



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I737614 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：105118116

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 08 日

(51)Int. Cl. : C12Q1/68 (2018.01)

(30)優先權：2015/06/11 美國 62/174,401

(71)申請人：博錄生技股份有限公司 (中華民國) PLEXBIO CO., LTD. (TW)

臺北市內湖區陽光街 351 號 6 樓之 1

(72)發明人：曹 汀 TSAI, DEAN (US)；黃 勤修 HUANG, CHIN SHIOU (US)；鍾曜光
CHUNG, YAO KUANG (TW)

(74)代理人：陳傳岳；郭雨嵐

(56)參考文獻：

US 2010/0081215A1

US 2014/0315300A1

審查人員：施孝欣

申請專利範圍項數：39 項 圖式數：13 共 109 頁

(54)名稱

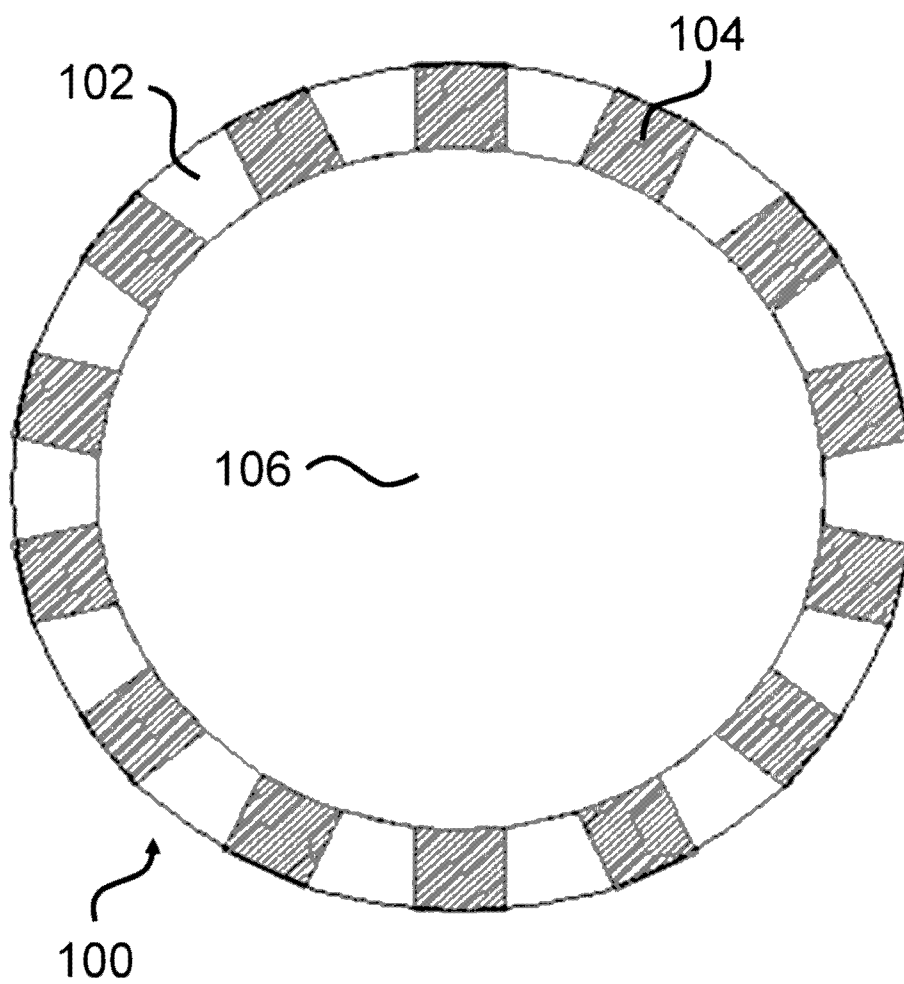
已編碼微載體及其製造方法以及用以進行多工分析之包含該等已編碼微載體之套件

(57)摘要

本發明揭示一種用於在多工分析當中檢測分析物之已編碼微載體。該等微載體使用辨識用的類比碼進行編碼，並且包含用於分析物檢測的一捕獲劑。另外提供本文所述該已編碼微載體之製作方法。進一步提供使用本文所述該等微載體進行多工分析之方法及套件。

Provided herein are encoded microcarriers for analyte detection in multiplex assays. The microcarriers are encoded with an analog code for identification and include a capture agent for analyte detection. Also provided are methods of making the encoded microcarriers disclosed herein. Further provided are methods and kits for conducting a multiplex assay using the microcarriers described herein.

指定代表圖：



符號簡單說明：

100:微載體

102:實質上透明聚合物層

104:實質上不透明聚合物層

106:中心部分

第一A圖

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※IPC 分類：

【發明名稱】(中文/英文)

已編碼微載體及其製造方法以及用以進行多工分析之包含該等已編碼微載體之套件/Encoded Microcarriers, Method for Producing the Same and a Kit Comprising the Same for Conducting a Multiplex Assay

【中文】

本發明揭示一種用於在多工分析當中檢測分析物之已編碼微載體。該等微載體使用辨識用的類比碼進行編碼，並且包含用於分析物檢測的一捕獲劑。另外提供本文所述該已編碼微載體之製作方法。進一步提供使用本文所述該等微載體進行多工分析之方法及套件。

【英文】

Provided herein are encoded microcarriers for analyte detection in multiplex assays. The microcarriers are encoded with an analog code for identification and include a capture agent for analyte detection. Also provided are methods of making the encoded microcarriers disclosed herein. Further provided are methods and kits for conducting a multiplex assay using the microcarriers described herein.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（一A）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

100 微載體

104 實質上不透明聚合物層

102 實質上透明聚合物層

106 中心部分

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

已編碼微載體及其製造方法以及用以進行多工分析之包含該等已編碼微載體之套件/Encoded Microcarriers, Method for Producing the Same and a Kit Comprising the Same for Conducting a Multiplex Assay

【相關申請案交叉參照】

【0001】 本申請案主張2015年6月11日申請、申請案號為62/174,401的美國臨時專利申請案之優先權利益，其完整內容以引用方式併入本文中。

【技術領域】

【0002】 在本文中提供已編碼微載體，用於多工分析內的分析物檢測，以及製作和使用該等微載體之方法以及相關套件。該等微載體使用辨識用的類比碼進行編碼，並且包含一捕獲劑來捕獲一分析物。

【先前技術】

【0003】 免疫學和分子診斷分析在研究和臨床領域內都扮演關鍵角色。通常需要執行多目標面板的分析，以獲得有意義或鳥瞰的結果視野，來促進研究或臨床決策。這在基因學和蛋白質學領域中尤其如此，遺傳標記及/或生物標誌的豐富度被認為會影響或預測特定疾病狀態。理論上，利用同時或依序在不同反應容器內分別測試每個目標（即是多個單工），如此可達成多目標的分析。然而，採用單工策略的分析往往不僅繁瑣，通常也需要大量樣本，尤其是當要分析的目標數量龐大時。

【0004】 多工分析在單一次分析當中同時測量多個分析物(二或更

多)。多工分析通常用於高產量篩選設定，其中一次可分析許多樣品。同時分析許多分析物以及許多樣品的能力就是多工分析的標誌，就是如此讓這種分析變成從藥品發現到功能基因組學到臨床診斷領域內的強大工具。相較於單工分析，利用在相同反應容器內結合所有目標，該分析比較簡單並且更容易執行，因為每一樣本只處置一個反應容器。如此，所需的測試樣本的體積可大幅縮小，這在樣本(例如腫瘤組織、腦脊髓液或骨髓)難以取得及/或要侵入才能大量取得來說尤其重要。而可大幅降低試劑成本並且顯著提昇分析產量也同樣重要。

【0005】 許多複雜大分子樣本的分析由兩步驟構成，在第一步驟中，在固態表面上附加尤其能夠捕獲目標大分子的藥劑。這些固定化的分子可利用許多手段，例如雜交(例如在DNA、RNA分析)或抗原-抗體交互作用(在免疫分析當中)，用來從複雜樣本當中捕獲目標大分子。在第二步驟中，檢測分子與捕獲分子以及目標的複合物一起溫育並結合，發出像是螢光這類信號或其他電磁信號。然後目標數量由這些信號的強度所量化。

【0006】 利用多種捕獲劑，每一種專門用於不同的目標大分子，來執行多工分析。在晶片型陣列多工分析中，每種捕獲劑都附接至晶片上預定位置。利用量測對應至每種捕獲劑的位置上檢測分子之信號，來決定複雜樣本內多工目標的數量。在懸浮陣列多工分析中，微粒或微載體都懸浮於分析溶液中，這些微粒或微載體內含一識別元素，可由微粒/微載體的一或多個元素所內嵌、印刷或產生。每種捕獲劑都固定化成具有相同ID的粒子，並且從粒子表面上檢測分子所發出的信號含有特定ID，反映出對應目標的

數量。

【0007】 現有的懸浮陣列多工分析系統受限於解析度。某些多工系統運用標準半導體製造技術，使用印在平坦微珠上的數位條碼。然而，利用特定數位位數所能產生的識別碼編號有限。增加獨一識別碼的數量需要增加條碼位數數量，如此需要更多空間來列印在已經係小的微珠上。另一種多工系統使用顏色編碼，例如使用獨一螢光染料編碼的螢光珠。然而，由於重疊激發/發射光譜，因此限制了可用於這種螢光系統的獨一識別碼數量，並且識別錯誤會來自於例如螢光染料成批變異。

【0008】 因此，需要一種類比編碼的多工分析系統，例如一種不受到像是數位條碼大小或螢光劑解析度限制的系統。這種系統由於使用類比碼，因此允許幾乎無限制的獨一識別碼以及最小的辨識錯誤(例如來自重疊光譜或螢光劑成批變異)。

【0009】 此處所引用的所有公開案、專利以及專利申請案都特此以引用方式完整併入本文中。

【發明內容】

【0010】 為了滿足此需求，本文提供特別係使用類比碼編碼的微載體，該微載體包含用於捕獲一分析物的捕獲劑。這些微載體可用於例如多工分析，其中每一微載體都包含一捕獲劑，用來捕獲一特定分析物以及包含用於識別的類比碼。本文內進一步提供製作與運用這種微載體之方法以及與之相關的套件。

【0011】 因此在一個態樣中，本文提供一種已編碼的微載體，包含(a)

一實質上透明的聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一表面與該第二表面彼此平行；(b)一實質上不透明的聚合物層，其中該實質上不透明的聚合物層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面上，並且包圍該實質上透明聚合物層的中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼；以及(c)一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到該實質上透明聚合物層的至少該中心部分內該實質上透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者。

【0012】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(d)一磁性、實質上不透明層，其包圍該實質上不透明聚合物層與該實質上透明聚合物層中心部分之間的該實質上透明聚合物層中心部分，其中該磁性、實質上不透明層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面或該第二表面。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(e)一第二實質上透明聚合物層，其與該第一實質上透明聚合物層對齊，該第二實質上透明聚合物層具有一中心部分，與該第一實質上透明聚合物層的該中心部分對齊，其中該第二實質上透明聚合物層固定至該第一實質上透明聚合物層的該第二表面上，並且並未延伸超過該第一實質上透明聚合物層的該平面形狀；以及(f)一磁性、實質上不透明層，其包圍該實質上不透明聚合物層與該實質上透明聚合物層中心部分之間的該第一實質上透明聚合物層中心部分，其中該磁性、實質上不透明層固定在該第一與該第二實質上透明聚合物層之間。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。在某些具體實施例內，該位向指示碼包含該磁性、

實質上不透明層的一不對稱。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層包含鎳。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度介於大約50 nm與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度大約0.1 μm 。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含具有複數個輪齒的一齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含二或多個輪齒，相隔大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(g)一或多欄，其從該第一實質上透明聚合物層的該第一表面突出，其中該等一或多欄並不在該第一實質上透明聚合物層的該中心部分之內；及/或(h)一或多欄，其從該第一實質上透明聚合物層的該第二表面或並未固定至該第一實質上透明聚合物層的該第二實質上透明聚合物層之一表面突出，其中該等一或多欄並不在該第一或該第二實質上透明聚合物層的該中心部分之內。在某些具體實施例內，該微載體實質上為圓碟。在某些具體實施例內，該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含介於大約5%與大約90%之間的該第一實質上透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含大約25%的該第一

實質上透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該微載體的直徑小於大約200 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的直徑大約是50 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約50 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度大約是10 μm 。在某些具體實施例內，該分析物選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，該第一和該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含一環氧基聚合物。在某些具體實施例內，該環氧基聚合物為SU-8。

【0013】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼的微載體，包含(a)一實質上不透明聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該實質上不透明聚合物層的輪廓包含呈現一類比碼的一平面形狀；及(b)一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到至少該實質上不透明聚合物層的一中心部分內該實質上不透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者。

【0014】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(c)一或多欄，其從該實質上不透明聚合物層的該第一表面及/或該第二表面突出，其中該

等一或多欄包含一磁性材料。在某些具體實施例內，該等一或多欄的高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(d)一磁性層，其包含固定至該實質上不透明聚合物層的該第二表面之一磁性材料，其中該磁性層並不會延伸超過該實質上不透明聚合物層的該中心部分，並且其中該捕獲劑耦合到至少該實質上不透明聚合物層的該第一表面。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含(e)一第二實質上不透明聚合物層，其與該第一實質上不透明聚合物層對齊，其中該第二實質上不透明聚合物層固定至該第一實質上透明聚合物層的該第二表面，並且不延伸超過該第一實質上透明聚合物層的該輪廓，並且其中該磁性層固定在該第一與該第二實質上透明聚合物層之間。在某些具體實施例內，該磁性材料包含鎳。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。在某些具體實施例內，該位向指示碼包含該實質上不透明聚合物層的該輪廓的一不對稱。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該輪廓包含具有複數個輪齒的一平面齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。

在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含二或多輪齒，相隔大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該微載體實質上為圓碟。在某些具體實施例內，該第一實質上不透明聚合物層的該中心部分包含介於大約5%與大約90%之間的該第一實質上不透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該第一實質上不透明聚合物層的該中心部分包含大約25%的該第一實質上不透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該微載體的直徑小於大約200 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的直徑大約是60 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約50 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度大約是10 μm 。在某些具體實施例內，該分析物選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物包含一環氧基聚合物。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物包含一黑色矩陣阻劑。

【0015】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體的製作方法，包含：(a)沉積一實質上透明聚合物層，其中該實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行；(b)沉積一磁性、

實質上不透明層於該實質上透明聚合物層的該第一表面上；(c)蝕刻該磁性、實質上不透明層，來移除該磁性、實質上不透明層沉積在該實質上透明聚合物層的一中央部分之上的部分；(d)沉積一第二實質上透明聚合物層於該磁性、實質上不透明層之上，其中該第二實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該第二表面固定至該磁性、實質上不透明層，並且其中該第二實質上透明聚合物層與該第一實質上透明聚合物層對齊，並且具有一中心部分與該實質上透明聚合物層的該中心部分對齊；以及(e)沉積一實質上不透明的聚合物層於該第二實質上透明聚合物層的該第一表面上，其中該實質上不透明的聚合物層包圍該第一和該第二實質上透明聚合物層的該中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼。

【0016】 在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層利用濕式蝕刻來蝕刻。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層包含鎳。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度介於大約50 nm與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度小於大約0.1 μm 。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層包含一不對稱用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。在某些具體實施例內，利用微影蝕刻產生該實質上不透明聚合物層的該平面形狀。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含具有複數個輪齒的一齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複

數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含二或多輪齒，相隔大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該方法進一步包含(f)在步驟(a)之前，沉積一犧牲層於一基材上；(g)使用微影蝕刻在該犧牲層內建立一或多欄狀孔；(h)在該犧牲層的該等一或多欄狀孔內沉積一第三實質上透明聚合物層，其中該第一實質上透明聚合物層在步驟(a)內沉積在該第三實質上透明聚合物層與該犧牲層的頂端上；(i)在步驟(e)之後，使用微影蝕刻將包含該實質上透明聚合物的一或多欄，沉積在該第二實質上透明聚合物層的該第一表面其未被實質上不透明聚合物層覆蓋到之一部分上；(j)在一溶劑當中溶解該犧牲層；及(k)移除該基材。在某些具體實施例內，該方法進一步包含：(f)在步驟(a)之前，沉積一犧牲層於一基材上；(g)屬於步驟(a)的一部分，將該實質上透明聚合物層沉積在該犧牲層上；(h)在步驟(e)之後，在一溶劑當中溶解該犧牲層；及(i)移除該基材。在某些具體實施例內，該已編碼的微載體實質上為圓碟。在某些具體實施例內，該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含介於大約5%與大約90%之間的該第一實質上透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含大約25%的該第一實質上透明聚合物層表面積。在某些具體實施例內，該已編碼微載體的直徑小於大約200 μm 。在某些具體實施例內，該已編碼微載

體的直徑大約是50 μm 。在某些具體實施例內，該已編碼微載體的厚度小於大約50 μm 。在某些具體實施例內，該已編碼微載體的厚度大約是10 μm 。在某些具體實施例內，該方法進一步包含：(f)將用於捕獲一分析物的一捕獲劑耦合到至少該中央部分內該第二實質上透明聚合物層的該第一表面與該第一實質上透明聚合物層的該第二表面之至少一者。在某些具體實施例內，該第一或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含一環氧化物，並且耦合該捕獲劑，包含：(i)讓該第一及/或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物與一光產酸劑以及光反應，以產生一交聯的聚合物，其中該光具有激活該光產酸劑的一波長；(ii)讓該交聯聚合物的該環氧化物與包含一胺和一羧基的化合物反應，其中該化合物的該胺與該環氧化物反應，來形成一化合物耦聯、交聯的聚合物；及(iii)讓該化合物耦聯、交聯聚合物的該羧基與該捕獲劑反應，以將該捕獲劑耦合到至少該中央部分內該第二實質上透明聚合物層的該第一表面與該第一實質上透明聚合物層的該第二表面之至少一者。在某些具體實施例內，該化合物耦聯、交聯聚合物的該羧基與該捕獲劑的一伯胺反應。在某些具體實施例內，該第一及/或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含SU-8。在某些具體實施例內，該分析物選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、

蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。

【0017】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體，其利用上面任意具體實施例的該方法所產生。

【0018】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體的製作方法，包含：(a)沉積一犧牲層於一基材上；(b)在該犧牲層上沉積一實質上不透明聚合物層，該實質上不透明聚合物層具有一輪廓、一第一表面以及一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該第二表面固定至該犧牲層；(c)利用微影蝕刻塑造該實質上不透明聚合物層的該輪廓，其中該輪廓塑造成一平面形狀呈現一類比碼；(d)在一溶劑當中溶解該犧牲聚合物層；及(e)移除該基材。在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體的製作方法，包含：(a)沉積一犧牲層於一基材上；(b)沉積包含一磁性材料的一磁性層於該犧牲層上；(c)在該磁性層上沉積一實質上不透明聚合物層，該實質上不透明聚合物層具有一輪廓、一第一表面以及一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該第二表面固定至該磁性層；(d)利用微影蝕刻塑造該實質上不透明聚合物層的該輪廓，其中該輪廓塑造成一平面形狀呈現一類比碼；(e)在一溶劑當中溶解該犧牲聚合物層；及(f)移除該基材。

【0019】 在某些具體實施例內，該方法進一步包含(g)在步驟(b)之後並且步驟(c)之前，利用微影蝕刻塑造該磁性層。在某些具體實施例內，該磁性材料包含鎳。在某些具體實施例內，該微載體包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。在某些具體實施例內，該位

向指示碼包含該實質上不透明聚合物層的該輪廓的一不對稱。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含具有複數個輪齒的一齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含二或多輪齒，相隔大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該微載體為一實質上圓碟。在某些具體實施例內，該微載體的直徑小於大約200 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的直徑大約是60 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約30 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度大約是10 μm 。在某些具體實施例內，該方法進一步包含(h)將用於捕獲一分析物的一捕獲劑耦合到至少該實質上不透明聚合物層的該第一表面與該第二表面之一者。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該實質上不透明聚合物包含一環氧化物，並且耦合該捕獲劑，包含：(i)讓該實質上不透明聚合物層的該實質上不透明聚合物與一光產酸劑以及光反應，以產生一交聯的聚合物，其中該光具有激活該光產酸劑的一波長；(ii)讓該交聯聚合物的該環氧化物與包含胺和羧基的化合物反應，其中該化合物的該胺與該環氧化物反應，來形成一化合物耦聯、交聯的聚合物；及(iii)讓該化合物耦聯、交聯聚合物的

該羧基與該捕獲劑反應，以將該捕獲劑耦合到至少該中央部分內該第二實質上透明聚合物層的該第一表面與該第一實質上透明聚合物層的該第二表面之至少一者。在某些具體實施例內，該分析物選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。在某些具體實施例內，用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。

【0020】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體，其利用上面任意具體實施例的該方法所產生。

【0021】 在另一種態樣中，本文提供一種檢測一溶液內二或多種分析物之方法，包含：**(a)**讓內含一第一分析物與一第二分析物的一溶液與複數個微載體接觸，其中該等複數個微載體包含至少：**(i)**一第一微載體，其根據上面任意具體實施例特別可捕獲該第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及**(ii)**一第二微載體，其根據上面任意具體實施例特別可捕獲該第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同；**(b)**使用類比形狀辨識將該第一類比碼和該第二類比碼解碼，來識別該第一微載體與該第二微載體；及**(c)**檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載

體的數量。

【0022】 在某些具體實施例內，步驟(b)發生在步驟(c)之前。在某些具體實施例內，步驟(c)發生在步驟(b)之前。在某些具體實施例內，步驟(b)與步驟(c)同時發生。在某些具體實施例內，解碼該第一類比碼與該第二類比碼包含：(i)利用讓光線通過該第一和第二微載體的該實質上透明部分及/或周遭溶液，來照明該第一和第二微載體，其中該光線不會通過該第一和第二微載體的該實質上不透明部分，以產生對應至該第一微載體的一第一類比編碼光圖案以及對應至該第二微載體的一第二類比編碼光圖案；(ii)將該第一類比編碼光圖案成像來產生一第一類比編碼圖像，以及將該第二類比編碼光圖案成像來產生一第二類比編碼圖像；及(iii)使用類比形狀辨識來配對該第一類比編碼圖像與該第一類比碼，以及配對該第二類比編碼圖像與該第二類比碼。在某些具體實施例內，檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量，包含：(i)在步驟(a)之後，使用一檢測劑溫育該第一和該第二微載體，其中該檢測劑與該第一微載體捕獲的該第一分析物及該第二微載體捕獲的該第二分析物結合在一起；及(ii)量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。在某些具體實施例內，該檢測劑為一螢光檢測劑，並且利用螢光顯微鏡來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。在某些具體實施例內，該檢測劑為一發光檢測劑，並且利用發光顯微鏡來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。在某些具體實施例內，該溶液包含一生物樣本。在某些具體實施例內，該生物樣本選自於血液、尿、痰、膽汁、腦脊髓液、

皮膚或脂肪組織的組織間隙液、唾液、淚液、支氣管肺泡灌洗液、口咽分泌物、腸液，子宮頸-陰道或子宮分泌物和精液所組成的群組。

【0023】 在另一種態樣中，本文提供一種包含複數個微載體的套件或製品，其中該等複數個微載體包含至少：**(a)**一第一微載體，其根據上面任意具體實施例特別可捕獲一第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及**(b)**一第二微載體，其根據上面任意具體實施例特別可捕獲一第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同。

【0024】 在某些具體實施例內，該套件或製品進一步包含一檢測劑，其用於檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。在某些具體實施例內，該套件或製品進一步包含指令，其運用該套件來檢測該第一分析物與該第二分析物。

【0025】 吾人了解，本文內說明的許多具體實施例之中一、某些或全部屬性可結合形成本發明的其它具體實施例。所屬技術領域中具有通常知識者將了解本發明的這些與其他領域。

【圖式簡單說明】

【0026】 第一A圖和第一B圖顯示示範微載體的兩種檢視。

【0027】 第一C圖和第一D圖顯示使用示範微載體進行分析物檢測的一示範分析。

【0028】 第二A圖和第二B圖顯示示範微載體的兩種檢視。

【0029】 第三圖顯示包含多個形狀變化點來產生獨一類比碼的示範

類比編碼規則。

【0030】 第四A圖顯示微載體的三個範例，每一個都具有獨一類比碼。

【0031】 第四B圖顯示根據某些具體實施例，具有獨一類比碼的微載體之範例。

【0032】 第五A圖和第五B圖顯示示範微載體的兩種檢視。

【0033】 第六A圖和第六B圖顯示示範微載體的兩種檢視。

【0034】 第六C圖顯示一示範類比碼的尺寸，尺寸的單位為 μm 。

【0035】 第七圖顯示一示範微載體。

【0036】 第八A圖顯示包含一不對稱開始位置當成一位向指示碼的示範微載體。

【0037】 第八B圖顯示包含多個形狀變化點來產生獨一類比碼的示範類比編碼規則。

【0038】 第九A圖至第九C圖顯示示範微載體的兩個檢視(第九A圖和第九B圖)，搭配一選擇性特徵的說明(第九C圖)。

【0039】 第十圖顯示用來產生示範微載體的方法。

【0040】 第十一A圖和第十一B圖顯示用來產生示範微載體的方法。

【0041】 第十二A圖至第十二E圖顯示用來產生示範微載體的方法。

【0042】 第十三A圖至第十三C圖顯示用來產生示範微載體的方法。

【實施方式】

【0043】 在一個態樣中，本文內提供已編碼微載體，用於在多工分析

當中檢測分析物。在某些具體實施例內，該微載體包含(a)一實質上透明的聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一表面與該第二表面彼此平行；(b)一實質上不透明的聚合物層，其中該實質上不透明的聚合物層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面上，並且包圍該實質上透明聚合物層的中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼；以及(c)一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到至少該實質上透明聚合物層的該中心部分內該實質上透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者。在其他具體實施例內，該微載體包含(a)一實質上不透明聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該實質上不透明聚合物層的輪廓包含呈現一類比碼的一平面形狀；及(b)一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到至少該實質上不透明聚合物層的一中心部分內該實質上不透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者。

【0044】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼微載體的製作方法。在某些具體實施例內，該方法包含(a)沉積一實質上透明聚合物層，其中該實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行；(b)沉積一磁性、實質上不透明層於該實質上透明聚合物層的該第一表面上；(c)蝕刻該磁性、實質上不透明層，來移除該磁性、實質上不透明層沉積在該實質上透明聚合物層的一中央部分之上的部分；(d)沉積一第二實質上透明聚合物層於該磁性、實質上不透明層之上，其中該第二實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼

此平行，其中該第二表面固定至該磁性、實質上不透明層，並且其中該第二實質上透明聚合物層與該第一實質上透明聚合物層對齊，並且具有一中心部分與該實質上透明聚合物層的該中心部分對齊；以及(e)沉積一實質上不透明聚合物層於該第二實質上透明聚合物層的該第一表面上，其中該實質上不透明的聚合物層包圍該第一和該第二實質上透明聚合物層的該中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼。

在其他具體實施例內，該方法包含(a)沉積一犧牲層於一基材上；(b)在該犧牲層上沉積一實質上不透明聚合物層，該實質上不透明聚合物層具有一輪廓、一第一表面以及一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該第二表面固定至該犧牲層；(c)利用微影蝕刻塑造該實質上不透明聚合物層的該輪廓，其中該輪廓塑造成一平面形狀呈現一類比碼；(d)在一溶劑當中溶解該犧牲聚合物層；及(e)移除該基材。

在其他具體實施例內，該方法包含(a)沉積一犧牲層於一基材上；(b)沉積包含一磁性材料的一磁性層於該犧牲層上；(c)在該磁性層上沉積一實質上不透明聚合物層，該實質上不透明聚合物層具有一輪廓、一第一表面以及一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行，其中該第二表面固定至該磁性層；(d)利用微影蝕刻塑造該實質上不透明聚合物層的該輪廓，其中該輪廓塑造成一平面形狀呈現一類比碼；(e)在一溶劑當中溶解該犧牲聚合物層；及(f)移除該基材。

在本文中另外提供利用在本文中所述方法產生的已編碼微載體。

【0045】 仍舊在另一個態樣中，在本文中提供檢測一溶液內二或多種分析物的方法，其利用(a)讓內含一第一分析物與一第二分析物的一溶液與

複數個微載體接觸，其中該等複數個微載體包含至少：(i)本發明的一第一微載體，其特別可捕獲該第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及(ii)本發明的一第二微載體，其特別可捕獲該第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同；(b)使用類比形狀辨識將該第一類比碼和該第二類比碼解碼，來識別該第一微載體與該第二微載體；及(c)檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。

【0046】 尚且在另一個態樣中，在本文中提供包含複數個微載體用於進行多工分析的套件或製品。該等複數個微載體包含至少：(a)本發明的一第一微載體，其特別可捕獲一第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及(b)本發明的一第二微載體，其特別可捕獲一第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同。

I. 一般技術

【0047】 在本文中說明的技術實踐中，除非另有說明，否則聚合物技術、微加工、微機電系統（MEMS）製造、微影蝕刻、微流體、有機化學、生物化學、寡核苷酸合成和修飾、生物共軛化學、核酸雜交、分子生物學、微生物學、遺傳學、重組DNA和相關領域中的傳統技術都為精通技術人士所熟知。在本文引用的參考文獻中說明該等技術，並且在文獻中有充分解釋。

【0048】 有關分子生物學以及重組DNA技術，請參閱例如：(Maniatis,

T.等人(1982), *Molecular Cloning:A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor; Ausubel, F. M. (1987), *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience; Ausubel, F. M. (1989), *Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience; Sambrook, J.等人(1989), *Molecular Cloning:A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor; Innis, M. A. (1990), *PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications*, Academic Press; Ausubel, F. M. (1992), *Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub.Associates; Ausubel, F. M. (1995), *Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Pub.Associates; Innis, M. A.等人(1995), *PCR Strategies*, Academic Press; Ausubel, F. M. (1999), *Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, 以及年度更新。

【0049】 有關DNA合成技術以及核酸化學，請參閱例如：Gait, M. J. (1990), *Oligonucleotide Synthesis:A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein, F. (1991), *Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach*, IRL Press; Adams, R. L.等人(1992), *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, Chapman & Hall; Shabarova, Z.等人(1994), *Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids*, Weinheim; Blackburn, G. M.等人(1996), *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, Oxford University Press; Hermanson, G. T. (1996), *Bioconjugate Techniques*, Academic Press)。

【0050】 有關微製造，請參閱例如：(Campbell, S. A. (1996), *The*

Science and Engineering of Microelectronic Fabrication, Oxford University Press; Zaut, P. V. (1996), *Microarray Fabrication: a Practical Guide to Semiconductor Processing*, Semiconductor Services; Madou, M. J. (1997), *Fundamentals of Microfabrication*, CRC Press; Rai-Choudhury, P. (1997), *Handbook of Microlithography, Micromachining, & Microfabrication: Microlithography*).

II. 定義

【0051】 在詳細說明本發明之前，應了解，本發明並不受限於特定成分或生物系統，而這些當然可以改變。也應了解，本說明書內所使用的術語僅為說明特定具體實施例之用，並非用於限制本發明。

【0052】 在本文中所使用的「微載體」一詞可指其上可耦合一捕獲劑的實體基材。本發明的微載體可採用任何合適的幾何外型或形狀。在某些具體實施例內，該微載體可為碟形。通常微載體的外型或形狀將包含至少在 10^{-4} 至 10^{-7} m數量級的尺寸(因此前綴「微」)。

【0053】 本文中使用的「聚合物」一詞可指包含重複單體的任何大分子結構，聚合物可為天然的(例如自然界中找到的)或合成的(例如人造的，像是由非天然單體所構成及/或自然界中未發現的組態或組合所聚合成的聚合物)。

【0054】 本文中所使用的「實質上透明」以及「實質上不透明」可指光線(例如特定波長的光線，像是紅外線、可見光、UV，以此類推)通過基材，像是聚合物層的能力。一實質上透明聚合物可指透明的、半透明的及/或透光的聚合物，而一實質上不透明聚合物可指反射及/或吸收光的聚合

物。應了解，一材料是否實質上透明或實質上不透明可取決於照射該材料的光線波長及/或亮度，以及檢測該光線前進通過該材料(或因而減少或不存在的)裝置。在某些具體實施例內，相較於周圍材料或像場，例如由光學顯微鏡(例如明場、暗場、相襯、微分干涉對比(DIC)、諾馬斯基干涉對比(NIC)、諾馬斯基、霍夫曼調製對比(HMC)或螢光顯微鏡)所成像，一實質上不透明材料導致引起可察覺到的透射光減少。在某些具體實施例內，一實質上透明材料允許可察覺的透射光量通過該材料，例如由光學顯微鏡(例如明場、暗場、相襯、微分干涉對比(DIC)、諾馬斯基干涉對比(NIC)、諾馬斯基、霍夫曼調製對比(HMC)或螢光顯微鏡)所成像。

【0055】 本文內使用的「類比碼」一詞可指其中以未量化及/或未離散方式呈現該已編碼資訊的任何碼，例如相對於數位碼。例如：一數位碼係針對一組有限值(例如0/1類型的值)在離散位置上取樣，而一類比碼可在較大範圍的位置上(或整個連續)取樣及/或可內含更廣泛的值(例如形狀)。在某些具體實施例內，可使用一或多種類比形狀辨識技術讀取或解碼一類比碼。

【0056】 本文內使用的「捕獲劑」一詞為廣義詞，在原始意義上係指可特別辨識目標分析物的任何化合物或基材。在某些具體實施例內，特定辨識可指特定結合。捕獲劑的非限制範例包含例如DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段。

【0057】 針對本文內所使用，「分析物」為廣義詞，在原始用意係指要決定其存在、不存在或數量的基材，包含但不受限於係指在像是可分析的生物樣本、細胞或細胞群這類樣本內之基材或化學成分。一分析物可為存在一種天然存在結合元件的基材，或可製備一結合元件的基材。分析物的非限制範例包含例如：抗體、抗體片段、抗原、多核苷酸(如DNA分子、DNA的模擬分子、RNA分子或RNA模擬分子)、多肽、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、小分子、細胞器、激素、細胞因子、生長因子、類固醇、維生素、毒素、藥物以及上述物質的代謝物，以及細胞、細菌、病毒、真菌、藻類、真菌孢子和類似物。

【0058】 「抗體」一詞使用最廣意義並且包含單株抗體(包括具有免疫球蛋白Fc區的全長抗體)、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體、雙抗體和單鏈分子)以及抗體片段(例如Fab、F(ab')₂和Fv)。

【0059】 針對本文所使用，「樣本」係指內含像是分子這類要檢測的材料之組成物。在一個具體實施例內，該樣本為「生物樣本」(即是從活體來源(例如人類、動物、植物、細菌、真菌、原生生物、病毒)獲得的任何材料)。該生物樣本可為任何型態，包含固體材料(如組織、細胞小球和活檢)和生物體液(例如尿液、血液、唾液、淋巴、淚液、汗液、前列腺液、精子液、精液、膽汁、粘液、羊水和漱口水(含口腔細胞))。固體材料通常混入液體。樣本也可指環境樣本，像是水、空氣、土或任何其他環境來源。

【0060】 如本說明書以及隨附申請專利範圍中所使用，單數形「一(a、an)」以及「該(the)」涵蓋複數個指稱物，除非內文明確另有所指。如

此例如：參考「一分子」選擇性包含二或多個這種分子等等的組合。

【0061】 本文內使用的「大約」一詞係指對於熟知此技術領域人士容易知道的相應值通常的誤差範圍。本文內所稱「大約」一值或參數包含(並且描述)指向該值或參數本身的具體實施例。

【0062】 應了解，本文內所描述的本發明態樣與具體實施例包含「包含」、「構成」以及「基本上由...構成」態樣與具體實施例。

III. 已編碼的微載體

【0063】 本文內提供適合用於分析物檢測，例如多工分析物檢測的已編碼微載體。本文內已經設想、說明並舉例說明已編碼微載體的許多組態。

【0064】 在某些態樣中，本文提供一種已編碼的微載體，包含：一實質上透明的聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一表面與該第二表面彼此平行；一實質上不透明的聚合物層，其中該實質上不透明的聚合物層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面上，並且包圍該實質上透明聚合物層的中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼；以及一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到該實質上透明聚合物層的至少該中心部分內該實質上透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者。如此該微載體包含至少兩層：一為實質上透明，並且另一為實質上不透明，平面形狀其呈現一類比碼。優點在於，這些微載體可運用許多平面形狀，同時仍舊維持一致的整體外型(例如該實質上透明聚合物層的周邊)，針對態樣一致性，包含例如整體尺寸、物理特性及/或在溶液內的行為。這種微載體的範例及其態樣都例示在第一

A圖至第五B圖內。

【0065】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含固定至該實質上透明聚合物層的一表面之一磁性、實質上不透明層，其包圍該實質上透明聚合物層的該中心部分。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層位於該實質上不透明聚合物層與該實質上透明聚合物層的該中心部分之間。

【0066】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一第二實質上透明聚合物層，其對齊並固定至該第一實質上透明聚合物層。在某些具體實施例內，該第一和第二實質上透明聚合物層每一者都具有一中心部分，並且該第一和第二實質上透明聚合物層的該等中心部分都對齊。在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一磁性、實質上不透明層，其包圍該第一和第二實質上透明聚合物層的該等中心部分。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層固定在該第一與第二實質上透明聚合物層之間。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層位於該實質上不透明聚合物層與該第一和第二實質上透明聚合物層的該等中心部分之間。

【0067】 在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度介於大約50 nm與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度小於大約以下厚度任一者(單位nm)：10000、9500、9000、8500、8000、7500、7000、6500、6000、5500、5000、4500、4000、3500、3000、2500、2000、1500、1000、950、900、850、800、750、700、650、600、550、500、450、400、350、300、250、200、150或100。在某些具體實施

例內，該磁性、實質上不透明層的厚度大於大約以下厚度任一者(單位nm)：
50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、
700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、3500、
4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000
或9500。也就是該磁性、實質上不透明層的厚度為具有上限10000、9500、
9000、8500、8000、7500、7000、6500、6000、5500、5000、4500、4000、
3500、3000、2500、2000、1500、1000、950、900、850、800、750、700、
650、600、550、500、450、400、350、300、250、200、150或100與獨立
選取下限50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、
650、700、750、800、850、900、950、1000、1500、2000、2500、3000、
3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、
9000或9500的厚度範圍(單位nm)之任一者，其中該下限小於該上限。

【0068】 在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度大約
0.1 μm 。在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層的厚度大約50 nm、
大約100 nm、大約150 nm、大約200 nm、大約250 nm、大約300 nm、大約
350 nm、大約400 nm、大約450 nm、大約500 nm、大約550 nm、大約600 nm、
大約650 nm、大約700 nm、大約750 nm、大約800 nm、大約850 nm、大約
900 nm、大約950 nm、大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、
大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、
大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、
大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該磁性、實質

上不透明層的厚度大約0.01 μm 、大約0.02 μm 、大約0.03 μm 、大約0.04 μm 、大約0.05 μm 、大約0.06 μm 、大約0.07 μm 、大約0.08 μm 、大約0.09 μm 、大約0.1 μm 、大約0.11 μm 、大約0.12 μm 、大約0.13 μm 、大約0.14 μm 、大約0.15 μm 、大約0.16 μm 、大約0.17 μm 、大約0.18 μm 、大約0.19 μm 、大約0.20 μm 、大約0.25 μm 、大約0.30 μm 、大約0.35 μm 、大約0.40 μm 、大約0.45 μm 或大約0.50 μm 。

【0069】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。利用成像(例如顯微鏡的形式或本文說明的其他成像)及/或利用圖像辨識軟體，該微載體可見及/或可檢測的任何特徵都可當成一位向指示碼。一位向指示碼可當成一參考點，例如用於圖像辨識演算法，來以一致的位向定位一類比碼的圖像(即是該實質上不透明聚合物層的形狀)。優點在於，如此簡化圖像辨識，因為該演算法只需要比較相同位向內特定類比碼的圖像與類比碼資料庫，而不用比較包含所有可能位向內所有類比碼的資料庫。在某些具體實施例內，該位向指示碼與該實質上不透明聚合物層無關。例如：其可形成為一磁性層及/或實質上透明聚合物層的一部分。在其他具體實施例內，該位向指示碼可形成為該實質上不透明聚合物層的一部分。在某些具體實施例內，該位向指示碼包含該磁性、實質上不透明層的一不對稱(例如由第二A圖內的間隙210所例示)。

【0070】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含從該微載體的一表面(例如該微載體的頂端及/或底部表面)突出之一或多欄。如本文內所使

用，「欄」一詞係指從該微載體表面突出並且不需要標示任何尺寸規則，也不需要任何圓筒特性的任何幾何形狀。例如：一欄的外側表面可與該微載體平行或不平行。可從一微載體突出的欄形狀範例包含但不受限於矩形棱柱、三角形、金字塔、立方體、圓柱體、球體或半球、圓錐等等。在某些具體實施例內，該等一或多欄並不在該第一及/或該第二實質上透明聚合物層的一中心部分之內。在某些具體實施例內，該等一或多欄可從該第一和第二實質上透明聚合物層之一或多者的一面向外表面突出(例如未固定至另一層的表面)。請注意，本文中任何微載體厚度的說明都不包含所陳述尺寸之下的該等一或多欄。也就是說，本文內描述的微載體厚度與從此突出的任何選擇性欄無關。

【0071】 在某些具體實施例內，該等一或多欄的高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等一或多欄的高度大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等一或多欄小於以下高度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等一或多欄大於以下高度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等一或多欄可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、

4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的高度範圍任一者，其中該下限小於該上限。

【0072】 在某些具體實施例內，該等一或多欄可為圓筒形。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑小於以下長度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑大於以下長度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等一或多欄可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的直徑範圍任一者，其中該下限小於該上限。在其他具體實施例內，該等一或多欄可具有與上文所述任何直徑粗略相同的寬度，或與上文所述任何直徑範圍粗略相同的寬度範圍，但是該等一或多欄可採用本文所描述或業界熟知的橢圓筒、拋物線圓筒、雙曲線圓筒或任何其他圓筒或多面形。

【0073】 在另一種態樣中，本文提供一種已編碼的微載體，包含：一實質上不透明聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第

二表面彼此平行，其中該實質上不透明聚合物層的輪廓包含呈現一類比碼的一平面形狀；及一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到至少該實質上不透明聚合物層的一中心部分內該實質上不透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之至少一者。如此，該微載體用該微載體本身的形狀(例如輪廓)編碼：呈現一類比碼的平面形狀。優點在於，可有效率並以高精準度製造這些微載體，進而造成高精確解碼與具有成本效益的生產。這種微載體的範例及其態樣都例示在第六A圖至第九C圖內。

【0074】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含從該實質上不透明聚合物層的一表面突出之一或多欄。如上文更詳細說明，「欄」一詞可指從該微載體表面突出並且不需要標示任何圓筒尺寸規則的任何幾何形狀。上述任何示範欄形狀都可使用。

【0075】 在某些具體實施例內，該等一或多欄的高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等一或多欄的高度大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等一或多欄小於以下高度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等一或多欄大於以下高度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等一或多欄可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、

4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的高度範圍任一者，其中該下限小於該上限。

【0076】 在某些具體實施例內，該等一或多欄可為圓筒形。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑小於以下長度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等一或多欄的直徑大於以下長度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等一或多欄可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的直徑範圍任一者，其中該下限小於該上限。在其他具體實施例內，該等一或多欄可具有與上文所述任何直徑粗略相同的寬度，或與上文所述任何直徑範圍粗略相同的寬度範圍，但是該等一或多欄可採用本文所描述或業界熟知的橢圓筒、拋物線圓筒、雙曲線圓筒或任何其他圓筒或多面形。

【0077】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一磁性層，其包

含固定至該實質上不透明聚合物層一表面的一磁性材料。在某些具體實施例內，該磁性層並未延伸超過該實質上不透明聚合物層的該平面形狀。也就是說，若該實質上不透明聚合物層的輪廓要成像，則該磁性層存在與否都不會改變產生的圖像。在某些具體實施例內，該磁性層可包含上述一或多欄。如此，上述該等一或多欄可由本文所描述的磁性材料製成。

【0078】 在某些具體實施例內，該微載體進一步包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。利用成像(例如顯微鏡的形式或本文說明的其他成像)及/或利用圖像辨識軟體，該微載體可見及/或可檢測的任何特徵都可當成一位向指示碼。一位向指示碼可當成一參考點，例如用於圖像辨識演算法，來以一致的位向定位一類比碼的圖像(即是該實質上不透明聚合物層的形狀)。優點在於，如此簡化圖像辨識，因為該演算法只需要比較相同位向內特定類比碼的圖像與類比碼資料庫，而不用比較包含所有可能位向內所有類比碼的資料庫。在某些具體實施例內，該位向指示碼包含該實質上不透明聚合物層的該輪廓的一不對稱。例如：該位向指示碼可包含該微載體輪廓的一可見特徵，像是不對稱(例如第八A圖和第九A圖內開始位置804和904所例示)。

【0079】 本文所述的任何微載體都可包含以下所述一或多個特徵、元件或態樣。此外，根據該微載體的具體實施例，如上述，以下所述的一或多個特徵、元件或態樣可採用不同的特性。

【0080】 在某些具體實施例內，本發明的該實質上透明聚合物包含一環氧基聚合物。適合用來製造本文所述組成物的環氧基聚合物包含但不受

限於，Hexion Specialty Chemicals, Inc. (Columbus, OH)所生產的EPON™系列環氧樹脂，以及The Dow Chemical Company (Midland, MI)提供的任何數量環氧樹脂。許多合適聚合物的範例都為所屬領域所熟知，包含但不受限於SU-8、EPON 1002F、EPON 165/154和聚(甲基丙烯酸甲酯)/聚(丙烯酸)的嵌段共聚物(PMMA-co-PAA)。有關更多聚合物，請參閱例如Warad, *IC Packaging: Package Construction Analysis in Ultra Small IC Packaging*, LAP LAMBERT Academic Publishing (2010)、*The Electronic Packaging Handbook*, CRC Press (Blackwell, ed.), (2000)以及Pecht等人所著的*Electronic Packaging Materials and Their Properties*, CCR Press，第一版，(1998)。這些類型的材料具有在水性環境下不溶脹的優點，確保在微載體群之內維持均勻的微載體大小與形狀。在某些具體實施例內，該實質上透明聚合物為一光阻聚合物。在某些具體實施例內，該環氧基聚合物為一環氧基、負色調、近紫外線光阻。在某些具體實施例內，該環氧基聚合物為SU-8。

【0081】 在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物為本文所述聚合物(例如SU-8)混合一或多種不透明或有顏色的染料。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物為一黑色矩陣阻劑。可使用所屬領域內已知的任何黑色矩陣阻劑，相關示範黑色矩陣阻劑及方法，請參閱例如第8,610,848號美國專利。在某些具體實施例內，該黑色矩陣阻劑可為黑色染料著色的光阻，例如在LCD濾色器上製作圖案當成黑色矩陣的一部分。黑色矩陣阻劑可包含但不受限於由Toppan Printing Co. (Tokyo)、Tokyo OHKA Kogyo (Kawasaki)以及Daxin Materials Corp. (Taichung City, Taiwan)所販售的阻劑。

【0082】 在某些具體實施例內，參照一或多聚合物層的中心部分。本發明的中心部分可採用任何形狀。在某些具體實施例內，該中心部分的形狀可反映或對應至該對應聚合物層的形狀(例如輪廓)。在某些具體實施例內，該中心部分的形狀可與該對應聚合物層的形狀(例如輪廓)無關。例如：圓形微載體表面的中心部分在某些具體實施例內為圓形，並且在其他具體實施例內為方形。方形微載體表面的中心部分在某些具體實施例內為方形，並且在其他具體實施例內為圓形。

【0083】 在某些具體實施例內，本發明的聚合物層中心部分是聚合物層表面積的大約5%、大約7%、大約10%、大約15%、大約20%、大約25%、大約30%、大約35%、大約40%、大約45%、大約50%、大約55%、大約60%、大約65%、大約70%、大約75%、大約80%、大約85%或大約90%。在某些具體實施例內，本發明的聚合物層中心部分小於下列該實質上透明聚合物層組分的任一者(單位%)：90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10或7。在某些具體實施例內，本發明的聚合物層中心部分大於下列該實質上透明聚合物層組分的任一者(單位%)：5、7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或85。如此，該中心部分內含的該聚合物層表面積之組分可為具有上限90、85、80、75、70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10或7以及獨立選取下限5、7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或85的百分比範圍任一者，其中該下限小於該上限。在某些具體實施例內，聚合物層的該中心部分包含大約25%的該聚合物層表面積。在某些具體

實施例內，微載體表面的該中心部分包含整個表面減去該微載體的輪廓部分。

【0084】 如上述，本發明的微載體可進一步包含一磁性層，其可採用本文所述的許多形狀。在某些具體實施例內，該磁性層可為一實質上不透明層。在某些具體實施例內，該磁性層包含一磁性材料。本發明的磁性層可由任何合適的磁性材料製成，像是具有順磁、鐵磁或亞鐵磁屬性的材料。磁性材料的範例包含但不受限於鐵、鎳、鈷和某些稀土金屬(例如釷、鐳、釷、釷等等)，及其合金。在某些具體實施例內，該磁性材料包含鎳、包含但不受限於元素鎳與磁性鎳合金，像是鋁鎳鈷和坡莫合金。在本發明的微載體內包含磁性層具有優點，例如有助於磁性分離，這在清洗、收集與操縱一或多個微載體時有用。

【0085】 如上述，在某些具體實施例內，該磁性層可固定至該實質上透明聚合物層的一表面，並且包圍該實質上透明聚合物層的中心部分。在其他具體實施例中，如上述，該磁性層可包含一或多欄；即是上述該等一或多欄可由本文所述的磁性材料製成。

【0086】 在某些具體實施例內，本發明的微載體可使用構成平面形狀的一實質上不透明層來編碼，例如：如上述，該平面形狀可構成一實質上不透明層的形狀，對比該微載體的一實質上透明層，或可構成微載體本身的形狀(例如周邊)。可容納複數個可解析並且獨特變體的任何平面形狀都可使用。在某些具體實施例內，該平面形狀包含一或多直線、圓形、橢圓形、矩形、四邊形或更多邊形態樣、元件及/或形狀。

【0087】 在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含一齒輪形狀。本文內所使用的齒輪形狀可指排列在實質上環形、橢圓形或圓形本體周邊上的複數個形狀(例如輪齒)，而該等複數個形狀的至少二者在空間上分離。在某些具體實施例內，該齒輪形狀包含複數個輪齒。在某些具體實施例內，該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置。優點在於，一齒輪形狀涵蓋多個態樣，包含輪齒的高度、輪齒的寬度、輪齒的數量以及輪齒的配置，不過其可改變，以便產生非常多樣的潛在獨特平面形狀。然而應了解，因為本發明的齒輪形狀係用於編碼，並且實際上不需要與其他齒輪咬合(例如用來傳輸扭力的機械齒輪)，本發明的輪齒並不受限於需要一致或咬合的形狀，也不受限在一個齒輪形狀之內或多個齒輪形狀之間。如此，本發明齒輪形狀可考慮的形狀多樣性顯著大於機械齒輪。

【0088】 在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含寬度大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 的一或多個輪齒。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度小於以下寬度任一者(單位 μm)：10、9.5、

9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其寬度大於以下寬度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的寬度範圍任一者，其中該下限小於該上限。

【0089】 在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度介於大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，高度大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度小於以下寬度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其高度大於以下寬度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其可為具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的高度範圍任一者，其中該下限小於該上限。

應了解，根據參考點，若從輪齒延伸的相鄰周邊區段不平整，則輪齒可具有不同的可量測高度(請參閱如第六C圖內的輪齒602，根據參考點，其高度可為4或6.5 μm)。

【0090】 在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，相隔大約1 μm 與大約10 μm 之間。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其相隔大約1 μm 、大約1.5 μm 、大約2 μm 、大約2.5 μm 、大約3 μm 、大約3.5 μm 、大約4 μm 、大約4.5 μm 、大約5 μm 、大約5.5 μm 、大約6 μm 、大約6.5 μm 、大約7 μm 、大約7.5 μm 、大約8 μm 、大約8.5 μm 、大約9 μm 、大約9.5 μm 或大約10 μm 。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其間隔小於以下間隔寬度任一者(單位 μm)：10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5。在某些具體實施例內，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其間隔大於以下間隔寬度任一者(單位 μm)：1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5。如此，該等複數個輪齒包含一或多個輪齒，其間隔具有上限10、9.5、9、8.5、8、7.5、7、6.5、6、5.5、5、4.5、4、3.5、3、2.5、2或1.5以及獨立選取下限1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9或9.5的寬度範圍任一者，其中該下限小於該上限。

【0091】 在某些具體實施例內，本發明的微載體為一實質上圓碟。如本文所使用，一實質上圓形可指該形狀周邊所有點與該形狀幾何中心之間粗略具有一致距離的任何形狀。在某些具體實施例內，若連接該幾何中心與周邊上已知一點的任何潛在半徑間之變化為長度的10%或更小，則可考慮

一形狀為實質上圓形。如本文所使用，實質上圓碟可指其中該形狀的厚度顯著小於其直徑的任何實質上圓形。例如在某些具體實施例內，一實質上圓碟的厚度小於其直徑大約50%、大約40%、大約30%、大約20%、大約15%、大約10%或大約5%。在特定具體實施例內，該實質上圓碟的厚度大約是其直徑的20%。應了解，本發明中輪廓為齒輪形狀的該等微載體也可考量為實質上圓碟；例如排除該一或多個輪齒的該微載體之形狀可包含一實質上圓碟。

【0092】 在某些具體實施例內，該微載體的直徑小於大約200 μm 。例如在某些具體實施例內，該微載體的直徑小於大約200、小於大約180 μm 、小於大約160 μm 、小於大約140 μm 、小於大約120 μm 、小於大約100 μm 、小於大約80 μm 、小於大約60 μm 、小於大約40 μm 或小於大約20 μm 。

【0093】 在某些具體實施例內，該微載體的直徑大約180 μm 、大約160 μm 、大約140 μm 、大約120 μm 、大約100 μm 、大約90 μm 、大約80 μm 、大約70 μm 、大約60 μm 、大約50 μm 、大約40 μm 、大約30 μm 、大約20 μm 或大約10 μm 。在特定具體實施例內，該微載體的直徑大約是60 μm 。

【0094】 在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約50 μm 。例如在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約70、小於大約60 μm 、小於大約50 μm 、小於大約40 μm 、小於大約30 μm 、小於大約25 μm 、小於大約20 μm 、小於大約15 μm 、小於大約10 μm 或小於大約5 μm 。在某些具體實施例內，該微載體的厚度小於大約以下厚度任一者(單位 μm)：70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3或

2。在某些具體實施例內，該微載體的厚度大於大約以下厚度任一者(單位 μm)：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60或65。如此，該微載體的厚度可為具有上限70、65、60、55、50、45、40、35、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3或2以及獨立選取下限1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60或65的厚度範圍(單位 μm)任一者，其中該下限小於該上限。

【0095】 在某些具體實施例內，該微載體的厚度大約50 μm 、大約45 μm 、大約40 μm 、大約35 μm 、大約30 μm 、大約25 μm 、大約20 μm 、大約19 μm 、大約18 μm 、大約17 μm 、大約16 μm 、大約15 μm 、大約14 μm 、大約13 μm 、大約12 μm 、大約11 μm 、大約10 μm 、大約9 μm 、大約8 μm 、大約7 μm 、大約6 μm 、大約5 μm 、大約4 μm 、大約3 μm 、大約2 μm 或大約1 μm 。在特定具體實施例內，該微載體的厚度大約是10 μm 。

【0096】 在某些態樣中，本發明的微載體可包含一捕獲劑。在某些具體實施例內，一特定微載體物種的捕獲劑可為「唯一捕獲劑」，例如一捕獲劑關聯於具有特定識別碼(例如類比碼)的一特定微載體物種。該捕獲劑可為任何生物分子，或可結合溶液內所存在一或多種分析物(像是生物分子或化學化合物)之化學化合物。生物分子捕獲劑的非限制範例為DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段。化學化合物捕獲劑的非限制範圍為化學數據庫的個別元件、小分子或環境毒素(例如農藥或重金屬)。

【0097】 在某些具體實施例內，該捕獲劑耦合至該微載體的表面(在某些具體實施例內，至少該微載體表面的中心部分內)。在某些具體實施例內，該捕獲劑可用化學方式附加至該微載體。在某些具體實施例內，該捕獲劑可用物理方式吸收於該微載體的表面。在某些具體實施例內，該捕獲劑與該微載體表面之間的附著連接可為共價鍵。在其他具體實施例內，該捕獲劑與該微載體表面之間的附著連接可為非共價鍵，包含但不受限於鹽橋或其他離子鍵、一或多個氫鍵、疏水相互作用、凡德瓦力、分散力、機械鍵、一或多個鹵鍵、親金作用、嵌插或堆疊。

【0098】 在某些態樣中，超過一種(例如二、三、四、五、六、七、八、九或十)用於相同分析物的捕獲劑每一都可關聯於本文所述的一微載體。在此具體實施例內，用於將特定分析物結合至該分析物的每一捕獲劑都具有不同的親和力，以分析物/捕獲劑結合的解離常數來測量。因此，在一組成物的複數個微載體之內，可具有二或多個微載體子群，使用結合該相同分析物的捕獲劑，但是其中與結合該分析物的每一子群相關聯之該等捕獲劑具有不同親和力。在某些具體實施例內，該分析物針對任一捕獲劑的解離常數不超過 10^{-6} M，像是 10^{-7} M或 10^{-8} M。在其他具體實施例內，該分析物針對任一捕獲劑的解離常數從大約 10^{-10} M至大約 10^{-6} M，像是從大約 10^{-10} M至大約 10^{-7} M、大約 10^{-10} M至大約 10^{-8} M、大約 10^{-10} M至大約 10^{-9} M、大約 10^{-9} M至大約 10^{-6} M、大約 10^{-9} M至大約 10^{-7} M、大約 10^{-9} M至大約 10^{-8} M、大約 10^{-8} M至大約 10^{-6} M或大約 10^{-8} M至大約 10^{-7} M。在某些具體實施例內，該分析物針對任兩個捕獲劑的解離常數差異多達大約 $3 \log_{10}$ ，像是差異

多達 $2.5 \log_{10}$ 、 $2 \log_{10}$ 、 $1.5 \log_{10}$ 或 $1 \log_{10}$ 。

【0099】 在某些具體實施例內，本發明的分析物耦合至一微載體，用來捕獲一或多分析物。在某些具體實施例內，可從一樣本捕獲該等一或多分析物，像是本文所述的生物樣本。在某些具體實施例內，該分析物可包含但不受限於DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段。在其他具體實施例內，該分析物為化學化合物(像是小分子化學化合物)，其可結合該捕獲劑，像是化學數據庫的個別元件、小分子或環境毒素(例如農藥或重金屬)。

【0100】 在某些態樣中，樣本(像是生物樣本)內的分析物可標記上一信號發射實體，其可在與該捕獲劑結合時發出可檢測的信號。在某些具體實施例內，該信號發射實體可為比色基。在其他具體實施例內，該信號發射實體可為螢光基，包含但不受限於藻紅蛋白、藍色螢光蛋白、綠色螢光蛋白、黃色螢光蛋白、青色螢光蛋白和它們的衍生物。在其他具體實施例內，該信號發射實體可為放射性同位素基，包含但不受限於標記有 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{22}Na 、 ^{36}Cl 、 ^2H 、 ^3H 、 ^{35}S 和 ^{123}I 的分子。在其他具體實施例內，該信號發射實體為光基，包含但不受限於螢光光素酶(例如化學發光基)、辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶和它們的衍生物。在某些具體實施例內，該樣本內存在的該生物分子或化學化合物在與該微載體接觸之前，可先用該信號發射實體標記。在其他具體實施例內，該樣本內存在的該生物分子或化學化合物可在與該微載體接觸之後，用該信號發射實體標記。

IV. 已編碼微載體之製作方法

【0101】 本發明的特定態樣係關於製作一已編碼微載體之方法，例如本文所述的微載體。已編碼微載體的製作方法可包含本文所述該微載體特徵或態樣之一或多者，例如上面的章節III及/或底下的「範例」內。

【0102】 在某些具體實施例內，該方法包含沉積一實質上透明聚合物層，其中該實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行。在某些具體實施例內，彼此平行的該第一和該第二表面可為單一層的頂端與底部表面。所屬領域內已知或本文所述任何合適的實質上透明聚合物都可使用。在某些具體實施例內，使用旋轉塗佈來沉積該實質上透明聚合物層。

【0103】 在某些具體實施例內，該實質上透明聚合物層可沉積在一基材上。合適的基材可包含標準半導體及/或微機電系統(MEMS)製造技術內使用的基材。在某些具體實施例內，該基材可包含玻璃、矽、石英、塑膠、聚對苯二甲酸乙酯(PET)、氧化銦錫(ITO)塗層或類似物。

【0104】 在某些具體實施例內，一犧牲層可沉積在該基材上，例如本文所述的基材。在某些具體實施例內，該犧牲層可由聚合物製成，包含但不受限於聚乙烯醇(PVA)或OmniCoat™ (MicroChem; Newton, MA)。例如根據製造商的說明，可應用、使用、溶解或剝離犧牲層。

【0105】 在某些具體實施例內，本發明的一實質上透明聚合物層可沉積在一犧牲層上。若要使用一實質上透明聚合物層來產生一平坦微載體表面，可將該實質上透明聚合物層沉積在一平坦犧牲層上。若要產生具有一

或多欄從此處突出的微載體表面，則可用一或多欄狀孔或空隙區，在一犧牲層(例如沉積在一基材上的層)上製作圖案，例如使用標準微影蝕刻製程。在某些具體實施例內，一實質上透明聚合物層可沉積在該犧牲層和選擇性的基材之上，如此該層沉積在該等一或多欄狀孔或空隙區內。在某些具體實施例內，然後可將另一個實質上透明聚合物層沉積在該犧牲層之上，並且該等一或多欄狀孔或空隙區內填入該第一實質上透明聚合物層。

【0106】 在某些具體實施例內，本發明的一磁性、實質上不透明層沉積在該實質上透明聚合物層的該第一表面上。在某些具體實施例內，利用濺鍍沉積該磁性、實質上不透明層。該磁性、實質上不透明層可由例如本文所述的該磁性材料任一者製成。例如在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層包含鎳(例如元素鎳或其合金)。

【0107】 在某些具體實施例內，蝕刻該磁性、實質上不透明層，來移除該磁性、實質上不透明層沉積在該實質上透明聚合物層中央部分之上的部分。該磁性、實質上不透明層可利用所屬領域內已知的任何手段蝕刻，例如在某些具體實施例內，該磁性、實質上不透明層利用傳統濕式蝕刻來蝕刻。上文提供用於一磁性、實質上不透明層的示範尺寸、形狀與選擇性不對稱。

【0108】 在某些具體實施例內，本發明的一第二實質上透明聚合物層沉積在該磁性、實質上不透明層之上。在某些具體實施例內，該第二實質上透明聚合物層具有彼此平行的一第一表面和一第二表面(例如單一層的頂端與底部表面)。在某些具體實施例內，該第二表面固定至該磁性、實質上

不透明層。在某些具體實施例內，該第二實質上透明聚合物層與該第一實質上透明聚合物層對齊，並且具有一中心部分對齊該實質上透明聚合物層的該中心部分。上文提供一實質上透明聚合物層的該中心部分之示範尺寸。

【0109】 在某些具體實施例內，本發明的一實質上不透明聚合物層沉積在該第二實質上透明聚合物層的該第一表面上。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層包圍該第一和該第二實質上透明聚合物層的該等中心部分。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀，呈現一類比碼。本文所述或示範的任意該等平面形狀可使用例如本發明的齒輪形狀。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層沉積在該第二實質上透明聚合物層之上，並且蝕刻(例如使用標準微影蝕刻製程)成為該所要的平面形狀。

【0110】 在某些具體實施例內，可將一或多欄沉積在該實質上透明聚合物上，例如在該第二實質上透明聚合物層的該第一表面其未被該實質上不透明聚合物層覆蓋到之一部分上。該等一或多欄可如本文所述來沉積，例如使用標準微影蝕刻製程。

【0111】 在運用本發明的一選擇性犧牲層及/或基材之某些具體實施例內，使用溶劑可溶解或剝離該犧牲層及/或移除該基材。所屬領域內已知的許多溶劑都可用於製造(例如在標準半導體或MEMS製程內，像是光阻移除)。在某些具體實施例內，該溶劑為光阻剝離溶劑，像是DMSO或1-甲基-2-吡咯烷酮(NMP)基溶劑。在某些具體實施例內，該溶劑為AZ®光阻剝離劑，像是AZ® 300T (AZ Electronic Materials; Somerville, NJ)。

【0112】 在某些具體實施例內，該方法包含將本發明的一犧牲層沉積在本發明的一基材上。犧牲層、基材以及合適的沉積方法都如上所說明。

【0113】 在某些具體實施例內，本發明的一實質上不透明聚合物層沉積在該犧牲層上。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層具有彼此平行的一第一表面和一第二表面(例如單一層的頂端與底部表面)。在某些具體實施例內，該第二表面固定至該犧牲層。

【0114】 在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的輪廓塑造成一平面形狀，呈現一類比碼，如本文所述。該實質上不透明聚合物層可利用所屬領域內已知或本文所述的任何方法來塑造，例如使用標準微影蝕刻製程，包含但不受限於旋轉塗佈、軟烘烤、UV曝光、蝕刻以及硬烘烤。

【0115】 在某些具體實施例內，使用上述溶劑，可溶解或剝離該犧牲層，及/或移除該基材，如上述。

【0116】 在某些具體實施例內，包含本發明中磁性材料的一磁性層沉積在該犧牲層上。上文已經提供相關示範磁性材料、磁性層形狀/尺寸以及沈積方法。例如在某些具體實施例內，該磁性層可塑造成一或多欄，例如欄906所例示。在其他具體實施例內，該磁性層可在兩不透明聚合物層之間，例如如磁性層704所例示的鑲嵌。該磁性材料可內含例如本文所述的該磁性材料，例如在某些具體實施例內，該磁性材料包含鎳(例如元素鎳或其合金)。

【0117】 在某些具體實施例內，本發明的一實質上不透明聚合物層沉積在該磁性層上。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層具有彼

此平行的一第一表面和一第二表面(例如單一層的頂端與底部表面)。在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的一表面(例如該第二表面)固定至該磁性層。

【0118】 在某些具體實施例內，該實質上不透明聚合物層的輪廓塑造成一平面形狀，呈現一類比碼，如上述。

【0119】 在某些具體實施例內，使用上述溶劑，可溶解或剝離該犧牲層，及/或移除該基材。

【0120】 本發明提供適合上述方法的示範微載體形狀、尺寸以及選擇性特徵。

【0121】 在某些具體實施例內，一捕獲劑可耦合至本發明的微載體，例如本文所述的微載體及/或由本文所述任一方法所產生的微載體。本文所述的任何捕獲劑，或所屬領域內熟知用來捕獲本文所述分析物的任何捕獲劑，都可發現用在本發明的該等方法及/或微載體內。

【0122】 在某些具體實施例內，該捕獲劑可耦合至本發明的聚合物層，例如本文所述的一實質上透明或實質上不透明聚合物層。在某些具體實施例內，該捕獲劑可耦合至該聚合物層的一第一或一第二表面之一或兩者。在某些具體實施例內，該捕獲劑可耦合到至少該聚合物層的該中心部分(例如本文所述的一中心部分)。在某些具體實施例內，該聚合物包含一環氧基聚合物或內含一環氧基團。

【0123】 在某些具體實施例內，耦合該捕獲劑牽涉到讓該聚合物與一光產酸劑和光反應，來產生一交聯的聚合物。在某些具體實施例內，該光

的波長會激活該光產酸劑，例如UV或近UV光。光產酸劑在市面上可購自於Sigma-Aldrich (St. Louis)和BASF (Ludwigshafen)。所屬領域內已知的任何合適光產酸劑都可使用，包含但不受限於三苯基或三芳基銻六氟銻酸鹽、六氟磷酸三芳基、三苯基銻全氟-1-丁烷磺酸鹽、三苯基三氟甲磺酸、三(4-第三丁苯基)銻全氟-1-丁烷磺酸鹽或三氟甲磺酸酯、雙(4-第三丁苯基)含有碘-光產酸劑，如雙(4-第三丁苯基)碘鎢全氟-1-丁烷磺酸鹽，對甲苯磺酸鹽和三氟甲磺酸酯、BOC-甲氧基二苯基三氟甲磺酸、(第三丁氧基羰基甲氧基萘基)-二苯基銻三氟甲磺酸酯、(4-叔丁苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、二苯基碘六氟磷酸鹽、硝酸鹽、全氟-1-丁烷磺酸鹽，三氟甲磺酸鹽或對甲苯磺酸鹽、(4-氟苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、N-羥基萘酰亞胺三氟甲磺酸、N-羥基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰亞胺全氟-1-丁烷磺酸鹽、(4-碘苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、(4-甲氧基苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、2-(4-甲氧基苯乙基)-4,6-雙(三氯甲基)-1,3,5-三嗪、(4-甲基苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、(4-甲硫基苯基)甲基苯基銻三氟甲磺酸酯、(4-苯氧基苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯、(4-苯硫基苯基)二苯基銻三氟甲磺酸酯；或

product-finder.basf.com/group/corporate/product-finder/de/literature-document/Brand+Irgacure-Brochure--Photoacid+Generator+Selection+Guide-English.pdf內描述的任何光產酸劑。在某些具體實施例內，該光產酸劑是含有銻的光酸產生劑。

【0124】 在某些具體實施例內，耦合該捕獲劑牽涉到讓該交聯聚合物的環氧化物與一官能基反應，像是胺、羧基、硫醇等等。另外，該表面上的環氧基可氧化成羥基，接著用來當成像是聚(丙烯酸)這類水溶性聚合物的

接枝聚合作用起點。然後使用聚(丙烯酸)內的羧基，形成與捕獲劑內氨基或羧基的共價鍵。

【0125】 在某些具體實施例內，耦合該捕獲劑牽涉到讓該交聯聚合物的環氧化物與內含一胺和一羧基的化合物反應。在某些具體實施例內，該化合物的胺與該環氧化物反應，形成一化合物耦合的交聯聚合物。不希望受限於理論，據認為在該聚合物交聯之前，該捕獲劑可耦合至該聚合物；然而，這會降低結果表面的均勻性。含有一伯胺和一羧基的任何化合物都可使用。化合物可包含但不受限於甘氨酸、氨基十一烷酸、氨基己酸、丙烯酸、2-羧基乙基丙烯酸、4-乙烯基苯甲酸、3-丙烯酰氨基-3-甲基-1-丁酸、甲基丙烯酸縮水甘油酯等等。在某些具體實施例內，該化合物耦合的交聯聚合物之該羧基與該捕獲劑的胺(例如伯胺)反應，將該捕獲劑耦合至該實質上透明聚合物。

【0126】 在整個本發明當中可找到適合上述該等方法的許多捕獲劑和分析物之說明，例如上面的章節III及/或底下的「範例」內。

V. 多工分析

【0127】 本發明的特定態樣係關於使用一已編碼微載體，例如本文所述的微載體，用來檢測溶液內分析物之方法。使用一已編碼微載體進行分析物檢測的方法，包含本文所述的該等微載體特徵或態樣之一或多者，例如上面的章節III和IV及/或底下的「範例」所述。優點在於，相較於傳統多工分析，這些已編碼微載體允許在具有大量潛在獨一微載體的改良式多工分析以及降低的辨識誤差當中，進行分析物檢測。本文內使用的該等分析

物檢測方法可在所屬領域內已知的任何合適分析容器內執行，例如微孔板、培養皿或任何數量的其他已知分析容器。

【0128】 在某些具體實施例內，檢測一溶液內分析物的方法包含：讓內含一第一分析物與一第二分析物的一溶液與複數個微載體接觸，其中該等複數個微載體包含本發明的至少一第一微載體，其特別可捕獲該第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼，及本發明的一第二微載體，其特別可捕獲該第二分析物並且用一第二類比碼編碼；使用類比形狀辨識將該第一類比碼和該第二類比碼解碼，來識別該第一微載體與該第二微載體；及檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。

【0129】 在某些具體實施例內，該方法包含將含有一第一分析物與一第二分析物的溶液與複數個微載體接觸。在某些具體實施例內，該等複數個微載體可包含本發明的至少一第一微載體，其特別可捕獲該第一分析物(例如使用耦合至該微載體，特別用於該第一分析物的一捕獲劑)，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及本發明的一第二微載體，其特別可捕獲該第二分析物(例如使用耦合至該微載體，特別用於該第二分析物的一捕獲劑)，其中該第二微載體用與該第一類比碼不同一第二類比碼編碼。在某些具體實施例內，該第一和第二分析物可不同。在其他具體實施例內，該第一和第二分析物可相同，例如該第一和第二微載體可冗餘地辨識相同分析物(這非常有用，例如為了品質控制)，或可辨識相同分析物的不同區域(例如抗體辨識相同抗原的不同表位)。

【0130】 本發明的方法可用來檢測任何合適溶液內的分析物。在某些具體實施例內，該溶液包含一生物樣本。生物樣本的範例包含但不受限於血液、尿、痰、膽汁、腦脊髓液、皮膚或脂肪組織的組織間隙液、唾液、淚液、支氣管肺泡灌洗液、口咽分泌物、腸液，子宮頸-陰道或子宮分泌物和精液。在某些具體實施例內，該生物樣本可來自於人類。在其他具體實施例內，該溶液包含的樣本並非生物樣本，像是環境樣本、實驗室內製備的樣本(例如內含一或多種分析物已經製備、分離、純化及/或合成的樣本)、一固定樣本(例如福爾馬林固定、石蠟包埋或FFPE樣本)等等。

【0131】 在某些具體實施例內，該分析為多工，也就是每一溶液(例如樣本)都經過分析，如此由該反應檢測系統針對至少2個相關分析物、至少3個相關分析物、至少4個相關分析物、至少5個相關分析物、至少10個相關分析物、至少15個相關分析物、至少20個相關分析物、至少25個相關分析物、至少30個相關分析物、至少35個相關分析物、至少40個相關分析物、至少45個相關分析物或至少50個相關分析物或更多，檢測來自該信號發射實體的信號。

【0132】 在某些具體實施例內，該方法包含使用類比形狀辨識將該第一類比碼和該第二類比碼解碼，來識別該第一微載體與該第二微載體。概念上，此解碼可牽涉到每一微載體的類比碼成像(例如在一溶液或樣本內)、將每一圖像與類比碼資料庫比對，並且將每一圖像與來自資料庫的圖像匹配，如此正面識別該碼。選擇性，如本文所述，當使用包含一位向指示碼(例如不對稱)的微載體，該解碼可進一步包含旋轉每一圖像對齊一特定方位之

步驟(基於一部分，例如位向指示碼)。例如：若該位向指示碼包含一間隙，則旋轉該圖像，直到該間隙到達一預定位置或方位(例如該圖像的0°位置)。

【0133】 所屬領域內熟知許多形狀辨識軟體、工具與方法。每一API和工具的範例包含但不受限於Microsoft® Research FaceSDK、OpenBR、ReKognition的Face and Scene Recognition、Betaface API以及許多ImageJ外掛程式。在某些具體實施例內，該類比形狀辨識可包含但不受限於圖像處理步驟，像是前景擷取、形狀檢測、臨界化(例如自動或手動圖像臨界化)等等。

【0134】 精通技術人士將了解，可採用本文所述的方法與微載體用於許多成像裝置，包含但不限制一顯微鏡、平板讀取器等等。在某些具體實施例內，將該類比碼解碼包含利用讓光線通過該第一和第二微載體的該實質上透明部分(例如實質上透明聚合物層)及/或該圍繞溶液，照明該第一和第二微載體。然後光線無法通過該第一和第二微載體的該實質上不透明部分(例如實質上不透明聚合物層)或少量通過或有明顯差異，來產生對應至該第一微載體的一第一類比編碼光圖案和對應至該第二微載體的一第二類比編碼光圖案。

【0135】 如上文所述，任何類型的光學顯微鏡都可用於本發明的方法，包含但不限制下列之一或多者：亮場、暗場、相襯、微分干涉對比(DIC)、諾馬斯基干涉對比(NIC)、諾馬斯基、霍夫曼調製對比(HMC)或螢光顯微鏡。在特定具體實施例內，使用亮場顯微鏡解碼該類比碼，並且使用螢光顯微鏡檢測分析物。

【0136】 在某些具體實施例內，解碼該類比碼可進一步包含將該第一

類比編碼光圖案成像來產生一第一類比編碼圖像，以及將該第二類比編碼光圖案成像來產生一第二類比編碼圖像。也就是說，成像光的圖案可對應至該微載體的實質上透明/實質上不透明區域的圖案，如此產生該類比碼的圖像。此成像可包含許多步驟，包含但不受限於擷取圖像、圖像臨界化以及要達成更精確、精準或牢靠成像的任何其他圖像處理步驟。

【0137】 在某些具體實施例內，解碼該類比碼可進一步包含使用類比形狀辨識來配對該第一類比編碼圖像與該第一類比碼，以及配對該第二類比編碼圖像與該第二類比碼。在某些具體實施例內，一圖像可與一預定臨界之內的一類比碼匹配(例如來自圖像檔案資料庫的圖像檔案，每一圖像檔案都對應至一獨一平面形狀/類比碼)，例如容許該圖像與該示範類比碼圖像之間偏差或誤配之預定量。這種臨界可根據經驗來決定，並且可自然地基於用在該類比碼的特定類型平面形狀，以及潛在平面形狀集合之間變化之內容。

【0138】 在某些具體實施例內，該方法包含檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。所屬領域內已知的任何合適分析物檢測技術都可使用，例如在某些具體實施例內，該第一和該第二微載體可用一或多個檢測劑溫育。在某些具體實施例內，該等一或多檢測劑結合該第一微載體捕獲的該第一分析物，以及該第二微載體捕獲的該第二分析物。在某些具體實施例內，該方法進一步包含量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。

【0139】 在某些具體實施例內，溶液(像是生物樣本)內的分析物可標

記上一檢測劑(例如信號發射實體),其可在與該捕獲劑結合時發出可檢測的信號。在某些具體實施例內,該檢測劑可為比色基。在其他具體實施例內,該檢測劑可為螢光基,包含但不受限於藻紅蛋白、藍色螢光蛋白、綠色螢光蛋白、黃色螢光蛋白、青色螢光蛋白和它們的衍生物。在其他具體實施例內,該檢測劑可為放射性同位素基,包含但不受限於標記有 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{22}Na 、 ^{36}Cl 、 ^2H 、 ^3H 、 ^{35}S 和 ^{123}I 的分子。在其他具體實施例內,該檢測劑為光基,包含但不受限於螢光光素酶(例如化學發光基)、辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶和它們的衍生物。在某些具體實施例內,該溶液內存在的該生物分子或化學化合物可在與該微載體組成接觸之前,先用該檢測劑標記。在其他具體實施例內,該溶液內存在的該生物分子或化學化合物可在與該微載體組成接觸之後,用該檢測劑標記。尚且在其他具體實施例內,該檢測劑可耦合至特別結合相關分析物的一分子或大分子結構,例如DNA分子、一種DNA模擬分子、RNA分子、RNA模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器及/或抗體片段所構成的群組。

【0140】 在某些具體實施例內,該檢測劑為一螢光檢測劑,並且利用螢光顯微鏡(例如螢光顯微鏡或平板讀取器)來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。在某些具體實施例內,該檢測劑為一發光檢測劑,並且利用發光顯微鏡(例如發光顯微鏡或平板讀取器)來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。

【0141】 在某些具體實施例內,每一分析物/捕獲劑都可搭配使用一

特定檢測劑。針對非限制範例，該檢測劑可為耦合至特別結合該分析物的一抗體之檢測劑(例如螢光、發光、酶或其他檢測劑)；或配體-受體對的配體或受體，若該分析物為該配體-受體對的同源配體/受體。此技術在概念上類似於夾心ELISA或蛋白質微陣列，其包含一捕獲與一檢測抗體(儘管在本案例中需要注意，此範例中的捕獲劑並非嚴格受限為抗體)。針對另一個非限制範例，該檢測劑可為一螢光劑，或耦合至相關蛋白質的其他可檢測探針，像是相關標記分析物。例如：一反應可用來將檢測劑耦合至相關溶液內(例如一樣本)一或多蛋白質，然後由該捕獲劑所捕獲(概念上類似於蛋白質微載體的抗原捕獲型)。

【0142】 在其他具體實施例內，多個獨一分析物/捕獲劑都可搭配使用一萬用檢測劑。針對非限制範例，若該分析物為抗體的話，則該檢測劑可為結合至抗體中Fc區域的檢測劑；若該分析物為諸如DNA或RNA的多核苷酸，則為一螢光劑或耦合至寡核苷酸(例如單鏈寡核苷酸，其與分析物雜交)的其他可檢測探針。後者案例在概念上類似於微載體技術。

【0143】 在某些具體實施例內，該檢測步驟可包含一或多個清洗步驟，例如減少污染物、移除非專門貼在該捕獲劑及/或微載體表面上的任何物質等等。在某些具體實施例內，一磁性分離步驟可用來清洗含有本發明的磁性層或材料之微載體。在其他具體實施例內，可使用所屬領域內熟知的其他分離步驟。

【0144】 在某些具體實施例內，該解碼步驟可發生於該檢測步驟之後。在某些具體實施例內，該解碼步驟可發生於該檢測步驟之前。仍舊在

其他具體實施例內，該解碼步驟可與該檢測步驟同時發生。

VI. 套件或製品

【0145】 本文進一步提供內含本發明的複數個微載體之套件或製品。這些套件或製品可發現用於特別是進行一多工分析，像是本文所述的示範多工分析(請參閱例如上面的章節V)。

【0146】 在某些具體實施例內，該套件或製品可包含本發明的一第一微載體，其特別可捕獲該第一分析物(例如使用耦合至該微載體，特別用於該第一分析物的一捕獲劑)，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及本發明的一第二微載體，其特別可捕獲該第二分析物(例如使用耦合至該微載體，特別用於該第二分析物的一捕獲劑)，其中該第二微載體用與該第一類比碼不同的一第二類比碼編碼。在某些具體實施例內，該第一和第二分析物可不同。在其他具體實施例內，該第一和第二分析物可相同，例如該第一和第二微載體可冗餘地辨識相同分析物(這非常有用，例如為了品質控制)，或可辨識相同分析物的不同區域(例如抗體辨識相同抗原的不同表位)。該套件或製品可包含本文所述的任何微載體(請參閱例如上面的章節III以及底下的「範例」)，或使用本文所述的方法來產生(請參閱例如上面的章節IV以及底下的「範例」)。

【0147】 在某些具體實施例內，該套件或製品可進一步包含本發明的一或多種檢測劑，其用於檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。在某些具體實施例內，用於該第一分析物的該檢測劑可與用於該第二分析物的該檢測劑相同。在其他

具體實施例內，用於該第一分析物的該檢測劑可與用於該第二分析物的該檢測劑不同。

【0148】 在某些具體實施例內，該套件或製品可進一步包含指令，其運用該套件或製品來檢測一或多個分析物，例如該第一和該第二分析物。這些指令可例如在本文所述任何方法內，使用該套件或製品。

【0149】 在某些具體實施例內，該套件或製品可進一步包含一或多種檢測劑(例如上述)，搭配適合將一檢測劑耦合至一或多分析物，或將一檢測劑耦合至辨識一分析物的一或多個大分子的任何指令或試劑。該套件或製品可進一步包含任何額外組件，在一分析當中(例如一多工分析)使用該等微載體，包含但不受限於一平板(例如96孔或類似微平板)、培養皿、顯微鏡載玻片或其他合適的分析容器、非臨時性計算機可讀取儲存媒體(例如包含軟體及/或用於類比形狀或碼辨識的其他指令)、清洗劑、緩衝區、板密封劑、混合容器、稀釋劑或儲存溶液和類似物。

範例

【0150】 參考以下範例對本發明有通盤了解。然而，不得將其視為本發明領域的限制。應了解，本文所述的範例與具體實施例僅供例示，因此據此的各種修改或變更將被建議給本領域的技術人士，並且包含在本申請案與申請專利範圍領域的精神與認知之內。

【0151】 現在將注意力集中在多工分析的微載體(例如分析檢測)及其生產方法。以下範例說明用於分析物檢測的類比編碼微載體示範具體實施例，這些微載體特別可用於本文所述的方法、分析以及套件或製品內。

請注意，這些示範具體實施例並無限制用意，而是提供來例示本文所揭示的某些態樣與特徵。

範例1：含平面、類比碼與統一形狀的已編碼微載體

【0152】 如上述，由於有大量的潛在獨一識別碼以及降低的辨識誤差，因此類比編碼微載體對於多工分析非常有優勢。此範例描述用平面形狀編碼的多種微載體，此編碼可用來當成辨識用的類比碼。應了解，本發明的已編碼微載體可包含底下所揭示，在任意組合之下的某些或全部選擇性特徵。

【0153】 第一A圖和第一B圖顯示示範微載體100。微載體100為直徑大約50 μm 並且厚度大約10 μm 的圓碟。第一A圖提供從圓碟面看過去的微載體100之畫面，而第一B圖顯示與第一A圖內所示表面垂直的微載體100側面圖。在此顯示微載體100的兩個組件，首先，實質上透明聚合物層102提供該微載體的本體。層102可例如使用一聚合物，像是上述的SU-8，來生產。

【0154】 實質上不透明聚合物層104固定至層102的一表面。雖然第一B圖內顯示的微載體100之剖面顯示層104不連續，不過第一A圖內的圖式例示層104的形狀像是具有複數個輪齒的圓形齒輪。這些輪齒的形狀、數量、大小與間距構成一平面形狀，並且該輪齒的這些態樣之一或多者可修改，以便產生多個平面形狀用於類比編碼。優點在於，層104中輪齒的外緣裝配入層102的周邊。這可用於許多類比碼，每一都呈現一唯一識別碼給一種微載體，同時維持多種微載體之間均勻的整體形狀。換言之，多物種群體之內的每種微載體都可具有不同的平面齒輪形狀(即是類比碼)，但是每一微載

體都將具有相同周邊，導致更大的物理特性(例如大小、形狀、溶液內的行為等等)一致性。層104可例如使用一聚合物，像是混入染料的SU-8，或使用黑色矩陣阻劑，如上述，來生產。

【0155】 層104包圍層102的中心部分106。用於捕獲分析物的捕獲劑已耦合到至少層102的一或兩表面上(即是上表面/下表面)的中心部分106。優點在於，這允許中心部分106成像，而不會有來自層104的潛在干擾。

【0156】 第一C圖和第一D圖顯示使用微載體100來進行分析物檢測的示範分析。第一C圖顯示微載體100可包含捕獲劑108，其耦合至少中心部分106內的一或多表面。微載體100與內含分析物110的溶液接觸，其中該分析物由捕獲劑108所捕獲。如上述，許多捕獲劑可用來捕獲不同種分析物，範圍從小分子、核酸以及蛋白(例如抗體)到細胞器、病毒和細胞。第一C圖例示單一種微載體(即是微載體100)，其捕獲分析物110，但是在多工分析當中則使用多種微載體，每一種都具有可辨識特定分析物的特定捕獲劑。

【0157】 第一D圖例示用於「讀取」微載體100的示範程序。此程序包含兩步驟，可同時或分開達成。首先，檢測到捕獲劑108捕獲分析物110。在第一D圖內顯示的範例中，檢測劑114結合分析物110。耦合至微載體100的捕獲劑並未捕獲之分析物已經在檢測之前洗掉，如此只有檢測到已接合至微載體100的分析物。檢測劑114也包含檢測用的試劑。針對範例，檢測劑114可包含一螢光劑，當由波長在該螢光劑激活光譜之內的光線116激活時，發出光線118 (例如光子)。利用任何合適的檢測裝置，像是螢光顯微鏡、平板讀取器等等，就可檢測光線118。

【0158】 此外，讀取微載體100的唯一識別碼。在第一D圖內顯示的範例中，使用光線112照明內含微載體100的場(在某些具體實施例內，光線112可具有與光線116和118不同的波長)。當光線112照明內含微載體100的場時，其通過實質上透明聚合物層102但是被實質上不透明聚合物層104所阻擋，如第一D圖內所示。這產生可成像的光圖案，例如利用光學顯微鏡(例如使用微分干涉對比或DIC、顯微鏡)。此光圖案係根據微載體100的該平面形狀(即是類比碼)。可使用標準圖像辨識技術，來解碼微載體100的圖像所呈現之該類比碼。

【0159】 該分析物檢測與識別碼成像步驟可以任意順序發生，或同時發生。優點在於，第一D圖內所示的兩檢測步驟都可在一個成像裝置上達成。針對一個範例，能夠進行螢光與光學(例如亮場)顯微術的顯微鏡可用來量化結合至微載體100的分析物110數量(例如由檢測劑114所檢測到的)，並且成像由層102和104所建立的該類比碼。這樣能夠以較少的設備需求，進行更有效率的分析程序。

【0160】 此時請參閱第二A圖和第二B圖，其中顯示另一個示範微載體200。類似於微載體100，微載體200包含實質上透明聚合物層202和實質上不透明聚合物層204。此外，微載體200包含磁性層206。如第二A圖內所示，磁性層206可塑造成中心部分208與實質上不透明層204之間一環。

【0161】 第二B圖顯示可嵌入層202之內的磁性層206。層202也可包含超過一層，像是磁性層206夾在兩實質上透明聚合物層之間(例如第二B圖內所見)。另外，磁性層206可固定至層202上與層204同向的表面，或磁性層

206可固定至層202上與層204相向的表面。在某些具體實施例內，磁性層206可包含鎳。

【0162】 磁性層206將磁性賦予微載體200，這利用於運用在許多應用當中。例如：在清洗步驟期間，微載體200可利用磁吸引力固定至一表面，如此可有效清洗而不遺失或毀壞該微載體。

【0163】 除了其磁特性以外，層206也為實質上不透明。當如第一D圖內所示成像時(例如使用光線112)，層206會部分或完全阻擋光傳輸，藉此建立用於成像的圖案。如第二A圖內所示，在此範例中，層206也不對稱，其包含間隙210。此不對稱建立一位向指示碼，可例如第一D圖內所示，使用光線112成像。優點在於，在圖像辨識期間可利用一位向指示碼，將成像層204所建立的該平面形狀定位在統一位向內，讓類比碼更容易辨識。這允許在任何位向內成像的微載體進行解碼。

【0164】 第三圖顯示可使用第一A圖至第二B圖內所示齒輪形狀的大量潛在類比碼。第三圖例示其中標記多形狀變化點的一示範編碼法，例如在示範微載體300的位置302、304、306、308、310、312、314、316、318、320、322、324、326和328上。即使使用簡單的「填滿或未填滿」法則，根據使用14個形狀變化點，最多可有 2^{14} 個唯一碼。此法方便製造以及產生容易分辨來進行圖像辨識分析的平面形狀。然而，因為已經使用類比編碼，因此使用超過2可能性的更複雜法則(例如在第三圖內標記的每一形狀變化點上)是可能的，藉此指數擴充唯一識別碼的數量。例如：多輪齒形狀及/或多輪齒大小是可能的。如第一A圖至第三圖內所示的平面齒輪形狀促進廣

泛的唯一類比碼，同時提供一較大中心部分(例如中心部分106和208)給分析物檢測。

【0165】 第四A圖例示第三圖內所示該編碼法的三個示範具體實施例：微載體400、402和404。使用第三圖的該簡單「填滿或未填滿」法則，來產生微載體400、402和404的該唯一碼。第四B圖例示該碼的10個示範具體實施例，特別是在形狀數量方面(例如ZN_3碼內的兩個不同形狀，相較於ZN_10碼內的七個不同形狀)，及/或形狀大小(例如ZN_2碼內的大型、小型、和中型形狀)。如上述，重點在於，更複雜的編碼法可使用類比圖像辨識，藉此大幅擴充潛在唯一碼的數量。

【0166】 此時請參閱第五A圖和第五B圖，其中顯示另一個示範微載體500。類似於微載體200，微載體500包含實質上透明聚合物層502、實質上不透明聚合物層504、磁性層506以及中心部分508。此外，微載體500具有四欄，包含欄510，其可為從層502的表面延伸出的任何形狀。如第五A圖內所示，這些欄可排列成與磁性層506對齊，避免干擾中心部分508內的分析物檢測，或干擾讀取層504的該平面形狀(即是該類比碼)。第五B圖顯示這些欄從微載體500的上表面和下表面延伸。欄510可例如使用與層502相同的實質上透明聚合物來製造(示範生產方法如下述)。優點在於，一或多欄，像是欄510，可用來避免微載體彼此相黏及/或黏貼至一容器(例如多孔板內的孔壁)，例如透過光學接觸接合。

範例2：含以該微載體形狀編碼的平面、類比碼之微載體

【0167】 先前範例例示多個微載體的示範具體實施例，其中由一不透

明層固定至一透明聚合物層來提供一類比碼。這有其優點，例如能夠讓不同種微載體之間更均勻(即是每一種都具有由該透明聚合物層所提供相同的周邊形狀)。

【0168】 然而，使用該微載體本身周邊當成類比編碼的平面形狀有其他因素的好處，例如：若由該微載體本身的形狀提供該類比碼，則只需要一層，因此加快製程。再者，利用高精準製造技術，可達成塑造該微載體的周邊，讓高度可再生形狀產生更精準的圖像辨識。

【0169】 第六A圖和第六B圖顯示這種示範微載體600。微載體600為一齒狀碟，直徑大約80 μm 並且高度大約15 μm ，包含選擇性的欄元件(類似於上述的欄510)。微載體600由單一不透明聚合物層602製成，而非分開的透明與不透明聚合物層。微載體600可如第一D圖內所示來成像，但是卻根據整個微載體形狀(例如該不透明聚合物層的周邊)來讓其類比碼成像。微載體600的一或兩表面可用於耦合一捕獲劑，如上述，並且可使用一中心部分或整個表面。

【0170】 第六C圖例示微載體600的輪齒604之尺寸。如所示，在此具體實施例內，輪齒604的寬度為4 μm ，並且與相鄰輪齒606相隔4 μm 。因為微載體600的平面形狀經過類比編碼，所以相鄰輪齒之間的周邊可變，允許多種輪齒形狀。例如：輪齒604在高度上，分別對於左或右兩邊的相鄰周邊區段延伸4或6.5 μm 。

【0171】 第七圖例示這種微載體，微載體700的另一個具體實施例。類似於微載體600，微載體700由不透明聚合物層702製成。此外，微載體包

含磁性層704。磁性層704可固定至微載體700的一個表面上，或可嵌入微載體700之內(例如兩不透明聚合物層之間)。磁性層704可例如利用沉積鎳來產生。如上述，一磁性層具有額外功能，像是在清洗微載體700時用磁性吸附在其他表面上。

【0172】 此時請參閱第八A圖，其中顯示另一個示範微載體800。類似於微載體700，微載體800包含不透明聚合物層802 (以及選擇性，包含一磁性層，像是層704)。此外，微載體800包含開始位置804，其具有與微載體800周邊剩餘部分不同的形狀。開始位置804可用來當成圖像辨識的位向指示碼，如上面參考第二A圖內所示間隙210所示。

【0173】 第八B圖例示可使用的一編碼法。第八B圖顯示微載體810，其類似於微載體800，包含不透明聚合物層812以及開始位置814 (以及選擇性，包含一磁性層，像是層704)。在此法則內，標記該齒輪四周的潛在形狀變化點，例如在位置820、822、824、826、828、830、832、834、836、838、840、842和844。如第八B圖內所示，即使若只有兩個潛在形狀可用於位置820、822、824、826、828、830、832、834、836、838、840、842和844，此具體實施例還是有多達 2^{13} 個唯一碼。進一步，如上述，利用在該周邊周圍任何或所有指示位置上(例如在第八B圖內標記的每一形狀變化點上)，允許使用超過兩個潛在形狀，如此可用的類比編碼會大幅超過此數量。

【0174】 第九A圖至第九C圖例示尚且另一個潛在具體實施例，微載體900。類似於微載體800，微載體900為齒輪形狀微載體，其包含不透明聚合物層902以及開始位置904 (以及選擇性，包含一磁性層，像是層704)。此

外，微載體900可具有一或多欄(例如欄906)，固定至微載體900的一或兩表面。如第九B圖內剖面圖所示，欄906從層902的表面延伸出來。優點在於，欄906幫助減少光學接觸接合的可能性(如上面參照欄510的說明)。

【0175】 第九C圖例示欄906的尺寸。在此範例中，欄906為高度3 μm 並且直徑3 μm 的圓筒，不過如上述，這種欄並不受限於圓筒形。在某些具體實施例內，欄906由磁性材料像是鎳製成。如此允許欄906另外作為磁性元件，用於微載體900的磁性操縱，如上述。

範例3：含以該微載體形狀編碼的平面、類比碼之微載體生產方法

【0176】 在先前範例中已經說明多種微載體的示範具體實施例，現在將注意力放在微載體生產方法。如上述，根據所要的組態及/或選擇性特徵，本發明的該等微載體可由一、二或更多構造層所製成。

【0177】 第十圖內所示的程序1000例示製造一單層微載體的示範流程，像是上面範例2內所說明的微載體。在區塊1002上，在基材1004上建構犧牲層1006。在某些具體實施例中，基材1004可為玻璃基材。在區塊1010上，層1012沉積在犧牲層1006上。在某些具體實施例中，層1012為一不透明聚合物層。在區塊1020上，使用微影蝕刻來產生齒輪形狀層1022，將層1012的周邊塑造成一齒輪形狀(如上述)。在區塊1030上，整個結構(即是層1022、犧牲層1006和基材1004)都浸入溶劑內。此溶劑處理溶解犧牲層1006，並且從基材1004釋出齒輪形狀層1022，藉此產生微載體1032。在某些具體實施例中，可進一步修改微載體1032，例如利用將一捕獲劑連結至一或二表面。

【0178】 如上面範例2內所說明，齒輪形狀微載體可包含選擇性元件，例如磁性組件(例如欄及/或磁性層)。第十一A圖和第十一B圖內所示的程序1100例示製造具有一或多磁性組件的齒輪形狀微載體之示範流程。

【0179】 如第十一A圖內所示，在區塊1102上，在基材1104上建構犧牲層1106。在某些具體實施例中，基材1104可為玻璃基材。在區塊1110上，磁性層1112沉積在犧牲層1106上。在某些具體實施例內，磁性層1112包含鎳。在區塊1120上，磁性層1112利用微影蝕刻塑造成有形的磁性層1122。有形的磁性層1122可採用任何所要的形狀，例如可塑造成一或多欄，如第九A圖內用欄906所例示。

【0180】 如第十一B圖內所示，在區塊1130上，實質上不透明聚合物層1132沉積在有形的磁性層1122以及犧牲層1106之上。在區塊1140上，利用微影蝕刻將層1132的周邊塑造成齒輪形狀實質上不透明層1142 (如第六A圖至第九A圖內所例示的齒輪形狀之一者)。在區塊1150上，整個結構(即是層1142、有形的磁性層1122、犧牲層1106和基材1104)都浸入溶劑內。此溶劑處理溶解犧牲層1106，並且從基材1104釋出齒輪形狀層1142和有形的磁性層1122，藉此產生微載體1152。在某些具體實施例中，可進一步修改微載體1152，例如利用將一捕獲劑連結至一或二表面。

範例4：含平面、類比碼與統一形狀的已編碼微載體之產生方法

【0181】 此時注意含一或多實質上透明與一或多實質上不透明聚合物層的已編碼微載體之生產方法，像是範例1內所述的微載體。第十二A圖至第十二E圖例示程序1200，含一實質上透明聚合物層、一實質上不透明聚

合物層(其平面形狀構成一類比碼)和一或多欄的微載體之示範製造流程。

【0182】 從第十二A圖開始，在區塊1202上，將犧牲層1206沉積在(例如用旋轉塗佈)基材1204上。在某些具體實施例中，基材1204可為玻璃基材。在區塊1208上，套用光罩1210，並且讓犧牲層1206暴露在UV光之下。UV光供應通過光罩1210，允許UV光區段1212和1214通過並處理犧牲層1206。在區塊1216上，該結構透過標準微影蝕刻顯影來顯影之後，犧牲層1206在UV處理的遮罩結果之下，塑造成有形的犧牲層1218。

【0183】 區塊1220 (第十二B圖)繼續程序1200，在此有形的犧牲層1218內的遮罩孔會填入一實質上透明聚合物，建立欄1222和1224。在區塊1226上，實質上透明聚合物層1228沉積在欄1222和1224之上，以及有形的犧牲層1218之上。

【0184】 區塊1230 (第十二C圖)繼續程序1200，在此磁性層1232沉積在層1228之上。在某些具體實施例內，磁性層1232包含鎳。在某些具體實施例內，利用濺鍍沉積磁性層1232。在區塊1234上，一蝕刻阻擋層沉積在磁性層1232之上，用蝕刻擋塊1236和1238來呈現。在區塊1240上，蝕刻掉磁性層1232的未阻擋區段，產生有形的磁性層1242。在某些具體實施例內，有形的磁性層1242塑造成環形(含選擇性不對稱，用來指示位向)，圍繞層1228的中心部分(請參閱例如第二A圖內的層206)。在區塊1244上，移除該蝕刻阻擋層(用蝕刻擋塊1236和1238來呈現)。

【0185】 區塊1246 (第十二D圖)繼續程序1200，在此實質上透明聚合物層1248沉積在層1228和1242之上(填滿用蝕刻擋塊在層1242內建立的任何

孔)。在區塊1250上，實質上不透明層1252利用微影蝕刻沉積並塑造在層1248的頂端上。在某些具體實施例內，層1252塑造成在一環內具有一或多個輪齒，圍繞磁性層1242 (請參閱例如與第二A圖中層202和206以及中心部分208有關的層204)。

【0186】 區塊1254 (第十二E圖)繼續程序1200，在此利用微影蝕刻在層1248頂端上塑造欄1256和1258。在某些具體實施例內，欄1256和1258由一實質上透明聚合物製成。在某些具體實施例內，如第五A圖和第五B圖內所示來定位該等欄。在區塊1260上，將基材1204切割成相同形狀的一或多個微載體(即是雖然為了簡化起見，在第十二A圖至第十二E圖內只顯示一個微載體，在程序1200內，基材1204上可建構超過1個微載體)。在區塊1260上，整個結構(即是包含1204、1218、1222、1224、1228、1248、1252、1256和1258)都浸入溶劑內。此溶劑處理溶解犧牲層1218，並且從基材1204釋出微載體1262。在某些具體實施例中，可進一步修改微載體1262，例如利用將一捕獲劑連結至一或二表面。

【0187】 第十三A圖至第十三C圖例示程序1300，用於產生不同種多層微載體的示範流程。從第十三A圖開始，在區塊1302上，將犧牲層1306沉積在基材1304上。在某些具體實施例中，基材1304為玻璃基材。在區塊1308上，實質上透明層1310沉積在犧牲層1306之上。在區塊1312上，磁性層1314沉積在層1310之上。在某些具體實施例內，磁性層1314包含鎳。

【0188】 區塊1316 (第十三B圖)繼續程序1300，在此磁性層1314被定義為有形的磁性層1318。在某些具體實施例內，有形的磁性層1318在一

環形之內(含選擇性不對稱，用來指示位向)，圍繞層1310的中心部分(請參閱例如第二A圖內的層206)。在區塊1320上，實質上透明層1322沉積在層1318和1310之上，填滿定義有形層1318所建立的任何孔。在區塊1324上，實質上不透明聚合物層1326沉積在層1322之上。

【0189】 區塊1328 (第十三C圖)繼續程序1300，在此利用微影蝕刻將實質上不透明聚合物層1326塑造成齒輪形狀實質上不透明聚合物層1330。在某些具體實施例內，層1330塑造成在一環內具有一或多個輪齒，圍繞有形的磁性層1318 (請參閱例如與第二A圖中層202和206以及中心部分208有關的層204)。在區塊1332上，整個結構(即是包含1304、1306、1310、1318、1322和1330)都浸入溶劑內。此溶劑處理溶解犧牲層1306，並且從基材1304釋出微載體1334。在某些具體實施例中，可進一步修改微載體1334，例如利用將一捕獲劑連結至一或二表面。

【0190】 雖然為了清楚了解，已經藉由圖例與範例詳細說明上述本發明，不過這些說明與範例不應當成本發明領域的限制。所有專利揭露以及本文內所引用的科學文獻都明確完整併入當成參考。

【符號說明】

【0191】

100	微載體	108	捕獲劑
102	實質上透明聚合物層	110	分析物
104	實質上不透明聚合物層	112	光線
106	中心部分	114	檢測劑

116	光線	604	輪齒
118	光線	606	輪齒
200	微載體	700	微載體
202	實質上透明聚合物層	702	不透明聚合物層
204	實質上不透明聚合物層	704	磁性層
206	磁性層	800	微載體
208	中心部分	802	不透明聚合物層
210	間隙	804	開始位置
300	微載體	810	微載體
302-328	位置	812	不透明聚合物層
400	微載體	814	開始位置
402	微載體	820-844	位置
404	微載體	900	微載體
500	微載體	902	不透明聚合物層
502	實質上透明聚合物層	904	開始位置
504	實質上不透明聚合物層	906	欄
506	磁性層	1000	程序
508	中心部分	1002	區塊
510	欄	1004	基材
600	微載體	1006	犧牲層
602	單一不透明聚合物層	1010	區塊

1012	層	1204	基材
1020	區塊	1206	犧牲層
1022	齒輪形狀層	1208	區塊
1030	區塊	1210	光罩
1032	微載體	1212	UV光區段
1100	程序	1214	UV光區段
1102	區塊	1216	區塊
1104	基材	1218	有形的犧牲層
1106	犧牲層	1220	區塊
1110	區塊	1222	欄
1112	磁性層	1224	欄
1130	區塊	1226	區塊
1132	實質上不透明聚合物 層	1228	實質上透明聚合物層
1140	區塊	1230	區塊
1142	齒輪形狀實質上不透 明層	1232	磁性層
1150	區塊	1234	區塊
1152	微載體	1236	蝕刻擋塊
1200	程序	1238	蝕刻擋塊
1202	區塊	1240	區塊
		1242	有形的磁性層
		1244	區塊

1246	區塊	1312	區塊
1248	實質上透明聚合物層	1314	磁性層
1250	區塊	1316	區塊
1252	實質上不透明層	1318	有形的磁性層
1254	區塊	1320	區塊
1256	欄	1322	實質上透明層
1258	欄	1324	區塊
1260	區塊	1326	實質上不透明聚合物層
1262	微載體	1328	區塊
1300	程序	1330	齒輪形狀實質上不透明聚合物層
1302	區塊	1332	區塊
1304	基材	1334	微載體
1306	犧牲層		
1308	區塊		
1310	實質上透明層		

申請專利範圍

1. 一種已編碼的微載體，包含：

(a)一實質上透明聚合物層，其具有一第一表面與一第二表面，該第一表面與該第二表面彼此平行；

(b)一實質上不透明聚合物層，其中該實質上不透明聚合物層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面上，並且包圍該實質上透明聚合物層的一中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼；以及

(c)一捕獲劑，用於捕獲一分析物，其中該捕獲劑耦合到該實質上透明聚合物層的至少該中心部分內該實質上透明聚合物層的至少該第一表面與該第二表面之一者；及

(d)一磁性、實質上不透明層，其包圍該實質上不透明聚合物層與該實質上透明聚合物層中心部分之間的該實質上透明聚合物層中心部分，其中該磁性、實質上不透明層固定至該實質上透明聚合物層的該第一表面或該第二表面；

其中該微載體的厚度小於大約 $50\mu\text{m}$ 。

2. 如申請專利範圍第 1 項之微載體，進一步包含一位向指示碼，用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼，其中選擇地該位向指示碼包含該磁性、實質上不透明層的一不對稱。
3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該磁性、實質上不透明層包含鎳。

4. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該磁性、實質上不透明層的厚度介於大約 50 nm 與大約 10 μm 之間，並且選擇地該磁性、實質上不透明層的厚度為大約 0.1 μm 。
5. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含具有複數個輪齒的一齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。
6. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，進一步包含：
 - (g)一或多欄，其從該第一實質上透明聚合物層的該第一表面突出，其中該等一或多欄並不在該第一實質上透明聚合物層的該中心部分之內；及/或
 - (h)一或多欄，其從該第一實質上透明聚合物層的該第二表面或並未固定至該第一實質上透明聚合物層的該第二實質上透明聚合物層之一表面突出，其中該等一或多欄並不在該第一或該第二實質上透明聚合物層的該中心部分之內。
7. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該微載體為一實質上圓碟。
8. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含介於大約 5%與大約 90%之間的該第一實質上透明聚合物層表面積；並且其中選擇地該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含大約 25%的該第一實質上透明聚合物層表面積。

9. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該微載體的直徑小於大約 200 μm ；並且其中選擇地該微載體的直徑大約 50 μm 。
10. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該微載體的厚度大約 10 μm 。
11. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該分析物選自於 DNA 分子、一種 DNA 模擬分子、RNA 分子、RNA 模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。
12. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於 DNA 分子、一種 DNA 模擬分子、RNA 分子、RNA 模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。
13. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之微載體，其中該第一或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含一環氧基聚合物；並且其中該環氧基聚合物為 SU-8。
14. 一種製造一已編碼微載體的方法，包含：
 - (a) 沉積一實質上透明聚合物層，其中該實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面彼此平行；
 - (b) 沉積一磁性、實質上不透明層於該實質上透明聚合物層的該第一表面上；
 - (c) 蝕刻該磁性、實質上不透明層，來移除該磁性、實質上不透明層沉積在該實質上透明聚合物層的一中央部分之上的部分；

(d)沉積一第二實質上透明聚合物層於該磁性、實質上不透明層之上，其中該第二實質上透明聚合物層具有一第一表面與一第二表面，該第一和該第二表面平行於彼此，其中該第二表面固定至該磁性、實質上不透明層，並且其中該第二實質上透明聚合物層與該第一實質上透明聚合物層對齊，並且具有一中心部分與該實質上透明聚合物層的該中心部分對齊；以及

(e)沉積一實質上不透明的聚合物層於該第二實質上透明聚合物層的該第一表面上，其中該實質上不透明的聚合物層包圍該第一和該第二實質上透明聚合物層的該中心部分，並且其中該實質上不透明聚合物層包含一平面形狀呈現一類比碼。

15. 如申請專利範圍第 14 項之方法，其中該磁性、實質上不透明層係用濕式蝕刻來蝕刻。
16. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該磁性、實質上不透明層包含鎳。
17. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該磁性、實質上不透明層的厚度介於大約 50 nm 與大約 10 μm 之間。
18. 如申請專利範圍第 17 項之方法，其中該磁性、實質上不透明層的厚度小於大約 0.1 μm 。
19. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該磁性、實質上不透明層包含一不對稱用於定向該實質上不透明聚合物層的該類比碼。
20. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該實質上不透明聚合物層的該平面形狀由微影蝕刻產生。

21. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該實質上不透明聚合物層的該平面形狀包含具有複數個輪齒的一齒輪形狀，並且其中該類比碼由一或多個態樣所呈現，該等態樣選自於該等複數個輪齒之一或多者的高度、該等複數個輪齒之一或多者的寬度、該等複數個齒輪之內輪齒數量以及該等複數個輪齒之內一或多個輪齒之配置所構成之群組。
22. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，進一步包含：
- (f)在步驟(a)之前，沉積一犧牲層於一基材上；
 - (g)使用微影蝕刻在該犧牲層內建立一或多欄狀孔；
 - (h)在該犧牲層的該等一或多欄狀孔內沉積一第三實質上透明聚合物層，其中該第一實質上透明聚合物層在步驟(a)內沉積在該第三實質上透明聚合物層與該犧牲層的頂端上；
 - (i)在步驟(e)之後，使用微影蝕刻將包含該實質上透明聚合物的一或多欄，沉積在該第二實質上透明聚合物層的該第一表面其未被實質上不透明聚合物層覆蓋到之一部分上；
 - (j)在一溶劑當中溶解該犧牲層；及
 - (k)移除該基材。
23. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，進一步包含：
- (f)在步驟(a)之前，沉積一犧牲層於一基材上；
 - (g)屬於步驟(a)的一部分，將該實質上透明聚合物層沉積在該犧牲層上；
 - (h)在步驟(e)之後，在一溶劑當中溶解該犧牲層；及
 - (i)移除該基材。

24. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該已編碼的微載體為一實質上圓碟。
25. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含介於大約 5%與大約 90%之間的該第一實質上透明聚合物層表面積；其中選擇地該第一實質上透明聚合物層的該中心部分包含大約 25%的該第一實質上透明聚合物層表面積。
26. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該已編碼微載體的直徑小於大約 200 μm ；並且其中選擇地該已編碼微載體的直徑大約 50 μm 。
27. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該已編碼微載體的厚度小於大約 50 μm ；並且其中選擇地該已編碼微載體的厚度大約 10 μm 。
28. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，進一步包含：
- (f)將用於捕獲一分析物的一捕獲劑耦合到至少該中央部分內該第二實質上透明聚合物層的該第一表面與該第一實質上透明聚合物層的該第二表面之至少一者。
29. 如申請專利範圍第 28 項之方法，其中該第一或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含一環氧化物，其中選擇地該第一及/或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物包含 SU-8，並且其中耦合該捕獲劑，包含：
- (i)讓該第一及/或該第二實質上透明聚合物層的該實質上透明聚合物與一光產酸劑以及光反應，以產生一交聯的聚合物，其中該光具有激活該光產酸劑的一波長；

(ii)讓該交聯聚合物的該環氧化物與包含一胺和一羧基的化合物反應，其中該化合物的該胺與該環氧化物反應，來形成一化合物耦聯、交聯的聚合物；及

(iii)讓該化合物耦聯、交聯聚合物的該羧基與該捕獲劑反應，以將該捕獲劑耦合到至少該中央部分內該第二實質上透明聚合物層的該第一表面與該第一實質上透明聚合物層的該第二表面之至少一者；其中選擇地該化合物耦聯、交聯聚合物的該羧基與該捕獲劑的一伯胺反應。

30. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中該分析物選自於 DNA 分子、一種 DNA 模擬分子、RNA 分子、RNA 模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物部分、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。

31. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之方法，其中用於捕獲該分析物的該捕獲劑選自於 DNA 分子、一種 DNA 模擬分子、RNA 分子、RNA 模擬分子、多核苷酸、蛋白質、酶、脂類、磷脂、碳水化合物、多醣、抗原、病毒、細胞、抗體、小分子、細菌細胞、細胞器和抗體片段所構成的群組。

32. 一種利用申請專利範圍第 14 項之方法來產生之已編碼微載體。

33. 一種檢測一溶液內二或多個分析物之方法，包含：

(a)讓內含一第一分析物與一第二分析物的一溶液與複數個微載體接觸，其中該等複數個微載體包含至少：

(i)其如申請專利範圍第 1 項或第 32 項之一第一微載體，其特別可捕獲該第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及

(ii)其如申請專利範圍第 1 項或第 32 項之一第二微載體，其特別可捕獲該第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同；

(b)使用類比形狀辨識將該第一類比碼和該第二類比碼解碼，來識別該第一微載體與該第二微載體；及

(c)檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量。

34. 如申請專利範圍第 33 項之方法，其中步驟(b)發生在步驟(c)之前，或步驟(c)發生在步驟(b)之前，或者步驟(b)與步驟(c)同時發生。

35. 如申請專利範圍第 33 項之方法，其中解碼該第一類比碼與該第二類比碼，包含：

(i)利用讓光線通過該第一和第二微載體的該實質上透明部分及/或周遭溶液，來照明該第一和第二微載體，其中該光線不會通過該第一和第二微載體的該實質上不透明部分，以產生對應至該第一微載體的一第一類比編碼光圖案以及對應至該第二微載體的一第二類比編碼光圖案；

(ii)將該第一類比編碼光圖案成像來產生一第一類比編碼圖像，以及將該第二類比編碼光圖案成像來產生一第二類比編碼圖像；及

(iii)使用類比形狀辨識來配對該第一類比編碼圖像與該第一類比碼，以及配對該第二類比編碼圖像與該第二類比碼。

36. 如申請專利範圍第 33 項之方法，其中檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及該第二分析物結合至該第二微載體的數量，包含：

(i)在步驟(a)之後，使用一檢測劑溫育該第一和該第二微載體，其中該檢測劑與該第一微載體捕獲的該第一分析物及該第二微載體捕獲的該第二分析物結合在一起；及

(ii)量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。

37. 如申請專利範圍第 36 項之方法，其中(a) 該檢測劑為一螢光檢測劑，並且其中利用螢光顯微鏡來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量；或(b) 該檢測劑為一發光檢測劑，並且其中利用發光顯微鏡來量測該檢測劑與該第一和該第二微載體結合的數量。

38. 如申請專利範圍第 33 項之方法，其中該溶液包含一生物樣本；並且其中選擇地該生物樣本選自於血液、尿、痰、膽汁、腦脊髓液、皮膚或脂肪組織的組織間隙液、唾液、淚液、支氣管肺泡灌洗液、口咽分泌物、腸液，子宮頸-陰道或子宮分泌物和精液所組成的群組。

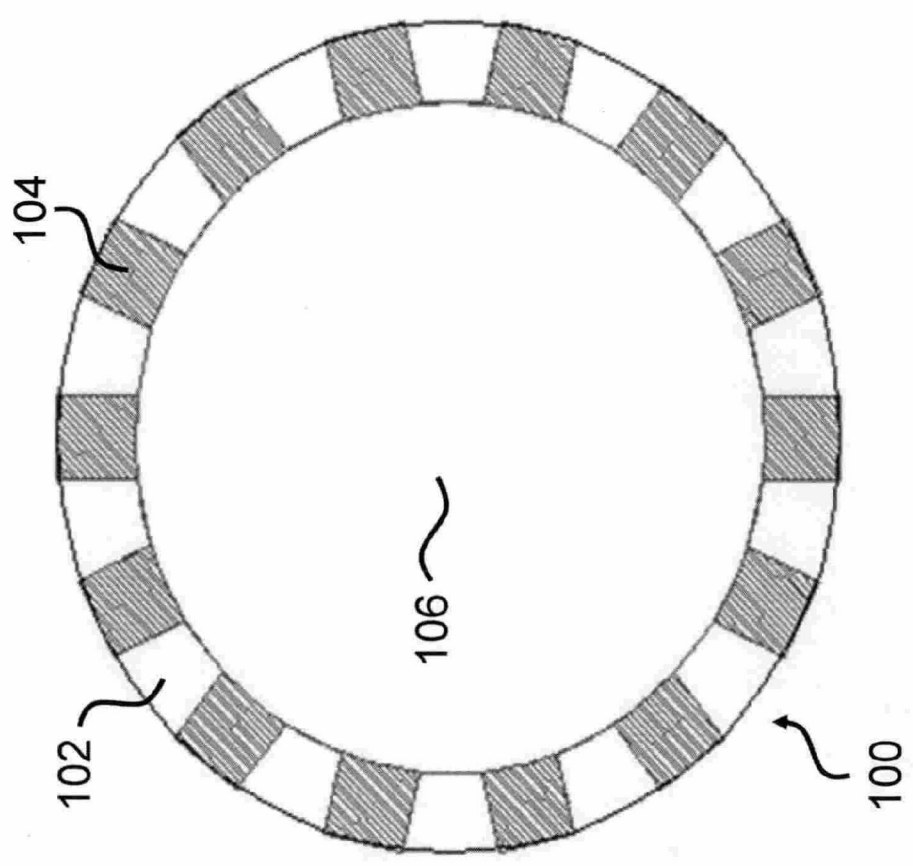
39. 一種進行一多工分析之套件，包含複數個微載體，其中該等複數個微載體包含至少：

(a)其如申請專利範圍第 1 項或第 32 項之一第一微載體，其特別可捕獲一第一分析物，其中該第一微載體用一第一類比碼編碼；及

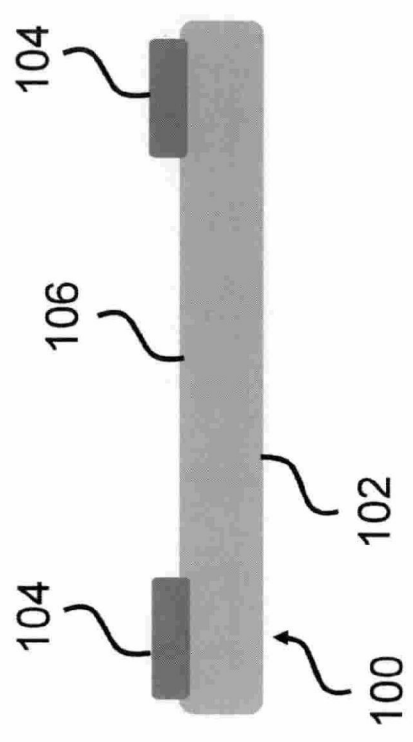
(b)其如申請專利範圍第 1 項或第 32 項之一第二微載體，其特別可捕獲一第二分析物，其中該第二微載體用一第二類比碼編碼，並且其中該第二類比碼與該第一類比碼不同；其中選擇地該套件進一步包含指令，其運用該套件來檢測該第一分析物與該第二分析物；及其中選擇地該套件進一步包含一檢測劑，其用於檢測該第一分析物結合至該第一微載體的數量以及

該第二分析物結合至該第二微載體的數量。

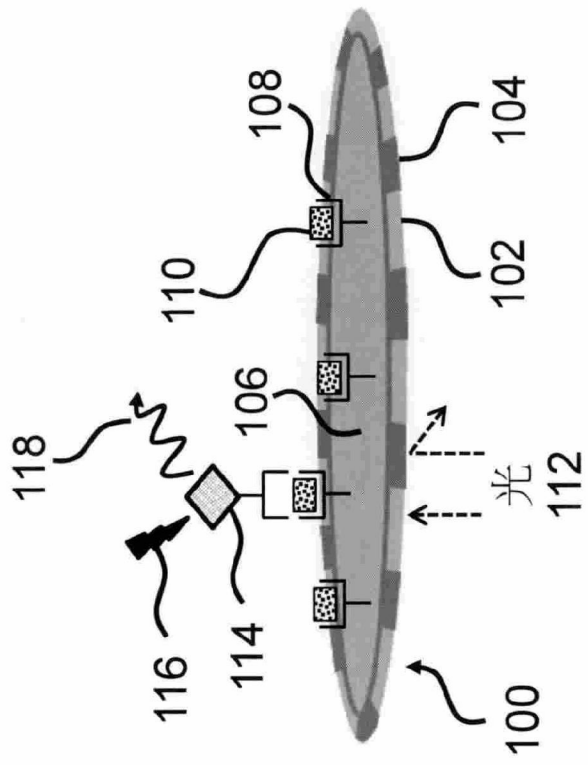
圖式



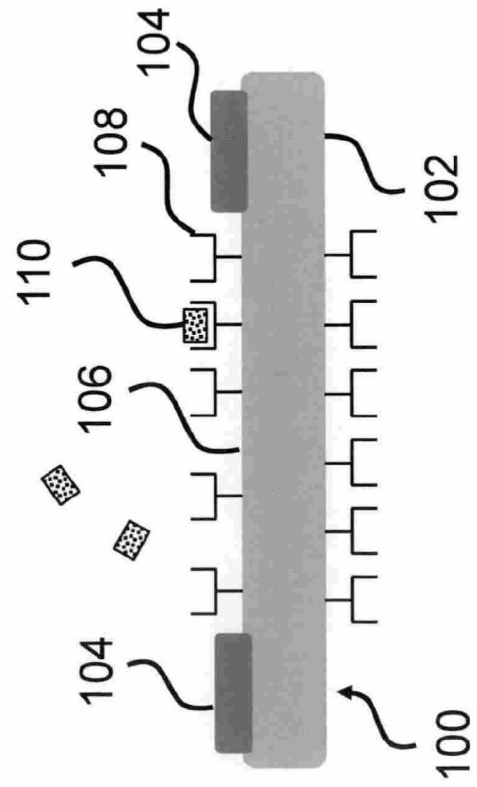
第一A圖



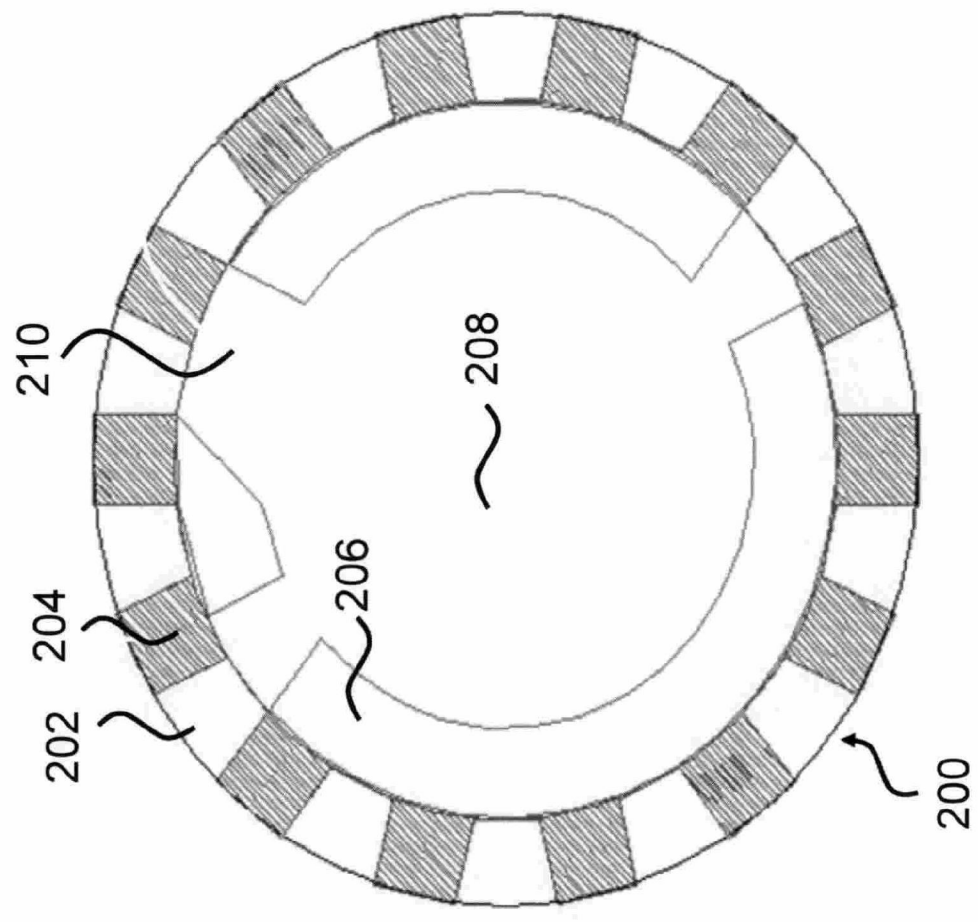
第一B圖



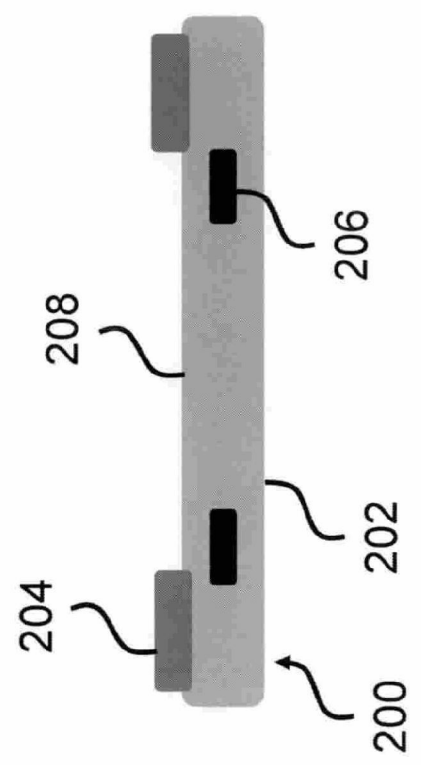
第一D圖



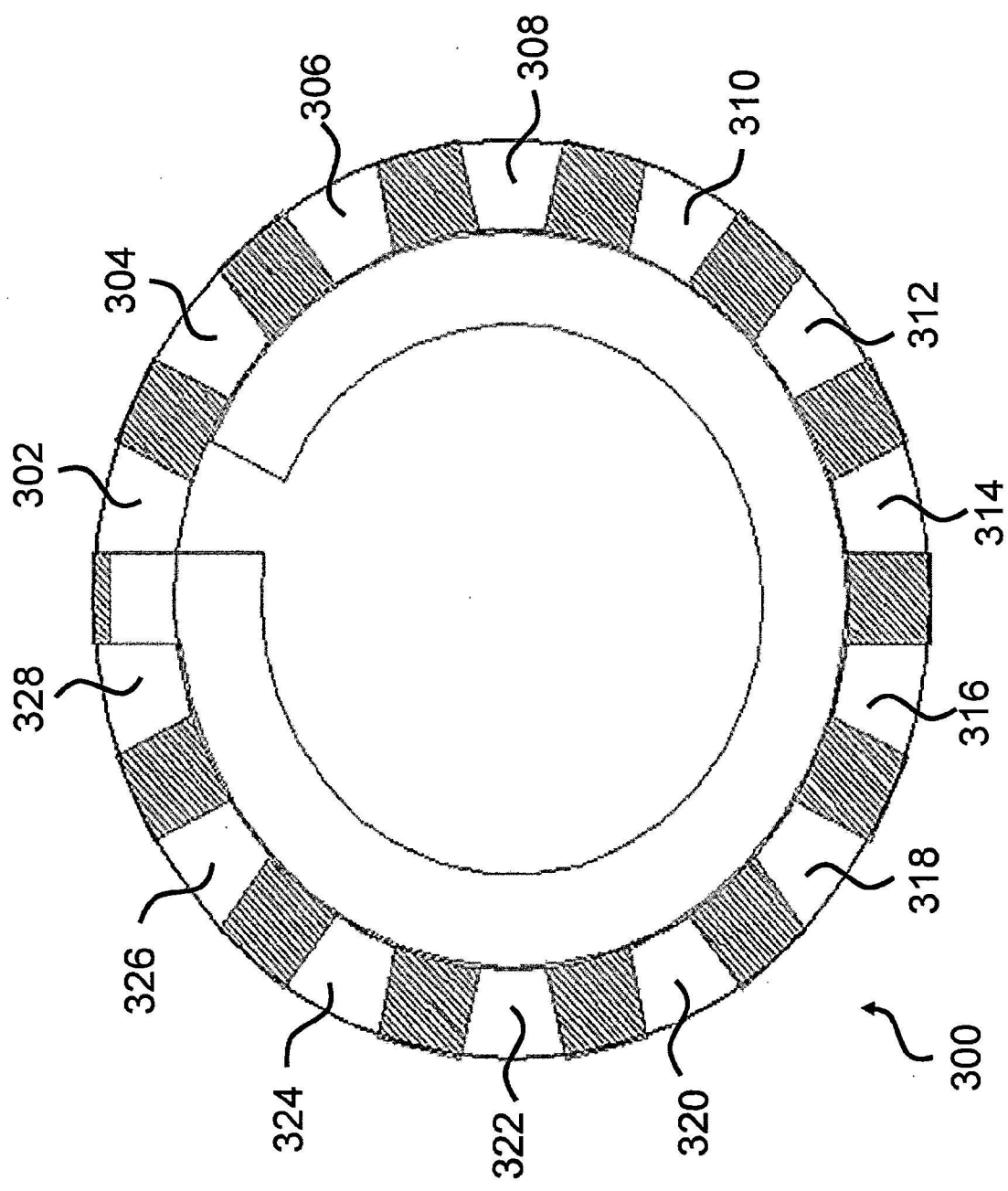
第一C圖



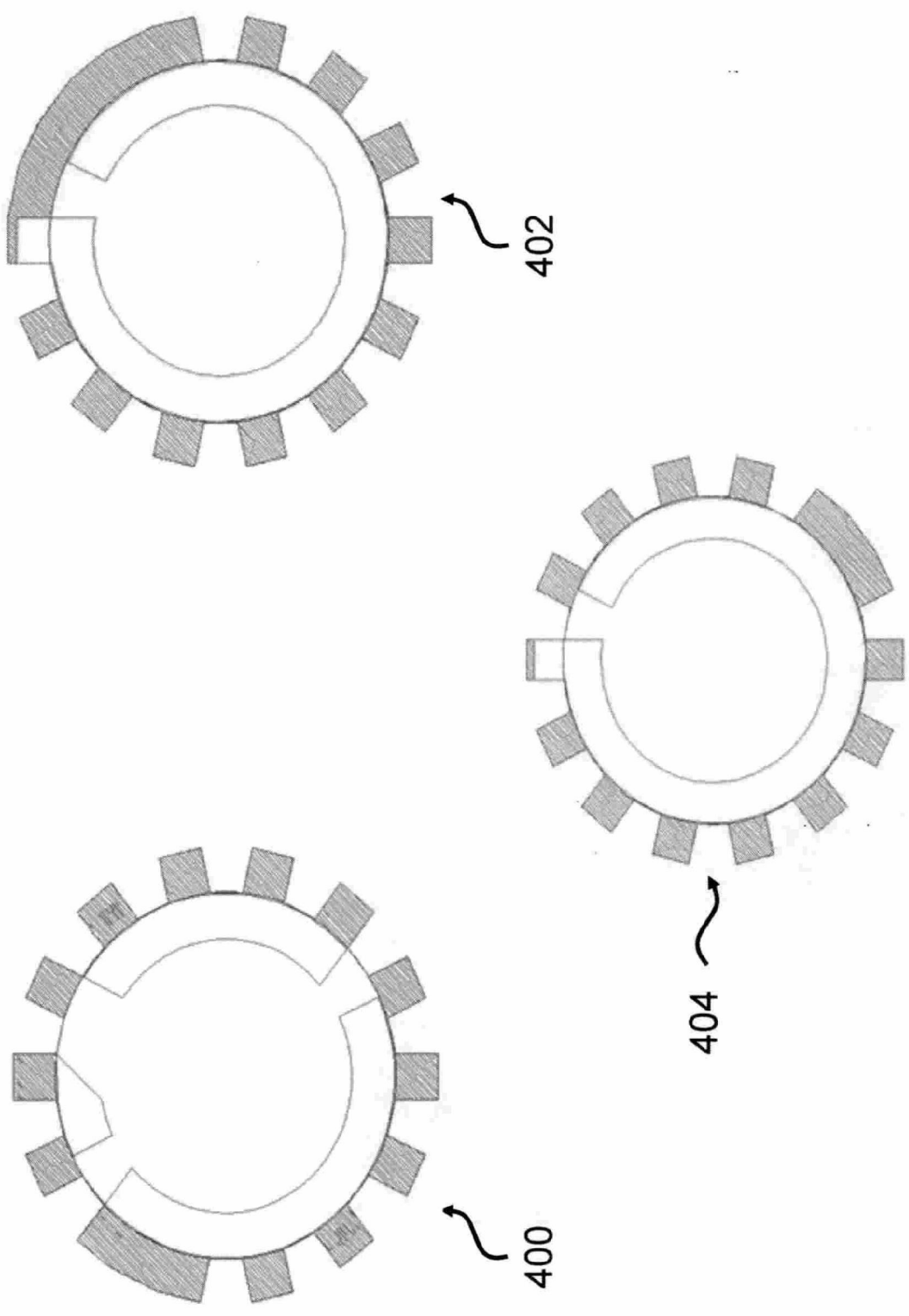
第二A圖



第二B圖



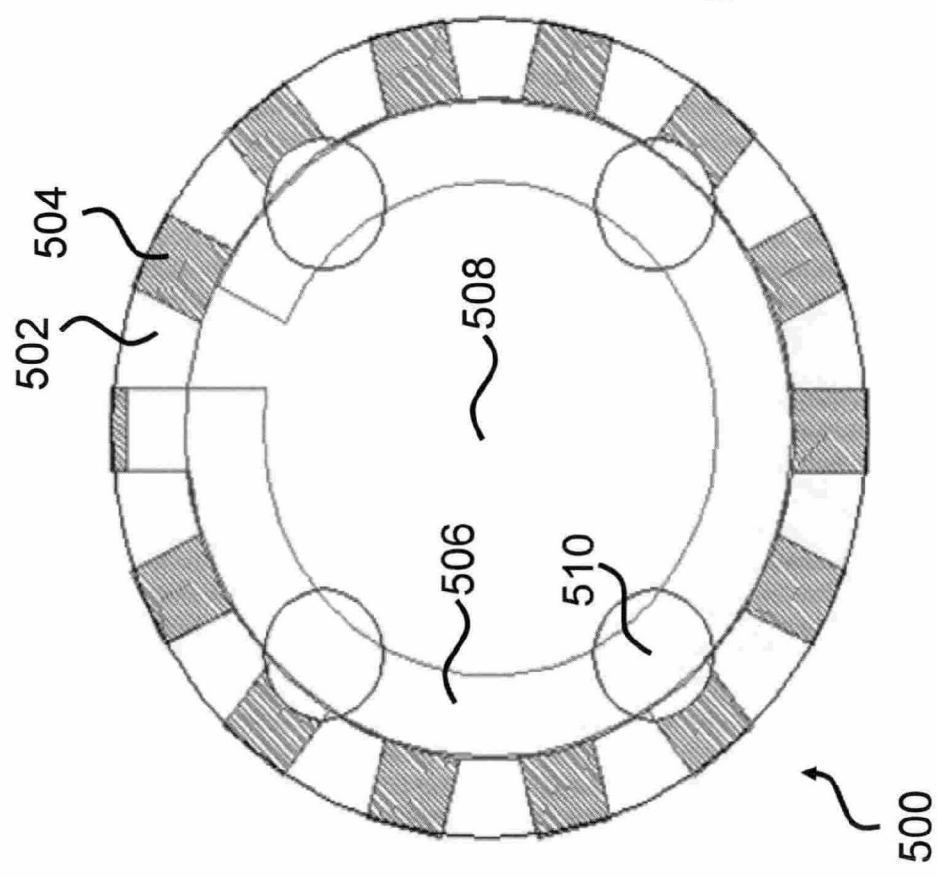
第三圖



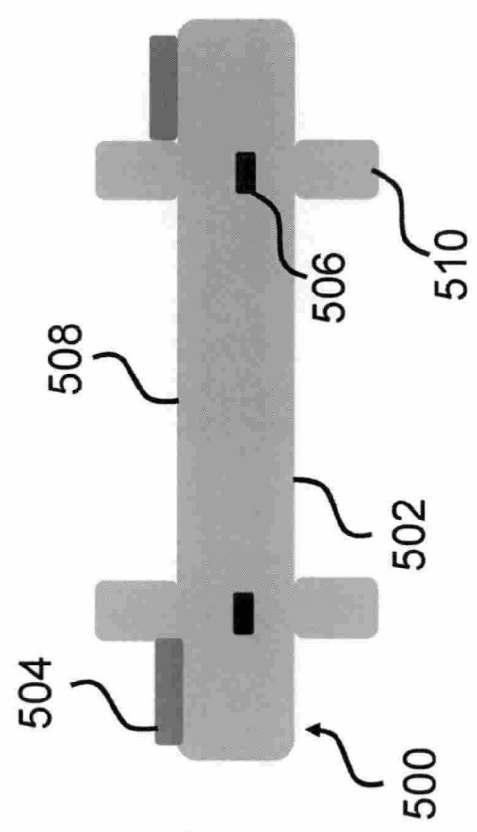
第四A圖

影像		ZN_1
編號		ZN_2
		ZN_3
		ZN_4
		ZN_5
影像		ZN_6
編號		ZN_7
		ZN_8
		ZN_9
		ZN_10

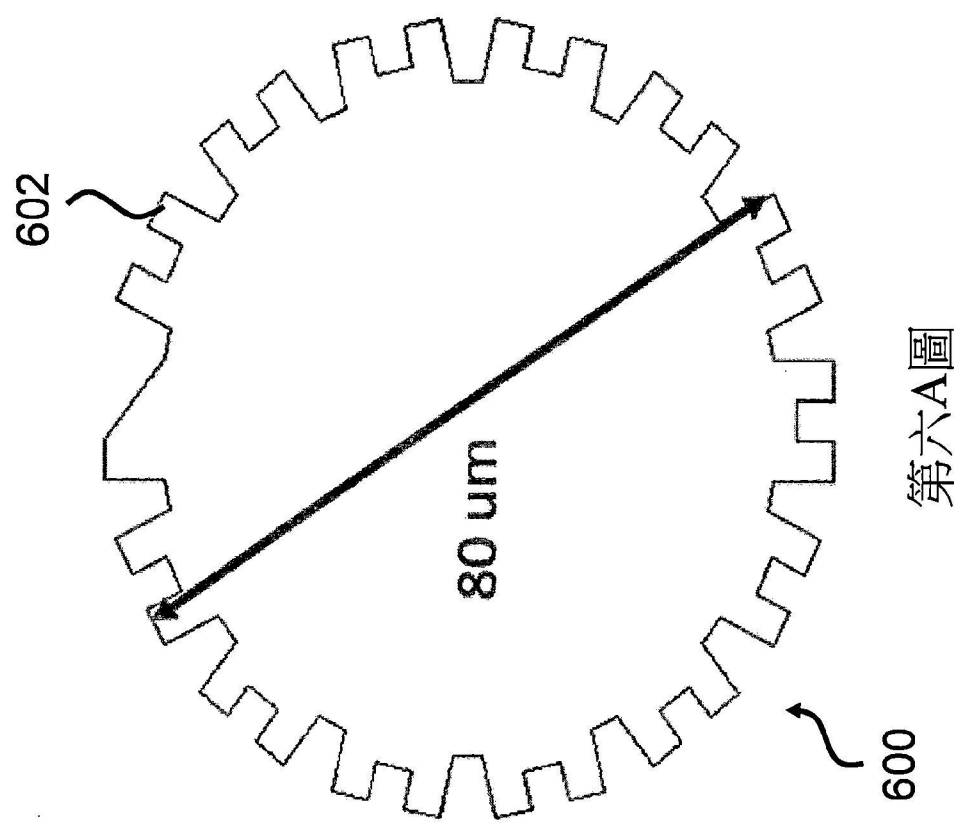
第四B圖



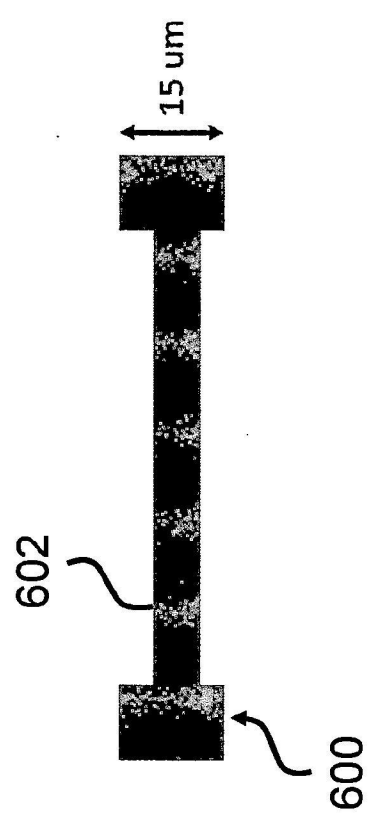
第五A圖



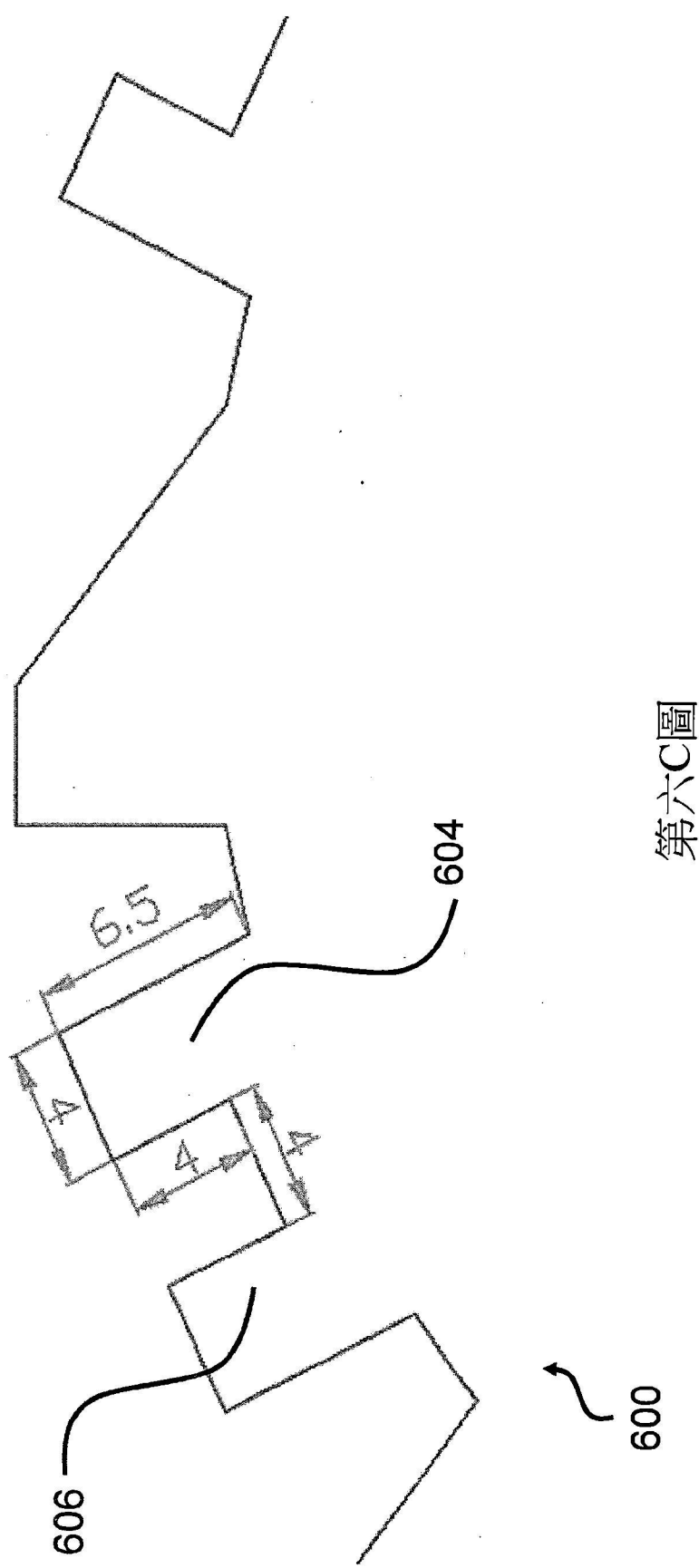
第五B圖

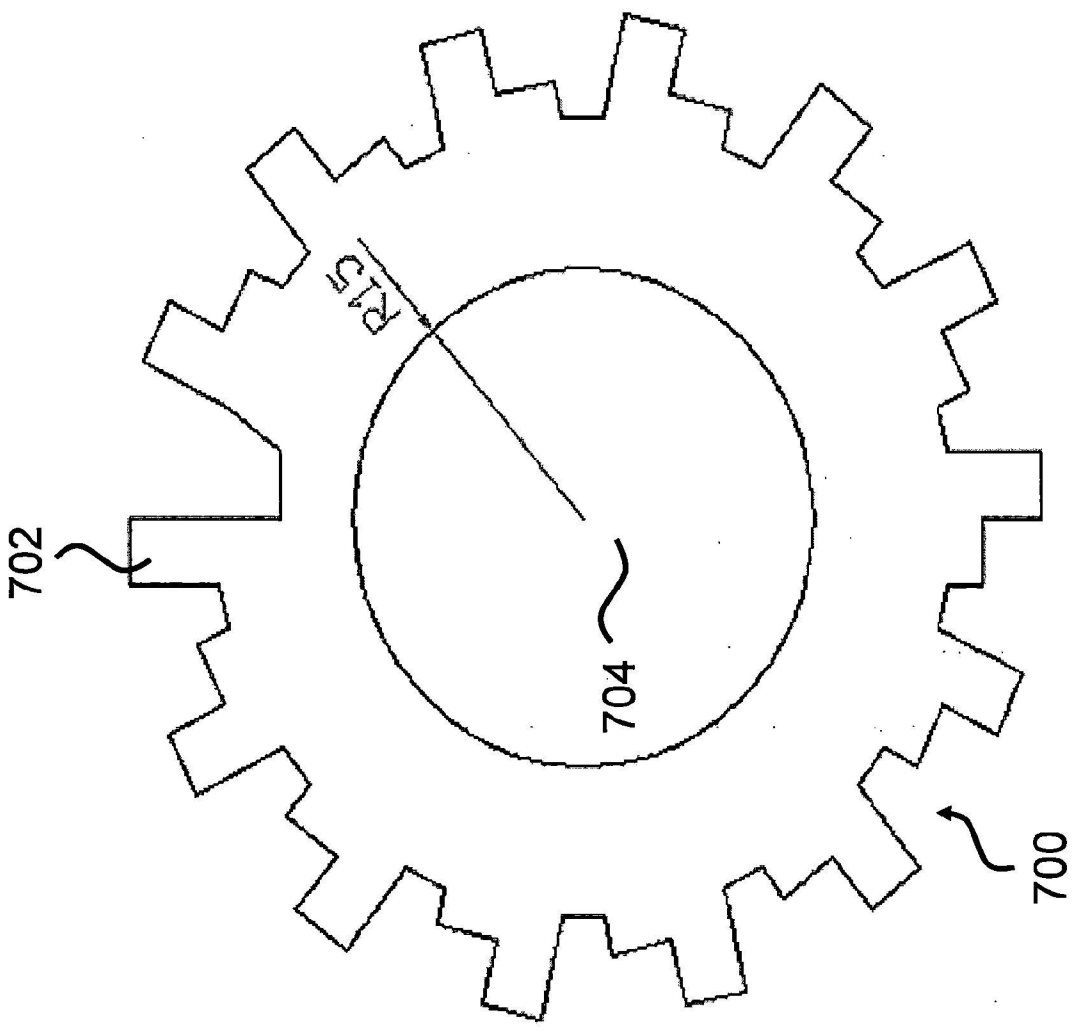


第六A圖

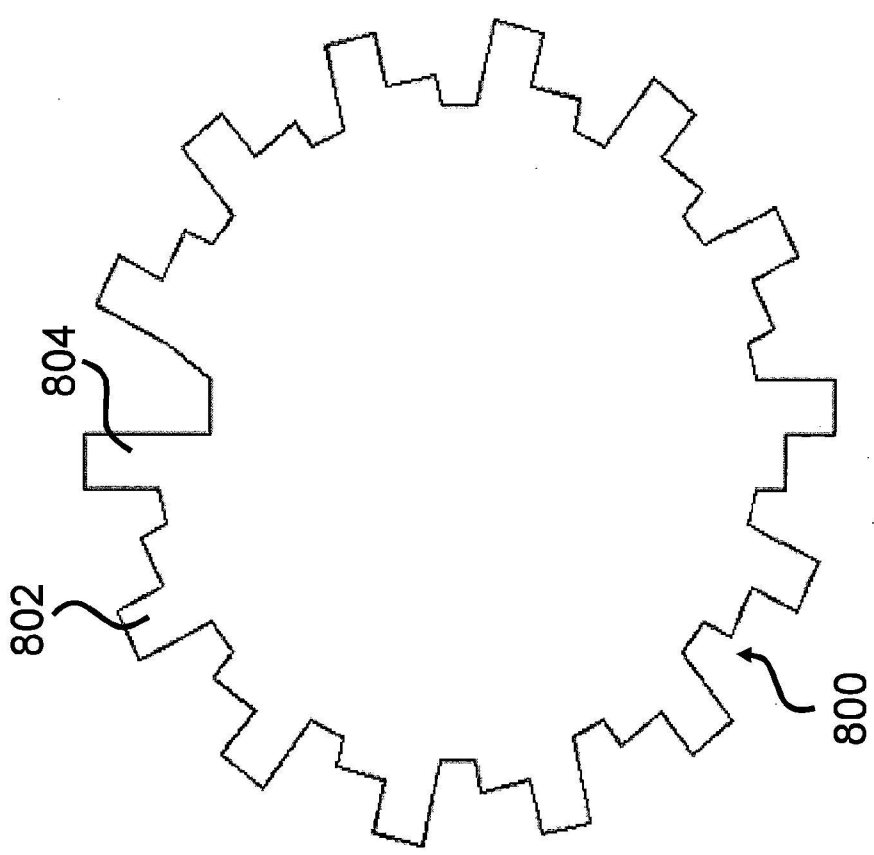


第六B圖

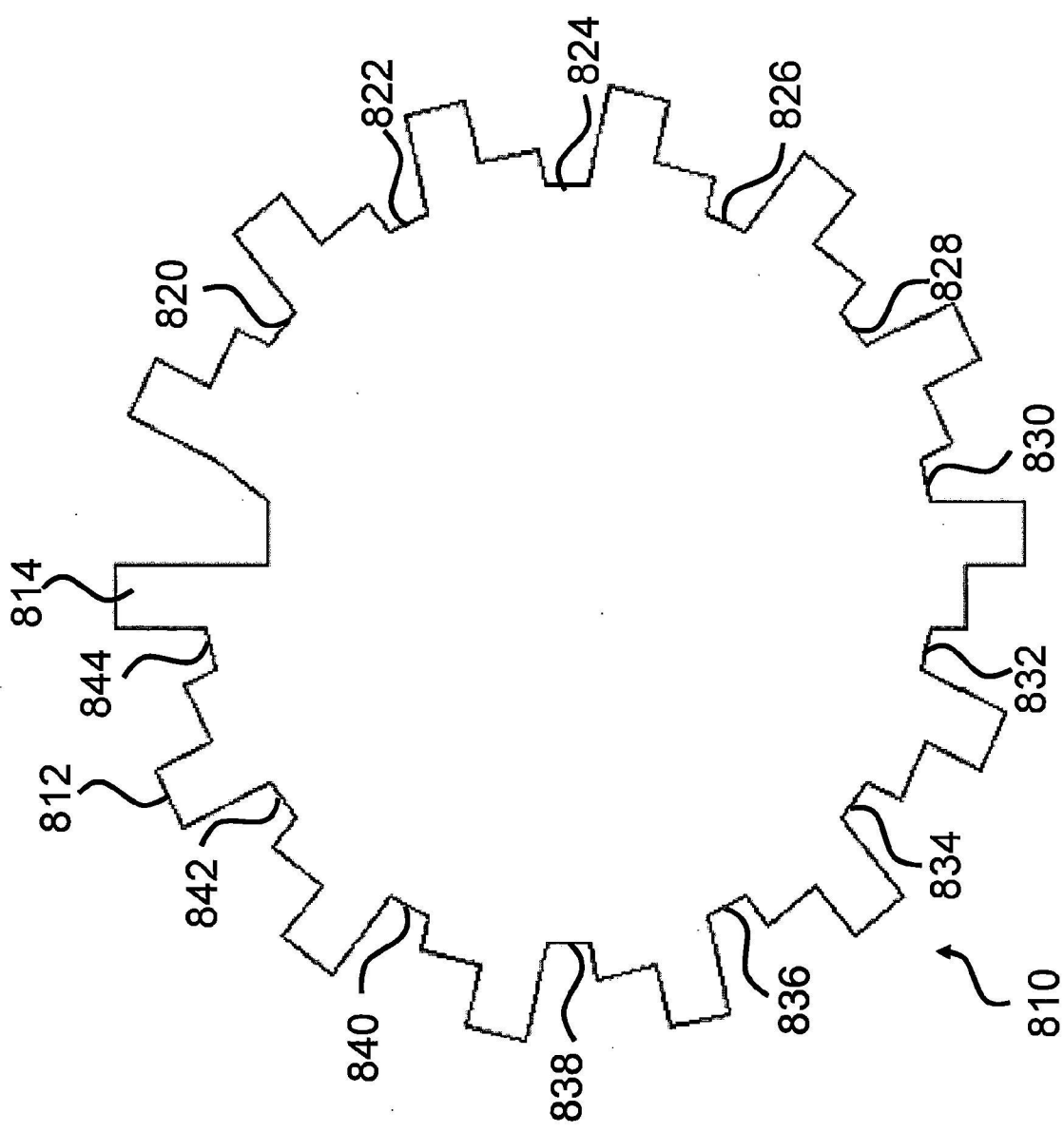




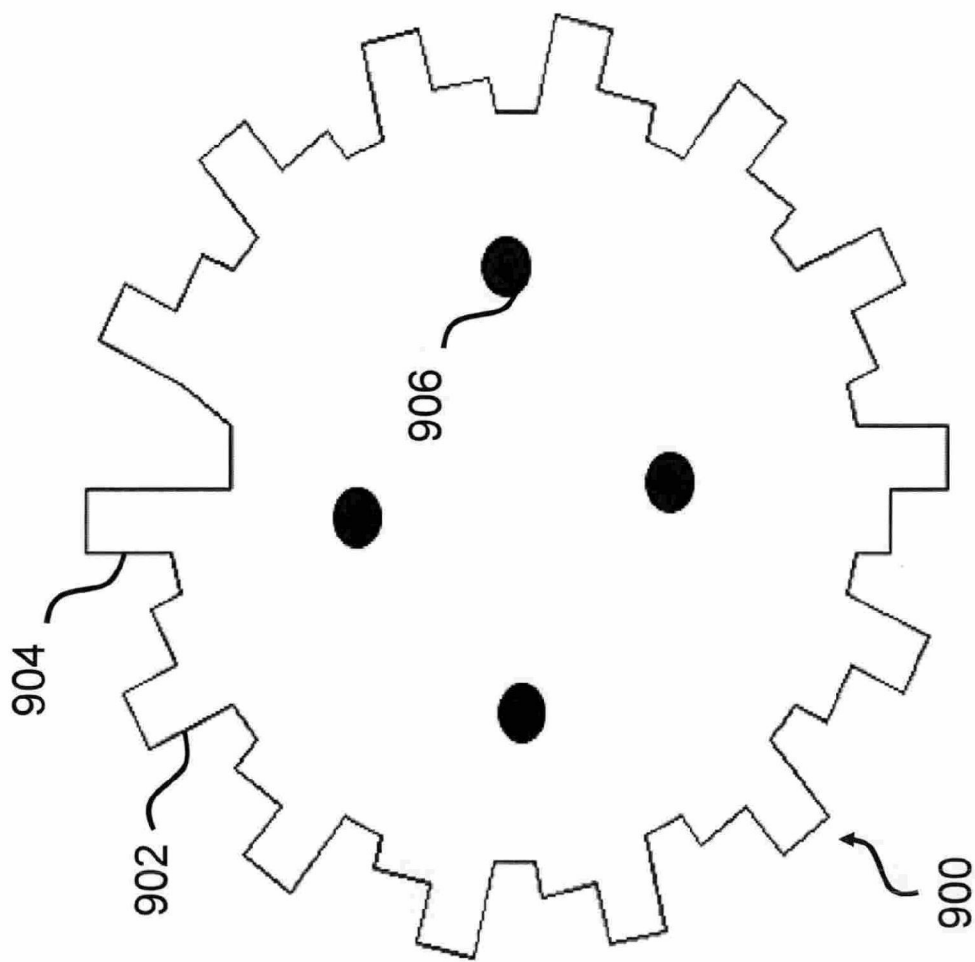
第七圖



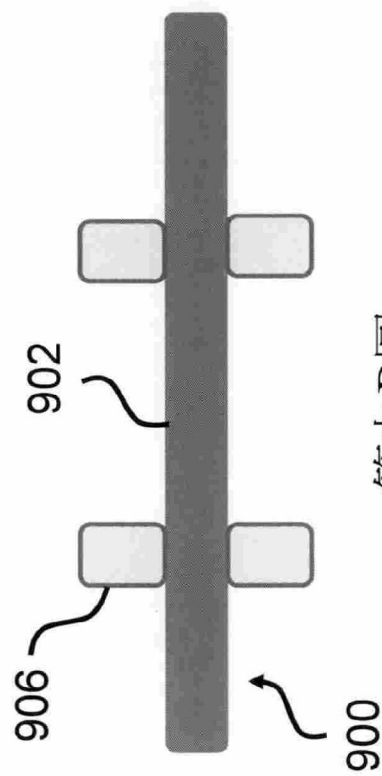
第八A圖



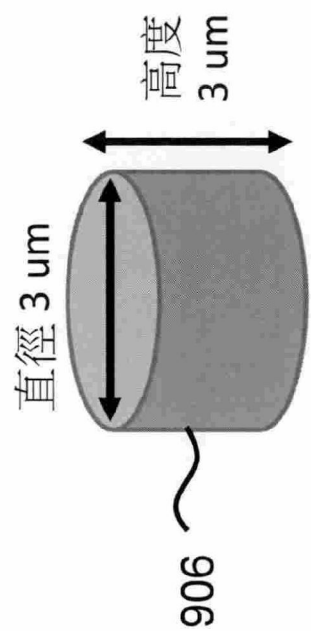
第八B圖



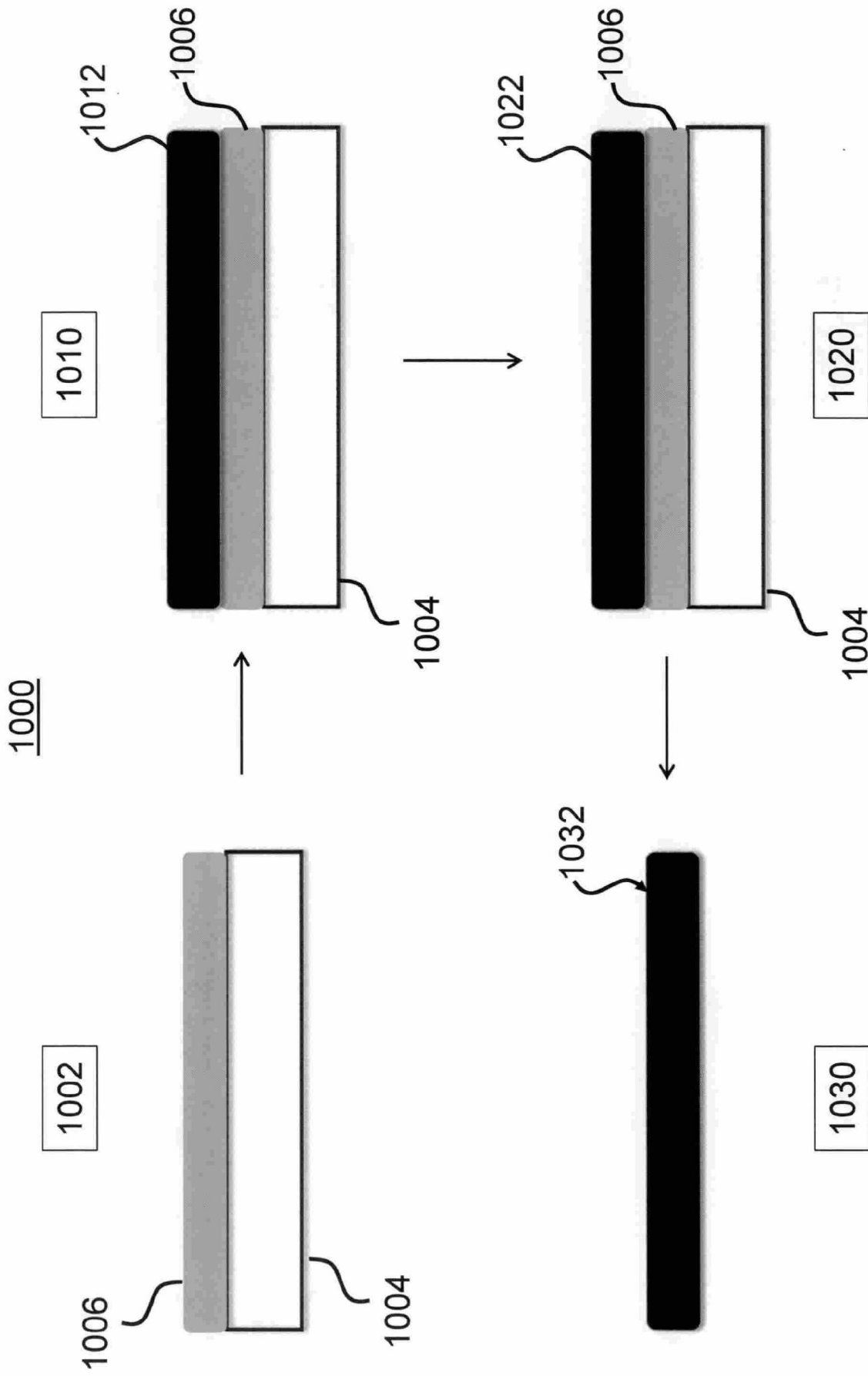
第九A圖



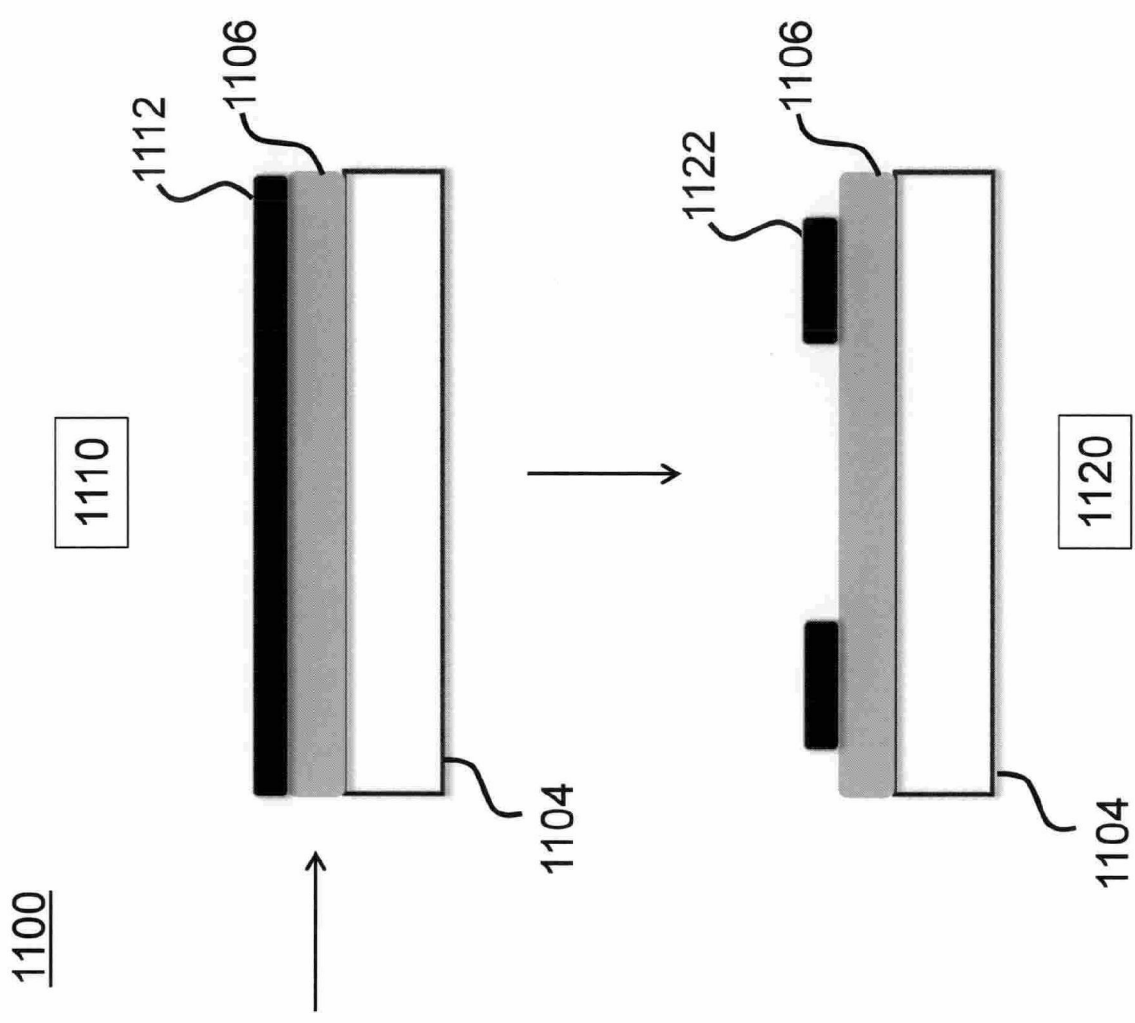
第九B圖



第九C圖



第十圖

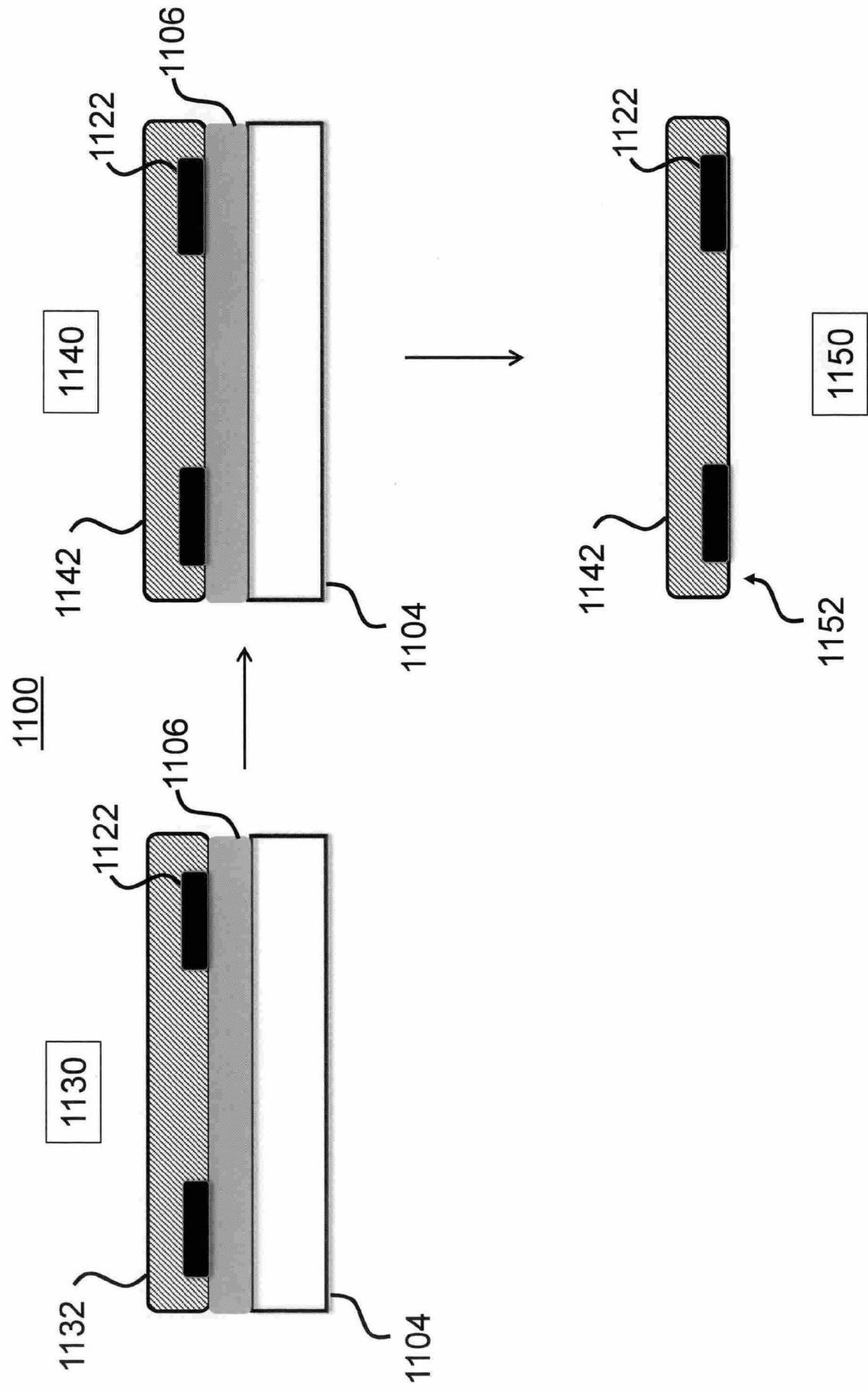


1102

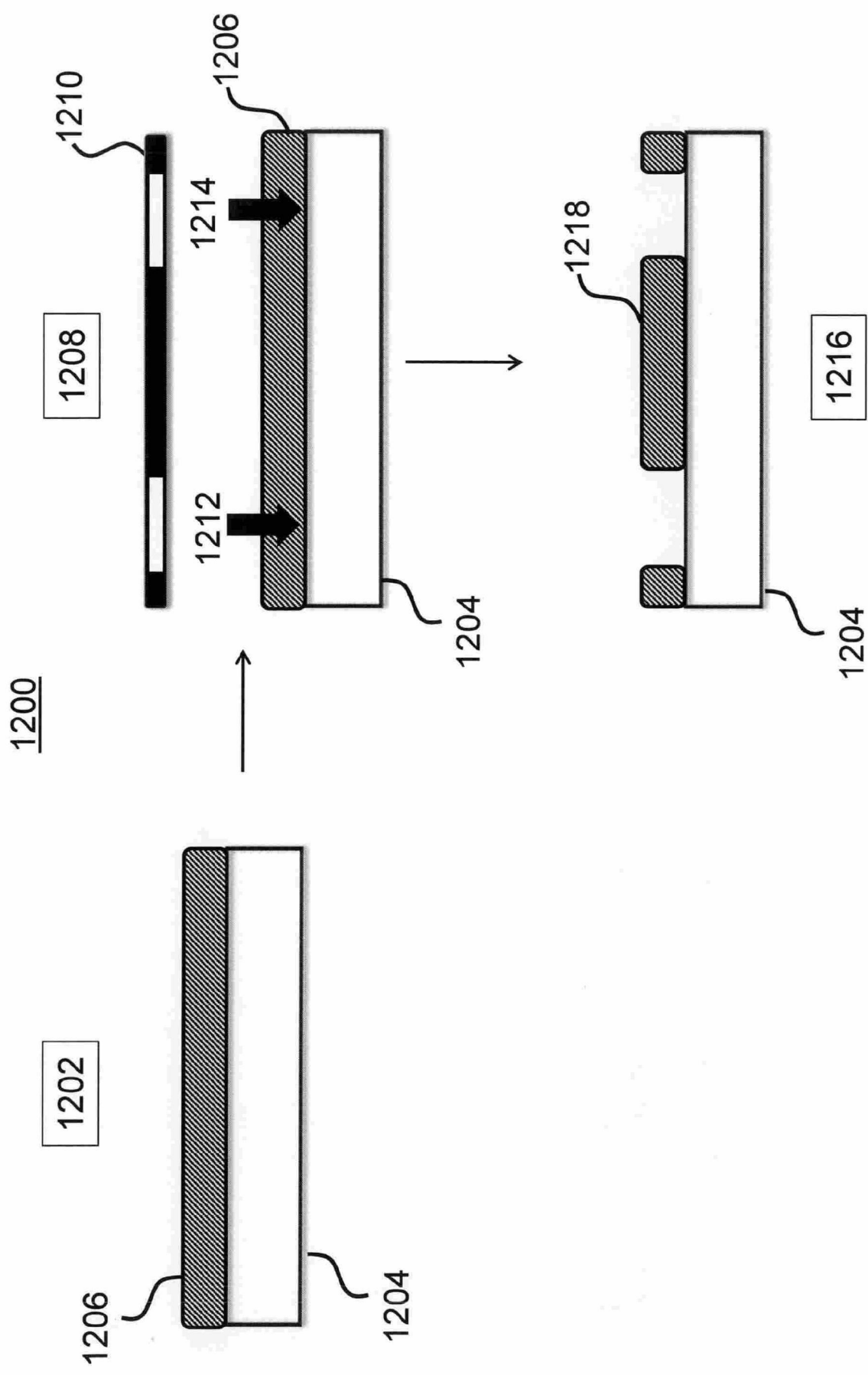
1106

1104

第十一A圖

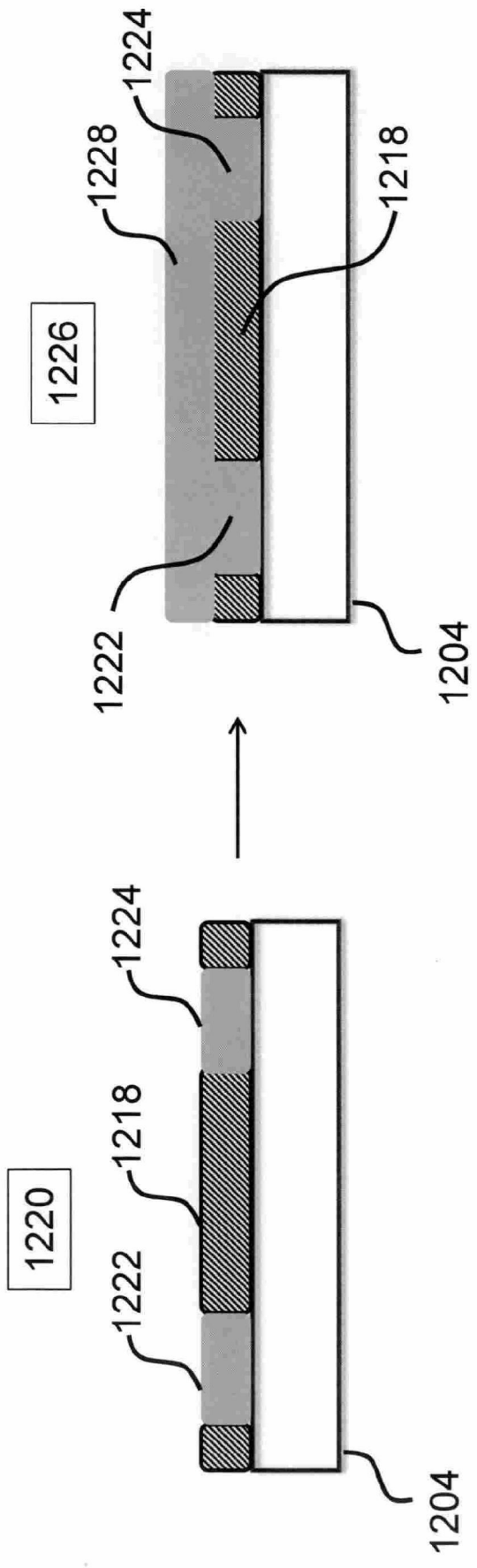


第十一B圖

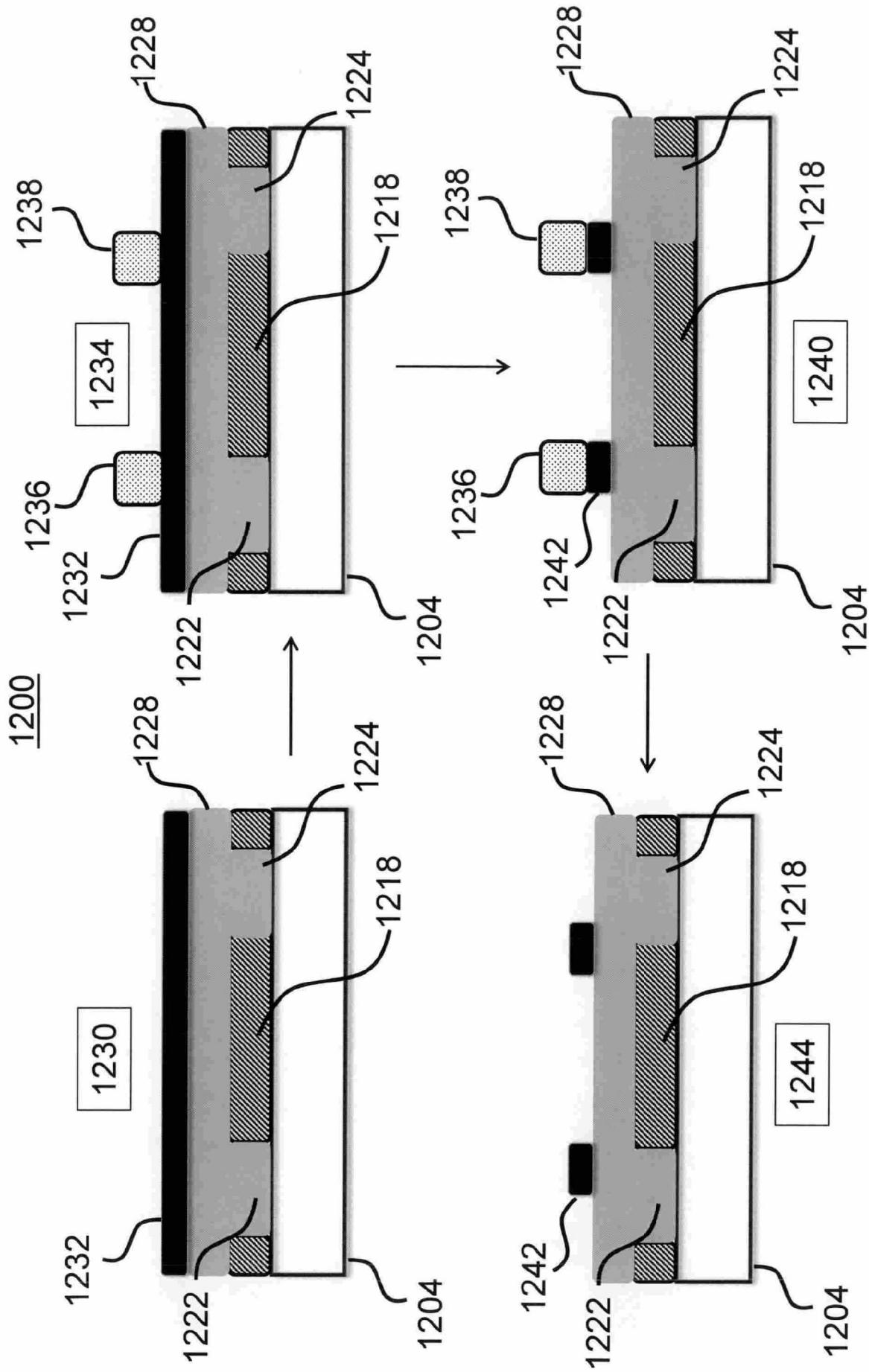


第十二A圖

1200

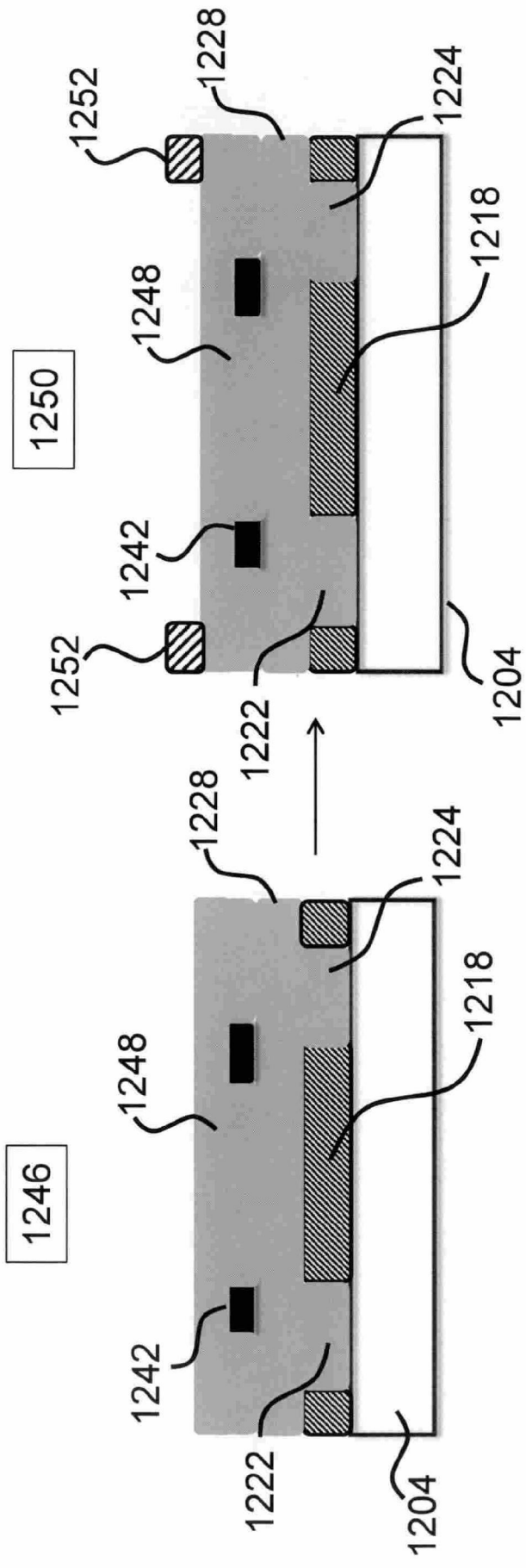


第十二B圖

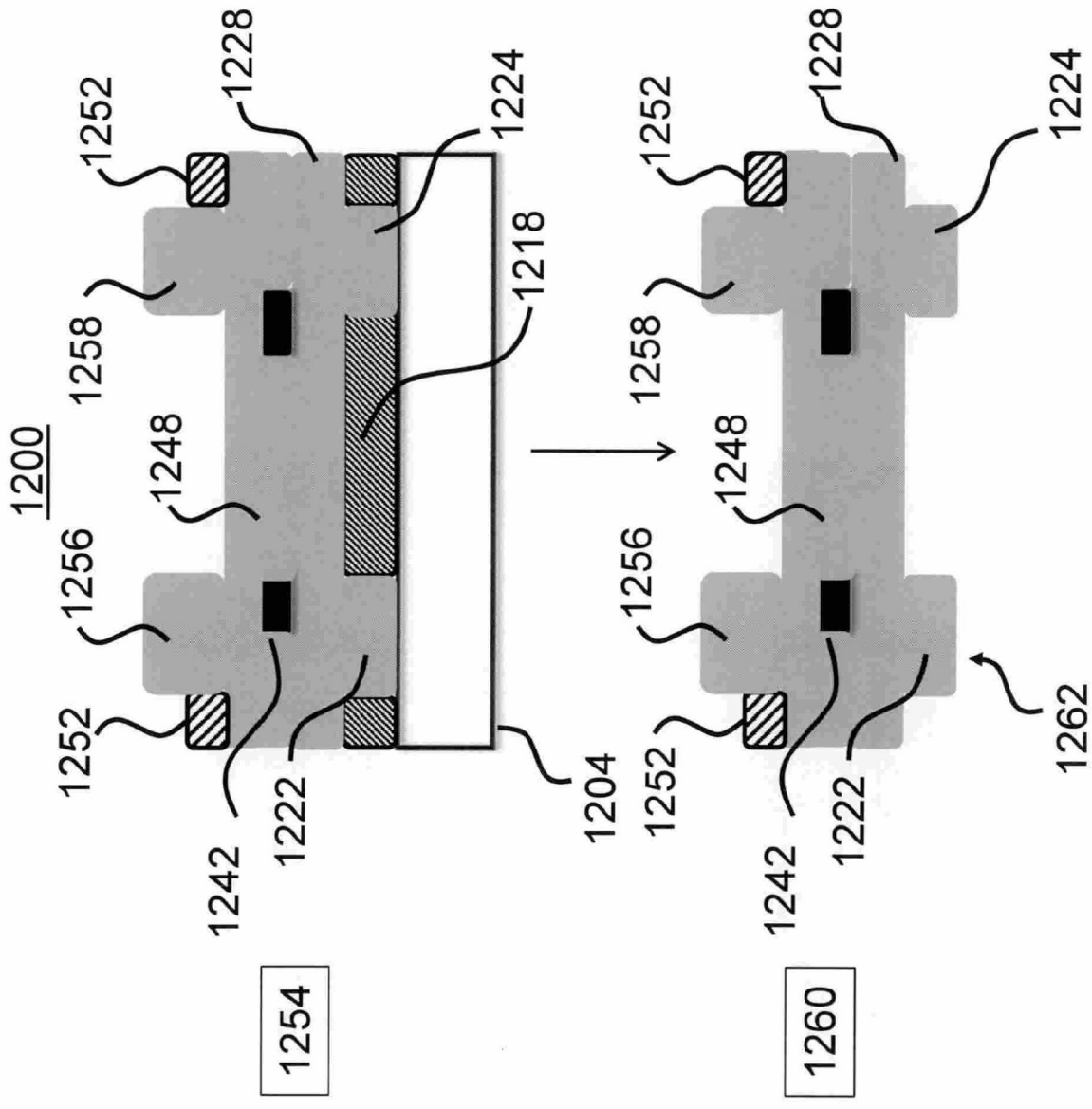


第十二C圖

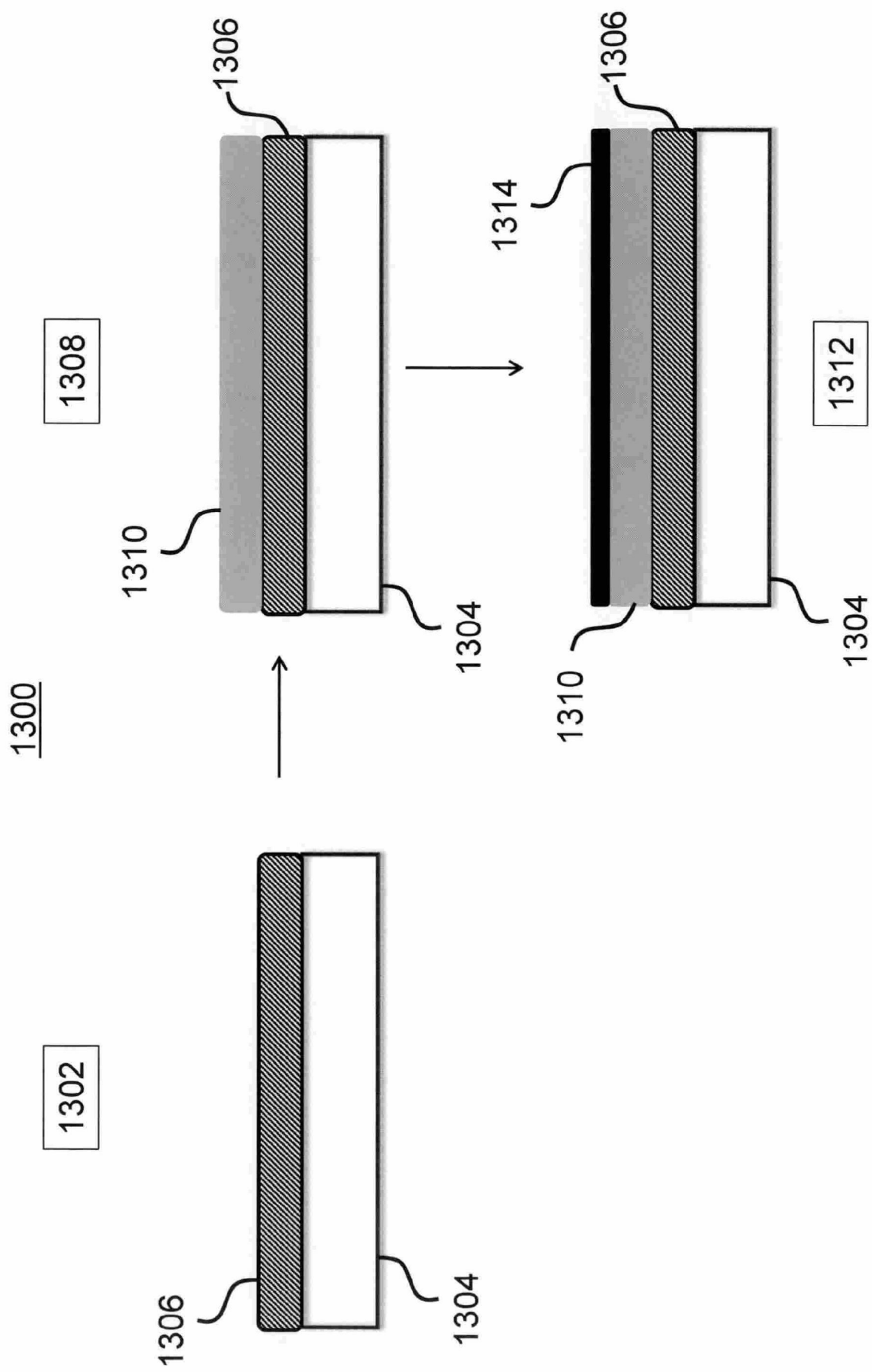
1200



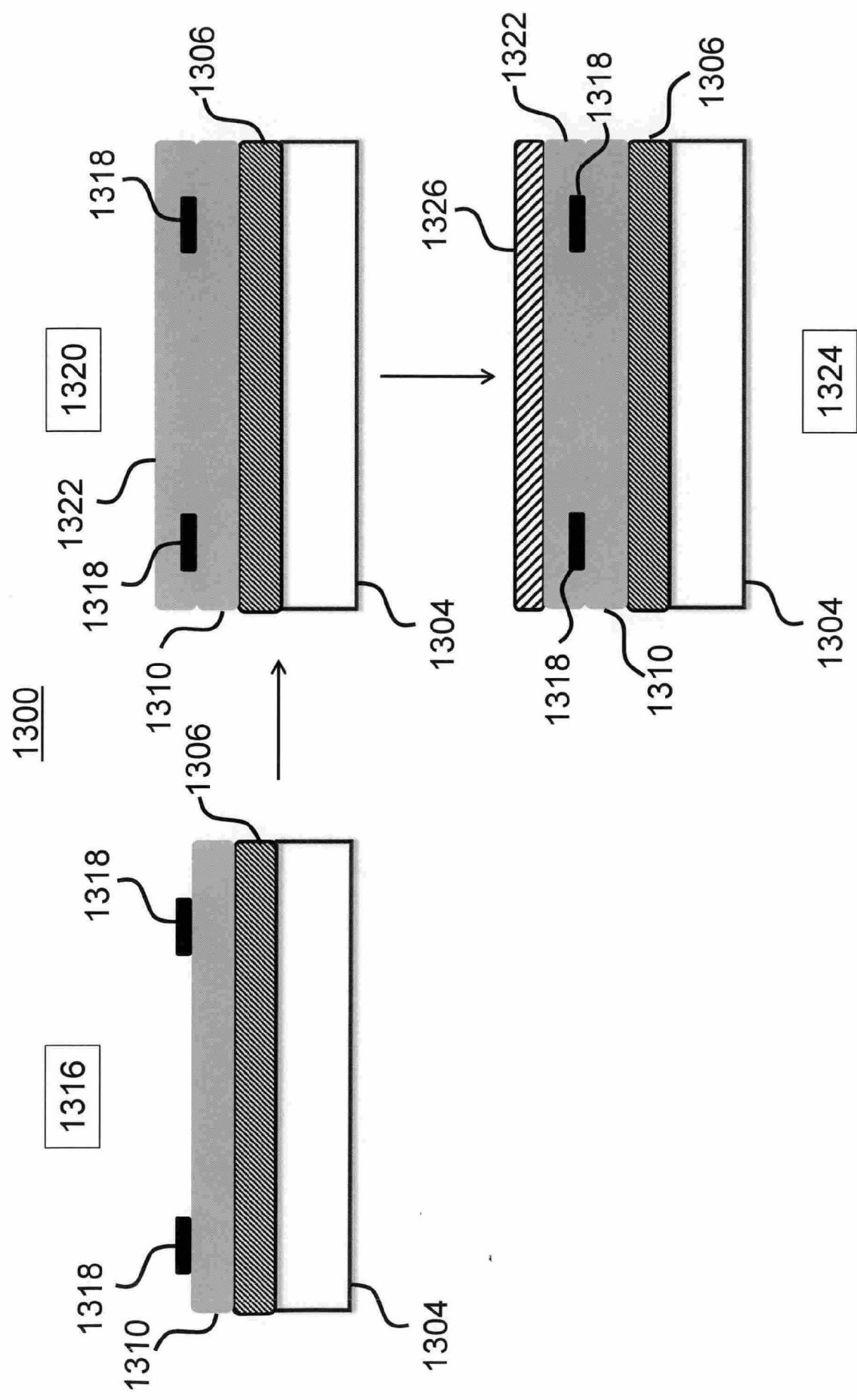
第十二D圖



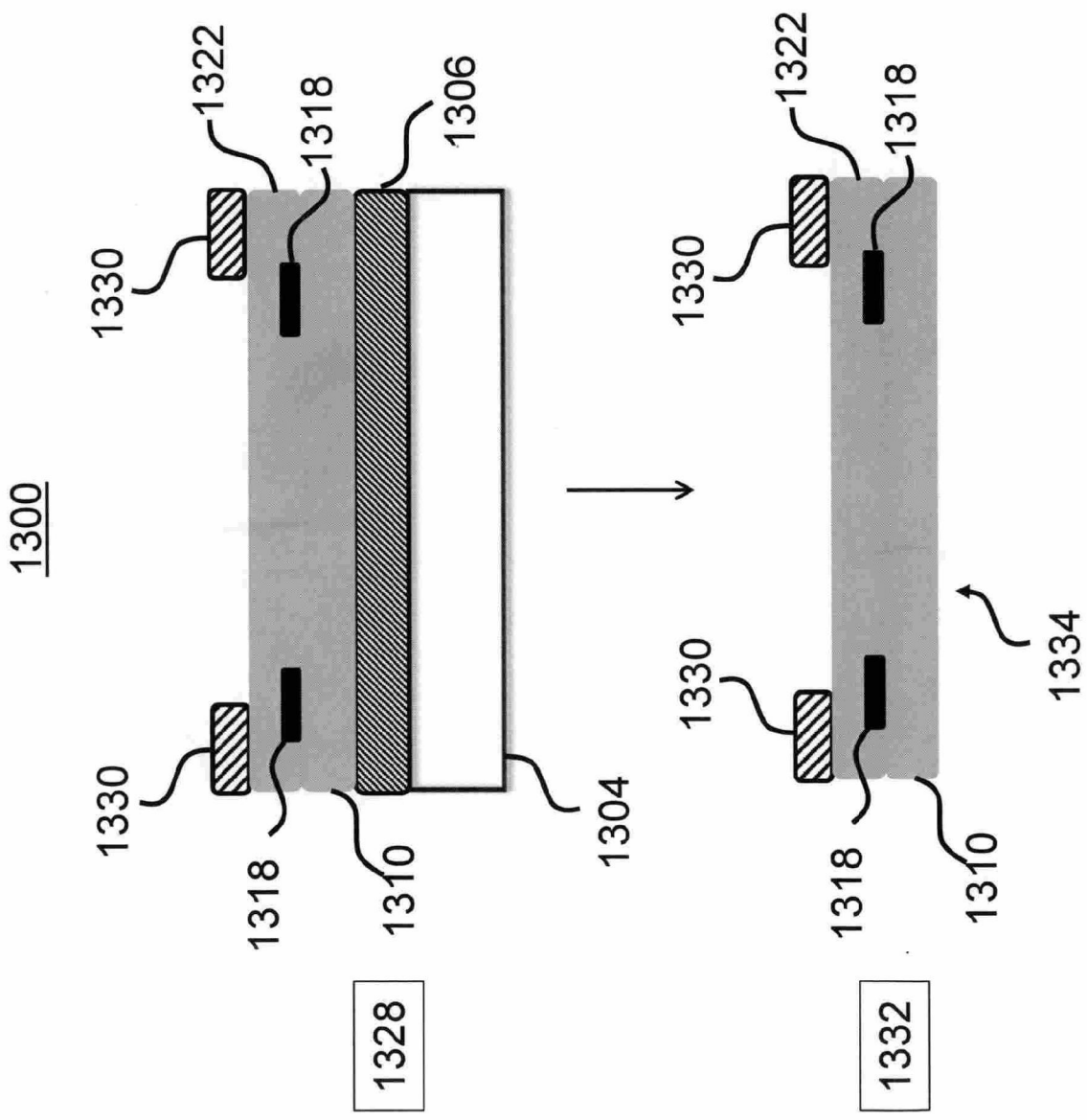
第十二E圖



第十三A圖



第十三B圖



第十三C圖