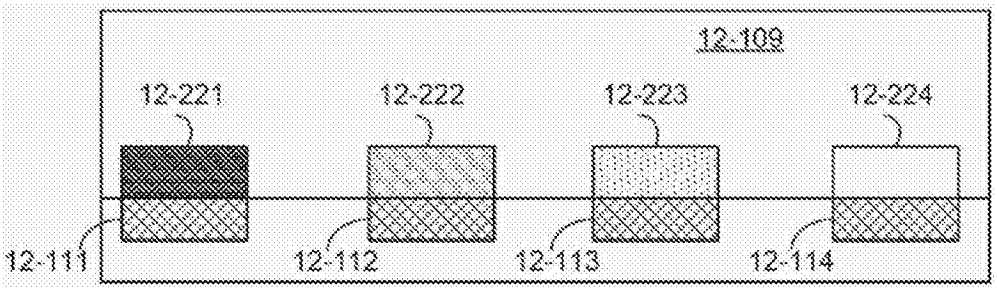

图12-2B

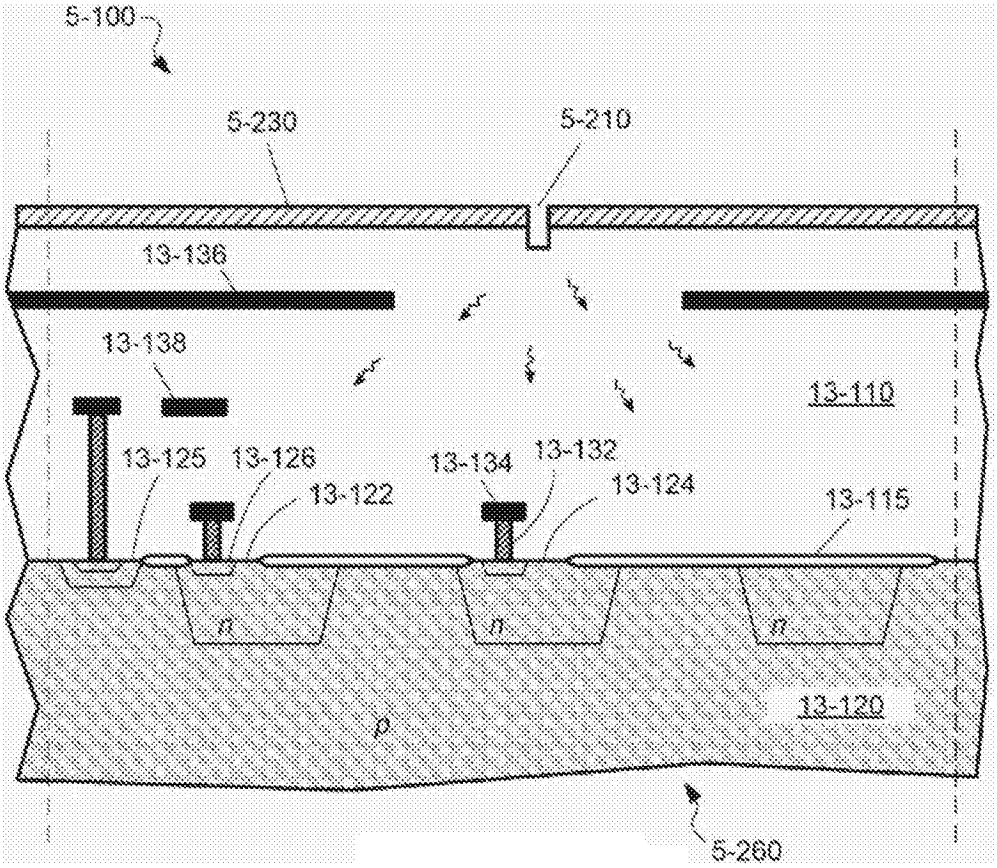

图13-1A

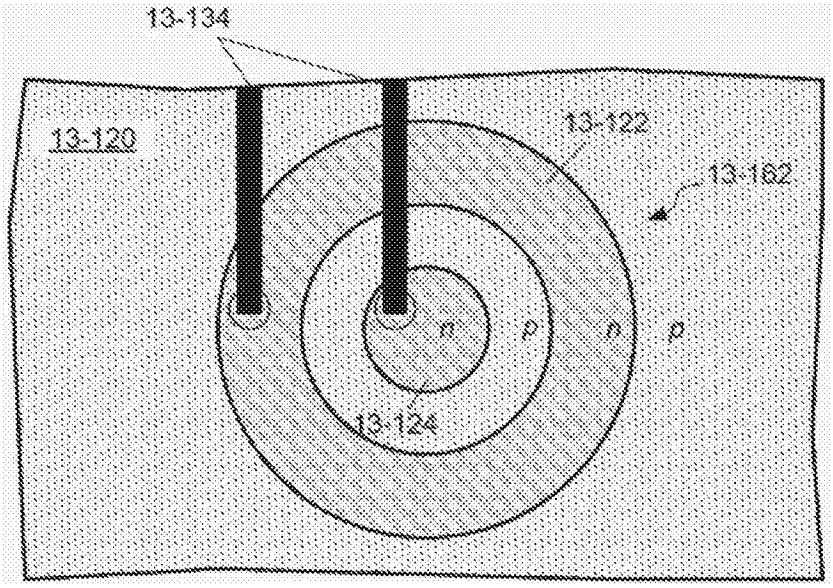

图13-1B

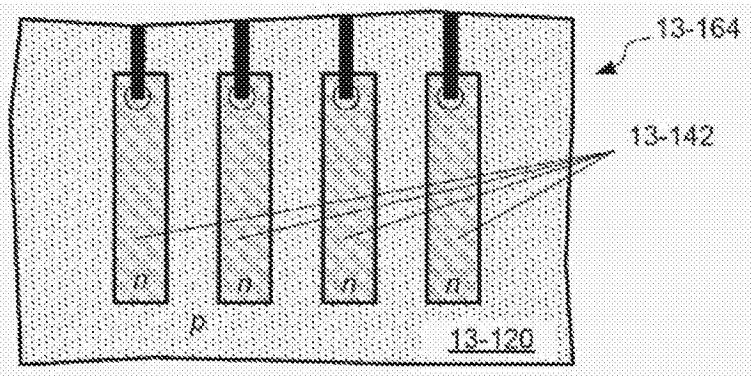

图 13-1C

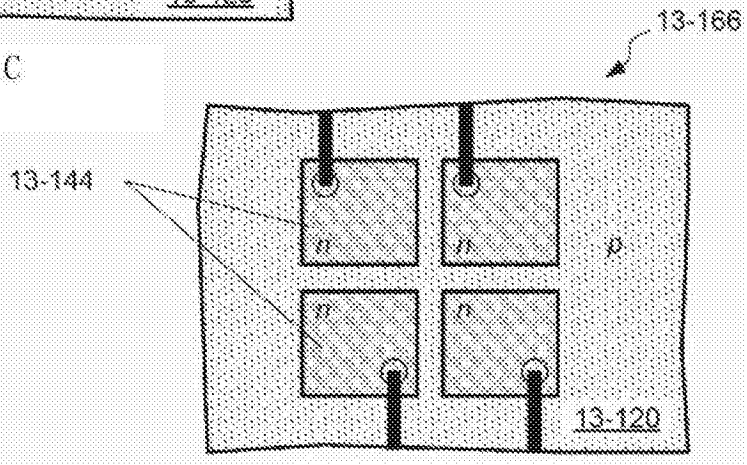

图 13-1D

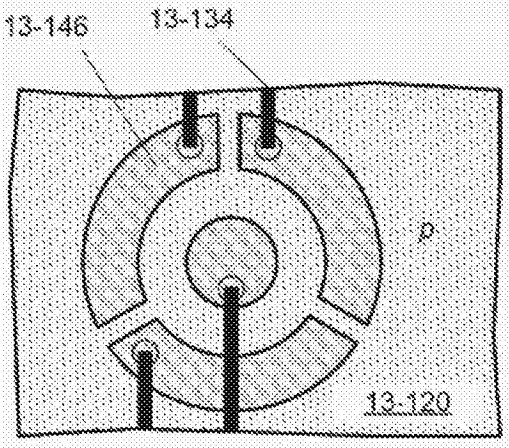

图 13-1E

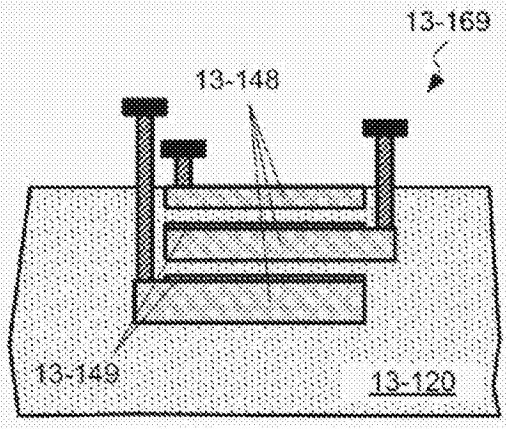

图 13-1F

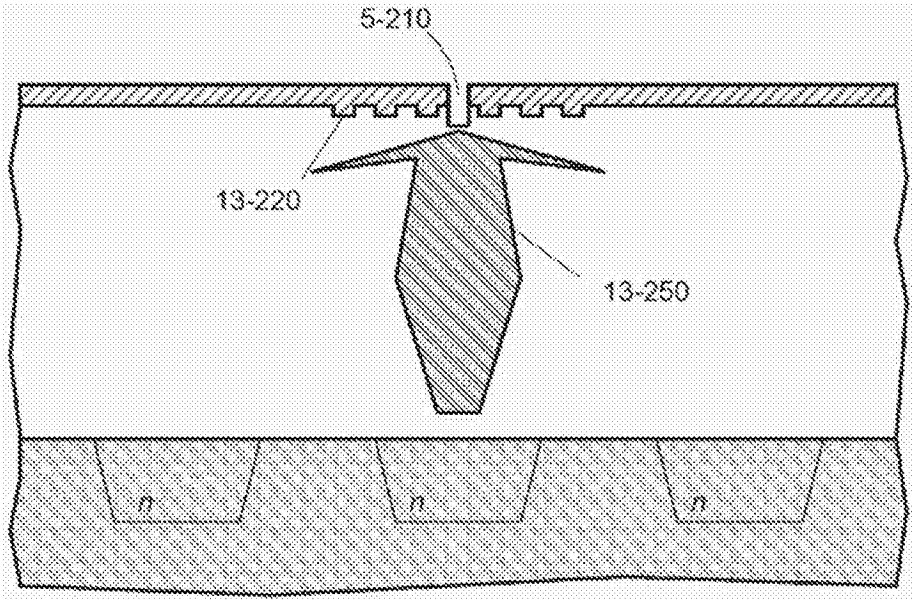

图13-2A

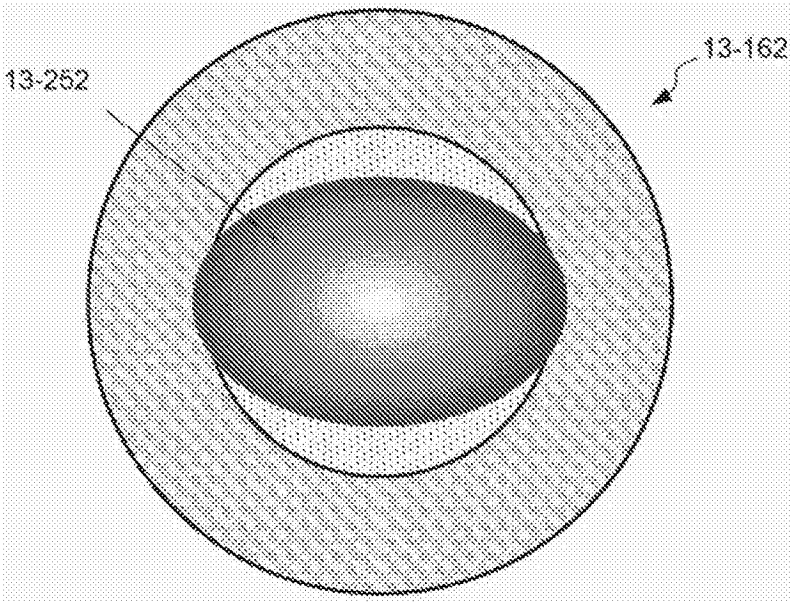

图13-2B

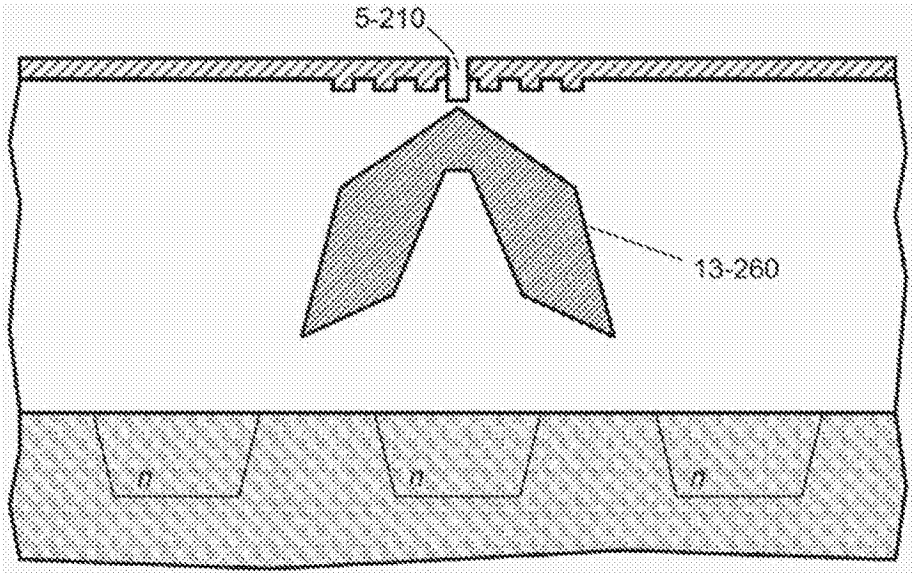

图13-2C

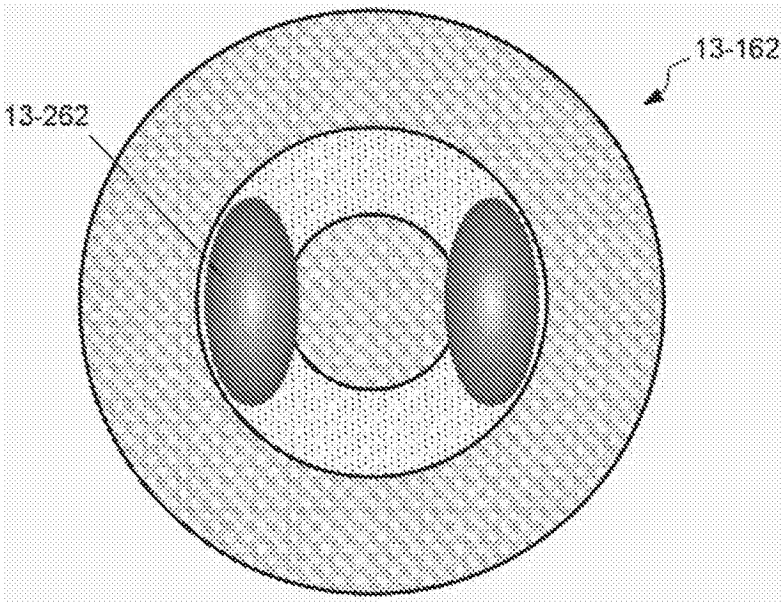

图13-2D

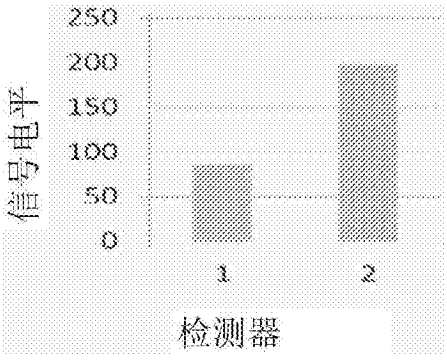

图13-2E

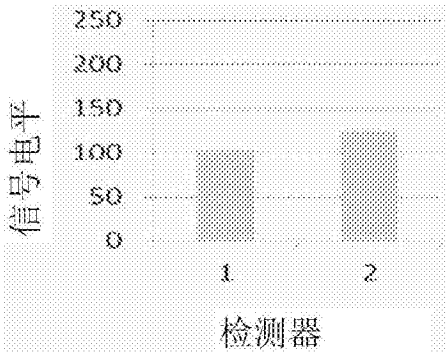

图13-2F

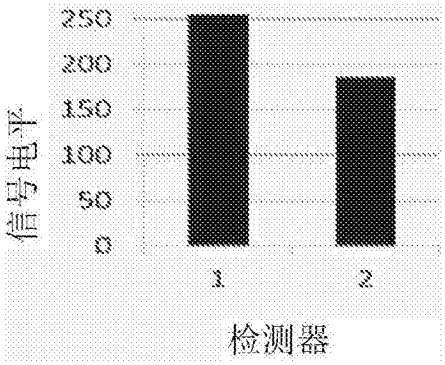

图13-2G

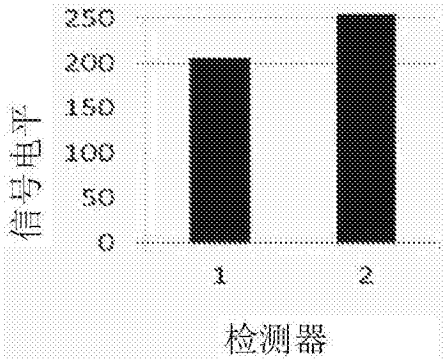

图13-2H

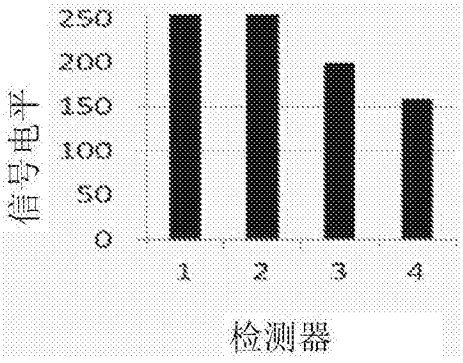

图13-2I

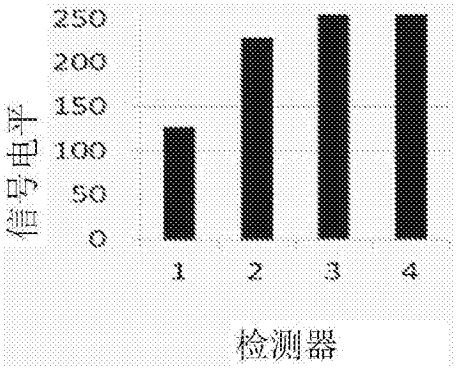

图13-2J

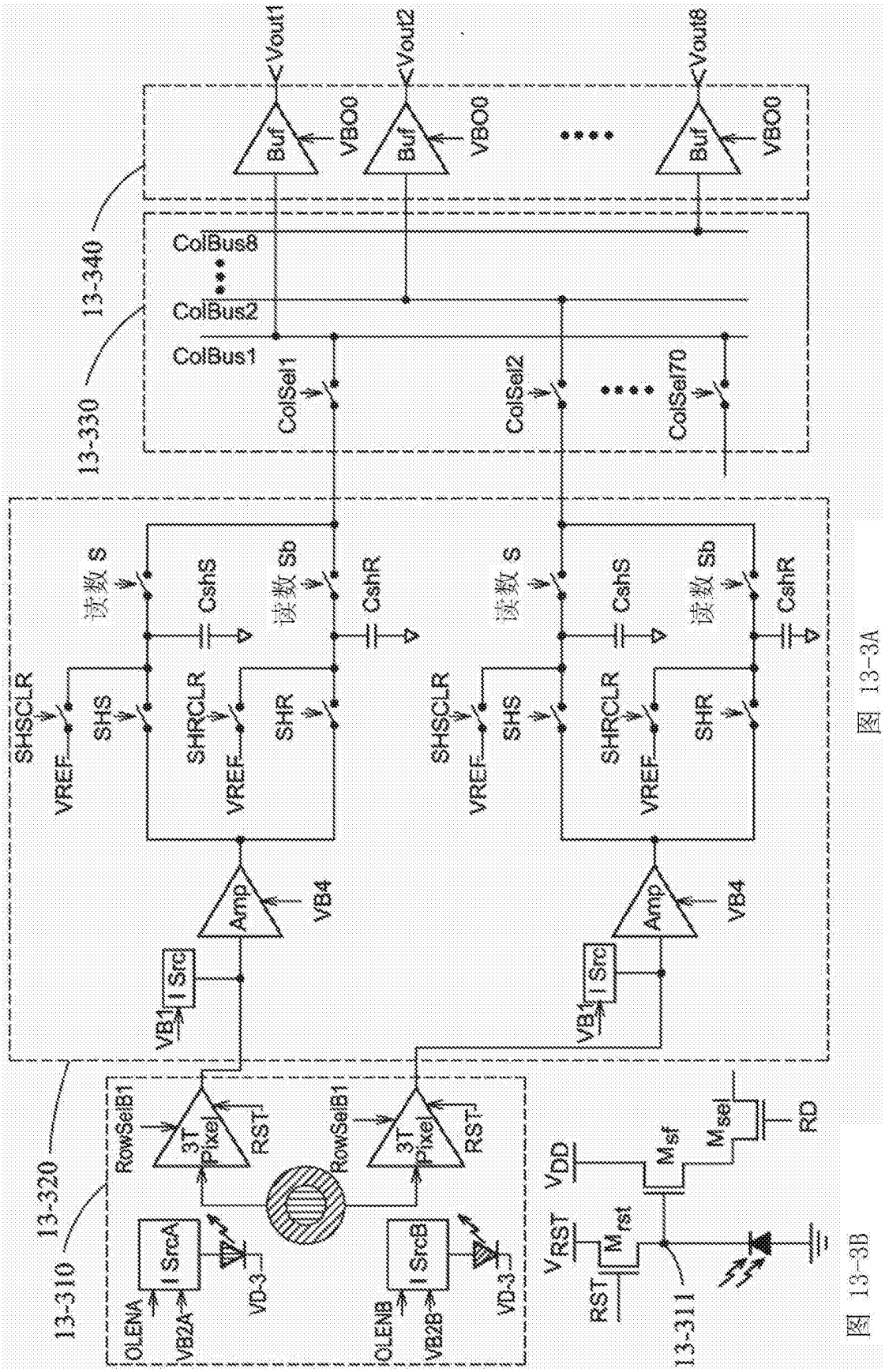
13-310
13-320
13-330
13-340
13-311
Vout1
Vout2
Vout8
Buf
VBO0
ColBus8
ColBus2
ColBus1
ColSel1
ColSel2
ColSel70
读数 S
读数 Sb
CshS
CshR
SHSCLR
SHS
SHRCLR
SHR
VREF
Amp
VB4
ISrc
VB1
RowSelB1
3T Pixel
RST
ISrcA
ISrcB
OLENA
OLENB
VB2A
VB2B
VD-3
VDD
VRST
Msf
Msel
Mrst
RD

图 13-3A

图 13-3B

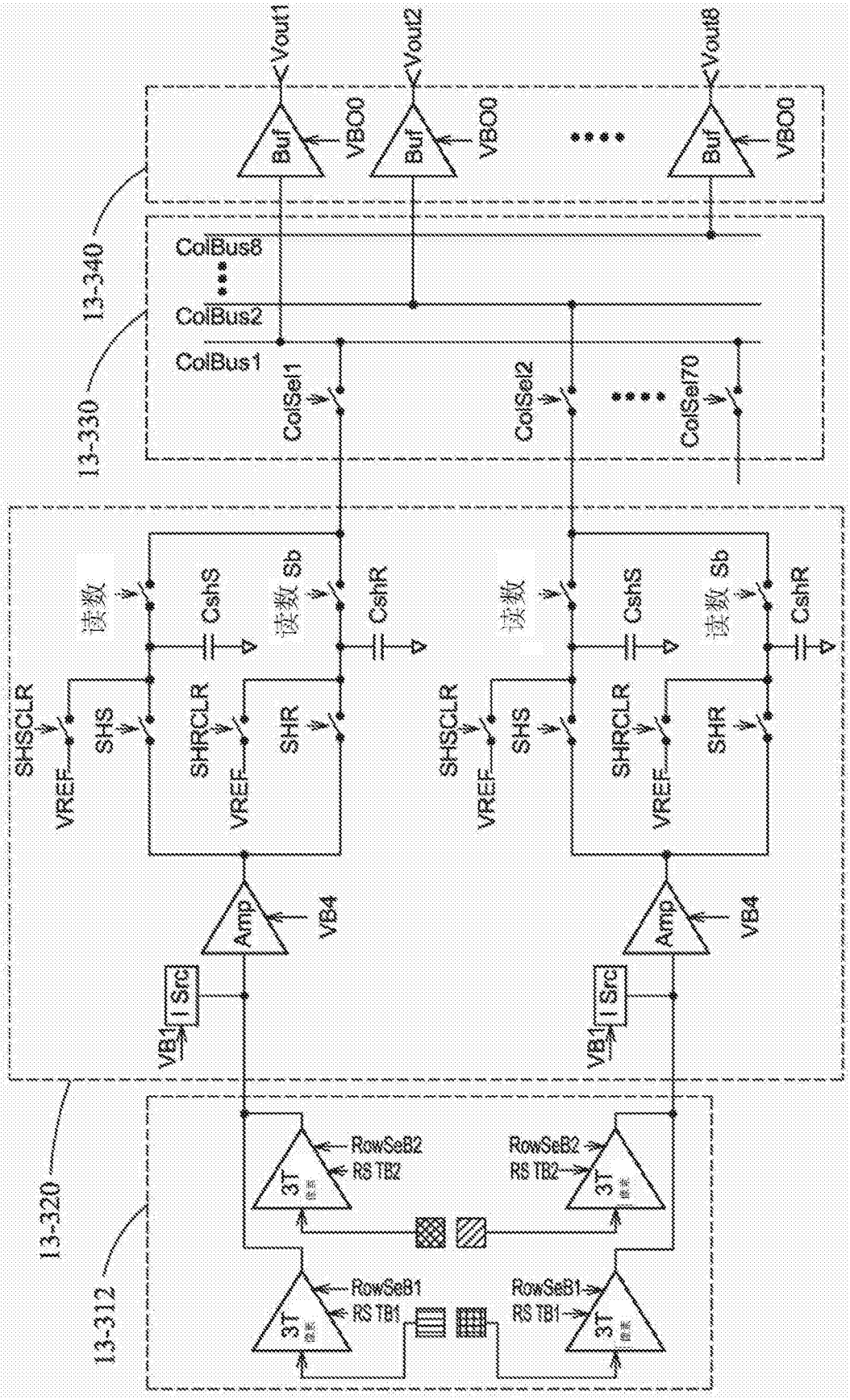
Vout1
Vout2
Vout8
Buf
VBO0
13-340
ColBus8
ColBus2
ColBus1
13-330
ColSel1
ColSel2
ColSel70
读数
CshS
读数 Sb
CshR
SHSCLR
SHS
SHRCLR
SHR
VREF
Amp
VB4
I Src
VB1
13-320
RowSeB2
RS TB2
RowSeB1
RS TB1
3T
13-312

图13-3C

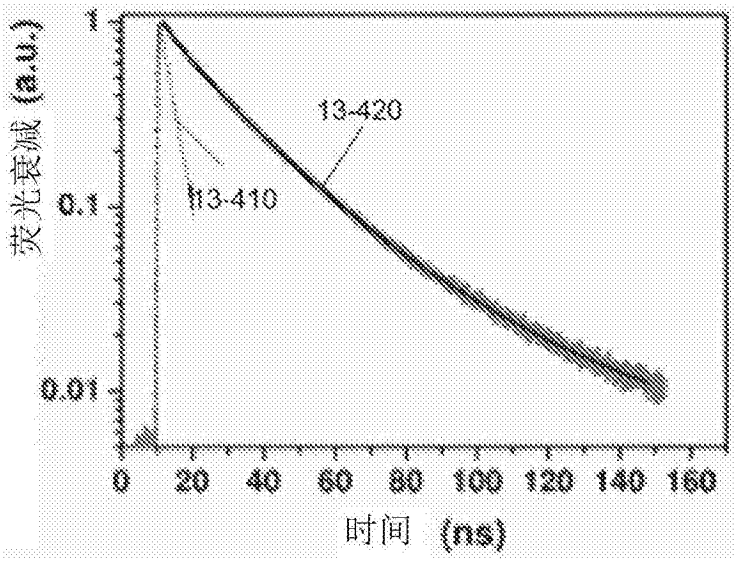

图13-4A

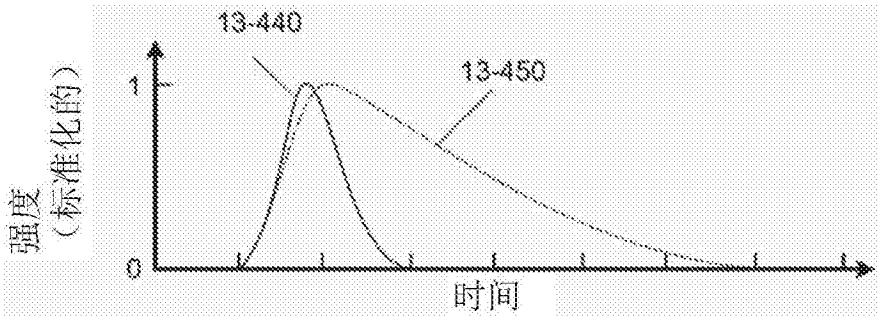

图13-4B

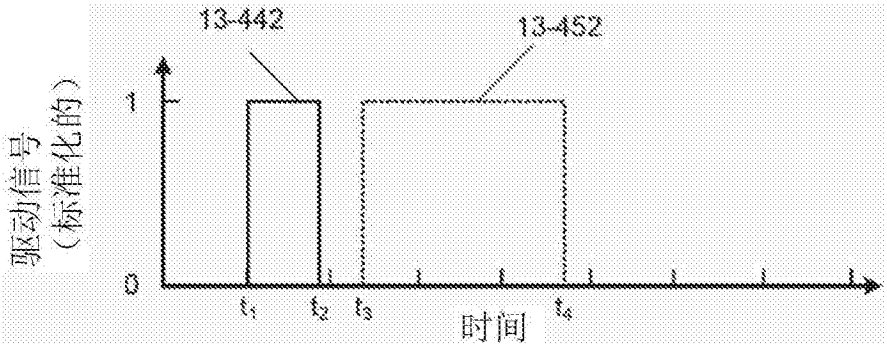

图13-4C

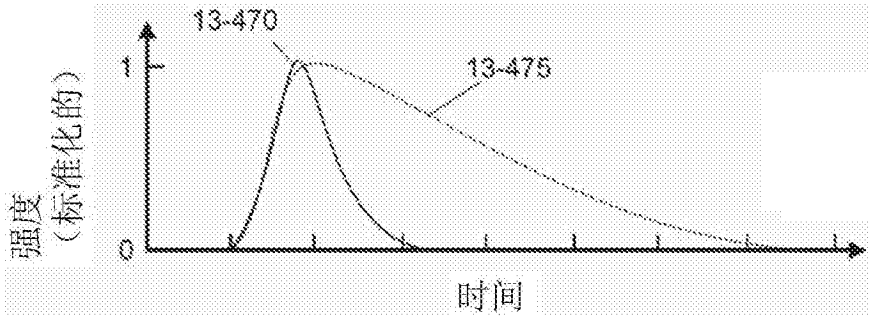

图13-4D

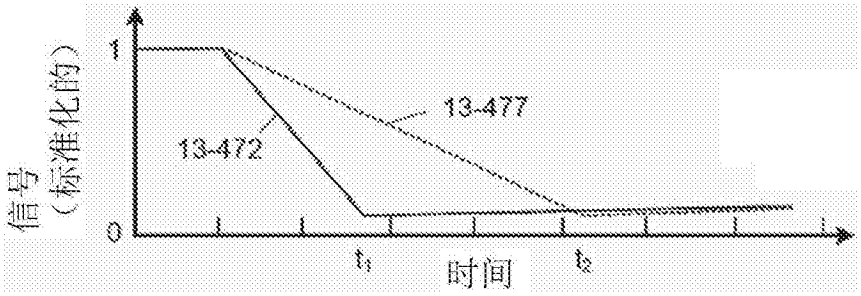

图13-4E

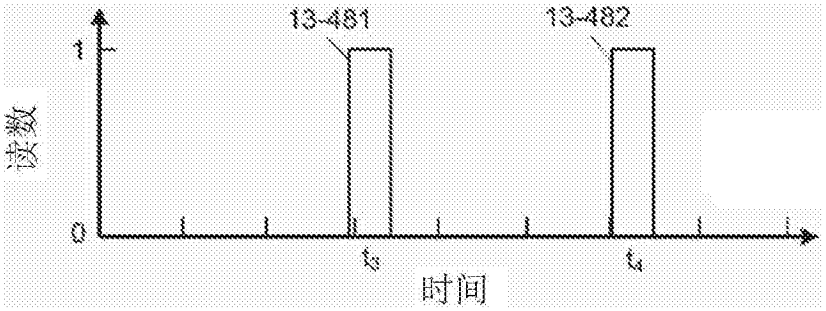

图13-4F

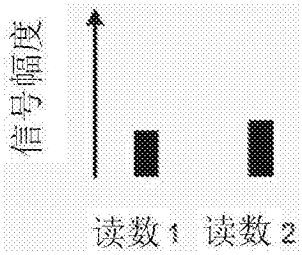

图13-4G

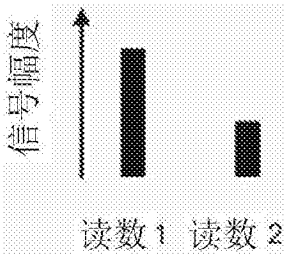

图13-4H

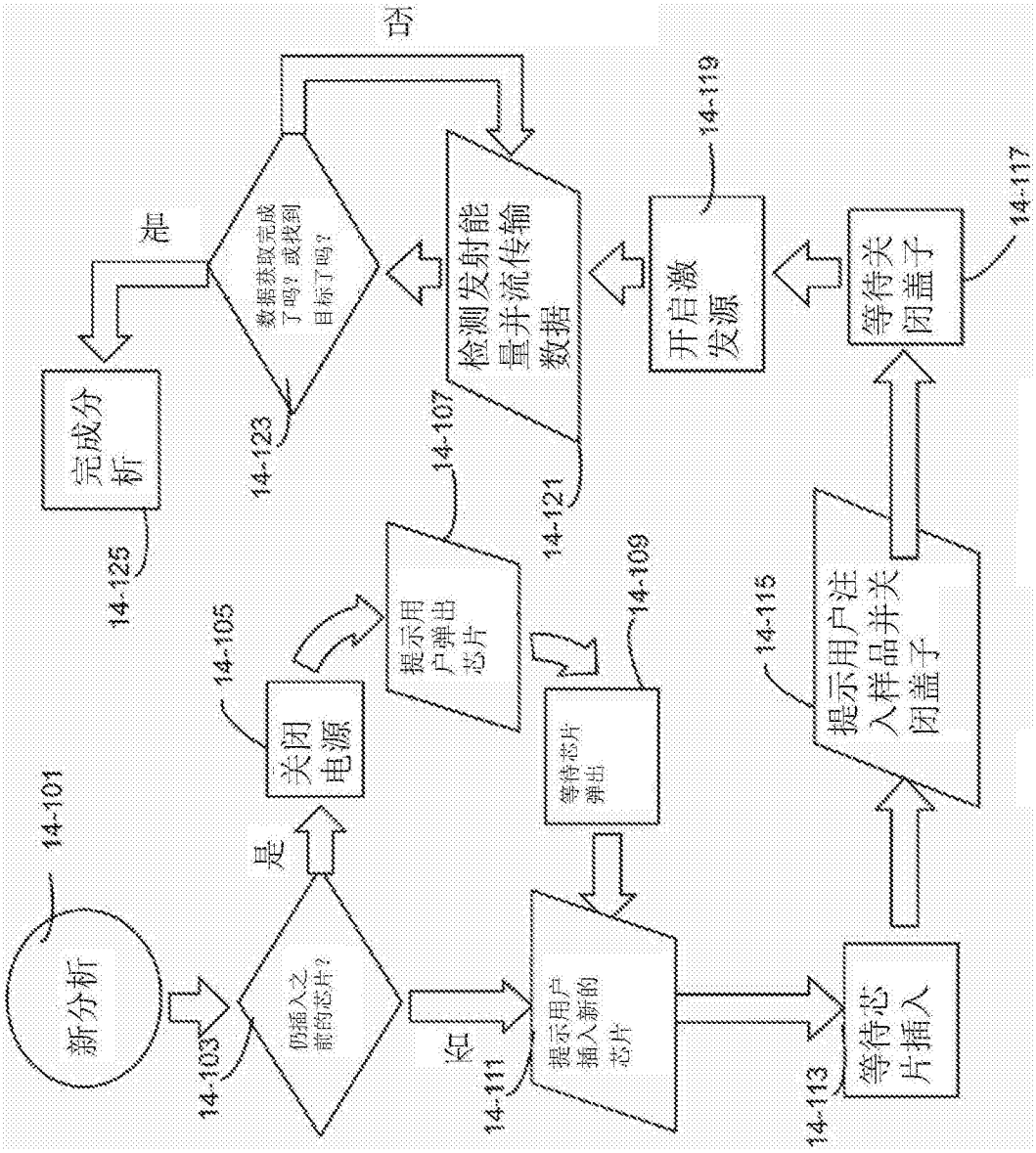
新分析
14-101
仍插入之前的芯片？
14-103
是
否
关闭电源
14-105
提示用户弹出芯片
14-107
检测发射能量并流传输数据
14-109
等待芯片弹出
14-111
提示用户插入新的芯片
14-113
等待芯片插入
提示用户注入样品并关闭盖子
14-115
开启激发源
14-119
等待关闭盖子
14-117
数据获取完成了吗？或找到目标了吗？
14-123
是
完成分析
14-125

图14-1

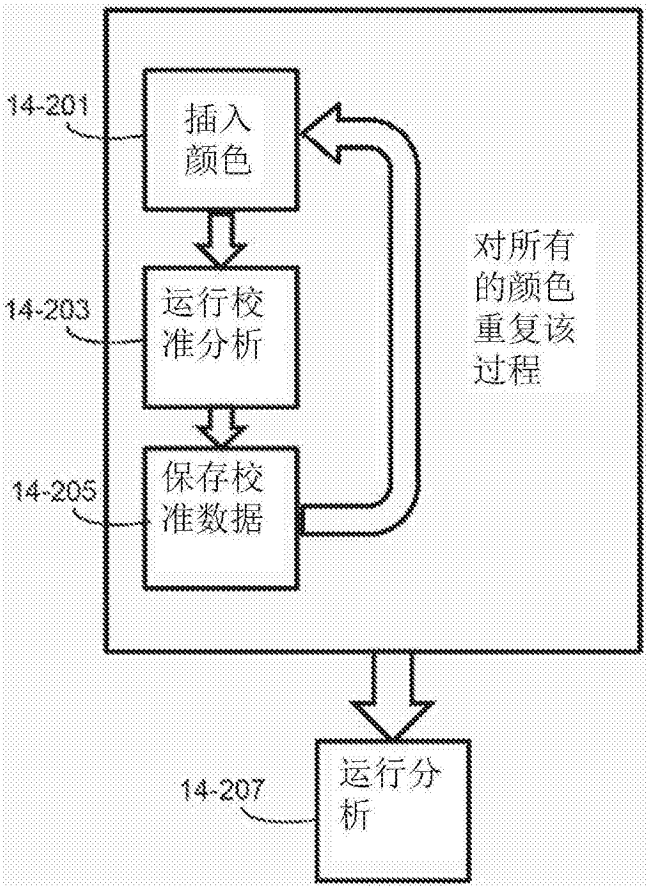
14-201
插入颜色
14-203
运行校准分析
14-205
保存校准数据
对所有的颜色重复该过程
14-207
运行分析

图14-2

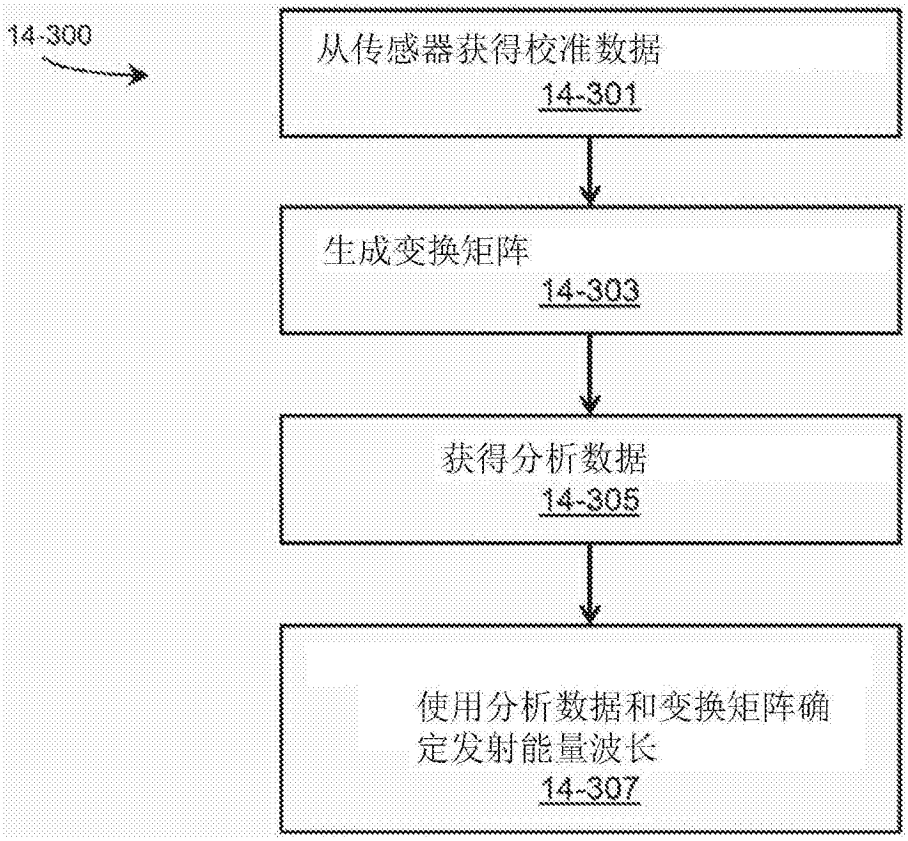
14-300
从传感器获得校准数据
14-301
生成变换矩阵
14-303
获得分析数据
14-305
使用分析数据和变换矩阵确定发射能量波长
14-307

图14-3

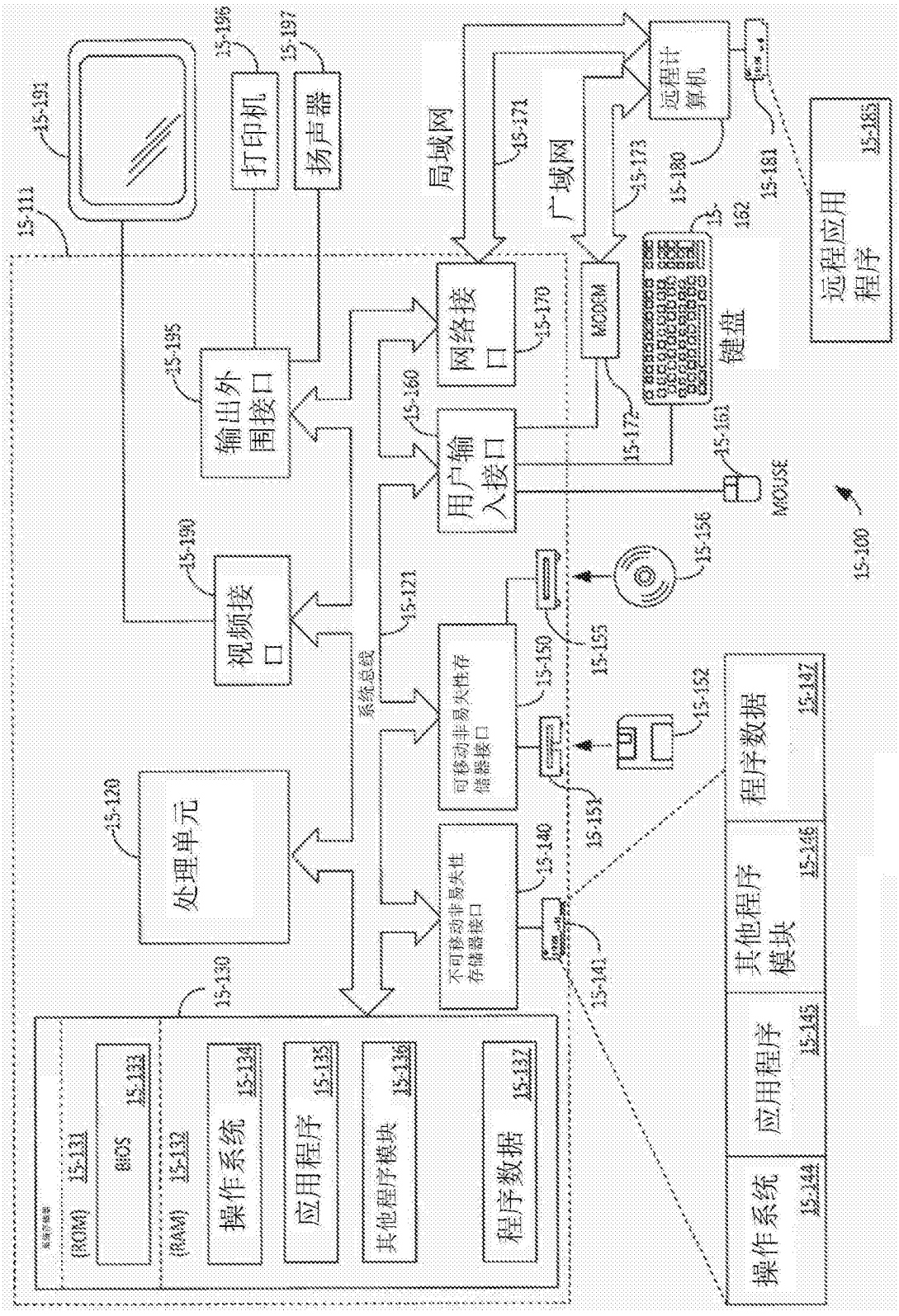
15-111
15-191
15-196
打印机
15-197
扬声器
局域网
15-171
广域网
15-173
远程计算机
15-180
15-181
远程应用程序
15-185
15-162
键盘
MODEM
15-172
15-161
MOUSE
15-100
网络接口
15-170
15-160
用户输入接口
15-195
输出外围接口
15-190
视频接口
15-121
系统总线
15-156
15-155
15-150
可移动非易失性存储器接口
15-152
15-151
15-120
处理单元
15-140
不可移动非易失性存储器接口
15-141
15-130
(ROM) 15-131
BIOS 15-133
(RAM) 15-132
操作系统 15-134
应用程序 15-135
其他程序模块 15-136
程序数据 15-137
程序数据 15-147
其他程序模块 15-146
应用程序 15-145
操作系统 15-144

图15-1