



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0104159  
(43) 공개일자 2018년09월19일

<p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>C12Q 1/6869</i> (2018.01) <i>G01N 33/487</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류 <i>C12Q 1/6869</i> (2018.05) <i>G01N 33/48721</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-7025577</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2017년02월09일 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년09월04일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2017/017231</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2017/139493 국제공개일자 2017년08월17일</p> <p>(30) 우선권주장 62/293,239 2016년02월09일 미국(US)</p>	<p>(71) 출원인 로스웰 바이오테크놀로지스 인코포레이티드 미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 피.오. 박스 910657</p> <p>(72) 발명자 최 철민 미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 피.오. 박스 910657</p> <p>진 성호 미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 피.오. 박스 910657 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인 특허법인코리아나</p>
--	--

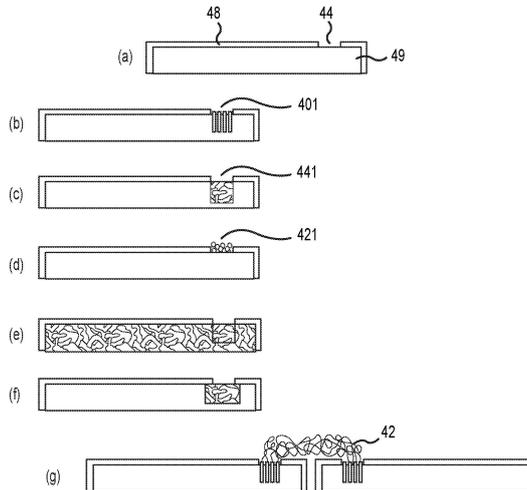
전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 전자 비표지 DNA 및 계놈 시퀀싱

(57) 요약

DNA 또는 계놈 시퀀싱에서 사용가능한 디바이스를 제조하는 방법은, 기판 상에 전극들의 쌍들을 배치하는 단계로서, 각 쌍 내의 전극들이 나노갭에 의해 분리되는, 상기 전극들의 쌍들을 배치하는 단계; 상기 전극들 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계; 각각의 나노갭에서 또는 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 다양한 방법들을 사용하여 각각의 노출된 영역 내에서 전극 표면을 거칠게 하는 단계; 및 노출된 영역들을 생체분자들에 노출하는 단계를 포함하며, 여기서 하나의 생체분자는 각 전극 쌍의 각각의 나노갭을 브리징하고, 각 생체분자의 각 단부는 각각의 노출된 영역에서 전극들에 결합된다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12Q 2565/631 (2013.01)

(72) 발명자

**몰라 폴 더블유**

미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 피.오. 박스  
910657

**메리먼 배리 엘**

미국 92191 캘리포니아주 샌디에고 피.오. 박스  
910657

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들의 쌍 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계;

상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

각각의 노출된 영역 내에서 표면을 거칠게 하기 위해 상기 전극들을 플라즈마 에칭 또는 금 (Au) 이온 빔 주입에 노출하는 단계; 및

상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각각의 단부는 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화 (functionalization) 를 포함하는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며,

상기 생체분자는 상기 나노갭을 브리징하고, 상기 생체분자의 상기 제 1 및 제 2 단부들은 상기 노출된 영역들에 결합되는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 레지스트 층은 두께가 약 3 nm 부터 약 20 nm 까지의 전기 절연성 중합체 또는 산화물 코팅을 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 전극들은 금 (Au) 을 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 패터닝하는 단계는 e-빔 또는 나노 리소그래피를 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 플라즈마 에칭은 RF 플라즈마, DC 플라즈마 또는 스퍼터 에칭 프로세스들을 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 플라즈마 에칭 또는 상기 Au 이온 빔 주입의 단계는 플라즈마 에칭 또는 Au 이온 빔 주입 이전에 상기 노출된 영역의 표면적으로부터, 적어도 50% 의 각각의 노출된 영역 내의 상기 전극의 상기 표면적의 증가를 발생하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 7**

DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들의 쌍 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계;

상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

상기 전극들을 Au 나노입자들에 노출하는 단계로서, 상기 Au 나노입자들은 각각의 노출된 영역 내의 전극 표면에 부착하는, 상기 Au 나노입자들에 노출하는 단계;

상기 Au 나노입자들을 상기 전극 표면에 결합하기 위해 어레이를 약 200 °C 부터 약 500 °C 까지에서 어닐링하는 단계; 및

상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각각의 단부는 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며,

각각의 생체분자는 상기 나노갭을 브리징하고, 상기 생체분자의 상기 제 1 및 제 2 단부들은 상기 노출된 영역들에 결합되는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 8**

제 7 항에 있어서,

상기 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 를 포함하는 전기 절연 세라믹 층을 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 9**

제 7 항에 있어서,

상기 전극들은 금 (Au) 을 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 10**

제 7 항에 있어서,

상기 패터닝하는 단계는 e-빔 또는 나노 리소그래피를 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 11**

DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 Au 금속 합금 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 Au 금속 합금 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들의 쌍 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계;

상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

각각의 노출된 영역 내의 합금으로부터 비-Au 금속을 선택적으로 제거하기 위해 상기 전극들을 에칭트 용액에 노출하는 단계; 및

상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각각의 단부는 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며,

각각의 생체분자는 상기 나노갭을 브리징하고, 상기 생체분자의 상기 제 1 및 제 2 단부들은 상기 노출된 영역들에 결합되는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 12**

제 11 항에 있어서,

상기 Au 금속 합금은 Au-Si, Au-Ge, Au-Bi, Au-Co, Au-Mo, Au-Rh, Au-Ru 및 Au-W 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 13**

제 11 항에 있어서,

상기 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 를 포함하는 전기 절연 세라믹 층을 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서,

상기 Au 및 비-Au 금속 간의 상 분리를 촉진시키기 위해 약 10 분 내지 약 12 시간 동안 약 200 °C 부터 약 600 °C 까지에서 어닐링하는 단계를 더 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 15**

DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들의 쌍 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계;

상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

각각의 노출된 영역 내의 전극 표면 상에 Au-Ag 또는 Au-Cu 합금을 디포짓하는 단계;

각각의 노출된 영역 내에 디포짓된 상기 합금으로부터 비-Au 금속을 선택적으로 제거하기 위해 상기 전극들을 에천트 용액에 노출하는 단계; 및

상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각각의 단부는 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며,

각각의 생체분자는 상기 나노갭을 브리징하고, 상기 생체분자의 상기 제 1 및 제 2 단부들은 상기 노출된 영역들에 결합되는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 16**

제 15 항에 있어서,

상기 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 를 포함하는 전기 절연 세라믹 층을 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 17**

제 15 항에 있어서,

상기 전극들은 금 (Au) 을 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 18**

제 15 항에 있어서,

상기 패터닝하는 단계는 e-빔 또는 나노 리소그래피를 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 19**

DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들 위에 래치가 가능한 자성 층을 디포짓하는 단계;

상기 래치가 가능한 자성 층 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계;

상기 래치가 가능한 자성 층이 노출되는 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

상기 래치가 가능한 자성 층을 자화하기 위해 상기 전극들을 외부 자기장 또는 인가된 전압에 노출하는 단계; 및

상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 자화된 상기 래치가 가능한 자성 층으로 흡인을 위해 각각의 단부가 자성 나노입자로 태그되는, 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하고,

상기 생체분자는 상기 나노갭을 브리징하고, 각각의 자성 나노입자는 상기 노출된 영역들에서 각각의 전극에 유지되는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 20**

제 19 항에 있어서,

상기 래치가 가능한 자성층은 10 Oe 보다 높은 Hc 를 갖는 FeCrCo 또는 FeCuNi 스피노달 합금을 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 21**

제 19 항에 있어서,

상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계 전에 상기 래치가 가능한 자성 층 위에 Au 의 층을 디포짓하는 단계를 더 포함하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 22**

제 19 항에 있어서,

상기 자성 층은 자성 나노입자-태그된 생체분자들의 자기적으로 흡인된 부착 또는 부착된 자성 나노입자-태그된 생체분자들의 영구 자석 소인 (sweep) 에 의한 제거 및 세정을 가능하도록 자화 또는 탈자화되어, 상기 디바이스의 다중 반복 동작들을 허용하는, DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 23**

DNA 또는 계놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법으로서,

기판 상에 백금 (Pt) 또는 레늄 (Rh) 전극들의 쌍을 배치하는 단계로서, 상기 전극들은 나노갭에 의해 분리되는, 상기 백금 (Pt) 또는 레늄 (Rh) 전극들의 쌍을 배치하는 단계;

상기 전극들의 쌍 위에 두께가 약 1 nm 부터 약 10 nm 로 측정되는 금 (Au) 막을 디포짓하는 단계;

상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 레지스트 층을 패터닝하는 단계;

상기 Au 막의 AU 구체들로의 구상화를 유도하기 위해 상기 전극들을 어닐링하는 단계로서, 하나의 구체는 각각

의 노출된 영역 내에 배치되는, 상기 전극들을 어닐링하는 단계;

상기 구체들의 높이를 감소시키기 위해 상기 구체들을 에칭하는 단계;

상기 어닐링하는 단계 및 상기 에칭하는 단계를 적어도 2 회 반복하는 단계; 및

상기 Au 구체들을 생체분자에 노출하는 단계로서, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각각의 단부는 상기 Au 구체들에 결합하기 위한 기능화를 포함하는, 상기 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며,

상기 생체분자는 상기 나노캡을 브리징하고, 상기 생체분자의 상기 제 1 및 제 2 단부들은 상기 Au 구체들에 결합되는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 24**

제 23 항에 있어서,

상기 어닐링하는 단계는 구상화를 야기하기 위해 약 10 분 내지 약 12 시간 동안 약 200 °C 부터 약 400 °C 까지 있는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**청구항 25**

제 23 항에 있어서,

상기 에칭은 이온 밀링, 스퍼터 에칭, 및 마스크 및 화학적 용해 중 적어도 하나를 포함하는, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원들의 상호 참조

[0002] 본 출원은 "Electronic, Label-Free DNA and Genome Sequencing Apparatus, Method of Fabrication, and Applications Thereof" 의 명칭으로 2016 년 2 월 9 일자로 출원된 미국 특허 가출원 제 62/293,239 호를 우선권 주장하며, 그 개시물은 그 전체가 본 명세서에 참조로서 통합된다.

[0003] 본 개시물은 일반적으로 나노 기술, 나노 제조 및 나노 전자 공학에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 DNA 및 단백질들을 포함하는 개별적인 생체분자의 전자 감지 및 분석을 위한 시스템들, 디바이스들 및 프로세스들에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0004] DNA 의 발견 이래로, 구성 화학 염기들의 서열들을 실제로 실험적으로 결정할 방법들을 개발하기 위한 노력이 집중되어 왔다. 1978 년에 Sanger 에 의해, DNA 를 체계적으로 시퀀싱하는 첫 번째 방법이 소개되었다.

[0005] 이 기본 방법은 1980 년대 말, 상업용 계기 플랫폼에서 자동화되어, 최초의 인간 게놈의 시퀀싱을 가능하게 했다. 이러한 노력의 성공은, 인간 게놈을 시퀀싱하는데 필요한 시간과 비용을 획기적으로 감소시키는 것을 목표로, 다수의 "대량 병렬 (massively parallel)" 시퀀싱 플랫폼들의 개발을 촉진시켰다. 이들 자동화된 방법들은 일반적으로, 고도로 소형화된 미세유체 포맷들에서 수백만 내지 수십억의 시퀀싱 반응들을 동시에 프로세싱하는 것에 의존한다.

[0006] 다양한 다른 관련 기술들 및 상업용 플랫폼들이 뒤따라 왔지만, 비용 및 시간의 감소들뿐만 아니라 시퀀싱의 품질 및 정확성의 추가적인 개선들이 여전히 매우 바람직하다. 이는 특히, 임상 품질 등급을 갖는 수백만의 개인들의 게놈들을 시퀀싱하는 것이 바람직한, 정밀 의학에서 광범위 사용을 위해 게놈 시퀀싱을 실시하는데 있어 그러하다. 또한, 다수의 DNA 시퀀싱 기술들은 형광 리포터들을 갖는 광학 수단을 활용한다. 그러한 방법들은 번거롭고, 검출 속도가 느리고, 대량 생산 또는 저렴한 가격이 어렵다. 비표지 DNA 또는 게놈 시퀀싱 접근법들은 형광 타입 라벨링 프로세스들 및 연관된 광학 시스템들을 사용할 필요가 없다는 장점들을 가지며, 따라서 특히 필요하다.

**발명의 내용**

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0007] 본 발명은 비표지 DNA 또는 게놈 시퀀싱 방법들, 장치들 및 애플리케이션들의 일부를 포함하는, 10 nm 이하의 나노-전극 설계 및 제조에 관한 신규하고, 제조가능하며 고도로 스케일가능한 기술들을 개시한다.
- [0008] 본 발명은 전자 DNA 시퀀싱 시스템들에서 사용하기 위한 극도로 작고 고밀도인 나노-전극 어레이들을 위해, 고유한 구조들, 조성물들 및 이를 제조하는 수단을 제공한다. 이러한 나노-전극 시스템들은 또한, 나노-전극이 어떻게 생체분자 감지 타겟들과 상호 작용하도록 기능화되는지에 의존하여, 단백질과 같은 다른 타입의 생체분자들을 분석하는데 사용될 수도 있다. 일반적으로, 본원에 개시된 나노-전극 시스템들은 이러한 생체분자 분석을 위한 시스템의 일부를 포함할 수도 있으며, 여기서 나노-전극 시스템은 생체분자들에 결합되어, 특히 생체분자 타겟의 감지 및 특성화를 위한 특정 애플리케이션, 특히 DNA 분자의 시퀀싱, 또는 전체 게놈을 구성하는 그러한 분자들의 수집에 대한 애플리케이션들을 갖는 분자 전자 센서를 구성한다.
- [0009] 본 개시물의 다양한 양태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 상기 한 쌍의 전극들 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계; 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 각각의 노출된 영역 내에서 표면을 거칠게 하기 위해 전극들을 플라즈마 에칭 또는 금 (Au) 이온 빔 주입에 노출하는 단계; 및 상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 말단들을 가지고, 각 말단은 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화 (functionalization) 를 포함하고, 상기 생체분자는 상기 나노갭을 상기 노출된 영역들에 바인딩되는 상기 생체분자의 제 1 및 제 2 말단들과 브리징한다.
- [0010] 특정 양태들에서, 레지스트 층은 두께가 약 3 nm 부터 약 20 nm 까지 측정되는 전기 절연 중합체 또는 산화물 코팅일 수도 있으며, 전극들은 금 (Au) 전극들일 수도 있다. 일부 예들에서, 사용된 패터닝은 e-빔 또는 나노-리소그래피이다.
- [0011] 다양한 실시형태들에서, 플라즈마 에칭은 RF 플라즈마, DC 플라즈마 또는 스퍼터 에칭 프로세스들을 포함한다. 플라즈마 에칭 또는 Au 이온 빔 주입 단계는 플라즈마 에칭 또는 Au 이온 빔 주입 이전에 노출된 영역의 표면적으로부터 각각의 노출된 영역 내에서 전극의 표면적을 적어도 50% 만큼 증가시킨다.
- [0012] 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 상기 한 쌍의 전극들 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계; 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노광된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 전극들을 Au 나노입자들에 노출하는 단계로서, 상기 Au 나노입자들은 각각의 노출된 영역 내에서 전극 표면들에 부착하는, 상기 전극들을 Au 나노입자들에 노출하는 단계; Au 나노입자들을 전극 표면에 결합하기 위해 어레이를 약 200 °C 부터 약 500 °C 까지 어닐링하는 단계; 및 상기 노광된 영역들을 생체분자에 노광하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 단부들을 가지고, 각 단부는 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하고, 상기 생체분자는 상기 나노갭을 상기 노광된 영역들에 바인딩되는 상기 생체분자의 제 1 및 제 2 단부들과 브리징한다. 특정 예들에서, 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 와 같은 전기적으로 절연성인 세라믹 층이고, 전극들은 금 (Au) 이다. 패터닝 단계는 e-빔 또는 나노-리소그래피를 포함할 수도 있다.
- [0013] 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 상기 한 쌍의 전극들 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계; 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 각각의 노출된 영역 내에서 합금으로부터 비-Au 금속을 선택적으로 제거하기 위해 전극들을 에천트 용액에 노출하는 단계; 및 상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 말단들을 가지고, 각 말단은 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하고, 상기 생체분자는 상기 나노갭을 상기 노출된 영역들에 바인딩되는 상기 생체분자의 제 1 및 제 2 말단들과 브리징한다. Au 금속 합금은 Au-Si, Au-Ge, Au-Bi, Au-Co, Au-Mo, Au-Rh, Au-Ru 및 Au-W 로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수도 있다. 특정 양태들에서, 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또

는 SiO<sub>2</sub> 와 같은 전기적으로 절연성인 세라믹 층이다.

[0014] 특정 예들에서, 상기 방법은 Au 및 비-Au 금속 사이의 상 분리를 촉진시키기 위해 약 10 분 내지 약 12 시간 동안 약 200 °C 부터 약 600 °C 까지에서 어닐링하는 단계를 더 포함할 수도 있다.

[0015] 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 상기 한 쌍의 전극들 위에 레지스트 층을 디포짓하는 단계; 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노출된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 각각의 노출된 영역 내의 전극 표면 상에 Au-Ag 또는 Au-Cu 합금을 디포짓하는 단계; 각각의 노출된 영역 내에 디포짓된 합금으로부터 비-Au 금속을 선택적으로 제거하기 위해 전극들을 에천트 용액에 노출하는 단계; 및 상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 말단들을 가지고, 각 말단은 상기 전극들의 쌍에 결합하기 위한 기능화를 포함하고, 상기 생체분자는 상기 나노갭을 상기 노출된 영역들에 바인딩되는 상기 생체분자의 제 1 및 제 2 말단들과 브리징한다. 특정 예들에서, 레지스트 층은 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 와 같은 전기적으로 절연성인 세라믹 층이다. 또한, 전극들은 금 (Au) 전극들일 수 있다. 다양한 예들에서, 패터닝 프로세스는 e-빔 또는 나노-리소그래피를 포함한다.

[0016] 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 상기 전극들 위에 래치가능한 자성 층을 디포짓하는 단계; 래치가능한 자성 층 위에 레지스터 층을 디포짓하는 단계; 래치가능한 층이 노출되는 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 노출된 영역을 생성하기 위해 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 래치가능한 자성 층을 자화시키기 위해 상기 전극들을 외부 자기장 또는 인가된 전압에 노출하는 단계; 및 상기 노출된 영역들을 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 말단들을 가지고, 각 말단은 자화된 래치가능한 자성 층으로의 흡인을 위해 자성 나노입자로 태그되고, 각각의 자성 나노입자는 노출된 영역들에서 각각의 전극에 유지된다. 특정 예들에서, 래치가능한 자성 층은 100 Oe 보다 높은 Hc 를 갖는 FeCrCo 또는 FeCuNi 스피노달 합금이다. 이 방법은 레지스트 층을 패터닝하는 단계 이전에 래치가능한 자성 층 위에 Au 의 층을 디포짓하는 단계를 더 포함할 수도 있다. 또한, 자성 층은 자성 나노입자-태그된 생체분자들의 자기적으로 흡인된 부착 또는 부착된 자성 나노입자-태그된 생체분자들의 영구 자석 소인 (sweep) 에 의한 제거 및 세정을 가능하게 하하도록 자화 또는 탈자화될 수 있어서, 디바이스의 다중 반복 동작들을 허용한다.

[0017] 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위한 디바이스를 제조하는 방법이 개시된다. 그 방법은: 나노갭에 의해 전극들이 분리되는 한 쌍의 백금 (Pt) 또는 레늄 (Rh) 전극들을 기판 상에 배치하는 단계; 전극 쌍 위에 두께가 약 1 nm 부터 약 10 nm 까지인 금 (Au) 막을 디포짓하는 단계; 상기 나노갭에서 또는 상기 나노갭 근처에서 각각의 전극 상에 노광된 영역을 생성하기 위해 상기 레지스트 층을 패터닝하는 단계; 전극들을 어닐링하여 Au 막의 Au 구체들로의 구상화를 유도하는 단계로서, 하나의 구체는 각각의 노출된 영역 내에 배치되는, 상기 구형화를 유도하는 단계; 구체들의 높이를 감소시키기 위해 구체들을 에칭하는 단계; 어닐링하는 단계 및 에칭하는 단계를 적어도 2 회 이상 반복하는 단계; 및 Au 구체들을 생체분자에 노출하는 단계를 포함하며, 상기 생체분자는 적어도 제 1 및 제 2 말단들을 가지고, 각 말단은 Au 구체들에 결합하기 위한 기능화를 포함하고, 상기 생체분자는 상기 나노갭을 Au 구체들에 바인딩되는 상기 생체분자의 제 1 및 제 2 말단들과 브리징한다. 이 방법에서, 어닐링은 약 200 °C 부터 400 °C 까지 약 10 분 내지 약 12 시간 동안, 또는 구상화를 야기하는데 충분한 시간/온도일 수 있다. 에칭 단계는 이온 밀링, 스퍼터 에칭, 및 마스크 및 화학적 용해 중 적어도 하나를 포함할 수도 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0018] 본 개시물의 주제는 명세서의 결론 부분에서 특히 지시되고 명확하게 주장된다. 그러나, 본 개시물의 보다 완전한 이해는, 도면과 관련하여 고려될 때 상세한 설명 및 청구 범위를 참조함으로써 가장 잘 얻어질 수도 있다.

도 1 은 전기 측정들을 통한 뉴클레오티드 부착들의 비형광 (비표지) 검출을 목적으로, 단백질 또는 단편화된 DNA 와 같은 생체분자들을 부착 또는 고정하기 위한 한 쌍의 Au 아일랜드들을 갖는, 5-20 nm 나노갭을 포함하는 구조를 갖는 게놈 시퀀싱 호환가능한 전극들을 도시한다.

도 2 는 국부적으로 정의된, 대량 병렬의, Au 아일랜드 전극 어레이들을 획득하기 위해 사용가능한 나노 패터닝

의 일 실시형태를 도시한다.

도 3 은 입자-유도된 다공성 구조 또는 에칭-유도된 다공성 구조 방법들을 통해 도입된, 고 표면적 Au 아일랜드들을 갖는 미세 구조들의 개략도이다.

도 4 는 더 강하고, 감소된 에러 강화된 생체분자 접착을 위한 고 표면적 Au 아일랜드를 도시한다.

도 5 는 전극들 (Pt, Rh 또는 Au) 상에 Au 아일랜드들을 획득하는 방법들을 도시한다.

도 6 은 반복된 구상화 및 순차적인 상부-에칭 단계들에 의한 점진적인 Au 아일랜드의 직경 감소를 도시한다.

도 7(a) 는 모든 전극 표면들 상의 선택된 위치에 생체분자 (단백질 또는 DNA 분절) 를 동시에 견고하게 접착하기 위한 자기 흡인 방법을 도시한다. 7(a) 는 모든 Au 베이스 전극 표면들 상의 선택된 위치들에 생체분자 (단백질 또는 DNA 분절) 의 동시에 견고하게 접착하기 위한 자기 흡인을 도시한다.

도 7(b) 는 생체분자의 견고한 접착을 위한 자기 흡인을 도시한다. 자성 층은 Pt, Pd 또는 Rh 형 전극 표면 상에 디포지션된다;

도 8 은 대량 병렬 금-팁-노출된 전극 어레이를 도시한다: (a) 나노-임프린팅 또는 다른 리소그래피에 의해 형성된 테이퍼형 또는 예리한 팁의 Au 전극 영역들; (b) Au 전극 표면의 다른 영역들에서 원하지 않는 생체분자 부착들을 회피하기 위해 돌출하는 팁 근처의 아일랜드 위치를 제외한 대부분의 Au 전극 표면들을 마스킹하는 구조.

도 9 는 뉴클레오티드 부착 또는 분리 이벤트들 (예컨대, 100 x 100 디바이스 어레이 또는 1,000 x 1,000 어레이) 의 대량병렬, 비표지 검출을 위한 생체분자들의 강한 접착을 위한 전극 쌍들의 어레이를 도시한다.

도 10 은 어레이의 일 측면 상에 공통 리드 와이어를 사용함으로써 전극들의 순차적 조사 (interrogation) 를 위한 구성을 도시하며, 여기서 좌측 전극들은 순차적으로 한 번에 하나씩 조사된다.

도 11 은 분자 전자 공학 계층 시퀀싱 플랫폼의 3 차원 어레이를 도시한다. 폴리머 또는 산화물 층과 같은 전기적으로 절연성인 상부 코팅은 바로 팁 금 아일랜드들을 제외하고 적용된다.

도 12 는 본 개시물에 따른 계층 또는 DNA 시퀀싱 시스템의 다양한 양태들을 도시한 흐름도를 도시한다.

도면들은 본 발명의 개념들을 설명하기 위한 것이며, 실제 척도가 아닌 것으로 이해되어야 한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0019] 본 명세서의 실시형태들에 대한 상세한 설명은 특정한 실시형태들을 예로서 도시하는 첨부된 도면들을 참조한다. 이들 실시형태들이 당업자가 본 발명을 실시할 수 있도록 충분히 상세하게 설명되지만, 다른 실시형태들 실현될 수도 있고 논리적, 화학적 및 기계적 변경들이 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 이루어질 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 본 명세서의 상세한 설명은 예시의 목적으로 제공되며 제한의 원천으로서 제공되지는 않는다. 예를 들어, 달리 언급되지 않는 한, 임의의 방법 또는 프로세스 설명들에서 열거된 단계들은 임의의 순서로 실행될 수도 있으며, 제시된 순서에 반드시 제한되는 것은 아니다. 또한, 단수에 대한 임의의 참조는 복수의 실시형태들을 포함하고, 1 초과와 컴포넌트 또는 단계에 대한 임의의 참조는 단수의 실시형태 또는 단계를 포함할 수도 있다. 또한, 부착된, 고정된, 접속된 등에 대한 임의의 참조는 영구적인, 제거가능한, 임시의, 부분의, 완전한 및/또는 임의의 다른 가능한 부착 옵션을 포함할 수도 있다. 또한, 접촉 없는 (또는 유사한 구절들) 에 대한 임의의 참조는 감소된 접촉 또는 최소의 접촉을 포함할 수도 있다.

[0020] 정의들

[0021] 명시적으로 정의되지 않은 임의의 용어는 당업자에게 공지된 일반적인 의미를 부여받아야 한다.

[0022] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "10 nm 이하 (sub-10 nm)" 는 디바이스들 및 그 안의 컴포넌트들의 크기 및 방법들이 실행될 수 있는 스케일을 지칭한다. 특히, 이 용어는 크기가 약 10 nm 미만으로 측정되는 물리적 구조들 및 약 10 nm 미만의 스케일로 다양한 프로세스들에서 단계들을 조작하는 능력을 지칭한다.

[0023] 본 명세서에서 사용되는 것과 같이, 용어 "나노갭" 은 나노미터 범위에서 측정되는 2 개의 전극들 또는 2 개의 전도성 아일랜드들 사이와 같은, 엘리먼트들 사이의 공간 또는 "갭" 을 지칭한다. 유사하게, 용어 "나노갭 (nanogapped)" 은 나노미터 스케일로 그들 사이에 갭을 갖는 2 개의 엘리먼트들을 지칭한다.

- [0024] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비표지 (label-free)" 는 형광 라벨링을 필요로 하지 않거나, 바꾸어 말하면 "비형광" 프로세스를 지칭한다.
- [0025] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 원자 원소들에 대한 심볼들 및 원소들의 연관된 명칭들은 상호교환 가능하게 또는 함께 사용될 수도 있다. 예를 들어, 원소 금은 본 명세서에서 "Au", "금" 또는 "금 (Au)" 으로 표시될 수도 있다.
- [0026] 본 명세서에서 사용되는 것과 같이, 용어 "래치가 가능한 자기 스트라이프" (또는 "래치가 가능한 자성 층") 는 외부 자계에 반응하여 자화 방향을 변화시키는 능력을 갖는 자화가 가능한 재료의 박막 또는 층, 예컨대 인가된 필드 또는 인가된 전압 이 변경됨에 따라 프로그래밍가능한 및 재구성가능한 자기 특성들을 갖는 층을 지칭한다.
- [0027] 전자 전도도 측정들에 의한 DNA 또는 게놈 시퀀싱은 종종, 생체분자가 브리징되고 전자 전류 또는 전압 신호가 검출되는 한 쌍의 전기적으로 분리된 전도성 아일랜드들을 포함하는 디바이스들을 사용하는 것을 수반한다. 도면들을 참조하면, 도 1 은 전자 전도성 측정들을 통해 뉴클레오티드 부착의 비표지 검출이 가능한 디바이스들에서 사용하기 위한 단백질 또는 단편화된 DNA 와 같은 생체분자들을 부착하거나 또는 다르게는 고정하기 위한 5-20 nm 나노갭 및 한 쌍의 금 (Au) 아일랜드들을 갖는 전극들을 도시한다. 전자 전도성 측정들에 의한 게놈/DNA 시퀀싱에 사용가능한 나노갭 전극 쌍의 일 실시형태의, 도 1(a) 는 상면도를 도시하고, 도 1(b) 는 측면도를 도시한다. 전극들은 전도성이 높은 안정하고 불활성인 금속을 포함할 수도 있다. 전극들 사이의 나노갭 (10) 은 폭이 약 5-20 nm 일 수도 있다. 예시적인 전극 금속들은 백금 (Pt), 팔라듐 (Pd), 레늄 (Rh), 티타늄 (Ti), 은 (Ag), 및 금 (Au) 또는 이들의 합금을 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 금 (Au) 이 가장 널리 사용되는 전극 재료이다. 그러나, 본 개시물의 다양한 실시형태들에 따라, 전극 표면상의 생체분자들, 단백질 또는 DNA 의 불특정의, 랜덤한 부착을 방지하기 위해, Pt, Pd, Rh 및 이들의 합금과 같은 Au 에 대한 대체물들이 활용될 수 있다. 예를 들어, Pt 베이스 전극들을 사용함으로써, 생체분자는 Pt 표면에 직접 부착하기가 훨씬 쉽다. 따라서, Pt 상에 수 나노미터 크기로 측정되는 Au 아일랜드들의 쌍을 추가하여, 생체분자, 특히 단일 생체분자의 부착이 Pt 전극 표면 자체보다는 금 아일랜드들에 한정될 수 있다.
- [0028] 예를 들어, ~ 5 nm 직경의 금 나노입자들과 같은 나노크기의 입자들은 Pt 전극과 같이 전극 표면에 정확하게 위치시키고 직접 배치하기가 어렵다. 특정 예시들에서, AFM (Amorphous Force Microscopy) 또는 SPM (Scanning Probe Microscopy) 방법들은 전극 표면 상으로 개별 Au 나노입자를 픽업, 이동 및 방출하는데 사용되어, 반 데르 발스 힘이 나노입자를, Pt 베이스 전극들의 상부에 무분별하게 배치된 Au 나노입자들 (11) 을 묘사하는 도 1(c) 에 도시된 바와 같은 의도된 위치에 유지하는 것을 보조한다. (예를 들어, Huang, 등의, 2014 년 2 월 20 일에 공개된 미국 특허 출원 공보 제 2014/0048776 참조). 그러나, 나노입자들의 이러한 정교한 이동 및 배치는 특히 전극 표면 상에 잘 접촉되지 않은 나노입자들을 초래할 수 있다. 또한, 원하는 위치들에 개별 나노입자들의 포지셔닝을 재현할 수 없다. 도 1(c) 에 도시된 바와 같이, 그렇게 강하게 접촉되지 않은 이들 나노입자들 (11) 은 높은 접촉 저항성 및 감소된 전기 전도도를 유발할 것이다. 또한, 이들 Au 나노입자들은 상이한 위치로 쉽게 측면으로 이동될 수 있거나, 또는 핸들링 동안, 예를 들어 생체분자들의 세척 또는 미세유체 프로세싱 동안 완전히 분리될 수 있다. 따라서, AFM 에 의해 가이드되는 한 번에 하나씩 나노입자의 배치는 번거롭고, 시간 소모적이며, 저비용 제조를 위해 스케일가능하지 않다.
- [0029] 따라서, 본 개시물의 일 실시형태에 따르면, Au 나노입자는 전극 표면 상에 더 강력하게 결합되어, 전극 표면과의 결합에 사용되는 Au 입자의 접촉 면적이, 반구형 아일랜드들을 도시하는 도 1(d) 의 상부 예에 도시된 것과 같이, Au 입자 직경의 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 90% 및 훨씬 더 바람직하게 100% 까지를 포함하게 한다. 반구형 아일랜드들의 상기 예에서, 단일 생체분자 (12) 가 아일랜드들과 접촉하여 전극들 사이의 갭을 브리징하는 것이 도시된다. 도 1(d) 에서의 제 2 예는 Pt 베이스 전극들 상에 "기둥 (pillar)" 형 아일랜드들을 포함하는 실시형태를 도시하며, 이들은 생체분자 브리지와의 결합을 위해 이용가능하다.
- [0030] 본 개시물에 따른 다른 실시형태는 완전히 Pt 전극들 상에 Au 아일랜드들을 제조하는 것을 회피하고, 대신에 생체분자 결합 및 브리징을 위해 Au 전극들의 노출된 부분들에 의존한다. 도 1(d)의 제 3 예에 도시된 바와 같이, 나노-패터닝된 마스크는 선택적인 생체분자 부착을 위해 사용가능하고 노출되어 남아있는 선택된 영역을 제외하고, 거의 모든 Au 전극 표면을 차단하는데 사용된다. 이 개념의 변형 예에서, 예를 들어 PMMA (폴리 메틸메타크릴레이트), 메타크릴레이트-기반 공중합체, 수소 실세스퀴옥산 (HSQ) 및 다양한 실록산 중합체와 같은 레지스트 층은 도 1(d) 의 제 4 예에 도시된 것과 같이, 전극들의 팁들을 제외하고는, 대부분의 Au 전극들을 커버하기 위해 활용될 수 있다. 레지스트 층을 활용하는 이들 2 가지 방법들이 본 명세서에서 보다 상세하

게 논의된다.

[0031] 도 2 는 Au 전극들 상의 노출된 영역들 및 단일 생체분자 결합 및 브리징을 갖는 국소 영역 정의된 전극들을 획득하는데 사용가능한 나노 패터닝 프로세스의 일 실시형태를 도시한다. 프로세스는 도 2(a)에 도시된 바와 같이 한 쌍의 Au 전극들에서 시작한다. 이 단면 측면도는 2 개의 Au 전극들을 SiO<sub>2</sub> 절연체 표면을 갖는 Si 를 포함하는 기판 상의 한 쌍의 전극들로서 도시한다. 각 전극 쌍의 나노갭 (20) 은 약 5 nm 부터 약 20 nm 까지이다. 전극들은 "어레이" 로 라벨링되어, 디바이스에서, 100 미만, 수백 또는 수천 또는 수백만 이상의 전극 쌍들로부터 복수의 그러한 전극 쌍들이 존재할 수 있음을 강조한다. 도 2 에 도시된 프로세스의 목표는 직경이 약 3-10 nm 로 측정된 각 Au 전극에서 단일의 나노 정의된 노출 영역을 획득하는 것으로, 각 노출 영역에서 하나의 생체분자의 오직 하나의 단부의 결합만을 허용할 것이다. 즉, 각 전극 상의 노출 영역은 10 nm 이하이어야 한다. 이러한 목적을 위해, 그리고 도 2(b) 에 도시된 바와 같이, 포지티브 또는 네거티브 레지스트 층 (23) 이 전극 쌍 위에 추가된다. 포지티브 레지스트 (예컨대, 폴리메틸메타크릴레이트 (PMMA)) 또는 네거티브 레지스트 (예컨대, 수소 실세스퀴옥산 (HSQ) 또는 SU-8 에폭시 레지스트) 가 사용될 수 있고, 이들 중 어느 것도 후속하는 e-빔 또는 나노-임프린트 리소그래피와 호환가능하지 않다. 특정 예들에서, 레지스트 층 (23) 은 네거티브 레지스트를 포함한다. 그 다음, e-빔 또는 나노 임프린트 리소그래피는 도 2(c) 에 도시된 바와 같이 노출 영역들 (24) 을 패터닝하는데 사용된다.

[0032] 대안적인 실시형태들에서, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> 또는 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 또는 다른 산화물 또는 질화물 층들이 Au 전극들 상에 디포지트 될 수도 있고, 중합체 레지스트 층을 사용하는 대신에 절연 층으로서 사용될 수도 있다. 이 경우, 산화물 또는 질화물 코팅이 적용되기 전에, 1-3 nm 두께의 Ti 층과 같은 매우 얇은 접착층이 Au 전극 표면 상에 디포지트 될 수도 있다. 이 보호 코팅은, 고분자이든지 또는 세라믹이든지 간에, 전기 절연체 역할을 하며, 원하지 않는 위치들에서 생체분자들의 접착을 방지하거나 최소화하는 코팅 역할을 한다.

[0033] 도 2(c) 를 참조하면, 노출된 영역 (24) 의 구성은 원형, 타원형, 정사각형, 직사각형 또는 임의의 다른 기하구조와 같은 임의의 형상일 수도 있다. Au 전극 상의 각각의 노출된 영역 (24) 의 크기는 평균적으로 직경이 약 3 nm 내지 약 15 nm (또는 형상이 원형이 아닌 경우, 전극 표면을 가로지르고 평행하는 등가의 치수) 이다. 특정 실시형태들에서, 각각의 노출된 영역 (24) 은 직경이 약 5 nm 내지 약 10 nm (또는 원형이 아닌 경우 영역을 가로지르는 등가의 치수) 이다.

[0034] 도 2 에 순차적으로 도시된 프로세스는 대량 병렬 어레이 시퀀싱 디바이스들의 프로세싱에 적합하다. 나노 임프린팅, 전자 빔 리소그래피, 웨도우 마스크 패터닝, EUV (극 자외선) 리소그래피, X 선 리소그래피 및 다른 공지된 패터닝 방법들과 같은 나노 패터닝 접근법들은 적어도 1,000, 바람직하게는 적어도 10,000 이상의 단일 전극 쌍 디바이스들의 동시의 제조를 허용한다. 시퀀싱 디바이스에서 그러한 큰 전극 어레이는 시퀀싱 속도를 크게 향상시키고, 시퀀싱 비용을 감소시킨다. 도 2(d) 는 브리지를 형성하기 위해 단부들 각각에서 각 전극 상의 노출된 영역에 부착된, 부착된 생체분자 (22) (예를 들어, 단백질, DNA 분절, 등) 를 도시한다. 다양한 실시형태들에서, 생체분자 (22) 는 항체-항원, 비오틴-스트렙타비딘, 펩타이드 결합, 기능화된 리간드, 표면 전하 또는 다른 생체분자 고정화 기술들을 사용하여 기능화된 단부들에 의해 나타난 위치내로 고정될 수도 있다. 도 2(d) 에 도시된 완전한 전극 쌍 디바이스는, 생체분자 (22) 와 다른 분자와의 상호작용들을 포함하는 시퀀싱 이벤트들의 전기 조사 ("i") 에 사용되는, 각 전극으로부터의 전기 연결들을 포함하는 것으로 도시된다.

[0035] 단백질 분석 또는 DNA/게놈 시퀀싱을 위한 디바이스들을 포함하는 분자 전자 디바이스들의 경우, 다수의 전극 쌍 디바이스들의 어레이를 사용하는 병렬 전자 감지가 바람직하다. 주어진 공간 내에 더 많은 전기 측정 디바이스들 및 회로들을 패키징하기 위해, 전극 치수들은 마이크로-치수 또는 나노-치수들로 감소되어야만 한다. 도 2 에 도시된 바와 같은 기하학 구조를 갖는 나노-전극들의 어레이가 활용될 수 있다. 그러한 어레이는 나노 임프린트 리소그래피와 같은 편리하고 스케일가능한 프로세싱 방법들을 사용하여 형성될 수 있다. e-빔 리소그래피, 자체-어셈블리 및 다른 수단과 같은 대안적인 방법들이 또한 활용될 수도 있다.

[0036] 일반적으로 분자 전자 디바이스들뿐만 아니라 비표지 전자 검출을 포함하는 DNA 및 게놈 시퀀싱에서 강하고 신뢰할 수 있는 생체분자-대-전극 (또는 생체분자-대-전도성 아일랜드) 부착은, 생체분자와의 뉴클레오티드 상호작용의 전자 조사 동안 재생가능하게 강한, 잡음-감소된 신호들을 획득하기 위해서 필수적이다. 표면이 "거친" 경우, 생체분자의 표면으로의 부착은, 표면이 생체분자가 부착할 표면적을 표면을 증가시키는 방식으로 변형된다는 것을 의미한다. 일반적으로, 이미 나노 치수의 (예컨대, 5-10 nm 면적) 구조들인 분지형 또는 다공성 구조들을 만드는 것은 어렵다. 그러나, 본 개시물에 따르면, 이러한 어려움은 극복되었고, 따라서 생

체분자들의 접촉을 향상시키기 위해 더 세분화된 나노구조들 상에서 전극 표면이 완성된다. 전극 표면 상에 세분화된 나노구조들을 포함하는 실시형태는 전극 표면 상에 디포지션된 Au 기둥이 적어도 상부 표면을 거칠게 또는 다공성으로 만드는 방식으로 손상된 표면이다.

[0037] Au 표면들은 Au-황 결합을 통해, 생체분자를 Au 표면에 접촉(고정)하기 위해 생체분자에 티올 (-SH) 기를 사용할 기회를 허용한다. 그러나, 생체분자 접촉이 티올기에 의해 제공되는 기본 Au-황 결합을 넘어서 향상될 수 있다면, 전자의, 비표지 시퀀싱에서 신뢰성 및 신호대 잡음비가 상당히 개선될 수 있다. 본 개시물에 따르면, Au 의 나노 아일랜드의 표면적을 증가시키는 것은 Au 로의 생체분자 결합을 증가시킨다. 여기서, 10 nm 이하의 Au 아일랜드의 추가의 표면 나노-구조화가 개시된다.

[0038] 지금부터 도 3 을 참조하면, 큰 표면적의 Au 아일랜드들을 갖는 예시적인 마이크로구조들의 개략도가 제공된다. 본 개시물에 따르면, 표면적의 증가는 (도 3(a) 에 도시된) 입자-유도된 다공성 구조 또는 (도 3(b) 에 도시된) 에칭-유도된 다공성 구조, 또는 다른 수단으로부터의 결과일 수 있다. 입자-유도된 다공성 구조 및 에칭-유도된 다공성 구조를 생성하는 방법들이 본 명세서에 상세하게 기재된다. 특정 실시형태들에 따르면, 생체분자들이 접촉될 Au 아일랜드들의 상부 표면에서 또는 근처에서 표면적의 증가는 평평한 표면의 Au 아일랜드들에 비해 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 100% 이다. 생체분자 접촉 강도는 평범한, 변형되지 않은 Au 아일랜드로의 접촉보다 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 60% 만큼 개선된다.

[0039] 지금부터 도 4 를 참조하면, 예시적인 큰 표면적의 Au 아일랜드 구조들 및 이들을 생성하는 방법들이 도시된다. 언급한 바와 같이, 생체분자들을 결합하기 위한 증가된 표면적은 더 강하고, 재생가능하고, 향상된 생체분자 접촉을 초래한다. 도 4(a) 내지 도 4(f) 에서, 명확성을 위해 각 전극 쌍의 오직 좌측 만이 도시된다. 도 4(a) 는 전극 (49) 및 레지스트 층 (48), 노출된 아일랜드 위치 (44) 를 포함하는 베이스 전극 구조의 실시 형태를 개략적으로 도시한다. 상기 영역 (44) 내부에서 아일랜드의 표면적이 증가될 것이다. 프로세스는 PMMA 및 다른 폴리머와 같은 절연 코팅 (48) 또는 스퍼터-증착된 SiO<sub>2</sub> 또는 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 와 같은 산화물 층을 활용함으로써, 전도성 전극 (예를 들어, Au, Pd, Pt, Rh, Ag 또는 이들의 합금) 표면 상에 패턴-정의된 Au 아일랜드 영역을 형성하는 것에 의해 시작한다. 논의된 바와 같이, e-빔 또는 나노 리소그래피는 전극들 상에 노출된 영역들 (44) 의 각각을 생성하는데 사용될 수 있다. 코팅의 성질은, 바람직한 전기 절연 특성들 및 코팅이 생체분자 접촉에 미치는 저항성에 기초하여 선택된다.

[0040] 일단 레지스트 층 (48) 이 패터닝되면, 노출된 영역 (44) 은 노출된 영역 (44) 내의 표면적을 증가시키도록 프로세싱된다. 도 4(b) 는 플라즈마 에칭에 의해 생성된 다공성 표면 구조 (401) 의 예이다. 특정 실시형태들에서, 다공성 또는 수직 나노와이어 포레스트형 표면 구조와 같은 거친 표면 구조는, 노출된 Au 아일랜드 영역에서 더 선택적으로, RF 플라즈마 또는 DC 플라즈마 에칭 (또는 스퍼터 에칭) 프로세싱에 의해 형성될 수 있다. 플라즈마 에칭의 강도 및 지속 시간은 절연 마스크 층 재료의 완전한 플라즈마 에칭을 최소화하도록 조정될 수 있다. 레지스트 층의 두께는 약 3 nm 부터 약 20 nm 까지일 수도 있고, 이 두께는 마스크 층의 완전한 플라즈마 에칭을 완화시키도록 조정될 수 있다.

[0041] 증가된 표면적을 갖는 거친 표면은 또한, 예를 들어 Au 이온 빔을 사용함으로써 이온 주입에 의해 생성 될 수 있다. 이온 빔 주입에 의해 형성된 거친 표면의 예는 도 4(c) 에서 표면 (441) 으로 도시된다. 그러나, 가속 필드와 총 이온 주입량에 의해 표시된 것과 같은 이온의 침투 깊이에 따라, 절연 코팅 아래의 Au 전극 베이스에 이온 주입 손상이 발생할 수 있다. 이와 같이, 절연 레지스트 코팅은 이온 주입으로부터 반드시 아래의 Au 표면을 보호하지 않는다. 그러나, 노출된 아일랜드 영역 이외의 영역들에서 결과적으로 거친 표면은 절연 층이 거친 전극 표면을 여전히 커버하고 있기 때문에, 시퀀싱 동작에 영향을 미치지 않는다. 본 개시물의 다양한 실시형태들에서, 포스트-어닐링 단계는 이온 주입을 따를 수도 있다.

[0042] Au 아일랜드의 표면적을 증가시키기 위해 사용되는 다른 실시형태는 도 4(d) 에 도시된 바와 같이, Au 나노입자들 (421) 을 노출된 Au 영역에 부착시키는 것을 포함한다. Au 전극에 부착된 Au 나노입자들은 표면적을 증가시켜 향상된 생체분자 부착을 발생한다. 다양한 예들에서, 공지된 방법들로 형성된, 직경이 약 1 nm 내지 약 2 nm 로 측정된 Au 나노입자들은 노출된 영역 내에서 Au 전극에 우선적으로 자연적으로 부착하는 경향이 있다. 따라서 디포지션된 Au 나노입자들은 약 200 °C 부터 약 500 °C 까지에서 옵션적으로 어닐링될 수도 있다. 절연 층 (48) 이 세라믹 기반인 경우 (예를 들어, 절연 층이 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 SiO<sub>2</sub> 를 포함하는 경우) 에만, 더 높은 온도들이 사용될 수 있다. 이들 온도들에서의 포스트-어닐링은 Au 나노입자들의 노출된 Au 표면으로의 접촉을 개선한다. 입자-유도된 다공성 구조의 예가, 예를 들어 도 3(a) 에 도시된다.

- [0043] 도 4(e) 는 노출된 Au 아일랜드 표면의 표면적을 증가시키는 프로세스의 다른 실시형태를 나타내며, Au 및 Fe 가 실온에서 또는 실온 근처에서 나타나는 불혼화성을 레버리징한다. 이 프로세스에서, 전극 베이스 층은 예를 들어, 스퍼터링 또는 증발 증착에 의해 약 50 중량% Au 및 50 중량% Fe 를 갖는 Au-Fe 합금으로부터 제조 될 수도 있다. 실온으로, 합금 상 (alloy phase) 은 침전한 Fe 나노입자들이 임베딩된 Au 매트릭스로 분리 된다. 그 후에, Fe 나노입자들은 다공성 Au 매트릭스를 남겨두도록 에칭될 수 있다. 이러한 타입의 에칭-유도된 다공성 구조의 일 예가 도 3(b) 에 도시된다. Au-Si, Au-Ge, Au-Bi, Au-Co, Au-Mo, Au-Rh, Au-Ru, Au-W 와 같은 다른 Au 베이스 합금들은 Au-Fe 합금과 유사한 방식으로 거용할 때 사용될 수 있다. 고온에서 (예컨대, 10 분 내지 12 시간 동안 200 - 600 °C 에서) 어닐링은 상 분리를 촉진시킨다. 상 분리를 향상시키는 또 다른 방식은 옵션적으로 바이어스 전압이 적용된, 150 - 400 °C 와 같은 따뜻한 기판 온도에서 스퍼터링 증착 또는 증발 증착을 수행하는 것이다.
- [0044] 도 4(f) 는 탈-합금 (de-alloying) 을 포함하는 Au 아일랜드 표면의 표면적을 증가시키기 위해 사용되는 프로세스의 다른 실시형태를 도시한다. 프로세스는 먼저, 예컨대 스퍼터링 또는 증발 증착에 의해 약 20 내지 80 중량% 의 Au 함량을 갖는 Au-Ag, Au-Cu, 또는 다른 Au 베이스 합금 층을 각각의 노출된 영역 (44) 내로 디포지트 함으로써 시작한다. 그 다음, 30% HNO<sub>3</sub> 또는 다른 에천트를 사용하는 것과 같이 비-Au 금속의 강한 화학적 에칭이 뒤따른다. 이러한 탈-합금 프로세스는 표면에서 Ag 또는 Cu 를 제거하여 매우 다공성의 구조를 남긴다. 이러한 탈-합금 기술들은 전자 시퀀싱 디바이스들에서 Au 나노-아일랜드들에 적용될 때, 상당한 표면적 증가 및 연관된 생체분자 접착의 개선을 발생한다.
- [0045] 도 4(g) 에 도시된 것은, (도 4(b) 내지 도 4(f) 에 예시된 프로세스들에 의해 획득된 것과 같은) 증가된 표면적들을 갖는 Au 아일랜드들이 어떻게 단백질 또는 DNA 와 같은 생체분자 (42) 의 향상된 부착을 위해 활용될 수 있는지의 일 실시형태이다.
- [0046] 다양한 실시형태들에서, 분지형 또는 다공성으로 특징지어지는 Au 아일랜드 영역 내의 다공성의 부피는, 평평한 및 평탄한 Au 아일랜드 구조에 비해 그 상부 표면에서 또는 그 상부 표면 근처에서 Au 아일랜드의 표면적을, 적어도 20% 만큼, 바람직하게는 적어도 40% 만큼, 더욱 바람직하게는 적어도 60% 만큼 증가시키기 위해, 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 30%, 더욱 바람직하게는 적어도 50% 이다.
- [0047] 계속해서 도면들을 참조하면, 도 5 는 Pt, Rh 또는 Au 와 같은 전극들 상에 Au 아일랜드들을 생성하는 방법들의 3 개의 실시형태들을 도시한다. 이 프로세스는 나노갭 (50) 으로 분리된 전극 쌍으로 시작한다. 이들 예시들의 각각에서, SiO<sub>2</sub> 절연체 표면을 갖는 Si 와 같은, 디바이스의 하부 기판은 명확성을 위해 도시되지 않는다. 제 1 실시형태 (1) 는 생체분자가 전극보다는 오히려 오직 Au 아일랜드 영역에만 접착하도록, 생체분자 (예를 들어, 단백질 또는 DNA 분절) 부착이 불가능한 Pt 베이스 전극을 활용한다. 더 작은 직경의 Au (501) 를 획득하기 위해, 패터닝된 Au 아일랜드 (51) 은 더 작은 직경의 구체 (501) 로 볼 업 (ball up) 하게 하도록 가열된다. Rh 전극은 또한, 더 낮은 전기 저항 (Rh 의 경우 ~ 4.5 uΩ.cm 대 Pt 의 경우 9.8 uΩ.cm 및 Au 의 경우 2.1 uΩ.cm) 과 원하지 않는 생체분자 부착의 감소된 경향 때문에, 유용한 옵션이다. 또한, Rh 는 Pt 와는 달리, Au 와의 상호 용해성이 없고 (또는 매우 작고), 따라서 합금 혼합이 최소화된다.
- [0048] 제 2 실시형태 (2) 는 모든 Au 전극 구성을 사용하며, Au 전극은 직사각형 형상으로 배치되지만, 대부분의 표면은 전극의 단부에서 아일랜드형 영역을 제외하고는 절연체 코팅 (58) 에 의해 마스킹된다. 절연체 코팅 (58) 은 폴리메틸메타크릴레이트 (PMMA), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리디메틸실록산 (PDMS) 또는 이들의 조합물, 수소 실세스퀴옥산 (HSQ) 또는 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> 와 같은 다양한 산화물 코팅들 또는 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 코팅과 같은 질화물 코팅들을 포함할 수도 있다.
- [0049] 제 3 실시형태 (3) 는 날카로운 팁 기하학 구조를 갖는 테이퍼 형상의 Au 전극들의 제조, 및 그 후에 전극들의 날카로운 팁들을 제외한 모든 다른 영역들에서 절연체 층 (580) 에 의해 전극 표면의 대부분을 마스킹하는 것을 포함한다. PEG 및 PDMS 는 단백질 및 세포에 대해 현저하게 비-접착성 특성들을 가지며, 이는 Au 아일랜드 이외의 장소들에서의 단백질 접착이 바람직하지 않은 전자 시퀀싱 디바이스들에 대해 추가적인 이점이 될 수 있다.
- [0050] 생체분자의 접착은 Au 아일랜드의 크기에 의존하기 때문에, Au 아일랜드의 크기를 제어하는 것은 시퀀싱 디바이스들에서 생체분자를 고정하는데 중요하다. 다양한 실시형태들에서, 최적의 Au 아일랜드 크기는 직경이 약 5 nm 부터 약 9 nm 까지이다. 너무 큰 직경 또는 너무 작은 직경의 Au 아일랜드는 생체분자의 재생가능하고 강한 접착을 가능하게 하지 않는다. 따라서, 본 개시물의 다양한 양태들에서, Au 아일랜드 직경을 편리하게

제어하는데 사용되는 기술들이 도시된다.

[0051] 계속해서 도면들을 참조하면, 도 6 은 점진적인 Au 아일랜드 직경 감소 프로세스를 도시한다. 이 방법은 도 6(a) 내지 도 6(f) 로부터 진행되는 반복된 "구상화" (볼 업) 및 상부-에칭을 포함한다. 도면에서, 명확성을 위해 각 전극 쌍의 오직 좌측 전극만이 도시된다. 또한, 아래의 디바이스 기관은 명확성을 위해 도시되지 않는다. 반복된 구상화 및 아일랜드 상부 에칭 프로세스들을 채용함으로써, 약 5 nm 내지 약 9 nm 의 직경들을 갖는 더 작은 직경의 Au 아일랜드들 (641) 이 더 용이하게 달성될 수 있다. 프로세스의 제 1 단계에서, 스퍼터링, 이온 빔 증착, 증발, 펄스 레이저 증착, 또는 도 6(a) 에 도시된 정의된 원형 또는 타원형 막 지오메트리 (61) 를 생성하기 위해 (예를 들어, 나노-임프린팅 또는 다른 리소그래피 방법들에 의해) 나노-패터닝되는 다른 방법에 의해, 얇은 Au 막 (예를 들어, 1 내지 10 nm 두께, 도시되지 않음) 이 먼저 Pt 또는 Rh 전극 (69) 상에 디포지션된다. 후속하는 어닐링은 Au 영역의 더 작은 직경의 Au 아일랜드 (601) 로의 구상화 볼 업을 유도한다. 어닐링은 아르곤, 질소, 형성 가스형 환원 분위기와 같은 분위기에서 약 10 분 내지 12 시간의 기간 동안 약 200 내지 약 400 °C 에 있을 수도 있다. 그 후, 볼 업된 Au 아일랜드 (601) 는 더 평평한 Au 아일랜드 지오메트리 (611) 를 생성하기 위해 (예를 들어, 이온 밀링, 스퍼터 에칭, 마스크 및 화학적 용해 에칭 등에 의한) 높이 감소를 위해 화학적 또는 플라즈마 에칭을 받는다. 후속하는 구상화 어닐링은 Au 아일랜드 직경을 더 감소시키고 Au 구형 아일랜드들 (621) 을 초래한다. 에칭 및 구상화 어닐링의 단계가 다시 반복되어, Au 아일랜드들 (621) 을 631 로, 그 후에 641 로 변환시킨다.

[0052] 도면들을 참조하면, 도 7(a) 는 자기 흡인이 모든 전극 표면들 상의 선택된 위치들에 생체분자 (단백질 또는 DNA 분절) 의 보다 견고한 접착을 동시에 제공하는, 시퀀싱 디바이스들을 형성하는 프로세스의 실시형태를 도시한다. 도면의 상단에 도시된 바와 같이, 프로세스는 전극들이 나노갭 (70) 에 의해 분리되는 전극 쌍으로 시작한다. 래치가 가능한 자기 스트라이프 (785) (예를 들어, FeCrCo 또는 FeCuNi 스피노달 합금들에 기초한 박막 스테인리스 자기 합금 또는 다른 내부식성 자기 합금) 가 Au 전극 표면 (790) 상에 디포지션된다. 보자력 (Hc) 을 갖는 자기 경도는 누설 자기장에 의한 우발적인 자화를 방지하기 위해 10 에르스텝 (0e) 보다 높게 선택되지만, 자성 나노입자들을 흡인하거나 흡인하지 못하게 하기 위해 더 용이한 자화 또는 탈자화를 위해 100 0e 미만이다. 절연체 스페이서 층 (780) 의 나노-패터닝은 그 후에, 자성 나노입자들이 양호한 전기 접촉으로 강하고 신뢰성있게 접착될 수 있는 노출 영역 (74) 을 생성하는데 사용된다.

[0053] 일단 전자 시퀀싱 디바이스가 준비되면, 자성 층은 예를 들어, 100 - 1,000 0e 의 필드에서, 외부에서 적용된 자기장에 의해, 예를 들어 페라이트 자석 또는 전자석을 사용하여 자화된다. 그 후에, 주변의 미세유체 챔버를 사용하여, 자성 나노입자들 (71) 로 이미 태그된 생체분자들 (72) 을 포함하는 액체 매질이 도입된다. 자성 나노입자들이 결합된 생체분자들은 항체-항원 결합, 스트렙타비딘-바이오틴 결합, 퀵타이드 결합, 또는 전기 충전 흡인 또는 다른 바인딩 접근법을 포함할 수도 있다. 생체분자 (72) 가 부착된 자기 입자 (71) 는 그 후에, 자기 스트라이프 (791) 의 노출 영역 상으로 흡인될 것이고, 여기서 자기 스트라이프 (791) 는 도 7(a) 에서의 더 하부 도면에 도시된 것과 같이 자기적으로 및 전기적으로 고정될 것이다. 옵션적으로, 중간 Au 나노입자가 또한, 다양한 제어 목적들을 위해 생체분자에 삽입될 수도 있다.

[0054] 생체분자들 상에 태그된 자성 나노입자들은 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 또는 Fe, Co, Ni 및 이들의 합금들을 포함하는 산화철보다 높은 자기 모멘트를 갖는 표면 보호 또는 표면 기능화된 금속 자성 입자들로부터 선택될 수 있다. 산화물 기반 자성 나노입자들은 화학적으로 안정하지만, 금속 기반 자성 나노입자들은 2-4 배 더 높은 자기 모멘트를 가지는 동안 계층 시퀀싱의 액체 환경에서 화학적 안정성이 부족할 수도 있다. 산화에 대한 보호막으로서의 약간의 표면 산화가 바람직하다. 대안적으로, 자성 나노입자들의 표면은 화학적 안정성뿐만 아니라 향상된 전기 전도성 및 생체분자들에 대한 더 많은 친화성을 제공하기 위해 Au-코팅될 수 있다.

[0055] 원하는 자기 흡인과 생체분자 부착이 발생하면, 미세유체 챔버의 액체 매질이 워싱되어 결합되지 않은 생체분자들을 제거하고, 그 후에 후속하는 시퀀싱 전자 측정들이 수행되고 완료될 수 있다. 그러한 자기 부착 기술의 특징은 생체분자 부착의 가역성, 즉 필요하다면 생체분자의 용이한 분리이다. 자기 스트라이프 (전극 상의 자성 층의 일부) 는 (예를 들어, 몇 초 동안 60 Hz AC 필드를 사용하여 200 0e 부터 거의 제로 필드까지 점진적으로 감소하는 자기장을 사용하여) 쉽게 탈자화될 수 있기 때문에, 모든 자기적으로 부착된 생체분자들은 예를 들어, 스위핑 (sweeping) 영구 자석을 채용하여 모든 자성 입자들 및 연관된 생체분자들을 분리 및 수집하고 이를 폐기함으로써, 원하는 시퀀싱 측정이 완료되면 철저하게 제거될 수 있다. 이러한 방식으로, 시퀀싱 디바이스를 재사용할 수 있고, 예를 들어, 디바이스는 최소 10 회, 최소 100 회 또는 심지어 1,000 회 재사용할 수 있다.

[0056] Au 베이스 전극들 대신에 나노갭 (700) 에 의해 분리된 Pt, Pd 또는 Rh 베이스 전극 쌍들을 활용하는 변형된 방법이 도 7(b) 에 도시된다. 이 방법에서, 얇은 Au 코팅 (785) 이 자성층 (79) 의 표면 상부에 추가되어 생체분자들의 보다 양호한 부착을 가능하게 한다. Au 층은 나노입자와 밑에 있는 자기 스트라이프 사이의 자기 흡인에 현저히 영향을 미치지 않는데, 그 이유는 밑에 있는 자성 층이 노출 된 표면에 매우 가까이 위치되기 때문이다. 도 7(a) 에 도시된 실시형태에 따라, 노출된 영역들 (740) 은 레지스트 층 (780) 의 e-빔 또는 나노-패터닝에 의해 생성된다. 그 후에, 디바이스는 자성 나노입자 (710) 로 태그된 생체분자 (720) 의 용액으로 침수되고, 여기서 자성 나노입자 (710) 가 Au 층 (791) 에 결합하고 하부의 자기 스트라이프에 자기적으로 흡인된다.

[0057] 도 8 에 도시된 것은, 대량 병렬 Au-팁-노출 전극 어레이이다. 테이퍼형 또는 날카로운 팁 Au 전극 영역들 (89) 은 먼저, 도 8(a) 에 도시된 바와 같이, 어레이에서 다수의 전극 쌍들로, 나노 임프린트 또는 다른 리소그래피에 의해 형성된다. SiO<sub>2</sub> 표면 절연체를 갖는 Si 와 같은 기판 재료는 명확성을 위해 도시되지 않는다.

도 8(b) 에 도시된 바와 같이, 그 후에, Au 전극들 (89) 은 디포지된 마스크 층 (880) 에 의해 마스크되어, 그 후에 전극들의 다른 영역들 상의 원하지 않는 생체분자 부착들을 완화하기 위해 전극들의 바로 팁들 (890) 을 제외하고, 대부분의 전극 표면 영역들을 커버하도록 패터닝된다. 이러한 목적을 위한 절연막은 예를 들어 PMMA, PEG, PDMS, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> 또는 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 를 포함할 수도 있다. 따라서, 노출된 Au 전극 팁 (890) 의 바람직한 치수는 직경이 약 5 - 9 nm 이다. 각각의 전극은 리드 와이어들 (802 및 820) 을 더 포함한다. 나노 임프린트는 도 9 에 상세된 바와 같은 다수의 디바이스들, 예컨대, 1000 초과와 디바이스의 동시 제조를 위해 가능하다. 다양한 실시형태들에서, 대량 병렬 전극 어레이는 적어도 1,000 개, 바람직하게는 적어도 10,000 개, 및 더 바람직하게는 적어도 100 만개의 디바이스들을 포함할 수도 있다.

[0058] 도 9 에 도시된 것은, 뉴클레오티드 부착 또는 분리 이벤트들의 대량 병렬, 비표지 검출을 위한 Au 나노-팁 구조 전극 쌍들 (90) 의 예시적인 어레이 (예컨대, 100 x 100 디바이스 어레이 또는 1,000 x 1,000 어레이) 이며, 전극 쌍 갭 영역 근처에 패터닝-정의된 노출 Au 전극 팁들 (990) (또는 생체분자들의 고정화를 위해 활성화된 다른 전도체 아일랜드) 이 있다. 리드 와이어들 (920) 은 패터닝된 상부 코팅 (98) 으로 절연된, Au 또는 임의의 다른 전도체 (예를 들어, Ag, Cu, Pt, Pd 또는 Rh) 일 수 있다. 뉴클레오티드 부착 또는 분리의 비표지 검출을 위한 모든 전극 쌍들은 도면에 도시된 것과 같은 전극 팁들 (990) 을 제외하고 Au 전극 표면을 커버하기 위해 절연체 막 (98) (예를 들어, PMMA, PEG, PDMS 또는 SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 또는 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) 에 의해 마스크된다. 뉴클레오티드 부착의 조사는 도 9 에 예시된 어레이 구조 구성을 사용하여 실시간으로 수행될 수 있고, 도시된 바와 같은 개별 리드 와이어들 (920) 을 포함한다.

[0059] 전자 신호 조사의 대안적인 실시형태는 도 10 에 도시된 어레이 구성을 사용하여 가능하다. 이 구성에서, 디바이스들 (1000) 의 어레이의 전극 쌍들의 우측으로부터의 모든 리드 와이어들은 공통 리드 와이어 (1020) 내로 단락된다. 어레이는 또한, 노출된 Au 팁들 (1009) 을 제외하고 대부분의 전극 어레이를 커버하는 절연체 층 (1008) 을 포함한다. 도시된 구성을 사용하여, 뉴클레오티드 부착의 조사는 공통 리드 (1020) 로 단락된 모든 리드 와이어들의 우측으로 순차적인 조사를 수행하는 것, 및 그 후에 한 번에 하나씩, 예컨대 밀리초마다 그 쌍들의 좌측 상에 존재하는 개별적인 전기 리드 와이어들 (1021) 과 교대하는 것을 포함한다. 이 방법은 수천 개의 병렬 신호들 모두를 한 번에 처리하는 것보다 전자 측정의 복잡성을 줄인다.

[0060] 도 11 에 도시된 것은, 분자 전자 계층 시퀀싱 플랫폼의 예시적인 3 차원 어레이이다. 이전의 2 개의 도면들의 실시형태들에 따라, 중합체 또는 산화물 층 (예를 들어, PMMA, PEG, PDMS, 산화 알루미늄, Si 산화물, Si 질화물, 등) 과 같은 전기적으로 절연성인 상부 코팅 (1108) 이 전극들의 바로 팁들 (1109) 을 제외하고 전극 쌍들 (1100) 내의 모든 전극 표면을 커버하도록 적용되고 패터닝된다. 이러한 보호 코팅은 전기 절연체 역할을 하지만, 또한 원하지 않는 위치들에서 생체분자의 접촉을 방지하거나 최소화하는 코팅 역할을 한다. 도 10 의 구성에 따라, 우측 전극 리드들은 공통 리드 와이어 (1120) 로 단락될 수도 한편, 좌측 리드 와이어들 (1121) 은 순차적인 조사를 위해 단독으로 남겨질 수도 있다.

[0061] 도 9 또는 도 10 형의 공중 배열 시퀀싱 구조는 도 11 에 도시된 바와 같이 3 차원으로 적층되고, 이는 분자 전자 계층 시퀀싱 플랫폼의 3 차원 어레이를 나타낸다. 3D 어레이는 각각의 2 차원 어레이 (도 11(a) 에 도시된 바와 같이, 여기서 약 10,000 개의 디바이스들 및 미세유체 챔버를 각각 포함하는 100 내지 1,000 개 층들) 에 대한 부수적인 미세유체 챔버를 더 포함하거나, 또는 대안적인 실시형태들에서, 전체 3 차원 어레이 (도 11(b) 에 도시된 바와 같이, 여기서 하나의 미세유체 챔버에 모두 수용된, 약 10,000 개의 디바이스들을 각각 갖는 감지 층들의 100 내지 1,000 개의 층들) 를 수용하는 하나 이상의 공통 미세유체 챔버를 포함한다. 이

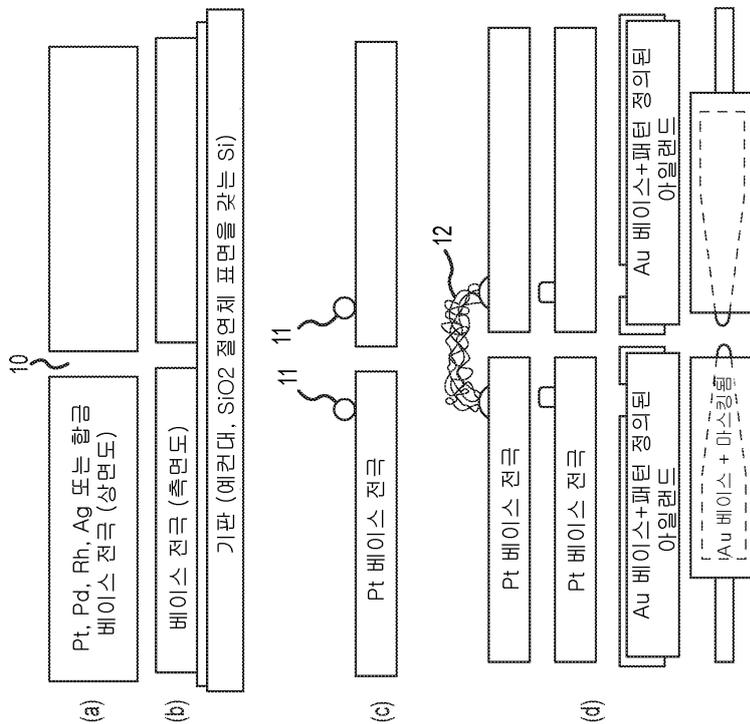
러한 3D 구성들에서, 극히 신속한 DNA 또는 게놈 시퀀싱을 위해 적어도 1 백만 내지 10 억 개의 디바이스들이 동시에 동작될 수 있다. 전자 시퀀싱 쌍 디바이스들의 바람직한 패킹 밀도는 적어도 10,000/cm<sup>2</sup>, 바람직하게는 적어도 100,000/cm<sup>2</sup>, 더 바람직하게는 적어도 1,000,000/cm<sup>2</sup>, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 10,000,000/cm<sup>2</sup> 이다.

- [0062] 본 개시물에 따른 게놈 또는 DNA 시퀀싱 구조들 및 시스템들은 도 12의 흐름도에 기술된다. 적절한 제어 및 신호 분석/통합 소프트웨어 및 컴퓨터 시스템이 통합되며, 미세유체 시스템은 시퀀싱될 DNA 및 뉴클레오티드와 함께, 생체분자 및 커플링제를 사용하여 대량 병렬 전자 검출 시스템에 연결된다.
- [0063] 추가 실시형태들
- [0064] 다양한 실시형태들에서, DNA 또는 게놈 시퀀싱 구조는 전극 쌍들의 어레이를 포함하고, 한 쌍에서 각 전극은 나노갭에 의해 분리되고 감소된 접촉 저항을 갖는 강하게 접촉되고 고도로 전도성인 아일랜드, 및 나노갭을 브리지하기 위해 하나의 전도성 아일랜드 상의 각각의 말단과 견고하게 부착된 생체분자를 포함하며, 여기서 전도성 아일랜드들은 10 nm 이하인 Au 아일랜드 치수를 갖는 Au 전극 상의 나노-패턴 정의된 Au 를 포함하고, 또한 형광 요소를 사용하지 않고 뉴클레오티드 부착 상의 DC, RF 또는 펄스 신호를 사용하는 DNA 또는 게놈 시퀀싱의 전자 수단을 더 포함한다.
- [0065] 다양한 실시형태들에서, 비 Au 전극 기반 DNA 또는 게놈 시퀀싱 구조는 전극들의 어레이 및 감소된 접촉 저항을 갖는 강하게 접촉되고 고도로 전도성인 Au 또는 다른 전도성 아일랜드들을 포함하며, 생체분자는 전도성 아일랜드들의 쌍에 견고하게 부착되고, Au 아일랜드 치수는 10 nm 이하이며, 전극 베이스 재료는 Pt, Pd, Rh 및 Ag 로부터 선택되고, DNA 또는 게놈 시퀀싱의 전자 수단은 뉴클레오티드 부착에 DC, RF 또는 펄스 신호를 사용하지만, 형광 요소를 사용하지 않는다.
- [0066] 다양한 실시형태들에서, 접촉 전도체는 Au 로 제조되고, Au 아일랜드 직경의 적어도 50%, 및 바람직하게 100%의 전극 표면으로의 접촉 면적을 갖는다.
- [0067] 다양한 실시형태들에서, 접촉 금 나노-아일랜드는, 평평한 및 평탄한 Au 아일랜드 구조에 비해 금 아일랜드 상부 표면의 표면적을, 적어도 20% 만큼, 바람직하게는 적어도 40% 만큼, 더 바람직하게는 적어도 60% 만큼 증가시키기 위해, 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 30%, 더욱 바람직하게는 적어도 50%의 다공성을 갖는 분지형 또는 다공성이다.
- [0068] 다양한 실시형태들에서, Au 아일랜드들의 표면적의 증가는: i) 플라즈마 에칭; ii) 이온 주입 및 옵션의 어닐링 열처리; iii) 금 (Au) 나노입자 부착 및 결합; iv) 나노 복합물 구조로부터 비-Au 성분을 선택적으로 용해하는 것; 또는 v) 탈-합금 프로세스의 리스트로부터 선택된 하나 이상의 방법들에 의해 획득된다.
- [0069] 다양한 실시형태들에서, 구조는 나노 임프린팅 리소그래피, 웨도우 마스크 패터닝, 전자빔 리소그래피, 극 UV 리소그래피 또는 X-레이 리소그래피와 같은 나노 패터닝 접근법들로부터 선택된 하나 이상의 방법들에 의해 제조된, 적어도 1,000 개, 바람직하게는 적어도 10,000 개, 더 바람직하게는 적어도 백만 개의 디바이스들을 갖는 병렬 디바이스들을 포함한다.
- [0070] 다양한 실시형태들에서, 구조는 미세유체 시스템들과 조합하여, 적어도 10,000 개, 바람직하게는 적어도 1 백만 개, 더 바람직하게는 적어도 1 억 개의 디바이스들을 갖는 디바이스들의 다중층들을 포함한다.
- [0071] 다양한 실시형태들에서, 전극들의 순차적인 조사는 디바이스 어레이 리드 와이어의 일 측이 공통 리드 와이어로 결합되는 접속 구조에 의해 가능하게 된다.
- [0072] 다양한 실시형태들에서, 생체분자는 항체-항원 커플링, 스트렙타비딘-바이오틴 커플링, 펩타이드 결합, 티올-금 결합, 금 결합 단백질, 또는 다른 커플링 구성들을 사용하여 Au 아일랜드에 부착된다.
- [0073] 다양한 실시형태들에서, 게놈 또는 DNA 시퀀싱 시스템은 본원에 기재된 다수의 생체분자 감지 디바이스들을 포함하는 챔버, 및 생체분자들, 뉴클레오티드들, PBS 또는 수용액, 및 다른 필요한 재료들을 공급하거나 유지하는 미세유체 서브시스템을 포함한다.
- [0074] 다양한 실시형태들에서, Au 아일랜드 직경은, 높이 및 직경을 감소시키기 위해 상부 에칭의 부분 및 구상화의 적어도 2 사이클들만큼 반복되는 프로세스로, 반복된 구상화 어닐링 및 상부-에칭에 의해 점진적으로 감소된다.
- [0075] 다양한 실시형태들에서, 높이 감소 에칭은 화학적 에칭 또는 플라즈마 에칭을 포함한다.

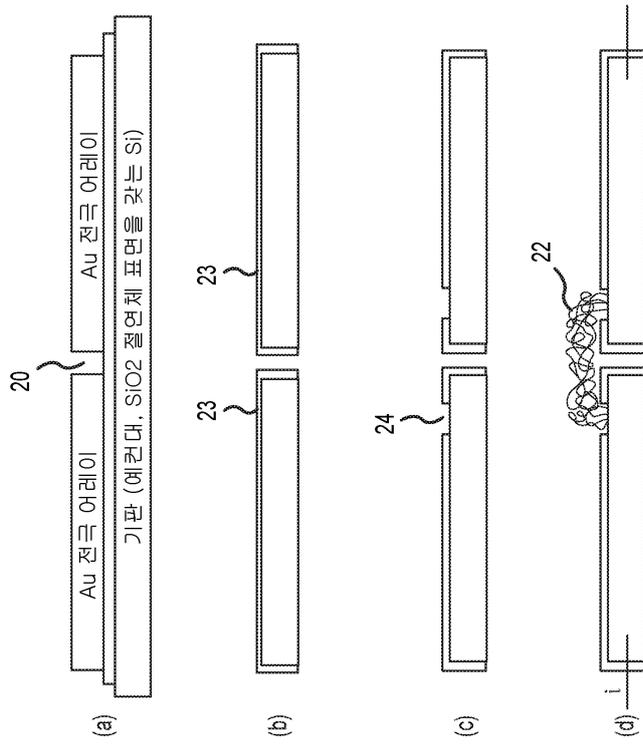
- [0076] 다양한 실시형태들에서, 상기 구조는 자성 입자 태그된 생체분자들의 부착을 향상시키기 위한 부가된 자성 층을 포함하며, 자성 입자들은 자연 화학적 안정성을 갖는 산화물 재료 또는 적어도 50% 감소된 부식률의 인자에 의한 부식 방지 및/또는 적어도 50% 증가된 생체분자 부착 가능성을 갖는 생체분자들에 대한 향상된 친화성을 위해 얇은 산화물 또는 금으로 코팅된 표면을 갖는 금속 합금 재료에 기초한다.
- [0077] 다양한 실시형태들에서, 자성 입자들은 Fe, Co, Ni 및 이들의 합금을 포함하는 산화철보다 높은 자기 모멘트를 갖는  $Fe_2O_3$ ,  $Fe_3O_4$ , 표면 보호되거나 표면 기능화된 금속 자성 입자로부터 선택된다.
- [0078] 다양한 실시형태들에서, 자성 층은 영구 자석 스위프로 부착된 생체분자의 제거 및 세정 또는 생체분자들의 자기적으로 흡인된 부착을 가능하게하기 위해 자화 또는 탈자화되고, 이는 시퀀싱 디바이스들의 다중 반복 동작들을 적어도 10 회, 바람직하게는 적어도 1,000 회 허용한다.
- [0079] 다양한 실시형태들에서, 어셈블리 방법들, 도 1 내지 도 12 및 그 안의 명세들과 연관된 동작 방법들이 개시된다.
- [0080] 다양한 실시형태들에서, DNA 시퀀싱을 위한 이들 디바이스 구조들은 암 검출 및 다른 의학적 용도로 사용될 수 있다.
- [0081] 다양한 실시형태들에서, 이들 디바이스들은 인간 게놈 시퀀싱에 유용하다.
- [0082] 앞서 설명한 실시형태들은 오직 본 발명을 예시하기 위한 것이고, 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니다. 본 발명의 사상에 따른 균등한 변형 또는 변경은 또한 본 발명의 범위 내에 포함될 것이다.

도면

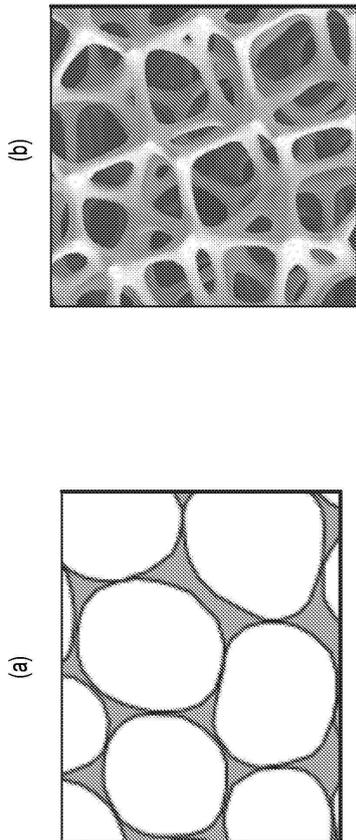
도면1



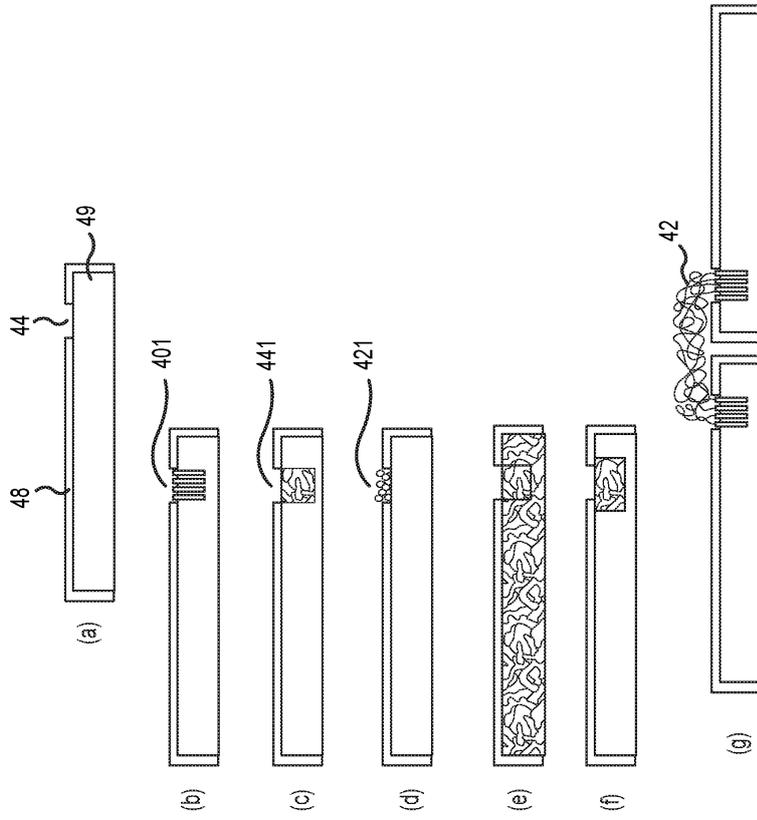
도면2



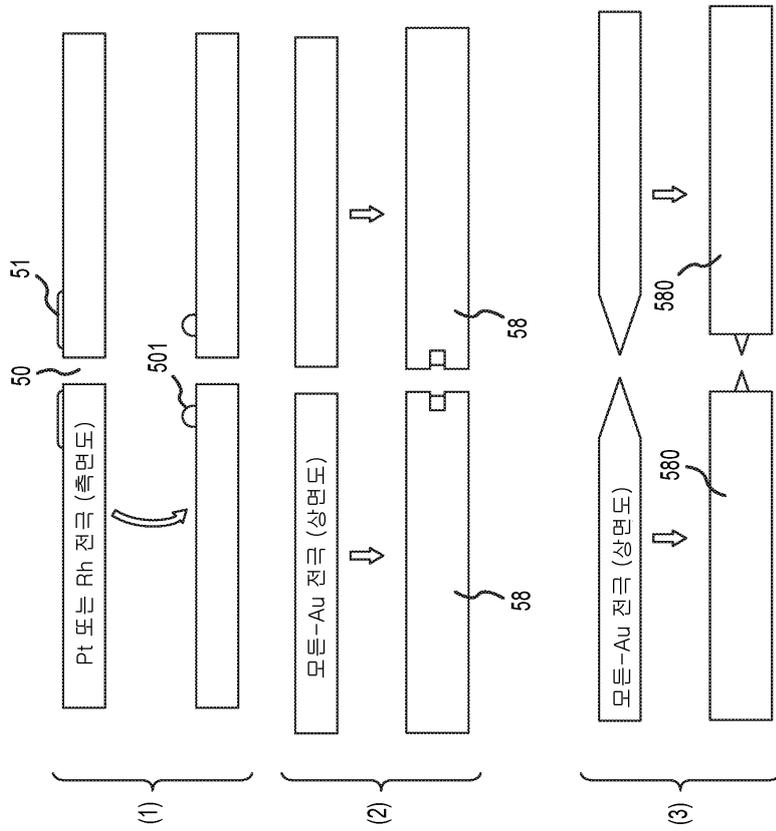
도면3



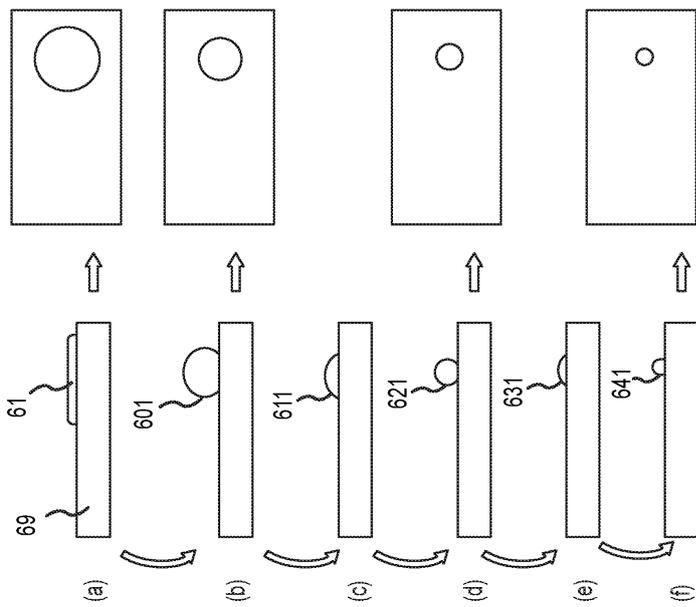
도면4



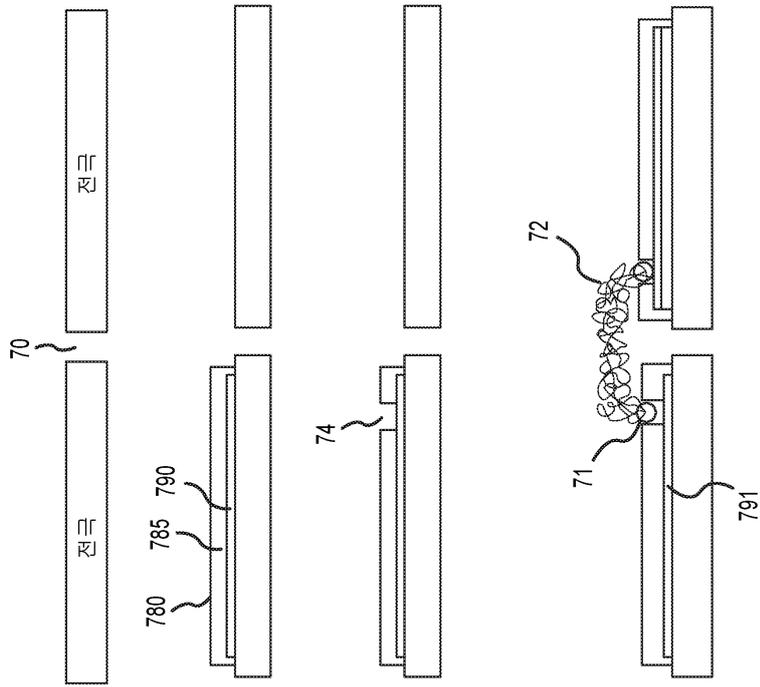
도면5



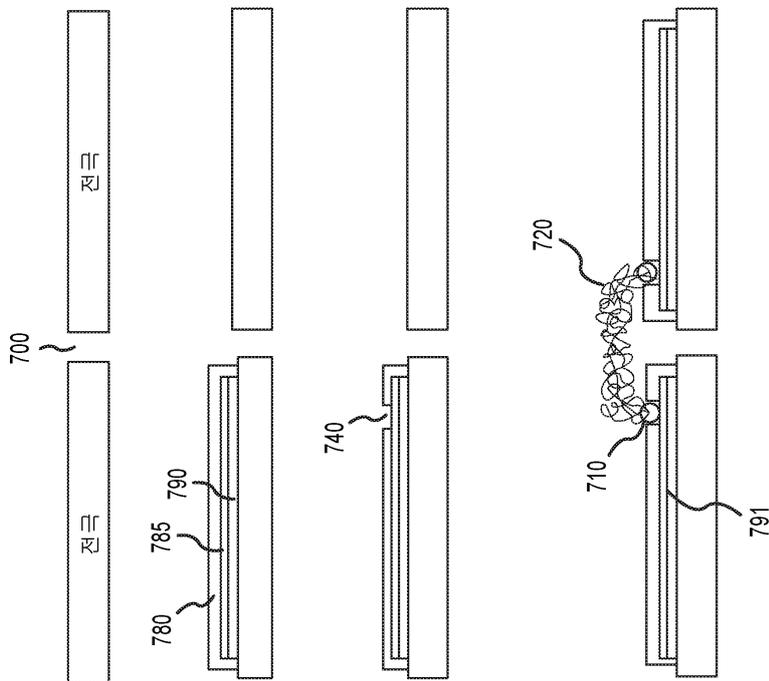
도면6



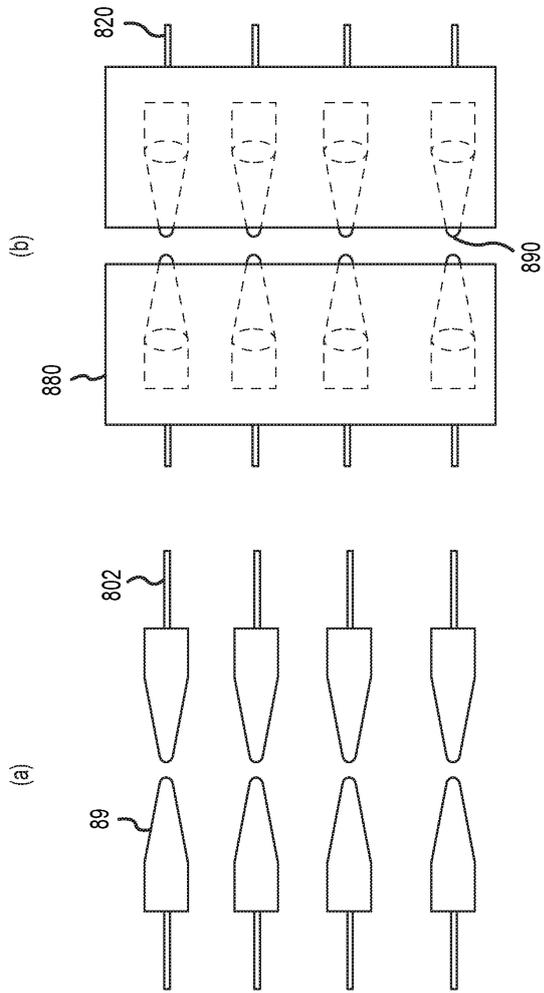
도면7a



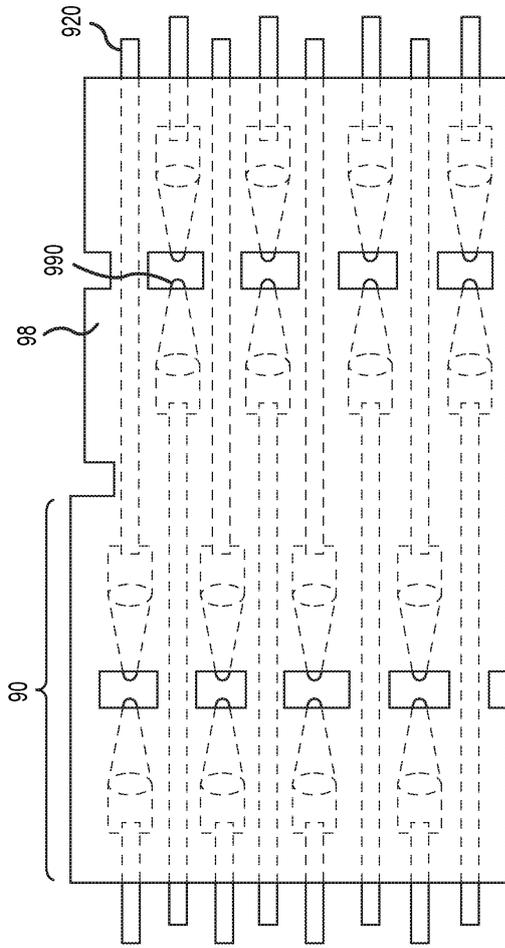
도면7b



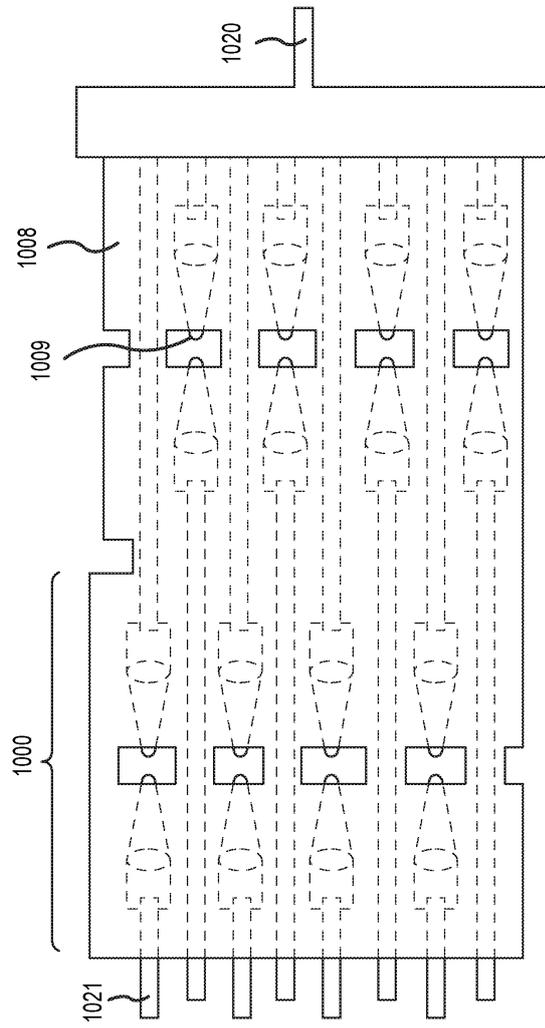
도면8



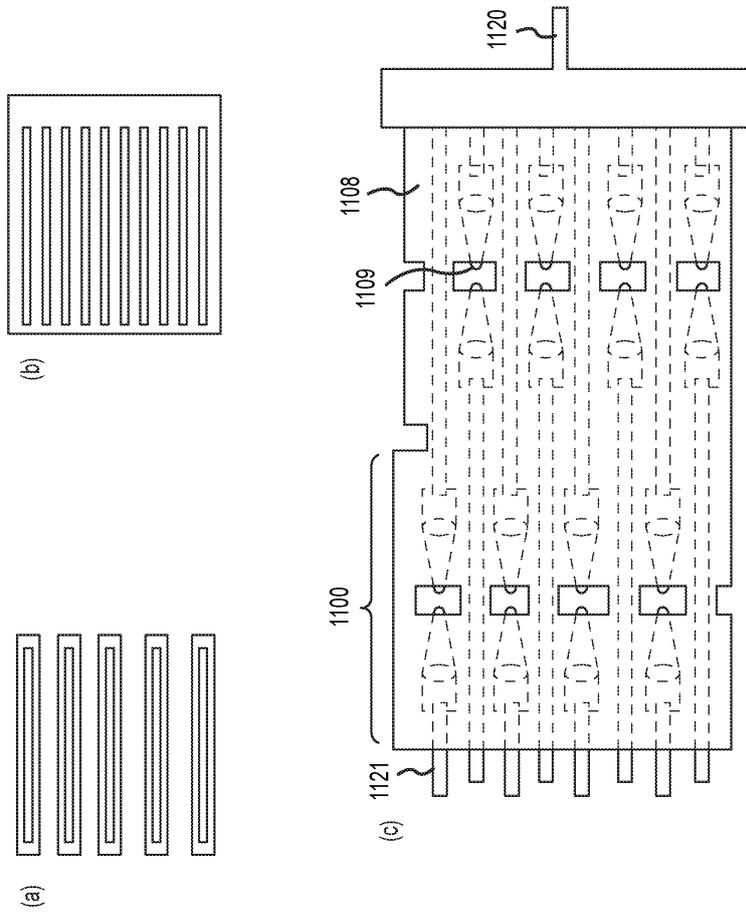
도면9



도면10



도면11



도면12

