



(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 I871210 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 01 月 21 日

(21)申請案號：113108712

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 11 月 29 日

(51)Int. Cl. : **H01L27/146 (2006.01)****H01L21/8238(2006.01)****G01N21/64 (2006.01)****G01N21/76 (2006.01)**

(30)優先權：2018/12/01 美國

US 62/774,239

(71)申請人：大陸商深圳華大智造科技有限公司 (中國大陸) MGI TECH CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：李世峰 LI, SHI FENG (CN)；鐘 誠 ZHONG, CHENG FRANK (US)

(74)代理人：謝佩玲；王耀華

(56)參考文獻：

TW 201702575A

TW 201719877A

TW 201737478A

TW 201830004A

US 2014/0203340A1

審查人員：陳融詳

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：6 共 42 頁

(54)名稱

使用生物感測器的生物分子分析方法

(57)摘要

一種光電二極體可以包含具有第一表面和第二表面的半導體基板以及位於第一表面附近的光感應接面。所述第二表面定位成與所述第一表面相對，所述第二表面包含覆蓋所述半導體基板中的凹陷區域的凹入表面。

A photodiode includes a semiconductor substrate having a first surface and a second surface, and a light sensing junction located adjacent to the first surface. The second surface is located opposite the first surface, and the second surface includes a concave surface covering a recessed region in the semiconductor substrate.

指定代表圖：

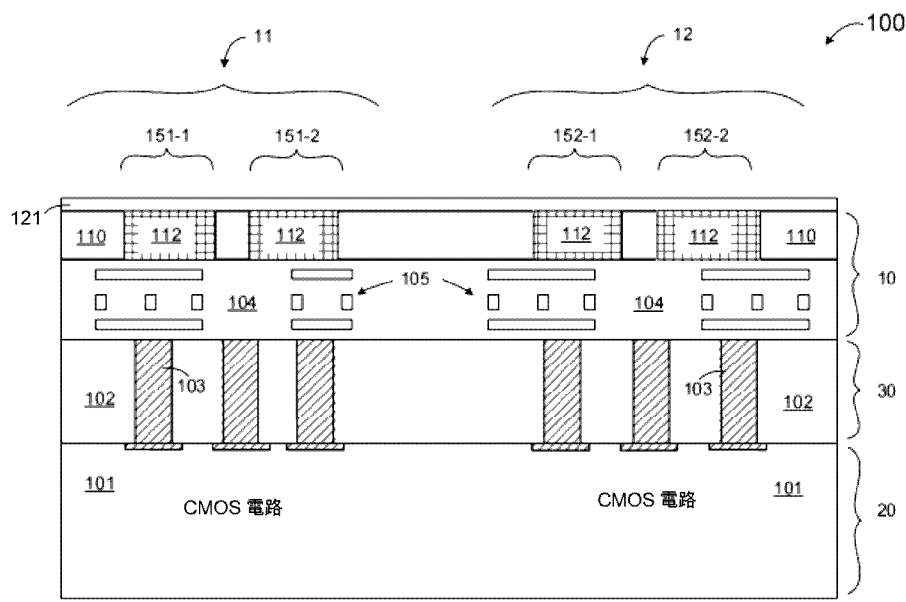


圖 1

- 符號簡單說明：
- 10:CMOS 圖像傳感器層
 - 11:區域
 - 12:區域
 - 20:CMOS 處理電路層
 - 30:堆疊層，堆疊介面層
 - 100:半導體晶圓
 - 101:矽基板層
 - 102:介電層
 - 103:通孔
 - 104:介電層
 - 105:金屬佈線
 - 110:半導體層
 - 112:光電二極體
 - 121:鈍化層，第一鈍化層
 - 151-1:池區域
 - 151-2:池區域
 - 152-1:池區域
 - 152-2:池區域

公告本

I871210

【發明摘要】

【中文發明名稱】使用生物感測器的生物分子分析方法

【英文發明名稱】Method of biomolecule analysis using biosensor

【中文】

一種光電二極體可以包含具有第一表面和第二表面的半導體基板以及位於第一表面附近的光感應接面。所述第二表面定位成與所述第一表面相對，所述第二表面包含覆蓋所述半導體基板中的凹陷區域的凹入表面。

【英文】

A photodiode includes a semiconductor substrate having a first surface and a second surface, and a light sensing junction located adjacent to the first surface. The second surface is located opposite the first surface, and the second surface includes a concave surface covering a recessed region in the semiconductor substrate.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】

10:CMOS圖像傳感器層

11:區域

12:區域

20:CMOS處理電路層

30:堆疊層,堆疊介面層

100:半導體晶圓

101:矽基板層

102:介電層

103:通孔

104:介電層

105:金屬佈線

110:半導體層

112:光電二極體

121:鈍化層,第一鈍化層

151-1:池區域

151-2:池區域

152-1:池區域

152-2:池區域

【發明說明書】

【中文發明名稱】使用生物感測器的生物分子分析方法

【英文發明名稱】Method of biomolecule analysis using biosensor

【技術領域】

【0001】 本申請要求於 2018 年 12 月 1 日提交的名稱為 “Methods And Structures To Improve The Light Collection Efficiency” 的美國臨時專利申請 No.62/774,239 的優先權，該臨時專利被共同轉讓並通過引用整體併入本文，以用於所有目的。

【0002】 本發明通常涉及用於光電二極體和生物傳感器以用於生物或化學分析的方法和結構。

【先前技術】

【0003】 發現CMOS圖像傳感器可用於電子成像設備，包括用於數位相機、醫學成像設施、雷達設備等。CMOS圖像傳感器使用積體電路和一系列光電二極體，可以捕獲光並將其轉換為電信號。

【0004】 CMOS圖像傳感器通常在積體電路晶片（chip）上實現。晶片可以具有用於每個像素的放大器。雖然在晶片中包含許多放大器可能導致用於捕獲光的區域較少，但是可以將其他部件整合到晶片上以將更多光引導到光電二極體中。例如，可以將微透鏡放置在光電二極體的前面以將光引導到光電二極體中。為了進一步增加撞擊光電二極體的光量，可以使用背面照射(BSI)。BSI有效地將光電二極體放置在更靠近光源的位置，而不是在積體電路佈線之下和

之間，從而減少了破壞性干擾。BSI CMOS傳感器還具有其他優點。例如，BSI CMOS傳感器可具有低工作電壓、低功耗、高效率和低雜訊。

【0005】 BSI CMOS圖像傳感器通常具有兩個功能區域：光感測區域和電子電路區域。光感測區域包括以陣列佈置的光電二極體，其耦合到檢測光強度的金屬氧化物半導體(MOS)電晶體。電子電路區域在MOS電晶體和外部連接之間提供連接，例如與用於處理來自MOS電晶體的資料的其他器件的連接。

【0006】 在實踐中，BSI CMOS圖像傳感器可以採用將入射光分成不同波長的光波段的濾光器。光被基底上的光電二極體接收並轉換成不同強度的電信號。例如，入射光束可以被分成紅色、綠色和藍色光，並且由每個顏色的相應光電二極體接收。每個光電二極體將檢測到的光強度轉換成電信號。這是通過光電二極體累積電荷來實現的。例如，光的強度越高，光電二極體中累積的電荷越多。然後可以將累積的電荷與顏色和亮度相關聯。

【0007】 除了上述用途之外，CMOS圖像傳感器還可以用於生物或化學分析。對於這樣的分析，可以將生物或化學樣品放置在光電二極體上方，並且可以將生物或化學樣品發射的光引導到光電二極體。可以通過光電二極體檢測樣品的螢光或化學發光，並且可以確定顏色和亮度。該顏色和亮度可用於識別生物或化學樣品。

【發明內容】

【0008】 本發明的技術內容通過提供可以改善用於生物或化學分析的生物傳感器中的光收集效率的光電二極體解決了與先前方法相關的缺點。

【0009】 根據本發明的技術內容，BSI CMOS圖像傳感器可用於有效分析和測量樣品的螢光或化學發光。該測量的值可用於幫助識別樣品。本發明的技術內容還提供製備用於生物或化學分析的改進的生物傳感器的方法。如本文所用，術語“生物傳感器”可用於指用於確定生物分子，特別是以DNA和支鏈的或其他衍生化核酸（derivatized nucleic acids）為例的核酸大分子內或附接於其上的發光物質的設備。如本文所使用的，術語“核酸大分子”可以指例如DNB或單鏈技術內容。

【0010】 根據本發明的一些技術內容，提供了用於增加由樣品的螢光或化學發光發射的光的收集的方法和結構。在某些技術內容中，一種光電二極體可以包含具有第一表面和第二表面的半導體基板以及位於第一表面附近的光感應接面。所述第二表面定位成與所述第一表面相對，所述第二表面包含覆蓋所述半導體基板中的凹陷區域的凹入表面。

【0011】 在上述光電二極體的一些技術內容中，所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。

【0012】 在一些技術內容中，所述半導體基板包含矽材料。

【0013】 在一些技術內容中，所述光感應接面包含P-N接面。

【0014】 在一些技術內容中，所述光感應接面包含在N型基板中的P+區。

【0015】 在一些技術內容中，所述光感應接面包含在P型基板中的N+區。

【0016】 在一些技術內容中，所述光電二極體還包含：金屬氧化物層，其覆蓋在所述半導體基板的所述第二表面上；以及氧化物層，其覆蓋在所述金屬氧化物層上。

【0017】 在一些技術內容中，所述金屬氧化物層包括夾心的氧化鉭 (Ta_2O_5) 和氧化鈺 (HfO_2) 薄層，所述氧化物層包含氧化矽。

【0018】 在一些技術內容中，所述的光電二極體還包含：一個或多個金屬氧化物層，其覆蓋在所述半導體基板的所述第二表面上；以及氧化矽層，其覆蓋在所述金屬氧化物層上。

【0019】 在一些技術內容中，所述金屬氧化物層包含氧化鈺 (HfO_2) 和氧化鉭 (Ta_2O_5) 中的一種或多種。

【0020】 在一些技術內容中，所述金屬氧化物層包含陽極氧化鋁 (Al_2O_3)、氧化鉭 (Ta_2O_5)、氧化鈮 (Nb_2O_5)、氧化鋯 (ZrO_2) 和氧化鈦 (TiO_2) 中的一種或多種。

【0021】 在一些技術內容中，使用乾式蝕刻製程形成所述半導體基板中的所述凹陷區域。

【0022】 在一些技術內容中，所述乾式蝕刻製程包括基於氯的蝕刻製程或基於氟的乾式蝕刻製程。

【0023】 在一些技術內容中，使用濕式蝕刻製程形成所述半導體基板中的所述凹陷區域。

【0024】 在一些技術內容中，所述濕式蝕刻製程包含依賴於結晶順向的濕式非等向性 (anisotropic) 蝕刻。

【0025】 在一些技術內容中，所述濕式蝕刻製程包含使用KOH (氫氧化鉀) 的蝕刻製程。

【0026】 根據一些技術內容，一種生物傳感器可以具有背面照射互補金屬氧化物半導體 (CMOS) 圖像傳感器，其包括電子電路層；和在所述電子電路層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的

光感應接面和與所述電子電路層相對的光接收表面。所述光接收表面包括覆蓋所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面，並且所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。

【0027】 在以上生物傳感器的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0028】 在一些技術內容中，所述電子電路層包括：介電層；和形成在所述第一介電層中的金屬佈線，其中所述金屬佈線被配置為將所述多個光電二極體耦合到外部設備。

【0029】 在一些技術內容中，所述生物傳感器還包括：在所述背面照射CMOS圖像傳感器上的鈍化層（passivation layer）。

【0030】 在上述生物傳感器的一些技術內容中，所述多個光電二極體中的每個光電二極體被配置為檢測從所述多個核酸大分子中的核酸大分子上的螢光或化學發光標記發射的光。

【0031】 在一些技術內容中，所述光從螢光標記的寡核苷酸探針發射，所述螢光標記的寡核苷酸探針與固定在斑點上的核酸擴增子雜交。

【0032】 在一些技術內容中，所述光從與固定所述斑點上的核酸擴增子（nucleic acid amplicon）雜交的螢光標記的引物延伸產物發射。

【0033】 在一些技術內容中，所述核酸擴增子來自基因組DNA片段或cDNA文庫。

【0034】 在一些技術內容中，所述擴增子通過滾環擴增（rolling circle amplification）或橋聚合酵素鏈式反應(PCR)形成。

【0035】 在一些技術內容中，所述生物傳感器還包括激發光源。

【0036】 一些技術內容提供一種方法，其包括：提供背面照射互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器。提供所述背面照射CMOS圖像傳感器包括：提

供電子電路層；以及在所述電子電路層上提供光感應層。所述光感應層包括：電子電路層；和在所述電子電路層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的光感應接面和由所述多個光電二極體的與所述電子電路層相對的表面限定的光接收表面。所述光接收表面包含覆蓋所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面。所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。

【0037】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0038】 在一些技術內容中，從所述斑點中包含的所述核酸大分子發射的所述光被一個光電二極體的所述光接收表面接收。

【0039】 在一些技術內容中，從所述斑點中包含的所述核酸大分子發射的所述光從多於一個的光電二極體的所述光接收表面接收。

【0040】 在一些技術內容中，提供所述電子電路層包括：沉積介電層；以及在所述介電層中形成金屬佈線。所述金屬佈線被配置為將所述多個光電二極體耦合到外部設備。

【0041】 在一些技術內容中，所述方法還包括：在所述背面照射CMOS圖像傳感器上沉積鈍化層。

【0042】 在一些技術內容中，所述方法還包括：將所述多個核酸大分子中的核酸大分子附接於多個斑點中的斑點。

【0043】 在一些技術內容中，所述方法還包括：使用所述多個光電二極體中的光電二極體檢測從所述核酸大分子上的螢光或化學發光標記發射的光。

【0044】 在一些技術內容中，所述光從與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交的螢光標記的寡核苷酸探針發射。

【0045】 在一些技術內容中，所述光從與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交的螢光標記的引物延伸產物發射。

【0046】 在一些技術內容中，所述核酸擴增子來自基因組DNA片段或cDNA文庫。

【0047】 在一些技術內容中，所述擴增子通過滾環擴增或橋聚合酵素鏈式反應(PCR)形成。

【0048】 在一些技術內容中，所述方法還包括：用激發光源照射所述核酸大分子。

【0049】 根據一些技術內容，一種核酸測序方法包括反覆運算地執行過程，該過程包括以下步驟：

用螢光標記來標記核酸大分子，所述螢光標記識別所述核酸大分子中特定位置處的核苷酸鹼基；

檢測與所述核酸大分子相關的所述螢光標記，其中檢測所述螢光標記包括：

用激發光照射所述核酸大分子，其中所述核酸大分子吸收所述激發光並使發射的光傳輸到達背面照射(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器的光電二極體上；

測量在所述光電二極體處接收的所述發射的光的至少一個參數；以及
將所述發射的光的所述至少一個參數與所述螢光標記相關聯；以及
從所述核酸大分子中除去所述螢光標記。

【0050】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0051】 根據一些技術內容，一種核酸測序方法包括反覆運算地執行過程，該過程包括以下步驟：

用化學發光標記來標記核酸大分子，所述化學發光標記識別所述核酸大分子中特定位置處的核苷酸鹼基；

改變所述核酸大分子化學發光的環境，以使所述標記發射光；

其中使所發射的所述光傳輸到達背面照射(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器的光電二極體上；

測量在所述光電二極體處接收的所述發射的光的至少一個參數；以及

將所述發射的光的所述至少一個參數與所述化學發光標記相關聯；以及

從所述核酸大分子中除去所述化學發光標記。

【0052】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0053】 根據一些技術內容，一種生物傳感器具有背面照射互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器，其包括：電子電路層；以及在所述電子電路層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的光感應接面和由所述多個光電二極體的與所述電子電路層相對的表面限定的光接收表面。所述光接收表面包含覆蓋在所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面。在所述光接收表面上方的保護層，其尺寸和功能被設置為包含多個核酸大分子。

【0054】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0055】 通過參考以下說明、請求項和圖式，前述以及其他特徵和技術內容將變得更加明顯。

【圖式簡單說明】

【0056】 圖1是根據本發明一些技術內容的包含多個背面照射（BSI）CMOS圖像傳感器的半導體晶圓（wafer）的截面圖。

【0057】 圖2是根據本發明一些技術內容的光電二極體的剖視圖。

【0058】 圖3是圖2的光電二極體的截面圖，其表示了根據本發明的一些技術內容的由生物樣品發射的光的收集效率。

【0059】 圖4是根據本發明一些技術內容的具有改善的對生物樣品發射的光的光收集效率的光電二極體的截面圖。

【0060】 圖5是根據本發明的替代技術內容的具有改善的對生物樣品發出的光的光收集效率的光電二極體的截面圖。

【0061】 圖6是根據本發明的一些技術內容的另一光電二極體的截面圖，該光電二極體具有改善的對生物樣品發射的光的光收集效率。

【實施方式】

【0062】 圖1是根據本發明的一些技術內容的包含多個背面照射（BSI）CMOS圖像傳感器的半導體晶圓的截面圖。在基於半導體的測序池的製造中，晶圓可具有數千個晶粒（die），每個晶粒代表晶圓的將被製造成包含多個池陣列（an array of multiple cells），例如，數百個或更多池的測序晶片的部分。為了簡單起見，圖1僅表示了半導體晶圓100中的區域11和12，其被設計用於兩個單獨的晶粒中的兩個流通池，並且每個區域被表示為僅具有兩個池區域，如圖1所示。區域11包含池區域151-1和151-2，區域12包含池區域152-1和152-2。

【0063】 如圖1所示，半導體晶圓100包含CMOS圖像傳感器層10、CMOS處理電路層20和堆疊層30。在堆疊技術中，CMOS圖像傳感器層10和CMOS處理電路層20可以分別製造，然後在3-D堆疊設備中通過堆疊介面層30接合在一起。

【0064】 CMOS圖像傳感器層10包含形成在半導體層110中的光感測部件，例如，光電二極體112。半導體層110可以由任何合適的材料製成，諸如，例如，由矽、矽上III-V族、矽上石墨烯、絕緣體上矽、它們的組合等製成。儘管這裡相對於光電二極體112進行了描述，但是預期可以使用任何合適的光感應部件。光電二極體112可以配置為將所測得的光轉換成電流。光電二極體112可以包括MOS電晶體(未示出)的源極和汲極，其可以將電流傳輸到其他部件，例如其他MOS電晶體。其他部件可以包括重置電晶體、電流源隨耦器或用於將電流轉換為數位信號的列選擇器等。儘管描述為介電質，但是預期，介電層可以包含任何合適的電絕緣材料。

【0065】 CMOS圖像傳感器層10還包含形成在介電層104中的金屬佈線105。金屬佈線115可以包含用於積體電路材料的互連和外部連接。

【0066】 為了簡單起見，CMOS處理電路層20被示為矽基板層101。然而，應當理解，CMOS處理電路層20可以包含測序操作所需的CMOS電路。例如，CMOS處理電路層20可以包含用於影像處理、信號處理以及用於排序操作和外部通信的控制功能的電路。

【0067】 如圖1所示，CMOS圖像傳感器層10被配置用於背面照射(BSI)。CMOS圖像傳感器層10和CMOS處理電路層20可以分別製造，然後在3-D堆疊器件中通過堆疊層30接合在一起。堆疊層30可以包含介電層102和在介電層102中形成的通孔103。通孔103用於連接CMOS圖像傳感器層10和CMOS處理電路層20。

【0068】圖1還表示了鈍化層121，其覆蓋在CMOS圖像傳感器層10上。鈍化層121可以通過常規的半導體處理技術（例如，低溫電漿化學氣相沉積、PECVD、濺鍍、ALD、旋塗、浸漬等）沉積在基板層和光電二極體112上。鈍化層121可以包含任何合適的保護材料。例如，鈍化層121可以包含諸如氮化矽、氧化矽、其他介電材料或其組合等等材料。鈍化層121可以用作隨後的蝕刻步驟的蝕刻停止層，如本文進一步所述的。鈍化層121可以可替代地或附加地起到保護有源器件（即，背面照射CMOS傳感器）的作用。鈍化層121可以可替代地或附加地起到保護光電二極體112免受由頻繁使用引起的磨損的作用。鈍化層121可以是透明的。

【0069】可以在第一鈍化層121上方或之內形成離散區域，有時稱為“斑點”或孔（未示出），分析物分子可以定位或固定在該離散區域上。化學或生物樣品可以放置在離散區域上或上方以進行分析。通常，對於DNA測序，生物樣品包含DNA測序文庫。DNA測序文庫的DNB或其他成員或其無性的種群位於離散區域中。

【0070】在一些技術內容中，CMOS圖像傳感器層10可以適於檢測來自相應生物分子陣列的光信號（例如，螢光或化學發光發射），其中各個生物分子可以位於（例如，在斑點或孔中）一個或多個光電二極體上方，使得一個或多個光電二極體接收來自生物分子的光。如本文所使用的，化學發光包含生物發光，例如螢光酵素報導分子（luciferase reporter）產生的生物發光。

【0071】圖2是根據本發明的一些技術內容的光電二極體的截面圖。光電二極體200是可以在圖2中描述的背面照射（BSI）CMOS圖像傳感器中使用的光電二極體的示例。在該示例中，光電二極體200是矽P-N接面光電二極體。光電二極體200包含具有第一表面211和第二表面212的半導體基板210。第二表面212與第一表面211相對定位。光電二極體200包含與第一表面211相鄰的光感應接面

220。在該示例中，光感應接面220是由重摻雜p+區221在n型基板區222中形成的矽PN接面220。空乏區224形成在接面附近，其中載子可以由入射的光子產生並且可以作為電信號感測。第一表面也可以被稱為光電二極體的前表面，第二表面也可以被稱為光電二極體的後表面。光電二極體200還可具有分別覆蓋第一表面211和第二表面212的介電層231和232。

【0072】 在正面照射（FSI）感測中，入射光從正表面或第一表面211入射。在背面照射（BSI）感測中，入射光從後表面或第二表面212入射。如圖2所示，光電二極體200用於背面照射（BSI），並且入射光入射在第二表面212上。光電二極體200還可具有深溝槽隔離（DTI）區域241和242，以將一個光電二極體與相鄰的光電二極體隔離。在一些技術內容中，溝槽241和242可以填充有金屬，例如鎢（W）。鎢深溝槽隔離（WDTI）可以減少進入相鄰的光電二極體的入射光。

【0073】 圖3是圖2的光電二極體200的截面圖，其表示了根據本發明一些技術內容的由生物樣品發射的光的收集效率。如圖3所示，生物樣品250設置在光電二極體200的背面。光信號（例如，螢光或化學發光發射）在來自生物樣品250的所有方向，如光線252所示。但是，僅一部分發射光能由光電二極體200收集到，如由光線254和255所指示的。結果，大部分發射的光沒有被收集並且不能對被感測的信號做出貢獻。

【0074】 圖4是根據本發明一些技術內容的具有改善的對生物樣品發射的光的光收集效率的光電二極體的截面圖。如圖4所示，光電二極體400類似於圖2的光電二極體200，並且，相似的部件用相同的圖式標記表示。然而，光電二極體400具有與圖2中的第二表面212不同的第二表面或背表面412。在圖2中，第二表面212具有基本上平坦的（substantially planar）表面。然而，圖4中的第二表面412是非平坦的（non-planar）表面。非平坦的表面可以是覆蓋半導體基板中的

凹陷區域415的凹入表面。凹陷區域的尺寸和功能被設置為包含生物樣品450，例如核酸大分子。如圖4中的光線454和455所示，生物樣品450發射的大部分光可以被光電二極體400收集。可以大大改善光的收集效率。

【0075】 凹陷區域可以是在矽基板中蝕刻的溝槽。圖4中的凹陷區域415為基本矩形的形狀。第二表面412被金屬氧化物層416覆蓋。諸如氧化矽層之類的氧化物層418設置在金屬氧化物層416上方。在一些技術內容中，金屬氧化物層可以是夾心的 HfO_2 和 Ta_2O_5 薄層。夾心的 HfO_2 和 Ta_2O_5 薄層可用於抑制光電二極體中的暗電流。在一些技術內容中，光電二極體400可包含覆蓋半導體基板的第二表面的一個或多個介電層、覆蓋一個或多個介電層的金屬氧化物層以及覆蓋金屬氧化物層的氧化矽層。

【0076】 半導體基板中的凹陷區域可以使用乾式蝕刻製程形成。例如，乾式蝕刻製程可以包含電漿蝕刻、反應離子蝕刻（RIE）等。乾式蝕刻製程可以包含不同的化學過程，例如，基於氯的蝕刻製程或基於氟的乾式蝕刻製程。備選地，使用濕式蝕刻製程形成半導體基板中的凹陷區域。例如，濕式蝕刻製程可以是等向性蝕刻製程或依賴於結晶順向的濕式非等向性蝕刻。作為依賴於結晶順向的濕式非等向性蝕刻的示例，濕式蝕刻製程包含使用KOH的蝕刻製程。使用水性KOH蝕刻矽會產生V形凹槽、金字塔形凹陷區域等。

【0077】 圖5是根據本發明的替代技術內容的具有改善的對生物樣品發出的光的光收集效率的光電二極體的截面圖。如圖5所示，通過使用KOH，利用蝕刻製程，通過依賴於結晶順向的濕式非等向性蝕刻來蝕刻矽，以形成金字塔形狀的凹陷區域515。類似於圖4中的光電二極體400，在圖5的光電二極體500中，第二表面512被金屬氧化物層516覆蓋。諸如氧化矽層之類的氧化物層518被佈置在金屬氧化物層516之上。在一些技術內容中，金屬氧化物層可以是夾心的 HfO_2 和 Ta_2O_5 薄層。夾心的 HfO_2 和 Ta_2O_5 薄層可用於抑制光電二極體中的暗電流。

【0078】 如上所述，凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。例如，在圖4中的光電二極體400中，可以使用氧化物層上的化學物質使氧化物層418的表面功能化以固定DNB。替代地，可以使用在氧化物層上形成的附加金屬氧化物層來對氧化物層的表面進行功能化。如圖6所示，在氧化物層618上形成金屬氧化物層619。表面層的功能化以保留生物樣品的更多細節描述於例如在2018年9月11日提交的、名稱為“WAFER LEVEL SEQUENCING FLOW CELL FABRICATION,” 的美國專利申請No. 16/128,120，其通過引用整體併入本文。

【0079】 在一些技術內容中，凹陷區域包含具有基本矩形的橫截面的溝槽。在一些技術內容中，凹陷區域可包含具有基本正方形的橫截面的溝槽。凹陷區域可以是具有基本金字塔形的橫截面、基本圓形的橫截面、基本橢圓形的橫截面、基本金字塔形的橫截面、基本圓形的橫截面、或基本橢圓形的橫截面的蝕刻區域。

【0080】 在一些技術內容中，凹陷區域包含具有頂部開口的溝槽，該頂部開口具有基本矩形的橫截面。在一些技術內容中，凹陷區域可包含具有頂部開口的溝槽，該頂部開口具有基本正方形的橫截面。所述凹陷區域可以是具有頂部開口的蝕刻區域，所述頂部開口具有基本為金字塔形的橫截面、基本為圓形的橫截面、基本為橢圓形的橫截面、基本為金字塔形的橫截面、基本為圓形的橫截面或基本為橢圓形的橫截面。

【0081】 在一些技術內容中，溝槽可以具有從200nm（奈米）至300nm的寬度和從200至300nm的深度。在一些技術內容中，溝槽可具有從100nm至500nm的寬度和從100至600nm的深度。在一些技術內容中，溝槽可具有從20nm至500nm的寬度和從20至600nm的深度。在其他技術內容中，溝槽可具有基於生物樣品的大小選擇的寬度和深度，以提高光收集的效率。

【0082】 在一些技術內容中，光感應接面在p型基板中包含n+區。

【0083】 在一些技術內容中，光電二極體可以包含覆蓋在半導體基板的第二表面上的含金屬層，以及覆蓋含金屬層的介電層。含金屬層可以包含金屬層或金屬氧化物層。介電層可以包含氮化矽、氧化矽、其他介電材料或其組合。在一些技術內容中，光電二極體可以包含覆蓋在半導體基板的第二表面上的金屬氧化物層和覆蓋在金屬氧化物層上的矽氧化物層。

【0084】 在一些技術內容中，含金屬的層（例如，金屬氧化物層）的厚度可以在50-150nm的範圍內。在其他技術內容中，含金屬層的厚度可以在20-400nm的範圍內。介電層（例如，氧化物層）的厚度可以在50-150nm之間。在其他技術內容中，金屬氧化物的厚度可以在20-400nm的範圍內。

【0085】 可以通過常規的半導體薄膜技術（例如化學氣相沉積（CVD）、低溫電漿化學氣相沉積（LPCVD）、電漿增強化學氣相沉積（PECVD）、濺鍍、物理氣相沉積（PVD）和原子層沉積（ALD）等）形成如上所述的各種薄膜。

【0086】 在一些技術內容中，光電二極體可包含覆蓋半導體基板的第二表面的一個或多個介電層、覆蓋一個或多個介電層的金屬氧化物層以及覆蓋金屬氧化物層的氧化矽層。

【0087】 在一些技術內容中，光電二極體可以包含具有氧化鋯（ HfO_2 ）和氧化鉭（ Ta_2O_5 ）中的一種或多種的金屬氧化物層。在一些技術內容中，金屬氧化物層可以是夾心的氧化鋯（ HfO_2 ）和氧化鉭（ Ta_2O_5 ）層。

【0088】 在一些技術內容中，所述金屬氧化物層包含陽極氧化鋁（ Al_2O_3 ）、氧化鉭（ Ta_2O_5 ）、氧化鈮（ Nb_2O_5 ）、氧化鋇（ ZrO_2 ）和氧化鈦（ TiO_2 ）中的一種或多種。

【0089】 根據一些技術內容，一種生物傳感器可以具有背面照射互補金屬氧化物半導體（CMOS）圖像傳感器，其包括電子電路層；和在所述電子電路

層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的光感應接面和與所述電子電路層相對的光接收表面。所述光接收表面包括覆蓋所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面，並且所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。

【0090】 在以上生物傳感器的一些技術內容中，每個光電二極體都包含如本文所述的光電二極體。例如，圖1表示了多個背面照射（BSI）CMOS生物傳感器。在圖1中，CMOS圖像傳感器層10包含多個光電二極體112。每個光電二極體都可以具有一種結構，該結構與以上結合圖4-6描述的光電二極體相似，具有凹入表面，該凹入表面覆蓋光電二極體的背面中的凹陷區域以用於接收樣品，該凹入表面可以改善用於生物或化學分析的生物傳感器中的光收集效率。

【0091】 在一些技術內容中，所述電子電路層包括：介電層；和形成在所述第一介電層中的金屬佈線，其中所述金屬佈線被配置為將所述多個光電二極體耦合到外部設備。

【0092】 在一些技術內容中，所述生物傳感器還包括：在所述背面照射CMOS圖像傳感器上的鈍化層。

【0093】 在上述生物傳感器的一些技術內容中，所述多個光電二極體中的每個光電二極體被配置為檢測從所述多個核酸大分子中的核酸大分子上的螢光或化學發光標記發射的光。

【0094】 在一些技術內容中，所述光從螢光標記的寡核苷酸探針發射，所述螢光標記的寡核苷酸探針與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交。

【0095】 在一些技術內容中，所述光從與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交的螢光標記的引物延伸產物發射。

【0096】 在一些技術內容中，所述核酸擴增子來自基因組DNA片段或cDNA文庫。

【0097】 在一些技術內容中，所述擴增子通過滾環擴增或橋聚合酵素鏈式反應(PCR)形成。

【0098】 在一些技術內容中，所述生物傳感器還包括激發光源。

【0099】 一些技術內容提供一種方法，其包括：提供背面照射互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器。提供所述背面照射CMOS圖像傳感器包括：提供電子電路層；以及在所述電子電路層上提供光感應層。所述光感應層包括：電子電路層；和在所述電子電路層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的光感應接面和由所述多個光電二極體的與所述電子電路層相對的表面限定的光接收表面。所述光接收表面包含覆蓋所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面。所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納核酸大分子。

【0100】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0101】 在一些技術內容中，從所述斑點中包含的所述核酸大分子發射的所述光被一個光電二極體的所述光接收表面接收。

【0102】 在一些技術內容中，從所述斑點中包含的所述核酸大分子發射的所述光從多於一個的光電二極體的所述光接收表面接收。

【0103】 在一些技術內容中，提供所述電子電路層包括：沉積介電層；以及在所述介電層中形成金屬佈線。所述金屬佈線被配置為將所述多個光電二極體耦合到外部設備。

【0104】 在一些技術內容中，所述方法還包括：在所述背面照射CMOS圖像傳感器上沉積鈍化層。

【0105】 在一些技術內容中，所述方法還包括：將所述多個核酸大分子中的核酸大分子附接於多個斑點中的斑點。

【0106】 在一些技術內容中，所述方法還包括：使用所述多個光電二極體中的光電二極體檢測從所述核酸大分子上的螢光或化學發光標記發射的光。

【0107】 在一些技術內容中，所述光從與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交的螢光標記的寡核苷酸探針發射。

【0108】 在一些技術內容中，所述光從與固定在所述斑點上的核酸擴增子雜交的螢光標記的引物延伸產物發射。

【0109】 在一些技術內容中，所述核酸擴增子來自基因組DNA片段或cDNA文庫。

【0110】 在一些技術內容中，所述擴增子通過滾環擴增或橋聚合酵素鏈式反應(PCR)形成。

【0111】 在一些技術內容中，所述方法還包括：用激發光源照射所述核酸大分子。

【0112】 根據一些技術內容，一種核酸測序方法包括反覆運算地執行過程，該過程包括以下步驟：

用螢光標記來標記核酸大分子，所述螢光標記識別所述核酸大分子中特定位置處的核苷酸鹼基；

檢測與所述核酸大分子相關的所述螢光標記，其中檢測所述螢光標記包括：

用激發光照射所述核酸大分子，其中所述核酸大分子吸收所述激發光並使發射的光傳輸到達背面照射(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器的光電二極體上；

測量在所述光電二極體處接收的所述發射的光的至少一個參數；以及將所述發射的光的所述至少一個參數與所述螢光標記相關聯；以及從所述核酸大分子中除去所述螢光標記。

【0113】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0114】 根據一些技術內容，一種核酸測序方法包括反覆運算地執行過程，該過程包括以下步驟：

用化學發光標記來標記核酸大分子，所述化學發光標記識別所述核酸大分子中特定位置處的核苷酸鹼基；

改變所述核酸大分子化學發光的環境，以使所述標記發射光；

其中使所發射的光傳輸到達背面照射(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器的光電二極體上；

測量在所述光電二極體處接收的所述發射的光的至少一個參數；以及

將所述發射的光的所述至少一個參數與所述化學發光標記相關聯；以及

從所述核酸大分子中除去所述化學發光標記。

【0115】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0116】 根據一些技術內容，一種生物傳感器具有背面照射互補金屬氧化物半導體(CMOS)圖像傳感器，其包括：電子電路層；以及在所述電子電路層上的光感應層。所述光感應層包括多個光電二極體，所述多個光電二極體覆蓋所述電子電路層。所述光電二極體中的每一個具有與所述電子電路層相鄰的光感

應接面和由所述多個光電二極體的與所述電子電路層相對的表面限定的光接收表面。所述光接收表面包含覆蓋在所述光電二極體的背面中的凹陷區域的凹入表面。在所述光接收表面上方的保護層，其尺寸和功能被設置為包含多個核酸大分子。

【0117】 在以上方法的一些技術內容中，每個光電二極體包括如本文所述的光電二極體。

【0118】 上述生物或化學樣品可包括許多組分中的任何一種。例如，樣品可含有核酸大分子(例如模板(template)、DNA、RNA等)、蛋白質等。可以分析樣品以確定基因序列、DNA-DNA雜交、單核苷酸多態性、蛋白質相互作用、肽相互作用、抗原-抗體相互作用、葡萄糖監測、膽固醇監測等。

【0119】 如上所述，在一些技術內容中，生物分子是核酸，例如DNA。參見美國專利No. 8,778,849; No. 8,445,194; No. 9,671,344; No. 7,910,354; No. 9,222,132; No. 6,210,891; No. 6,828,100; No. 6,833,246; No. 6,911,345和專利申請公佈No.2016/0237488，其全部內容通過引用併入本文。DNA生物分子可以是但不限於DNA奈米球(單鏈多聯體)，該DNA奈米球(單鏈多聯體)與標記探針雜交(例如，通過附接或cPAL方法在DNB測序中)或與互補生長鏈雜交(例如，在通過合成方法的DNB測序中)或與兩者雜交；或與單個DNA分子雜交(例如，在單分子測序中)；或者與無性的DNA分子群雜交，例如在基於橋式PCR的測序中產生的。因此，提及的“生物分子”、“DNA大分子”或“核酸大分子”可以包括多於一個分子(例如，與多個生長的互補鏈相關的DNB或包含數百或數千個DNA分子的無性的群的DNA簇)。用於製造DNB(例如，DNB庫)和用於製造由區域間區域隔開的離散間隔區域的陣列的示例性方法在本領域中是眾所周知的。參見，例如，美國專利No.8,133,719；No.8,445,196；No.8,445,197；和No.9,650,673，其全部內容通過引用併入本文。在一些技術內容中，DNB或其他

大分子通過有吸引力的非共價相互作用（例如，范德華力、氫鍵和離子相互作用）固定在離散的間隔開的區域或斑點上。在一些技術內容中，離散的間隔開的區域包含功能性部分（例如，胺類）。在一些技術內容中，離散的間隔開的區域包含附接於其上的捕獲寡核苷酸，以結合模板DNA（例如，DNB）。通常，離散的間隔開的區域以直線圖案佈置；然而，可以使用具有其他佈置的規則陣列（例如，區域的同心圓、螺旋形圖案、六邊形圖案等）。

【0120】 在一些技術內容中，核酸大分子可以是基因組DNA片段或cDNA文庫的擴增子。如本文所使用的，“擴增子”可以是核酸分子擴增的產物，通常是基因組DNA片段或cDNA文庫的片段。擴增的方法包括但不限於滾環擴增，如例如美國專利No.8,445,194(其全部內容通過引用併入本文)中所述，或橋式聚合酵素鏈式反應(PCR)，如例如在美國專利No.7,972,820(其全部內容通過引用併入本文)中所述。擴增（amplification）可以在核酸與生物傳感器接觸之前進行，或者原位進行，例如，如美國專利No.7,910,354中所述，該專利其全部內容通過引用併入本文。

【0121】 例如，可以將與螢光或化學發光染料締合的生物樣品(諸如DNA大分子、寡核苷酸或核苷酸)置於光電二極體上方。在螢光的情況下，可以通過來自激發光源的激發光照射染料。激發光可以對應於任何合適類型或強度的光，所述光包括例如可見光、紅外線(IR)、紫外線(UV)等。激發光還可以來自任何合適的光源，例如發光二極體(LED)、燈、雷射器、它們的組合等。當用特定波長的激發光照射染料時，生物樣品可以吸收光，然後發射不同波長的光。例如，生物樣品可以吸收具有450nm波長的激發光，但是發射具有550nm波長的光。換句話說，當染料被具有不同特徵波長的光(即激發光源)照射時，可以發射具有特徵波長的螢光。然而，因為激發光用於測量螢光，所以必須將其濾除以便在光電二極體112處進行精確測量。

【0122】 在化學發光的情況下，光電二極體檢測發射的光不需要激發光源。相反，生物樣品可能由於以下原因而發光：生物樣品和化學發光染料(或其他溶液)之間可能發生化學或酵素催化，導致由於破壞或形成化學鍵（例如，螢光酵素蛋白對螢光素底物的作用）而發光。

【0123】 對於螢光和化學發光兩者，光電二極體可以檢測發射光的強度並將其轉換成可以經由金屬佈線105提供給外部設備的基於該光的強度的電子信號。外部設備可以基於電子信號將電子信號與特定波長和亮度相關聯。

【0124】 在一些技術內容中，生物傳感器的表面上的有效斑點或孔和核酸大分子可以相互配置，使得每個斑點僅結合一個核酸大分子。例如，這可以通過使表面與尺寸對應於有效斑點的擴增子(例如，直徑有效地與有效斑點的直徑一樣大或大於有效斑點的直徑的擴增子)接觸來實現。參見美國專利 No.8,445,194，其全部內容通過引用併入本文。選擇地，有效斑點可以在化學上適合於結合單個DNA片段，然後可以擴增該片段以填充原始結合位點處和周圍的較大區域。

【0125】 本發明的一些技術內容可用於確定對應於不同波長的光的不同標記。標記可以是例如螢光標記、化學發光標記或生物發光標記。例如，在基因測序(或DNA測序)中，本發明的技術內容可用於確定核酸大分子(例如DNA鏈)內核苷酸鹼基的精確順序。可以用特定螢光標記物標記核苷酸鹼基(例如腺嘌呤(A)、鳥嘌呤(G)、胞嘧啶(C)或胸腺嘧啶(T))。選擇地，可以使用例如一種顏色、兩種顏色或三種顏色的測序方法。

【0126】 關於螢光，可以通過用激發光連續激發核酸大分子來依次確定每個核苷酸鹼基。核酸大分子可以吸收激發光並將不同波長的發射光傳輸到生物傳感器上，如本文所述。生物傳感器可以測量由光電二極體接收的發射光的波長和強度。每個核苷酸（例如，螢光標記的核苷酸）當被特定波長和/或強度的

激發光激發時可以向光電二極體發射特定波長和/或強度的光，從而使得能夠識別在核酸大分子的特定位置存在特定的核苷酸鹼基。一旦確定了特定的核苷酸鹼基，就可以將其從核酸大分子中除去，從而可以根據類似的方法確定下一個連續的核苷酸鹼基。

【0127】 為了任何目的，核酸大分子在附接於生物傳感器之前或之後，可以用一種或多種不同的螢光標記物、化學發光標記物或生物發光標記物標記。例如，核酸大分子可以與標記的寡核苷酸探針或擴增引物雜交。選擇地，核酸大分子可以與未標記的寡核苷酸雜交，未標記的寡核苷酸然後可以附接到標記的探針上，或者使用標記的核苷酸類似物擴增。舉例來說，可以進行標記以用於表徵核酸大分子(例如，存在與疾病相關的單核苷酸多態性(SNP))，或者用於核酸大分子的全部或部分的核酸測序，如上文所述。通過探針雜交進行的DNA測序描述於例如美國專利No.8,105,771中，其全部內容通過引用併入本文。通過錨定探針附接的測序描述於例如美國專利No.8,592,150中，其全部內容通過引用併入本文。通過合成測序描述於例如美國專利No.7,883,869中，其全部內容通過引用併入本文。通常，通過合成測序是一種方法，其中將核苷酸連續地添加到與模板序列雜交的測序引物所提供的游離3' 羥基上，從而導致在5' 至3' 方向上的核酸鏈的合成。在一種方法中，可以使用另一種示例性類型的SBS，焦磷酸測序(pyrosequencing)技術(Ronaghi等人，1998, Science 281:363)。

【0128】 在一些技術內容中，生物傳感器可以可逆地耦合到流通池(未表示)。通過使生物傳感器與流通池中的液體樣品接觸，可以將核酸大分子附接到生物傳感器。流通池可包括一個或多個與反應位點流體連通的流動通道。在一個示例中，生物傳感器可以流體地和電氣地耦合到生物測定系統。生物測定系統可根據預定方案將試劑遞送至反應位點並執行成像事件。例如，生物測定系統可以引導溶液沿著反應位點流動。該溶液可包括具有相同或不同螢光標記的

四種類型的核苷酸。在一些技術內容中，然後，生物測定系統可以使用激發光源照射反應位點。激發光可以具有預定的一種或多種波長。激發的螢光標記可以提供可以由光電二極體檢測到的發射信號。

【0129】 使用者可以通過將根據所述技術內容的生物傳感器與核酸擴增子或隨後擴增的核酸接觸來準備測序，使得核酸大分子結合有效斑點或孔並被有效斑點或孔保留，並且可以洗去過量的核酸大分子。核酸大分子可以與標記試劑預先或原位接觸。然後可以如本文所述操作生物傳感器以確定在陣列上的核酸大分子上或周圍發射的光。可以量化光，或者可以足以以二元方式確定表面上的哪些核酸大分子已經用在特定波長下發光的標記物標記。可以同時使用具有在不同波長下發射光的標記物的不同探針或不同核酸類似物，例如，以確定序列中特定位置的不同鹼基，或對多個位置進行測序。

【0130】 儘管本文關於背側照射CMOS傳感器進行了描述，但是可以預期本發明的技術內容可以類似地應用於正側照射CMOS傳感器。此外，預期本發明的技術內容可以類似地應用於任何合適的生物傳感器，例如2016年11月3日提交的美國臨時專利申請No. 62/416,813中描述的那些生物傳感器，其全部內容通過引用併入本文。

【0131】 根據本發明的技術內容的生物傳感器不限於特定用途。在一個方面，發現本發明的技術內容的生物傳感器特別適用於大規模平行DNA測序。DNA測序技術是眾所周知的，參見，例如，Drmanac et al., 2010, “Human genome sequencing using unchained base reads on self-assembling DNA nanoarrays,” Science 327:78-81; Shendure & Ji, 2008, “Next-generation DNA sequencing,” Nature Biotechnology 26:1135-45，並且因此在下面的章節中僅以一般術語進行描述。以下段落提供了對測序和相關術語的簡要初步討論，以便下面描述的生物傳感器的某些特徵可以被更容易理解。

【0132】 已知多種DNA測序方法。在許多方式中，大分子(例如基因組DNA)被分解成許多較小的片段，每個片段具有特徵性的DNA序列。在基於陣列的技術中，這些片段被分佈到基板上的位置陣列，使得陣列中的每個位置包含具有單個特徵序列的DNA片段。序列資訊(“讀數”、“reads”)是同時從數千個或更通常地從數百萬個位置中的每一個處的DNA獲得並由電腦組裝的。在大多數測序方式中，在序列測定之前擴增片段。擴增可以在片段定位在每個位置之前進行，在片段定位在每個位置之後進行，或者在定位之前和之後進行。擴增步驟產生在測序過程中用作“模板”的“擴增子”。因此，為了說明，擴增可以使用RCA在陣列上的每個位置產生單鏈多聯體(例如，DNA奈米球)或使用橋式PCR在每個位置產生具有相同序列的DNA分子的無性的群(或簇)。

【0133】 應當理解，提及“DNA大分子”等包括DNA奈米球、分支結構和成簇無性的群(即多於單個的分子)或它們的前體。另外，“DNA大分子”等可以包括輔助DNA分子，例如引物以及通過引物延伸生產的或其他過程包括的生長鏈。在許多測序技術中，輔助DNA分子包含(或被“標記”有)可檢測的(例如螢光或化學發光)染料，其發射由生物傳感器的光電二極體檢測的光。因此，諸如“用激發光源照射核酸大分子並檢測從大分子發射的光”之類的短語應被理解為包括“將DNA奈米球或無性的簇和相關的標記的輔助分子暴露於激發光源並檢測從標記的輔助分子的染料發出的光”。

【0134】 在基於陣列的測序方法和本發明技術內容的生物傳感器中，DNA大分子位於在孔中或“斑點”上的基板上。孔或斑點能夠接收和保留大分子。通常，斑點，有時稱為“離散的間隔區域”或“墊”，包括被功能化以接收核酸大分子的基板，並且斑點被“惰性”的區域分開，“惰性”意指DNA大分子不結合這樣的區域。例如但不限於，見Drmanac 2010，前述“孔”是一種包含

壁的斑點，壁形成DNA大分子的邊界或屏障。除非根據上下文中顯而易見，否則下面提到的“斑點”可以包括孔。

【0135】 在本發明技術內容的生物傳感器中，斑點通常具有均勻的尺寸並且被組織為規則(即非隨機)陣列。陣列的斑點通常以直線圖案組織，通常以列和行的形式組織，但是可以使用其他規則圖案(例如，螺旋形)。陣列的斑點可具有特徵尺寸、間距和密度。斑點本身可以是圓形、正方形、六邊形或其他形狀。在下面的討論中，通常假定斑點是圓形的(即，可以描述為具有直徑)。應當理解，提及的“直徑”也可以指其他形狀的斑點的線性尺寸(例如，對角線、長度或寬度)。因此，如本文所使用的，“線性尺寸”可以指圓的直徑、正方形的寬度、對角線等。在本發明技術內容的生物傳感器的背景下，斑點的大小在兩種方式上有意義。首先，可以以限制對單個靶序列的佔據的方式確定斑點尺寸和/或功能化斑點。這可以是單個DNA奈米球(單個靶序列的多聯體)或具有單個靶序列的無性的簇。參見，例如，美國專利No.8,133,719和美國專利申請公佈No.2013/0116153，兩者均出於所有目的通過引用整體併入。其次，通常可以相對於在下面的光電二極體設定斑點的大小和位置，使得每個光電二極體接收來自單個斑點的發射的光。在一些技術內容中，斑點的陣列可以以1對1的相關性定位在相應光電二極體(和/或濾色器)的陣列上。也就是說，從單個斑點處的例如DNA大分子發射的光傳遞到在下面的濾光器，並且未被濾光器阻擋的光被與濾光器相關聯的單個光電二極體檢測到，或從在單個斑點處的例如DNA大分子發射的光傳遞到多個在下面的濾光器，每個與濾光器(特定於特定波長)相關聯，每個濾光器與單個光電二極體相關聯，並且未被濾光器阻擋的光被相關的光電二極體檢測到。因此，如下面還討論的，在一些技術內容中，從單個斑點發射的光可以由多於一個的光電二極體(例如，2個光電二極體、3個光電二極體、4個光電二極體等)檢測。在這些技術內容中，與單個斑點相關聯的多個光

電二極體組可以被稱為光電二極體的“單位單元”。斑點和濾光器(例如，單個濾光器或單位單元)可以佈置在生物傳感器中，使得單位單元中的每個光電二極體接收從相同的單個斑點發射的光。另外，在一些技術內容中，光電二極體的光接收表面的區域，或與同一斑點相關聯的多個光電二極體的光接收表面的組合區域小於斑點的區域(光從該區域發射)。換句話說，斑點可以小於在下面的光電二極體，使得斑點的邊界如果被投射到光電二極體的光接收表面上，則包含在光接收表面內。

【0136】 眾所周知，核酸測序通常涉及反覆運算過程，其中螢光或化學發光標記以特定方式按序列與被測序的DNA模板(擴增子)相關聯，檢測到該關聯性，並且標記在它不再發出信號的意義上被刪除。參見，例如，美國專利申請公佈No. 2016/0237488; 美國專利申請公佈No. 2012/0224050; 美國專利No. 8,133,719; 美國專利No. 7,910,354; 美國專利No. 9,222,132; 美國專利No. 6,210,891; 美國專利No. 6,828,100, 美國專利No. 6,833,246; 和美國專利No. 6,911,345，其全部內容通過引用併入此處。因此，應當理解，例如，“用螢光標記來標記核酸大分子”可以指將標記的輔助分子與固定在斑點上的DNA模板相關聯。

【0137】 如上文所述，生物或化學樣品可以放置在光電二極體上方的每個所述生物傳感器上。生物或化學樣品可以包括許多組分中的任何一種。例如，樣品可含有核酸大分子(例如DNA、RNA等)、蛋白質等。可以分析樣品以確定基因序列、DNA-DNA雜交、單核苷酸多態性、蛋白質相互作用、肽相互作用、抗原-抗體相互作用、葡萄糖監測、膽固醇監測等。

【0138】 如上所述，在一些技術內容中，生物分子是核酸，例如DNA。DNA生物分子可以是但不限於DNA奈米球(單鏈多聯體)，該DNA奈米球(單鏈多聯體)與標記探針雜交(例如，通過連接或cPAL方法在DNB測序中)或與互補生長鏈雜交(例如，在通過合成方法的DNB測序中)或與兩者雜交；或與單個DNA分

子雜交(例如，在單分子測序中)；或者與無性的DNA分子群雜交，例如在基於橋式PCR的測序中產生。因此，提及的“生物分子”、“DNA大分子”或“核酸大分子”可以包括多於一個的分子(例如，與多個生長的互補鏈相關的DNB或包含數百或數千個DNA分子的無性的群的DNA簇)。參見，例如，美國專利No. 8,133,719；美國專利申請公佈 No. 2013/0116153, 美國專利申請公佈No. 2016/0237488; 美國專利申請公佈No. 2012/0224050；美國專利No.8,133,719；；美國專利No.7,910,354；美國專利No.9,222,132；美國專利No.6,210,891；美國專利No.6,828,100, 美國專利No.6,833,246；和美國專利No. 6,911,345，在此通過引用全部併入。

【0139】 為了實現高密度並有助於核酸大分子與生物傳感器的光電二極體之間的對準，可以構建生物傳感器的表面使得存在大小和化學功能被設定以接收核酸大分子的有效斑點或孔(例如，在圖3-5中的凹陷區域)，所述有效斑點或孔被核酸大分子可能不結合的表面區域包圍。可以使用任何合適的表面化學過程將核酸大分子固定到與光電二極體對準的活性表面上。這可以包括非共價相互作用(例如，與帶有正電荷的區域的非共價相互作用)或與附接於表面的捕獲探針或寡核苷酸(其帶有與核酸大分子中包含的序列互補的序列)的相互作用。參見，例如，美國專利No.8,445,194，其全部內容通過引用併入本文。

【0140】 生物或化學樣品可以包括許多組分中的任何一種。例如，樣品可含有核酸大分子(例如DNA、RNA等)、蛋白質等。可以分析樣品以確定基因序列、DNA-DNA雜交、單核苷酸多態性、蛋白質相互作用、肽相互作用、抗原-抗體相互作用、葡萄糖監測、膽固醇監測等。

【0141】 儘管關於以特定循序執行的特定數量的步驟描述了本文描述的過程，但是預期可以包括未明確表示和/或描述的附加步驟。此外，預期，在不脫離所描述的技術內容的範圍的情況下，可以包括比所表示和描述的步驟更少的

步驟(即，所描述的步驟中的一個或一些可以是可選的)。另外，預期本文描述的步驟可以以與所描述的順序不同的循序執行。

【0142】 在前面的描述中，參考本申請的具體技術內容描述了本申請的各方面，但是本領域技術人員將認識到，本發明不受限於此。因此，雖然本文已經詳細描述了本申請的說明性技術內容，但是應該理解，可以以其他方式不同地實施和使用本發明構思，並且所附請求項意在被解釋為包括這樣的變化，除了被現有技術限制。上述發明的各種特徵和方面可以單獨使用或聯合使用。此外，在不脫離本說明書的更廣泛的精神和範圍的情況下，技術內容可以在除了本文描述的那些之外的任何數量的環境和應用中利用。因此，說明書和圖式應被視為說明性的而非限制性的。出於說明的目的，以特定順序描述方法。應當理解，在另一的技術內容中，可以以與所描述的順序不同的循序執行所述方法。

【0143】 其他變化在本申請公開的精神內。因此，儘管所公開的技術易於進行各種修改和替換構造，但是其某些圖式的技術內容在圖式中表示並且已在上面詳細描述。然而，應該理解的是，並不意圖將本公開限制於所公開的一種或者多種特定形式，而是相反，意圖是覆蓋落入如所附請求項中所定義的本公開的精神和範圍內的所有修改、替代構造和等同方案。

【符號說明】

【0144】

10:CMOS圖像傳感器層

11:區域

12:區域

20:CMOS處理電路層
30:堆疊層,堆疊介面層
100:半導體晶圓
101:矽基板層
102:介電層
103:通孔
104:介電層
105:金屬佈線
110:半導體層
112:光電二極體
115:金屬佈線
121:鈍化層,第一鈍化層
151-1:池區域
151-2:池區域
152-1:池區域
152-2:池區域
200:光電二極體
210:半導體基板
211:第一表面
212:第二表面
220:光感應接面（矽PN接面）
221:重摻雜p+區
222:n型基板區
224:空乏區

231:介電層
232:介電層
241:深溝槽隔離（DTI）區域,溝槽
242:深溝槽隔離（DTI）區域,溝槽
250:生物樣品
252:光線
254:光線
255:光線
400:光電二極體
412:第二表面,背表面
415:凹陷區域
416:金屬氧化物層
418:氧化物層
450:生物樣品
454:光線
455:光線
500:光電二極體
512:第二表面
515:金字塔形狀的凹陷區域
516:金屬氧化物層
518:氧化物層
618:氧化物層
619:金屬氧化物層

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種使用生物感測器的生物分子分析方法，其中所述生物感測器包括光感應層，所述光感應層包括多個光電二極體，至少一些所述光電二極體的每一個包括在所述光電二極體中具有形成凹陷區域的凹入表面的光接收表面，並且其中至少一些所述凹陷區域的每一個具有固定在所述凹陷區域處的單個核酸大分子，所述方法包括：

在所述光電二極體中一者處，測量在所述光電二極體的所述光接收表面處接收的發射光的至少一個參數；

所述發射光與固定在所述光電二極體的所述凹陷區域處的所述核酸大分子相關，所述凹陷區域的尺寸和功能被設置以容納和固定單個所述核酸大分子。

【請求項2】 如請求項1所述的方法，其中所述發射光是回應於用激發光照射的所述核酸大分子發射的。

【請求項3】 如請求項1所述的方法，其中所述發射光是由與所述核酸大分子相關的化學發光標記發射的。

【請求項4】 如請求項1所述的方法，其中至少一些所述光電二極體的每一個包括與電子電路層相鄰並與所述光接收表面相對的光感應接面。

【請求項5】 如請求項4所述的方法，其中所述光感應接面包括P-N接面。

【請求項6】 如請求項4所述的方法，其中所述電子電路層包括介電層，和在所述介電層中形成的金屬佈線，所述金屬佈線被配置為將所述多個光電二極體耦合到處理設備。

【請求項7】 如請求項1所述的方法，其中至少一些所述光電二極體的每一個還包括覆蓋在所述凹入表面上的金屬氧化物層和覆蓋在所述金屬氧化物層上的氧化物層。

【請求項8】 如請求項1所述的方法，其中所述生物感測器包括背面照射互補金屬氧化物半導體（CMOS）圖像感測器，所述背面照射互補金屬氧化物半導體（CMOS）圖像感測器包括電子電路層和所述光感應層，其中所述電子電路層與所述光電二極體的所述光接收表面相對。

【請求項9】 如請求項1所述的方法，其中所述生物分子分析方法包括核酸測序的方法，所述方法還包括：

用識別所述核酸分子的核苷酸鹼基的螢光標記標記固定在所述光電二極體的所述凹陷區域處的至少一些所述核酸分子；

用激發光照射所述核酸大分子，其中所述激發光刺激螢光標記的核酸大分子以發射所述發射光，所述發射光由固定所述螢光標記的核酸大分子的所述光電二極體的所述光接收表面接收；以及
從所述標記的核酸分子去除所述螢光標記。

【請求項10】 如請求項1所述的方法，其中所述生物分子分析方法包括核酸測序的方法，所述方法還包括：

用識別所述核酸分子的核苷酸鹼基的化學發光標記標記固定在所述光電二極體的所述凹陷區域處的至少一些所述核酸分子；

改變所述核酸分子的環境，以使所述標記的核酸大分子發射所述發射光，所述發射光由固定所述標記的核酸大分子的所述光電二極體的所述光接收表面接收；以及
從所述標記的核酸分子去除所述化學發光標記。

【請求項11】 如請求項9或10所述的方法，其中所述生物感測器被合併入流通池。

【請求項12】 如請求項1所述的方法，其中所述凹陷區域包括具有基本矩形截面、基本V形截面、基本正方形截面、基本金字塔形截面、基本圓形截面或基本橢圓形截面中的一種的溝槽。

【發明圖式】

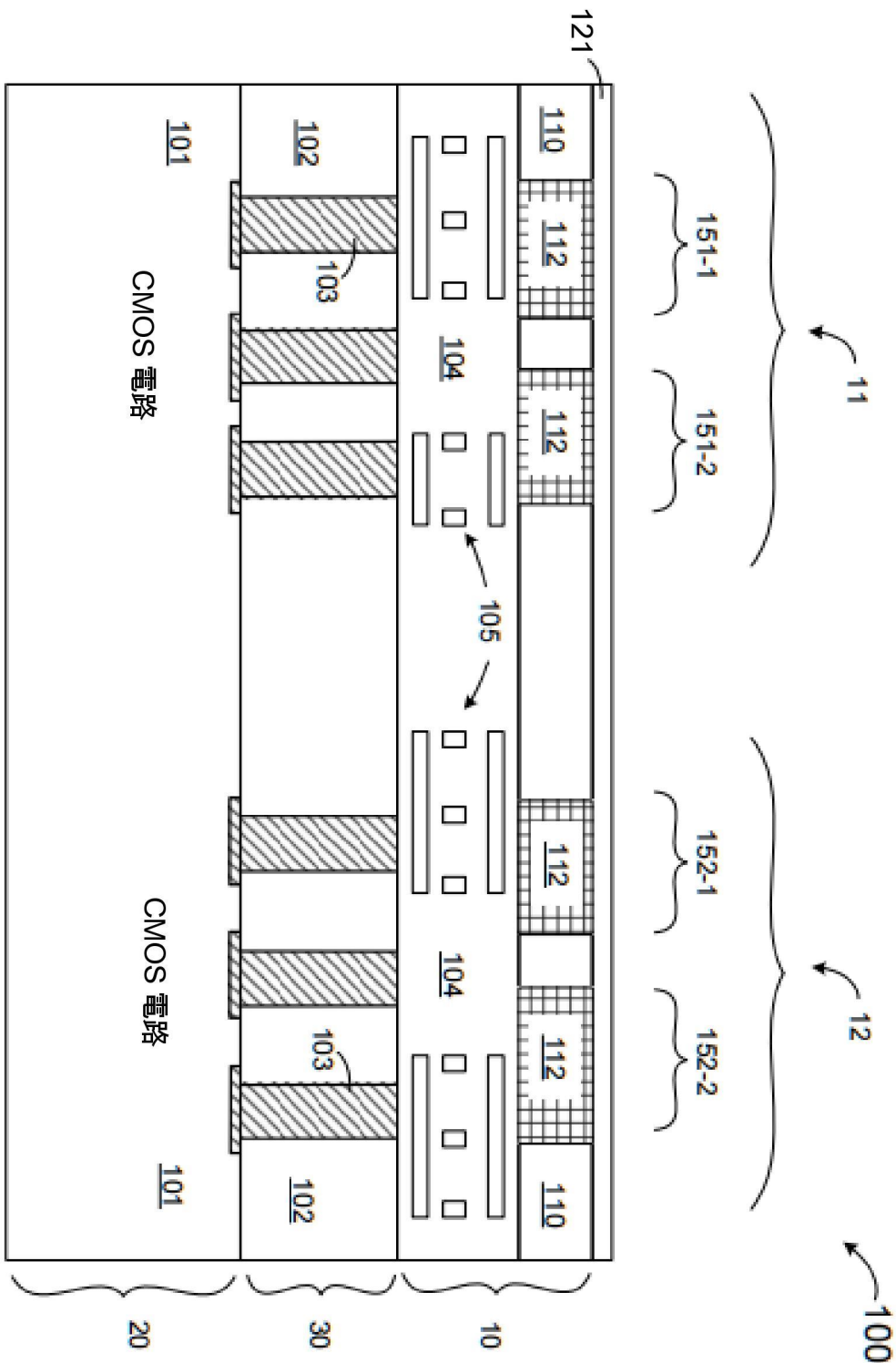


圖 1

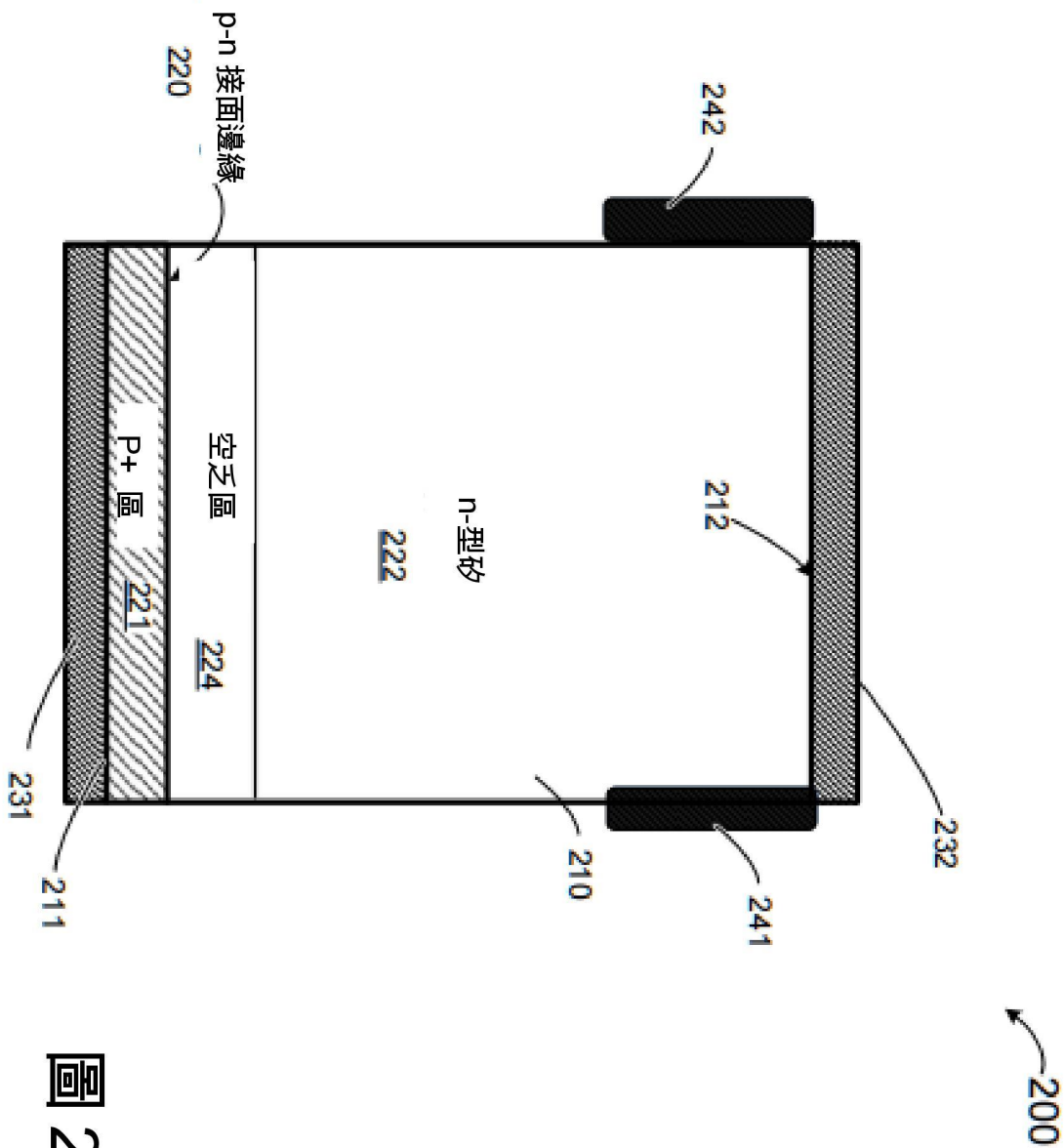


圖 2

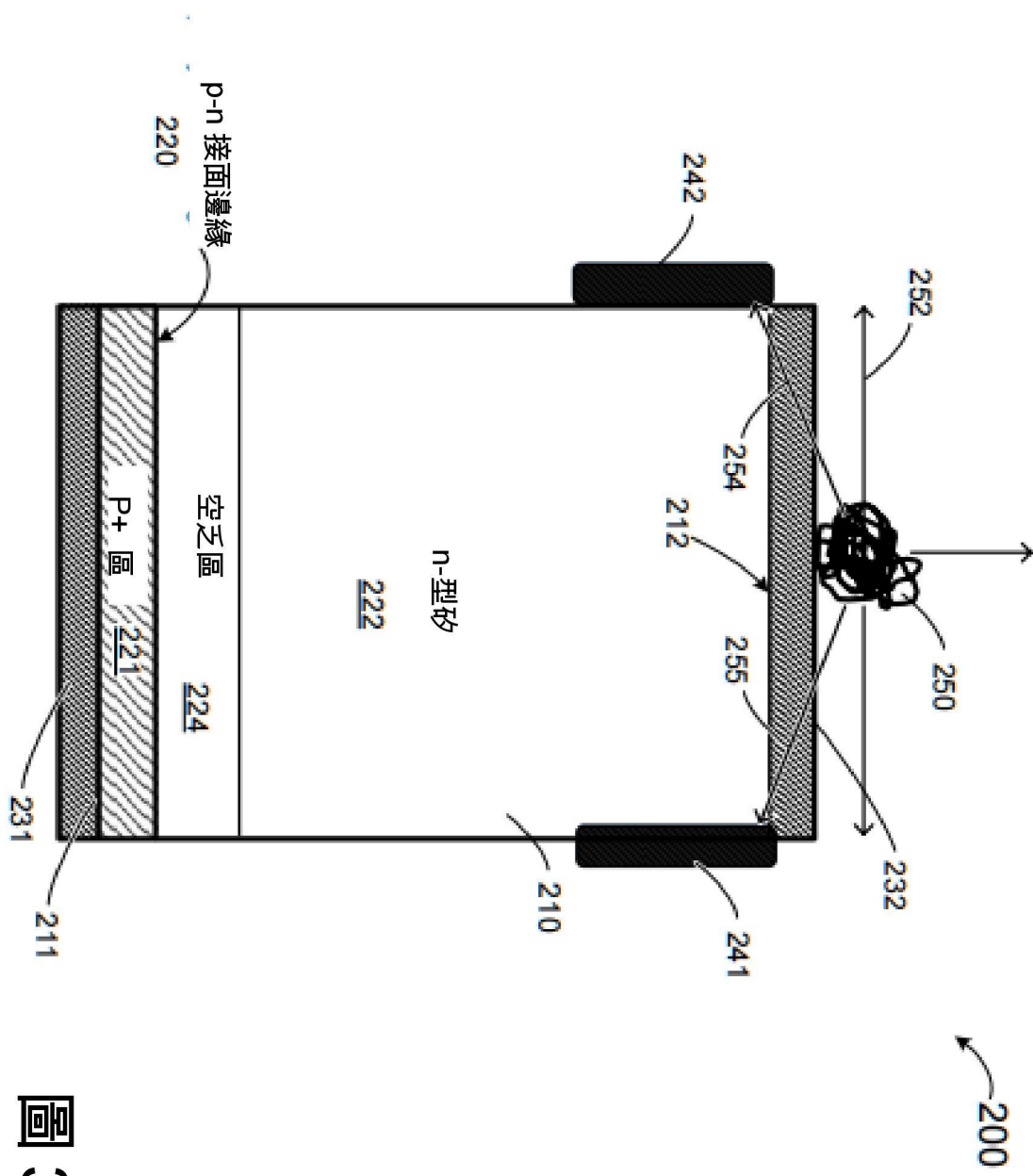


圖 3

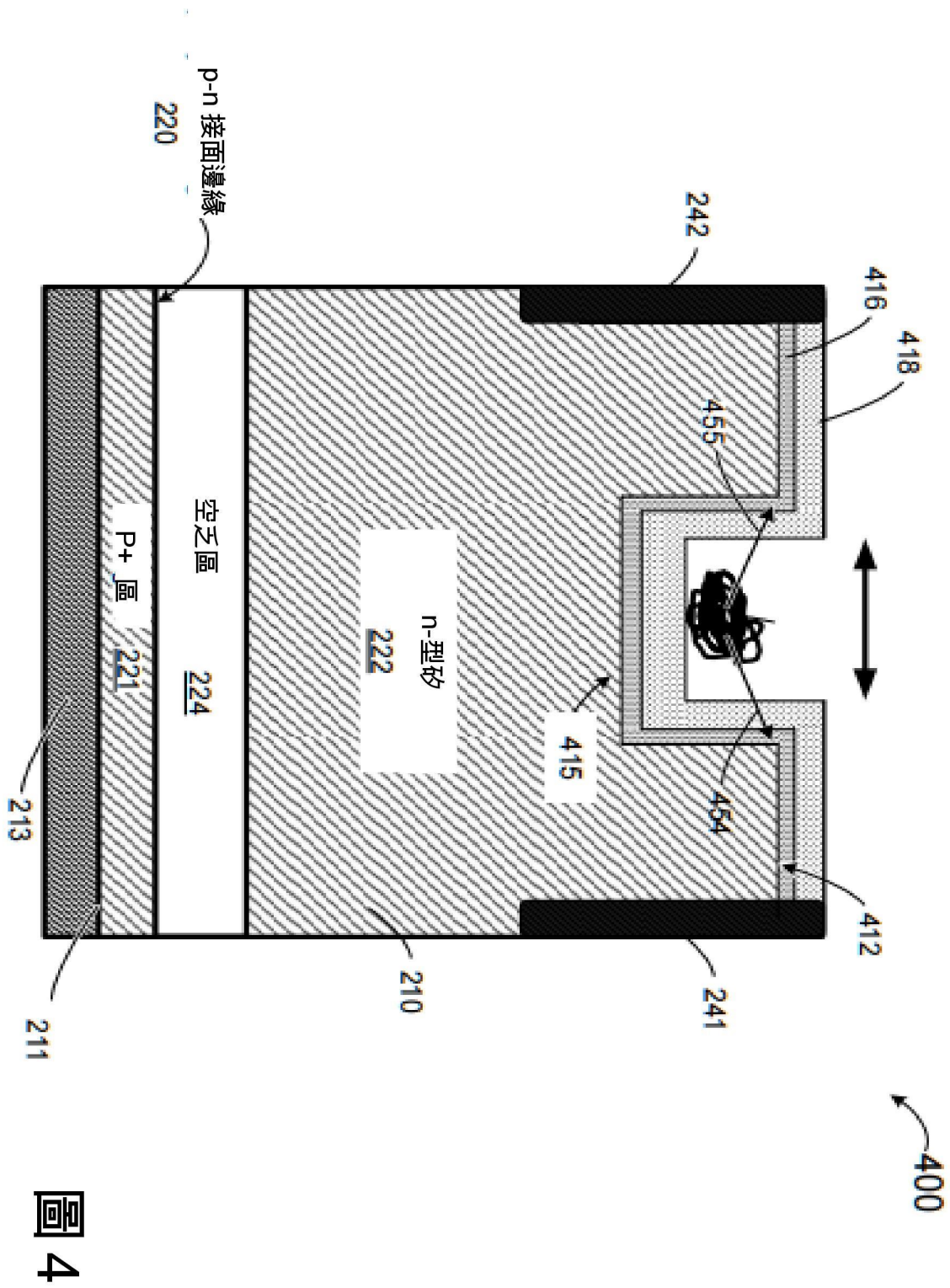


圖 4

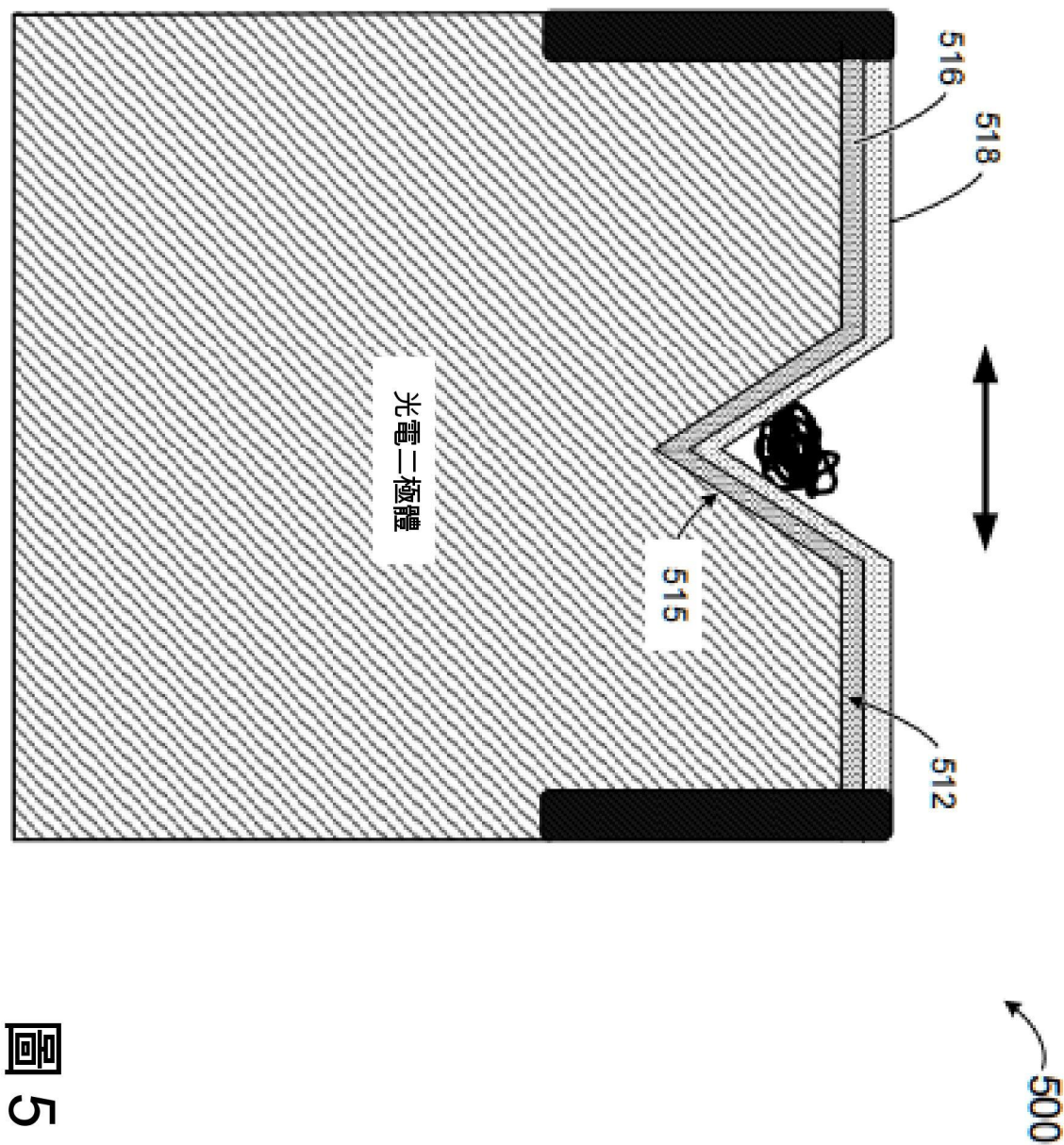


圖 5

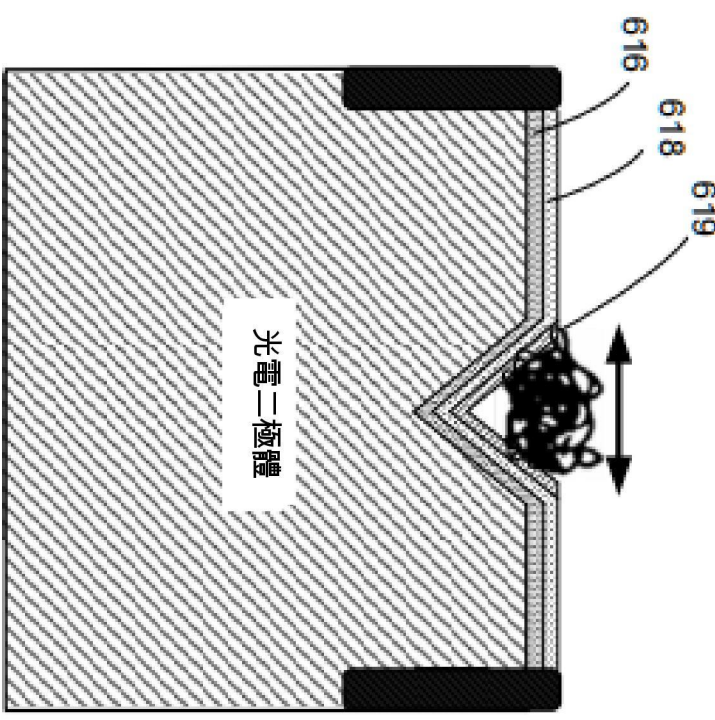
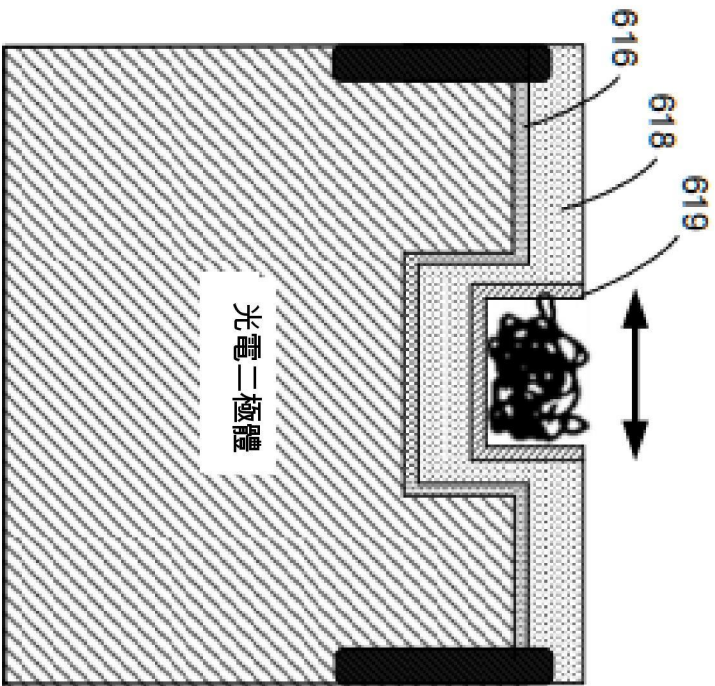


圖 6