

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-189600

(P2012-189600A)

(43) 公開日 平成24年10月4日(2012.10.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 C	2 G O 4 3
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 G	2 G O 5 9
GO 1 N 33/552 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 W	4 B O 2 4
GO 1 N 21/17 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 2 5 U	4 B O 2 9
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 Z	4 B O 6 3
審査請求 有 請求項の数 17 O L (全 175 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-88799 (P2012-88799)
 (22) 出願日 平成24年4月9日 (2012.4.9)
 (62) 分割の表示 特願2008-531423 (P2008-531423)
 の分割
 原出願日 平成18年9月13日 (2006.9.13)
 (31) 優先権主張番号 60/716,694
 (32) 優先日 平成17年9月13日 (2005.9.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/762,238
 (32) 優先日 平成18年1月25日 (2006.1.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508367717
 アフィメトリックス・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国・95051・カリフォルニア州・サンタクララ・セントラル・エクスプレスウェイ・3420
 (74) 代理人 100064621
 弁理士 山川 政樹
 (74) 代理人 100098394
 弁理士 山川 茂樹
 (72) 発明者 トゥルー, ランダル・ジェイ
 アメリカ合衆国・94114・カリフォルニア州・サンフランシスコ・クリッパー・ストリート・343

最終頁に続く

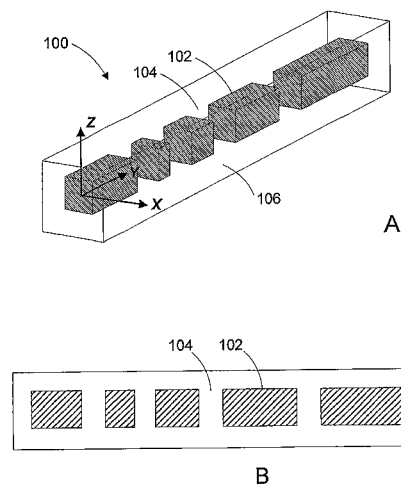
(54) 【発明の名称】 コード化されたマイクロ粒子

(57) 【要約】

【課題】コード化されたマイクロ粒子、それをバイオアッセイに使用する方法、並びにその作成方法を提案するものである。

【解決手段】軸線に沿って整列した2つ以上の別個のセグメントを含む第1の材料と、前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを含み、マイクロ粒子のためのコードが設けられる、コード化されたマイクロ粒子である。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

軸線に沿って整列した 2 つ以上の別個のセグメントを含む第 1 の材料と、
前記セグメントが第 2 の材料を通して検出可能であるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを含み、
マイクロ粒子のためのコードが設けられる、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2】

前記マイクロ粒子の前記コードが 1, 0 0 0 個を超えるコードスペースからのものである請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 3】

前記マイクロ粒子の前記コードが 1 0, 0 0 0 個を超えるコードスペースからのものである請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 4】

前記第 2 の材料が透明である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5】

前記第 1 の材料が不透明である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 6】

前記透明材料がガラスを含む請求項 4 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7】

前記第 1 の材料が不透明である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 8】

前記マイクロ粒子の外表面全体がガラスである請求項 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 9】

前記第 1 の材料が半導体又は金属を含む請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 10】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 11】

前記マイクロ粒子の体積が 2 0, 0 0 0 μm 以下である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 12】

前記マイクロ粒子の長さが 5 0 μm 以下である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 13】

前記マイクロ粒子の幅が 5 μm 以下である請求項 15 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 14】

前記マイクロ粒子の長さとの比が 3 : 1 以上である請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 15】

前記マイクロ粒子が磁性材料を含む請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 16】

前記第 2 の材料がその中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 17】

前記第 2 の材料が、多数の生化学分子がその上に付着される面を含む請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 18】

前記マイクロ粒子が単分子層内にほぼ配置される請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 19】

前記マイクロ粒子が液体中に配置され、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行い、かつ前記面に付着された生化学分子を有する請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 20】

前記第 2 の材料がその面に複数のへこみを含む請求項 1 に記載のマイクロ粒子。

10

20

30

40

50

【請求項 2 1】

各マイクロ粒子が、
軸線に沿って整列した 2 つ以上の別個のセグメントを含む第 1 の材料と、
前記セグメントが第 2 の材料を通して検出可能であるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを含み、
マイクロ粒子のためのコードが設けられる、多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 2】

前記第 2 の材料が透明である請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 3】

前記第 1 の材料が不透明である請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子 10
。

【請求項 2 4】

前記第 1 の材料が半導体又は金属を含む請求項 2 3 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 5】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 6】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。 20

【請求項 2 7】

前記マイクロ粒子の長さが $50 \mu\text{m}$ 以下である請求項 2 6 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 8】

前記マイクロ粒子の幅が $5 \mu\text{m}$ 以下である請求項 2 6 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 9】

前記マイクロ粒子の長さとの幅の比が 3 : 1 以上である請求項 2 6 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 3 0】

前記マイクロ粒子が磁性材料を含む請求項 2 6 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。 30

【請求項 3 1】

前記第 2 の材料がその中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 3 2】

前記第 2 の材料が、多数の生化学分子がその上に付着される面を含む請求項 2 1 に記載の多数のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 3 3】

軸線に沿って整列した複数の別個のセグメントをそれぞれ含み、かつコードをそれぞれ表す複数のマイクロ粒子を形成するように、基板上に層を堆積させパターニングする工程と、 40

前記マイクロ粒子を前記基板から分離するため、前記マイクロ粒子をリリースする工程とを含む、コード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 3 4】

前記層を堆積させパターニングする前記工程が、
第 1 の層を前記基板上に堆積させる工程と、
第 2 の層を前記基板上に堆積させる工程と、
各粒子領域が前記軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを有するようにして、前記第 2 の層を複数の粒子領域に形成する工程と、 50

第3の層を前記基板上に堆積させる工程とをさらに含む請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記層をパターニングする前記工程が、

1回目に第1のパターンを前記層上に形成する工程と、

2回目に第2のパターンを前記層上に形成する工程とを含み、

前記第1及び第2のパターンが前記マイクロ粒子を形成する請求項33に記載の方法。

【請求項36】

前記第1の材料が透明である請求項34に記載の方法。

【請求項37】

前記第2の材料が不透明である請求項34に記載の方法。

10

【請求項38】

前記第2の材料が半導体又は金属を含む請求項37に記載の方法。

【請求項39】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項34に記載の方法。

【請求項40】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000\mu\text{m}^3$ 以下である請求項34に記載の方法。

【請求項41】

前記マイクロ粒子の長さが $50\mu\text{m}$ 以下である請求項34に記載の方法。

【請求項42】

前記マイクロ粒子の幅が $5\mu\text{m}$ 以下である請求項41に記載の方法。

20

【請求項43】

磁性材料から成る層を形成する工程をさらに含む請求項34に記載の方法。

【請求項44】

複数の分子から成る蛍光層を形成する工程をさらに含む請求項34に記載の方法。

【請求項45】

多数の生化学分子を面のマイクロ粒子上又はその中に付着させる工程をさらに含む請求項34に記載の方法。

【請求項46】

基板を用意する工程と、

第1の層を前記基板上に堆積させる工程と、

30

第2の層を前記基板上に堆積させる工程と、

各粒子領域が軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを有するようにして、前記第2の層を複数の粒子領域に形成する工程と、

第3の層を前記基板上に堆積させる工程と、

個々の粒子を形成するため、前記粒子領域内の前記層を前記基板からリリースする工程とを含み、

個々の粒子の前記離散的なセグメントによってコードが形成される、コード化された粒子を作成する方法。

【請求項47】

前記層をパターニングする前記工程が、

40

1回目に第1のパターンを前記層上に形成する工程と、

2回目に第2のパターンを前記層上に形成する工程とを含み、

前記第1及び第2のパターンが前記マイクロ粒子を形成する請求項46に記載の方法。

【請求項48】

前記第1の材料が透明である請求項47に記載の方法。

【請求項49】

前記第2の材料が不透明である請求項47に記載の方法。

【請求項50】

前記第2の材料が半導体又は金属を含む請求項47に記載の方法。

【請求項51】

50

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 47 に記載の方法。

【請求項 52】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 47 に記載の方法。

【請求項 53】

前記マイクロ粒子の長さが $50 \mu\text{m}$ 以下である請求項 47 に記載の方法。

【請求項 54】

前記マイクロ粒子の幅が $5 \mu\text{m}$ 以下である請求項 47 に記載の方法。

【請求項 55】

磁性材料から成る層を形成する工程をさらに含む請求項 47 に記載の方法。

【請求項 56】

複数の分子から成る蛍光層を形成する工程をさらに含む請求項 47 に記載の方法。

【請求項 57】

多数の生化学分子を面のマイクロ粒子上又はその中に付着させる工程をさらに含む請求項 47 に記載の方法。

【請求項 58】

基板にほぼ平行な軸線に沿って整列した複数の離散的なセグメントをそれぞれ含み、かつコードをそれぞれ表す複数のマイクロ粒子を形成するように、前記基板上に層を堆積させパターニングする工程と、

前記マイクロ粒子を前記基板から分離するため、前記マイクロ粒子をリリースする工程とを含み、

各マイクロ粒子に対する前記コードが、前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能である、コード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 59】

前記層をパターニングする工程が、

1 回目に第 1 のパターンを前記層上に形成する工程と、

2 回目に第 2 のパターンを前記層上に形成する工程とを含み、

前記第 1 及び第 2 のパターンが前記マイクロ粒子を形成する請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

前記第 1 の材料が透明である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 61】

前記第 2 の材料が不透明である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 62】

前記第 2 の材料が半導体又は金属を含む請求項 58 に記載の方法。

【請求項 63】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 64】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 65】

前記マイクロ粒子の長さが $50 \mu\text{m}$ 以下である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 66】

前記マイクロ粒子の幅が $5 \mu\text{m}$ 以下である請求項 58 に記載の方法。

【請求項 67】

磁性材料から成る層を形成する工程をさらに含む請求項 58 に記載の方法。

【請求項 68】

複数の分子から成る蛍光層を形成する工程をさらに含む請求項 58 に記載の方法。

【請求項 69】

多数の生化学分子を面のマイクロ粒子上又はその中に付着させる工程をさらに含む請求項 58 に記載の方法。

【請求項 70】

軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを含む第 1 の材料と、

10

20

30

40

50

透明であり、前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを含み、

前記マイクロ粒子のためのコードが設けられ、前記軸線に直交する全ての角度から検出可能である、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項71】

前記層をパターンニングする前記工程が、

1回目に第1のパターンを前記層上に形成する工程と、

2回目に第2のパターンを前記層上に形成する工程とを含み、

前記第1及び第2のパターンがマイクロ粒子を形成する請求項70に記載の方法。

【請求項72】

前記第1の材料が透明である請求項70に記載の方法。

【請求項73】

前記第2の材料が不透明である請求項70に記載の方法。

【請求項74】

前記第2の材料が半導体又は金属を含む請求項73に記載の方法。

【請求項75】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項71に記載の方法。

【請求項76】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000\mu\text{m}^3$ 以下である請求項75に記載の方法。

【請求項77】

前記マイクロ粒子の長さが $50\mu\text{m}$ 以下である請求項75に記載の方法。

【請求項78】

前記マイクロ粒子の幅が $5\mu\text{m}$ 以下である請求項75に記載の方法。

【請求項79】

磁性材料から成る層を形成する工程をさらに含む請求項75に記載の方法。

【請求項80】

複数の分子から成る蛍光層を形成する工程をさらに含む請求項75に記載の方法。

【請求項81】

多数の生化学分子を、面のマイクロ粒子上又はその中に付着させる工程をさらに含む請求項75に記載の方法。

【請求項82】

透明性がより高い材料と透明性がより低い材料との交互になった複数の部分を含み、前記透明性がより低い材料の部分が前記透明性がより高い材料の部分に隣接した、細長い本体を含み、

前記透明性がより高い材料の部分及び前記透明性がより低い材料の部分が検出可能なコードを表す、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項83】

前記透明性がより低い材料が不透明である請求項82に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項84】

前記透明性がより高い材料がガラスである請求項83に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項85】

前記透明性がより低い材料が、可視スペクトル内において吸収率がより高い材料である請求項83に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項86】

前記透明性がより低い材料が、光反射率がより高い材料である請求項83に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項87】

前記不透明材料が半導体又は金属を含む請求項83に記載のコード化されたマイクロ粒

10

20

30

40

50

子。

【請求項 8 8】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 8 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 9】

前記マイクロ粒子の体積が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 8 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 0】

前記マイクロ粒子の長さが $50 \mu\text{m}$ 以下である請求項 8 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 1】

前記マイクロ粒子の幅が $5 \mu\text{m}$ 以下である請求項 9 0 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 2】

前記マイクロ粒子のアスペクト比が 3 : 1 以上である請求項 9 0 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 3】

前記マイクロ粒子が磁性材料を含む請求項 9 0 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 4】

前記細長い本体が、その中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項 8 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 5】

前記細長い本体が、多数の生化学分子がその上に付着される面を含む請求項 8 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 9 6】

軸線に沿って空間コードを有すると共に、複数の細長い辺を有するマイクロ粒子を用意する工程と、

前記マイクロ粒子上に入射光を用意する工程と、

前記マイクロ粒子によって反射された、又はそれを透過した光を検出する工程とを含み、

前記光が前記細長い辺のどれに入射したかとは無関係に前記マイクロ粒子の前記コードを検出することができる、コード化されたマイクロ粒子を検出する方法。

【請求項 9 7】

前記光が、可視光又は近可視光範囲内にスペクトルを有する請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記マイクロ粒子が、

軸線に沿って整列した 2 つ以上の別個のセグメントを含む第 1 の材料と、

前記セグメントが第 2 の材料を通して検出可能であるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを含み、

前記マイクロ粒子のためのコードが設けられる請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子のコードスペースの構成要素であり、前記コードスペースが 1000 個を超える請求項 9 8 に記載の方法。

【請求項 100】

前記マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子のコードスペースの構成要素であり、前記コードスペースが 10000 個を超える請求項 9 8 に記載の方法。

【請求項 101】

前記第 2 の材料が透明である請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 102】

前記第 1 の材料が不透明である請求項 9 9 に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 1 0 3】
前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 9 9 に記載の方法。
- 【請求項 1 0 4】
前記マイクロ粒子の体積が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 9 9 に記載の方法。
- 【請求項 1 0 5】
前記マイクロ粒子の長さが $50 \mu\text{m}$ 以下である請求項 9 9 に記載の方法。
- 【請求項 1 0 6】
前記マイクロ粒子の幅が $5 \mu\text{m}$ 以下である請求項 1 0 5 に記載の方法。
- 【請求項 1 0 7】
前記マイクロ粒子の長さとの幅の比が 3 : 1 以上である請求項 1 0 5 に記載の方法。 10
- 【請求項 1 0 8】
前記第 2 の材料が、その中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項 1 0 5 に記載の方法。
- 【請求項 1 0 9】
前記第 2 の材料が、多数の生化学分子がその上に付着される面を含む請求項 1 0 5 に記載の方法。
- 【請求項 1 1 0】
前記マイクロ粒子が単分子層内にほぼ配置される請求項 9 9 に記載の方法。
- 【請求項 1 1 1】
前記マイクロ粒子が液体バッファ中に配置され、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行い、かつ前記面に付着された生化学分子を有する請求項 1 1 0 に記載の方法。 20
- 【請求項 1 1 2】
前記第 2 の材料が、その面内に複数のへこみを含む請求項 1 0 5 に記載の方法。
- 【請求項 1 1 3】
50 μm 未満の最長寸法と、
ほぼガラスである外面と、
光学的拡大によって読み取ることができる空間コードとを含む、コード化されたマイクロ粒子。
- 【請求項 1 1 4】
前記空間コードが反射光によって検出可能である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 1 5】
前記空間コードが透過光によって検出可能である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。 30
- 【請求項 1 1 6】
前記空間コードが放射光によって検出可能である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 1 7】
前記空間コードが単一の画像取得イベントによって検出可能である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 1 8】
前記マイクロ粒子が $20,000 \mu\text{m}^3$ 以下の体積を有する請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 1 9】
前記マイクロ粒子が $5000 \mu\text{m}^3$ 以下の体積を有する請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。 40
- 【請求項 1 2 0】
前記マイクロ粒子が $1000 \mu\text{m}^3$ 以下の体積を有する請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 2 1】
前記マイクロ粒子の前記コードが、1,000 個を超えるコードスペースからのものである請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。
- 【請求項 1 2 2】
前記マイクロ粒子の前記コードが、10,000 個を超えるコードスペースからのもの 50

である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 3】

前記マイクロ粒子が不透明材料を含む請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 4】

前記不透明材料が半導体又は金属を含む請求項 1 2 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 5】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 6】

前記マイクロ粒子の長さとの幅の比が 3 : 1 以上である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

10

【請求項 1 2 7】

前記マイクロ粒子が磁性材料を含む請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 8】

前記第 2 の材料が、その中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 2 9】

前記マイクロ粒子の面上に多数の生化学分子をさらに含む請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 0】

前記マイクロ粒子が、単分子層内にほぼ配置された複数のマイクロ粒子の構成要素である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

20

【請求項 1 3 1】

前記マイクロ粒子が液体バッファ中に配置され、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行い、かつ前記面に付着された生化学分子を有する請求項 1 3 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 2】

前記マイクロ粒子の面内に複数のへこみをさらに含む請求項 1 3 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 3】

前記マイクロ粒子の長さが 50 μm 以下である請求項 1 1 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 4】

前記マイクロ粒子の長さが 20 μm 以下である請求項 1 3 3 に記載のマイクロ粒子。

30

【請求項 1 3 5】

50 μm 未満の最長寸法と、
ほぼガラスの外表面と、

1. 5 μm 以下の最大サイズを有するコード要素を含む空間コードとを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 1 3 6】

前記最大サイズが 1. 0 μm 以下である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 7】

前記マイクロ粒子が 20000 μm^3 以下の体積を有する請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

40

【請求項 1 3 8】

前記マイクロ粒子が 5000 μm^3 以下の体積を有する請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 3 9】

前記マイクロ粒子がさらに、

軸線に沿って整列した 2 つ以上の別個のセグメントを含む第 1 の材料と、

前記セグメントが第 2 の材料を通して検出可能であるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを含み、

前記マイクロ粒子のためのコードが設けられる請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

50

【請求項 1 4 0】

前記空間コードが反射率イメージング・システムによって検出可能である請求項 1 3 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 1】

前記空間コードが透過型イメージング・システムによって検出可能である請求項 1 3 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 2】

前記空間コードが蛍光イメージングによって検出可能である請求項 1 3 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 3】

前記空間コードが単一の画像取得イベントによって検出可能である請求項 1 3 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 4】

前記マイクロ粒子が不透明材料を含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 5】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 6】

前記マイクロ粒子の長さとの幅の比が 3 : 1 以上である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 7】

前記マイクロ粒子が磁性材料を含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 8】

前記マイクロ粒子の面の全て又は一部分の上若しくは中に複数の蛍光分子をさらに含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 4 9】

前記マイクロ粒子の面上に多数の生化学分子をさらに含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 0】

前記マイクロ粒子が、単分子層内にほぼ配置された複数のマイクロ粒子の構成要素である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 1】

前記マイクロ粒子が液体中に配置され、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行い、かつ前記面に付着された生化学分子を有する請求項 1 5 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 2】

前記マイクロ粒子の面内に複数のへこみをさらに含む請求項 1 5 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 3】

前記空間コードが反射光によって検出可能である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 4】

前記空間コードが透過光によって検出可能である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 5】

前記空間コードが放射光によって検出可能である請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 6】

前記マイクロ粒子が透明材料を含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 7】

前記マイクロ粒子の面上に複数の蛍光分子をさらに含む請求項 1 3 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 1 5 8】

- a) マイクロ粒子領域ごとに単一のコード要素を定義するパターンを設ける工程と、
- b) 第 1 のコード要素に前記パターンを印刷する工程と、

c) 前記第1のコード要素及び次のコード要素が同じマイクロ粒子領域内にあるようにして、次のコード要素に前記パターンを印刷する工程とを含み、

d) 前記マイクロ粒子上のコードが設けられる、粒子を識別するためのコードを形成する印刷プロセスを用いて、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項159】

前記印刷工程(b)又は(c)がフォトリソグラフィを用いて行われる請求項158に記載の方法。

【請求項160】

前記印刷が、ステップ・アンド・リピート露光システムを使用することを含む請求項158に記載の方法。

【請求項161】

前記印刷工程が、感光層を露光することによって行われる請求項159に記載の方法。

【請求項162】

前記印刷工程(b)又は(c)がインプリント・リソグラフィを用いて行われる請求項158に記載の方法。

【請求項163】

前記パターンがレチクル上に形成される請求項158に記載の方法。

【請求項164】

前記コードが、複数の個別の不透明なセグメントで形成される請求項158に記載の方法。

【請求項165】

マイクロ粒子が形成される前記基板が、露光工程の間に横方向にシフトされる請求項158に記載の方法。

【請求項166】

1回目にマイクロ粒子の前記コードの第1の部分を印刷する工程と、

前記第1の部分及び第2の部分が少なくとも部分的に各マイクロ粒子のための前記コードを形成するようにして、前記1回目の後の2回目に、前記マイクロ粒子の前記コードの第2の部分を印刷する工程とを含む、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項167】

前記印刷工程のどちらか1つが、フォトリソグラフィを用いて行われる請求項166に記載の方法。

【請求項168】

前記印刷が、露光システムのステップ・アンド・リピートを行う工程を含む請求項167に記載の方法。

【請求項169】

前記印刷工程が、感光層を露光することによって行われる請求項167に記載の方法。

【請求項170】

前記印刷工程のどちらか1つがスタンピングを用いて行われる請求項166に記載の方法。

【請求項171】

前記パターンがレチクル上に形成される請求項166に記載の方法。

【請求項172】

前記コードが、複数の交互になった透過率がより高いセグメントと透過率がより低いセグメントで形成される請求項166に記載の方法。

【請求項173】

マイクロ粒子がその上に形成される前記基板が、露光工程の間に横方向にシフトされる請求項172に記載の方法。

【請求項174】

a) 複数のコード化されたマイクロ粒子を含む基板を用意する工程と、

10

20

30

40

50

b) 識別要素を含むパターンを設ける工程と、
 c) 前記パターンを前記基板又は前記基板の一部分の上に印刷する工程と、
 d) 前記基板を予め定められた距離だけ横方向にシフトさせる工程と、
 e) 工程 c を再び実行する工程とを含み、
 f) 前記粒子上のコードが設けられる、マイクロ粒子を識別するマイクロ粒子のためのコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いて複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 175】

前記印刷工程がフォトリソグラフィを用いて行われる請求項 174 に記載の方法。

【請求項 176】

10

前記印刷が、ステップ・アンド・リピート露光システムを使用することを含む請求項 174 に記載の方法。

【請求項 177】

前記印刷工程が、感光層を露出することによって行われる請求項 176 に記載の方法。

【請求項 178】

前記コード化されたマイクロ粒子がガラスの外側層を含む請求項 174 に記載の方法。

【請求項 179】

前記パターンがレチクル上に形成される請求項 176 に記載の方法。

【請求項 180】

前記コードが複数の個別の不透明なセグメントで形成される請求項 176 に記載の方法
 。

20

【請求項 181】

マイクロ粒子がその上に形成される前記基板が露光工程の間に横方向にシフトされる請求項 177 に記載の方法。

【請求項 182】

1 回目にマイクロ粒子のコードの第 1 の部分を印刷する工程と、

前記 1 回目の後の 2 回目に前記マイクロ粒子のコードの第 2 の部分を印刷する工程とを含む方法を行うことができるステップ・アンド・リピート露光システムと、

前記ステップ・アンド・リピート露光システムが前記方法を行うのを制御するための、一連のコンピュータ実行命令を有するコンピュータ可読媒体とを含む、システム。

30

【請求項 183】

同じコードを全て有する複数のコード化されたマイクロ粒子をそれぞれ含む複数の領域を含む、一組のコード化されたマイクロ粒子を作成する印刷システムを方向付ける工程を含む方法を行うためのコンピュータ実行命令を有し、前記コンピュータ・プログラムが、前記異なる領域の前記コードを形成する座標位置及び横方向のオフセットのリストを含む、方法を行うためのコンピュータ実行命令を有するコンピュータ可読媒体。

【請求項 184】

1 回目にマイクロ粒子のコードの第 1 の部分を印刷する工程と、

前記 1 回目の後の 2 回目に前記マイクロ粒子のコードの第 2 の部分を印刷する工程とを含む方法を行うことができるステップ・アンド・リピート露光システムと、

40

前記ステップ・アンド・リピート露光システムが前記方法を行うのを制御するための、一連のコンピュータ実行命令を有するコンピュータ可読媒体とを含む、システム。

【請求項 185】

a) 基板を用意する工程と、

b) 第 1 の層を堆積させる工程と、

c) 第 2 の層を堆積させる工程と、

d) ステップ・アンド・リピート露光システムの命令にしたがって、マイクロ粒子のコードを形成する工程とを含み、

e) 前記粒子上のコードが設けられる、マイクロ粒子を識別するためのコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いて複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する

50

方法。

【請求項 186】

前記粒子領域を形成する前記工程が、
基板を用意する工程と、
識別要素を含むパターンを設ける工程と、
前記パターンを前記基板又は前記基板の一部分の上に印刷する工程と、
前記基板を予め定められた距離だけ横方向にシフトさせる工程と、
工程 c を再び実行する工程とをさらに含み、
前記粒子上のコードが設けられる請求項 185 に記載の方法。

【請求項 187】

前記印刷工程がフォトリソグラフィを用いて行われる請求項 186 に記載の方法。

【請求項 188】

前記印刷が、ステップ・アンド・リピート露光システムを使用することを含み請求項 186 に記載の方法。

【請求項 189】

前記印刷工程が感光層を露光することによって行われる請求項 186 に記載の方法。

【請求項 190】

前記印刷工程がエンボシング・リソグラフィである請求項 186 に記載の方法。

【請求項 191】

前記パターンがフォトマスク上に供給される請求項 186 に記載の方法。

【請求項 192】

前記コードが複数の個別の不透明なセグメントで形成される請求項 186 に記載の方法。

【請求項 193】

マイクロ粒子がその上に形成される前記基板が露光工程の間に横方向にシフトされる請求項 189 に記載の方法。

【請求項 194】

基板上にパターニングされるべき第 1 の層を堆積させる工程と、
パターニングされるべき前記層上にフォトレジスト層である第 2 の層を堆積させる工程と、

ステップ・アンド・リピート露光システムを用いて、前記フォトレジスト層全体にわたってコード要素パターンを順送りすることによって、露光パターンを前記フォトレジスト層内に形成する工程と、

前記フォトレジスト層を選択的に除去し、前記第 1 の層をパターニングする工程とを含み、

前記ステップ・アンド・リピート露光システムが、同じ基板上に異なるマイクロ粒子コードを形成するようにプログラムされ、

前記マイクロ粒子を前記基板から分離する工程をさらに含む、コード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 195】

前記第 1 の層を堆積させる前に別の層を堆積させる工程をさらに含む請求項 194 に記載の方法。

【請求項 196】

前記印刷が露光システムのステップ・アンド・リピートを行う工程を含む請求項 194 に記載の方法。

【請求項 197】

前記コード要素パターンがレチクル上に形成される請求項 194 に記載の方法。

【請求項 198】

前記コードが複数の個別の不透明なセグメントで形成される請求項 194 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 199】

マイクロ粒子がその上に形成される前記基板が露光工程の間に横方向にシフトされる請求項 194 に記載の方法。

【請求項 200】

前記コード要素パターンが前記露光パターンの部分集合を含む請求項 197 に記載の方法。

【請求項 201】

前記コード要素パターンがレチクル上に形成される請求項 197 に記載の方法。

【請求項 202】

前記基板が横方向にシフトされる距離が、粒子の最長寸法よりも少ない量である請求項 197 に記載の方法。 10

【請求項 203】

軸線を有する細長い本体であって、前記軸線に垂直に取った断面がほぼ正方形である本体を含む、マイクロ粒子。

【請求項 204】

検出可能な空間コードを含み、ほぼ正方形の断面を有する細長い構造を含み、前記細長い構造が、可視光又は近可視光に対して不透明な材料及び前記可視光又は近可視光に対して透過性の材料をさらに含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 205】

前記不透明材料が前記透過性材料内に封入される請求項 204 に記載のマイクロ粒子。 20

【請求項 206】

前記不透明材料が前記透過性材料によって完全に取り囲まれた不透明なセグメントを形成する請求項 204 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 207】

前記光透過性材料がガラスである請求項 205 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 208】

前記光に対して不透明な材料がシリコンを含む請求項 207 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 209】

前記ガラスが、前記セグメントを取り囲む前記ガラスの最小厚さが 5 ミクロンであるようにして、前記不透明なセグメントがその中に埋め込まれた固体の形態である請求項 207 に記載のマイクロ粒子。 30

【請求項 210】

前記最小厚さが 17 ミクロンである請求項 209 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 211】

マイクロ粒子の長さに直交する主面のアスペクト比が 3 : 1 よりも大きい直方体と、前記マイクロ粒子の長さに直交して取ったほぼ正方形の断面と、不透明な部分及び透明な部分とを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 212】

前記不透明な部分及び前記透明な部分が、コードを表すようにして前記マイクロ粒子の長さに沿って交互になっている請求項 211 に記載のマイクロ粒子。 40

【請求項 213】

前記不透明なセグメントが、前記セグメントのほぼ全ての面が前記マイクロ粒子の外表面と接触せずにそれらによって封入されるようにして、前記マイクロ粒子内に埋め込まれる請求項 212 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 214】

前記不透明な部分が非晶質シリコンから成る請求項 213 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 215】

前記透明な部分がガラスから成る請求項 213 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 216】

前記ガラスがシリコン酸化物を含む請求項 215 に記載のマイクロ粒子。 50

【請求項 2 1 7】

前記マイクロ粒子が 5 0 ミクロンの最大寸法を有する請求項 2 1 6 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 2 1 8】

5 から 1 0 0 ミクロンの長さ、0. 5 から 1 0 ミクロンの幅及び高さとを有し、幅と高さの比が 0. 5 から 2. 0 である粒子本体を含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 2 1 9】

前記幅と高さの比がほぼ 1 である請求項 2 1 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 2 2 0】

予め定められたコード体系から得られるコードを表すための、前記マイクロ粒子の前記長さに沿って配置された一組のセグメント及び前記セグメントに挟まれたスペーサをさらに含む請求項 2 1 8 に記載のマイクロ粒子。

10

【請求項 2 2 1】

前記セグメントが、可視光又は近可視光に対して不透明な材料から成り、前記スペーサが、前記可視光又は近可視光に対して 5 0 % 以上の透過率を有する材料から成る請求項 2 1 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 2 2 2】

パターンニングされているがウェハからリリースされていない複数のコード化されたマイクロ粒子をそれぞれ有する、複数の離散的なダイ面積を含み、

前記ウェハが 80.6 cm^2 (12. 5 平方インチ) から 774.2 cm^2 (120 平方インチ) の面積を有し、前記ウェハの 6.5 cm^2 (1 平方インチ) 当たり少なくとも 3 0 0 万個のマイクロ粒子が存在する、ウェハ。

20

【請求項 2 2 3】

各マイクロ粒子が、第 1 の材料の第 1 の部分と第 2 の材料の第 2 の部分とから成る請求項 2 2 2 に記載のウェハ。

【請求項 2 2 4】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 2 2 2 に記載のウェハ。

【請求項 2 2 5】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

30

【請求項 2 2 6】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 2 7】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 2 8】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 2 9】

前記検出可能なコードが、前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

40

【請求項 2 3 0】

前記検出可能なコードが、前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 3 1】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 3 2】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 3 3】

前記マイクロ粒子が、4 つの細長い辺と 2 つの端辺を有する六辺形である請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

50

【請求項 2 3 4】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記 4 つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 2 3 3 に記載のウェア。

【請求項 2 3 5】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 3 6】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 2 3 5 に記載のウェア。

【請求項 2 3 7】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 3 8】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 2 3 7 に記載のウェア。

【請求項 2 3 9】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 0】

透明性がより低い材料の 2 から 1 5 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 1】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 2 4 0 に記載のウェア。

【請求項 2 4 2】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 2 4 0 に記載のウェア。

【請求項 2 4 3】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 4】

各マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子の集合体が発せられたときにバッファ中でブラウン運動を行うことができるようなサイズを有する請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 5】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 6】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 7】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 8】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 2 2 4 に記載のウェア。

【請求項 2 4 9】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から $10^6 / \mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 2 3 6 に記載のウェア。

【請求項 2 5 0】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の

10

20

30

40

50

少なくとも一部分に結合される請求項 2 4 9 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 1】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分とその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 2】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 5 0 % を吸収する請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 3】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 8 0 % を吸収する請求項 2 5 2 に記載のウェハ。

10

【請求項 2 5 4】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 5 0 % を反射する請求項 2 2 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 5】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 8 0 % を反射する請求項 2 5 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 6】

前記マイクロ粒子が 2 : 1 から 5 0 : 1 の長さとの幅の比を含む請求項 2 2 2 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 7】

前記マイクロ粒子が 5 0 μm 未満の長さとの 1 0 μm 未満の幅を含む請求項 2 2 2 に記載のウェハ。

20

【請求項 2 5 8】

前記マイクロ粒子が 5 から 5 0 0 μm^3 の体積を含む請求項 2 2 2 に記載のウェハ。

【請求項 2 5 9】

複数のリリースされていないマイクロ粒子をそれぞれ有する複数のダイ区域を含み、各マイクロ粒子が、光学的に互いを区別することができる連続的に配列された材料から形成されたコードを含み、

ダイ区域の数に各ダイ区域内の粒子の数を掛けて、それをセンチメートル単位のウェハの直径で割ったものが A A から B B である、ウェハ。

30

【請求項 2 6 0】

各マイクロ粒子が、第 1 の材料の第 1 の部分と第 2 の材料の第 2 の部分とから成る請求項 2 5 9 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 1】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 2 5 9 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 2】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 3】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

40

【請求項 2 6 4】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 5】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 6】

前記検出可能なコードが、前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 7】

前記検出可能なコードが、前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能であ

50

る請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 8】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 6 9】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 0】

前記マイクロ粒子が、4つの細長い辺と2つの端辺を有する六辺形である請求項 2 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 1】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記4つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 2 7 0 に記載のウェハ。

10

【請求項 2 7 2】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 3】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 2 7 2 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 4】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した2つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

20

【請求項 2 7 5】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 2 7 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 6】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 7】

透明性がより低い材料の2から15個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

30

【請求項 2 7 8】

透明性がより低い材料の4から8個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 2 7 7 に記載のウェハ。

【請求項 2 7 9】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 2 7 7 に記載のウェハ。

【請求項 2 8 0】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 8 1】

各マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子の集合体が発せられたときにバッファ中でブラウン運動を行うことができるようなサイズを有する請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

40

【請求項 2 8 2】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 8 3】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

【請求項 2 8 4】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 2 6 4 に記載のウェハ。

50

【請求項 285】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 286】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から $10^6/\mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 273 に記載のウェハ。

【請求項 287】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 286 に記載のウェハ。

【請求項 288】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分がある間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 289】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50% を吸収する請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 290】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80% を吸収する請求項 289 に記載のウェハ。

【請求項 291】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50% を反射する請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 292】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80% を反射する請求項 291 に記載のウェハ。

【請求項 293】

前記マイクロ粒子が 2 : 1 から 50 : 1 の長さとの幅の比を含む請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 294】

前記マイクロ粒子が 50 μm 未満の長さとの 10 μm 未満の幅を含む請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 295】

前記マイクロ粒子が 5 から 500 μm^3 の体積を含む請求項 264 に記載のウェハ。

【請求項 296】

複数のリリースされていないガラス・マイクロ粒子をその上に含み、そのウェハ上にあるマイクロ粒子の数が 1cm^2 当たり YY 個から ZZ 個である、シリコン・ウェハ。

【請求項 297】

前記ウェハ上にあるマイクロ粒子の数が 1cm^2 当たり YY' 個から ZZ' 個である請求項 296 に記載のウェハ。

【請求項 298】

複数のマイクロ粒子がそのそれぞれの上に形成された、XXXX 個以上のダイ区域をさらに含む請求項 296 に記載のウェハ。

【請求項 299】

各ダイ区域が XXXXX 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 298 に記載のウェハ。

【請求項 300】

各マイクロ粒子が、第 1 の材料の第 1 の部分と第 2 の材料の第 2 の部分から成る請求項 296 に記載のウェハ。

【請求項 301】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 296 に記載のウェハ。

【請求項 302】

10

20

30

40

50

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 3】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 4】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 5】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 6】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。 10

【請求項 3 0 7】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 8】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 0 9】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 0】

前記マイクロ粒子が、4つの細長い辺と2つの端辺を有する六方形である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。 20

【請求項 3 1 1】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記4つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 3 1 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 2】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 3】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 3 1 2 に記載のウェハ。 30

【請求項 3 1 4】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した2つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 5】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 3 1 4 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 6】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。 40

【請求項 3 1 7】

透明性がより低い材料の2から15個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 8】

透明性がより低い材料の4から8個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 3 1 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 1 9】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 0】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 1】

各マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子の集合体が発せられたときにバッファ中でブラウン運動を行うことができるようなサイズを有する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 2】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 3】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

10

【請求項 3 2 4】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 5】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 6】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から $10^6/\mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化されたDNA又はRNAプローブである請求項 3 1 2 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 7】

前記DNA又はRNAプローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 3 2 6 に記載のウェハ。

20

【請求項 3 2 8】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分とその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 2 9】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも50%を吸収する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 0】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも80%を吸収する請求項 3 2 9 に記載のウェハ。

30

【請求項 3 3 1】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも50%を反射する請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 2】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも80%を反射する請求項 3 3 1 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 3】

前記マイクロ粒子が2:1から50:1の長さとの幅の比を含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

40

【請求項 3 3 4】

前記マイクロ粒子が50 μm 未満の長さとの幅を含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 5】

前記マイクロ粒子が5から500 μm^3 の体積を含む請求項 3 0 0 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 6】

シリコンに結合された複数のコード化されたマイクロ粒子を含み、

前記マイクロ粒子の外面のほぼ全体が二酸化シリコンで構成され、前記外面の下側部分がシリコン・ウェハに直接結合された、複数のリリースされていないコード化されたマイクロ粒子がその上に形成されたシリコン・ウェハ。

50

【請求項 3 3 7】

各マイクロ粒子が、第 1 の材料の第 1 の部分と第 2 の材料の第 2 の部分から成る請求項 3 3 6 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 8】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 3 3 6 に記載のウェハ。

【請求項 3 3 9】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 0】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

10

【請求項 3 4 1】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 2】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 3】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 4】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

20

【請求項 3 4 5】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 6】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 7】

前記マイクロ粒子が、4 つの細長い辺と 2 つの端辺を有する六方形である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 4 8】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記 4 つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 3 4 7 に記載のウェハ。

30

【請求項 3 4 9】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 0】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 3 4 9 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 1】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

40

【請求項 3 5 2】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 3 5 1 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 3】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 4】

透明性がより低い材料の 2 から 1 5 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

50

【請求項 3 5 5】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 3 5 3 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 6】

透明性がより低い材料の前記部分に変化する長さを有する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 7】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分に変化する長さを有する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 8】

各マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子の集合体が発せられたときにバフファ中でブラウン運動を行うことができるようなサイズを有する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 5 9】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 0】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 1】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 2】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 3】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から 10^6 / μm^2 の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 3 6 1 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 4】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 3 6 3 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 5】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分とその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 6】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を吸収する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 7】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を吸収する請求項 3 6 6 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 8】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を反射する請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 6 9】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を反射する請求項 3 6 8 に記載のウェハ。

【請求項 3 7 0】

前記マイクロ粒子が 2 : 1 から 50 : 1 の長さとの幅の比を含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

【請求項 3 7 1】

前記マイクロ粒子が 50 μm 未満の長さとの幅を含む請求項 3 3 7 に記載のウェハ。

10

20

30

40

50

【請求項 372】

前記マイクロ粒子が 5 から 500 μm^3 の体積を含む請求項 337 に記載のウェハ。

【請求項 373】

介在する犠牲層が存在しない状態で基板に接続された、ガラスで構成される外面を有する複数のコード化されたマイクロ粒子を含む、リリースされていないコード化されたマイクロ粒子を含む基板。

【請求項 374】

前記基板が単結晶シリコンである請求項 373 に記載の基板。

【請求項 375】

前記マイクロ粒子が、幅と高さの比が 5 : 1 以下であるような、前記基板面に平行に測定した長さ及び幅と、前記基板面に垂直に測定した高さとを有する請求項 373 に記載の基板。

10

【請求項 376】

前記マイクロ粒子が中実の直方体の形状を有する請求項 373 に記載の基板。

【請求項 377】

複数のマイクロ粒子が前記シリコン・ウェハの上面上に形成され、前記マイクロ粒子が、前記シリコン・ウェハの前記上面に結合された二酸化シリコンの最下層と、二酸化シリコン材料の最上層と、前記二酸化シリコンの最上層及び最下層の間にある、検出可能な空間的二進コード又は非二進コードを形成する中間層とを含む請求項 373 に記載の基板。

【請求項 378】

20

各マイクロ粒子が、第 1 の材料の第 1 の部分と第 2 の材料の第 2 の部分から成る請求項 377 に記載の基板。

【請求項 379】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 373 に記載の基板。

【請求項 380】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 381】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 379 に記載の基板。

【請求項 382】

30

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 379 に記載の基板。

【請求項 383】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 384】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 379 に記載の基板。

【請求項 385】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 379 に記載の基板。

40

【請求項 386】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 387】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 388】

前記マイクロ粒子が、4 つの細長い辺と 2 つの端辺を有する六方形である請求項 379 に記載の基板。

【請求項 389】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記 4 つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 386 に記載の基板。

50

【請求項 390】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 391】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 388 に記載の基板。

【請求項 392】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 393】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 390 に記載の基板。

【請求項 394】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 379 に記載の基板。

【請求項 395】

透明性がより低い材料の 2 から 15 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 379 に記載の基板。

【請求項 396】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 393 に記載の基板。

【請求項 397】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 398】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 399】

各マイクロ粒子が、前記マイクロ粒子の集合体が発せられたときにバッファ中でブラウン運動を行うことができるようなサイズを有する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 400】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 379 に記載の基板。

【請求項 401】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 402】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 403】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 404】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から 10^6 / μm^2 の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 389 に記載の基板。

【請求項 405】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 402 に記載の基板。

【請求項 406】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分とその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 379 に記載の基板。

【請求項 407】

10

20

30

40

50

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を吸収する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 408】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を吸収する請求項 405 に記載の基板。

【請求項 409】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を反射する請求項 379 に記載の基板。

【請求項 410】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を反射する請求項 407 に記載の基板。

10

【請求項 411】

前記マイクロ粒子が 2 : 1 から 50 : 1 の長さとの幅の比を含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 412】

前記マイクロ粒子が 50 μm 未満の長さとの 10 μm 未満の幅を含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 413】

前記マイクロ粒子が 5 から 500 μm^3 の体積を含む請求項 379 に記載の基板。

【請求項 414】

前記中間層が、前記二酸化シリコン層とは異なる材料の、かつ前記二酸化シリコン層と光学的に区別することができる、パターニングされた光吸収層又は光反射層である請求項 379 に記載のウェハ。

20

【請求項 415】

前記パターニングされた中間層が、単一のマイクロ粒子内の一連の離散的なセグメントとしてパターニングされる請求項 379 に記載のウェハ。

【請求項 416】

前記中間層の前記離散的なセグメントが、隣接したセグメント間に二酸化シリコンを含む請求項 413 に記載のウェハ。

【請求項 417】

前記複数のマイクロ粒子が前記半導体ウェハの上面上に形成され、前記マイクロ粒子が、可視スペクトル内の光に対してほぼ透過性であり、前記半導体ウェハの前記上面に結合された第 1 の材料の最下層と、前記第 1 の材料と同じ又は異なる材料であり、前記可視スペクトル内の光に対してほぼ透過性である第 2 の材料の最上層とを含み、前記ほぼ透過性の最上層及び最下層の間に中間層をさらに含み、前記中間層が、検出可能な二進コード又は非二進コードを形成する空間的パターンを含む請求項 414 に記載のウェハ。

30

【請求項 418】

請求項 336 に記載の半導体ウェハを用意する工程と、

前記ウェハを、半導体ウェハ部分及びその上のマイクロ粒子をそれぞれ有する個々のダイに単一化する工程と、

40

前記個々のダイを個別の容器に入れる工程と、

前記付着されたマイクロ粒子をアンダーカットし、前記マイクロ粒子をそこから分離するように、各コンテナ内の前記半導体ウェハ部分をエッチングする工程とを含む、方法。

【請求項 419】

液体のエッチング剤が各コンテナ又はウェル内に供給される請求項 418 に記載の方法。

【請求項 420】

前記液体が TMAH である請求項 418 に記載の方法。

【請求項 421】

前記コンテナが多重ウェル・プレート内の複数のウェルである請求項 418 に記載の方

50

法。

【請求項 4 2 2】

ウェルの数が X X X X 個から Y Y Y Y 個である請求項 4 1 8 に記載の方法。

【請求項 4 2 3】

検出可能な二進コード又は非二進コードを形成する空間パターンを含む複数のマイクロ粒子が上面上に形成されたウェハを用意する工程と、

前記ウェハを個々のダイに単一化する工程と、

前記個々のダイをエッチング剤と共に個別のコンテナ内に用意する工程と、

前記マイクロ粒子を前記ウェハからリリースするように、前記複数のマイクロ粒子の下
の前記ウェハをエッチングする工程とを含む、方法。

10

【請求項 4 2 4】

前記ウェハがシリコン・ウェハであり、前記エッチング剤が、前記粒子を完全にアンダーカットしリリースする量で前記シリコン・ウェハの前記面をエッチングする請求項 4 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 2 5】

液体のエッチング剤が各コンテナ又はウェル内に供給される請求項 4 2 4 に記載の方法。

【請求項 4 2 6】

前記液体が T M A H である請求項 4 2 4 に記載の方法。

【請求項 4 2 7】

前記コンテナが多重ウェル・プレート内の複数のウェルである請求項 4 2 4 に記載の方法。

20

【請求項 4 2 8】

ウェルの数が X X X X 個から Y Y Y Y 個である請求項 4 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 2 9】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 2 0 個以上のダイを含む請求項 4 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 3 0】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 5 0 個以上のダイを含む請求項 4 2 3 に記載の方法。

30

【請求項 4 3 1】

各ダイが 1 0 0 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 3 0 に記載の方法。

【請求項 4 3 2】

各ダイが 1 0 0 0 0 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 3 1 に記載の方法。

【請求項 4 3 3】

前記ウェハが 5 0 0 , 0 0 0 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 3 1 に記載の方法。

【請求項 4 3 4】

前記ウェハが 1 , 0 0 0 , 0 0 0 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 3 1 に記載の方法。

【請求項 4 3 5】

同じダイの中の前記マイクロ粒子が同じコードを有する請求項 4 2 9 に記載の方法。

40

【請求項 4 3 6】

異なるダイの中の前記マイクロ粒子が異なるコードを有する請求項 4 2 9 に記載の方法。

【請求項 4 3 7】

前記異なるコードが予め定められたコード体系から得られる請求項 4 2 3 に記載の方法。

【請求項 4 3 8】

検出可能な二進コード又は非二進コードを形成する空間パターンを含む複数のマイクロ粒子がその上面上に形成された基板を用意する工程と、

50

前記基板をエッチング剤と共にコンテナ内に用意する工程と、

前記マイクロ粒子を前記ウェハからリリースするように、前記複数のマイクロ粒子の下の前記基板にバルク・エッチングを施す工程とを含む、方法。

【請求項 4 3 9】

シリコン・ウェハ又はシリコン・ウェハ部分を用意する工程と、

空間コードをそれぞれ含む複数のガラス・マイクロ粒子を前記シリコン・ウェハの上面上に形成する工程と、

前記マイクロ粒子をリリースするため、前記シリコン・ウェハ又はシリコン・ウェハ部分にバルク・エッチングを施す工程とをさらに含む請求項 4 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 4 0】

前記ウェハがシリコン・ウェハであり、前記エッチング剤が、前記粒子を完全にアンダーカットしリリースする量で前記シリコン・ウェハの前記面をエッチングする請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 1】

液体のエッチング剤が各コンテナ又はウェル内に供給される請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 2】

前記液体が TMAH である請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 3】

前記コンテナが多重ウェル・プレート内の複数のウェルである請求項 4 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 4 4】

ウェルの数が XXXX 個から YYYY 個である請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 5】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 20 個以上のダイを含む請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 6】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 50 個以上のダイを含む請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4 7】

各ダイが 100 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 4 8】

各ダイが 10000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 4 9】

前記ウェハが 500, 000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 5 0】

前記ウェハが 1, 000, 000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 4 9 に記載の方法。

【請求項 4 5 1】

同じダイの中の前記マイクロ粒子が同じコードを有する請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 5 2】

異なるダイの中の前記マイクロ粒子が異なるコードを有する請求項 4 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 5 3】

前記異なるコードが予め定められたコード体系から得られる請求項 4 5 2 に記載の方法。

【請求項 4 5 4】

a) ほぼ平面の基板を用意する工程と、

b) 複数のコード化されたマイクロ粒子を前記基板の前記面上に形成する工程と、

c) 前記マイクロ粒子をアンダーカットし、前記マイクロ粒子を前記基板から切離すよ

10

20

30

40

50

うに、バルク・エッチングによって前記コード化されたマイクロ粒子をリリースする工程とを含む、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 4 5 5】

前記ウェハがシリコン・ウェハであり、前記エッチング剤が、前記粒子を完全にアンダーカットしリリースする量で前記シリコン・ウェハの前記面をエッチングする請求項 4 5 4 に記載の方法。

【請求項 4 5 6】

液体のエッチング剤が各コンテナ又はウェル内に供給される請求項 4 5 5 に記載の方法。

【請求項 4 5 7】

前記液体が TMAH である請求項 4 5 6 に記載の方法。

【請求項 4 5 8】

前記コンテナが多重ウェル・プレート内の複数のウェルである請求項 4 5 6 に記載の方法。

【請求項 4 5 9】

ウェルの数が XXXX 個から YYYY 個である請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 0】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 20 個以上のダイを含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 1】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む 50 個以上のダイを含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 2】

各ダイが 100 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 3】

各ダイが 1000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 4】

前記ウェハが 500, 000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 5】

前記ウェハが 1, 000, 000 個以上のマイクロ粒子を含む請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 6】

同じダイの中の前記マイクロ粒子が同じコードを有する請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 7】

異なるダイの中の前記マイクロ粒子が異なるコードを有する請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 8】

前記異なるコードが予め定められたコード体系から得られる請求項 4 5 7 に記載の方法。

【請求項 4 6 9】

a) 基板を用意する工程と、
b) シリコンのシリコン犠牲層を前記基板上に堆積させる工程と、
c) 複数のコード化されたマイクロ粒子を前記シリコン犠牲層の前記面上に形成する工程と、

d) シリコンをエッチングするエッチング剤を用いて前記シリコン犠牲層をエッチングすることによって、前記コード化されたマイクロ粒子をリリースする工程とを含む、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 4 7 0】

前記ウェハがシリコン・ウェハであり、前記エッチング剤が、前記粒子を完全にアンダーカットしリリースする量で前記シリコン・ウェハの前記面にエッチングする請求項 4 6

10

20

30

40

50

9に記載の方法。

【請求項471】

液体のエッチング剤が各コンテナ又はウェル内に供給される請求項469に記載の方法。

【請求項472】

前記液体がTMAHである請求項469に記載の方法。

【請求項473】

前記コンテナが多重ウェル・プレート内の複数のウェルである請求項469に記載の方法。

【請求項474】

ウェルの数がXXXX個からYYYY個である請求項469に記載の方法。

【請求項475】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む20個以上のダイを含む請求項469に記載の方法。

【請求項476】

前記ウェハが、複数のマイクロ粒子をそれぞれ含む50個以上のダイを含む請求項469に記載の方法。

【請求項477】

各ダイが100個以上のマイクロ粒子を含む請求項476に記載の方法。

【請求項478】

各ダイが10000個以上のマイクロ粒子を含む請求項477に記載の方法。

【請求項479】

前記ウェハが500,000個以上のマイクロ粒子を含む請求項477に記載の方法。

【請求項480】

前記ウェハが1,000,000個以上のマイクロ粒子を含む請求項477に記載の方法。

【請求項481】

同じダイの中の前記マイクロ粒子が同じコードを有する請求項477に記載の方法。

【請求項482】

異なるダイの中の前記マイクロ粒子が異なるコードを有する請求項477に記載の方法。

【請求項483】

前記異なるコードが予め定められたコード体系から得られる請求項482に記載の方法。

【請求項484】

シリコン面であるウェハの上面に結合された、複数の二酸化シリコン・マイクロ粒子を含む、ウェハ。

【請求項485】

複数のマイクロ粒子をその上に有するシリコン・ウェハを用意する工程と、
前記マイクロ粒子をアンダーカットし、前記マイクロ粒子を前記シリコン・ウェハから切離すように、前記シリコン・ウェハにバルク・エッチングを施す工程とを含む、マイクロ粒子をリリースする方法。

【請求項486】

前記細長い本体の面に複数のへこみを有し、その前記面上又はその中に蛍光材料が供給された粒子本体を含み、

前記蛍光材料がより明るい部分及びより暗い部分の区域として現れ、

前記より明るい部分が前記細長い本体の前記面の前記へこみに相当し、

蛍光材料の前記より明るい部分及びより暗い部分に基づいて、空間コードを検出可能である、マイクロ粒子。

【請求項487】

前記粒子本体が、可視光又は近可視光に対して透過率がより高い材料の第１の部分と透過率がより低い材料の第２の部分とを含む請求項４８６に記載のマイクロ粒子。

【請求項４８８】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４８９】

前記二酸化シリコンが薄膜ＣＶＤ材料である請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９０】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９１】

前記透明性がより高い材料がハイブリッド有機／無機材料である請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９２】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９３】

前記透明性がより高い材料がセラミック化合物である請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９４】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の酸化物を含む請求項４９３に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９５】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の窒化物を含む請求項４９３に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９６】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の炭化物を含む請求項４９３に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９７】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項４９６に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９８】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能であり、前記光が、可視及び／又は近可視スペクトル内の波長を有する請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項４９９】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能であり、前記光が、前記可視及び／又は近可視スペクトル内の波長を有する請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項５００】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項５０１】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項５００に記載のマイクロ粒子。

【請求項５０２】

前記透明性がより低い材料が可視光又は近可視光のもとでは不透明材料である請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項５０３】

前記透明性がより低い材料が前周期遷移金属を含む請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

【請求項５０４】

前記透明性がより低い材料がメタロイドを含む請求項４８７に記載のマイクロ粒子。

10

20

30

40

50

【請求項 5 0 5】

前記透明性がより低い材料がアルミニウムを含む請求項 5 0 4 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 0 6】

前記透明性がより低い材料が、タングステン、クロム、チタン、タンタル、又はモリブデンを含む請求項 5 0 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 0 7】

前記透明性がより低い材料がシリコン又はアルミニウムを含み、前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 0 8】

4 つの細長い辺と 2 つの端辺を有する六方形を有する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。 10

【請求項 5 0 9】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記 4 つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 5 0 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 0】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 1】

前記生物材料が DNA のセグメントを含む請求項 5 1 0 に記載のマイクロ粒子。 20

【請求項 5 1 2】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 3】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 5 1 2 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 4】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 5 0 8 に記載のマイクロ粒子。 30

【請求項 5 1 5】

透明性がより低い材料の 2 から 1 5 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 6】

透明性がより低い材料の 3 から 1 0 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 5 1 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 7】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 5 1 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 1 8】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 5 1 5 に記載のマイクロ粒子。 40

【請求項 5 1 9】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 0】

透明性がより高い材料の前記部分及び透明性がより低い材料の前記部分が全て変化する長さを有する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 1】

バッファ中にあるときにブラウン運動を行うサイズを有する請求項 4 8 7 に記載のマイ 50

クロ粒子。

【請求項 5 2 2】

前記透明性がより高い材料が塗布材料で形成される請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 3】

前記透明性がより高い材料がシロキサン又はシルセスキオキサン材料である請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 4】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 5】

透明性がより低い材料の前記部分が前記透明性がより高い材料に完全に取り囲まれている請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 6】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 7】

多重ウェル・プレートのウェル内のバッファの中に配置される請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 8】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 2 9】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 0】

前記生物材料が RNA のセグメントを含む請求項 5 1 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 1】

前記生物材料が、 10^2 から $10^6 / \mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 5 1 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 2】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 5 3 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 3】

前記透明性がより低い材料が磁性材料を含む請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 4】

前記磁性材料が、ニッケル、コバルト、又は鉄を含む請求項 5 3 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 5】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分とその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 6】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を吸収する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 7】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を吸収する請求項 5 3 6 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 8】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 5

10

20

30

40

50

0 %を反射する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 3 9】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 8 0 %を反射する請求項 5 3 6 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 0】

長さとの比が 2 : 1 から 5 0 : 1 である請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 1】

長さとの比が 4 : 1 から 2 0 : 1 である請求項 5 4 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 2】

5 0 μm 未満の長さとの幅を有する請求項 5 1 7 に記載のマイクロ粒子。

10

【請求項 5 4 3】

2 5 μm 未満の長さとの幅を有する請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 4】

2 7 μm 未満の長さとの幅を有する請求項 5 4 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 5】

5 から 5 0 0 μm^3 の体積を有する請求項 4 8 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 6】

1 0 から 2 0 0 μm^3 の体積を有する請求項 5 4 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 7】

面上又は中に発光材料を有する粒子本体と、
コードを形成する発光の変化する空気密度を形成する複数の面形体とを含む、マイクロ粒子。

20

【請求項 5 4 8】

前記粒子本体が、可視光又は近可視光に対して透過率がより高い材料の第 1 の部分と透過率がより低い材料の第 2 の部分とを含む請求項 5 4 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 4 9】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 0】

前記二酸化シリコンが薄膜 C V D 材料である請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

30

【請求項 5 5 1】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 2】

前記透明性がより高い材料がハイブリッド有機／無機材料である請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 3】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 4】

前記透明性がより高い材料がセラミック化合物である請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

40

【請求項 5 5 5】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の酸化物を含む請求項 5 5 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 6】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の窒化物を含む請求項 5 5 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 7】

前記セラミック化合物がメタロイド又は前周期遷移金属の炭化物を含む請求項 5 5 3 に記載のマイクロ粒子。

50

【請求項 5 5 8】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 5 5 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 5 9】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能であり、前記光が、可視及び／又は近可視スペクトル内の波長を有する請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 0】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能であり、前記光が、前記可視及び／又は近可視スペクトル内の波長を有する請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

10

【請求項 5 6 1】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 2】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 5 6 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 3】

前記透明性がより低い材料が可視光又は近可視光のもとでは不透明材料である請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 4】

前記透明性がより低い材料が前周期遷移金属を含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

20

【請求項 5 6 5】

前記透明性がより低い材料がメタロイドを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 6】

前記透明性がより低い材料がアルミニウムを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 7】

前記透明性がより低い材料が、タングステン、クロム、チタン、タンタル、又はモリブデンを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 6 8】

前記透明性がより低い材料がシリコン又はアルミニウムを含み、前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

30

【請求項 5 6 9】

4つの細長い辺と2つの端辺を有する六方形を有する請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 7 0】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記4つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 5 6 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 7 1】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

40

【請求項 5 7 2】

前記生物材料がDNAのセグメントを含む請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 7 3】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した2つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 5 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 5 7 4】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 5 7 3 に記載のマイクロ粒子。

50

【請求項 575】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 573 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 576】

透明性がより低い材料の 2 から 15 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 577】

透明性がより低い材料の 3 から 10 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 545 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 578】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 545 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 579】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 545 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 580】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 581】

透明性がより高い材料の前記部分及び透明性がより低い材料の前記部分が全て変化する長さを有する請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 582】

バッファ中にあるときにブラウン運動を行うサイズを有する請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 583】

前記透明性がより高い材料が塗布材料で形成される請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 584】

前記透明性がより高い材料がシロキサン又はシルセスキオキサン材料である請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 585】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 586】

透明性がより低い材料の前記部分が前記透明性がより高い材料に完全に取り囲まれている請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 587】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 588】

多重ウェル・プレートのウェル内のバッファの中に配置される請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 589】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 590】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 591】

前記生物材料が RNA のセグメントを含む請求項 548 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 592】

10

20

30

40

50

前記生物材料が、 10^2 から $10^6/\mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化されたDNA又はRNAプローブである請求項591に記載のマイクロ粒子。

【請求項593】

前記DNA又はRNAプローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項591に記載のマイクロ粒子。

【請求項594】

前記透明性がより低い材料が磁性材料を含む請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項595】

前記磁性材料が、ニッケル、コバルト、又は鉄を含む請求項594に記載のマイクロ粒子。 10

【請求項596】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分がその間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項597】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも50%を吸収する請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項598】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも80%を吸収する請求項597に記載のマイクロ粒子。 20

【請求項599】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも50%を反射する請求項598に記載のマイクロ粒子。

【請求項600】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも80%を反射する請求項597に記載のマイクロ粒子。

【請求項601】

長さとの比が2:1から50:1である請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項602】

長さとの比が4:1から20:1である請求項601に記載のマイクロ粒子。 30

【請求項603】

50 μm 未満の長さとの幅を有する請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項604】

25 μm 未満の長さとの幅を有する請求項603に記載のマイクロ粒子。

【請求項605】

27 μm 未満の長さとの幅を有する請求項603に記載のマイクロ粒子。

【請求項606】

5から500 μm^3 の体積を有する請求項548に記載のマイクロ粒子。

【請求項607】

10から200 μm^3 の体積を有する請求項548に記載のマイクロ粒子。 40

【請求項608】

内側層及び外側層を有する細長い本体を含み、前記外側層が、前記外側層内に埋め込まれた発光材料を含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項609】

前記第1の材料が、前記第2の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項608に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項610】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項609に記載のコード化されたマイクロ粒子。 50

【請求項 6 1 1】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 2】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 3】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 4】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 5】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 6】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 7】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 8】

4 つの細長い辺と 2 つの端辺を有する六方形を有する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 1 9】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記 4 つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 6 1 8 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 0】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 1】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 6 2 0 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 2】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 3】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 6 2 2 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 4】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 5】

透明性がより低い材料の 2 から 15 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 6】

10

20

30

40

50

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 6 1 5 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 7】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 6 1 5 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 8】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 2 9】

バッファ中にあるときにブラウン運動を行うサイズを有する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 0】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 1】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 2】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 3】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 4】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から 10^6 / μm^2 の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動態化された DNA 又は RNA プローブである請求項 6 2 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 5】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 6】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分がある間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 7】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を吸収する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 8】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を吸収する請求項 6 3 7 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 3 9】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を反射する請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 4 0】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を反射する請求項 6 3 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 4 1】

長さとの比が 2 : 1 から 50 : 1 である請求項 6 0 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 4 2】

10

20

30

40

50

50 μm 未満の長さとし、10 μm 未満の幅を有する請求項609に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項643】

5から500 μm^3 の体積を有する請求項609に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項644】

空間的に定められたコードと、層内に蛍光分子を含む二酸化シリコンの外面層とを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項645】

前記外面層がストロバー（Strober）成長した蛍光層である請求項644に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項646】

前記第1の材料が、前記第2の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項644に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項647】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項648】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項649】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項650】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項651】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項652】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項653】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項654】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項655】

4つの細長い辺と2つの端辺を有する六方形を有する請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項656】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記4つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項655に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項657】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項646に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項658】

10

20

30

40

50

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 6 5 7 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 5 9】

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した 2 つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 0】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2 つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 6 5 9 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

10

【請求項 6 6 1】

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 2】

透明性がより低い材料の 2 から 1 5 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 3】

透明性がより低い材料の 4 から 8 個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 6 6 2 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

20

【請求項 6 6 4】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 6 6 2 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 5】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 6】

バフファ中にあるときにブラウン運動を行うサイズを有する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 7】

30

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 8】

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 6 9】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 0】

40

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 1】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から $10^6 / \mu m^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動化された DNA 又は RNA プローブである請求項 6 7 0 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 2】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 6 7 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 3】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分が

50

その間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 4】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を吸収する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 5】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を吸収する請求項 6 7 4 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 6】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50 % を反射する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

10

【請求項 6 7 7】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80 % を反射する請求項 6 7 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 8】

前記長さとの比が 2 : 1 から 50 : 1 である請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 7 9】

50 μm 未満の長さとの幅を有する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

20

【請求項 6 8 0】

5 から 500 μm^3 の体積を有する請求項 6 4 6 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 1】

内側層及び外側層を有する細長い本体を含み、前記外側層が、前記外側層の前記面に直接結合された発光材料を含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 2】

前記外面層がストロバー成長した蛍光層である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 3】

前記第 1 の材料が、前記第 2 の材料よりも可視光又は近可視光に対して透過性である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

30

【請求項 6 8 4】

前記透明性がより高い材料が二酸化シリコンを含む請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 5】

前記透明性がより高い材料が有機材料である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 6】

前記透明性がより高い材料が前記透明性がより低い材料の前記部分を完全に封じ込めている請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

40

【請求項 6 8 7】

前記透明性がより高い材料が窒化シリコンを含む請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 8】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子からの反射光のもとで検出可能である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 6 8 9】

前記検出可能なコードが前記マイクロ粒子を通り抜ける透過光のもとで検出可能である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

50

【請求項 690】

前記透明性がより低い材料がシリコンを含む請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 691】

前記透明性がより低い材料が非晶質シリコンを含む請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 692】

4つの細長い辺と2つの端辺を有する六方形を有する請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 693】

10

前記コード化されたマイクロ粒子の前記コードが、前記4つの細長い辺のどれの上に前記バーコードが配置されているかに関わらず検出可能である請求項 692 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 694】

前記透明性がより高い材料の面上で不動化された生物材料をさらに含む請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 695】

前記生物材料がヌクレオシドの少なくとも一部分を含む請求項 694 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 696】

20

透明性がより低い部分がそれぞれ、隣接した2つの透明性がより低い部分の間における透明性がより高い材料の中間部分を規定する請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 697】

透明性がより高い材料の前記中間部分が、2つの隣接した透明性がより低い部分の間の距離として定められる長さを有し、前記中間部分の前記長さが、前記コード化されたマイクロ粒子内における場所に関わらずほぼ同じである請求項 696 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 698】

30

前記コード化されたマイクロ粒子の前記長さに直交して取った断面がほぼ正方形である請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 699】

透明性がより低い材料の2から15個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 700】

透明性がより低い材料の4から8個の部分が前記コード化されたマイクロ粒子内に設けられる請求項 699 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 701】

透明性がより低い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 699 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

40

【請求項 702】

透明性がより低い材料の前記部分がほぼ同じ長さを有するが、透明性がより高い材料の前記部分が変化する長さを有する請求項 683 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 703】

バッファ中にあるときにブラウン運動を行うサイズを有する請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 704】

前記透明性がより高い材料が、シリコン、ボロン、及び／又はリンを含むガラス材料である請求項 681 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 705】

50

前記透明性がより低い材料がポリシリコンを含む請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 0 6】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が非二進コードを形成する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 0 7】

前記透明性がより高い材料とより低い材料の交互になった部分が二進コードを形成する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 0 8】

前記ヌクレオシドが、 10^2 から $10^6/\mu\text{m}^2$ の密度で前記コード化されたマイクロ粒子の面上で不動態化された DNA 又は RNA プローブである請求項 7 0 7 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

10

【請求項 7 0 9】

前記 DNA 又は RNA プローブが、蛍光タグを有する試料からの相補的な生化学材料の少なくとも一部分に結合される請求項 7 0 8 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 0】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、前記透明性がより高い材料の隣接した部分がある間に配置された離散的な個別のセグメントである請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 1】

20

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50% を吸収する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 2】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80% を吸収する請求項 7 1 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 3】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 50% を反射する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 4】

前記透明性がより低い材料の前記部分が、その上に入射する前記可視光の少なくとも 80% を反射する請求項 6 9 3 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

30

【請求項 7 1 5】

長さとの比が 2 : 1 から 50 : 1 である請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 6】

50 μm 未満の長さとの 10 μm 未満の幅を有する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 7】

5 から 500 μm^3 の体積を有する請求項 6 8 1 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

40

【請求項 7 1 8】

複数の面のへこみを有する本体を含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 1 9】

前記マイクロ粒子の面上に蛍光材料を含む請求項 7 1 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 2 0】

前記マイクロ粒子の面内に埋め込まれた蛍光材料を含む請求項 7 1 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 2 1】

前記蛍光材料が前記面上に連続的な膜を形成する請求項 7 1 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 2 2】

50

層内に複数のへこみを有する層を基板上に形成する工程と、
前記へこみの深さを制御するため、前記層を白金めっきする工程と、
個々のマイクロ粒子を特定するように前記層をパターニングする工程と、
前記マイクロ粒子を前記基板から分離するため、前記マイクロ粒子をリリースする工程
とを含む、マイクロ粒子を製造する方法。

【請求項 7 2 3】

蛍光材料の中に含む外側シェルを有する本体を含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 7 2 4】

蛍光材料の中に有する層を基板上に形成する工程と、
個々のマイクロ粒子を特定するように前記層をパターニングする工程と、
前記マイクロ粒子を前記基板から分離するため、前記マイクロ粒子をリリースする工程
とを含む、マイクロ粒子を製造する方法。

10

【請求項 7 2 5】

1 回目にマイクロ粒子のための第 1 のパターンを印刷する工程と、
前記 1 回目の後の 2 回目に、前記第 1 のパターンにほぼ直交する前記マイクロ粒子のた
めの第 2 のパターンを印刷する工程とを含む、マイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 7 2 6】

1 回目に第 1 のパターンをフォトレジスト上に露光する工程と、
2 回目に第 2 のパターンを前記フォトレジスト上に露光する工程とを含み、
前記第 1 及び第 2 のパターンがほぼ直交し、単一のマイクロ粒子を少なくとも部分的に
特定する、マイクロ粒子を形成する方法。

20

【請求項 7 2 7】

少なくとも 100 個の異なるコードを表す一組のマイクロ粒子であって、前記マイクロ
粒子が一行に並んだ離間したコード化要素を有する細長いマイクロ粒子であり、前記コー
ド化要素が、可変長を有すると共に、ほぼ同じスペース長をそれぞれ有するスペースを間
に有して離間している、一組のマイクロ粒子。

【請求項 7 2 8】

前記異なるコードが、コード化要素間の前記スペースの前記長さとは無関係に検出可能
である請求項 7 2 7 に記載の一組のマイクロ粒子。

【請求項 7 2 9】

前記スペースの前記スペース長が 1.5 ミクロン以下である請求項 7 2 8 に記載の一組
のマイクロ粒子。

30

【請求項 7 3 0】

前記スペースの前記スペース長が 1.0 ミクロン以下である請求項 7 2 9 に記載の一組
のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 1】

前記スペースの前記スペース長が 0.5 ミクロン以下である請求項 7 3 0 に記載の一組
のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 2】

少なくとも 100 個の異なるコードを表す複数のマイクロ粒子を含むキットであって、
前記マイクロ粒子が一行に並んだ離間したコード化要素を有する細長いマイクロ粒子であ
り、前記コード化要素が、可変長を有すると共に、ほぼ同じスペース長をそれぞれ有する
スペースを間に有して離間し、異なるコードがそれらに結合された異なるプローブを有す
る、キット。

40

【請求項 7 3 3】

一行に並んだコード化要素を有する細長い本体を含むマイクロ粒子であって、前記コー
ド化要素が、可変長を有すると共に、ほぼ同じであって 1.5 ミクロン以下のスペース長
をそれぞれ有するスペースを間に有して離間している、マイクロ粒子。

【請求項 7 3 4】

前記スペースの前記スペース長が 1.0 ミクロン以下である請求項 7 3 3 に記載のマイ

50

クロ粒子。

【請求項 7 3 5】

前記スペースの前記スペース長が 0.5 ミクロン以下である請求項 7 3 4 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 6】

前記本体がガラスで構成される請求項 7 3 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 7】

前記コード化要素が可視スペクトル内の光に対して不透明である請求項 7 3 6 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 8】

前記コード化要素が、その上に入射する可視光の少なくとも 50 % を反射する請求項 7 3 7 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 3 9】

前記コード化要素が、入射する前記可視光の少なくとも 75 % を反射する請求項 7 3 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 0】

その外面に付着されたプローブを含む請求項 7 3 9 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 1】

前記マイクロ粒子の総体積が $1000 \mu\text{m}^3$ である請求項 7 4 0 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 2】

前記マイクロ粒子の最大長さが $50 \mu\text{m}$ である請求項 7 4 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 3】

前記マイクロ粒子の最大長さが $25 \mu\text{m}$ である請求項 7 4 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 4】

前記マイクロ粒子の最大長さが $15 \mu\text{m}$ である請求項 7 4 1 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 5】

前記コード化要素が、光透過性材料によって完全に分離された離散的な要素である請求項 7 3 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 6】

前記光透過性材料がガラスである請求項 7 4 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 7】

各コード化要素が全ての側面でガラスによって完全に取り囲まれている請求項 7 4 5 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 8】

前記マイクロ粒子の前記コードが、コード化要素間の各スペースの予め定められた位置によって決定される請求項 7 3 3 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 4 9】

前記予め定められた位置が中央位置である請求項 7 4 8 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 7 5 0】

少なくとも 100 個の異なるコードを表す一組のマイクロ粒子であって、前記マイクロ粒子が一行に並んだ離間したコード化要素を有する細長いマイクロ粒子であり、前記コード化要素が、可変長を有すると共に、それらの間にスペースを有して離間した、マイクロ粒子を用意する工程と、

前記一行に並んだ前記コード化要素によって特定されるコードを決定するため、各マイクロ粒子における前記スペースの長さではなく位置を決定する工程と、

各マイクロ粒子に対する前記スペースの前記決定された位置に基づいて、異なるコードを有するマイクロ粒子を区別する工程とを含む、マイクロ粒子を区別する方法。

【請求項 7 5 1】

各マイクロ粒子における前記スペースがほぼ同じ長さを有する請求項 7 5 0 に記載の方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 7 5 2】

第 1 のコード化されたマイクロ粒子が前記スペースのある位置にある前記第 2 のマイクロ粒子とは異なり、前記差異が前記コード化要素の最小長さよりも小さい請求項 7 5 0 に記載の方法。

【請求項 7 5 3】

前記スペースの前記長さがコード化要素の最小長さにほぼ等しいかそれよりも小さい請求項 7 5 0 に記載の方法。

【請求項 7 5 4】

a) 組み合わせて個々のマイクロ粒子に対するコードを形成するコード要素を用意する工程と、

b) 予め定められたスペースで互いから離間したコード要素とを含み、

c) 前記予め定められたスペースが前記コード要素の前記長さよりも小さい、コード化されたマイクロ粒子のためのコード体系。

【請求項 7 5 5】

面上に配列されたマイクロ粒子の層であって、単分子層の外に配置されるか、又は外に延びるマイクロ粒子がほぼないようにして、ほぼ単分子層の形で配置されたマイクロ粒子の層を含み、

前記マイクロ粒子が空間コードを含み、

前記マイクロ粒子はその上にプローブを含み、

前記マイクロ粒子が前記面の第 1 の区域上に配置され、前記単分子層内の前記マイクロ粒子が前記面の前記第 1 の区域の 6 0 % 超過を覆う、複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 5 6】

前記単分子層内の前記マイクロ粒子が前記面の前記第 1 の区域の 7 0 % 超過を覆う請求項 7 5 5 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 5 7】

前記単分子層内の前記マイクロ粒子が前記面の前記第 1 の区域の 8 0 % 超過を覆う請求項 7 5 6 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 5 8】

前記マイクロ粒子の 1 0 % 未満が、前記単分子層の外に配置されるか、又は外に延びる請求項 7 5 5 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 5 9】

前記第 1 の区域内の前記マイクロ粒子全体の少なくとも 7 0 % が検出可能なコードを有する請求項 7 5 5 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 0】

前記第 1 の区域内の前記マイクロ粒子全体の少なくとも 8 0 % が検出可能なコードを有する請求項 7 5 9 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 1】

前記粒子が液体中の前記単分子層内に配置される請求項 7 5 5 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 2】

前記粒子がイメージング・バッファ中に配置される請求項 7 6 1 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 3】

前記マイクロ粒子の 5 % 未満が前記単分子層の外に配置されるか、又は外に延びる請求項 7 5 8 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 4】

前記単分子層内の前記粒子を少なくとも 9 5 % の識別率で識別することができる請求項 7 6 3 に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項 7 6 5】

10

20

30

40

50

前記マイクロ粒子が、1平方ミリメートル当たり少なくともマイクロ粒子2,000個の密度で前記単分子層内に配置される請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項766】

前記マイクロ粒子が、1平方ミリメートル当たり少なくともマイクロ粒子5,000個の密度で前記単分子層内に配置される請求項765に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項767】

各マイクロ粒子がガラスで構成される請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項768】

各マイクロ粒子が50 μmの最大寸法を有する請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項769】

透明材料によって完全に封じ込められた個別のセグメントをさらに含む請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項770】

それに結合された生化学部分をさらに含む請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項771】

それに結合されたDNAをさらに含む請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項772】

前記マイクロ粒子がバッファ溶液中に配置され、ブラウン運動を行う請求項755に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項773】

面上に配列されたマイクロ粒子の層であって、単分子層の外に配置されるか、又は外に延びるマイクロ粒子がほばないようにして、ほば単分子層の形で配置されたマイクロ粒子の層を含み、

前記マイクロ粒子が空間コードを含み、

前記マイクロ粒子がその上にプローブを含み、

前記マイクロ粒子が前記面の第1の区域上に配置され、1平方ミリメートル当たり少なくともマイクロ粒子2,000個の密度で前記単分子層内に配置される、複数のマイクロ粒子。

【請求項774】

前記マイクロ粒子が、1平方ミリメートル当たり少なくともマイクロ粒子5,000個の密度で単分子層内に配置される請求項773に記載の複数のマイクロ粒子。

【請求項775】

線又は面内を延びる空間コードをそれぞれ含む、一組のマイクロ粒子を用意する工程を含み、

前記マイクロ粒子の層が分析の間コンテナの内面上に配列され、前記マイクロ粒子が前記内面上にほば単分子層の形で配置され、

前記個々のマイクロ粒子の前記空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程をさらに含み、

前記マイクロ粒子が、前記コンテナの前記内面の第1の区域上に配置され、1平方ミリメートル当たり少なくともマイクロ粒子2,000個の密度でほば単分子層の形で配置される、マイクロ粒子のコードを検出する方法。

【請求項776】

前記マイクロ粒子上のプローブと対応する被検体との結合を生じさせるため、前記一組のマイクロ粒子を第1の試験流体と混合する工程と、

前記マイクロ粒子を第2の洗浄流体で洗浄する工程と、
検出の間前記粒子がその中に配置される第3の分析流体を追加する工程とをさらに含む請求項775に記載の方法。

【請求項777】

10

20

30

40

50

前記第 1 の区域内の前記マイクロ粒子の少なくとも 90 % が前記単分子層内に配置される請求項 775 に記載の方法。

【請求項 778】

前記第 1 の区域内の前記マイクロ粒子の少なくとも 95 % が前記単分子層内に配置される請求項 777 に記載の方法。

【請求項 779】

前記第 1 の区域内の前記マイクロ粒子の少なくとも 99 % が前記単分子層内に配置される請求項 778 に記載の方法。

【請求項 780】

前記コンテナ内の前記マイクロ粒子を分析する間、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行う請求項 775 に記載の方法。

10

【請求項 781】

前記第 2 及び第 3 の流体が同じである請求項 776 に記載の方法。

【請求項 782】

前記第 1 及び第 2 の流体が同じである請求項 776 に記載の方法。

【請求項 783】

前記第 1、第 2、及び第 3 の流体が同じである請求項 776 に記載の方法。

【請求項 784】

線又は面内を延びる空間コードをそれぞれ含む、一組のマイクロ粒子を用意する工程を含み、

20

前記マイクロ粒子の層が分析の間コンテナの内面上に配列され、前記マイクロ粒子が前記内面上にほぼ単分子層の形で配置され、

前記個々のマイクロ粒子の前記空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程をさらに含み、

前記マイクロ粒子が、前記面の第 1 の区域上に配置され、前記単分子層内の前記マイクロ粒子が、前記面の前記第 1 の区域の 60 % 超過を覆う、マイクロ粒子のコードを検出する方法。

【請求項 785】

前記粒子がイメージ・バッファ中にある請求項 755 に記載のマイクロ粒子。

30

【請求項 786】

複数のマイクロ粒子及び液体をその中に含むウェルを含み、

前記マイクロ粒子が細長く、1 平方ミリメートル当たり粒子 2000 個の密度で二次元層の形で配列され、

電磁放射源と、

前記マイクロ粒子上に入射した後の電磁放射を検出するように配置された検出器とをさらに含む、イメージング・システム。

【請求項 787】

複数のマイクロ粒子及び液体をその中に含むウェルを含み、

前記マイクロ粒子が前記ウェルの面の第 1 の区域上に配置され、単分子層の形の前記マイクロ粒子が前記面の前記第 1 の区域の 60 % 超過を覆い、

40

電磁放射源と、

前記マイクロ粒子上に入射した後の電磁放射を検出するように配置された検出器とをさらに含む、イメージング・システム。

【請求項 788】

可視スペクトル内の光で照明されたときに検出可能なコードを含む細長い構成要素を含む、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子であって、5 から $500 \mu\text{m}^3$ の体積を有し、液体中に配置されると共に、前記液体中でブラウン運動を行う、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 789】

50

光が前記マイクロ粒子上に方向付けられ、画像取得デバイスに反射されるとき、前記コードが検出可能である請求項 788 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 790】

光が前記マイクロ粒子上に方向付けられ、前記マイクロ粒子を通り抜けて画像取得デバイスに達するとき、前記コードが検出可能である請求項 788 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 791】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 788 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 792】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 791 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 793】

可視スペクトル内の光で照明されたときに検出可能な空間コードを含む細長い構成要素を含む、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子であって、液体中に配置されると共に、前記液体中でブラウン運動を行う、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 794】

光が前記マイクロ粒子上に方向付けられ、画像取得デバイスに反射されるとき、前記コードが検出可能である請求項 793 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 795】

光が前記マイクロ粒子上に方向付けられ、前記マイクロ粒子を通り抜けて画像取得デバイスに達するとき、前記コードが検出可能である請求項 793 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 796】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 793 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 797】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 796 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 798】

5 から $500 \mu\text{m}^3$ の体積を有する請求項 793 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 799】

前記粒子が細長く、前記マイクロ粒子の幅の少なくとも 2 倍及び高さの少なくとも 2 倍の長さを有する請求項 793 に記載のマイクロ粒子。

【請求項 800】

可視スペクトル内の光で照明されたときに検出可能なコードを含む細長い構成要素をそれぞれ含む、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子の単分子層であって、前記マイクロ粒子が、液体中にはば単分子層の形で配置され、前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい、単分子層。

【請求項 801】

線又は面内を延びる空間コードをそれぞれ含む、一組の生化学的に活性のマイクロ粒子を用意する工程を含み、

前記マイクロ粒子の層が分析の間コンテナの内面上に配列され、前記マイクロ粒子が前記内面上にはば単分子層の形で配置され、

前記個々のマイクロ粒子の前記空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程をさらに含み、

前記マイクロ粒子が、前記空間コードを検出する間ブラウン運動を行う、試験流体中の被検体を検出する方法。

【請求項 802】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 801 に記載の方法。

【請求項 803】

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい請求項 802 に記載の方法。

【請求項 804】

線又は面内を延びる空間コードをそれぞれ含む一組のマイクロ粒子を用意する工程を含み、

前記マイクロ粒子の層が分析の間コンテナの内面上に配列され、前記マイクロ粒子が前記内面上にほぼ単分子層の形で配置され、

前記個々のマイクロ粒子の前記空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程をさらに含み、

前記マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ よりも大きい、試験流体中の被検体を検出する方法。

【請求項 805】

前記一組のマイクロ粒子を第 1 の試験流体と混合する工程と、

前記マイクロ粒子を第 2 の流体で洗浄する工程と、

検出の間前記粒子がその中に配置される第 3 の分析流体を追加する工程とをさらに含む請求項 804 に記載の方法。

【請求項 806】

前記第 1、第 2、及び第 3 の流体の少なくとも 2 つが同じである請求項 805 に記載の方法。

【請求項 807】

生物材料をその上に有する前記細長いマイクロバーコードを用意する工程と、

前記マイクロバーコードの少なくともいくつかの上の前記生物材料を試験試料内の対応する生物被検体に結合させる工程と、

前記細長いマイクロバーコードを試験流体中に供給する工程と、

前記個々のマイクロ粒子の空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程と、

前記試験試料内に特定の対応する被検体が存在することを決定するため、前記マイクロ粒子の少なくともいくつかにおける蛍光を検出する工程とを含み、

前記空間コードを検出する間、また前記蛍光を検出する間、前記マイクロ粒子が前記試験流体中でブラウン運動を行う、細長いマイクロバーコードの空間コードを検出する方法。

【請求項 808】

液体と、

前記液体中の、生化学的に活性の材料を面上に有する複数のマイクロバーコードとを含み、

前記マイクロバーコードが可視光のもとで検出可能な空間コードを有し、

前記マイクロバーコードが前記液体中でブラウン運動を行う、コンテナ。

【請求項 809】

前記生化学的に活性の材料が蛍光タグを付けられた補体に結合された生体材料である請求項 808 に記載のコンテナ。

【請求項 810】

前記マイクロバーコードがガラスの外側層を含む請求項 808 に記載のコンテナ。

【請求項 811】

前記マイクロバーコードが、前記ガラス内に反射性又は吸収性のコード・セグメントを含む請求項 810 に記載のコンテナ。

【請求項 812】

単一のマイクロバーコードの体積が $1000 \mu\text{m}^3$ 以下である請求項 808 に記載のコンテナ。

【請求項 813】

前記コンテナが多重ウェル・プレートである請求項 808 に記載のコンテナ。

【請求項 814】

前記多重ウェル・プレートが 96 ウェル・プレートである請求項 813 に記載のコンテナ。

【請求項 815】

前記可視スペクトル内の光で照明されたときに検出可能なコードを含む細長い構成要素を含む、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子であって、5 から $500 \mu\text{m}^3$ の体積を有し、液体中に配置されると共に、前記液体中でブラウン運動を行う、コード化されたマイクロ粒子。

10

【請求項 816】

前記可視スペクトル内の光で照明されたときに検出可能な空間コードを含む細長い構成要素を含む、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子であって、液体中に配置されると共に、前記液体中でブラウン運動を行う、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 817】

同じコードを有するが、他のウェル内の粒子のコードとは異なるコードを有する粒子群をそれぞれ含む、少なくとも 200 個のウェルを含み、

各ウェルが少なくとも 100, 000 個の粒子を含む、一組の粒子。

20

【請求項 818】

少なくとも 500 個のウェルが設けられる請求項 817 に記載の一組の粒子。

【請求項 819】

各ウェル内に少なくとも 500, 000 個の粒子が供給される請求項 818 に記載の一組の粒子。

【請求項 820】

少なくとも 1000 個のウェルが設けられる請求項 818 に記載の一組の粒子。

【請求項 821】

各ウェル内に少なくとも 100 万個の粒子が供給される請求項 819 に記載の一組の粒子。

30

【請求項 822】

複数の 96 ウェル・プレート内に少なくとも 200 個のウェルが設けられる請求項 819 に記載の一組の粒子。

【請求項 823】

対応するウェハ区域内のウェハ上に形成された少なくとも 200 個の異なる粒子コードを含み、各ウェハが、各区域内に形成された異なる粒子コードを有する複数のウェハ区域を有し、各ウェハ区域が少なくとも 100, 000 個の粒子を含む、リリースされていない粒子をその上に有する一組のウェハ。

【請求項 824】

他のウェハ区域に比べて固有のコードを有する粒子をそれぞれ有する、少なくとも 500 個のウェハ区域が設けられる請求項 823 に記載の一組のウェハ。

40

【請求項 825】

前記ウェハ上に少なくとも 500, 000 個の粒子が供給される請求項 824 に記載の一組のウェハ。

【請求項 826】

少なくとも 1000 個のウェハ区域が設けられる請求項 824 に記載の一組のウェハ。

【請求項 827】

各ウェハ区域内に少なくとも 100 万個の粒子が供給される請求項 825 に記載の一組のウェハ。

【請求項 828】

50

コンテナと、
前記コンテナ内のバッファと、
前記バッファ中の複数のマイクロ粒子とを含み、
異なる空間コードがマイクロ粒子の異なる群内に供給され、
同じ空間コードを共有するマイクロ粒子の各群が、同じオリゴヌクレオチドであるが、
他の群のものとは異なるオリゴヌクレオチドをそれらの面上に有し、
群内で同じ空間コードを共有する群の数が少なくとも1、200個であり、各群が他の群とは異なる空間コードを有する、キット。

【請求項829】

少なくとも1つの群の前記マイクロ粒子上の前記オリゴヌクレオチドに対する相補的な材料を検出するため、試料を試験するための指示をさらに含む請求項828に記載のキット。

10

【請求項830】

請求項817に記載の前記一組のマイクロ粒子を用意する工程と、
異なるプローブが同じコードを有するマイクロ粒子の各群に対して役立つ、前記マイクロ粒子上のプローブを不動化する工程と、
マイクロ粒子の組み合わされたプールを形成するため、前記マイクロ粒子を共に混合する工程と、
前記プールの部分標本を取り、個別のコンテナに入れる工程とを含む、方法。

【請求項831】

特定部分が存在するかしないか試料を試験するため、前記部分標本を使用する工程をさらに含む請求項830に記載の方法。

20

【請求項832】

前記試料を試験する前記工程が、95%以上の識別率で前記マイクロ粒子を識別する工程をさらに含む請求項831に記載の方法。

【請求項833】

請求項823に記載の前記一組のウェハを用意する工程と、
前記ウェハを個々のウェハ区域に単一化する工程と、
各ウェハ区域をウェルに入れる工程と、
前記マイクロ粒子をリリースするように、各ウェル内でエッチング剤を用いて前記マイクロ粒子をエッチングする工程とを含む、方法。

30

【請求項834】

異なるプローブが同じコードを有するマイクロ粒子の各群に対して役立つ、前記マイクロ粒子上のプローブを不動化する工程をさらに含む請求項833に記載の方法。

【請求項835】

マイクロ粒子の組み合わされたプールを形成するため、前記リリースされたマイクロ粒子を共に混合する工程と、
前記プールの部分標本を取り、個別のコンテナに入れる工程とをさらに含む請求項833に記載の方法。

【請求項836】

a) 軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを含む第1の材料と、
b) 前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを含み、
c) それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能である、全方向でコード化された粒子。

【請求項837】

a) 基板を用意する工程と、
b) 軸線が前記基板に平行であるようにして、前記軸線に沿って定められたコードを備えた粒子を形成する工程とを含み、
c) それにより、前記セグメントによって前記コードが形成され、前記コードが前記軸

40

50

線に垂直な全ての方向から検出可能である方法によって作成された、全方向でコード化された粒子。

【請求項 8 3 8】

- a) 粒子領域ごとに単一のコード要素を特定するレチクル・フィールドを設ける工程と、
- b) 第 1 のコード要素に前記レチクル・フィールドを印刷する工程と、
- c) 前記第 1 のコード要素及び次のコード要素が同じ粒子領域内にあるようにして、次のコード要素に前記レチクル・フィールドを印刷する工程と、
- d) 工程 c を少なくとも一度実行する工程とを含み、
- e) それにより、前記粒子上のコードが設けられる、粒子を識別するコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いてコード化された粒子を形成する方法。

【請求項 8 3 9】

第 1 の材料、第 2 の材料、セグメントによって形成されるコード、全方向から検出可能なコードを含む、全方向でコード化された粒子であって、

- a) 集合体内の少なくとも 2 つの粒子のためのコードが異なる、多数のマイクロ粒子の集合体を含み、
- b) 粒子が、前記コードのフォトリソグラフィ印刷を含む方法によって作成され、
- c) フォトリソグラフィ印刷が、単一のコード要素の繰返し印刷によって前記コード全体を印刷することを含み、
- d) 第 1 の材料が不透明又は反射性であり、
- e) 第 1 の材料がシリコンであり、
- f) 第 1 の材料が金属であり、
- g) 第 2 の材料が透明であり、
- h) 第 2 の材料が、二酸化シリコン、シリカ、又は不純物でドーブされたガラスなどのガラス、あるいは窒化シリコンであり、
- i) 粒子が、2 : 1 以上のアスペクト比を有する棒形状を有し、かつ前記最長軸線に垂直なほぼ正方形の断面を有し、
- j) 粒子が 50 μm 未満の長さを有し、
- k) 粒子が 5 μm 未満の幅を有し、
- l) 粒子が第 1 及び第 2 の材料に加えて 1 つ又は複数の材料を含有し、
- m) 粒子が磁性材料を含有し、
- h) コード体系が前記コード要素の寸法未満の離散化を使用し、
- o) コード体系が固定幅のコード要素を使用し、
- p) 粒子が前記面に付着された生体分子を有し、
- q) バイオアッセイ・システムが請求項 8 1 7 による粒子を含む、全方向でコード化された粒子。

【請求項 8 4 0】

基板に平行な軸線に沿ってコードが形成された、全方向でコード化された粒子。

【請求項 8 4 1】

レチクル・フィールドを有する連続的なコード要素を印刷することを含む、コード化された粒子を形成する方法であって、

- a) コード要素が前記コードを形成する離散的なセグメント間のギャップであり、
- b) コード要素が前記コードを形成する離散的なセグメントであり、
- c) コード要素が前記コードを設けるために光学的に区別できる領域であり、
- d) コード要素が、穴、切欠き、又はストライプであり、
- e) コード要素が 1 μm 未満 (0.8 μm 、0.5 μm) の物理的サイズを有し、
- f) 粒子が 30 μm 未満 (50 μm 、70 μm) の最大寸法を有し、
- g) 粒子が 2 : 1 を超えるアスペクト比を有し、
- h) 粒子が 8 μm 未満 (5 μm 、3 μm) の幅を有し、
- i) 粒子が、シリコン、二酸化シリコン、窒化シリコン、ガラス、フォトレジスト、ア

ルミニウム、チタン、ニッケル、エポキシ樹脂、PMMA、ポリイミド、任意のポリマーの1つ又は複数の材料から成り、

j) 粒子が、化学気相成長によって堆積された1つ又は複数の材料からなり、

k) 粒子が、棒、ロッド、プレート、又はディスクの形状を有し、

l) コードが一次元又は二次元のパターンとして存在し、

m) コードが二進であって、二進数の桁に対して1対1の対応を有する物理領域を有し、

n) コードがコード要素の離散的な位置から成り、前記離散的な位置が、コード要素自体よりも小さな距離に指定され、

o) 印刷が、ステップ・アンド・リピート・フォトリソグラフィ投影システム（ステップパとして知られる）を用いて遂行され、

p) 印刷が密着露光フォトリソグラフィ・システムを用いて遂行され、

q) 印刷が、ポジティブ・フォトレジスト、ネガティブ・フォトレジスト、又は光硬化性エポキシ樹脂の層の領域を露光する、方法。

【請求項842】

離散的な位置の間にコード要素の物理的寸法以下である間隔を有して、前記離散的な位置に置かれた前記コード要素を含むコード化されたマイクロ粒子のためのコード体系であって、

a) 前記間隔が1 μm 以下であり、

b) 前記間隔が0.5 μm 以下であり、

c) 前記コード要素のサイズが1 μm 以下であり、

d) 粒子が、軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを含む第1の材料と、前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

e) コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成される、コード体系。

【請求項843】

面上にほぼ単分子層の形で配列された、多数の生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子であって、検出可能な粒子の組み合わせられた二次元区域が面積の30%超過を占め、検出可能な粒子が正確に識別することができるものを指す、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項844】

面上にほぼ単分子層の形で配列された、多数の生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子の画像であって、検出可能な粒子の組み合わせられた二次元区域が画像面積全体の30%超過を占め、前記画像がバイオアッセイの結果を決定するのに使用され、

a) 前記粒子が、軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを含む第1の材料と、前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

b) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、

c) 前記粒子がブラウン運動を行い、

d) 前記コードが1 μm 未満の物理的サイズを有するコード要素で構成され、

e) 前記生化学的に活性の成分が、核酸、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、又は配位子であり、

f) 前記粒子が2:1以上のアスペクト比を有する細長い形状を有し、

g) 前記粒子が50 μm の最大寸法を有し、

h) 検出可能な粒子の数密度が1 mm^2 当たり2,000粒子を超え、

i) 前記検出可能な粒子の前記組み合わせられた二次元区域が前記画像面積全体の50%

10

20

30

40

50

超過を占める、画像。

【請求項 8 4 5】

面上にほぼ単分子層の形で配列され、粒子の数密度が 1 mm^2 当たり 2, 0 0 0 粒子を超える、多数の生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 4 6】

i) マイクロ粒子がそれらの面上に生化学部分を有するようにして、複数の異なるコードを含む多数のコード化されたマイクロ粒子を含み、i i) 前記多数のマイクロ粒子が、 1 mm^2 当たり 2 0 0 0 粒子を超える密度で二次元面上に単分子層の形で配列され、i i i) 前記粒子をキャリア流体中に含むための装置が用意され、i v) 前記マイクロ粒子の前記コードを識別するためのイメージング・システムが用意され、v) それによってバイオアッセイの結果が得られる、システム。

10

【請求項 8 4 7】

バイオアッセイの画像に基づく定量化の間ブラウン運動を行う、多数の非球状のコード化されたマイクロ粒子であって、

a) 前記粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 / \text{s}$ よりも大きく、
b) 前記粒子の 1 0 % 超過が、1 秒以下の時間間隔内に 2 0 nm 以上横方向に変位するものと測定され、

c) 前記粒子が分子結合が起こったことの指標として蛍光を示し、
d) 前記粒子が、軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを含む第 1 の材料と、前記セグメントが第 2 の材料を通して検出できるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

20

e) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、
f) 前記粒子がブラウン運動を行い、
g) 前記コードが $1 \text{ }\mu\text{m}$ 未満の物理的サイズを有するコード要素で構成され、
h) 前記生化学的に活性の成分が、核酸、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、又は配位子であり、

i) 前記粒子が、2 : 1 を超えるアスペクト比と前記最長軸線に垂直な正方形の断面とを有する棒形状を有し、

30

j) 前記粒子が $50 \text{ }\mu\text{m}$ の最大寸法を有する、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 4 8】

2 0 0 個を超えるコードとコード当たり 1 0 0, 0 0 0 個を超える粒子を含む、大きな一組の生化学的に活性のコード化された粒子であって、

a) 前記粒子が、軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを含む第 1 の材料と、前記セグメントが第 2 の材料を通して検出できるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

40

b) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、
c) 前記粒子が、バイオアッセイの定量化の間ブラウン運動を行い、
d) 前記コードが $1 \text{ }\mu\text{m}$ 未満の物理的サイズを有するコード要素で構成され、
e) 前記生化学的に活性の成分が、核酸、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、又は配位子であり、

f) 前記粒子が 2 : 1 を超えるアスペクト比を有する細長い形状を有し、
g) 前記粒子が $50 \text{ }\mu\text{m}$ の最大寸法を有し、
h) 前記大きな組の生化学的に活性のコード化された粒子が 1, 0 0 0 個を超えるコードを含有し、

i) 前記大きな組の生化学的に活性のコード化された粒子が 1 0, 0 0 0 個を超えるコードを含む、コード化された粒子。

50

【請求項 8 4 9】

i) 1, 000 個を超えるコードを含有し、ii) コード当たり 100, 000 個を超える粒子を含有し、iii) 99% を超える識別率で検出することができる、本発明の別の好ましい実施形態の大きな組の生化学的に活性のコード化された粒子。

【請求項 8 5 0】

1 μm 未満のサイズの空間的コード化機構を有するコード化されたマイクロ粒子であって、

a) 前記粒子が、軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを含む第 1 の材料と、前記セグメントが第 2 の材料を通して検出できるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

b) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、

c) 前記コード化機構の位置が、3シグマの精度で 100 nm 以内に位置付けられ、

d) 前記機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、

e) 前記機構のサイズが 600 nm 未満であり、

f) 前記粒子が画像化され、前記コード化機構のサイズが 5 ピクセル未満である、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 5 1】

全体がシリカから成る外面と 50 μm 未満の長さとを有する多数の非球状のコード化された粒子であって、

a) 前記粒子が空間的に規定された光学コードを含有し、

b) 前記粒子が、軸線に沿って整列した 2 つ以上の離散的なセグメントを含む第 1 の材料と、前記セグメントが第 2 の材料を通して検出できるようにして、前記第 1 の材料を取り囲む第 2 の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

c) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィを用いて作成され、

d) 前記粒子がバイオアッセイ用途に使用され、

e) 前記粒子がほぼ正方形の断面を有し、

f) 前記粒子が、バイオアッセイの定量化の間ブラウン運動を行い、

g) 前記コードが 1 μm 未満の物理的サイズを有するコード要素で構成され、

h) 前記生化学的に活性の成分が、核酸、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、又は配位子であり、

i) 前記粒子が 2 : 1 を超えるアスペクト比を有する細長い形状を有し、

j) 前記粒子が 50 μm の最大寸法を有する、コード化された粒子。

【請求項 8 5 2】

画像中の離散的な領域を個々の粒子に関連させることによって、コード化された粒子のコードを識別するコンピュータ・プログラム製品であって、

a) 前記コードが、関連する離散的な領域の前記軸線からピクセル強度プロファイルを抽出することによって決定され、

b) バイオアッセイの結果が、前記コンピュータ・プログラムの出力として計算され、

c) 前記コード化された粒子が、前記コードを形成する不透明領域及び透明領域を有する全方向構造から成る、コンピュータ・プログラム製品。

【請求項 8 5 3】

反射画像及び蛍光画像を同時に取得するために 2 つの CCD カメラを利用する、コード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系であって、

a) バイオアッセイにおける検出に使用される、光学系。

【請求項 8 5 4】

連続的な画像化による検出のため、前記粒子を流体中に供給するフローセル。

【請求項 8 5 5】

蛍光性の外側層を有する空間的光学的にコード化されたマイクロ粒子であって、

a) 前記粒子が、軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを含む第1の材料と、前記セグメントが第2の材料を通して検出できるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを各粒子が含む、全方向でコード化された粒子であり、それにより、前記セグメントによってコードが形成され、前記コードが前記軸線に垂直な全ての方向から検出可能であり、

b) 前記コード化機構が投影フォトリソグラフィによって作成される、空間的光学的にコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 5 6】

面結合用途のため相互作用する面積が増加した、断面が正方形のコード化されたマイクロ粒子であって、

a) 前記粒子が2:1を超えるアスペクト比を有する細長い形状を有し、

b) 隣接した粒子が存在することによって生体分子の相互作用が決定され、

c) 生体分子の相互作用が、DNA、タンパク質、又は分子マイクロアレイなどの平面の面への前記粒子の結合によって決定され、

d) 生体分子の相互作用が、蛍光体、量子ドット、ラテックス若しくはガラス・ビーズ、コロイド金属粒子、半導体ナノロッド、又は他の任意のコード化されたマイクロ粒子若しくはナノ粒子などの他のレポーター粒子への前記粒子の結合によって決定される、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 5 7】

a) 軸線に沿って整列した2つ以上の別個のセグメントを含む第1の材料と、

b) 前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを含み、

c) 前記セグメントによってコードが形成される、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 5 8】

a) 平面の面を有する基板を用意する工程と、

b) 前記基板の前記平面の面に平行になるようにして、軸線に沿って整列した2つ以上のセグメントを形成する工程と、

c) 粒子を前記基板からリリースする工程とを含む方法によって作成された、コード化された粒子。

【請求項 8 5 9】

a) 平面の面を有する基板を用意する工程と、

b) 前記基板の前記平面の面に平行になるようにして、軸線に沿って整列した2つ以上のセグメントを形成する工程と、

c) 粒子を前記基板からリリースする工程とを含む、コード化された粒子を作成する方法。

【請求項 8 6 0】

a) 基板を用意する工程と、

b) 第1の層を前記基板上に堆積させる工程と、

c) 第2の層を前記基板上に堆積させる工程と、

d) 各粒子領域が軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを有するようにして、前記第2の層を複数の粒子領域に形成する工程と、

e) 第3の層を前記基板上に堆積させる工程と、

f) 個々の粒子を形成するため、前記粒子領域内の前記層を前記基板からリリースする工程とを含み、

g) 個々の粒子の前記セグメントによってコードが形成される、コード化された粒子を作成する方法。

【請求項 8 6 1】

a) 平面の面を有する基板を用意する工程と、

b) 軸線が前記基板の前記平面の面に平行になるようにして、前記軸線に沿って定められたコードを有する粒子を形成する工程とを含み、

c) 前記コードが前記基板に垂直な全ての方向から検出可能である、コード化された粒子を作成する方法。

【請求項 8 6 2】

a) 平面の面を有する基板を用意する工程と、

b) 軸線が前記基板の前記平面の面に平行になるようにして、前記軸線に沿って定められたコードを有する粒子を形成する工程とを含み、

c) 前記コードが前記基板に垂直な全ての方向から検出可能である方法によって作成された、コード化された粒子。

【請求項 8 6 3】

a) 3 : 1 を超えるアスペクト比を有する細長い形状と、

b) 粒子の前記長軸線に垂直な面に沿った正方形の断面とを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 6 4】

a) 30 μm 未満の最長寸法と、

b) 二酸化シリコンの外面と、

c) 単一の収集波長において反射モード又は透過モードで検出可能な空間コードとを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 8 6 5】

a) 前記基板の前記面上に、コードをそれぞれ有するリリースされていないコード化されたマイクロ粒子と、

b) X 個を超えるコードと、

c) 各コードに平均 Y 個を超える粒子とを含む、ウェハ基板。

【請求項 8 6 6】

a) 前記基板の前記面上に、コードをそれぞれ有するリリースされていないコード化されたマイクロ粒子と、

b) 1 cm^2 当たりのマイクロ粒子が X 個を超えるマイクロ粒子密度とを含む、ウェハ基板。

【請求項 8 6 7】

a) マイクロ粒子がそこから形成される構成層を堆積させることによって発生するような形で、シリコン基板に結合された複数のコード化されたマイクロ粒子を含み、

b) 前記マイクロ粒子の外面全体が二酸化シリコン（ガラス又はシリカとして知られる）から成る、リリースされていないコード化されたマイクロ粒子を有するシリコン・ウェハ基板。

【請求項 8 6 8】

a) マイクロ粒子がそこから形成される構成層を堆積させることによって発生するような形で、シリコン基板に結合された複数のコード化されたマイクロ粒子を含み、

b) 前記マイクロ粒子の外面全体が二酸化シリコンから成り、

c) 前記マイクロ粒子が中実の直方体の形状を有し、

d) 前記マイクロ粒子が、幅と高さの比が 5 : 1 以下であるようにして、前記基板面に平行に測定した長さ及び幅と、前記基板面に垂直に測定した高さとを有する、リリース前のコード化されたマイクロ粒子を有するシリコン・ウェハ基板。

【請求項 8 6 9】

a) シリコン基板にバルク・エッチングを施す工程を含み、

b) リリースされたコード化されたマイクロ粒子が提供される、犠牲層を組み込むことなくシリコン基板からコード化されたマイクロ粒子をリリースする方法。

【請求項 8 7 0】

a) 平面の基板を用意する工程と、

b) 複数のコード化されたマイクロ粒子を前記基板の前記面上に形成する工程と、

10

20

30

40

50

c) 前記基板にバルク・エッチングを施すことによって、前記コード化されたマイクロ粒子をリリースする工程とを含む、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 871】

a) 平面の基板を用意する工程と、
b) シリコンの犠牲層を前記基板上に堆積させる工程と、
c) 複数のコード化されたマイクロ粒子を前記犠牲層の前記面上に形成する工程と、
d) 前記犠牲層をエッチングすることによって、前記コード化されたマイクロ粒子をリリースする工程とを含む、複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 872】

a) 二酸化シリコンの外側材料と、
b) マイクロ粒子の 1 つ又は複数の面内のディボットとを含み、
c) 前記マイクロ粒子上に前記コードを形成する前記ディボットの位置を設定し、
d) 前記ディボットは、反射モード又は透過モードで前記コードを読み取るためには検出可能ではなく、
e) 前記ディボットは、蛍光モードで前記コードを読み取るためには検出可能である、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 873】

a) 基板を用意する工程と、
b) コード層を堆積させる工程と、
c) 前記コード層内に 500 Å を超えるトポロジーを形成する工程と、
d) 上塗層を堆積させる工程と、
e) 前記上塗層に対して平面化工程を行う工程とを含む、平面の基板上に複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 874】

a) 空間的に定められたコードと、
b) 蛍光分子を含む二酸化シリコンの外層とを含み、
c) 前記外層がストロバー法によって成長される、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 875】

a) 粒子領域当たり単一のコード要素を特定するレチクル・フィールドを設ける工程と、
b) 第 1 のコード要素に前記レチクル・フィールドを印刷する工程と、
c) 前記第 1 のコード要素及び次のコード要素が同じ粒子領域内にあるようにして、次のコード要素に前記レチクル・フィールドを印刷する工程と、
d) 工程 (1) を少なくとももう一度実行する工程とを含み、
e) 粒子上のコードが設けられる、粒子を識別するコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いてコード化された粒子を形成する方法。

【請求項 876】

1 つ以上の印刷工程を用いてコードを形成することを含む、粒子を識別するコードを形成するため、リソグラフィ印刷プロセスを用いて複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 877】

a) 複数のコード化されたマイクロ粒子を含む基板を用意する工程と、
b) 識別要素を含むパターンを設ける工程と、
c) 前記パターンを前記基板又は前記基板の一部分の上に印刷する工程と、
d) 前記基板を予め定められた距離だけ横方向にシフトさせる工程と、
e) 工程 c を少なくとも一度 (以上??) 実行する工程とを含み、
f) 粒子上のコードが設けられる、粒子を識別するコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いてコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

【請求項 878】

同じコードを全て有する複数のコード化されたマイクロ粒子をそれぞれ含む複数の領域

10

20

30

40

50

を含む、一組のコード化されたマイクロ粒子を作成する印刷システムを方向付けるコンピュータ・プログラムであって、前記異なる領域の前記コードを形成する座標位置及び横方向のオフセットのリストを含む、コンピュータ・プログラム。

【請求項 879】

- a) 複数のコード化されたマイクロ粒子を含む基板を用意する工程と、
- b) 第 1 の層を堆積させる工程と、
- c) 第 2 の層を堆積させる工程と、
- d) ステッパ命令にしたがって粒子領域を形成する工程とを含み、
- e) 前記粒子上のコードが設けられる、粒子を識別するコードを形成するため、リソグラフィ・プロセスを用いてコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

10

【請求項 880】

- a) マイクロ粒子がその上に形成される平面の基板を用意する工程と、
- b) コード化パターンの第 1 の部分を有する第 1 のレチクル・フィールドを用意する工程と、
- c) 前記基板を前記第 1 のレチクル・フィールドに露出させ、それによって前記コード化パターンの前記第 1 の部分を印刷する工程と、
- d) コード化パターンの第 2 の部分がある第 2 のレチクル・フィールドを用意する工程と、
- e) 前記基板を前記第 2 のレチクル・フィールドに露出させ、それによって前記コード化パターンの前記第 2 の部分を印刷する工程とを含み、
- f) 完全なコード化パターンが改善された解像度を有する、粒子を識別するコードを形成するため、フォトリソグラフィ・プロセスを用いて複数のコード化されたマイクロ粒子を形成する方法。

20

【請求項 881】

- a) 組み合わせて個々のマイクロ粒子に対するコードを形成するコード要素を用意する工程と、
- b) マイクロ粒子内の離散的な位置に置かれたコード要素とを含み、
- c) 前記離散的な位置が前記コード要素の物理的サイズよりも小さく、
- d) それによって、高いコードスペースのコード体系が供給される、コード化されたマイクロ粒子のためのコード体系。

30

【請求項 882】

- a) マイクロ粒子がその上に配置されるコンテナ面と、
- b) その面に生化学分子が付着された前記マイクロ粒子とを含み、
- c) マイクロ粒子が空間的に定められたコードを有し、
- d) 前記マイクロ粒子が占める面積が平均で前記コンテナ面の面積の X % 以上であるようにして、マイクロ粒子が前記コンテナ面上の単分子層内に配列される、複数のコード化されたマイクロ粒子の単分子層。

【請求項 883】

- a) マイクロ粒子がその上に配置されるコンテナ面と、
- b) その面に生化学分子が付着されたマイクロ粒子とを含み、
- c) マイクロ粒子が空間的に定められたコードを有し、
- d) 前記マイクロ粒子が占める数密度が平均で 1 cm^2 当たりマイクロ粒子 X 個以上であるようにして、マイクロ粒子が前記コンテナ面上の単分子層内に配列される、複数のコード化されたマイクロ粒子の単分子層。

40

【請求項 884】

バイオアッセイの画像に基づく定量化の間ブラウン運動を行う、多数の空間的にコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 885】

- a) マイクロ粒子がそれらの面上に生化学部分を有するようにして、複数の異なるコードを含む多数のコード化されたマイクロ粒子を含み、

50

- b) 前記多数のマイクロ粒子が、 1 mm^2 当たり2000粒子を超える密度で二次元面上に単分子層の形で配列され、
- c) 前記粒子をキャリア流体中に含むための装置が用意され、
- d) 前記マイクロ粒子の前記コードを識別するためのイメージング・システムが用意され、
- e) それによってバイオアッセイの結果が得られる、システム。

【請求項886】

平均でX個を超えるコードとコード当たりY個を超える粒子とを含む、大きな一組の生化学的に活性のコード化された粒子。

【請求項887】

- a) 軸線に沿って整列した2つ以上の離散的なセグメントを含む第1の材料と、
- b) 前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料とを含み、
- c) 前記セグメントによってコードが形成される、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項888】

前記第1の材料が不透明である請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項889】

前記第1の材料が、シリコン、単結晶シリコン、多結晶シリコン、非晶質シリコン、ドーパ・シリコン、ゲルマニウム、SiGe、又はGaAsなどの半導体である請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項890】

前記第1の材料が、アルミニウム、チタン、金、銀、ニッケル、又はコバルトなどであるが、これらに限定されない金属である請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項891】

前記第2の材料が透明である請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項892】

前記第2の材料が、二酸化シリコン、シリカ、ガラス、ドーパ・ガラス、又は窒化シリコンである請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項893】

前記粒子が直方体の形状を有する請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項894】

前記セグメントが直方体の形状を有する請求項887に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項895】

前記粒子が正方形の断面を有する請求項893に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項896】

前記粒子が $50\text{ }\mu\text{m}$ 以下の長さを有する請求項895に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項897】

前記粒子が $20\text{ }\mu\text{m}$ 以下の長さを有する請求項895に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項898】

前記粒子が $5\text{ }\mu\text{m}$ 以下の幅を有する請求項895に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項899】

前記粒子が $2\text{ }\mu\text{m}$ 以下の幅を有する請求項895に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項900】

前記粒子が2:1以上のアスペクト比を有する請求項895に記載のコード化されたマ

10

20

30

40

50

イクロ粒子。

【請求項 901】

前記粒子が 5 : 1 以上のアスペクト比を有する請求項 895 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 902】

前記第 1 の材料が、1 層が磁性材料である多層スタックから成る請求項 887 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 903】

前記第 2 の材料が、蛍光分子を含浸させた二酸化シリコンの外側層を含む二酸化シリコンである請求項 887 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

10

【請求項 904】

前記第 2 の材料が、DNA、RNA、オリゴヌクレオチド、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、又は小分子などの、前記面に結合させた生化学分子を有する請求項 887 に記載のコード化されたマイクロ粒子。

【請求項 905】

a) $X \mu m$ 未満の最長寸法と、

b) 単一の前方散乱検出器を備えたフロー・サイトメーターで読み取ることができるコードとを含む、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項 906】

画像中の離散的な領域を個々の粒子に関連させることによって、コード化された粒子の前記コードを識別するコンピュータ・プログラム製品。

20

【請求項 907】

a) 断面がほぼ正方形のコード化されたマイクロ粒子を含み、

b) 粒子と粒子又は粒子と面の複合体が存在することによって被検体の存在が示される、結合アッセイ。

【発明の詳細な説明】

【関連出願】

【0001】

(関連案件の相互参照)

本特許出願は、2006 年 1 月 25 日出願の同時係属中の米国仮出願第 60 / 762, 238 号、2005 年 9 月 13 日出願の米国仮出願第 60 / 716, 694 号の優先権を主張し、これらそれぞれの主題は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

30

【技術分野】

【0002】

本発明は微細構造の分野に関し、より具体的にはコード化されたマイクロ粒子に関する。

【背景技術】

【0003】

マイクロ粒子又はナノ粒子は、構造と称される場合が多く、その特徴的寸法は、 $1 mm$ ³以下の体積などマイクロメートル以下の単位である。その小さな特徴的寸法に起因する固有の特性により、マイクロ粒子は、実験室研究や多くの工業的分野において顕著な用途を見出している。コード化されたマイクロ粒子は、識別手段を有し、マイクロ粒子の一般的な分野の重要なサブクラスである。コード化された粒子は情報を伝達し、また、空間と時間に関して物理的に追跡することができるので、コード化されていない粒子の能力を大幅に拡張する。コード化されたマイクロ粒子の特に重要な用途は、DNA やタンパク質に関するものを含む多重バイオアッセイである。コード化されたマイクロ粒子の他の重要な分野としては、コンビナトリアル・ケミストリー、標識付けなどが挙げられる。多くの生化学用途及び生化学以外の用途を、本明細書において後述する。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【0004】

多くの用途に関して、もう1つの望ましい属性としては、多数の識別可能なコード（すなわち、高いコードスペース）、コード化された粒子の正確かつ信頼性の高い識別、特定の用途に対する材料の適合性、マイクロ粒子の低コストでの製造（バッチ単位、粒子単位、コード・セット基礎単位）、検出システムの柔軟性が挙げられる。

【0005】

断片化された有色積層体、有色ポリスチレン・ビーズ、量子ドットを担持させたポリマー・ビーズ、希土類元素でドーブしたガラス・マイクロバーコード、電気めっきした金属ナノ・ロッド、回折格子に基づく繊維状粒子、パターン・バーとディスク、他のタイプのマイクロ粒子など、コード化されたマイクロ粒子を作成するためのいくつかの方策がこれまでに開発されている。しかし、これらの技術には、コードスペースが不十分である、コストが高い、精度が不適當である、使用時の性能が低い、凝集の問題によって大量生産ができない、前処理又はアッセイ手順が複雑であるなど、多くの制限のいずれかの欠点がある。

【0006】

したがって、コード化された情報を有するコード化されたマイクロ粒子又は一組のコード化されたマイクロ粒子、それらを作成する方法、マイクロ粒子のためのコードを供給する方法、マイクロ粒子を製造する方法、マイクロ粒子を検出する方法とシステム、使用する方法とシステムが求められている。

【0007】

添付の特許請求の範囲は、本発明の特徴を詳細に説明しているが、本発明並びにその目的及び利点は、以下の詳細な説明を添付図面と併せ読むことによって最も良く理解することができる。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】図1Aは、本発明のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図1Bは、図1Aのマイクロ粒子の側面断面図である。

【図2】本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図である。

【図3】図3aは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図3bは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図である。

【図4】図4a及び4bは、そのコード化構造が単一材料から得られる代表的なマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図4cは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図4dは、本発明の代表的な製造の間の別の代表的なマイクロ粒子の断面図である。

【図5】本発明の代表的な製造方法において実行される工程を示すフローチャートである。

【図6a】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6b】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6c】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6d】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6e】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6f】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6g】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 h】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 i】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 j】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 k】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 l】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

10

【図 6 m】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 8】製造中の基板上のマイクロ粒子の配列の斜視図である。

【図 9 a】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 9 b】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 9 c】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 10 a】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

20

【図 11】本発明の製造方法に使用することができる代表的なエッチング方法を示す図である。

【図 12】本発明の複数のマイクロ粒子の画像である。

【図 13】本発明の代表的な製造方法による代表的なウェハ・レベルでの製造方法を概略的に示す図である。

【図 14】本発明の 8 個のコード化されたマイクロ粒子の反射モードにおける反転した顕微鏡画像を示す図である。

【図 15】本発明のコード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図である。

30

【図 16】図 14 と同じ倍率で得た全視野の単一画像を示す図である。

【図 17】コード化されたマイクロ粒子の高倍率画像を示す図である。

【図 18】図 18 a は、コード化されたマイクロ粒子の 12 個の稠密な反射画像を合成した図であり、図 18 b は、本発明のマイクロ粒子の例の透過蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【図 19】図 19 a は、全視野反射画像を示す図であり、図 19 b は、離散的なセグメントを全マイクロ粒子に関連させる画像処理をした後の、図 19 a と同じ一連の画像を示す図である。

【図 20】図 20 a は、一連の反射画像を示す図であり、図 20 b は、離散的なセグメントを全マイクロ粒子に関連させる画像処理をした後の、図 20 a と同じ一連の画像を示す図である。

40

【図 21】右側に処理済みの画像を示し、左側に 4 個のマイクロ粒子の例から得たピクセル強度プロファイルを示す図である。

【図 22】画像化のためにコード化されたマイクロ粒子を不動化し分離するように設計された特徴を有する、特別に準備された面の概略図である。

【図 23】連続的な画像化による検出のため、流体中を流れるマイクロ粒子を供給できるようにしたフロー・セルを示す図である。

【図 24】連続的な画像化による検出のため、流体中を流れるマイクロ粒子を供給できるようにしたフロー・セルを示す図である。

【図 25】本発明の別の代替マイクロ粒子を示す図である。

50

【図 2 6】蛍光性の外側層を備えた空間的かつ光学的にコード化されたマイクロ粒子の図である。

【図 2 7】a - c は空間コードを形成する面のへこみを備えた本発明のコード化されたマイクロ粒子の概略図であり、d は、へこみを含むコード化されたマイクロ粒子の一例を示す図である。

【図 2 8】図 2 7 a ~ 2 7 c の対応する粒子に関する、粒子面に垂直に測定された不均一な空間密度を示す図である。

【図 2 9】本発明の別の代表的な製造の間の本発明の別の例によるマイクロ粒子の平面図である。

【図 3 0】本発明の別の代表的な製造の間の本発明の別の例によるマイクロ粒子の平面図である。

【図 3 1】a - c は、マイクロ粒子構造の好ましい実施形態における 3 個のマスク・フィールドを示す図であり、d は、レチクル・プレートの図である。

【図 3 2】スタンピングを利用する多数の印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代替例を示す。

【図 3 3 a】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 b】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 c】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 d】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 e】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 f】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 g】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 h】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 i】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 j】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 k】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 l】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 3 m】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 4 a】図 3 3 a マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 b】図 3 3 b マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 c】図 3 3 c マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 d】図 3 3 d マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 e】図 3 3 e マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 f】図 3 3 f マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 g】図 3 3 g マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 h】図 3 3 h マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 i】図 3 3 i マイクロ粒子に対応する断面図である。

10

20

30

40

50

【図 3 4 j】図 3 3 j マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 k】図 3 3 k マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 l】図 3 3 l マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 4 m】図 3 3 m マイクロ粒子に対応する断面図である。

【図 3 5】本発明の方法を使用して作成することができる代表的なマイクロ粒子を示す図である。

【図 3 6】ダイからリリースする直前の、実際のコード化されたマイクロ粒子の 4 つの顕微鏡画像を示す図である。

【図 3 7】ウェハ上の全てのダイに対して異なるコードを生成するため、ステッパ・ソフトウェアに入力されるデータ例のチャートを示す図である。

【図 3 8】ダイ当たりの数を増加させたコードを生成するための代表的なスキームを示す図である。

【図 3 9】図 3 9 a は、本発明された非二進コード体系にしたがって形成されるコード化されたマイクロ粒子のグラフであり、図 3 9 b、3 9 c は、ギャップの数及び位置が異なるランダム・コードを示す図である。

【図 4 0】マイクロ粒子の大きなプロトタイプ・セットの様々な形態の写真 4 枚を合成した写真である。

【図 4 1】代表的なバイオアッセイ・プロセスのフローチャートである。

【図 4 2】全てのウェハを、バイオアッセイを行うために試料と反応できる状態の粒子・プローブ複合体の混合物とするための、プロセスの代表例を示す図である。

【図 4 3】反射画像及び蛍光画像を同時に取得するため 2 つの CCD カメラを利用する、コード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系を示す図である。

【図 4 4】多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【図 4 5】多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【図 4 6】本発明の同じ一組のマイクロ粒子に対する一対の反射画像及び蛍光画像を示す図である。

【図 4 7】時間系列におけるコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【図 4 8】2 プレックス DNA ハイブリダイゼーション・アッセイから得た実際のアッセイ・データを示す図である。

【図 4 9】a は、本発明のマイクロ粒子を使用することができる代表的なアッセイを示す図であり、b は、本発明のマイクロ粒子を使用することができる別の代表的なアッセイを示す図である。

【図 5 0】本発明のマイクロ粒子を使用することができる別の代表的なアッセイを示す図である。

【図 5 1】粒子の画像を含むが、本発明の実際の実験結果ではない概略図である。

【図 5 2】コード要素のパターニング工程及びエッチング工程の例のフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0009】

コードを有するコード化されたマイクロ粒子が提供され、及び、区別可能なコードを備えた一組のコード化されたマイクロ粒子が提供される。その際、コードは予め定められたコード体系に適合している。好ましくは、以下の例におけるマイクロ粒子は 1 mm^3 以下の体積を有する。本発明のマイクロ粒子により、迅速かつ正確であり、複雑さが軽減されたコードの検出が可能になる。マイクロ粒子上にコードを設ける方法、マイクロ粒子を製造する方法、マイクロ粒子を検出する方法とシステム、マイクロ粒子を使用するための方法とシステムも開示される。

【0010】

本発明は、以下に特定の例を参照して考察される。当業者であれば、以下の考察が例証を目的とするものであり、限定として解釈されるべきではないことを理解するであろう。

10

20

30

40

50

むしろ、本発明の趣旨から逸脱することなく、他の変形例も適用可能である。

【0011】

一例として、図1Aは、本発明のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。マイクロ粒子100は、図面に示されるように、デカルト座標のY方向に沿って延長された直方体構造である。マイクロ粒子の長さの垂直な断面は、この例では正方形である、ほぼ同じ位相幾何学的形状を有する。

【0012】

この特定の例におけるマイクロ粒子は、一組のセグメント（例えば、セグメント102）とセグメントの間に挟まれたギャップ（例えば、ギャップ104）を有する。具体的には、長さ（マイクロ粒子の長さに沿った、例えばY方向に沿った寸法）が異なるセグメントは、異なるコード化要素を表すが、ギャップは、好ましくは、マイクロ粒子の検出中にセグメントを区別するため、同じ長さを有する。この例におけるマイクロ粒子のセグメントは、マイクロ粒子内に、例えば本体106内に完全に封入される。代替の特徴として、セグメントは、セグメントの幾何学的中心が、細長いマイクロ粒子の幾何学的中心軸と整列するように配列することができる。セグメントとギャップの特定の列はコードを表す。コードは予め定められたコード体系から得られる。

【0013】

マイクロ粒子のセグメントは任意の適切な懈怠が可能である。本発明の一例では、マイクロ粒子の各セグメントは、マイクロ粒子の長さの垂直に（すなわち、図1Aのデカルト座標のY方向に沿って）取った、ほぼ正方形の断面（すなわち、図1Aに示されるようなデカルト座標のX-Z面における断面）を有する。セグメントは、ほぼ正方形の断面を有するように製造されても、されなくてもよい。長方形、円形、楕円形、ソウ歯状、曲線状など、他の形状も適用可能である。特に、コード要素、すなわちセグメントとギャップは、他の任意の適切な所望の形状を取ることにもできる。例えば、セグメント（及び／又はギャップ）はそれぞれ、長方形の断面（例えば、長方形のアスペクト比が2:1以上、例えば4:1以上、10:1以上、20:1以上、さらには100:1以上などであるが、好ましくは500:1未満である）を有してもよい。

【0014】

図1Aのマイクロ粒子の例は、6つの主面を、すなわち、面（ $X = \pm x_0$ 、Y、Z）、面（X、Y、Z = $\pm z_0$ ）、面（X、Y = $\pm y_0$ 、Z）を有し、ここで、 x_0 、 y_0 、 z_0 はそれぞれ、マイクロ粒子の幅、長さ、高さである。本発明によれば、上記の6つのうち少なくとも2つの面 $X = \pm x_0$ （又は面 $Z = \pm z_0$ ）、より好ましくは、上記6つのうち少なくとも4つの主面 $X = \pm x_0$ 、面 $Z = \pm z_0$ は、各面がへこみを有するか否かに関わらずほぼ連続している。この構成により、マイクロ粒子は、光学イメージング装置などの検出器に対してほぼ同じ幾何学的外観と特有性を示す。実際には、主面はほぼ平坦にすることができる。例えば、製造中に粗さ又は変化するプロファイルが生じたとしても、オーバー堆積やエッチング・バック技術、又は化学的機械的研磨（CMP）技術などの標準的な面加工技術、さらには平滑な垂直側壁プロファイルを作成するため、パターニング工程を適切に制御するなどの標準的な面加工技術を使用して、依然としてほぼ平坦な主面を得ることができる。

【0015】

コード要素、すなわちセグメントとギャップは、任意の所望の寸法を取ることができる。本発明の一例として、各コード化構造は、5 μm （ミクロン）以下、例えば3ミクロン以下の、より好ましくは1ミクロン以下、例えば0.8又は0.5ミクロン以下の、特徴的な寸法を有する。特に、ギャップはほぼ同じ寸法に保たれるが、セグメントの寸法が変化する場合、各ギャップは、好ましくは、1.5ミクロン以下、例えば0.8又は0.5ミクロン以下の特徴的な寸法を有する。

【0016】

一例として、線幅が0.13の30.5 cm（12インチ）のシリコン・ウェハ上にマイクロ粒子を形成する場合、ギャップ面積が0.13 μm の最小幅を有し、透明度がより

低いセグメントが（粒子の所望の長さ並びに、所望のコード化体系及びコードスペースに応じて） $0.13\text{ }\mu\text{m}$ からそれよりもはるかに大きな値までの幅を有するようにすることができる。使用されるウェハの製造に応じて、 $0.13\sim 1.85\text{ }\mu\text{m}$ （例えば、 $0.25\sim 0.85\text{ }\mu\text{m}$ ）の最小ギャップ幅と最小セグメント幅が可能である。当然ながら、より大きな最小ギャップ長さとセグメント長さ（例えば、 $1.85\sim 5.0\text{ }\mu\text{m}$ 以上）も可能である。当然ながら、他のサイズのウェハ（ 10.2 cm （4インチ）、 15.2 cm （6インチ）、 20.3 cm （8インチ）など）、シリコン以外（例えば、ガラス）のウェハ、さらにはシリコン以外の他の基板（例えば、大型のガラス・パネル）を使用することができる。

【0017】

マイクロ粒子は、X方向、Y方向、及び／又はZ方向に同じ長さを有してもよいが、好ましくは、コード化されたマイクロ粒子は、 $2:1\sim 50:1$ 、例えば $4:1\sim 20:1$ の長さとの比を有する。本発明の一例では、マイクロ粒子の長さ（例えば、Y方向に沿った寸法）は、 $70\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $50\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $30\text{ }\mu\text{m}$ 以下、例えば $20\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $16\text{ }\mu\text{m}$ 以下、さらには $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下である。マイクロ粒子の幅（例えば、X方向に沿った寸法）と、高さ（Z方向に沿った寸法）は、 $15\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $8\text{ }\mu\text{m}$ 以下、 $4\text{ }\mu\text{m}$ 以下、さらには $1\text{ }\mu\text{m}$ 以下、例えば $0.13\text{ }\mu\text{m}$ 以下であってもよい。 $0.5\sim 2\text{ }\mu\text{m}$ 程度の小さな幅も可能である。図1Aに示し、かつ上述した形状以外に、マイクロ粒子は、ロッド、バー、ディスク、又は他の任意の所望の形状を取ってもよい。

【0018】

マイクロ粒子のコード化構造とギャップは、コード化構造とギャップが共に検出可能なコードを表す限り、任意の適切な形態を取ることができる。上述したように、マイクロ粒子の断面は、粒子の長さに垂直に取ったとき、正方形、長方形、円形、楕円形、あるいは、ソウ歯状若しくは曲線状又は他のプロファイルなどの任意の所望の形状である。断面が長方形のとき、長方形は、好ましくは、 $2:1$ 以上、例えば $4:1$ 以上、 $10:1$ 以上、 $20:1$ 以上、さらには $100:1$ 以上であるが、好ましくは $500:1$ 未満であるアスペクト比（長さとの幅又は高さの比）を有する。幅と高さの比は、 $1:1$ 程度（正方形の断面）であるか、あるいは、 $1:4\sim 1:1$ の比、好ましくは、粒子が細長い側面のどこに存在するかに関わらず、マイクロ粒子のコードを検出できるように、粒子が、粒子の幅又は高さを規定するいずれかの側面の上に存在することができる比を有することができる。

【0019】

コード化構造とギャップによって表されるコードの、迅速で、コスト効率が良く、信頼性が高く、かつ容易な検出を促進するため、各コード化構造は、検出手段に対して可能な限り全方向的であることが好ましい。すなわち、各コード化構造は、少なくとも二方向から、より好ましくはマイクロ粒子の長さに垂直な四方向（又は、断面が四辺形でない場合、全方向）から観察されたとき、ほぼ同じ幾何学的外観又は検出可能な特性を示す。したがって、コード化構造は、好ましくは、マイクロ粒子の長さに沿って、2回対称性又は4回対称性などの回対称性を有する。

【0020】

本発明のマイクロ粒子は、粒子の形状又は長さ、及び所望のコードスペースに応じて、任意の適切な数のコード化構造を有することができる。具体的には、マイクロ粒子のコード化構造の総数は、 $1\sim 20$ 個、より一般的には $3\sim 15$ 個、より一般的には $3\sim 8$ 個である。

【0021】

所望のコードは、多数のやり方でマイクロ粒子に組み込むか、又はマイクロ粒子によって表すことができる。一例として、予め定められたコード体系のコード化要素は、セグメント（1つ又は複数）によって表すことができ、例えば、長さが異なるセグメントはコード体系の異なるコード化要素を表す。異なる（又は同じ）長さを有し、ギャップが間に挟

まれたセグメントの異なる空間的配列は、異なるコードを表す。このコードの組み込み方法では、間に挟まれるギャップは、好ましくは、特にセグメントが整列する方向の長さについて、ほぼ同じ寸法を有する。別の例として、コードは、長さが変化するギャップを配列することによってマイクロ粒子に組み込まれ、セグメントはほぼ同じ寸法を有し、隣接したギャップ間に配置される。別の例では、セグメントとギャップは両方とも、コードを表すため、その寸法が変化する。実際に、コードは、セグメント、ギャップ、及びそれらの組み合わせを使用して、他の多くの代替的方法で表すこともできる。

【0022】

予め定められたコード体系から得られるコードを表すため、セグメントとギャップは、細長いマイクロ粒子の長さ（Y方向）に沿って配列される（ただし、二次元、又はさらには三次元の配列も可能である）。具体的には、セグメントとギャップは長さに沿って交互に整列され、各セグメントは隣接したギャップによって分離され（恐らくは、完全に分離され隔離される）、各ギャップは隣接したセグメントによって分離される（恐らくは、完全に分離され隔離される）。このことは、以下に考察される図1Bの断面図により良好に示されている。

【0023】

本発明の一例では、任意の適切な数のセグメントを使用することができ、例えば、透明度がより低い材料（セグメント間に挟まれたギャップに比べて）の、2～20個、より一般的には3～15個のセグメント（より一般的には3～8個のセグメント）が、コード化されたマイクロ粒子内に設けられる。コードを形成するため、透明度がより低い材料のセグメントの長さを変えることが可能である。あるいは、透明度がより低い材料のセグメントはそれぞれ、ほぼ同じ長さを有するが、透明度がより高い材料の中間セグメントは変化する長さを有することができる。当然ながら、コードを表すため、透明度がより高い材料のセグメントと透明度がより低い材料の中間セグメントが両方ともその長さが変化しても良い。

【0024】

図1Bを参照すると、断面は、図1Aの粒子のY-Z面で（又は同等にX-Y面で）で取られている。セグメント（例えば、セグメント102）とギャップ（例えば、ギャップ104）は、マイクロ粒子の長さに沿って交互になっている。

【0025】

マイクロ粒子に組み込まれたコードを検出できるようにするため、各マイクロ粒子内のセグメントとギャップは、光学特性、電気特性、磁性特性、流体力学特性、又は、所望の検出方法に適合した他の所望の特性が異なる材料から成ることができる。一例では、セグメントとギャップは、可視スペクトル内の透過光及び／又は反射光のもとで、直接空間的に区別することができる。例えば、コード検出が光学イメージングに依存するとき、区別可能な特性（セグメント対ギャップ）は、画像化に使用される特定の光（任意の所望の電磁放射、例えば、可視光と近可視光、IR、紫外光など）に対する透過率の差である。セグメントは、間に挟まれる間隔材料よりも光吸収性（又は光反射性）にする（あるいは、その逆にする）ことができる。コード検出が電気特性の測定に依存するとき、特性は、抵抗とコンダクタンスである。コード検出が磁気による方法を伴うとき、特性は、インダクタンスと電気インダクタンスである。コード検出が流動力学的方法を伴うとき、特性は、コード検出に使用される特定の流体に対する粘性である。どの特定の特性に依存するかに関わらず、セグメントとギャップは、対応するコード検出方法を使用して差異を検出することができるように、特定の特性において十分な差異を示すことが好ましい。特に、光学イメージングを用いてコードが検出されるとき、セグメントとギャップは、マイクロ粒子の画像化に使用される特定の光に対して、異なる透過率（光透過モードの場合）又は反射率（光反射モードの場合）を示す材料から成る。例えば、透明度がより低い材料のマイクロ粒子のセグメントは、その上に入射する可視光又は近可視光の30%以上、好ましくは50%以上、又は例えば80%以上を阻止かつ／又は反射することができる。

【0026】

物体による電磁放射の透過率は物体の厚さに応じて変わるという事実を鑑みて、検出光の30%以上、好ましくは50%以上、又は例えば80%以上（あるいは、さらには90%以上）を阻止かつ／又は反射することができるセグメントが好ましいが、コード化構造の間のギャップは、検出光の50%以上、70%以上、80%以上、又はさらには90%以上を透過することができる材料から、かつそのような寸法で得られる。あるいは、セグメントとギャップは、透過率の差異の比がコードγを検出するのに十分であるように、例えば、5%以上、10%以上、20%以上、50%以上、70%以上であるように、異なる材料から成る。透過率は、通過した光と入射光の光度の比として決められる。

【0027】

微細構造は、有機材料及び／又は無機材料、あるいは有機・無機材料の混合物で作成することができる。具体的には、ギャップ（好ましくは、可視光又は近可視光に対する透過性がより高い）とセグメント（好ましくは、ギャップに比べて、可視光又は近可視光に対する透過性がより低い）はそれぞれ、有機材料又は無機材料、あるいは混合有機・無機材料から成ることができる。セグメントは、金属（例えば、アルミニウム）、前周期遷移金属（例えば、タングステン、クロム、チタン、タンタル、又はモリブデン）、又はメタロイド（例えば、シリコン又はゲルマニウム）、あるいはそれらの組み合わせ（又は、窒化物、酸化物、及び／若しくは炭化物）から成ることができる。特に、セグメントは、メタロイド若しくは前周期遷移金属の酸化物、メタロイド若しくは前周期遷移金属の窒化物、又はメタロイド若しくは前周期遷移金属の炭化物を含む化合物など、セラミック化合物から成ることができる。前周期遷移金属は、周期表の3b族（Sc、Y、Lu、Lr）、4b族（Ti、Zr、Hf、Rf）、5b族（V、Nb、Ta、Db）、6b族（Cr、Mo、W、Sg）及び7b族（Mn、Tc、Re、Rh）に基づくものである。しかし、4b～6b族の前周期遷移金属、特に、タングステン、チタン、ジルコニウム、ハフニウム、ニオブ、タンタル、バナジウム、クロムが好ましい。

【0028】

この例では透明度がより高いギャップは、セグメントよりも透明度が高い任意の適切な材料を含むことができる。混合材料が選択される場合、間隔材料は、特に、シロキサン材料又はシルセスキオキサン材料などである。間隔材料は、無機材料の場合、ガラス材料などである。ボロン又はリンのドーパ剤／合金化剤を有するか、又は有さない、薄膜状に堆積された二酸化シリコンが適切な材料である。例えば、窒化シリコン、窒化酸化シリコン、酸化ゲルマニウム、窒化酸化ゲルマニウム、シリコン・ゲルマニウム窒化酸化物、又は様々な遷移金属酸化物など、他の無機ガラス材料も適切である。塗布ガラス（SOG）を使用することもできる。有機材料がギャップ材料に使用される場合、プラスチック（例えば、ポリスチレン又はラテックス）を使用することができる。

【0029】

セグメントとギャップは両方とも、CVD（化学堆積法）、PVD（物理堆積法）、塗布、ゾル・ゲルなどの任意の適切な方法によって堆積させることができる。CVD堆積法が使用される場合、CVDは、LPCVD（低圧化学堆積法）、PECVD（プラズマ促進化学堆積法）、APCVD（大気圧化学堆積法）、SACVD（減圧化学堆積法）などである。PVD法が使用される場合、所望の最終材料に応じて、スパッタリング又は反応スパッタリングが可能である。塗布材料（SOG又は混合有機・無機シロキサン材料）。

【0030】

より具体的な例として、セグメントは、CVD（化学堆積法）によって堆積させた非晶質シリコンなどの、任意の適切なシリコン材料から成ることができる。ポリシリコン又は単結晶シリコンも、上述したような広範囲の他の材料と同様に適切である。必須ではないが、セグメントのために選択される材料は、堆積厚さが高度に制御され、面粗さが低く、パターニングとリリースの両方におけるエッチングが高度に制御され（例えば、パターニングにはドライ・プラズマ・エッチングを、リリースには湿式又は乾式化学エッチングを使用する）、かつCMOSプロセスの適合性が高いことが好ましい。ギャップ材料は、CVD堆積された二酸化シリコンでよい。二酸化シリコンは、リン又はボロンなどの、ドー

ピング／合金化材料を包含してもよい。セグメントとギャップに対して、透明度のより高い材料とより低い材料の組み合わせを選択する際、温度が考慮に入れられてもよい。

【0031】

図2は、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。粒子19は長方形の断面を有し、ほぼ平坦な形状である。例えば、マイクロ粒子の高さと幅の比は、任意の所望の比であり、例えば、1:1.2～1:4以上などであることができる。

【0032】

図3aは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図3aを参照すると、マイクロ粒子116は第1の材料118と第2の材料120から成る。2つの材料は、化学的に異なるか、あるいは、同じ化学組成であり、ただしグレイン構造又は厚さなどの他の観点においては異なる。2つの材料は、所望の検出スキームを用いて区別することができる。この例では、材料はそれぞれ、好ましくは、粒子の断面を完全に横断する。この構造を作成する一例のプロセスは、本明細書で以下に開示するパターンニングとエッチング方法の変形例、及び／又は高エネルギー・イオン注入法など、IC／MEMS（集積回路／微小電子機械システム）分野からのものを包含する、上述したような製造方法を伴う。

【0033】

図3bは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図3bを参照すると、マイクロ粒子は、第3の材料44に取り囲まれた、2つの異なる材料40、42の交互になったセグメントから成り、それにより、交互になったセグメントのパターンが検出可能なコードを形成する。他の例のマイクロ粒子は、粒子の内部に2つを超える異なる材料を含有してもよい。粒子は、任意の適切な断面形状を有してもよく、図示される例では細長いものである。

【0034】

上述の例では、マイクロ粒子は、区別可能な光学特性など、選択された区別可能な特性の材料から成る。上述の例では、一方の材料は他方の材料よりも大きな透明度又は光透過率を有し、その差異は拡大することによって検出可能である。上述の特定の例は、一方の材料が光吸収性材料であり、他方の材料が、可視スペクトルにおいてより大きな光透過性を有する半透明又は透明材料である（あるいは、例えば、UV、IRなどの別のスペクトルでは、異なる検出システムが使用されるべきである）。別の例では、一方の材料は光反射性材料であり、他方の材料は、光吸収性又は光透過性のどちらかである。一方の材料の不透明度がより高く、他方の材料の不透明度がより低い場合の、あるいは一方の材料の反射性がより高く、他方の材料の反射性がより低い場合の検出可能な差異は、この例の範囲内である。上述したように、不透明材料と透明材料の交互になった部分は、他の材料の中でも特に、シリコンとガラスで作成することができる。ほぼ全ての材料の透過率（及び反射率）が材料の厚さに依存するという事実を鑑みて、マイクロ粒子は、コード化構造（すなわち、コードのコード化要素を表す構造）が単一の材料から得られるようにして形成されてもよい。図4a、図4bは、そのコード化構造がシリコンなどの単一の材料から得られる、代表的なマイクロ粒子を概略的に示す。

【0035】

図4aを参照すると、代表的なマイクロ粒子の断面図が示されている。マイクロ粒子206は、一組のコード化構造（例えば210、212、208、214）を含み、それらの組み合わせは、コード体系から得られるコードを表す。コードを組み込むため、コード化構造は幅などの異なるプロファイルを有し、異なる幅を備えた異なる構造が特定の位置に位置付けられる。コード化構造を決め、かつ後でコード検出を行うため、透過率しきい値厚さ（それ以下になると、材料が可視光と近可視光などの特定の光に対して可視であるようなしきい値）未満の厚さを備えた一組のギャップ（例えば、ギャップ212、214）。図1aに示される例とは異なり、コード化構造は完全には分離又は隔離されていない。マイクロ粒子に組み込まれたコードは、例えば、コード化構造間の隣接したギャップ（例えば、212、214）よりも透過率が低い、コード化構造（例えば、210、208

）の異なる透過率に基づいて、読み取ることができる。

【0036】

生体分子試料がマイクロ粒子の面に付着されることになる、マイクロ粒子の利用、特に生物学／生化学／生物医学／生物工学における利用を促進するため、固定化層が微細構造の面を被覆するのが望ましいことがある。

【0037】

図4bは、図4aのマイクロ粒子の透過モード画像を概略的に示す。図4bを参照すると、暗い領域210、208はそれぞれ、図4aのコード化構造210、208に対応する。白い領域212、214はそれぞれ、図4aのコード化構造212、214に対応する。光透過率のより高い部分とより低い部分とに使用される材料が同じ場合であっても、依然として、透過率プロファイルによって検出可能なコードが可能になる。図4のようなマイクロ粒子は、別の材料（例えば、二酸化シリコン）の最下層を備え、所望に応じて別の材料（例えば、二酸化シリコン）の第2の層で被覆させる。そのようなマイクロ粒子は、図1aの構造とほぼ同じ直方体形状を有するように、材料（例えば、二酸化シリコン）で完全に包むこともできる。図4cは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図4cを参照すると、マイクロ粒子は、より狭い領域によって接続されたより大きな領域を含む。マイクロ粒子は、コードが検出可能であるように、材料によって取り囲まれる。

【0038】

図4a、図4cのマイクロ粒子は、多くの方法で製造することができ、その1つが、図4dの代表的な製造中のマイクロ粒子の断面図に概略的に示される。図4dを参照すると、特定の光（例えば、可視光又は近可視光）に対して透過性の材料（例えば、ガラス、石英、又は他の適切な材料）から成る基板216が用いられる。分離層217が基板216上に堆積される。分離層は、エッチング又は他の適切な方法によって、後でマイクロ粒子をガラス基板から切離すために設けられる。エッチングは、湿式、乾式、又はプラズマ・エッチングで、したがって、分離層は、本明細書において上述したような、選択されたエッチング方法を用いてエッチング可能な材料から成ることが望ましい。粒子構造の上述の実施形態に関して記載したように、粒子が基板上に直接形成され、続いて基板にバルク・エッチングを施すことによってリリースされるように、分離層は省略されてもよい。

【0039】

コード化構造層は、構造218、222、220などのコード化構造を形成するように、堆積されパターンニングされる。コード化構造を形成した後、形成されたコード化構造上に包囲層224が堆積される。包囲層は、アッセイの際に標的試料に対して露出されるので、層224は、マイクロ粒子がその中に分配されるべきアッセイ溶液中の化学成分に対する耐性を持つ材料から成ることが望ましい。さらに、核酸（例えば、DNA又はRNA）、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、配位子、又は層の面上の分子などのプローブ分子を保持するため、層224はプローブ分子を不動化できることが望ましい。

【0040】

以下の代表的な製造プロセスは、セグメントとギャップを備えたマイクロ粒子を参照して考察されるが、以下の方法は、他の多くのタイプのコード要素に適用可能であることに留意されたい。

【0041】

本発明の微細構造は、MEMS製造方法などの微細加工の広範な分野内にある方法を用いて製造することができる。MEMSは、多種多様な用途向けのマイクロスケール構造を形成するため、半導体産業の技術を使用する。MEMS技術は、全ての状況においてではないものの、一般的には、薄膜の堆積、乾式及び／又は湿式方法を用いたエッチングと、パターン形成のためのリソグラフィを含む。MEMSは半導体産業から派生したもののなので、コスト効率が良く、大量の、かつ精密な生産のための、莫大な世界規模の製造基盤が整っている。一般的に言えば、MEMSプロセス全体が既存の集積回路プロセスに類似しているほど、例えばCMOSに適合しているほど、この基盤がより使用しやすい。

【0042】

本発明の微細構造は、集積回路（例えば、相互接続）又はMEMSに使用される製造方法など、多くの方法で製造することができる。以下では、マイクロ粒子を作成するためのMEMS製造と適合性がある代表的な製造方法が、図5及び図6a～図6mを参照して考察されるが、その際、マイクロ粒子は、非晶質シリコンから成る不透明なセグメントと、二酸化シリコンから成る可視光透過性のギャップとを含む。以下の製造の考察は、単に実証のためのものに過ぎず、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではないことが、当業者には理解されるであろう。実際に、本発明の趣旨から逸脱することなく、多くの製造方法を使用することができる。

【0043】

図5を参照すると、工程122でシリコン基板が用意される。（本明細書においてさらに後述されるように）ガラス・ウェハ又はガラス・パネルなどの他の基板を使用することもできる。シリコン基板と仮定すると、工程124で基板上に二酸化シリコン層を堆積する。堆積は、上述したように、CVD、PVD、塗布など、多くの適切な薄膜堆積技術を用いて行うことができる。次に、工程126で非晶質シリコン層がSiO₂層上に堆積され、続いて、工程128でハード・マスク酸化物層が堆積される。必須ではないが、ハード・マスクを使用することによって、特に非晶質シリコン層が比較的厚い（例えば、1μm以上の厚さ）とき、トポロジーによって引き起こされるフォトレジスト・コーティングの問題が軽減される。次に、工程130でハード・マスク酸化物層がパターニングされる。パターニングされたハード・マスク層を用いて、工程132で、所望のパターンを形成するように、プラズマ・エッチングによって非晶質シリコン層にエッチングが施される。次に、工程134でSiO₂の最上層がパターニングされたシリコン層上に堆積され、続いて、工程136で二酸化シリコン層がパターニングされて、個別の（ただしまだリリースされていない）マイクロ粒子が形成される。次に、シリコン基板をエッチングし、マイクロ粒子を個々の粒子として分離させる無指向性シリコン・エッチングによって、工程140でマイクロ粒子がシリコン基板からリリースされる。上述したような図5のフローチャートは、異なる工程におけるマイクロ粒子の断面図と平面図においてより良好に示される。断面図及び平面図は図6a～図6mに概略的に示される。

【0044】

図6aを参照すると、SiO₂層146、シリコン層148、ハード・マスク層150が、シリコン基板142上に順次堆積される。次に、ハード・マスク層150は、図6bに示されるように、セグメント片（例えば、152及び156）とギャップ片（例えば、154、158）を形成するようにパターニングされる。ハード・マスク層をパターニングすることによって形成されたセグメント片とギャップ片は、標的のマイクロ粒子のセグメントとギャップに対応する。セグメント片とギャップ片は、図6cのマイクロ粒子の平面図により良好に示される。図6cを参照すると、セグメント片（例えば、152、156）とギャップ片（例えば、154及び158）は、層148が上面から見えるように形成される。

【0045】

層のパターニングは多くの方法で行うことができ、その1つは、半導体集積回路やMEMSデバイスの標準的な製造に広く使用されるフォトリソグラフィである。MEMS産業に使用されるフォトリソグラフィの最も一般的な形態は、接触フォトリソグラフィである。レチクル（マスクとして知られる）は、一般的に、ガラス・プレート上の二進クロム・パターンから成る。レチクルは、フォトレジストで覆われたウェハ（又は他の基板）に非常に近接して、又はそれと接触して置かれる。UV光がマスクを通して照射されて、フォトレジストを露光する。次に、ウェハが現像されて、露光領域内のフォトレジストが除去される（ポジティブ型のフォトレジストの場合）。結果として、レチクル上のパターンがフォトレジストに転写され、それが後に続くエッチング工程のマスクの役割を果たす。

【0046】

投影フォトリソグラフィは、最新の集積回路製造にのみ使用される別のタイプのフォト

リソグラフィである。マスクを物理的に接触させる代わりに、投影フォトリソグラフィは、ウェハ上にマスク・パターンの焦点を合わせるためのレンズ系を使用する。このシステムの主要な利点は、投影光学系によってマスク・パターンを収縮できることである。代表的なシステムは5倍の縮小係数を有する。一般に、投影を用いて、接触リソグラフィに比べてはるかに小さな形体サイズを印刷することができる。投影フォトリソグラフィ・システムは、ステップ・アンド・リピート・システム（又は、略してステッパ）としても知られている。マスク上の最大のパターン又はフィールドのサイズは、ウェハ直径よりも大幅に小さい。マスク・パターンは、ウェハ上で繰り返し露光（「順送り」）されて、「ダイ」のアレイを形成する。順送りの距離は、ウェハ・ステージが露光の間にX方向とY方向に移動する距離であり、通常はダイのサイズに等しい。この代表的なスキームにより、同一のダイの重なり合わないアレイが作成されて、その後に、ウェハ上のダイを並列処理することが可能になる。

10

【0047】

ハード・マスク層（150）は、図6d及び図6eに示されるような離散的な区域を形成するため、さらにパターニングされる。図6dに示されるように、ハード・マスク層150は、離散的なハード・マスク区域（例えば、図6eの区域160、162、164、166）を形成するように、X方向とY方向にパターニングされる。次に、これらの離散的なハード・マスク区域は、下の層に離散的なシリコン区域を形成するために使用される。

【0048】

上述の例では、ハード・マスク層のパターニングは2つの個別のリソグラフィ工程で行われる。代替例では、レチクルはパターンを含んでもよいので、ハード・マスクのパターニングは単一のリソグラフィ工程を用いて実施することができる。さらなる代替例として、ハード・マスクは省略することができ、二工程又は単一工程どちらかのリソグラフィ・プロセスが使用される。

20

【0049】

ハード・マスク最上層をパターニングした後、透明度がより高い材料の区域（例えば、図6fに示されるようなギャップ区域170、174）を間に有して、シリコン・セグメント168、172などの対応する離散的なシリコン区域を基板上に形成するように、シリコン層148にエッチングが施される。図6fに示されるマイクロ粒子の平面図が、図6gに概略的に示される。図6gに見られるように、ここで、上から見たときに透過層146が露出しており、セグメント160、162、164、166が透過層146上に形成されている。製造プロセスのこの時点における構造のSEM画像が図9a、図9bに示される。構造は、非常に高い精度、例えば垂直な側壁と明確な角を有する。当然ながら、より丸みを帯びた構造もこれらの方法の範囲内にある。

30

【0050】

シリコン層148をパターニングした後、次に、図6hに示されるように透過層168が堆積される。光透過性がより高い層168は、光透過性がより高い層146と同じ材料から成っていてもいなくてもよい。図6hのマイクロ粒子の平面図が図6iに概略的に示される。基板上の粒子の斜視図が図8に示される。

40

【0051】

次に、マイクロ粒子は互いから分離されるが、図6jに示されるように、下にある基板に付着されたままである。図6kは、図6jのマイクロ粒子の平面図を概略的に示し、図中、各マイクロ粒子は隣接したマイクロ粒子からは分離されているが、光透過層（すなわち、図6hの層168）によって取り囲まれている。最後に、図6lの断面図に示されるように、分離されたマイクロ粒子はシリコン基板142から切り離される。シリコン基板から切り離されたマイクロ粒子の平面図が図6mに示される。下にある基板からのマイクロ粒子の切り離し（「リリース」工程）は、任意の適切なエッチング剤を用いて、好ましくは、全方向でエッチングを施し、マイクロ粒子をアンダーカットするのに適合したガス又は液体を用いて行うことができる。基板自体をエッチングする代わりに、追加の犠牲層

50

を基板上に設けることができる。エッチングは、湿式、乾式、又はプラズマ・エッチングなどであり、したがって、分離層は、選択されたエッチング方法を用いてエッチングを施すことが可能な材料から成ることが望ましい。特に、エッチング剤は、ハロゲン間化合物（例えば、 BrF_3 又は BrCl_3 ）、希ガスハロゲン化物（例えば、 XeF_2 ）、又は HF などの酸性蒸気など、自発性気相化学エッチング剤である。 TMAH 、 KOH （又は、 NaOH 、 CeOH 、 RbOH 、 NH_4OH などの他の水酸化物）、 EDP （エチレン・ジアミン・ピロカテコール）、アミン没食子酸塩、 HNA （フッ化水素酸＋硝酸＋酢酸）が作用しないようにしてガラスをエッチングする HF 、又は他の任意の適切なシリコン・エッチング剤（リリースの際に除去すべき基板又は層がシリコン（非晶質シリコン若しくはポリシリコン若しくは単結晶シリコン）、又はタングステン、窒化タングステン、モリブデン、チタン、あるいは XeF_2 などのシリコン・エッチング剤中で除去できる他の材料のとき）などの液体を使用して、マイクロ粒子をリリースすることもできる。除去されるべき材料がシリコンではない場合、エッチング剤は、当然ながら、犠牲材料に適合される（例えば、フォトレジスト又はポリイミド犠牲層などのための酸素プラズマ分離）。

【0052】

へこみは、特定の製造方法の結果として生じるものであり、最終製品内に残すことができる、あるいは、例えば、平面化、例えば化学的機械的研磨（CMP）技術によって除去することができる。実際に、へこみは、状況によっては、コード検出及び／又は蛍光方法を使用した蛍光の定量化に有用な場合があり、これは、蛍光標識した材料のマイクロバーコードの面への結合（マイクロバーコードの単位長さ当たり）がへこみの区域ではより大きく（いわゆるへこみによる信号増強）、蛍光性がへこみの区域においてより大きくなると共に、コードを決定するのに使用できる（本明細書にて後述される他の透過技術又は反射技術を用いるか用いないかに関わらず）ためである。同じへこみによる信号増強を、蛍光以外のレポーター・システム、例えば放射性レポーターなどで適用できる。

【0053】

上述の例では基板としてシリコン・ウェハに言及したが、ガラス・ウェハ又は大型の板ガラス若しくはガラス・パネル（例えば、フラット・パネル・ディスプレイ産業に使用されるもの）などのガラス基板を使用することができる。ガラス（又はシリコン）ウェハは、任意の適切なサイズ、例えば、 10.2 cm （4インチ）、 15.2 cm （6インチ）、 20.3 cm （8インチ）、又は 30.5 cm （12インチ）のものなどである。ガラス・ウェハが使用されるとき、一般的には、追加の犠牲層が最初に堆積される（リリース工程の間に後で除去するため）。犠牲層は、本明細書において上述したように、シリコン、前周期遷移金属（チタン、クロム、タングステン、モリブデンなど）、又はフォトレジストなどのポリマーなどの、半導体材料などである。

【0054】

（SEM）

図1aのセグメント（例えば、セグメント102）の走査型電子顕微鏡（SEM）画像が図9cに示される。図面に見られるように、セグメントの断面はほぼ正方形である。セグメントの頂部は $1.0\text{ }\mu\text{m}$ の幅を有し、セグメントの底部の幅は $1.2\text{ }\mu\text{m}$ である。セグメントの高さは約 $1\text{ }\mu\text{m}$ である。当然ながら、より大きな寸法又はより小さな寸法が可能である。

【0055】

上述したような代表的な製造方法を用いて製造された多数のマイクロ粒子のSEM画像が図10aに示される。SEM画像は、マイクロ粒子の透過性材料に取り囲まれた不透明なセグメント172を明確に示す。さらに、上述したへこみを明確に見ることができる。図10aのSEM画像における試料は、粒子の長軸に垂直にチップ分割し、次に、単に画像化のため、時間を設定してシリコンにエッチングを施して、内側のシリコンと外側の二酸化シリコンのコントラストを上げることによって、特性決定のために準備されたものである。

【0056】

(リリース)

本発明のマイクロ粒子は、ウェハ・レベルで製造し、ウェハ・レベル又はダイ・レベルのどちらかでリリースすることができる。具体的には、一組のマイクロ粒子をそれぞれ含む複数のダイを、ウェハ上に形成することができる。各ダイ上のマイクロ粒子は同じであってもなくてもよく、すなわち、各ダイ上のマイクロ粒子は同じコードを有していてもいなくてもよい。マイクロ粒子を形成した後、ダイをウェハから分離することができ、その後、単一化されたダイ上のウェハ（１つ又は複数）を除去することができる。代表的なウェハ・レベルの製造方法が図１３a～図１３cに示される。

【００５７】

図１３aを参照すると、複数のダイがウェハ２３６上に形成される。この特定の例では、多数のマイクロ粒子が各ダイ上に形成される。各ダイ上の、３、２２１、又は９６７などの番号は、ダイのマイクロ粒子に組み込まれたコードを表す。マイクロ粒子は、図６a～図６mを参照して上述したような方法を用いて形成することができる。マイクロ粒子を形成した後、ただしリリースする前に、ウェハを、好ましくはウェハ厚さの約半分の深さまで部分的に切断することができる。次に、ウェハは、例えば溶剤及び／又は強酸（硫酸、過酸化水素の組み合わせ）を用いて洗浄される。洗浄は、その後の機能化及び生体分子の付加のために新しいガラス面を準備するので、重要な工程である。洗浄は、ウェハが個々のダイに分離された後に、又は粒子がリリースされてから粒子に対して行うこともできる。

【００５８】

マイクロ粒子を形成した後、次に、ウェハは、図１３bに示されるようにダイに分割されるが、各ダイは、必須ではないが単一のコードを含むことが好ましい。次に、ダイは、図１３cに示されるように、リリースのため、試験管又はウェル・プレートのウェルなどの個別の容器に入れられる。ウェル・プレートは、一般的な９６ウェル・プレート（又は２４ウェル、３８４ウェルなど）、あるいは他の任意の適切な組の保持区域又はコンテナである。例えば、３、２２１、９６７などの数値で表されたコードを含むダイは、リリースのため、異なるチューブに入れられる。リリースによって、マイクロ粒子はウェハから切り離され、粒子は、湿式エッチングが使用されるとき、リリース液の状態の溶液に入れられる。マイクロ粒子は、重力により、時間が経つにしたがってチューブの底に沈む（又はチューブを遠心分離機にかけることができる）。いくつかの応用例では、１つ又は複数のコードを含む多数のダイを単一のコンテナ内へ放出することが望ましいことがある。

【００５９】

図１２aはリリース前の粒子を示し、図１２bはリリース後の同じ粒子（すなわち、同じダイからの粒子）を示す。これらの画像は両方とも、非倒立型の顕微鏡上で１００倍の空気対物レンズ(air objective)を用いて得た光学顕微鏡画像である。図１２bでは、粒子はシリコンチップ上で乾燥されている。

【００６０】

リリース工程は、乾式エッチング、湿式エッチング、分離型プラズマ・エッチングなど、多くの方法で行うことができる。図１１aに概略的に示される代表的な湿式バルク・エッチングでは、水酸化テトラメチル・アンモニウム（TMAH）がエッチング剤として使用される。TMAHは、約７０～８０℃の温度まで加熱することができる。ハロゲン間化合物（例えば、 BrF_3 及び ClF_3 ）や希ガスハロゲン化物（例えば、 XeF_2 ）、自発性蒸気相エッチングの場合のHF、ガス相エッチングの場合の水酸化カリウム、KOHその他の適切なエッチング剤など、他の化学エッチング剤も使用することができ、等しく良好に作用する。コードを各コンテナ内に安全に保持し、マイクロ粒子が隣接したウェルに混入するのを避けるため、液体又はガスのどちらを使用してリリースが行われるかに関わらず、マイクロ粒子の最小寸法よりも小さな特徴的なアパーチャを有するスクリーン（又は孔を備えたフィルタ膜）を、各ウェル又はコンテナの上に置くことができる。エッチング、特にガス相エッチング又は乾式エッチングの間、メッシュを各チューブに取り付け、チューブ、ウェル、若しくはコンテナの一端の上に付けるか、又は多数のメッシュでチュ

ーブ、ウェル、若しくはコンテナの2つ以上の側面を覆うことができるので、ガス・エッチング剤やエッチング生成物がメッシュを通して自由に流れる一方、マイクロ粒子をメッシュによって遮断することができる。メッシュ又は他のフィルタは、マイクロ粒子を放出することなく、液体のリリースエッチング剤を同様に排出する助けとなる。リリースエッチング・プロセスの別の例が図11bに示され、これは、上述したように、犠牲層の堆積又は形成を伴う。

【0061】

遠心分離又は時間の経過によって粒子をペレットティングした後、液体（いわゆる上澄み）が除去され、粒子が水又は溶剤の中で数回洗浄される。「洗浄」は、上澄みを新しい液体と連続的に交換することを指し、通常は次の化学処理工程に参与する。マイクロ粒子を基板（又はウェハ）から切離した後、マイクロ粒子をチューブ内に残して、基板をエッチング剤から除去することができる。次に、リリースされたマイクロ粒子は使用のためにコンテナに移すことができる。

【0062】

マイクロ粒子は、図13a～図13cに示されるようにウェハ・レベルで製造することができる。図13aを参照すると、図2の工程122を参照して上述したような基板であるウェハ236は、ダイ1、3などの複数のダイを含む。本発明の一例では、ウェハは、10以上、24以上、30以上、又は50以上のダイを有する。各ダイは、本発明の多くのマイクロ粒子を含み、その数は、10000個以上、20000個以上、又は50000個以上でもよい。同じダイの中のマイクロ粒子は好ましくは同じであり（ただし必須ではない）、異なるダイの中のマイクロ粒子は、異なるコードを表すように好ましくは異なる（やはり必須ではない）。異なるダイが異なるコードのマイクロ粒子を含む例では、図面に示されるように、ダイとダイの中のコードを区別するように、ダイには固有の識別番号が割り当てられることが好ましい。

【0063】

図14は、本発明の8個のコード化されたマイクロ粒子の反射モード倒立顕微鏡画像を示す。背景が黒いこのような白黒の顕微鏡画像は全て、倒立エピ蛍光顕微鏡において、ウェル・プレートのウェル内のリリースされた粒子を用いて得られる。粒子は、液体中のウェル内に分配され、重力によって底面に沈み、そこで下から画像化される。図14の粒子はそれぞれ異なるコードを有する。透明度がより低い材料（例えば、可視スペクトル内において不透明な材料）のセグメント、この場合は非晶質シリコンは、光を反射し、画像ではより明るい領域である。周囲の透明材料、この場合は二酸化シリコンは、反射モード画像では見えない。粒子は、長さ16 μm 、幅2 μm であり、断面がほぼ正方形である。画像は、8個の画像から選択したものの組み合わせであり、それぞれが各コードに対応する。照明光は436 nmであり、使用される対物レンズは倍率60倍の油浸レンズである。

【0064】

図16は、図14と同じ拡大率で得られた全視野の単一画像を示す。画像は多くの異なるコードの混合物である。全ての粒子は、高密度単分子層を形成し、すなわち、粒子の集合又は凝集はない。単分子層形成の特性は、本発明のマイクロ粒子の重要な利点の1つである。マイクロ粒子が重なり合うか、集合するか、又は凝集すると、マイクロ粒子は適切に識別されない。結果として、本明細書のように単分子層を容易に形成しないマイクロ粒子は、比較的低い密度（イメージング面上における単位面積当たりのマイクロ粒子の総数）で使用せざるを得ない。低密度イメージングは、単位時間当たりに測定される粒子の数に関して、それに相当する低いスループットと解釈される。この低いスループットは多くの応用例における制限となる。

【0065】

マイクロ粒子が単分子層を形成する傾向は重要でないわけではない。単分子層の形成は、マイクロ粒子の面電荷状態（又はゼータ電位）、特定の溶液中でのマイクロ粒子の密度、マイクロ粒子が中に含有される流体、マイクロ粒子がその上に配置される面など、多くの要素を伴う。したがって、本発明のマイクロ粒子は、材料で構成され、静摩擦力をほぼ

克服するのに十分な荷電状態を維持するのに有利な形態で構成され、したがって、マイクロ粒子はブラウン運動を行うことができ、それによって粒子の適度に稠密な単分子層を形成することが容易になる。

【0066】

生物学用途では、マイクロ粒子は生化学プローブ分子を運ぶために使用されることが多い。そのようなプローブ分子を不動化するため、微細構造は、好ましくは、プローブ分子に付着するように化学的に修飾することができる、二酸化シリコン層などの面層を含む。本発明の一例によれば、マイクロ粒子は、例えば液体を含むウェルの底部に、マイクロ粒子が単分子層を形成することができるように構成され、単分子層は、1平方ミリメートル当たり500個以上、好ましくは1,000個以上、2,000個以上、又は1平方ミリメートル当たり3,000個以上の粒子を含む。代替例では、マイクロ粒子は、検出可能な粒子が画像面積（すなわち、画像視野）全体の30%以上、50%以上、又は70%以上を占めるようにして、単分子層を形成することができる。自己構成単分子層形成のメカニズムの例に関して、本発明のマイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ を超えることが好ましい。マイクロ粒子の単分子層を収容するため、検出の際にマイクロ粒子を保持するコンテナは、好ましくはほぼ平坦な底部分を有する。

【0067】

図15は、本発明のコード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図を示す。光学系254は、バイオアッセイ用途のためを含む、マイクロ粒子コードを読み取るのに使用することができる。システムは、倒立エビ蛍光顕微鏡構成である。本発明のマイクロ粒子を検出するための他の代表的な光学顕微鏡システムとしては、共焦点顕微鏡システム、内部全反射蛍光（TIRF）などが挙げられるが、これらに限定されない。ウェル・プレート257は多くのウェルを含有し、その単一のウェル256が画像化される。ウェル・プレートは顕微鏡ステージ258上に置かれる。液体中のウェル256内に分配されているマイクロ粒子は、重力によって底面に沈む。光源268から来る光は、照明波長を選択する励起フィルタ266を通り抜ける。照明光はビーム・スプリッタ262で反射し、対物レンズ260を通過して上に移動する。一般的には、ウェル256の底面積の一部分のみが画像化される。画像化された区域は「視野」又は「視野区域」と称される。反射光又は放射光（共に集合光として知られている）は、対物レンズの下に戻り、ビーム・スプリッタ262を通り抜ける。放射フィルタ270は収集波長を選択する。最後に、集合光は、CCDカメラなどの検出器272を用いて記録される。光学系のこの簡略化された形は完全なものであることを意味しない。実用上、実際の顕微鏡は、高スループット・イメージングのための自動ステージや自動焦点システムを含むのが好ましく、より多くの機構を有してもよい。励起フィルタと放射フィルタは、コンピュータ制御式のフィルタ・ホイールに取り付けることができ、反射画像と蛍光画像に対して自動的に変更される。コンピュータ制御式のシャッターは露光時間を制御する。

【0068】

図43は、2つのCCDカメラを利用して反射画像と蛍光画像を同時に取得する、コード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図を示す。光学系はバイオアッセイにおける検出に使用される。システムは倒立エビ蛍光顕微鏡構成である。好ましい実施形態では、ウェル・プレート201は多くのウェルを含有し、その単一のウェル203が画像化される。ウェル・プレート201は顕微鏡ステージ209上に置かれる。流体中のウェル203内に分配されている粒子は、重力によって底面に沈む。光源215から来る光は、照明波長を選択する励起フィルタ219を通り抜ける。照明光はビーム・スプリッタ213で反射し、対物レンズ211を通過して上方に移動する。一般的には、ウェル203の底面積の一部分のみが画像化される。画像化された区域は「視野」又は「視野区域」と称される。反射光又は放射光（共に集合光として知られている）は、対物レンズの下に戻り、第1のビーム・スプリッタ213を通り抜ける。次に、集合光は、第2のビーム・スプリッタ217を通り抜け、そこで反射パスと蛍光パスに分割される。放射フィルタ221は蛍光パス内に位置し、適切な蛍光発光波長を選択する。蛍光パス内の光は蛍

光CCDカメラ223を用いて記録される。反射パス内の光は反射CCDカメラ225を用いて記録される。光学系のこの簡略化された形は完全なものであることを意味しない。実用上、実際の顕微鏡システムは、高スループット・イメージングのための自動ステージ及び自動焦点システムを含むのが望ましく、より多くの機構を有してもよい。励起フィルタ219と放射フィルタ221は、コンピュータ制御式のフィルタ・ホイールに取り付けられてもよく、多重蛍光体実験に対して自動的に変更される。コンピュータ制御式のシャッターが、露光時間を制御するために使用されてもよい。

【0069】

図43に示されるシステムは、フィルタ・ホイール（又はフィルタ・キューブ・ホイール）を利用して反射画像と蛍光画像を連続して取得する、1つの標準的なカメラ・システムを改善したものである。本発明は、出射光線のパスをビーム・スプリッタを用いて2つの成分に分割することによって実施される。一方の成分は反射パスであり、1つのCCDカメラで捕捉される。他方の成分は蛍光パスであり、適切な波長を得るためにフィルタリングされ、第2の適合したCCDカメラで捕捉される。ビーム・スプリッタは、より多くの光が蛍光パスに方向付けられて、2つのカメラにおける露光時間がほぼ等しくなるように設計することができる。2カメラ・システムの本発明により、スループットが増加するという利点が提供される。それに加えて、本発明により、1カメラ・システムの画像には存在し得る、反射画像と蛍光画像の対の間における位置のシフトが排除されるという利点が提供される。これによって、粒子が画像対の両方の画像において同じ物理的位置にあるので、コンピュータ・ソフトウェアに基づく画像対の処理が簡略化される。さらなる実施形態では、光学系はバイオアッセイにおける検出に使用される。

【0070】

図17は、コード化されたマイクロ粒子の高倍率画像を示す。画像化された粒子は、変化するサイズの離散的なセグメントから成る。最小サイズのセグメント20は0.6 μm である。端部セグメント22は単一粒子の端部を形成する。本発明の代表的な一例は、サイズが1.5 μm 未満の空間的コード化機構を備えたコード化されたマイクロ粒子から成る。

【0071】

図18aは、コード化されたマイクロ粒子の12個の稠密な反射画像を合成した図を示す。約6,000個の粒子が画像内にある。粒子は、384ウェル・プレートの1つのウェル内にある合計約200,000個の粒子のごく一部分である。粒子の合計は、1035個のコード（バッチ）を含む組の約10%である。この組は、1035個のバッチそれぞれから、約2,000個の粒子を組み合わせることによって形成されたものであり、各バッチは単一コードの約200万個の粒子を含有していた。これらの画像は、識別精度に関するデータが後述される、画像のより大きな集合の部分集合である。

【0072】

図18bは、本発明のマイクロ粒子の例の透過蛍光顕微鏡画像を示す。それに加えて、ここでは、全体がガラスである外面を有する小さな細長いコード化されたマイクロ粒子が示される。シリカ（例えば、ガラス又は二酸化シリコン）の外面と、70 μm 未満（例えば、50 μm 未満）の長さとを有する、多数の非球状のコード化された粒子が示される。この特定の例における粒子の例の長さは15 μm である。

【0073】

この画像では、粒子は、懸濁された蛍光分子を含む溶液中にある。蛍光分子は、顕微鏡の光源によって励起されると、上方から（すなわち、基本的な光学系の図である図15を参照して、収集光学に対して後方から）粒子の照明を提供する。この画像は、透過モード・イメージング構成において生成されるものに類似しており、図16～図18aの反射モード画像とは異なり、粒子の外側ガラス面が明確に示される。

【0074】

マイクロ粒子を成功裡に識別するため、例えば、その中に組み込まれたコードを読み取るため、マイクロ粒子の画像が処理される。そのような画像処理は、ソフトウェア・プロ

グラムの助けを借りて行うことができる。ソフトウェア・プログラムとアルゴリズムの代表的な例にしたがって、未加工及び加工済みの画像の対が、図 19 a、図 19 b、及び図 20 a、20 b に示される。

【0075】

図 19 a は全視野反射画像を示し、図 19 b は、離散的なセグメントを関連させて完全なマイクロ粒子とするように画像処理された後の、図 19 a と同じ選択画像を示す。画像中に示される粒子は単一コードのものである。本発明のコード化されたマイクロ粒子の画像は、反射イメージングでは白く見える離散的なセグメントから成る。ガラスから成る個々のマイクロ粒子のセグメントの間にあるギャップは透明であり、したがって、反射画像では黒く見える。画像の背景も黒である。セグメントは、アルゴリズムによって互いに関連付けられて粒子となる。アルゴリズムは、長いセグメントの長軸を見出し、軸線に沿ってセグメントを探索する。セグメントは、予め定められたパラメータに基づいて受理され、又は拒否される。図 19 b における黒い線は、セグメントが互いに関連付けられている粒子に対応する。上述のアルゴリズムの代表的な一例では、コンピュータ・プログラム製品が、画像中の離散的な領域を関連させて個々の粒子とすることにより、コード化された粒子のコードを識別する。

【0076】

図 20 a は反射画像を選択したものを示し、図 20 b は、離散的なセグメントを関連させて完全なマイクロ粒子とするように画像処理された後の、図 20 a と同じ選択画像を示す。画像中に示される粒子は多数のコードのものである。粒子のセグメントには番号が付けられている。図 20 b における黒い線は、画像処理ソフトウェアによって粒子の形にグループ化されたセグメントを示すために描かれている。

【0077】

図 21 を参照すると、処理済みの画像が右側に示され、4 個のマイクロ粒子の例から得たピクセル強度プロファイルが左側に示される。ピクセル強度プロファイルは、マイクロ粒子のコードを決定するため、コンピュータ・ソフトウェア・プログラムによってさらに処理される。左下のピクセル強度プロファイルの中の円によって示されるように、ギャップの中心位置を識別することによって、マイクロ粒子のコードを識別することができる。上述したように、中心ギャップ位置は、粒子製造プロセス又は画像処理の両方における変化、すなわち、図 1 A の代表的な構造の例を構成する実際のセグメントとギャップの寸法における変化に敏感ではない。この特徴は、コード化されたマイクロ粒子の着実かつ正確なコード識別をもたらすので、非常に有利である。

【0078】

表 3 は、図 18 a に示される画像を包含する画像の組に対する識別データを示す。

【0079】

【表 1】

表 3

画像	全 ID% 30,069 コード	限定 ID% 1,035 コード
40 倍対物レンズ 500 粒子/画像 測定粒子数 9866 個	99.5%	99.98%
60 倍対物レンズ 250 粒子/画像 測定粒子数 2733 個	99.85%	99.995%

【0080】

表 3 に含まれるマイクロ粒子は 30, 069 個のコードスペースを有し、ここで、コードスペースは、特定の粒子設計によって、すなわち選択されたコード体系とコード体系パラメータによって可能なコードの総数として決められる。予め定められた識別方法は、粒子セグメント情報の分析に基づいて、30, 069 個の可能なコードの 1 つを割り当てる。1035 個のコードが無作為に選択され、製造され、集合体を形成するように混合された。集合体の識別を分析するとき、ソフトウェアによって割り当てられたコードが 1035 個の 1 つであれば、それは正確であると仮定される。「正確に」識別された粒子の数を総数で割ったものが「ID %」と呼ばれる。この仮定により、統計誤差が 1035 個の存在するコード以内に収まる確率、すなわち $1035 \div 30,069 = \text{約 } 3\%$ の分だけ、誤り率 $(1 - \text{ID}\%)$ が低く見積もられる。したがって、仮定はこの 3 % の偏差を無視し、真の識別精度に近い近似をもたらす。

10

【0081】

図 22 は、画像化のためにコード化されたマイクロ粒子を不動化し分離するように設計された形体を有する、特別に準備された面の概略図を示す。面は、形体、例えば、粒子を捕らえる溝及び／又はくぼみを含む。そのような面は、面上に被覆された分子の性質又はイメージング媒体の特性によって、粒子の凝集が増加するような応用例において有用である。図 22 は、粒子を捕捉するように設計された溝 322 を備えた、そのような基板 320 の一例を示す。基板 320 はガラスであることが好ましいが、他の材料、例えば他の透明材料であってもよい。図 22 に示される溝 322 は V 字形を有するが、粒子を捕捉するというタスクを実施する正方形又は U 字形の底部を有するなど、任意の形状を取ってもよい。粒子が面上に置かれると、粒子 324 は溝に入り込み、不動化される。代表的な一例では、細長くほぼ正方形の断面を有する本発明のコード化されたマイクロ粒子は、平面の底部を有する溝内で不動化されてもよい。

20

【0082】

代替例では、図 23 及び図 24 に示されるように、マイクロ粒子が流体中を流れることを可能にするフロー・セルを、連続的な画像化による検出のために設けることができる。図 23 を参照すると、反射画像と蛍光画像の対は、図 6 に示される光学系を用いて取得されるが、ウェル・プレートはフロー・セル 320 と置き換えられる。コード化されたマイクロ粒子 322 はキャリア流体中を流れる。フローは、圧力（流体力学）又は電気的手段（電気泳動若しくは電気浸透）によって駆動されてもよい。さらに、マイクロ粒子は電界又は磁界と整列されてもよい。フローは、矢印によって示されるように左から右に流れる。図 23 の上側の図は所定の時間におけるフロー・セルを示し、図 23 の下側の図はその後の時間における同じフロー・セルを示している。粒子は、視野の長さとはほぼ同じ距離だけ変位されている。光学系の対物レンズ 330 がフロー・セルの下に示されるが、フロー・セルの上に置かれてもよい。それに加えて、フロー・セルは、例えばフローが垂直に向けられるようにして、他の構成で置くことができる。対物レンズ 330 は捕捉視野区域 328 を画像化する。第 1 の視野区域 324 と第 2 の視野区域 326 は斜線領域として示される。上側の図では、第 1 の視野区域 324 が捕捉視野区域 328 と重なり合っており、したがって第 1 の視野区域 324 が画像化される。下側の図では、第 2 の視野区域 326 が捕捉視野区域 328 と重なり合っており、したがって第 2 の視野区域 326 が画像化される。フロー速度、フロー・セルのサイズ、及び光学系を適切に適合させることによって、フロー・セルを通り抜ける全ての粒子を画像化し、それによって高スループット検出のためのシステムを供給することができる。本発明のコード化されたマイクロ粒子を高スループット・フローに基づいて検出するための別の代表的なシステムは、フロー・サイトメーターであり、その方法及び用途は当該技術において良く知られている。

30

40

【0083】

本発明の別の代替のマイクロ粒子が図 25 に概略的に示される。図 25 を参照すると、マイクロ粒子 274 は、276 などの不透明なセグメントと、可視光又は近可視光に対して透過性の 278 などのギャップとを含む。不透明材料は、全体的又は部分的に、ニッケル、コバルト、又は鉄などの（ただしそれらに限定されない）磁性材料から成る。磁性材

50

料は、不透明材料の大部分を形成する別の材料の間に挟まれた、薄い層 280 として組み込むことができる。磁性材料は、粒子を磁界によって操作することができるように、それらに磁気特性を付与する。これにより、粒子の取扱いを助け、又は生体分子の分離が容易になる。

【0084】

図 26 は、蛍光性の外側層 406 を有する空間的かつ光学的にコード化されたマイクロ粒子の図を示す。本発明は、材料の物品の標識付けにおいて有用性を有し、それにより、蛍光層が、様々な背景に対して粒子を容易に見出し識別する能力が改善される。代表的な一例では、蛍光性の外側層 406 は、ストーパー・プロセスを修正したものを使用して成長される [Van

Blaadern, A, ; Vrij, A. ; Langmuir. 1992. Vol. 8, No. 12, 2921]。蛍光性の外側層 406 によって粒子全体が蛍光性になり、検出中に粒子を見出すのが容易になる。粒子コードの読取りは、反射モード又は蛍光モードで粒子を画像化することによって実施することができる。用途によっては、粒子が内部に加えられた媒体又は粒子が塗布された面の応用に依存した他のものよりも好ましいことがある。単一コードの粒子を使用することができ、あるいは、異なるコードの粒子の混合物を使用することができる。粒子は、ラッカー、ワニス、又はインクなどの媒体に加えることができる。粒子は、紙又は繊維に標識付けするのに使用されてもよい。粒子は、金属、木、プラスチック、ガラス、又は任意の他の材料で作られた物体に標識付けするのに使用されてもよい。

【0085】

別の例では、蛍光層は、蛍光体又は他の発光材料から成ってもよい。蛍光層は、アッセイの際に分子種と、例えば、蛍光共振エネルギー転移プロセスによって、蛍光標識された核酸又はタンパク質試料と相互作用してもよい。さらに別の例では、マイクロ粒子は非蛍光層を有してもよく、その際、その層の中又は上には、分子が、例えば発光エミッター分子 (luminescent

emitter

molecules) と相互作用するクエンチャーが組み込まれる。

【0086】

図 27a~27c は、空間コードを形成する面にへこみを有する、本発明のコード化されたマイクロ粒子の概略図を示す。マイクロ粒子は、上述の例などの多くの方法によって製造されてもよい。図 27a は、構造の面上にのみ、ディボットとして知られる面のへこみ、例えば溝を有する。図 27b は 2つの面上にディボットを有する。他の例では、ディボットと他の望ましい面形体は、空間コードを提供するように、マイクロ粒子構造の 1つ又は複数の面上に置かれてもよい。図 27c は、そのような構造の別の例を示しており、それにより、マイクロ粒子の全体形状はほぼ円筒状である。図 27c のマイクロ粒子を作成する方法の例では、1mm未満の直径を有する光ファイバーにレーザ・スクライブ又はチップ・スクライブを施して、へこみが形成されている。図 27a~27c の構造の組成は、多種多様な材料から選択されてもよいが、ガラスが好ましい一例である。

【0087】

へこみを含むコード化されたマイクロ粒子の代表的な例では、図 27d に示されるように、粒子の面には、その面に又はその中に付着された蛍光分子又は他の発光分子を備えている。発光分子は、面に共有結合されるか、面に吸着されるか、又は別の方法で面に結合されてもよい。代表的な一例では、発光分子は、マイクロ粒子上に堆積される層に組み込まれる。発光分子が均一に面を覆うことにより、例えば、単位面積当たりの蛍光体の数が一定であることにより、不均一な空気密度が得られる。空気密度は、単位長さ又は単位面積当たりの強度として定義され、光学画像面における視野の深さ通して積算される。この例では、空気密度は、検出器、例えば CCD カメラ又は光電子増倍管によって測定される信号強度プロファイルとして測定される。図 28a~28c は、図 27a~27c の対応する粒子に関して、粒子面に対して直角 (すなわち、垂直) に測定された不均一な空気密

度を示す。信号強度プロファイルは、粒子の面のへこみの場所に対応するピークを有し、それらが結果として検出可能かつ有用なコードをもたらす。図 27a~27c のコード化されたマイクロ粒子の面形体は、光散乱の測定、例えば暗視野光学顕微鏡などを包含するがそれに限定されない、発光分子を使用する以外の方法によって検出されてもよい。

【0088】

マイクロ粒子に対するコードを生成する本発明の一般的な方法は、粒子領域当たり単一のコード要素を多重リソグラフィ印刷する工程を使用することから成る。多重印刷工程により、粒子領域当たり多数のコード要素が作成される。コード要素は総合的にマイクロ粒子のためのコードを形成する。好ましい一例では、印刷工程は、マスター・パターンを使用して多くの粒子に対して並行して行われる。マスター・パターンは、粒子領域当たり単一のコード要素のアレイを含む。コード要素は、穴、ストライプ、又はギャップなどの2つ以上の物理的特徴を表す。マスター・パターンは、完全なコードを備えた多数のマイクロ粒子が形成されるように複数回印刷され、その際、多数のマイクロ粒子は同一の粒子を含む（例えば、全ての粒子が同じコードを有する）。この主題に対する変形例、例えば多数のマイクロ粒子が同一でない場合が予想され、以下に詳細に記載される。多重印刷工程間において、印刷システム全体の1つの構成要素が変わって、粒子領域内のコード要素を並進させる。最も好ましい一例では、この変更は粒子がその上に形成される基板の移動である。別の好ましい一例では、この変更はマスター・パターンの移動である。さらに他の例では、この変更はミラーなどの光学素子の移動である。

【0089】

多重印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代表的な一例は、印刷機構としてのフォトリソグラフィ、例えば接触リソグラフィ又は投影リソグラフィを含む。投影リソグラフィの代表的な一例は、ステップ・アンド・リピート・システム（ステップとして知られる）を利用する。レチクルは、粒子当たり単一のコード要素を有するコード・パターンを含む。このコード・パターンを異なる横方向のオフセットで多重露光することにより、多数のコード要素（粒子当たり）が作成される。これらのコード要素は組み合わせられて完全なコードを形成する。横方向のオフセットはコードを決め、ステップ・ソフトウェアにプログラムされる。オフセット、したがってコードは、ダイごとに、又はウェハごとに変更させることができる。したがって、ウェハ上の異なるダイ上に、かつ／又は異なるウェハ上にまとめて印刷されるコードは、ソフトウェアによって制御され、任意に変更することができる。これにより、大きな組のコードを製造する際の強力な柔軟性が可能になる。1個~数個のマスクを有する単一のマスクの組を使用して、 10^5 個程度以上の任意の数のコードを生成することができる。

【0090】

図 29a~図 29c は、マイクロ粒子のためのコードを作成する本発明の方法の代表的な一例を示す。マイクロ粒子領域 290 は、製造プロセスを完了する際に離散的な粒子になる区域である。図 29a は、各マイクロ粒子領域 290 に第1のコード要素 292 を印刷した後の状態を示し、この代表的な例では、コード要素は垂直のストライプである。図 29b は、各マイクロ粒子領域 290 に次のコード要素 294 を印刷した後の状態を示す。図 29c は、各マイクロ粒子領域 290 にさらに3つのコード要素 296 を印刷した状態を示す。このようにして、多重印刷工程はマイクロ粒子上にコードを設ける。

【0091】

図 30a~図 30c は、マイクロ粒子のためのコードを作成する本発明の方法の別の例を示す。マイクロ粒子領域 300 は、製造プロセスを完了する際に離散的な粒子になる区域である。図 30a は、各マイクロ粒子領域 300 に第1のコード要素 302 を印刷した後の状態を示し、この代表的な例では、コード要素は円形である。図 30b は、各マイクロ粒子領域に次のコード要素 304 を印刷した後の状態を示す。図 30c は、各マイクロ粒子領域 300 にさらに3つのコード要素 306 を印刷する状態を示す。このようにして、多重印刷工程はマイクロ粒子上にコードを設ける。

【0092】

図 3 1 a ~ 3 1 c は、マイクロ粒子構造の好ましい実施形態における 3 つのマスク・フィールドの図を示し、図 3 1 d は、レチクル・プレートの図を示す。図 3 1 a ~ 3 1 c は、はるかに大きなフィールド全体の小さな代表的区域である（約 2 0 0 万個の粒子のうち 4 6 個のみが示される）。これらの図面では、灰色の領域は実際のレチクル上にクロムを有し（レチクル用語においていわゆる「暗い」）、白い領域はクロムを有さない（いわゆる「明るい」）。物理的には、レチクルは、通常 $12.7 \sim 15.9 \text{ cm}^2$ （ $5 \sim 6.25$ 平方インチ）及び厚さ約 0.23 cm （ 0.09 インチ）のガラス・プレートである。それらは、クロムの薄い（数百 nm ）層で覆われる。クロムは、連続リソグラフィ・プロセスによって、通常はレーザ又は電子ビームシステムを使用して、レジストを用いてパターンニングされる。次に、レチクルに湿式エッチングが施され、それによってクロムが選択的に除去される。その結果、最終的なレチクルは、一方の側面上に所望のパターンでクロムを有するガラス・プレートから成る。

【0093】

図 3 1 a に示されるコード・パターンは、明るい垂直のストライプ 1 1 0 を有する。粒子当たり 1 つの垂直のストライプがある。図 3 1 b は、暗い水平のストライプ（又は、同等に明るいより幅広の水平のストライプ）から成るバー・パターンを示す。図 3 1 c に示される輪郭パターンは、暗い長方形 1 1 4 から成る。明るい列 1 1 6 は水平方向と垂直方向に延びて、長方形 1 1 4 を分離する。長方形 1 1 4 は粒子の外側の境界線を形成する。水平のストライプ 1 1 2 は不透明材料の内側セグメントの幅を規定する。垂直のストライプ 1 1 0 はセグメント内のギャップを形成する。ギャップ双方は、粒子内のコードを形成し、かつ 2 つの隣接した粒子を分離する。図 3 1 d はレチクル・プレート全体を示す。レチクル・フィールド 1 1 8 は、露光されるパターンを含むレチクルの中央領域である。コード及びバーのパターンを組み合わせ、記載される多重印刷方法にしたがって使用することができる単一パターンとするなど、記載されるパターンの代替例も想起される。

【0094】

コードを作成するための本発明の方法の代表的な一例は、フォトリソグラフィやポジティブ型フォトリソレジストを使用する。ポジティブ型は、感光される区域が現像によって取り除かれることを意味する。ネガティブ型レジストの場合、露光領域は現像後に残る領域である。光硬化性エポキシ樹脂 SU-8 はネガティブ型レジストの一例である。SU-8 などのネガティブ型レジストを使用する代替例では、ギャップとなる領域の変わりにセグメントとなる領域が露光される。

【0095】

図 5 2 a ~ 5 2 c は、コード要素のパターンニング及びエッチング工程の例のフローチャートを示す。図 5 2 a は、ハード・マスクが使用されない場合を示す。このプロセスはより単純であるが、フォトリソレジスト露光の近接効果のため、丸みを帯びた角を有するセグメントが作成されることがある。セグメントの角において、フォトリソレジストは、コード・パターンの垂直のストライプとバー・パターンの水平のストライプの両方から、ある程度の残留している露光を受ける。結果として得られる角の丸みは、本発明の範囲内であるものの、作成される最終的な粒子が側面からと上面及び下面からとは異なって見えるため、あまり望ましくない。丸みが生じる程度は、レチクル上のパターン、光源の波長、フォトリソレジストなど、フォトリソグラフィ・プロセスの詳細によって変わる。図 5 2 b は、多重印刷方法に基づくパターンニング・プロセスの代表的な一例を示し、以下の図 3 3 a ~ 3 3 m 及び図 3 4 a ~ 3 4 m に詳細に記載される。図 5 2 c は、粒子製造プロセスの別の例を示し、バー・パターンをハード・マスクに転写する代わりに、バー・パターンのフォトリソレジストが、ハード・マスク酸化物と併せてマスクとして使用される。この例の方法によっていくつかの工程が不要になるが、ポリ・エッチング化学作用の詳細によっては適切でないことがある。

【0096】

多重印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代替例は、印刷機構としてスタンピング（インプリント・リソグラフィとして知られる）を利用するもので、図 3 2 に

概略的に示される。図 3 2 は、本発明のコードを構築するための多重印刷工程方法、例えば、1) 粒子を含む基板にスタンプ装置を型押しするか、又は押し付け、次に、2) スタンプ装置又は基板のどちらかを動かし、3) 近くの位置で少なくとももう一度型押しすることで、マイクロ粒子上の完全なコードが形成される方法による、スタンプ印刷のためのマスター・パターンの例の小さな領域を概略的に示す。インプリント・リソグラフィを使用して、マイクロ粒子をその上に形成することができる基板は、100mm、150mm、200mm、若しくは300mmのシリコン・ウェハなどのウェハ、あるいは、12.7cm(5インチ)以上のガラス若しくは石英のパネル、又は巻取りシート(ポリマー・シートが挙げられるがそれに限定されない)であってもよい。

【0097】

図 3 3 a ~ 3 3 m 及び図 3 4 a ~ 3 4 m は、図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す。これらの工程は内部の不透明なセグメント(コードを含む)を形成する。工程は、図 6 a ~ 6 m よりも詳細に示され、フォトレジスト露光と現像を包含する。図 3 3 a ~ 図 3 3 m は上面図を示し、図 3 4 a ~ 図 3 4 m はそれに対応する断面図を示す。横断線 5 0 が図 3 3 a ~ 図 3 3 m に示される。図 3 3 a では、上面はハード・マスク酸化物 5 8 である。図 3 4 a では、下地基板 5 2 上のフィルム・スタックは、下側の酸化物 5 4、ポリ 5 6、ハード・マスク酸化物 5 8 から成る。図 3 3 b では、ウェハは未露光のフォトレジスト 1 2 0 で覆われている。未露光のフォトレジスト 1 2 0 は、図 3 4 b では最上層として示される。図 3 3 c、3 4 c では、未露光のフォトレジスト 1 2 0 は、コード・パターンを用いて 1 回露光されて、露光済みのフォトレジスト 1 2 2 領域を形成している。図 3 3 d、3 4 d では、コード・パターンは、露光の間に横方向にずらして複数回露光されている。好ましい実施形態では、コード・パターンは直接隣接した領域で 2 回露光されて、二重幅のストライプ 1 2 4 を形成する。単一幅のストライプ 1 2 6 はコードを形成する「ギャップ」である。二重幅のストライプ 1 2 4 は粒子の中間に位置し、粒子を分離する。明確にするため、横方向のオフセットは、ウェハがその上に載せられるステージを動かすことによって得られる。横方向のオフセットはステッパ・ソフトウェアにプログラムされる。横方向のオフセットは、そのダイの上のマイクロ粒子のコードを形成する。横方向のオフセット(したがって、コード)は、ウェハ上の全てのダイにおいて異なることができる。多数のウェハにおける各ウェハは、異なる組のコードを有することができる。このようにして、非常に大きな組のコードを実現することができる。

【0098】

図 3 3 e、3 4 e は、フォトレジストの現像後のウェハを示す。図 3 3 d、3 4 d からの露光済みのフォトレジスト 1 2 2 は除去されて、下にあるハード・マスク酸化物 5 8 が現れる。図 3 3 f、3 4 f は酸化物エッチング後のウェハを示す。酸化物エッチングにより、露光済み領域内のハード・マスク酸化物 5 8 が除去されて、下にあるポリ 5 6 が現れる。図 3 3 g、3 4 g は、図 3 3 f、3 4 f の未露光のフォトレジスト 1 2 0 が除去された後のウェハを示す。ハード・マスク酸化物 5 8 はセグメントとなる領域内に存在する。ポリ 5 6 は、不透明材料のギャップとなる領域内において露光する。図 3 3 h、3 4 h は、未露光のフォトレジスト 1 2 0 で再び覆われた後のウェハを示す。

【0099】

図 3 3 i、3 4 i は、バー・パターンを露光した後のウェハを示す。これは 1 回のみの露光であり、全てのダイに対して同じである。この露光は、好ましくはウェハ上に既にあるパターンと整列される。露光の後、未露光のフォトレジスト 1 2 0 パターンは、セグメント幅を定める水平のストライプから成る。露光済みのフォトレジスト 1 2 2 パターンは、セグメント間の水平方向の分離を定める水平のストライプから成る。図 3 3 j、3 4 j は、フォトレジストを現像した後のウェハを示す。図 3 3 i、3 4 i からの露光済みのフォトレジスト 1 2 2 は除去されて、下にあるハード・マスク酸化物 5 8 とポリ 5 6 が現れる。図 3 3 k、3 4 k はハード・マスク酸化物を酸化エッチングした後のウェハを示す。図 3 3 i の露光済みのフォトレジスト領域内にはポリ 5 6 のみが存在する。図 3 3 l、3 4 l は、未露光のフォトレジスト 1 2 0 が除去された後のウェハを示す。プロセス中のこ

の時点では、ウェハの上面はポリ 5 6 であり、不透明材料のセグメントとなる領域内でハード・マスク酸化物 5 8 がポリ 5 6 を覆っている。最後に、図 3 3 m、3 4 m は、ポリ・エッチング後のウェハを示す。ポリ・エッチングにより、図 3 3 l、3 4 l のポリ 5 6 が除去されて、下にある下側の酸化物 5 4 が現れる。ハード・マスク酸化物 5 8 は、セグメント・パターン内においてポリ 5 6 の上面に依然として存在する。

【0100】

図 1 A に示されるようなマイクロ粒子に加えて、上述の方法を使用して、現在知られている粒子設計や他の代替設計など、他のコード化されたマイクロ粒子設計のためのコードを作成することができる。上述の方法を使用して、例えば図 3 5 a ~ 3 5 c のコード化されたマイクロ粒子のためのコードを作成することができる。

10

【0101】

図 3 5 a を参照すると、枠材 1 8 2 によって取り囲まれた、穴 1 7 8、1 8 0 などの穴から成るコード要素を備えた棒状のマイクロ粒子が示される。穴の数と配列は、予め定められたコード体系から得られるコードを形成する。

【0102】

図 3 5 b は、切欠き 1 9 6 などの切欠きを含むコード要素を備えた別の棒状の粒子を示す。隣接した切欠きは、幅が異なる一組の突起構造を定める。突起構造の総数と幅が異なる突起構造の配列は、コード体系から得られるコードを表す。図 3 5 c は、ギャップ 2 0 2 によって分離された穴 2 0 0、2 0 2 などの穴から成る、コード要素を備えた正方形のプレート状の粒子を示す。プレート状粒子は、粒子の対称性を壊し、結果としてより多数のコードを可能にするため、1 つの角にへこみ 1 9 8 も包含する。さらなる形状とコード要素アーキテクチャも、コードを作成する上述の方法を用いて作成することができる。

20

【0103】

図 3 6 は、ダイからリリースする直前の、実際のコード化されたマイクロ粒子の 4 つの顕微鏡画像を示す。これらの粒子は、多重印刷工程を用いてコードを作成する本発明の技術にしたがって、また上述の設計にしたがって作成される。

【0104】

図 3 7 は、ウェハ上の全てのダイ上に異なるコードを生成するために、ステッパ・ソフトウェアに入力されるデータの例のチャートを示す。チャートは、どのダイに 9 個の異なるパスが印刷されるか、またどのオフセットを用いて印刷されるかを示す。図 3 7 に示されるデータは、ウェハ上の多数のダイの上に多数のコードを設けるため、ステッパを使用して多重印刷方法を体系化するための 1 つのシステムの一例である。この例では、各ダイは単一パスの間に最大でも 1 回しか露光されない。この例におけるステッパ露光パスの間にどのダイが露光されるかに関するウェハ・マップは、左側の列に示される。「1」は露光を表す。「0」は露光なしを表す。中央の列は、オフセット文字「A」、「B」、「C」、「D」で表される、露光オフセットのウェハ・ショット・マップを示す。右側の列は、1) 粒子の端部に対する露光位置、2) オフセット文字、3) ステッパ基準点に対してプログラムされた露光位置のルックアップ・チャートを示す。行は、この例では 9 回である異なるパスに対応する。

30

【0105】

ステッパを使用して、多重印刷方法を体系化するためのシステムの別の例は、次のダイに移る前に、単一のダイ内にあるコード要素の全てを露光するものである。当然ながら、4 つ以外の多数のオフセットを使用することができる。マイクロ粒子上にコードを作成する一般的な方法のこの例や他の例は、投影フォトリソグラフィ及びステッパを使用するものに関して記載してきたが、接触リソグラフィや他のパターニング方法も使用されてもよい。

40

【0106】

図 3 8 は、ダイ当たりより多数のコードを作成するスキームの例の図を示す。このスキームでは、ダイ内に、固定コード要素と可変コード要素の位置がある。ダイは部分領域に分割され、部分領域はそれぞれ、固定コード要素の異なるパターンを有する。各ダイに対

50

して、可変コード要素の異なるパターンが露光される。固定コード要素と可変コード要素は併せてコード全体を形成する。したがって、単一のウェハが含むコードの総数は、ウェハ当たりのダイの数とダイ当たりの部分領域の数の積に等しい。異なるコードの部分領域を含む個々のダイは、より小さなサブ・ダイに物理的に分離することができ、異なるコードが異なるチューブ内に放出される。代替例は、ダイをそのままに保ち、ダイ全体を単一のチューブ内に放出するものである。これにより、異なる部分領域からのコードの混合物が作られる。この方策は、組み合わせ合成用途に特に有用なことがある。

【0107】

コードを作成する本発明の方法、例えば、単一のレチクル・フィールドの複数回の露光工程によって完全なコードを形成するためのフォトリソグラフィによるステップ・アンド・リピート・システムの使用は、固有のコードを多くのタイプの構成要素、例えばMEMS及びICデバイスに適用するためにも利用できる。

【0108】

上述したようなマイクロ粒子の中は、二進又は非二進コード化などの、任意の所望のコード体系から得られるコードが組み込まれている。

【0109】

一例として、図39aは、本発明の非二進コード体系にしたがって形成された、コード化されたマイクロ粒子の図解を示す。図39aを参照すると、コード体系パラメータは、 L （粒子の長さ）、 w （セグメント間のギャップの幅）、 d （ギャップのギャップ中心の位置のデルタ）である。図39aは、ギャップの1つのみの場所が変化するような異なるコードを備えた4個の粒子を示す。ギャップは、 d に等しい量だけ変化しており、「隣接した」コード（例えば、類似しており、したがって互いに対して誤って識別される可能性が高いコード）を示す。図39b、39cは、ギャップの数が異なりギャップの位置が変化しているランダム・コードを示す。表1は、様々な異なるパラメータの組み合わせのためのコードの総数（コードスペース）を示す。コードの数は、本発明の非二進コード体系を実施するコンピュータ・ソフトウェア・プログラムから計算される。コードの縮重は、アルゴリズムにおいて考慮される（例えば、一対のコード、1つが反転されたときのような、コードは等価であり、2つのコードは単一のコードと見なされる）。表1及び表2のパラメータは100nm単位で指定される。30, 069となる $L=152$ 、 $w=8$ 、 $d=4$ のパラメータの組み合わせは、図39a～39cに示される。表2は、異なる L によるマイクロ粒子によって表すことができるコードの総数を示す。代表的な一例では、離散化距離 w は特徴的なセグメント・サイズに等しいか、又はそれよりも小さい。表2に示されるように、非常に大きなコードスペースが利用可能であり、上述の方法を用いて実際に達成可能である。 $L=152$ 、 $w=5$ 、 $d=4$ のパラメータの組み合わせは、約200万のコードスペースを有する。

【0110】

10

20

30

【表 2】

表 1

L	w	d	コード数 (コード スペース)
152	8	8	2134
152	8	7	3281
152	8	6	5846
152	8	5	11439
152	8	4	30069
152	8	3	105154
100	5	5	3,409
110	5	5	8,904
120	5	5	23,296
130	5	5	62,376
140	5	5	170,089

10

【0 1 1 1】

【表 3】

表 2

L	w	d	コード数 (コード スペース)
80	5	4	928
90	5	4	2,683
100	5	4	7,753
110	5	4	22,409
120	5	4	64,777
130	5	4	187,247
140	5	4	541,252
150	5	4	1,554,516
152	5	4	1,834,524
160	5	4	4,522,305

20

30

【0 1 1 2】

代表的な一例では、コード体系は、コード要素のサイズ自体よりも小さな間隔長さだけ離れた場所に置かれたコード要素を利用する。これは、コードが、離散的な均等に間隔を空けた場所における機構が存在するかないかで構成される、標準的な二進コード化から逸脱している。多重印刷技術を使用して製造された上述の構造に当然適用可能な、このコード体系の好ましい実施形態では、コード要素は、セグメント化された内部の不透明材料内のギャップである。ギャップのサイズは、ステップやフォトリソグラフィ・プロセスによって信頼性高く定義され、かつ顕微鏡（所望の倍率で作動する）によって解像できるものであるように選択される。ギャップのサイズ、間隔長さ、粒子長さは、コードスペース（可能なコードの数）を決定する。コードスペースの決定は、ウェハ上の粒子密度、識別精度、光学検出システムの複雑さ、顕微鏡画像当たりの粒子数の間のトレードオフを伴う。実際のパラメータの組み合わせを使用して、100万個を超えるコードスペースを作成し、正確に識別することができる。

40

【0 1 1 3】

標準的な二進コード体系の例では、粒子は等しい長さの単位に分割される。結果として、各単位は、黒又は白、0又は1である。粒子が対称的なので、1つが反転されているとき、同じ2個のコードがある（いわゆる「縮重」コード）。コードを計数するとき、縮重コードの各対からの1つは好ましくは廃棄される。縮重がない場合、 2^N 個の可能なコードが存在し、ここでNはビット数（単位）である。縮重がある場合、その半分の数が存在

50

する。正確には、標準的な二進フォーマットを有する可能なコードの数は、 $[2^N + 2^{\text{floor}[(N+1)/2]}] / 2$ である。図14、図17などに上述した、本発明の高コントラストのコード化されたマイクロ粒子構造の例では、コードの完全な組の中に、黒又は白の領域が長く延びる個々のコードがある。粒子の黒は背景の黒と区別不能なので、粒子は非常に高いコントラストにされる。しかし、黒が長く延びるコードは、白の領域を関連させて個別の粒子とすることがより困難なので、あまり望ましくない（ただし、当然本発明の範囲内である）。例えば、より困難なコードは、1000...0001（単一の白のビットが両端にある）であろう。特に本明細書において上述した構造及び作成方法の場合、上述の例で考察されたものよりも他の多くのコード体系が可能なので、任意の適切なコード体系を使用できることに留意されたい。

10

【0114】

上述した非二進コード体系は、高いコードスペースとロバストなコード識別がもたらされるなど、マイクロ粒子の製造や検出において多くの利点を有する。コード体系の例では、マイクロ粒子の製造プロセスの信頼性は、単一のサイズの機構、例えば単一の幅を有するセグメント内のギャップのための、パターンニング及びエッチング条件を最適化できるようにすることで改善される。

【0115】

コード化されたマイクロ粒子とその中のコードを決定する方法の代表的な例では、例えば図21に示されるように、コードは、セグメントの長さではなくギャップの中心位置によって決定される。したがって、製造のばらつき、若しくは画像化条件のばらつき、又は使用される画像処理アルゴリズムのばらつきのいずれかによって寸法が変わる場合、ギャップの中心位置は変わらないので、コードIDがロバストになる。このスキームは、光学イメージング・システムにおいて、機構の、この場合はギャップの位置を、機構自体の解像可能な最小寸法よりもはるかに小さい解像度に定めることができる。例えば、ギャップ幅は、1.5 μm 以下であってもよく、1.0 μm よりも小さい、さらに好ましくは0.5 μm よりも小さい距離に定められてもよい。

20

【0116】

一般に、高いコードスペースが望ましい。ゲノミクスの分野では、数万個のコードスペースを有することが特に重要であるが、それは、ヒトゲノムなど複雑な生体のゲノム全体を単一組の粒子上に置くことが可能になるためである。表1の上部分は、デルタ・パラメータdを変化させることがコードスペースに与える影響を示す。dを縮小することにより、より多くのコードが与えられるが、光学系に対する要求が増加する。より小さなdを解像する必要があるということは、一般的により高価な対物レンズが使用されることを意味する。実際に、ギャップ間隔の距離の下限は、光学系による解像度（CCDカメラを使用して捕捉されたデジタル画像のピクセル・サイズとして表される）によって設定される。60倍対物レンズ及び6.2mmの1024×1024 CCDチップを使用すると、d = 0.4 μm の間隔距離は約4ピクセルに等しい。間隔距離が0.3 μm （3ピクセル）に低減された場合、105,154個のコードとなる。より長い粒子長さL、及び／又はより小さなギャップ幅wに対して、コードスペースは数百万に拡張することができる。

30

【0117】

表1の下部分は、wとdが固定で、粒子の長さを変化させた場合の影響を示す。長さLは、ダイ上の粒子の密度（単位面積当たりの粒子の数）に反比例する。長さは、画像中の粒子の数、したがってスループット（毎秒ごとに検出される粒子）にも影響する。コードスペース、密度、識別、スループットの間にトレードオフが存在する。コード体系パラメータの最適化によって、特定の用途に対する選択されたコード体系が決定される。

40

【0118】

図40は、マイクロ粒子のプロトタイプの大きな集合の様々な形態の、4枚の写真を合成したものを示す。この集合は、1,000個以上のコードと、各コードの約200万個の粒子とを含む。左上の写真は、製造プロセス中の40個のウェハを示す。各ウェハは32個のダイを有し、各ダイは、単一のコードの約200万個の粒子を含む。さらなる例と

50

して、ウェハ上のダイは、ウェハ当たりより多くの粒子、例えば500万個以上を含有してもよい。さらに、ウェハ（又はガラス・パネルなどの他の基板）は、100個以上のダイ、あるいは200個以上、又は1000個以上のダイを含有してもよい。ウェハは、全体として、コード化されたマイクロ粒子の100個以上のコード、あるいは200個以上、1000個以上のコード、又は5,000個以上のコードを有してもよい。コード化されたマイクロ粒子の大きな集合の代表的な一例では、大きな集合、例えばダイからリリースされるマイクロ粒子を作成するのに使用されるほぼ全てのダイは異なるコードを含む。別の例では、ウェハ又は基板上の全てのダイは同じコードを有してもよい。ダイのサイズは、コード当たりの粒子の数と大きな集合内のコードの数との間のバランスを最適化するように選択される。ダイ当たりの粒子の数及びウェハ当たりのダイの数は、例えば、コードを作成する本発明の方法を利用して、ソフトウェア内で変更され、また、固定の成型型、例えばフォトリソマスクの大きく高価な集合の高い資本コストを必要とすることなく、異なる用途向けの製造ロット又は製品単位で最適化されてもよい。

10

【0119】

図40の右上の写真では、ウェハ製造は完了しており、粒子はシリコン基板からリリースされて試験管に入れられている。試験管は、64本の試験管をそれぞれ保持するコンテナに入れられた状態で写真に示されている。左下の写真は、大きな集合からの粒子の1035本の試験管それぞれの小さな一部分（約数千個の粒子）を含む、単一の試験管を示す。右下の画像は、単一の試験管の試料の顕微鏡画像である。この画像は、互いに混合された1035個のコードの構成要素を示す。

20

【0120】

本発明のコード化されたマイクロ粒子、システム、方法は、生物学、化学、医学の分野だけでなく、紙幣、身分証明証、パスポートなどの標識付けを伴うセキュリティや商用分野、及び市販製品などにおける広範囲の用途を有する。一例では、マイクロ粒子は、DNA、RNA、タンパク質の分析など、分子検出に使用することができる。他の例では、当該分野において知られているように、コンビナトリアル・ケミストリー又は薬剤スクリーニング・アッセイが行われる。

【0121】

図41に示されるフローチャートを参照すると、マイクロ粒子は、個別のチューブ（又はウェル・プレートのウェル）に収容される。各チューブは、工程410で、単一のコードの多数のマイクロ粒子（例えば、100万個以上）を含む。DNA又はRNAなどの生体分子は、工程412で、粒子の面上で不動化され、「プローブ」と称される。プローブの種はそれぞれ異なるコード上で不動化され、後で参照するためのルックアップ・テーブルが生成される。プローブの種はそれぞれ、「標的」の1つ又は複数の対応する種も有し、それら2つの間の結合は特異性である。プローブ／標的の用語は、通常はDNAとRNAの補体に関して使用されるが、本書では抗体を含む全ての生体分子を指す。多くのプローブが、一般的に $10^4/\mu\text{m}^2$ 程度以上の密度で、単一粒子上で不動化される。「プローブ（a

30

probe）」の単数での使用は、複数のプローブ分子を指す場合が多く、「コード（a

40

code）」は、本明細書に使用される他の用語と同様に、特定のコードの複数の粒子を指す場合が多い。

【0122】

コード化された粒子と生体分子を組み合わせることで、工程414によって、「プールド・プローブ・セット」が作成される。プールド・プローブ・セットは、各コードが粒子面に付着された特定のプローブを有する、コード化された粒子の混合物である。次に、プールド・プローブ・セットは、標的の混合物中にある個々の標的の量を決定するのに使用することができる。標的の混合物は試料と称され、一般的に生物試験体から得られる。次に、工程416で、試料は、一般的には蛍光体を用いて標識付けされる。試料がプールド・プローブ・セットと混合されると、プローブと標的は溶液中で互いを見つけ出し、結合

50

する。核酸では、工程 4 1 8 で、この反応はハイブリッド形成と呼ばれ、非常に選択的である。反応後、粒子は、工程 4 2 0 で、コードを読み取り、かつ蛍光を定量化するために画像化される。コードとプローブのルックアップ・テーブルを参照すると、混合試料中の異なる標的種の量は、ここで測定することができ、工程 4 2 2 でアッセイ結果として決定される。

【0 1 2 3】

マイクロ粒子で反応させる試料は、精製された生物学的抽出物か、又は、全血、血清、細胞可溶化物、スワブ、又は組織抽出物などであるが、これらに限定されない精製されていない試料であってもよい。マイクロ粒子で反応させる試料は、培養、クローニング、解剖、又は顕微解剖によって作成されてもよい。細胞は、マイクロ粒子を利用するバイオアッセイ及び他の上述の発明における、試料又はプローブのどちらかとして役立つことがある。

10

【0 1 2 4】

図 4 4、4 5 は、多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す。画像中に示されるマイクロ粒子は、それらの面に付着されたオリゴ・プローブ分子を有し、ハイブリッド化されて、標的の塩基対配列がプローブの配列に対して相補的である、予め標識付けされた蛍光オリゴ標的となっている。

【0 1 2 5】

図 4 2 は、プロセスの代表的な一例の図を示しており、そのプロセスによって、ウェハ全体が、バイオアッセイを行うために試料と反応することができる、粒子プローブ共役体の混合物になる（いわゆる「ハイブリッド形成準備完了コードアレイ (Hybridization-Ready

20

Code Arrays)」)。ウェハ製造工程が完了した後、ウェハは多くのダイを有し、各ダイは単一のコードの多くの粒子を含有している。上述したように、ダイが同じコードを持って作成されるか、又はダイが細分され、多数のコードを含む、代替のスキームが使用されてもよい。ウェハは（通常はウェハ・ソウによって）個別のダイにダイシングされ、次に、各ダイはウェル・プレートの個別のウェルに入れられる。あるいは、ウェルの代わりに試験管を使用することができる。リリース工程は、例えば、ダイの面から粒子を除去する TMAH などの化学エッチング剤を使用して行われる。次に、ダイは、遊離粒子を残してウェルから除去される。リリース後、生体分子プローブの共役が行われ、結果として、各ウェルは単一のタイプの粒子プローブ共役体を含む（粒子は単一のコードのものであり、それらの粒子は面上に生体分子の単一の種を有する）。共役後、粒子は全て互いに混合されて、「プールド・マスター・ミックス」を形成する。プールド・マスター・ミックスは、粒子・プローブ共役体の全ての種からの十分な発現が存在するようにして部分標本に分割される。結果として、これらの部分標本はバイオアッセイを行うため、試料と反応できるようになっている。

30

【0 1 2 6】

多数の異なる試料が、上述したように、単一のバイオ・アッセイにおいて識別されてもよいことに留意されたい。検出の前かつハイブリッド形成の後、マイクロ粒子は、検出のため、ウェル・プレート又は他のコンテナのウェルに入れることができる。1 つの検出例では、マイクロ粒子は、重力によってウェル・プレートの底面上に沈む。検出のために粒子を準備するのを助けるため、ウェル内のマイクロ粒子に対して、遠心分離、超音波処理、又は他の物理的若しくは化学的プロセス（多重洗浄工程など）を行うことができる。別の例では、検出のため、マイクロ粒子をスライド・ガラス又は他の特に準備された基板上に置くことができる。さらに他の例では、粒子は検出の間フロー・ストリーム中に存在し、又は懸濁液中に存在する。

40

【0 1 2 7】

共役という用語は、それによって、事実上それぞれのマイクロ粒子が面に付着させる 1 つ又は複数のプローブ分子を有するようになるプロセスを指す。共役の方法は、当該技術分野において、例えば、Bioconjugate Techniques, First

50

Edition, Greg T. Hermanson, Academic Press, 1996: Part I (Review of the major chemical groups that can be used in modification or crosslinking reactions), Part II (A detailed overview of the major modification and conjugation chemicals in common use today), and Part III (Discussion on how to prepare unique conjugates and labeled molecules for use in applications) において良く知られている。

10

【0128】

粒子の面に付着された分子プローブは、一般的に、既知の属性又は特性を有する。一例では、分子プローブは、生物試験体又は試料に由来し、大きな母集団の、遺伝シーケンシングを含むがこれに限定されないスクリーニングに使用することができ、その場合一般的に、母集団の一員からの派生物は単一のコードに、一般的には単一のコードの多数の粒子に当てはめられる。好ましくは、同じコードを有するマイクロ粒子にはほぼ同じプローブ分子が付着され、同様に、異なるコードを有するマイクロ粒子は異なるプローブ分子を有する。

【0129】

平坦なマイクロアレイの代わりに、コード化された粒子の溶液アレイをプラットフォームとして使用する、多重アッセイの最も強力な特徴の1つは、単に新しい粒子を付加することによって機能性がアッセイに加わるという柔軟性である。標準的なマイクロアレイでは、アレイが印刷されるか、又は合成されてしまうと、一般的にアレイは変更することができない。研究者がアレイ上の遺伝子に対するプローブを変更するか、又は新しい遺伝子に対するプローブを付加しようとする場合、一般的に全く新しいアレイが作成される。粒子のプールド・プローブ・セットを用いると、新しいプローブと粒子の共役体（略してプローブ）を既存のプールド・プローブ・セットに容易に付加することができる。實際上、新しいプローブは、既に発現している遺伝子のためのプローブ、遺伝子の代替のスプライシング変異株、又は遺伝子のためのタイリング・プローブとは異なることができる。

20

【0130】

図46a及び図46bは、本発明のマイクロ粒子の同じ組に対する反射画像と蛍光画像の対を示す。画像は約1秒間隔で連続して得られたものである。図46aの反射画像は、青色光で照明し集光して（励起フィルタ＝436/10nm、放射フィルタ＝457/50、すなわち重なり合ったフィルタ）得られたものである。この画像は各粒子のコードを決定するために使用される。図46bの蛍光画像は、緑色光で照明し赤色光を集光して（励起フィルタ＝555/28nm、放射フィルタ＝617/73、すなわちCy3用フィルタ）得られたものである。図46cは、図46aと図46bの画像対を互いに重ね合わせて単一画像としたものである。

30

【0131】

図47a～図47fは、時間順に並べたコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す。画像はエッジ検出のために処理されている。画像は約1秒間隔で得られたものであり、時間系列のフレームである。画像を構成する個々の粒子は、分子衝突（ブラウン運動として知られる）によって、フレーム間で測定可能な量だけ移動する。このブラウン運動は、稠密な二次元単分子層への粒子のアセンブリを促進する。画像中に示される粒子は、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子の例である。粒子は、面に付着されたオリゴヌクレオチド・プローブを有し、また、相補的なオリゴヌクレオチド標的とハイブリッド化（すなわち、溶液中で反応）されている。

40

【0132】

本発明のマイクロ粒子は、溶液ベースのアレイ、バイオチップ、DNAマイクロアレイ、タンパク質マイクロアレイ、ラボオンチップ・システム、側方流動デバイス（免疫クロ

50

マトグラフィ・テスト・ストリップ) などであるが、これらに限定されない、生化学(又は化学)分析システムの主要な機能的構成要素として使用することができる。用途としては、gDNA及びタンパク質シーケンシング、形質発現プロファイリング、遺伝子型判定、多形分析、比較ゲノム・ハイブリダイゼーション(CGH)、クロマチン免疫沈降(CHIP)、メチル化検出、並びに、疾病メカニズムの発見、遺伝子機能の研究、生物学的経路の調査、また、タンパク質、ペプチド、ポリペプチドの検査及び分析など、様々な他の生化学及び生体分子関連の用途、並びに関連する生化学用途が挙げられるが、これらに限定されない。分析アーキテクチャは、直接DNAハイブリダイゼーション、DNAからRNA若しくはRNAからRNAへのハイブリダイゼーション、ポリメラーゼ伸長や連結反応などの酵素アッセイなどであるが、これらに限定されない、当該技術分野において良

10

【0133】

例えば、蛍光の存在に基づく光学イメージング方法を使用することができる場合、蛍光標識を使用することができる。関連する写真フィルムを露光又は現像するのにマイクロ粒子が利用される場合、放射性標識を使用することができる。あるいは、検出が、試料分子がマイクロ粒子上のプローブ分子に結合するか、又はそれと反応したときに放出される酵素標識の生成物を検出することを伴う場合、酵素標識を使用することができる。その主題

20

【0134】

標識を有さない試料をマイクロ粒子と反応させることもできる。例えば、分子ビーコン・プローブをマイクロ粒子に適用することができる。分子ビーコン・プローブは、一般的にU字形の構造を含み、標識のない、若しくは場合によっては標識された試料分子を結合する際に伸ばされ、結果として結合イベントを示す信号を生成する。そのような分子ビー

30

【0135】

図48は、2プレックスDNAハイブリダイゼーション・アッセイからの実際のアッセイ・データを示す。この実験では、2つの異なるオリゴ・プローブ(2つの異なる配列が下側に示される)を、異なる粒子バッチ(異なるコードを有する)の面に付着させた。プローブの付着後、粒子を互いに混合し、混合物の部分標本をウェル・プレートの2つのウェルに入れた。次に、プローブ配列と蛍光体標識を相補する配列を有するオリゴから成る標的を2つのウェルに付加し、粒子・プローブ共役体の混合物と反応させた。プローブ1

40

【0136】

多数の試料分子に対する、迅速で信頼性が高く、かつ効率的なバイオアッセイを促進するため、マイクロ粒子は、マイクロ粒子をその中に含むウェルの底面などの面上に、ほぼ単分子層の形でそれら自身を配列させることができることが好ましい。マイクロ粒子は、光学検出が行われる特定の液体中で、ブラウン運動を行うことができることが好ましい。マイクロ粒子がハイブリッド化され検出される特定の液体を前提として、マイクロ粒子の

50

二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ 以上であるか、かつ／又は、1 秒以下、好ましくは 3 秒以下、又は 5 秒以下の時間間隔内で、マイクロ粒子の 10 % 以上、例えば 15 % 以上、さらには 20 % 以上、及び 50 % 以上において、20 nm 以上、例えば 30 nm 以上、さらには 50 nm 以上の横方向の変位が測定されることが好ましい。

【0137】

可視光を使用する光学イメージングなど、所望の検出手段によって正確に検出できるものと言われる、検出可能なマイクロ粒子は、マイクロ粒子が収容されるコンテナの底面的一部分など、マイクロ粒子がその上で収集される面積の 30 % 以上、40 % 以上、一般的には 50 % 以上を占めることができる。全てのマイクロ粒子の少なくとも 90 % (一般的には少なくとも 95 %、より一般的には少なくとも 99 %、多くの場合は 100 %) が配置される面積を定めると、マイクロ粒子は、1000 粒子/ mm^2 以上、例えば 1500 粒子/ mm^2 以上、2000 粒子/ mm^2 以上、一般的には 3000 粒子/ mm^2 以上 (例えば、5000 粒子/ mm^2 以上) の密度を有することが理解できる。上述の面積内の検出率は、検出時のマイクロ粒子の集合体のうち検出されたマイクロ粒子 (空間コードが検出されたマイクロ粒子) の総数とマイクロ粒子の集合体の総数との比として定められるものであり、80 % 以上、一般的には 90 % 以上、より一般的には 99 % 以上であることが好ましい。

【0138】

本発明の別の好ましい例は、200 個以上、より好ましくは 500 個以上、1000 個以上、さらには 10,000 個以上の異なるコード (本発明によって可能になる大きなコードスペースにより、さらに多数のコード) をキット内に収容した、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子を含むキットである。統計的試料を便利に液体ピペティングするための要件や、キット内の特定のコードの所望の冗長度により、キット内に同じコードの 10 個を超える粒子 (同じコードの 20 個以上の、さらには 30 個以上のマイクロ粒子) が一般的に供給されるが、これは、いくつかの用途の例では、冗長度によってアッセイ全体の性能が改善されるためである。用語「生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子」は、生物学部分又は化学部分を面上に有し、したがってアッセイに使用することができるマイクロ粒子を指し、また、用語「部分」は、核酸、合成核酸、オリゴヌクレオチド、単鎖核酸、二重鎖核酸、タンパク質、ポリペプチド、抗体、抗原、酵素、受容体、配位子、及び薬剤分子、細胞、並びに複雑な生物由来の試料などであるが、これらに限定されない分子種と称される。

【0139】

汎用的アダプタ・スキームは、プローブ上に設けられる配列に対して相補的な一組の相互作用しない合成配列を供給するのに使用されてもよい。遺伝子型判定は、共通のプローブと対立遺伝子特異性のレポーターを使用して、又は対立遺伝子特異性のプローブと共通のレポーターを使用して行うことができる。PCR、パドロック・プローブ、又は分子反転プローブを必要とするものなどの増幅アッセイは、本発明の粒子を使用して行うことができる。これらのアッセイのうち 2 つの例が、図 49a 及び図 49b に示される。本発明の代替例では、粒子の面上に存在する生体分子は、予め合成し、次に粒子面に付着させることができる。あるいは、生体分子は粒子上で *in situ* 合成することができる。

【0140】

タンパク質ベースのアッセイも適用可能である。これらには、サンドイッチ・イムノアッセイ、抗体・タンパク質結合アッセイ、受容体・配位子結合アッセイ、又はタンパク質間相互作用アッセイが包含されるが、これらに限定されない。これらのアッセイの例が図 50 に示される。本発明のコード化されたマイクロ粒子の組は、タンパク質間相互作用を調査するため、溶液ベースのアッセイに使用することができる。これは図 50 の右下に示される。

【0141】

単一のタイプのタンパク質を、単一のコードのマイクロ粒子に適用することができる。

粒子・タンパク質共役体を混合し、特定の生化学環境内で反応させる際、互いに相互作用し結合するタンパク質は、検出中に隣接した粒子が存在することによって決定される。本発明のマイクロ粒子構造の断面が正方形であることにより、平坦な長方形の形状における接触面積が増加されることで、従来技術よりも改善される。形状が球状又は円筒状の従来技術の粒子では、それぞれ、接触面積が単一点又は線に限定される。本発明はタンパク質に限定されず、任意の相互作用する分子が、このアッセイ・アーキテクチャと共に使用されてもよい。さらに、本発明の全方向性のコード化されたマイクロ粒子は、蛍光体、量子ドット、ラテックス若しくはガラス・ビーズ、コロイド金属粒子、分光学的に活性の粒子、SERS粒子、又は半導体ナノロッドなどであるが、これらに限定されない、他の任意のコード化された粒子と共に使用されてもよい。

10

【0142】

コード化されたマイクロ粒子は、分子の二次元平面アレイと共に使用されてもよい。粒子の面上の分子と二次元平面アレイ上のスポットに含有される分子との相互作用は、粒子がそれらのスポットに結合することによって決定される。好ましくは洗浄工程後に、予め定められたスポットの場所に粒子が存在することは、粒子上の分子と二次元平面アレイ上の分子との間の結合相互作用を示す。アッセイ結果は、1) 粒子コード、2) スポットの場所を識別することによって決定することができる。これは図51に示される。図51は、粒子の画像を包含する概略図であるが、ただし実際の実験結果ではなく、すなわち本発明を例示するためのものである。本発明では、本発明のマイクロ粒子の断面が正方形であることにより、結合接触面積が増加し、従来技術よりも大幅に改善される。

20

【0143】

本発明のマイクロ粒子は他の用途を有してもよい。例えば、タンパク質検出分子（例えば、特定のタンパク質分子と接触すると、色を変える、蛍光を発する、若しくは電気信号を発生する配位子、染料）をマイクロ粒子上に置くことによって、バイオアッセイ分析（すなわち、生物学的試料におけるタンパク質及び／又は遺伝子の発現レベルの評価）を行うことができる。別の例として、（細胞）受容体、核酸／プローブ、オリゴヌクレオチド、接着分子、メッセンジャーRNA（所与の疾病状態で「作動」する遺伝子に特異性）、cDNA（「作動」した各遺伝子によってコードされたmRNAに対して相補的）、オリゴ糖及び他の関連する炭水化物分子、又は細胞（どの細胞経路が「作動」したかを示すものなど）をマイクロ粒子上に置くことによって、マイクロ粒子は、疾病（すなわち、治療標的）に対して作用するタンパク質又は他の化学化合物をスクリーニングするのに使用することができる。これは、（生物学的試料からの関連成分）が、特定の（標的分子）が前もって配置／付着されているマイクロアレイ上の特定のスポット（場所）において接着又はハイブリッド形成することによって示される。実際に、本発明のマイクロ粒子は、それぞれの主題が参照により本明細書に組み込まれる、添付の付表に記載されるものなど、他の多くの生化学分野又は生体分子分野に適用することができる。

30

【0144】

当業者であれば、新しくかつ有用なマイクロ粒子とその作成方法を本明細書に記載してきたことを理解するであろう。本発明によって作成されるコード化されたマイクロ粒子の大きな集合は、特にバイオテクノロジーの分野において、より具体的にはゲノミクスの分野において広範な用途を有する基本的技術であり得る。それは、高度に多重化されたバイオアッセイのコストを大幅に低減する可能性を有する。さらに、研究者らが、内容物をカスタマイズした溶液アレイを容易に設計することを可能にする。研究者は、例えば、本発明のマイクロ粒子を有する新しく発見された対象の遺伝子など、新しい粒子タイプをプール・セットに容易に付加することもできる。

40

【0145】

しかし、本発明の原理が適用されてもよい多くの可能な実施形態を考慮して、図面を参照して本明細書に記載された実施形態は単に例示のためのものであり、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではないことを認識されたい。当業者であれば、例示の実施形態は、本発明の趣旨から逸脱することなく、その配置及び詳細を修正できることを認識

50

するであろう。

【0146】

例えば、マイクロ粒子は、4つの細長い辺と2つの端辺を有する六辺形を有してもよい。コード化されたマイクロ粒子は、4つの細長い辺のどれの上にバーコードが配置されているかに関わらず、コード化されたマイクロ粒子のコードが検出可能であるように構成することができる。マイクロ粒子は、2:1~50:1、4:1~20:1の長さとの幅の比を有してもよい。マイクロ粒子の長さは、好ましくは5~100 μm 、より好ましくは50 μm 未満である。マイクロ粒子の幅は0.5~10 μm であってもよい。他の例では、マイクロ粒子の長さは、10 μm 未満、25 μm 未満、25 μm 未満、5 μm 未満、27 μm 未満であることができ、マイクロ粒子の幅は3 μm 未満である。マイクロ粒子の幅と高さの比は0.5~2.0である。マイクロ粒子の長さとの幅の比は2:1~50:1である。マイクロ粒子の長さに沿って取った断面はほぼ長方形であり、長さは幅の少なくとも2倍である。

【0147】

マイクロ粒子は、セグメントの中に埋め込まれたガラス体を有してもよい。ガラス体とセグメントの透過率の差は10%以上である。ガラス体は、50未満 μm の長さとの10 μm 未満の幅を有し、ガラス体の体積が5~500 μm^3 であってもよい。コード化されたマイクロ粒子は、コード化されたマイクロ粒子内に、2~15個、3~10個、又は4~8個の透明度がより低い材料の部分の部分を有してもよい。マイクロ粒子に組み込まれたコードは、二進、非二進、又は他の任意の所望のコードである。マイクロ粒子は、DNAプローブやRNAプローブなど、 $10^2\sim10^6/\mu\text{m}^2$ の密度でマイクロ粒子の1つ又は複数の面に付着された、生化学分子を有してもよい。ウェハ・レベルで製造されたとき、ウェハは80.6 cm^2 (12.5平方インチ)~774.2 cm^2 (120平方インチ)の面積を有してもよく、ウェハの6.5 cm^2 (1平方インチ)当たり少なくとも300万個のマイクロ粒子が存在する。ウェハは、基板上に形成された少なくとも100万個のコードを有してもよく、又は少なくとも200個の異なるコードが100万個のコードの中に存在し、あるいは少なくとも3000個の異なるコードが100万個のコードの中に存在する。例えばバイオアッセイの際に、液体バッファ中に置かれると、マイクロ粒子は、マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1\times10^{-12}\text{cm}^2/\text{s}$ よりも大きい、より好ましくは $1\times10^{-11}\text{cm}^2/\text{s}$ よりも大きい単一の単分子層を形成することができる。

【0148】

したがって、本明細書に記載される本発明は、特許請求の範囲及びその等価物の範囲内にあるような全ての実施形態を考慮する。

【0149】

(別表)

以下の参照文献それぞれの主題は、全体として参照により本明細書に組み込まれる。

(プローブを不動化したアレイの調製)

G. Steinberg, K. Stromborg, et al. Strategies for Covalent Attachment of DNA to Beads. Biopolymers. Vol. 73, 597-605. Published online 17 February, 2004 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/bip.20006.

Kumar, O. Larsson, D. Parodi, & Z. Liang. 2000. Silanized nucleic acids: a general platform for DNA immobilization. Nucleic Acids Research, 2000, Vol. 28. No. 14.

F. Vianello, L. Zennaro, et al. Preparation, Morphological Characterization, and Activity of Thin Films of Horseradish Peroxidase

ase. Biotechnology and Bioengineering, Vol. 68, No. 5., June 5, 2000.

U. Maskos, & E. M. Southern. 1992. Oligonucleotide hybridizations on glass supports: a novel linker for oligonucleotide synthesis and hybridization properties of oligonucleotides synthesized in situ. Nucleic Acids Research, Vol. 20, No. 7 1679-1684.

M. Bele, O. Silman, & E. Matijevic. 2002. Preparation and Flow Cytometry of Uniform Silica-Fluorescent dye microspheres. Journal of Colloid and Interface Science. 254, 274-282.

10

N. Zammattéo, L. Jeanmart, et al. Comparison between Different Strategies of Covalent Attachment of DNA to Glass Surfaces to Build DNA Microarrays, Analytical Biochemistry. 280, 143-150 (2000)

N. P. Mellott, S. L. Brantley, et al. Evaluation of surface preparation methods for glass. Surface and interface Analysis. 2001; 31: 362-368

20

F. Dlehl, S. Grahlmann, et al. Manufacturing DAN microarrays of high spot homogeneity and reduced background signal. Nucleic Acids Research, 2001, Vol. 29, No. 7 e38.

(粒子アレイ)

Nicewarner-Pena, S. R., R. G. Freeman, B. D. Reiss, L. He, D. J. Pena, I. D. Walton, R. Cromer, C. D. Keating, and M. J. Natan, "Submicrometer Metallic Barcodes," Science, 294 (5540), 137-141 (2001).

30

Natan, M. J., J. Lissack, "Barcoding Tackles the Nanometer," Tags and Lables ??

Walton, I. D., S. M. Norton, A. Balasingham, L. He, D. F. Ovisio, D. Gupta, P. A. Raju, M. J. Natan, and R. G. Freeman, "Particles for multiplexed analysis in solution: detection and identification of striped metallic particles using optical microscopy," Anal. Chem., 74, 2240-2247 (2002).

40

True, R. J., M. K. Taylor, G. S. Chakarova, I. D. Walton, "Microfabricated templates for the electrodeposition of metallic barcodes for use in multiplexed bioassays," IEEE - EMB Proceedings, 26 (IV), 2619-2622 (2004)

Xu, H. X., M. Y. Sha, E. Y. Wong, J. Uphoff, Y. H. Xu, J. A. Treadway, A. Truong, E. O'Brien, S. Asquith, M. Stubbins, et. al., "Multiplexed SNP g

50

enotyping using the Qbead (TM) system: a quantum dot-encoded microsphere-based assay, "Nucleic Acids Res.", 31 (8), E43 (2003).

Han, M., X. Gao, J. Z. Su, S. Nie, "Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules, "Nat. Biotechnol., 19 (7), 631-635 (2001).

(タンパク質アレイ)

Haab, B. B., M. J. Dunham, & P. O. Brown. 2001. Protein microarrays for highly parallel detection and quantitation of specific proteins and antibodies in complex solutions. *Genome Biology*. 2 (2):0004.1-0004.13.

MacBeath, G., & S. L. Schreiber. 2000. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination. *Science*. 289;1760-1763.

Zhu, H., J. F. Klemic, et al. 2000. Analysis of yeast protein kinases using protein chips. *Nature Genetics*. 26:283-289.

Zhu, H., & M. Snyder. 2001. Protein arrays and microarrays. *Current Opinion in Chemical Biology*. 5:40-45.

B. B. Haab, M. J. Dunham & P. O. Brown. Protein microarrays for highly parallel detection and quantitation of specific proteins and antibodies in complex solutions. *Genome Biology* 2001, 2 (2) research 0004.1-0004.13

(グリカン・アレイ)

Blixt, O; Head, S; Mondala, T; Scanlan, C; Huflejt, ME; Alvarez, R; Bryan, MC; Fazio, F; Calarese, D; Stevens, J; Razi, N; Stevens, DJ; Skehel, JJ; van Die, I; Burton, DR; Wilson, IA; Cummings, R; Bovin, N; Wong, CH; Paulson, JC. 2004 Printed covalent glycan array for ligand profiling of diverse glycan binding proteins. *PROC NAT ACAD SCI USA* 101:49 17033-17038

A focused microarray approach to functional glycomics: transcriptional regulation of the glycome. Comelli, E. M. et al. *Glycobiology* 16 (2), 117-31, 2006

Glycomics investigation into insulin action. Parry, S. et al. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects* 1760 (4), 652-68, 2006

(がんチップ)

Alizadeh. A. A., M. B. Eisen, et al. 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymph

oma identified by gene expression profiling. *Nature*. 403:503-511.

Ein-Dor, L., I. Kela, et al. 2005. Outcome signature genes in breast cancer: is there a unique set? *Bioinformatics*. 21(2):171-178.

Ross, D. T., U. Scherf, et al. 2000. Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. *Nature Genetics*. 24:227-238.

Sorlie, T., R. Tibshirani, et al. 2003. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *PNAS USA*. 200:8418-8423.

(異数体チップ)

Behr, M. A., M. A. Wilson, et al. 1999. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science*. 284:1520-1523.

Forozan, F., E. H. Mahlamaki, et al. 2000. Comparative genomic Hybridization analysis of 38 breast cancer cell lines: A basis for interpreting complementary DNA microarray data. *Cancer Research*. 60:4519-4528.

Grimm, D. 2004. Disease back cancer origin theory. *Science* 306:389.

Hughes, T. R., C. J. Roberts, et al. 2000. Widespread aneuploidy revealed by DNA microarray expression profiling. *Nature Genetics*. 25:333-337

(レプチン・チップ)

Belkin, L. 2000, December 24. The making of an 8-year-old woman. How do we understand puberty? Through the prism of our times. *New York Times magazine*. 38-43.

Nohturfft, A., & R. Losick. 2002. Fats, flies and palmitate. *Science*. 296:857-858.

Soukas, A., P. Cohen, et al. 2000. Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes and Development*. 14:963-980.

(マイクロアレイの製造方法)

Brown, P. O., et al. 2001. The Mguide. <http://cmgm.stanford.edu/pbrown/mguide/>. Accessed 8 February 2002.

Kane, M. D., T. A. Jatkoe, et al. 2000. Assessment of the sensitivity and specificity of oligonucleotide (50mer) microarrays. *Nucleic Acids Research*. 28(22):4552-4557.

Kumar, A., & A. Liang. 2001. Chemical nanopr

10

20

30

40

50

inting: A novel method for fabricating DNA microchips. *Nucleic Acids Research* 29 (2) : e2.

Okamoto, T., T. Suzuki, & N. Yamamoto. 2000. Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using bubble jet technology. *Nature Biotechnology*. 18:438-441.

Harris, T. M., A. Massimi, & G. Childs. 2000. Injecting new ideas into microarray printing. *Nature Biotechnology*. 18:384-385.

10

(一般参照)

Cummings, C. A., & D. Relman. 2000. Using DNA microarrays to study host-microbe interactions. *Genomics*. 6 (5) : 513-525.

Schaffer, J. L., M. Perez-Amador, & E. Wisman, 2000. Monitoring genome-wide expression in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 11:162-167

Lockhart, D. J., & C. Barlow. 2001. Expressing what's on your mind: DNA arrays and the brain. *Nature Reviews*. 2:63-68.

20

Shoemaker, D. D., E. E. Schadt, et al. 2001. Experimental annotation of the human genome using microarray technology. *Nature*. 409:922-927.

Dalton, R. 2000. DIY (Do it yourself) microarrays promise DNA chips with everything. *Nature*. 403:236

DeRisi, J. L. V. R. Iyer, & P. O. Brown 1997. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*. 278:680-686.

30

Gasch, A. P., P. T. Spellman, et al. 2000. Genomic expression programs in the response of yeast cells to environmental changes. *Molecular Biology of the Cell*. 11:4241-4257

Geschwind, D. H. 2000. Mice, microarrays, and the genetic diversity of the brain. *PNAS* . 97:10676-10678.

40

R. Drmanac, S. Drmanac, G. Chui, et al. Sequencing by Hybridization (SBH): Advantages, Achievements, and Opportunities. *Advanced in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 77, 75-100.

(メンブラン・チップ)

Fang Y, Frutos AG, Webb B, Hong Y, Ferrie A, Lai F, Lahiri J. Membrane biochips. *Biotechniques*. 2002 Dec; Suppl:62-5. PMID:1251493

50

Fang Y, Frutos AG, Lahiri J. G-protein-coupled receptor microarrays. *Chembiochem*. 2002 Oct 4; 3(10): 987-91. PMID: 12362364

Fang Y, Frutos AG, Lahiri J. Membrane protein microarrays. *J Am Chem Soc*. 2002 Mar 20; 124(11): 2394-5. PMID: 11890761

Fang Y, Webb B, Hong Y, Ferrie A, Lai F, Frutos AG, Lahiri J. Fabrication and application of G protein-coupled receptor microarrays. *Methods Mol Biol*. 2004; 264: 233-43. PMID: 15020794

Fang Y, Lahiri J, Picard L. G protein-coupled receptor microarrays for drug discovery. *Drug Discov Today*. 2003 Aug 15; 8(16): 755-61. Review. PMID: 12944098

Mishina YM, Wilson CJ, Bruett L, Smith JJ, Stoop-Myer C, Jong S, Amaral LP, Pedersen R, Lyman SK, Myer VE, Kreider BL, Thompson CM. Multiplex GPCR assay in reverse transfection cell microarrays. *J Biomol Screen*. 2004 Apr; 9(3): 196-207. PMID: 15140381

Mack J. Fulwyler and Thomas M. McHugh, "Flow Microsphere Immunoassay for the Quantitative and Simultaneous Detection of Multiple Soluble Analytes," *Methods In Cell Biology*, vol. 33, pp. 613-619.

Fulwyler et al, "Immunoassay Bead (IRB) Assay for the Quantitative and Simultaneous Flow Cytometric Detection of Multiple Analytes", *Cytometry, Supplement 2*, p. 19, Sep. 2, 1988.

Fulwyler et al., "Flow Microspheres Immunoassay for the Quantitative and Simultaneous Detection of Multiple Soluble Analytes," *Methods in Cell Biology*, 33, 613-629 (1990).

Vener et al., "A Novel Approach to Nonradioactive Hybridization Assay of Nucleic Acids Using Stained Latex Particles," *Analytical Biochemistry*, 198, 308-311 (1991).

Wilson et al., "A New Microsphere-Based Immunofluorescence Assay Using Flow Cytometry," *Journal of Immunological Methods*, 107, 225-230 (1988).

Bayerl, T. M. & Bloom, M. Physical properties of single phospholipid bilayers adsorbed to micro glass beads. *Biophys. J.* 58, 357-362 (1990).

Buranda, T. et al. Biomimetic molecular assemblies on glass and mesoporous silica

10

20

30

40

50

microbeads for biotechnology. *Langmuir* 19, 1654–1663 (2003).

(病原体検出)

Seung Min Yoo, Ki Chang Keum, et al. 2004. Development of DNA Microarray for Pathogen Detection. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 9:93–99

Call DR, Borucki MK, Loge FJ. Detection of bacterial pathogens in environmental samples using DNA microarrays. *J Microbiol Methods*. 2003 May; 53 (2) : 235–43. Review. PMID: 12654494

Somer L, Kashi Y. A PCR method based on 16S rRNA sequence for simultaneous detection of the genus *Listeria* and the species *Listeria monocytogenes* in food products. *J Food Prot*. 2003 Sep; 66 (9) : 1658–65. PMID: 14503721

Warsen AE, Krug MJ, LaFrentz S, Stanek DR, Loge FJ, Call DR. Simultaneous discrimination between 15 fish pathogens by using 16S ribosomal DNA PCR and DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol*. 2004 Jul; 70 (7) : 4216–21. PMID: 15240304

Maynard C, Berthiaume F, Lemarchand K, Har el J, Payment P, Bayardelle P, Masson L, Bro usseau R. Waterborne pathogen detection by use of oligonucleotide-based microarrays. *Appl Environ Microbiol*. 2005 Dec; 71 (12) : 8548–57. PMID: 16332846

Gonzalez SF, Krug MJ, Nielsen ME, Santos Y, Call DR. Simultaneous detection of marine fish pathogens by using multiplex PCR and a DNA microarray. *J Clin Microbiol*. 2004. Apr; 42 (4) : 1414–9. PMID: 15070982

M. T. McBride, S. M. Messenger, T. R. Slezak, & P. M. Imbro. Tailored assays for the detection of foreign disease pathogens in animals. *IVD Technology*, May 2005

(小RNA)

Remodelling of the *Escherichia coli* outer membrane by two small regulatory RNAs. Guillier, M. et al. *Molecular Microbiology* 59 (1), 231–47, 2006

Genes for small, noncoding RNAs under sporulation control in *Bacillus subtilis*. Silvaggi, J. M. et al. *Journal of Bacteriology* 188 (2), 532–41, 2006

Comparative RNA expression analyses from small-scale, single-donor platelet samp

10

20

30

40

50

les. Hillmann, A. G. et al. Journal of Thrombosis and Haemostasis 4 (2), 349–56, 2006

Optimization and validation of small quantity RNA profiling for identifying TNF responses in cultured human vascular endothelial cells. Shou, H. Y. et al. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 53 (2), 152–9, 2006

An antibody-based microarray assay for small RNA detection. Hu, Z. L. et al. Nucleic Acids Research 34 (7), NPG, 2006

Notch3 gene amplification in ovarian cancer. Park, J. T. et al. Cancer Research 66 (12), 6312–8, 2006

Dissecting the biological functions of Drosophila histone deacetylases by RNA interference and transcriptional profiling. Foglietti, C. et al. Journal of Biological Chemistry 281 (26), 17968–76, 2006

c-Myb is an essential downstream target for homeobox-mediated transformation of hematopoietic cells. Hess, J. L. et al. Blood 108 (1), 297–304, 2006

Localization of candidate regions for a novel gene for Kartagener syndrome. Gutierrez-Roelens, I. et al. European Journal of Human Genetics 14 (7), 809–15, 2006

MicroRNA-targeted and small interfering RNA-mediated mRNA degradation is regulated by Argonaute, Dicer, and RNA-dependent RNA polymerase in Arabidopsis. Ronemus, M. et al. Plant Cell 18 (7), 1559–74, 2006

(メチル化)

High-Throughput DNA Methylation Profiling Using Universal Bead Arrays, M. Bibikova, Z. Lin, L. Zhou, E. Chudin, E. Wickham Garcia, B. Wu, D. Doucet, N. J. Thomas, Y. Wang, E. Vollmer, T. Goldmann, C. Seifart, W. Jiang, D. L. Barker, M. S. Chee, J. A. Floros and J. B. Fan, Genome Research, 16 (3), 383 – 393, March 2006.

Human Embryonic Stem Cells Have a Unique Epigenetic Signature, M. Bibikova, E. Chudin, B. Wu, L. Zhou, E. Wickham Garcia, Y. Liu, S. Shin, T. W. Plaia, J. M. Auerbach, D. E. Arking, R. Gonzalez, J. Crook, B. Davidson, T. C. Schulz, A. Robins, A. Khanna, P. Sartipy, J. Hyllner, P. Vanguri, S. Savant-Bhonsale, A. K. Smith, A. Chakravarti, A. Maitra, M. Rao, D. L. Barker, J. F. Loring and J. B. Fan, Genome Research, Published online August 9, 2006, 10.1101/gr.531

10

20

30

40

50

9906.

(標識付け)

Summary of the Sensing and Positioning Technology, Workshop of the Committee on nanotechnology for Intelligence Community: Interim Report (2004), National Materials Advisory Board, Topic 1: Security Technologies Overview

Desouza, K. C. Vanapalli, G. K. Securing Knowledge Assets and Processes: Lessons from the Defense and Intelligence Sectors System Sciences, 2005. HICSS '05. Proceedings of the 38th Annual Hawaii International Conference on Publication Date: 03-06 Jan. 2005

10

(書籍)

D. Bowtell and J. Sambrook. 2003, DNA Microarrays, A Molecular Cloning Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press (特に第1~4節)

G. T. Hermanson, Bioconjugate Techniques, 1996, Academic Press (パート1、2、、3は全て直接利用可能)

20

Hacia J, Brody L, Chee M, et al. "Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two-color fluorescence Analysis" Nat Genet, 1996, 14, 441.

Hacia J, Edgemon K, Sun B et al. "Two color hybridization analysis using high density oligonucleotide arrays and energy transfer dyes" Nucleic Acids Res, 1998, 26, 4249.

30

Hacia J. "Resequencing and mutation analysis using oligonucleotides microarrays" Nature Genetics (Supplement), 1999, 21, 42.

Wodicka L et al. "Genome-wide expression monitoring in Saccharomyces cerevisiae" Nature Biotechnology, 1997, 15, 1359.

Lockhart D et al. "Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays" Nature Biotechnology, 1997, 14, 1675.

40

DeRisi J. et al. "Use of a cDNA microarray to analysis gene expression patterns in human cancer" Nat Genet, 1996, 14, 457.

Brown P O, Botstein D. "Exploring the new world of genome with DNA microarrays" Nature Genetics (Supplement), 1999, 21, 33.

Jelinsky S and Samson L. "Global response of Saccharomyces cerevisiae to a alkylating agent" proc. Natl Acad Sci USA, 1999,

50

96, 486.

Golub T. et al., 1999, "Molecular Classification of cancer: Class Discovery and Prediction by Gene Expression Monitoring" Science, 1999, 286, 531.

Heller RA, Schena M, Chai A, et al. "Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays". Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94, 2150.

Wang D, Fan J, Siao C et al. "Large-scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphism in human genome" Science, 1998, 280, 1077.

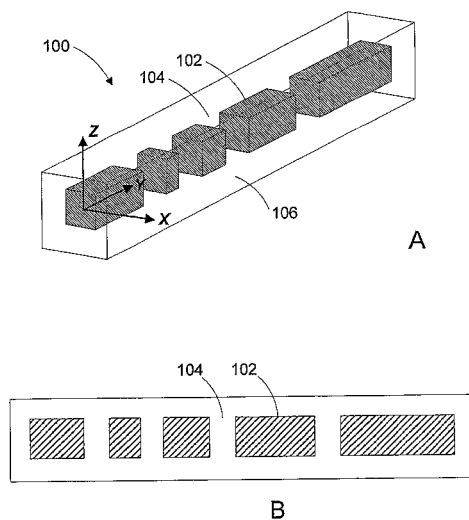
Lipshutz RJ, Morris D, Chee M, et al. "Using oligonucleotide probe arrays to access genetic diversity" Bio Feature, 1995, 19 (3), 442.

Wallraff G., Labadie J., Brock P. et al. "DNA Sequencing on a Chip" Chemtech, 1997, 22, 32.

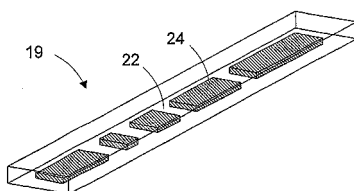
10

20

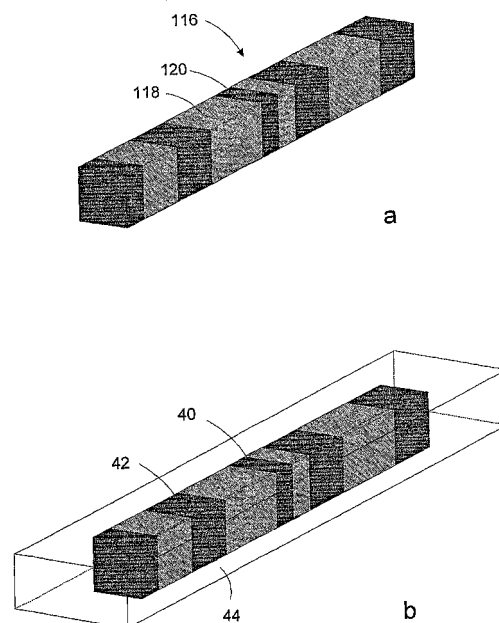
【図 1】



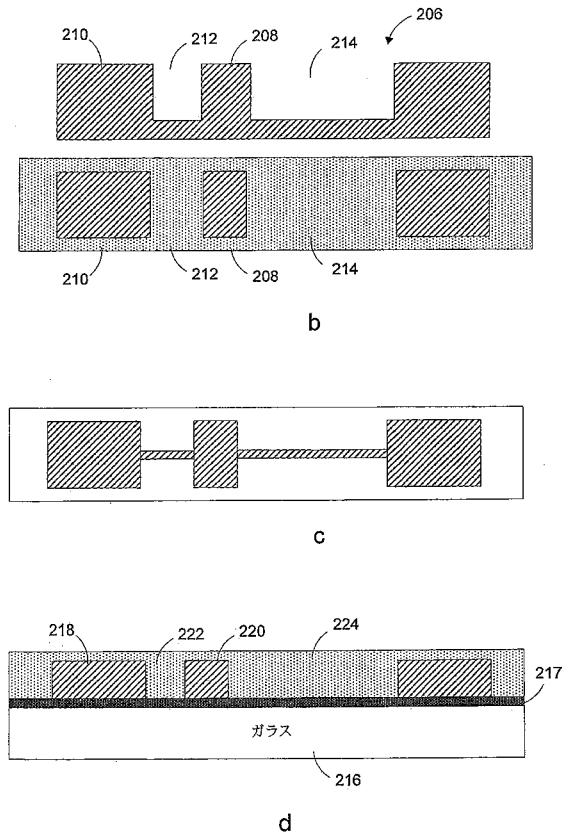
【図 2】



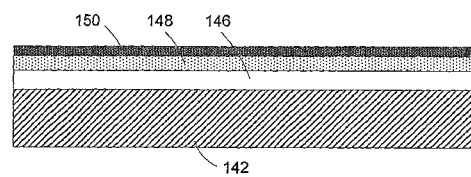
【図 3】



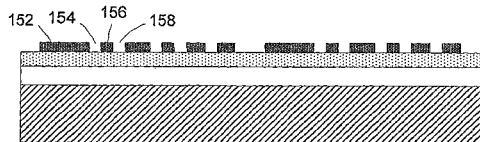
【図 4】



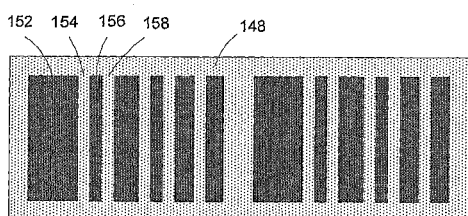
【図 6 a】



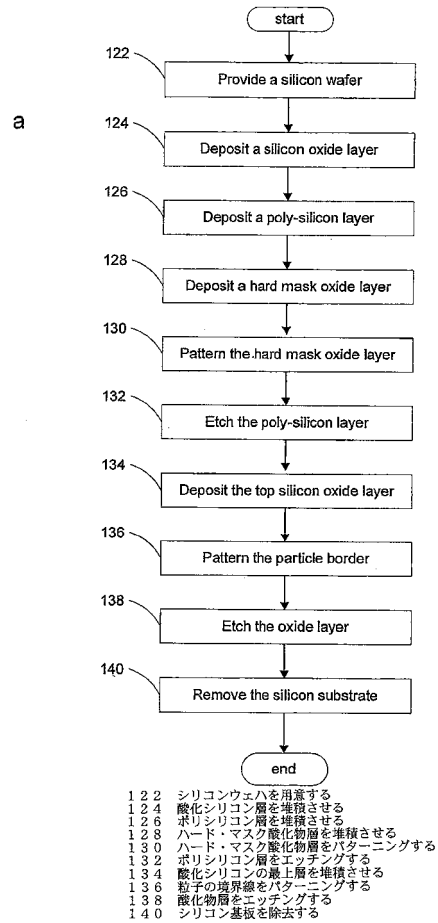
【図 6 b】



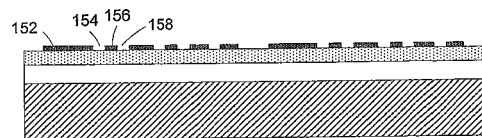
【図 6 c】



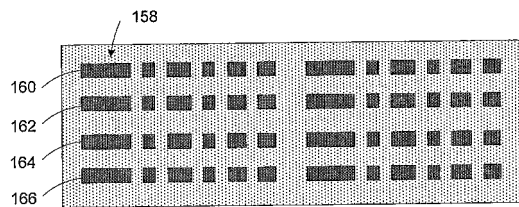
【図 5】



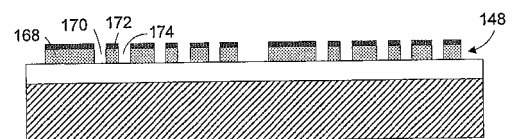
【図 6 d】



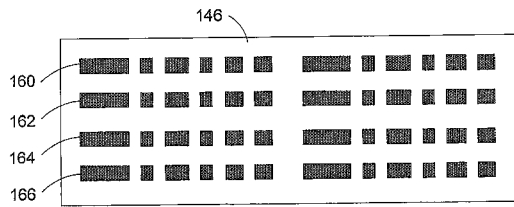
【図 6 e】



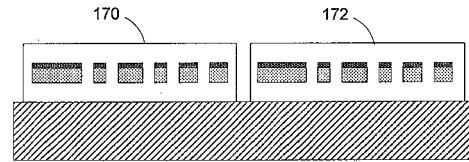
【図 6 f】



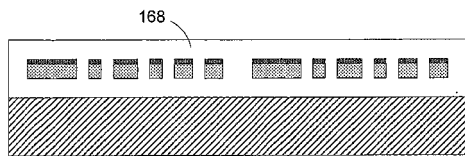
【図 6 g】



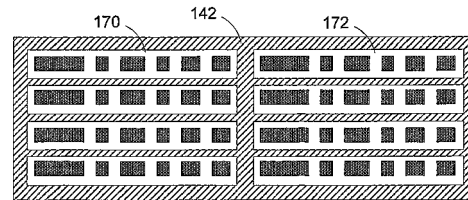
【図 6 j】



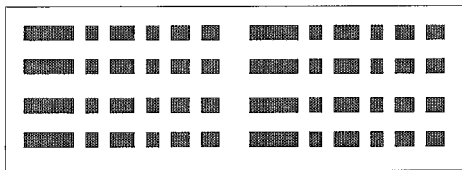
【図 6 h】



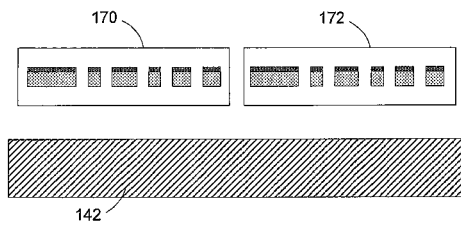
【図 6 k】



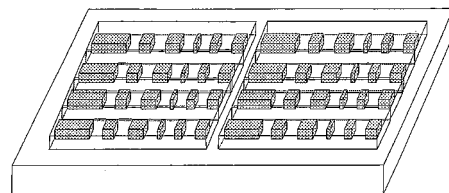
【図 6 i】



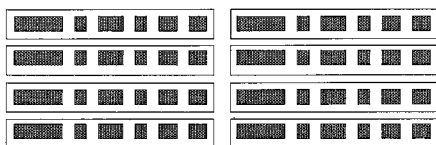
【図 6 l】



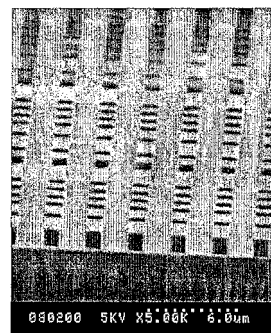
【図 8】



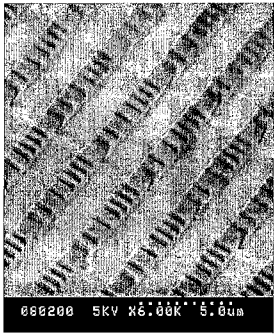
【図 6 m】



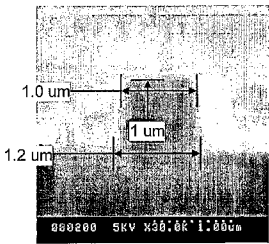
【図 9 a】



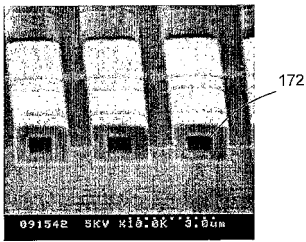
【図 9 b】



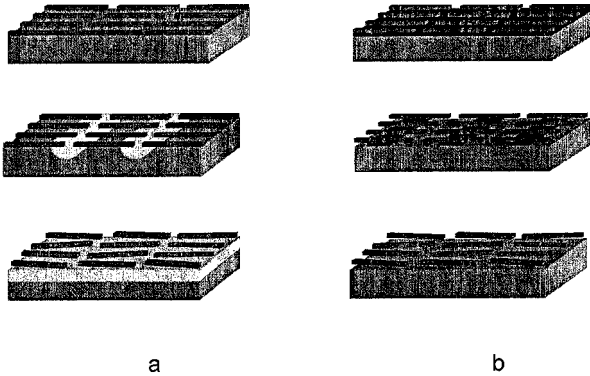
【図 9 c】



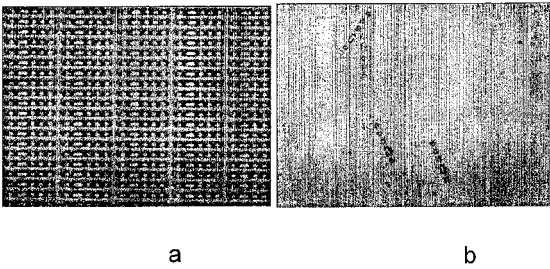
【図 10 a】



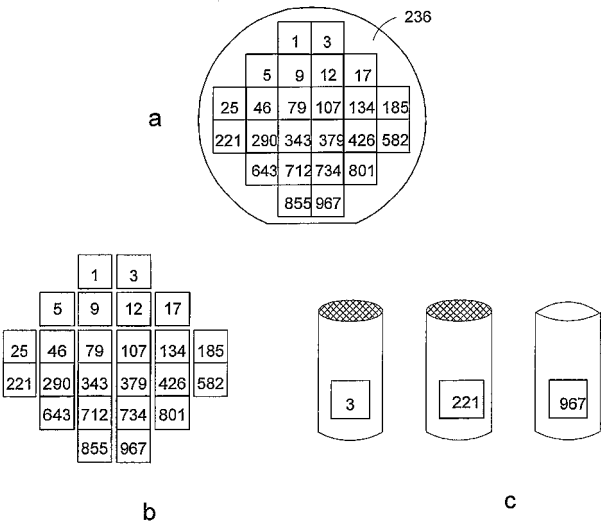
【図 11】



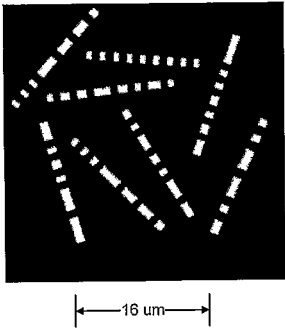
【図 12】



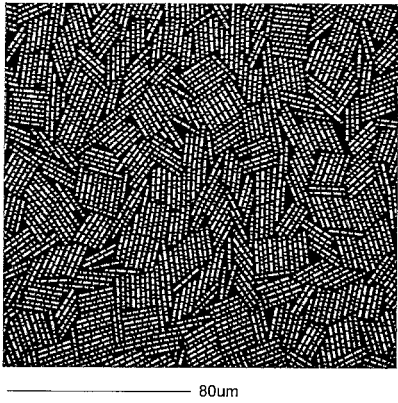
【図 13】



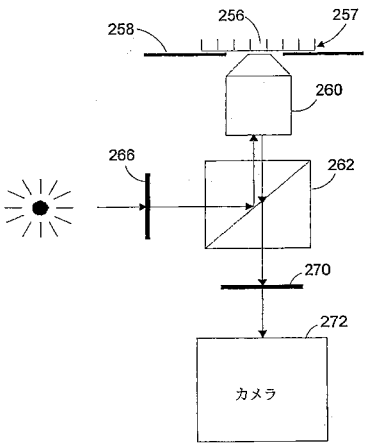
【図 1 4】



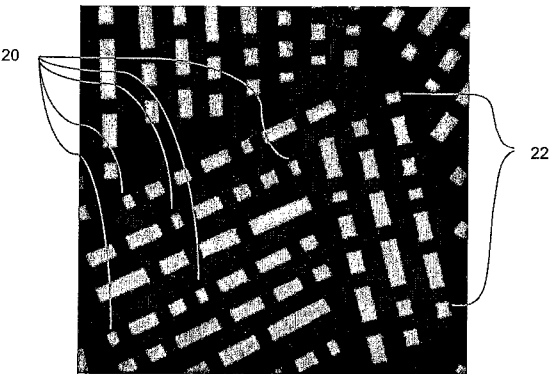
【図 1 6】



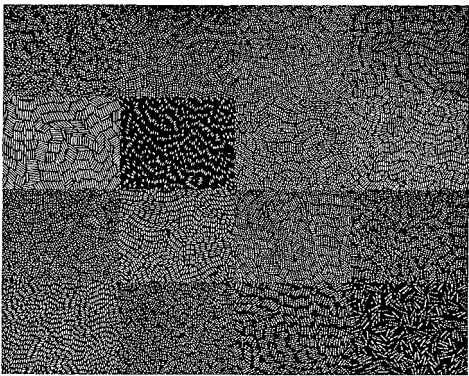
【図 1 5】



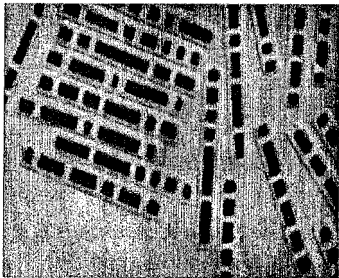
【図 1 7】



【図 1 8】

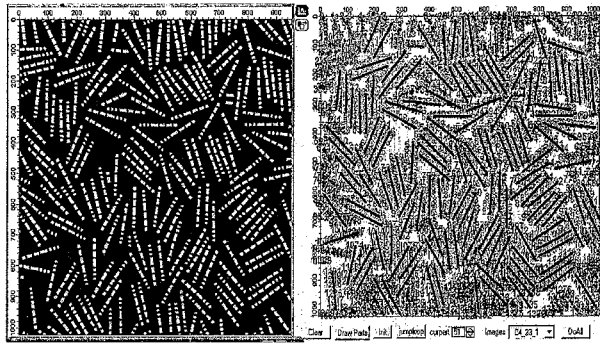


a



b

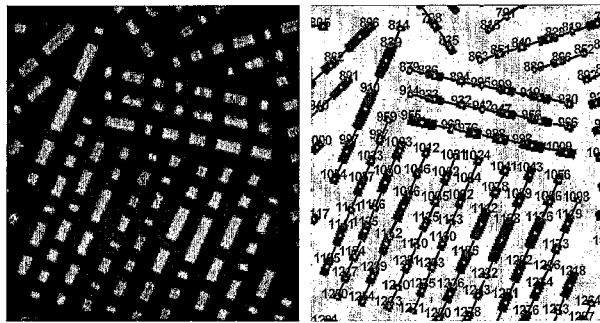
【図 19】



a

b

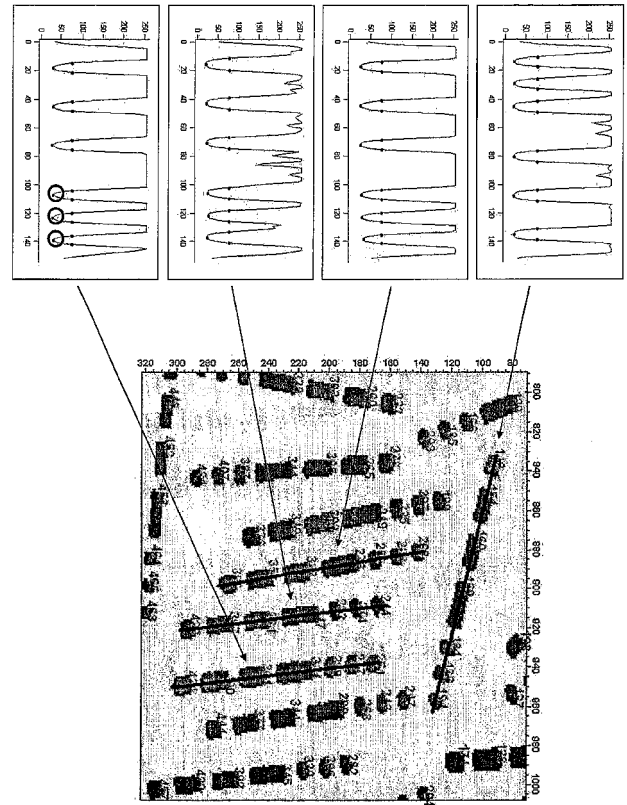
【図 20】



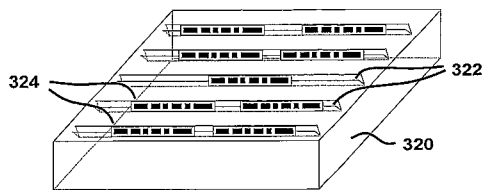
a

b

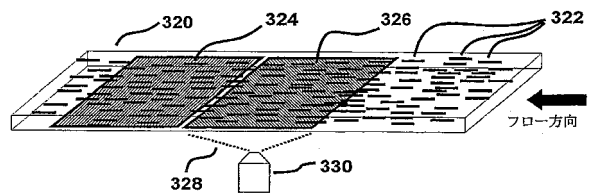
【図 21】



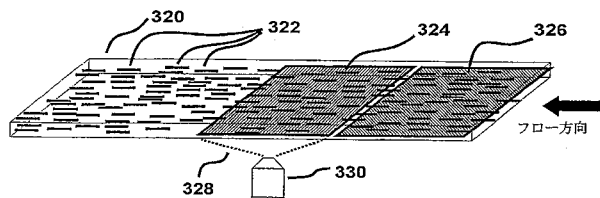
【図 22】



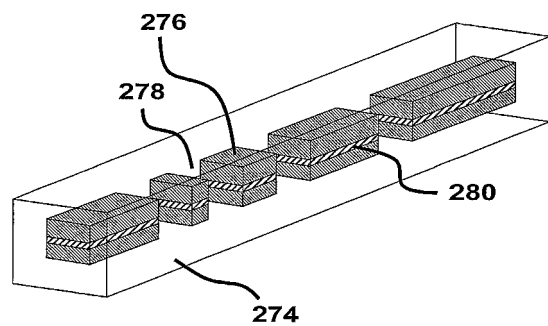
【図 24】



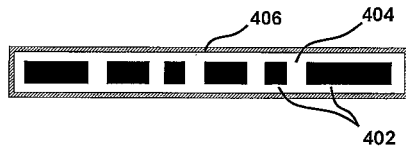
【図 23】



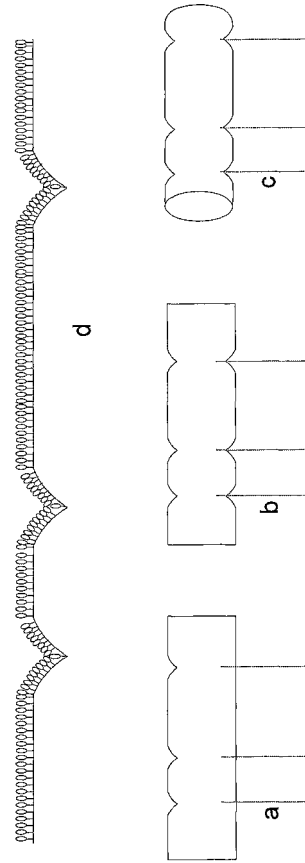
【図 25】



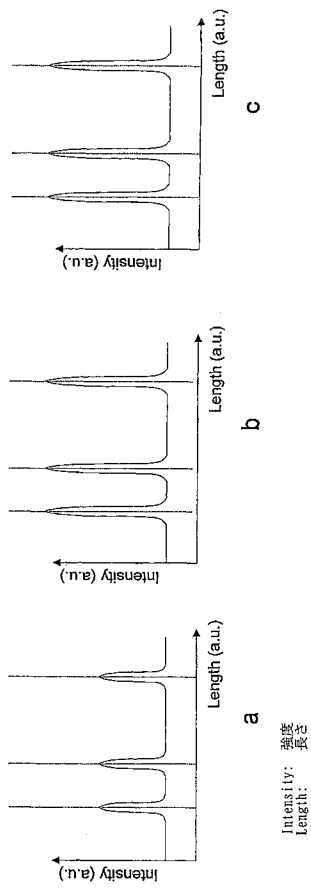
【図 26】



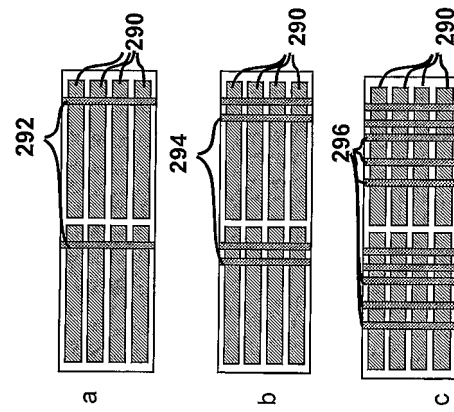
【図 27】



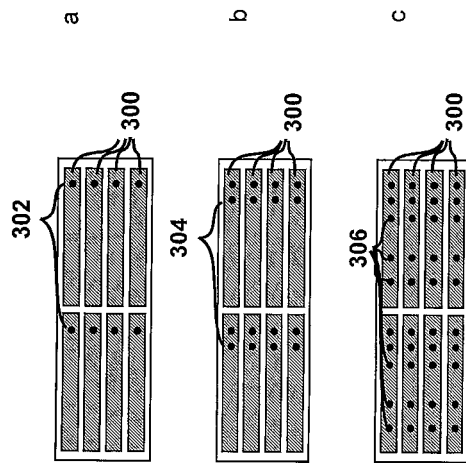
【図 28】



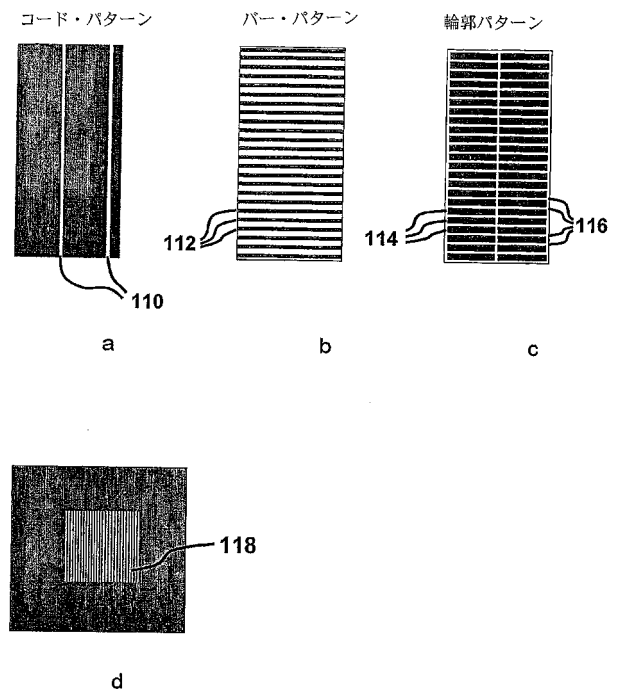
【図 29】



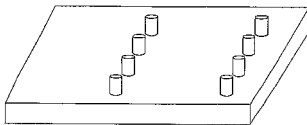
【図 3 0】



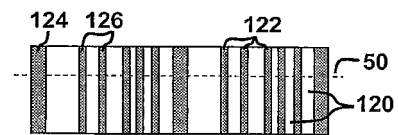
【図 3 1】



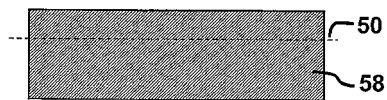
【図 3 2】



【図 3 3 d】



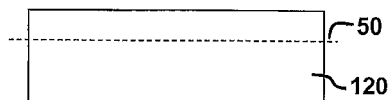
【図 3 3 a】



【図 3 3 e】



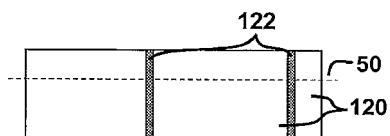
【図 3 3 b】



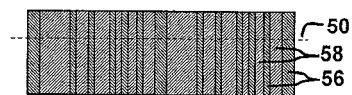
【図 3 3 f】



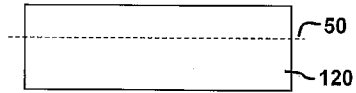
【図 3 3 c】



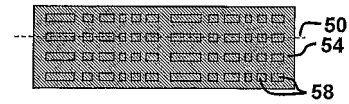
【図 3 3 g】



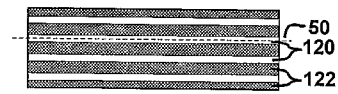
【図 3 3 h】



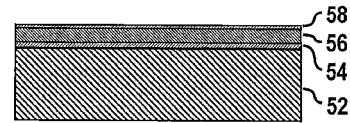
【図 3 3 m】



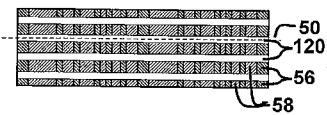
【図 3 3 i】



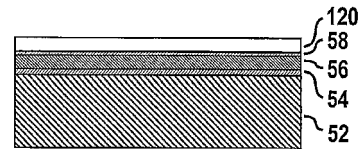
【図 3 4 a】



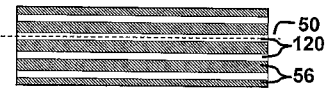
【図 3 3 j】



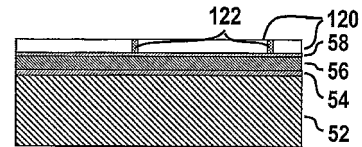
【図 3 4 b】



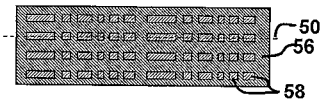
【図 3 3 k】



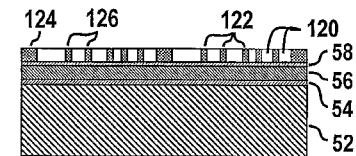
【図 3 4 c】



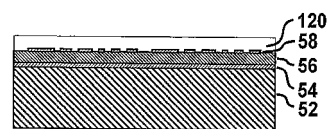
【図 3 3 l】



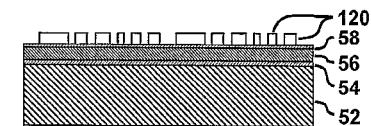
【図 3 4 d】



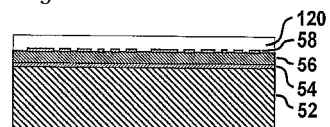
【図 3 4 i】



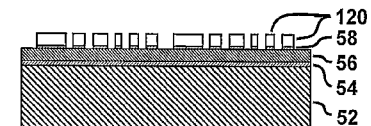
【図 3 4 e】



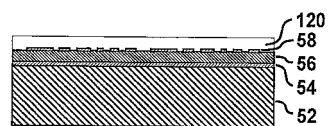
【図 3 4 j】



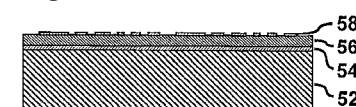
【図 3 4 f】



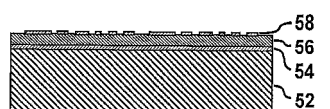
【図 3 4 k】



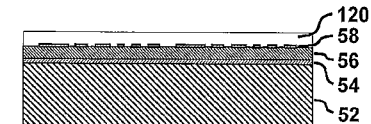
【図 3 4 g】



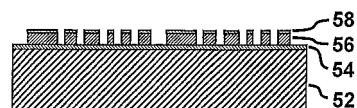
【図 3 4 l】



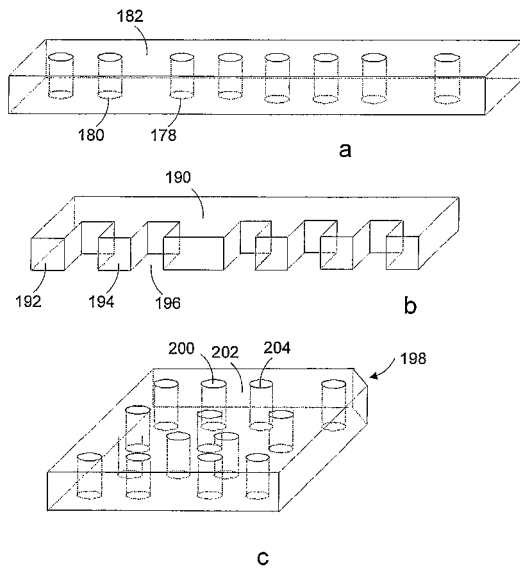
【図 3 4 h】



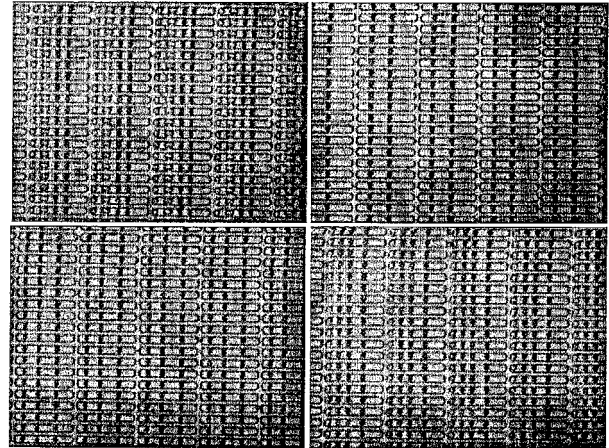
【図 3 4 m】



【図 35】



【図 36】



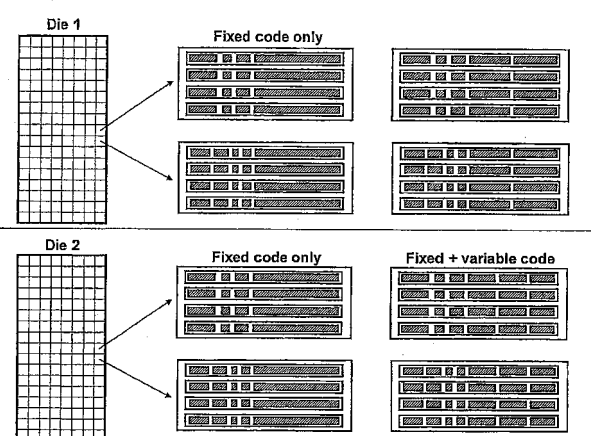
【図 37】

Sequence Pass: シーケンス・パス
Offset Pass: オフセット・パス

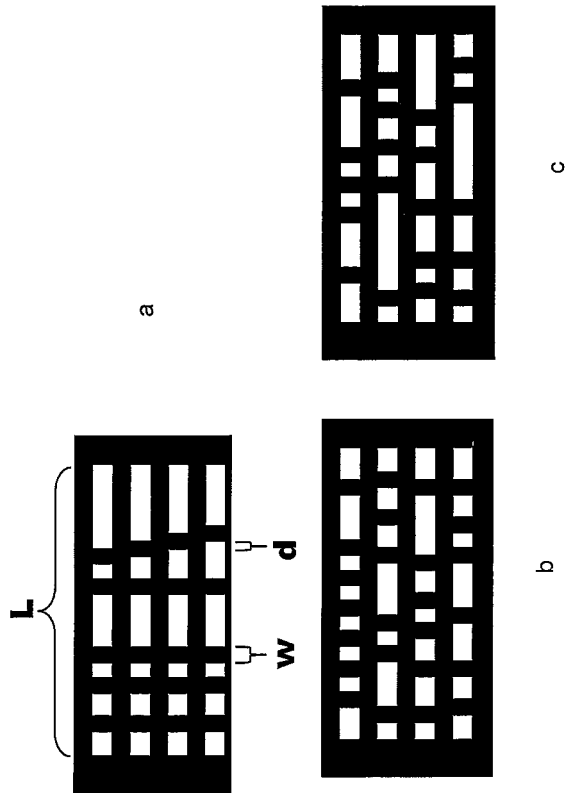
ATLANTIC	
Sequence Pass 1	Offset Pass 1
- 0 1 1 1 0 1 1 1 1 -	- X C A X X A A A A A -
1 1 1 1 0 1 1 1 1 1	0 A B C D
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	3855.8 3856.2 3856.6 3857.0
1 0 0 1 1 1 1 1 1 1	A B C D
- 1 1 1 1 1 1 1 1 1 -	- A C C A A C A A A -
Sequence Pass 2	Offset Pass 2
- 0 0 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X C X X X X X X X -
1 0 1 1 1 0 0 1 1 1	0 A B C D
0 0 1 1 0 0 1 1 1 1	3857.4 3857.8 3858.2 3858.6
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	A B C D
- 0 1 1 1 0 0 1 1 1 -	- C X X C A X X A A B B -
Sequence Pass 3	Offset Pass 3
- 1 1 0 1 1 0 0 1 1 -	- C A X X D X X X X X -
0 0 0 1 0 0 1 0 0 1	0 A B C D
1 1 1 1 1 0 0 1 0 1	3859.0 3859.4 3859.8 3860.2
- 1 1 1 1 0 1 1 1 0 -	- X C X X A X X C X X X -
Sequence Pass 4	Offset Pass 4
- 0 0 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X C A X X X X X X -
1 0 1 1 1 1 0 1 1 0	0 A B C D
1 1 1 1 1 0 1 1 0 0	3860.6 3861.0 3861.4 3861.8
- 1 1 1 1 0 1 1 1 1 -	- A X C A C A C X X A -
Sequence Pass 5	Offset Pass 5
- 0 0 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X C X X X X X X X -
0 0 0 1 1 1 0 0 1 1	0 A B C D
0 0 0 1 1 1 0 0 1 1	3862.2 3862.6 3863.0 3863.4
- 0 1 0 1 1 1 1 1 1 -	- X X X C C A A B B -
Sequence Pass 6	Offset Pass 6
- 0 1 1 1 0 1 1 1 1 -	- X C A X X X X X X X -
0 1 1 1 1 0 1 1 1 1	0 A B C D
1 0 1 1 1 0 1 1 1 1	3863.8 3864.2 3864.6 3865.0
- 1 1 1 1 1 1 1 1 1 -	- X C X X A X X B C X -
Sequence Pass 7	Offset Pass 7
- 0 0 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X X X -
0 0 0 1 1 0 0 1 1 1	0 A B C D
1 0 0 1 1 0 0 1 1 1	3865.4 3865.8 3866.2 3866.6
- 0 0 1 1 0 0 1 1 1 -	- A X X C C X X X X -
Sequence Pass 8	Offset Pass 8
- 0 1 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X X X -
0 0 1 1 1 0 0 1 1 1	0 A B C D
1 0 1 1 1 0 0 1 1 1	3867.0 3867.4 3867.8 3868.2
- 0 1 1 1 0 1 1 1 1 -	- X A X A C C X X X -
Sequence Pass 9	Offset Pass 9
- 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -	- X X X X X X X X X X -
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 A B C D
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	3868.6 3869.0 3869.4 3869.8
- 0 0 0 1 0 0 0 1 0 -	- X X X X A X X X X -

【図 38】

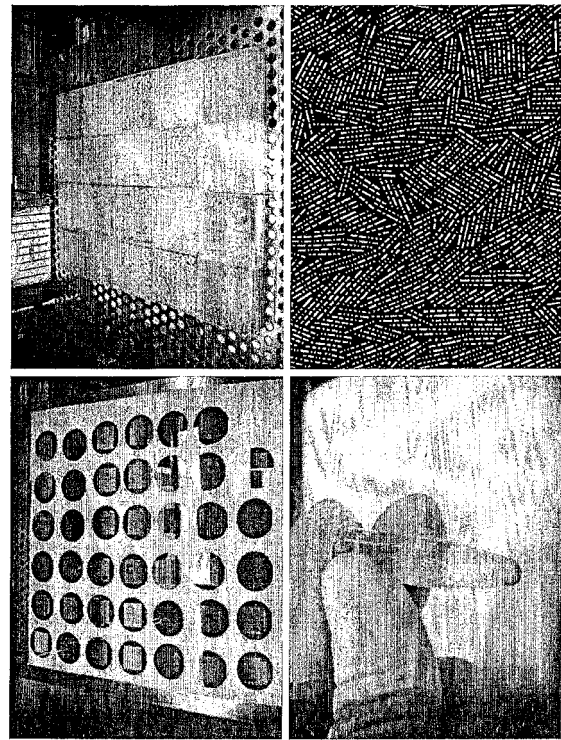
Die: ダイ
Fixed code only: 固定コードのみ
Fixed + variable code: 固定+可変コード



【図 39】

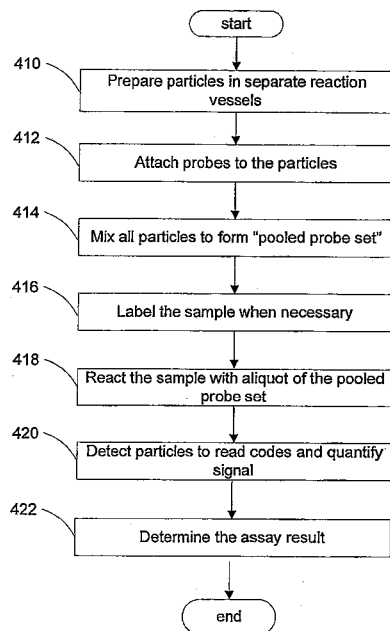


【図 40】

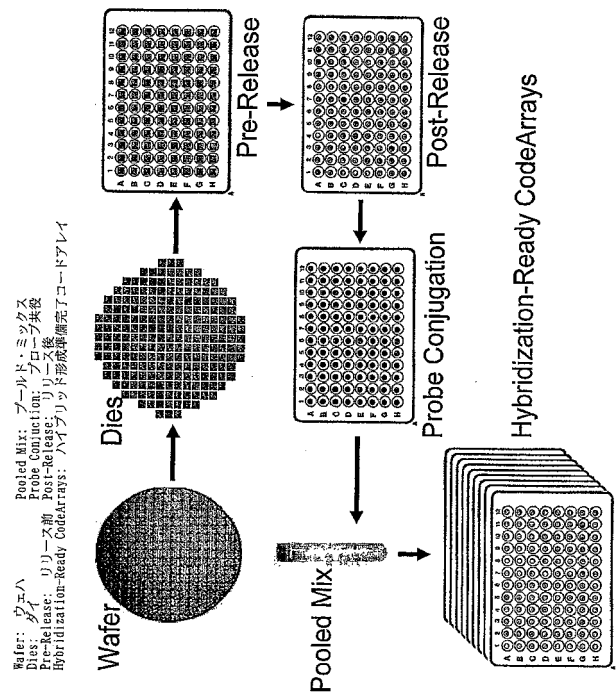


【図 41】

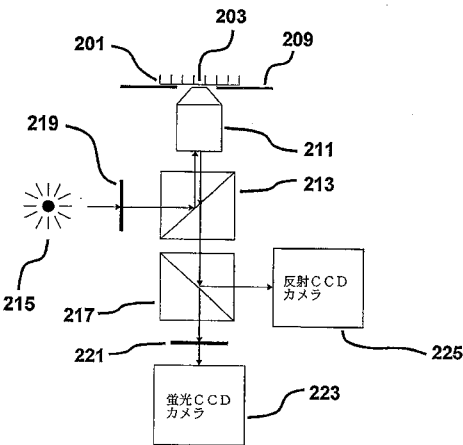
410 個別の反応容器内に粒子を準備する
 412 プローブを粒子に付着させる
 414 全ての粒子を混合して「プールド・プローブ・セット」を形成する
 416 必要であれば試料を標識付けする
 418 試料をプールド・プローブ・セットの部分標本と反応させる
 420 粒子を検出して、コードを読み取り信号を定量化する
 422 アッセイ結果を決定する



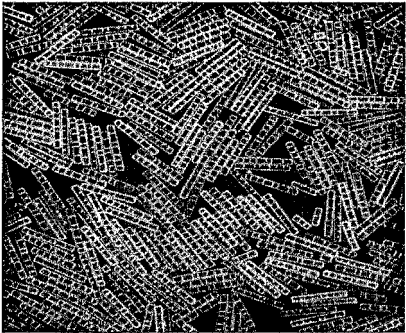
【図 42】



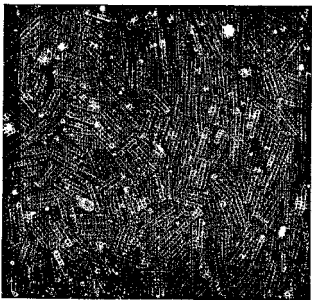
【図 4 3】



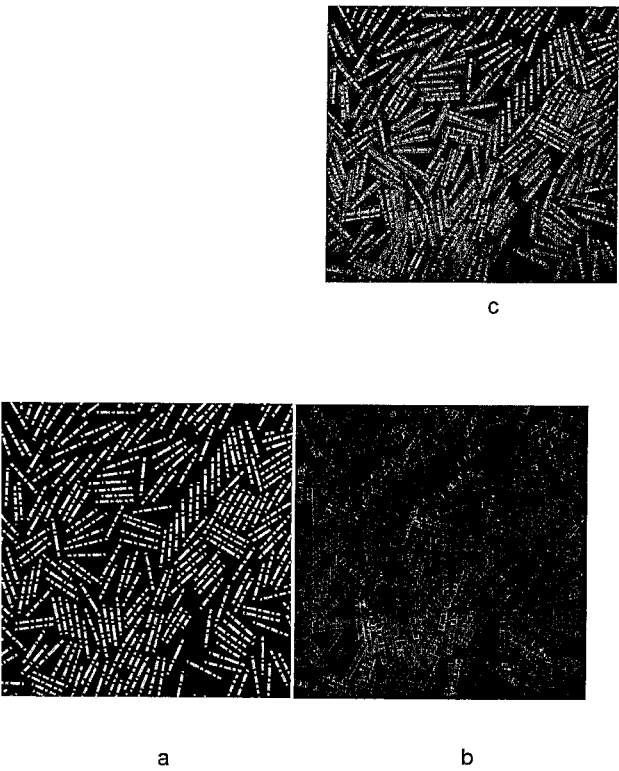
【図 4 4】



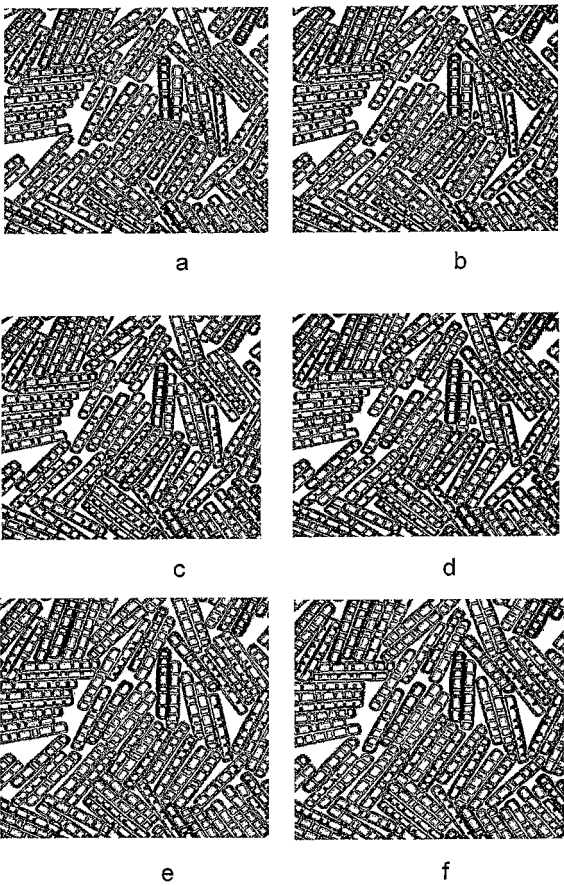
【図 4 5】



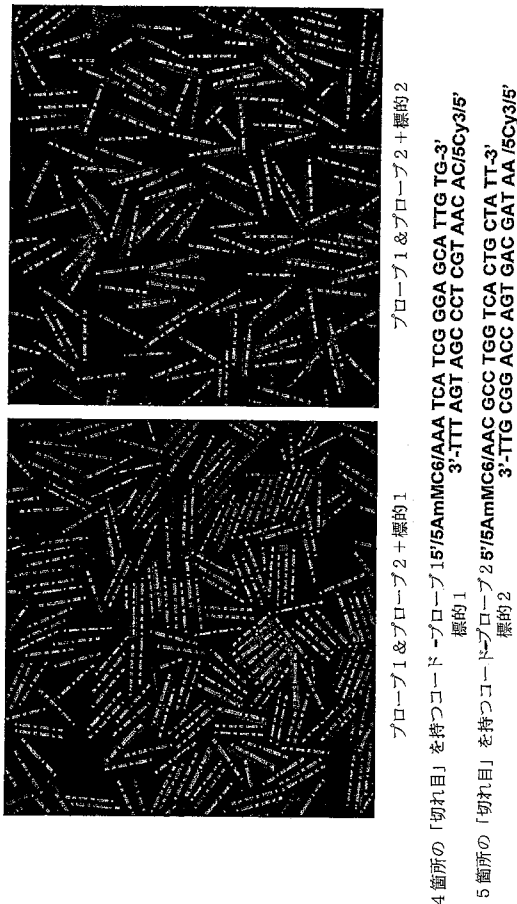
【図 4 6】



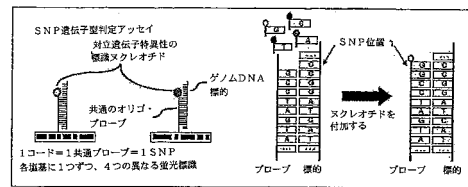
【図 4 7】



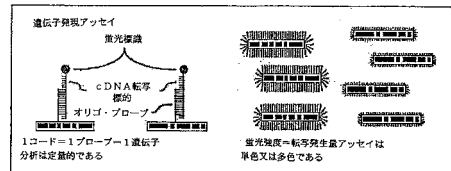
【図 48】



【図 49】

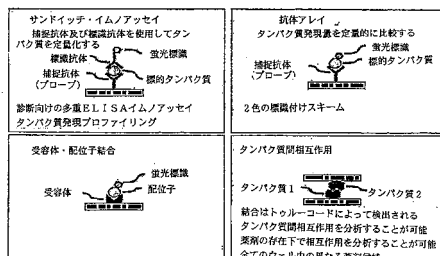


a

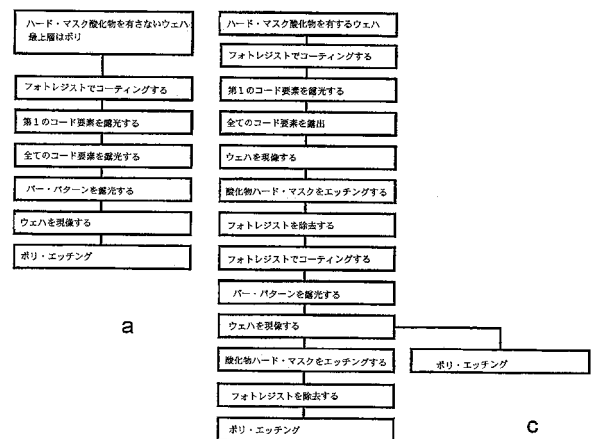


b

【図 50】



【図 52】



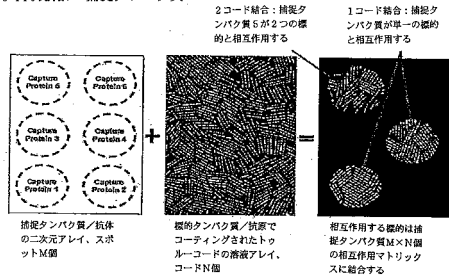
a

b

c

【図 51】

Capture Protein: 捕捉タンパク質



【手続補正書】

【提出日】平成24年5月9日(2012.5.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

軸線に沿って整列した2つ以上の別個のセグメントを含む第1の材料と、
前記セグメントが第2の材料を通して検出可能であるようにして、前記第1の材料を取り囲む第2の材料を含み、
前記2つ以上の別個のセグメントがコードを形成し、前記軸線に沿って同一の断面を有する、コード化されたマイクロ粒子。

【請求項2】

前記第2の材料が透明である請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項3】

前記透明材料がガラスを含む請求項2に記載のマイクロ粒子。

【請求項4】

前記マイクロ粒子の外面全体がガラスである請求項3に記載のマイクロ粒子。

【請求項5】

前記マイクロ粒子の断面がほぼ長方形である請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項6】

前記マイクロ粒子の前記軸線方向に計測された長さが160 μm以下である請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項7】

前記マイクロ粒子は、強磁性材料、反磁性材料、常磁性材料、超常磁性材料からなるグループから選択された材料を更に含む請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項8】

前記第2の材料がその中又は上に複数の蛍光分子を含む請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項9】

前記第2の材料が、多数の生化学分子がその上に付着される面を含む請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項10】

前記マイクロ粒子は、複数のマイクロ粒子の1つであり、前記複数のマイクロ粒子が単分子層内にほぼ配置される請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項11】

前記マイクロ粒子は、複数のマイクロ粒子の1つであり、前記複数のマイクロ粒子が液体中に配置され、前記マイクロ粒子がブラウン運動を行い、かつ前記面に付着された生化学分子を有する請求項9に記載のマイクロ粒子。

【請求項12】

前記第2の材料がその面に複数のへこみを含む請求項1に記載のマイクロ粒子。

【請求項13】

請求項1に記載された一組のマイクロ粒子を用意する工程を含み、
前記マイクロ粒子の層が分析の間コンテナの内面上に配列され、前記マイクロ粒子が前記内面上にほぼ単分子層の形で配置され、
前記個々のマイクロ粒子の空間コードを検出するため、前記マイクロ粒子からの電磁放射を透過させるか、又は反射させ、前記透過又は反射した電磁放射を検出する工程をさらに含む、マイクロ粒子のコードを検出する方法。

【請求項 14】

前記マイクロ粒子上のプローブと対応する被検体との結合を生じさせるため、前記一組のマイクロ粒子を第1の試験流体と混合する工程と、

前記マイクロ粒子を第2の洗浄流体で洗浄する工程と、

検出の間前記マイクロ粒子がその中に配置される第3の分析流体を追加する工程とを更に含む請求項13に記載のマイクロ粒子のコードを検出する方法。

【請求項 15】

遺伝子発現、メチル化検出、SNP遺伝子型決定法、比較ゲノムハイブリダイゼーション、マイクロRNAプロファイリング、微生物識別、免疫学的検出、抗体配列、蛋白質検査、蛋白質-蛋白質相互作用、受容体配位子アッセイ、ウィルス識別、病原体識別より構成されるグループより選択されたアッセイを実行して、上記ステップは実施されることを特徴とする請求項13に記載のマイクロ粒子のコードを検出する方法。

【請求項 16】

請求項1記載の前記複数のマイクロ粒子と生物材料を有する試験試料を提供するステップと、

生化学的分子または生化学的プローブを含む前記マイクロ粒子を試験試料内の対応する生物学的被検体と結合させるステップと、

前記被検体と関連付けられた前記マイクロ粒子と前記被検体と関連付けられていない前記マイクロ粒子の空間コードを決定するステップと、
から構成され、

前記生化学的分子または前記生化学的プローブは、検出可能な標識または検出可能な標識を有する前記生化学的被検体を含むことを特徴とするバイオアッセイを実行する方法。

【請求項 17】

コンテナは少なくとも200の容器を備え、各容器は液体バッファ内に請求項1に記載の1,000,000個以上のコード化されたマイクロ粒子を有し、各容器内の前記コード化されたマイクロ粒子は同一のコードを有し、

各容器は異なるコードに対応していることを特徴とするキット。

【手続補正書】

【提出日】平成24年5月22日(2012.5.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【関連出願】

【0001】

(関連案件の相互参照)

本特許出願は、2006年1月25日出願の同時係属中の米国仮出願第60/762,238号、2005年9月13日出願の米国仮出願第60/716,694号の優先権を主張し、これらそれぞれの主題は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【技術分野】

【0002】

本発明は微細構造の分野に関し、より具体的にはコード化されたマイクロ粒子に関する。

【背景技術】

【0003】

マイクロ粒子又はナノ粒子は、構造と称される場合が多く、その特徴的寸法は、1mm³以下の体積などマイクロメートル以下の単位である。その小さな特徴的寸法に起因する固有の特性により、マイクロ粒子は、実験室研究や多くの工業的分野において顕著な用途

を見出している。コード化されたマイクロ粒子は、識別手段を有し、マイクロ粒子の一般的な分野の重要なサブクラスである。コード化された粒子は情報を伝達し、また、空間と時間に関して物理的に追跡することができるので、コード化されていない粒子の能力を大幅に拡張する。コード化されたマイクロ粒子の特に重要な用途は、DNAやタンパク質に関するものを含む多重バイオアッセイである。コード化されたマイクロ粒子の他の重要な分野としては、コンビナトリアル・ケミストリー、標識付けなどが挙げられる。多くの生化学用途及び生化学以外の用途を、本明細書において後述する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

多くの用途に関して、もう1つの望ましい属性としては、多数の識別可能なコード（すなわち、高いコードスペース）、コード化された粒子の正確かつ信頼性の高い識別、特定の用途に対する材料の適合性、マイクロ粒子の低コストでの製造（バッチ単位、粒子単位、コード・セット基礎単位）、検出システムの柔軟性が挙げられる。

【0005】

断片化された有色積層体、有色ポリスチレン・ビーズ、量子ドットを担持させたポリマー・ビーズ、希土類元素でドーブしたガラス・マイクロバーコード、電気めっきした金属ナノ・ロッド、回折格子に基づく繊維状粒子、パターン・パーとディスク、他のタイプのマイクロ粒子など、コード化されたマイクロ粒子を作成するためのいくつかの方策がこれまでに開発されている。しかし、これらの技術には、コードスペースが不十分である、コストが高い、精度が不适当である、使用時の性能が低い、凝集の問題によって大量生産ができない、前処理又はアッセイ手順が複雑であるなど、多くの制限のいずれかの欠点がある。

【0006】

したがって、コード化された情報を有するコード化されたマイクロ粒子又は一組のコード化されたマイクロ粒子、それらを作成する方法、マイクロ粒子のためのコードを供給する方法、マイクロ粒子を製造する方法、マイクロ粒子を検出する方法とシステム、使用する方法とシステムが求められている。

【0007】

添付の特許請求の範囲は、本発明の特徴を詳細に説明しているが、本発明並びにその目的及び利点は、以下の詳細な説明を添付図面と併せ読むことによって最も良く理解することができる。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】図1Aは、本発明のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図1Bは、図1Aのマイクロ粒子の側面断面図である。

【図2】本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図である。

【図3】図3aは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図3bは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図である。

【図4】図4a及び4bは、そのコード化構造が単一材料から得られる代表的なマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図4cは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す図であり、図4dは、本発明の代表的な製造の間の別の代表的なマイクロ粒子の断面図である。

【図5】本発明の代表的な製造方法において実行される工程を示すフローチャートである。

【図6a】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6b】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図6c】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図であ

る。

【図 6 d】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 e】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 f】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 g】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 h】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 i】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 j】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 k】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 l】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 6 m】本発明の代表的な製造プロセスにおけるマイクロ粒子の断面図及び平面図である。

【図 7】製造中の基板上のマイクロ粒子の配列の斜視図である。

【図 8 a】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 8 b】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 8 c】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 9 a】本発明の代表的な製造方法における製造中の複数のマイクロ粒子の S E M 画像である。

【図 1 0】本発明の製造方法に使用することができる代表的なエッチング方法を示す図である。

【図 1 1】本発明の複数のマイクロ粒子の画像である。

【図 1 2】本発明の代表的な製造方法による代表的なウェハ・レベルでの製造方法を概略的に示す図である。

【図 1 3】本発明の 8 個のコード化されたマイクロ粒子の反射モードにおける反転した顕微鏡画像を示す図である。

【図 1 4】本発明のコード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図である。

【図 1 5】図 1 3 と同じ倍率で得た全視野の単一画像を示す図である。

【図 1 6】コード化されたマイクロ粒子の高倍率画像を示す図である。

【図 1 7】図 1 7 a は、コード化されたマイクロ粒子の 1 2 個の稠密な反射画像を合成した図であり、図 1 7 b は、本発明のマイクロ粒子の例の透過蛍光顕微鏡画像を示す図である。

【図 1 8】図 1 8 a は、全視野反射画像を示す図であり、図 1 8 b は、離散的なセグメントを全マイクロ粒子に関連させる画像処理をした後の、図 1 8 a と同じ一連の画像を示す図である。

【図 1 9】図 1 9 a は、一連の反射画像を示す図であり、図 1 9 b は、離散的なセグメントを全マイクロ粒子に関連させる画像処理をした後の、図 1 9 a と同じ一連の画像を示す図である。

【図 2 0】右側に処理済みの画像を示し、左側に 4 個のマイクロ粒子の例から得たピクセル強度プロファイルを示す図である。

【図 2 1】画像化のためにコード化されたマイクロ粒子を不動化し分離するように設計された特徴を有する、特別に準備された面の概略図である。

【図 2 2】連続的な画像化による検出のため、流体中を流れるマイクロ粒子を供給できるようにしたフロー・セルを示す図である。

【図 2 3】連続的な画像化による検出のため、流体中を流れるマイクロ粒子を供給できるようにしたフロー・セルを示す図である。

【図 2 4】本発明の別の代替マイクロ粒子を示す図である。

【図 2 5】蛍光性の外側層を備えた空間的かつ光学的にコード化されたマイクロ粒子の図である。

【図 2 6】a - c は空間コードを形成する面のへこみを備えた本発明のコード化されたマイクロ粒子の概略図であり、d は、へこみを含むコード化されたマイクロ粒子の一例を示す図である。

【図 2 7】図 2 6 a ~ 2 6 c の対応する粒子に関する、粒子面に垂直に測定された不均一な空間密度を示す図である。

【図 2 8】本発明の別の代表的な製造の間の本発明の別の例によるマイクロ粒子の平面図である。

【図 2 9】本発明の別の代表的な製造の間の本発明の別の例によるマイクロ粒子の平面図である。

【図 3 0】a - c は、マイクロ粒子構造の好ましい実施形態における 3 個のマスク・フィールドを示す図であり、d は、レチクル・プレートの図である。

【図 3 1】スタンピングを利用する多数の印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代替例を示す。

【図 3 2 a】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 b】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 c】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 d】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 e】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 f】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 g】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 h】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 i】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 j】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 k】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 l】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

【図 3 2 m】図 1 A のコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す図である。

- 【図 3 3 a】図 3 2 a マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 b】図 3 2 b マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 c】図 3 2 c マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 d】図 3 2 d マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 e】図 3 2 e マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 f】図 3 2 f マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 g】図 3 2 g マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 h】図 3 2 h マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 i】図 3 2 i マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 j】図 3 2 j マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 k】図 3 2 k マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 l】図 3 2 l マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 3 m】図 3 2 m マイクロ粒子に対応する断面図である。
- 【図 3 4】本発明の方法を使用して作成することができる代表的なマイクロ粒子を示す図である。
- 【図 3 5】ダイからリリースする直前の、実際のコード化されたマイクロ粒子の 4 つの顕微鏡画像を示す図である。
- 【図 3 6】ウェハ上の全てのダイに対して異なるコードを生成するため、ステッパ・ソフトウェアに入力されるデータ例のチャートを示す図である。
- 【図 3 7】ダイ当たりの数を増加させたコードを生成するための代表的なスキームを示す図である。
- 【図 3 8】図 3 8 a は、本発明された非二進コード体系にしたがって形成されるコード化されたマイクロ粒子のグラフであり、図 3 8 b、3 8 c は、ギャップの数及び位置が異なるランダム・コードを示す図である。
- 【図 3 9】マイクロ粒子の大きなプロトタイプ・セットの様々な形態の写真 4 枚を合成した写真である。
- 【図 4 0】代表的なバイオアッセイ・プロセスのフローチャートである。
- 【図 4 1】全てのウェハを、バイオアッセイを行うために試料と反応できる状態の粒子・プローブ複合体の混合物とするための、プロセスの代表例を示す図である。
- 【図 4 2】反射画像及び蛍光画像を同時に取得するため 2 つの CCD カメラを利用する、コード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系を示す図である。
- 【図 4 3】多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。
- 【図 4 4】多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。
- 【図 4 5】本発明の同じ一組のマイクロ粒子に対する一対の反射画像及び蛍光画像を示す図である。
- 【図 4 6】時間系列におけるコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す図である。
- 【図 4 7】2 プレックス DNA ハイブリダイゼーション・アッセイから得た実際のアッセイ・データを示す図である。
- 【図 4 8】a は、本発明のマイクロ粒子を使用することができる代表的なアッセイを示す図であり、b は、本発明のマイクロ粒子を使用することができる別の代表的なアッセイを示す図である。
- 【図 4 9】本発明のマイクロ粒子を使用することができる別の代表的なアッセイを示す図である。
- 【図 5 0】粒子の画像を含むが、本発明の実際の実験結果ではない概略図である。
- 【図 5 1】コード要素のパターニング工程及びエッチング工程の例のフローチャートである。
- 【発明を実施するための形態】
- 【0009】
- コードを有するコード化されたマイクロ粒子が提供され、及び、区別可能なコードを備

えた一組のコード化されたマイクロ粒子が提供される。その際、コードは予め定められたコード体系に適合している。好ましくは、以下の例におけるマイクロ粒子は 1 mm^3 以下の体積を有する。本発明のマイクロ粒子により、迅速かつ正確であり、複雑さが軽減されたコードの検出が可能になる。マイクロ粒子上にコードを設ける方法、マイクロ粒子を製造する方法、マイクロ粒子を検出する方法とシステム、マイクロ粒子を使用するための方法とシステムも開示される。

【0010】

本発明は、以下に特定の例を参照して考察される。当業者であれば、以下の考察が例証を目的とするものであり、限定として解釈されるべきではないことを理解するであろう。むしろ、本発明の趣旨から逸脱することなく、他の変形例も適用可能である。

【0011】

一例として、図1Aは、本発明のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。マイクロ粒子100は、図面に示されるように、デカルト座標のY方向に沿って延長された直方体構造である。マイクロ粒子の長さの垂直な断面は、この例では正方形である、ほぼ同じ位相幾何学的形状を有する。

【0012】

この特定の例におけるマイクロ粒子は、一組のセグメント（例えば、セグメント102）とセグメントの間に挟まれたギャップ（例えば、ギャップ104）を有する。具体的には、長さ（マイクロ粒子の長さに沿った、例えばY方向に沿った寸法）が異なるセグメントは、異なるコード化要素を表すが、ギャップは、好ましくは、マイクロ粒子の検出中にセグメントを区別するため、同じ長さを有する。この例におけるマイクロ粒子のセグメントは、マイクロ粒子内に、例えば本体106内に完全に封入される。代替の特徴として、セグメントは、セグメントの幾何学的中心が、細長いマイクロ粒子の幾何学的中心軸と整列するように配列することができる。セグメントとギャップの特定の列はコードを表す。コードは予め定められたコード体系から得られる。

【0013】

マイクロ粒子のセグメントは任意の適切な懈怠が可能である。本発明の一例では、マイクロ粒子の各セグメントは、マイクロ粒子の長さの垂直に（すなわち、図1Aのデカルト座標のY方向に沿って）取った、ほぼ正方形の断面（すなわち、図1Aに示されるようなデカルト座標のX-Z面における断面）を有する。セグメントは、ほぼ正方形の断面を有するように製造されても、されなくてもよい。長方形、円形、楕円形、ソウ歯状、曲線状など、他の形状も適用可能である。特に、コード要素、すなわちセグメントとギャップは、他の任意の適切な所望の形状を取ることでもできる。例えば、セグメント（及び／又はギャップ）はそれぞれ、長方形の断面（例えば、長方形のアスペクト比が2:1以上、例えば4:1以上、10:1以上、20:1以上、さらには100:1以上などであるが、好ましくは500:1未満である）を有してもよい。

【0014】

図1Aのマイクロ粒子の例は、6つの主面を、すなわち、面（ $X = \pm x_0$ 、Y、Z）、（X、Y、 $Z = \pm z_0$ ）、面（X、Y、 $Z = \pm z_0$ ）、面（X、Y、 $Z = \pm z_0$ ）を有し、ここで、 x_0 、 y_0 、 z_0 はそれぞれ、マイクロ粒子の幅、長さ、高さである。本発明によれば、上記の6つのうち少なくとも2つの面 $X = \pm x_0$ （又は面 $Z = \pm z_0$ ）、より好ましくは、上記6つのうち少なくとも4つの主面 $X = \pm x_0$ 、面 $Z = \pm z_0$ は、各面がへこみを有するか否かに関わらずほぼ連続している。この構成により、マイクロ粒子は、光学イメージング装置などの検出器に対してほぼ同じ幾何学的な外観と特有性を示す。実際には、主面はほぼ平坦にすることができる。例えば、製造中に粗さ又は変化するプロファイルが生じたとしても、オーバー堆積やエッチング・バック技術、又は化学的機械的研磨（CMP）技術などの標準的な面加工技術、さらには平滑な垂直側壁プロファイルを作成するため、パターニング工程を適切に制御するなどの標準的な面加工技術を使用して、依然としてほぼ平坦な主面を得ることができる。

【0015】

コード要素、すなわちセグメントとギャップは、任意の所望の寸法を取ることができる。本発明の一例として、各コード化構造は、 $5\text{ }\mu\text{m}$ （ミクロン）以下、例えば3ミクロン以下の、より好ましくは1ミクロン以下、例えば0.8又は0.5ミクロン以下の、特徴的な寸法を有する。特に、ギャップはほぼ同じ寸法に保たれるが、セグメントの寸法が変化する場合、各ギャップは、好ましくは、1.5ミクロン以下、例えば0.8又は0.5ミクロン以下の特徴的な寸法を有する。

【0016】

一例として、線幅が0.13の30.5cm（12インチ）のシリコン・ウェハ上にマイクロ粒子を形成する場合、ギャップ面積が0.13 μm の最小幅を有し、透明度がより低いセグメントが（粒子の所望の長さ並びに、所望のコード化体系及びコードスペースに応じて）0.13 μm からそれよりもはるかに大きな値までの幅を有するようにすることができる。使用されるウェハの製造に応じて、0.13～1.85 μm （例えば、0.25～0.85 μm ）の最小ギャップ幅と最小セグメント幅が可能である。当然ながら、より大きな最小ギャップ長さとセグメント長さ（例えば、1.85～5.0 μm 以上）も可能である。当然ながら、他のサイズのウェハ（10.2cm（4インチ）、15.2cm（6インチ）、20.3cm（8インチ）など）、シリコン以外（例えば、ガラス）のウェハ、さらにはシリコン以外の他の基板（例えば、大型のガラス・パネル）を使用することができる。

【0017】

マイクロ粒子は、X方向、Y方向、及び／又はZ方向に同じ長さを有してもよいが、好ましくは、コード化されたマイクロ粒子は、2：1～50：1、例えば4：1～20：1の長さと幅の比を有する。本発明の一例では、マイクロ粒子の長さ（例えば、Y方向に沿った寸法）は、70ミクロン以下、50ミクロン以下、30ミクロン以下、例えば20ミクロン以下、16ミクロン以下、さらには10ミクロン以下である。マイクロ粒子の幅（例えば、X方向に沿った寸法）と、高さ（Z方向に沿った寸法）は、15ミクロン以下、10ミクロン以下、8ミクロン以下、4ミクロン以下、さらには1ミクロン以下、例えば、0.13ミクロンであってもよい。0.5～2ミクロン程度の小さな幅も可能である。図1Aに示し、かつ上述した形状以外に、マイクロ粒子は、ロッド、バー、ディスク、又は他の任意の所望の形状を取ってもよい。

【0018】

マイクロ粒子のコード化構造とギャップは、コード化構造とギャップが共に検出可能なコードを表す限り、任意の適切な形態を取ることができる。上述したように、マイクロ粒子の断面は、粒子の長さに垂直に取ったとき、正方形、長方形、円形、楕円形、あるいは、ソウ歯状若しくは曲線状又は他のプロファイルなどの任意の所望の形状である。断面が長方形のとき、長方形は、好ましくは、2：1以上、例えば4：1以上、10：1以上、20：1以上、さらには100：1以上であるが、好ましくは500：1未満であるアスペクト比（長さと幅又は高さの比）を有する。幅と高さの比は、1：1程度（正方形の断面）であるか、あるいは、1：4～1：1の比、好ましくは、粒子が細長い側面のどこに存在するかに関わらず、マイクロ粒子のコードを検出できるように、粒子が、粒子の幅又は高さを規定するいずれかの側面の上に存在することができる比を有することができる。

【0019】

コード化構造とギャップによって表されるコードの、迅速で、コスト効率が良く、信頼性が高く、かつ容易な検出を促進するため、各コード化構造は、検出手段に対して可能な限り全方向的であることが好ましい。すなわち、各コード化構造は、少なくとも二方向から、より好ましくはマイクロ粒子の長さに垂直な四方向（又は、断面が四辺形でない場合、全方向）から観察されたとき、ほぼ同じ幾何学的外観又は検出可能な特性を示す。したがって、コード化構造は、好ましくは、マイクロ粒子の長さに沿って、2回転対称性又は4回転対称性などの回転対称性を有する。

【0020】

本発明のマイクロ粒子は、粒子の形状又は長さ、及び所望のコードスペースに応じて、任意の適切な数のコード化構造を有することができる。具体的には、マイクロ粒子のコード化構造の総数は、1～20個、より一般的には3～15個、より一般的には3～8個である。

【0021】

所望のコードは、多数のやり方でマイクロ粒子に組み込むか、又はマイクロ粒子によって表すことができる。一例として、予め定められたコード体系のコード化要素は、セグメント（1つ又は複数）によって表すことができ、例えば、長さが異なるセグメントはコード体系の異なるコード化要素を表す。異なる（又は同じ）長さを有し、ギャップが間に挟まれたセグメントの異なる空間的配列は、異なるコードを表す。このコードの組み込み方法では、間に挟まれるギャップは、好ましくは、特にセグメントが整列する方向の長さについて、ほぼ同じ寸法を有する。別の例として、コードは、長さが変化するギャップを配列することによってマイクロ粒子に組み込まれ、セグメントはほぼ同じ寸法を有し、隣接したギャップ間に配置される。別の例では、セグメントとギャップは両方とも、コードを表すため、その寸法が変化する。実際に、コードは、セグメント、ギャップ、及びそれらの組み合わせを使用して、他の多くの代替的方法で表すこともできる。

【0022】

予め定められたコード体系から得られるコードを表すため、セグメントとギャップは、細長いマイクロ粒子の長さ（Y方向）に沿って配列される（ただし、二次元、又はさらには三次元の配列も可能である）。具体的には、セグメントとギャップは長さに沿って交互に整列され、各セグメントは隣接したギャップによって分離され（恐らくは、完全に分離され隔離される）、各ギャップは隣接したセグメントによって分離される（恐らくは、完全に分離され隔離される）。このことは、以下に考察される図1Bの断面図により良好に示されている。

【0023】

本発明の一例では、任意の適切な数のセグメントを使用することができ、例えば、透明度がより低い材料（セグメント間に挟まれたギャップに比べて）の、2～20個、より一般的には3～15個のセグメント（より一般的には3～8個のセグメント）が、コード化されたマイクロ粒子内に設けられる。コードを形成するため、透明度がより低い材料のセグメントの長さを変えることが可能である。あるいは、透明度がより低い材料のセグメントはそれぞれ、ほぼ同じ長さを有するが、透明度がより高い材料の中間セグメントは変化する長さを有することができる。当然ながら、コードを表すため、透明度がより高い材料のセグメントと透明度がより低い材料の中間セグメントが両方ともその長さが変化しても良い。

【0024】

図1Bを参照すると、断面は、図1Aの粒子のY-Z面で（又は同等にX-Y面で）で取られている。セグメント（例えば、セグメント102）とギャップ（例えば、ギャップ104）は、マイクロ粒子の長さに沿って交互になっている。

【0025】

マイクロ粒子に組み込まれたコードを検出できるようにするため、各マイクロ粒子内のセグメントとギャップは、光学特性、電気特性、磁性特性、流体力学特性、又は、所望の検出方法に適合した他の所望の特性が異なる材料から成ることができる。一例では、セグメントとギャップは、可視スペクトル内の透過光及び／又は反射光のもとで、直接空間的に区別することができる。例えば、コード検出が光学イメージングに依存するとき、区別可能な特性（セグメント対ギャップ）は、画像化に使用される特定の光（任意の所望の電磁放射、例えば、可視光と近可視光、IR、紫外光など）に対する透過率の差である。セグメントは、間に挟まれる間隔材料よりも光吸収性（又は光反射性）にする（あるいは、その逆にする）ことができる。コード検出が電気特性の測定に依存するとき、特性は、抵抗とコンダクタンスである。コード検出が磁気による方法を伴うとき、特性は、インダクタンスと電気インダクタンスである。コード検出が流動力学的方法を伴うとき、特性は、

コード検出に使用される特定の流体に対する粘性である。どの特定の特性に依存するかに関わらず、セグメントとギャップは、対応するコード検出方法を使用して差異を検出することができるように、特定の特性において十分な差異を示すことが好ましい。特に、光学イメージングを用いてコードが検出されるとき、セグメントとギャップは、マイクロ粒子の画像化に使用される特定の光に対して、異なる透過率（光透過モードの場合）又は反射率（光反射モードの場合）を示す材料から成る。例えば、透明度がより低い材料のマイクロ粒子のセグメントは、その上に入射する可視光又は近可視光の30%以上、好ましくは50%以上、又は例えば80%以上を阻止かつ／又は反射することができる。

【0026】

物体による電磁放射の透過率は物体の厚さに応じて変わるという事実を鑑みて、検出光の30%以上、好ましくは50%以上、又は例えば80%以上（あるいは、さらには90%以上）を阻止かつ／又は反射することができるセグメントが好ましいが、コード化構造の間のギャップは、検出光の50%以上、70%以上、80%以上、又はさらには90%以上を透過することができる材料から、かつそのような寸法で得られる。あるいは、セグメントとギャップは、透過率の差異の比がコード γ を検出するのに十分であるように、例えば、5%以上、10%以上、20%以上、50%以上、70%以上であるように、異なる材料から成る。透過率は、通過した光と入射光の光度の比として決められる。

【0027】

微細構造は、有機材料及び／又は無機材料、あるいは有機・無機材料の混合物で作成することができる。具体的には、ギャップ（好ましくは、可視光又は近可視光に対する透過性がより高い）とセグメント（好ましくは、ギャップに比べて、可視光又は近可視光に対する透過性がより低い）はそれぞれ、有機材料又は無機材料、あるいは混合有機・無機材料から成ることができる。セグメントは、金属（例えば、アルミニウム）、前周期遷移金属（例えば、タングステン、クロム、チタン、タンタル、又はモリブデン）、又はメタロイド（例えば、シリコン又はゲルマニウム）、あるいはそれらの組み合わせ（又は、窒化物、酸化物、及び／若しくは炭化物）から成ることができる。特に、セグメントは、メタロイド若しくは前周期遷移金属の酸化物、メタロイド若しくは前周期遷移金属の窒化物、又はメタロイド若しくは前周期遷移金属の炭化物を含む化合物など、セラミック化合物から成ることができる。前周期遷移金属は、周期表の3b族（Sc、Y、Lu、Lr）、4b族（Ti、Zr、Hf、Rf）、5b族（V、Nb、Ta、Db）、6b族（Cr、Mo、W、Sg）及び7b族（Mn、Tc、Re、Rh）に基づくものである。しかし、4b～6b族の前周期遷移金属、特に、タングステン、チタン、ジルコニウム、ハフニウム、ニオブ、タンタル、バナジウム、クロムが好ましい。

【0028】

この例では透明度がより高いギャップは、セグメントよりも透明度が高い任意の適切な材料を含むことができる。混合材料が選択される場合、間隔材料は、特に、シロキサン材料又はシルセスキオキサン材料などである。間隔材料は、無機材料の場合、ガラス材料などである。ボロン又はリンのドーパ剤／合金化剤を有するか、又は有さない、薄膜状に堆積された二酸化シリコンが適切な材料である。例えば、窒化シリコン、窒化酸化シリコン、酸化ゲルマニウム、窒化酸化ゲルマニウム、シリコン・ゲルマニウム窒化酸化物、又は様々な遷移金属酸化物など、他の無機ガラス材料も適切である。塗布ガラス（SOG）を使用することもできる。有機材料がギャップ材料に使用される場合、プラスチック（例えば、ポリスチレン又はラテックス）を使用することができる。

【0029】

セグメントとギャップは両方とも、CVD（化学堆積法）、PVD（物理堆積法）、塗布、ゾル・ゲルなどの任意の適切な方法によって堆積させることができる。CVD堆積法が使用される場合、CVDは、LPCVD（低圧化学堆積法）、PECVD（プラズマ促進化学堆積法）、APCVD（大気圧化学堆積法）、SACVD（減圧化学堆積法）などである。PVD法が使用される場合、所望の最終材料に応じて、スパッタリング又は反応スパッタリングが可能である。塗布材料（SOG又は混合有機・無機シロキサン材料）。

【0030】

より具体的な例として、セグメントは、CVD（化学堆積法）によって堆積させた非晶質シリコンなどの、任意の適切なシリコン材料から成ることができる。ポリシリコン又は単結晶シリコンも、上述したような広範囲の他の材料と同様に適切である。必須ではないが、セグメントのために選択される材料は、堆積厚さが高度に制御され、面粗さが低く、パターニングとリリースの両方におけるエッチングが高度に制御され（例えば、パターニングにはドライ・プラズマ・エッチングを、リリースには湿式又は乾式化学エッチングを使用する）、かつCMOSプロセスの適合性が高いことが好ましい。ギャップ材料は、CVD堆積された二酸化シリコンでよい。二酸化シリコンは、リン又はボロンなどの、ドーピング／合金化材料を包含してもよい。セグメントとギャップに対して、透明度のより高い材料とより低い材料の組み合わせを選択する際、温度が考慮に入れられてもよい。

【0031】

図2は、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。粒子19は長方形の断面を有し、ほぼ平坦な形状である。例えば、マイクロ粒子の高さと幅の比は、任意の所望の比であり、例えば、1:1.2～1:4以上などであることができる。

【0032】

図3aは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図3aを参照すると、マイクロ粒子116は第1の材料118と第2の材料120から成る。2つの材料は、化学的に異なるか、あるいは、同じ化学組成であり、ただしグレイン構造又は厚さなどの他の観点においては異なる。2つの材料は、所望の検出スキームを用いて区別することができる。この例では、材料はそれぞれ、好ましくは、粒子の断面を完全に横断する。この構造を作成する一例のプロセスは、本明細書で以下に開示するパターニングとエッチング方法の変形例、及び／又は高エネルギー・イオン注入法など、IC／MEMS（集積回路／微小電子機械システム）分野からのものを包含する、上述したような製造方法を伴う。

【0033】

図3bは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図3bを参照すると、マイクロ粒子は、第3の材料44に取り囲まれた、2つの異なる材料40、42の交互になったセグメントから成り、それにより、交互になったセグメントのパターンが検出可能なコードを形成する。他の例のマイクロ粒子は、粒子の内部に2つを超える異なる材料を含有してもよい。粒子は、任意の適切な断面形状を有してもよく、図示される例では細長いものである。

【0034】

上述の例では、マイクロ粒子は、区別可能な光学特性など、選択された区別可能な特性の材料から成る。上述の例では、一方の材料は他方の材料よりも大きな透明度又は光透過率を有し、その差異は拡大することによって検出可能である。上述の特定の例は、一方の材料が光吸収性材料であり、他方の材料が、可視スペクトルにおいてより大きな光透過性を有する半透明又は透明材料である（あるいは、例えば、UV、IRなどの別のスペクトルでは、異なる検出システムが使用されるべきである）。別の例では、一方の材料は光反射性材料であり、他方の材料は、光吸収性又は光透過性のどちらかである。一方の材料の不透明度がより高く、他方の材料の不透明度がより低い場合の、あるいは一方の材料の反射性がより高く、他方の材料の反射性がより低い場合の検出可能な差異は、この例の範囲内である。上述したように、不透明材料と透明材料の交互になった部分は、他の材料の中でも特に、シリコンとガラスで作成することができる。ほぼ全ての材料の透過率（及び反射率）が材料の厚さに依存するという事実に鑑みて、マイクロ粒子は、コード化構造（すなわち、コードのコード化要素を表す構造）が単一の材料から得られるようにして形成されてもよい。図4a、図4bは、そのコード化構造がシリコンなどの単一の材料から得られる、代表的なマイクロ粒子を概略的に示す。

【0035】

図4aを参照すると、代表的なマイクロ粒子の断面図が示されている。マイクロ粒子2

06は、一組のコード化構造（例えば210、212、208、214）を含み、それらの組み合わせは、コード体系から得られるコードを表す。コードを組み込むため、コード化構造は幅などの異なるプロファイルを有し、異なる幅を備えた異なる構造が特定の位置に位置付けられる。コード化構造を決め、かつ後でコード検出を行うため、透過率しきい値厚さ（それ以下になると、材料が可視光と近可視光などの特定の光に対して可視であるようなしきい値）未満の厚さを備えた一組のギャップ（例えば、ギャップ212、214）。図1aに示される例とは異なり、コード化構造は完全には分離又は隔離されていない。マイクロ粒子に組み込まれたコードは、例えば、コード化構造間の隣接したギャップ（例えば、212、214）よりも透過率が低い、コード化構造（例えば、210、208）の異なる透過率に基づいて、読み取ることができる。

【0036】

生体分子試料がマイクロ粒子の面に付着されることになる、マイクロ粒子の利用、特に生物学／生化学／生物医学／生物工学における利用を促進するため、固定化層が微細構造の面を被覆するのが望ましいことがある。

【0037】

図4bは、図4aのマイクロ粒子の透過モード画像を概略的に示す。図4bを参照すると、暗い領域210、208はそれぞれ、図4aのコード化構造210、208に対応する。白い領域212、214はそれぞれ、図4aのコード化構造212、214に対応する。光透過率のより高い部分とより低い部分とに使用される材料が同じ場合であっても、依然として、透過率プロファイルによって検出可能なコードが可能になる。図4のようなマイクロ粒子は、別の材料（例えば、二酸化シリコン）の最下層を備え、所望に応じて別の材料（例えば、二酸化シリコン）の第2の層で被覆させる。そのようなマイクロ粒子は、図1aの構造とほぼ同じ直方体形状を有するように、材料（例えば、二酸化シリコン）で完全に包むこともできる。図4cは、本発明の別の例のコード化されたマイクロ粒子を概略的に示す。図4cを参照すると、マイクロ粒子は、より狭い領域によって接続されたより大きな領域を含む。マイクロ粒子は、コードが検出可能であるように、材料によって取り囲まれる。

【0038】

図4a、図4cのマイクロ粒子は、多くの方法で製造することができ、その1つが、図4dの代表的な製造中のマイクロ粒子の断面図に概略的に示される。図4dを参照すると、特定の光（例えば、可視光又は近可視光）に対して透過性の材料（例えば、ガラス、石英、又は他の適切な材料）から成る基板216が用いられる。分離層217が基板216上に堆積される。分離層は、エッチング又は他の適切な方法によって、後でマイクロ粒子をガラス基板から切離すために設けられる。エッチングは、湿式、乾式、又はプラズマ・エッチングで、したがって、分離層は、本明細書において上述したような、選択されたエッチング方法を用いてエッチング可能な材料から成ることが望ましい。粒子構造の上述の実施形態に関して記載したように、粒子が基板上に直接形成され、続いて基板にバルク・エッチングを施すことによってリリースされるように、分離層は省略されてもよい。

【0039】

コード化構造層は、構造218、222、220などのコード化構造を形成するように、堆積されパターニングされる。コード化構造を形成した後、形成されたコード化構造上に包囲層224が堆積される。包囲層は、アッセイの際に標的試料に対して露出されるので、層224は、マイクロ粒子がその中に分配されるべきアッセイ溶液中の化学成分に対する耐性を持つ材料から成ることが望ましい。さらに、核酸（例えば、DNA又はRNA）、タンパク質、抗体、酵素、薬剤、受容体、配位子、又は層の面上の分子などのプローブ分子を保持するため、層224はプローブ分子を不動化できることが望ましい。

【0040】

以下の代表的な製造プロセスは、セグメントとギャップを備えたマイクロ粒子を参照して考察されるが、以下の方法は、他の多くのタイプのコード要素に適用可能であることに留意されたい。

【0041】

本発明の微細構造は、MEMS製造方法などの微細加工の広範な分野内にある方法を用いて製造することができる。MEMSは、多種多様な用途向けのマイクロスケール構造を形成するため、半導体産業の技術を使用する。MEMS技術は、全ての状況においては、一般的には、薄膜の堆積、乾式及び／又は湿式方法を用いたエッチングと、パターン形成のためのリソグラフィを含む。MEMSは半導体産業から派生したもののなので、コスト効率が良く、大量の、かつ精密な生産のための、莫大な世界規模の製造基盤が整っている。一般的に言えば、MEMSプロセス全体が既存の集積回路プロセスに類似しているほど、例えばCMOSに適合しているほど、この基盤がより使用しやすい。

【0042】

本発明の微細構造は、集積回路（例えば、相互接続）又はMEMSに使用される製造方法など、多くの方法で製造することができる。以下では、マイクロ粒子を作成するためのMEMS製造と適合性がある代表的な製造方法が、図5及び図6a～図6mを参照して考察されるが、その際、マイクロ粒子は、非晶質シリコンから成る不透明なセグメントと、二酸化シリコンから成る可視光透過性のギャップとを含む。以下の製造の考察は、単に実証のためのものに過ぎず、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではないことが、当業者には理解されるであろう。実際に、本発明の趣旨から逸脱することなく、多くの製造方法を使用することができる。

【0043】

図5を参照すると、工程122でシリコン基板が用意される。（本明細書においてさらに後述されるように）ガラス・ウェハ又はガラス・パネルなどの他の基板を使用することもできる。シリコン基板と仮定すると、工程124で基板上に二酸化シリコン層を堆積する。堆積は、上述したように、CVD、PVD、塗布など、多くの適切な薄膜堆積技術を用いて行うことができる。次に、工程126で非晶質シリコン層がSiO₂層上に堆積され、続いて、工程128でハード・マスク酸化物層が堆積される。必須ではないが、ハード・マスクを使用することによって、特に非晶質シリコン層が比較的厚い（例えば、1μm以上の厚さ）とき、トポロジーによって引き起こされるフォトレジスト・コーティングの問題が軽減される。次に、工程130でハード・マスク酸化物層がパターニングされる。パターニングされたハード・マスク層を用いて、工程132で、所望のパターンを形成するように、プラズマ・エッチングによって非晶質シリコン層にエッチングが施される。次に、工程134でSiO₂の最上層がパターニングされたシリコン層上に堆積され、続いて、工程136で二酸化シリコン層がパターニングされて、個別の（ただしまだリリースされていない）マイクロ粒子が形成される。次に、シリコン基板をエッチングし、マイクロ粒子を個々の粒子として分離させる無指向性シリコン・エッチングによって、工程140でマイクロ粒子がシリコン基板からリリースされる。上述したような図5のフローチャートは、異なる工程におけるマイクロ粒子の断面図と平面図においてより良好に示される。断面図及び平面図は図6a～図6mに概略的に示される。

【0044】

図6aを参照すると、SiO₂層146、シリコン層148、ハード・マスク層150が、シリコン基板142上に順次堆積される。次に、ハード・マスク層150は、図6bに示されるように、セグメント片（例えば、152及び156）とギャップ片（例えば、154、158）を形成するようにパターニングされる。ハード・マスク層をパターニングすることによって形成されたセグメント片とギャップ片は、標的のマイクロ粒子のセグメントとギャップに対応する。セグメント片とギャップ片は、図6cのマイクロ粒子の平面図により良好に示される。図6cを参照すると、セグメント片（例えば、152、156）とギャップ片（例えば、154及び158）は、層148が上面から見えるように形成される。

【0045】

層のパターニングは多くの方法で行うことができ、その1つは、半導体集積回路やMEMSデバイスの標準的な製造に広く使用されるフォトリソグラフィである。MEMS産業

に使用されるフォトリソグラフィの最も一般的な形態は、接触フォトリソグラフィである。レチクル（マスクとして知られる）は、一般的に、ガラス・プレート上の二進クロム・パターンから成る。レチクルは、フォトレジストで覆われたウェハ（又は他の基板）に非常に近接して、又はそれと接触して置かれる。UV光がマスクを通して照射されて、フォトレジストを露光する。次に、ウェハが現像されて、露光領域内のフォトレジストが除去される（ポジティブ型のフォトレジストの場合）。結果として、レチクル上のパターンがフォトレジストに転写され、それが後に続くエッチング工程のマスクの役割を果たす。

【0046】

投影フォトリソグラフィは、最新の集積回路製造にのみ使用される別のタイプのフォトリソグラフィである。マスクを物理的に接触させる代わりに、投影フォトリソグラフィは、ウェハ上にマスク・パターンの焦点を合わせるためのレンズ系を使用する。このシステムの主要な利点は、投影光学系によってマスク・パターンを収縮できることである。代表的なシステムは5倍の縮小係数を有する。一般に、投影を用いて、接触リソグラフィに比べてはるかに小さな形体サイズを印刷することができる。投影フォトリソグラフィ・システムは、ステップ・アンド・リピート・システム（又は、略してステッパ）としても知られている。マスク上の最大のパターン又はフィールドのサイズは、ウェハ直径よりも大幅に小さい。マスク・パターンは、ウェハ上で繰り返し露光（「順送り」）されて、「ダイ」のアレイを形成する。順送りの距離は、ウェハ・ステージが露光の間にX方向とY方向に移動する距離であり、通常はダイのサイズに等しい。この代表的なスキームにより、同一のダイの重なり合わないアレイが作成されて、その後に、ウェハ上のダイを並列処理することが可能になる。

【0047】

ハード・マスク層（150）は、図6d及び図6eに示されるような離散的な区域を形成するため、さらにパターニングされる。図6dに示されるように、ハード・マスク層150は、離散的なハード・マスク区域（例えば、図6eの区域160、162、164、166）を形成するように、X方向とY方向にパターニングされる。次に、これらの離散的なハード・マスク区域は、下の層に離散的なシリコン区域を形成するために使用される。

【0048】

上述の例では、ハード・マスク層のパターニングは2つの個別のリソグラフィ工程で行われる。代替例では、レチクルはパターンを含んでもよいので、ハード・マスクのパターニングは単一のリソグラフィ工程を用いて実施することができる。さらなる代替例として、ハード・マスクは省略することができ、二工程又は単一工程どちらかのリソグラフィ・プロセスが使用される。

【0049】

ハード・マスク最上層をパターニングした後、透明度がより高い材料の区域（例えば、図6fに示されるようなギャップ区域170、174）を間に有して、シリコン・セグメント168、172などの対応する離散的なシリコン区域を基板上に形成するように、シリコン層148にエッチングが施される。図6fに示されるマイクロ粒子の平面図が、図6gに概略的に示される。図6gに見られるように、ここで、上から見たときに透過層146が露出しており、セグメント160、162、164、166が透過層146上に形成されている。製造プロセスのこの時点における構造のSEM画像が図8a、図8bに示される。構造は、非常に高い精度、例えば垂直な側壁と明確な角を有する。当然ながら、より丸みを帯びた構造もこれらの方法の範囲内にある。

【0050】

シリコン層148をパターニングした後、次に、図6hに示されるように透過層168が堆積される。光透過性がより高い層168は、光透過性がより高い層146と同じ材料から成っていてもいなくてもよい。図6hのマイクロ粒子の平面図が図6iに概略的に示される。基板上の粒子の斜視図が図7に示される。

【0051】

次に、マイクロ粒子は互いから分離されるが、図 6 j に示されるように、下にある基板に付着されたままである。図 6 k は、図 6 j のマイクロ粒子の平面図を概略的に示し、図中、各マイクロ粒子は隣接したマイクロ粒子からは分離されているが、光透過層（すなわち、図 6 h の層 1 6 8）によって取り囲まれている。最後に、図 6 l の断面図に示されるように、分離されたマイクロ粒子はシリコン基板 1 4 2 から切り離される。シリコン基板から切り離されたマイクロ粒子の平面図が図 6 m に示される。下にある基板からのマイクロ粒子の切り離し（「リリース」工程）は、任意の適切なエッチング剤を用いて、好ましくは、全方向でエッチングを施し、マイクロ粒子をアンダーカットするのに適合したガス又は液体を用いて行うことができる。基板自体をエッチングする代わりに、追加の犠牲層を基板上に設けることができる。エッチングは、湿式、乾式、又はプラズマ・エッチングなどであり、したがって、分離層は、選択されたエッチング方法を用いてエッチングを施すことが可能な材料から成ることが望ましい。特に、エッチング剤は、ハロゲン間化合物（例えば、 BrF_3 又は BrCl_3 ）、希ガスハロゲン化物（例えば、 XeF_2 ）、又は HF などの酸性蒸気など、自発性気相化学エッチング剤である。TMAH、KOH（又は、NaOH、CeOH、RbOH、 NH_4OH などの他の水酸化物）、EDP（エチレン・ジアミン・ピロカテコール）、アミン没食子酸塩、HNA（フッ化水素酸＋硝酸＋酢酸）が作用しないようにしてガラスをエッチングする HF 、又は他の任意の適切なシリコン・エッチング剤（リリースの際に除去すべき基板又は層がシリコン（非晶質シリコン若しくはポリシリコン若しくは単結晶シリコン）、又はタングステン、窒化タングステン、モリブデン、チタン、あるいは XeF_2 などのシリコン・エッチング剤中で除去できる他の材料のとき）などの液体を使用して、マイクロ粒子をリリースすることもできる。除去されるべき材料がシリコンではない場合、エッチング剤は、当然ながら、犠牲材料に適合される（例えば、フォトレジスト又はポリイミド犠牲層などのための酸素プラズマ分離）。

【0052】

へこみは、特定の製造方法の結果として生じるものであり、最終製品内に残すことができる、あるいは、例えば、平面化、例えば化学的機械的研磨（CMP）技術によって除去することができる。実際に、へこみは、状況によっては、コード検出及び／又は蛍光方法を使用した蛍光の定量化に有用な場合があり、これは、蛍光標識した材料のマイクロバーコードの面への結合（マイクロバーコードの単位長さ当たり）がへこみの区域ではより大きく（いわゆるへこみによる信号増強）、蛍光性がへこみの区域においてより大きくなると共に、コードを決定するのに使用できる（本明細書にて後述される他の透過技術又は反射技術を用いるか用いなくに関わらず）ためである。同じへこみによる信号増強を、蛍光以外のレポーター・システム、例えば放射性レポーターなどで適用できる。

【0053】

上述の例では基板としてシリコン・ウェハに言及したが、ガラス・ウェハ又は大型の板ガラス若しくはガラス・パネル（例えば、フラット・パネル・ディスプレイ産業に使用されるもの）などのガラス基板を使用することができる。ガラス（又はシリコン）ウェハは、任意の適切なサイズ、例えば、10.2 cm（4 インチ）、15.2 cm（6 インチ）、20.3 cm（8 インチ）、又は 30.5 cm（12 インチ）のものなどである。ガラス・ウェハが使用されるとき、一般的には、追加の犠牲層が最初に堆積される（リリース工程の間に後で除去するため）。犠牲層は、本明細書において上述したように、シリコン、前周期遷移金属（チタン、クロム、タングステン、モリブデンなど）、又はフォトレジストなどのポリマーなどの、半導体材料などである。

【0054】

（SEM）

図 1 a のセグメント（例えば、セグメント 102）の走査型電子顕微鏡（SEM）画像が図 8 c に示される。図面に見られるように、セグメントの断面はほぼ正方形である。セグメントの頂部は 1.0 ミクロンの幅を有し、セグメントの底部の幅は 1.2 ミクロンである。セグメントの高さは約 1 ミクロンである。当然ながら、より大きな寸法又はより小さな寸法が可能である。

【0055】

上述したような代表的な製造方法を用いて製造された多数のマイクロ粒子のSEM画像が図9aに示される。SEM画像は、マイクロ粒子の透過性材料に取り囲まれた不透明なセグメント172を明確に示す。さらに、上述したへこみを明確に見ることができる。

図9aのSEM画像における試料は、粒子の長軸に垂直にチップ分割し、次に、単に画像化のため、時間を設定してシリコンにエッチングを施して、内側のシリコンと外側の二酸化シリコンのコントラストを上げることによって、特性決定のために準備されたものである。

【0056】

(リリース)

本発明のマイクロ粒子は、ウェハ・レベルで製造し、ウェハ・レベル又はダイ・レベルのどちらかでリリースすることができる。具体的には、一組のマイクロ粒子をそれぞれ含む複数のダイを、ウェハ上に形成することができる。各ダイ上のマイクロ粒子は同じであってもなくてもよく、すなわち、各ダイ上のマイクロ粒子は同じコードを有していてもなくてもよい。マイクロ粒子を形成した後、ダイをウェハから分離することができ、その後、単一化されたダイ上のウェハ（1つ又は複数）を除去することができる。代表的なウェハ・レベルの製造方法が図12a～図12cに示される。

【0057】

図12aを参照すると、複数のダイがウェハ236上に形成される。この特定の例では、多数のマイクロ粒子が各ダイ上に形成される。各ダイ上の、3、221、又は967などの番号は、ダイのマイクロ粒子に組み込まれたコードを表す。マイクロ粒子は、図6a～図6mを参照して上述したような方法を用いて形成することができる。マイクロ粒子を形成した後、ただしリリースする前に、ウェハを、好ましくはウェハ厚さの約半分の深さまで部分的に切断することができる。次に、ウェハは、例えば溶剤及び／又は強酸（硫酸、過酸化水素の組み合わせ）を用いて洗浄される。洗浄は、その後の機能化及び生体分子の付加のために新しいガラス面を準備するので、重要な工程である。洗浄は、ウェハが個々のダイに分離された後に、又は粒子がリリースされてから粒子に対して行うこともできる。

【0058】

マイクロ粒子を形成した後、次に、ウェハは、図12bに示されるようにダイに分割されるが、各ダイは、必須ではないが単一のコードを含むことが好ましい。次に、ダイは、図12cに示されるように、リリースのため、試験管又はウェル・プレートのウェルなどの個別の容器に入れられる。ウェル・プレートは、一般的な96ウェル・プレート（又は24ウェル、384ウェルなど）、あるいは他の任意の適切な組の保持区域又はコンテナである。例えば、3、221、967などの数値で表されたコードを含むダイは、リリースのため、異なるチューブに入れられる。リリースによって、マイクロ粒子はウェハから切り離され、粒子は、湿式エッチングが使用されるとき、リリース液の状態の溶液に入れられる。マイクロ粒子は、重力により、時間が経つにしたがってチューブの底に沈む（又はチューブを遠心分離機にかけることができる）。いくつかの応用例では、1つ又は複数のコードを含む多数のダイを単一のコンテナ内へ放出することが望ましいことがある。

【0059】

図11aはリリース前の粒子を示し、図11bはリリース後の同じ粒子（すなわち、同じダイからの粒子）を示す。これらの画像は両方とも、非倒立型の顕微鏡上で100倍の空気対物レンズ(air objective)を用いて得た光学顕微鏡画像である。図11bでは、粒子はシリコンチップ上で乾燥されている。

【0060】

リリース工程は、乾式エッチング、湿式エッチング、分離型プラズマ・エッチングなど、多くの方法で行うことができる。図10aに概略的に示される代表的な湿式バルク・エッチングでは、水酸化テトラメチル・アンモニウム（TMAH）がエッチング剤として使用される。TMAHは、約70～80℃の温度まで加熱することができる。ハロゲン間化

合物（例えば、 BrF_3 及び ClF_3 ）や希ガスハロゲン化物（例えば、 XeF_2 ）、自発性蒸気相エッチングの場合の HF 、ガス相エッチングの場合の水酸化カリウム、 KOH その他の適切なエッチング剤など、他の化学エッチング剤も使用することができ、等しく良好に作用する。コードを各コンテナ内に安全に保持し、マイクロ粒子が隣接したウェルに混入するのを避けるため、液体又はガスのどちらを使用してリリースが行われるかに関わらず、マイクロ粒子の最小寸法よりも小さな特徴的なアパーチャを有するスクリーン（又は孔を備えたフィルタ膜）を、各ウェル又はコンテナの上に置くことができる。エッチング、特にガス相エッチング又は乾式エッチングの間、メッシュを各チューブに取り付け、チューブ、ウェル、若しくはコンテナの一端の上に付けるか、又は多数のメッシュでチューブ、ウェル、若しくはコンテナの2つ以上の側面を覆うことができるので、ガス・エッチング剤やエッチング生成物がメッシュを通して自由に流れる一方、マイクロ粒子をメッシュによって遮断することができる。メッシュ又は他のフィルタは、マイクロ粒子を放出することなく、液体のリリースエッチング剤を同様に排出する助けとなる。リリースエッチング・プロセスの別の例が図10bに示され、これは、上述したように、犠牲層の堆積又は形成を伴う。

【0061】

遠心分離又は時間の経過によって粒子をペレッティングした後、液体（いわゆる上澄み）が除去され、粒子が水又は溶剤の中で数回洗浄される。「洗浄」は、上澄みを新しい液体と連続的に交換することを指し、通常は次の化学処理工程に参与する。マイクロ粒子を基板（又はウェハ）から切離した後、マイクロ粒子をチューブ内に残して、基板をエッチング剤から除去することができる。次に、リリースされたマイクロ粒子は使用のためにコンテナに移すことができる。

【0062】

マイクロ粒子は、図12a～図12cに示されるようにウェハ・レベルで製造することができる。図12aを参照すると、図2の工程122を参照して上述したような基板であるウェハ236は、ダイ1、3などの複数のダイを含む。本発明の一例では、ウェハは、10以上、24以上、30以上、又は50以上のダイを有する。各ダイは、本発明の多くのマイクロ粒子を含み、その数は、10000個以上、20000個以上、又は50000個以上でもよい。同じダイの中のマイクロ粒子は好ましくは同じであり（ただし必須ではない）、異なるダイの中のマイクロ粒子は、異なるコードを表すように好ましくは異なる（やはり必須ではない）。異なるダイが異なるコードのマイクロ粒子を含む例では、図面に示されるように、ダイとダイの中のコードを区別するように、ダイには固有の識別番号が割り当てられることが好ましい。

【0063】

図13は、本発明の8個のコード化されたマイクロ粒子の反射モード倒立顕微鏡画像を示す。背景が黒いこのような白黒の顕微鏡画像は全て、倒立エビ蛍光顕微鏡において、ウェル・プレートのウェル内のリリースされた粒子を用いて得られる。粒子は、液体中のウェル内に分配され、重力によって底面に沈み、そこで下から画像化される。図13の粒子はそれぞれ異なるコードを有する。透明度がより低い材料（例えば、可視スペクトル内において不透明な材料）のセグメント、この場合は非晶質シリコンは、光を反射し、画像ではより明るい領域である。周囲の透明材料、この場合は二酸化シリコンは、反射モード画像では見えない。粒子は、長さ $16\mu\text{m}$ 、幅 $2\mu\text{m}$ であり、断面がほぼ正方形である。画像は、8個の画像から選択したものの組み合わせであり、それぞれが各コードに対応する。照明光は 436nm であり、使用される対物レンズは倍率60倍の油浸レンズである。

【0064】

図15は、図13と同じ拡大率で得られた全視野の単一画像を示す。画像は多くの異なるコードの混合物である。全ての粒子は、高密度単分子層を形成し、すなわち、粒子の集合又は凝集はない。単分子層形成の特性は、本発明のマイクロ粒子の重要な利点の1つである。マイクロ粒子が重なり合うか、集合するか、又は凝集すると、マイクロ粒子は適切に識別されない。結果として、本明細書のように単分子層を容易に形成しないマイクロ粒

子は、比較的低い密度（イメージング面上における単位面積当たりのマイクロ粒子の総数）で使用せざるを得ない。低密度イメージングは、単位時間当たりに測定される粒子の数に関して、それに相当する低いスループットと解釈される。この低いスループットは多くの応用例における制限となる。

【0065】

マイクロ粒子が単分子層を形成する傾向は重要でないわけではない。単分子層の形成は、マイクロ粒子の面電荷状態（又はゼータ電位）、特定の溶液中でのマイクロ粒子の密度、マイクロ粒子が中に含有される流体、マイクロ粒子がその上に配置される面など、多くの要素を伴う。したがって、本発明のマイクロ粒子は、材料で構成され、静摩擦力をほぼ克服するのに十分な荷電状態を維持するのに有利な形態で構成され、したがって、マイクロ粒子はブラウン運動を行うことができ、それによって粒子の適度に稠密な単分子層を形成することが容易になる。

【0066】

生物学用途では、マイクロ粒子は生化学プローブ分子を運ぶために使用されることが多い。そのようなプローブ分子を不動化するため、微細構造は、好ましくは、プローブ分子に付着するように化学的に修飾することができる、二酸化シリコン層などの面層を含む。本発明の一例によれば、マイクロ粒子は、例えば液体を含むウェルの底部に、マイクロ粒子が単分子層を形成することができるように構成され、単分子層は、1平方ミリメートル当たり500個以上、好ましくは1,000個以上、2,000個以上、又は1平方ミリメートル当たり3,000個以上の粒子を含む。代替例では、マイクロ粒子は、検出可能な粒子が画像面積（すなわち、画像視野）全体の30%以上、50%以上、又は70%以上を占めるようにして、単分子層を形成することができる。自己構成単分子層形成のメカニズムの例に関して、本発明のマイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ を超えることが好ましい。マイクロ粒子の単分子層を収容するため、検出の際にマイクロ粒子を保持するコンテナは、好ましくはほぼ平坦な底部分を有する。

【0067】

図14は、本発明のコード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図を示す。光学系254は、バイオアッセイ用途のためを含む、マイクロ粒子コードを読み取るのに使用することができる。システムは、倒立エビ蛍光顕微鏡構成である。本発明のマイクロ粒子を検出するための他の代表的な光学顕微鏡システムとしては、共焦点顕微鏡システム、内部全反射蛍光（TIRF）などが挙げられるが、これらに限定されない。ウェル・プレート257は多くのウェルを含有し、その単一のウェル256が画像化される。ウェル・プレートは顕微鏡ステージ258上に置かれる。液体中のウェル256内に分配されているマイクロ粒子は、重力によって底面に沈む。光源268から来る光は、照明波長を選択する励起フィルタ266を通り抜ける。照明光はビーム・スプリッタ262で反射し、対物レンズ260を通過して上に移動する。一般的には、ウェル256の底面積の一部分のみが画像化される。画像化された区域は「視野」又は「視野区域」と称される。反射光又は放射光（共に集合光として知られている）は、対物レンズの下に戻り、ビーム・スプリッタ262を通り抜ける。放射フィルタ270は収集波長を選択する。最後に、集合光は、CCDカメラなどの検出器272を用いて記録される。光学系のこの簡略化された形は完全なものであることを意味しない。実用上、実際の顕微鏡は、高スループット・イメージングのための自動ステージや自動焦点システムを含むのが好ましく、より多くの機構を有してもよい。励起フィルタと放射フィルタは、コンピュータ制御式のフィルタ・ホイールに取り付けることができ、反射画像と蛍光画像に対して自動的に変更される。コンピュータ制御式のシャッターは露光時間を制御する。

【0068】

図42は、2つのCCDカメラを利用して反射画像と蛍光画像を同時に取得する、コード化されたマイクロ粒子を画像化するのに使用される光学系の図を示す。光学系はバイオアッセイにおける検出に使用される。システムは倒立エビ蛍光顕微鏡構成である。好ましい実施形態では、ウェル・プレート201は多くのウェルを含有し、その単一のウェル2

03が画像化される。ウェル・プレート201は顕微鏡ステージ209上に置かれる。流体中のウェル203内に分配されている粒子は、重力によって底面に沈む。光源215から来る光は、照明波長を選択する励起フィルタ219を通り抜ける。照明光はビーム・スプリッタ213で反射し、対物レンズ211を通して上方に移動する。一般的には、ウェル203の底面積の一部分のみが画像化される。画像化された区域は「視野」又は「視野区域」と称される。反射光又は放射光（共に集合光として知られている）は、対物レンズの下に戻り、第1のビーム・スプリッタ213を通り抜ける。次に、集合光は、第2のビーム・スプリッタ217を通り抜け、そこで反射パスと蛍光パスに分割される。放射フィルタ221は蛍光パス内に位置し、適切な蛍光発光波長を選択する。蛍光パス内の光は蛍光CCDカメラ223を用いて記録される。反射パス内の光は反射CCDカメラ225を用いて記録される。光学系のこの簡略化された形は完全なものであることを意味しない。実用上、実際の顕微鏡システムは、高スループット・イメージングのための自動ステージ及び自動焦点システムを含むのが望ましく、より多くの機構を有してもよい。励起フィルタ219と放射フィルタ221は、コンピュータ制御式のフィルタ・ホイールに取り付けられてもよく、多重蛍光体実験に対して自動的に変更される。コンピュータ制御式のシャッターが、露光時間を制御するために使用されてもよい。

【0069】

図42に示されるシステムは、フィルタ・ホイール（又はフィルタ・キューブ・ホイール）を利用して反射画像と蛍光画像を連続して取得する、1つの標準的なカメラ・システムを改善したものである。本発明は、出射光線のパスをビーム・スプリッタを用いて2つの成分に分割することによって実施される。一方の成分は反射パスであり、1つのCCDカメラで捕捉される。他方の成分は蛍光パスであり、適切な波長を得るためにフィルタリングされ、第2の適合したCCDカメラで捕捉される。ビーム・スプリッタは、より多くの光が蛍光パスに方向付けられて、2つのカメラにおける露光時間がほぼ等しくなるように設計することができる。2カメラ・システムの本発明により、スループットが増加するという利点が提供される。それに加えて、本発明により、1カメラ・システムの画像には存在し得る、反射画像と蛍光画像の対の間における位置のシフトが排除されるという利点が提供される。これによって、粒子が画像対の両方の画像において同じ物理的位置にあるので、コンピュータ・ソフトウェアに基づく画像対の処理が簡略化される。さらなる実施形態では、光学系はバイオアッセイにおける検出に使用される。

【0070】

図16は、コード化されたマイクロ粒子の高倍率画像を示す。画像化された粒子は、変化するサイズの離散的なセグメントから成る。最小サイズのセグメント20は0.6 μm である。端部セグメント22は単一粒子の端部を形成する。本発明の代表的な一例は、サイズが1.5 μm 未満の空間的コード化機構を備えたコード化されたマイクロ粒子から成る。

【0071】

図17aは、コード化されたマイクロ粒子の12個の稠密な反射画像を合成した図を示す。約6,000個の粒子が画像内にある。粒子は、384ウェル・プレートの1つのウェル内にある合計約200,000個の粒子のごく一部分である。粒子の合計は、1035個のコード（バッチ）を含む組の約10%である。この組は、1035個のバッチそれぞれから、約2,000個の粒子を組み合わせるによって形成されたものであり、各バッチは単一コードの約200万個の粒子を含有していた。これらの画像は、識別精度に関するデータが後述される、画像のより大きな集合の部分集合である。

【0072】

図17bは、本発明のマイクロ粒子の例の透過蛍光顕微鏡画像を示す。それに加えて、ここでは、全体がガラスである外面を有する小さな細長いコード化されたマイクロ粒子が示される。シリカ（例えば、ガラス又は二酸化シリコン）の外面と、70 μm 未満（例えば、50 μm 未満）の長さとを有する、多数の非球状のコード化された粒子が示される。この特定の例における粒子の例の長さは15 μm である。

【0073】

この画像では、粒子は、懸濁された蛍光分子を含む溶液中にある。蛍光分子は、顕微鏡の光源によって励起されると、上方から（すなわち、基本的な光学系の図である図14を参照して、収集光学に対して後方から）粒子の照明を提供する。この画像は、透過モード・イメージング構成において生成されるものに類似しており、図15～図17aの反射モード画像とは異なり、粒子の外側ガラス面が明確に示される。

【0074】

マイクロ粒子を成功裡に識別するため、例えば、その中に組み込まれたコードを読み取るため、マイクロ粒子の画像が処理される。そのような画像処理は、ソフトウェア・プログラムの助けを借りて行うことができる。ソフトウェア・プログラムとアルゴリズムの代表的な例にしたがって、未加工及び加工済みの画像の対が、図18a、図18b、及び図19a、19bに示される。

【0075】

図18aは全視野反射画像を示し、図18bは、離散的なセグメントを関連させて完全なマイクロ粒子とするように画像処理された後の、図18aと同じ選択画像を示す。画像中に示される粒子は単一コードのものである。本発明のコード化されたマイクロ粒子の画像は、反射イメージングでは白く見える離散的なセグメントから成る。ガラスから成る個々のマイクロ粒子のセグメントの間にあるギャップは透明であり、したがって、反射画像では黒く見える。画像の背景も黒である。セグメントは、アルゴリズムによって互いに関連付けられて粒子となる。アルゴリズムは、長いセグメントの長軸を見出し、軸線に沿ってセグメントを探索する。セグメントは、予め定められたパラメータに基づいて受理され、又は拒否される。図18bにおける黒い線は、セグメントが互いに関連付けられている粒子に対応する。上述のアルゴリズムの代表的な一例では、コンピュータ・プログラム製品が、画像中の離散的な領域を関連させて個々の粒子とすることにより、コード化された粒子のコードを識別する。

【0076】

図19aは反射画像を選択したものを示し、図19bは、離散的なセグメントを関連させて完全なマイクロ粒子とするように画像処理された後の、図19aと同じ選択画像を示す。画像中に示される粒子は多数のコードのものである。粒子のセグメントには番号が付けられている。図19bにおける黒い線は、画像処理ソフトウェアによって粒子の形にグループ化されたセグメントを示すために描かれている。

【0077】

図20を参照すると、処理済みの画像が右側に示され、4個のマイクロ粒子の例から得たピクセル強度プロファイルが左側に示される。ピクセル強度プロファイルは、マイクロ粒子のコードを決定するため、コンピュータ・ソフトウェア・プログラムによってさらに処理される。左下のピクセル強度プロファイルの中の円によって示されるように、ギャップの中心位置を識別することによって、マイクロ粒子のコードを識別することができる。上述したように、中心ギャップ位置は、粒子製造プロセス又は画像処理の両方における変化、すなわち、図1Aの代表的な構造の例を構成する実際のセグメントとギャップの寸法における変化に敏感ではない。この特徴は、コード化されたマイクロ粒子の着実かつ正確なコード識別をもたらすので、非常に有利である。

【0078】

表3は、図17aに示される画像を包含する画像の組に対する識別データを示す。

【0079】

【表 1】

表 3

画像	全 ID% 30,069 コード	限定 ID% 1,035 コード
40 倍対物レンズ 500 粒子/画像 測定粒子数 9866 個	99.5%	99.98%
60 倍対物レンズ 250 粒子/画像 測定粒子数 2733 個	99.85%	99.995%

【0080】

表 3 に含まれるマイクロ粒子は 30,069 個のコードスペースを有し、ここで、コードスペースは、特定の粒子設計によって、すなわち選択されたコード体系とコード体系パラメータによって可能なコードの総数として決められる。予め定められた識別方法は、粒子セグメント情報の分析に基づいて、30,069 個の可能なコードの 1 つを割り当てる。1035 個のコードが無作為に選択され、製造され、集合体を形成するように混合された。集合体の識別を分析するとき、ソフトウェアによって割り当てられたコードが 1035 個の 1 つであれば、それは正確であると仮定される。「正確に」識別された粒子の数を総数で割ったものが「ID%」と呼ばれる。この仮定により、統計誤差が 1035 個の存在するコード以内に収まる確率、すなわち $1035 \div 30,069 = \text{約 } 3\%$ の分だけ、誤り率 $(1 - \text{ID}\%)$ が低く見積もられる。したがって、仮定はこの 3% の偏差を無視し、真の識別精度に近い近似をもたらす。

【0081】

図 2 1 は、画像化のためにコード化されたマイクロ粒子を不動化し分離するように設計された形体を有する、特別に準備された面の概略図を示す。面は、形体、例えば、粒子を捕らえる溝及び／又はくぼみを含む。そのような面は、面上に被覆された分子の性質又はイメージング媒体の特性によって、粒子の凝集が増加するような応用例において有用である。図 2 1 は、粒子を捕捉するように設計された溝 3 2 2 を備えた、そのような基板 3 2 0 の一例を示す。基板 3 2 0 はガラスであることが好ましいが、他の材料、例えば他の透明材料であってもよい。図 2 1 に示される溝 3 2 2 は V 字形を有するが、粒子を捕捉するというタスクを実施する正方形又は U 字形の底部を有するなど、任意の形状を取ってもよい。粒子が面上に置かれると、粒子 3 2 4 は溝に入り込み、不動化される。代表的な一例では、細長くほぼ正方形の断面を有する本発明のコード化されたマイクロ粒子は、平面の底部を有する溝内で不動化されてもよい。

【0082】

代替例では、図 2 2 及び図 2 3 に示されるように、マイクロ粒子が流体中を流れることを可能にするフロー・セルを、連続的な画像化による検出のために設けることができる。図 2 2 を参照すると、反射画像と蛍光画像の対は、図 6 に示される光学系を用いて取得されるが、ウェル・プレートはフロー・セル 3 2 0 と置き換えられる。コード化されたマイクロ粒子 3 2 2 はキャリア流体中を流れる。フローは、圧力（流体力学）又は電気的手段（電気泳動若しくは電気浸透）によって駆動されてもよい。さらに、マイクロ粒子は電界又は磁界と整列されてもよい。フローは、矢印によって示されるように左から右に流れる。図 2 2 の上側の図は所定の時間におけるフロー・セルを示し、図 2 2 の下側の図はその後の時間における同じフロー・セルを示しているので、粒子は、視野の長さとはほぼ同じ距離だけ変位されている。光学系の対物レンズ 3 3 0 がフロー・セルの下に示されるが、フロー・セルの上に置かれてもよい。それに加えて、フロー・セルは、例えばフローが垂直

に向けられるようにして、他の構成で置くことができる。対物レンズ 330 は捕捉視野区域 328 を画像化する。第 1 の視野区域 324 と第 2 の視野区域 326 は斜線領域として示される。上側の図では、第 1 の視野区域 324 が捕捉視野区域 328 と重なり合っており、したがって第 1 の視野区域 324 が画像化される。下側の図では、第 2 の視野区域 326 が捕捉視野区域 328 と重なり合っており、したがって第 2 の視野区域 326 が画像化される。フロー速度、フロー・セルのサイズ、及び光学系を適切に適合させることによって、フロー・セルを通り抜ける全ての粒子を画像化し、それによって高スループット検出のためのシステムを供給することができる。本発明のコード化されたマイクロ粒子を高スループット・フローに基づいて検出するための別の代表的なシステムは、フロー・サイトメーターであり、その方法及び用途は当該技術において良く知られている。

【0083】

本発明の別の代替のマイクロ粒子が図 24 に概略的に示される。図 24 を参照すると、マイクロ粒子 274 は、276 などの不透明なセグメントと、可視光又は近可視光に対して透過性の 278 などのギャップとを含む。不透明材料は、全体的又は部分的に、ニッケル、コバルト、又は鉄などの（ただしそれらに限定されない）磁性材料から成る。磁性材料は、不透明材料の大部分を形成する別の材料の間に挟まれた、薄い層 280 として組み込むことができる。磁性材料は、粒子を磁界によって操作することができるように、それらに磁気特性を付与する。これにより、粒子の取扱いを助け、又は生体分子の分離が容易になる。

【0084】

図 25 は、蛍光性の外側層 406 を有する空間的かつ光学的にコード化されたマイクロ粒子の図を示す。本発明は、材料の物品の標識付けにおいて有用性を有し、それにより、蛍光層が、様々な背景に対して粒子を容易に見出し識別する能力が改善される。代表的な一例では、蛍光性の外側層 406 は、スローバー・プロセスを修正したものを使用して成長される [Van Blaaderen, A. ; Vrij, A. ; Langmuir. 1992. Vol. 8, No. 12, 2921]。蛍光性の外側層 406 によって粒子全体が蛍光性になり、検出中に粒子を見出すのが容易になる。粒子コードの読取りは、反射モード又は蛍光モードで粒子を画像化することによって実施することができる。用途によっては、粒子が内部に加えられた媒体又は粒子が塗布された面の応用に依存した他のものよりも好ましいことがある。単一コードの粒子を使用することができ、あるいは、異なるコードの粒子の混合物を使用することができる。粒子は、ラッカー、ワニス、又はインクなどの媒体に加えることができる。粒子は、紙又は繊維に標識付けするのに使用されてもよい。粒子は、金属、木、プラスチック、ガラス、又は任意の他の材料で作られた物体に標識付けするのに使用されてもよい。

【0085】

別の例では、蛍光層は、蛍光体又は他の発光材料から成ってもよい。蛍光層は、アッセイの際に分子種と、例えば、蛍光共振エネルギー転移プロセスによって、蛍光標識された核酸又はタンパク質試料と相互作用してもよい。さらに別の例では、マイクロ粒子は非蛍光層を有してもよく、その際、その層の中又は上には、分子が、例えば発光エミッター分子 (luminescent emitter molecules) と相互作用するクエンチャーが組み込まれる。

【0086】

図 26 a ~ 26 c は、空間コードを形成する面にへこみを有する、本発明のコード化されたマイクロ粒子の概略図を示す。マイクロ粒子は、上述の例などの多くの方法によって製造されてもよい。図 26 a は、構造の面上にのみ、ディボットとして知られる面のへこみ、例えば溝を有する。図 26 b は 2 つの面上にディボットを有する。他の例では、ディボットと他の望ましい面形体は、空間コードを提供するように、マイクロ粒子構造の 1 つ又は複数の面上に置かれてもよい。図 26 c は、そのような構造の別の例を示しており、それにより、マイクロ粒子の全体形状はほぼ円筒状である。図 26 c のマイクロ粒子を作成する方法の例では、1 mm 未満の直径を有する光ファイバーにレーザ・スクライブ又は

チップ・スクライブを施して、へこみが形成されている。図 2 6 a ~ 2 6 c の構造の組成は、多種多様な材料から選択されてもよいが、ガラスが好ましい一例である。

【0087】

へこみを含むコード化されたマイクロ粒子の代表的な例では、図 2 6 d に示されるように、粒子の面には、その面に又はその中に付着された蛍光分子又は他の発光分子を備えている。発光分子は、面に共有結合されるか、面に吸着されるか、又は別の方法で面に結合されてもよい。代表的な一例では、発光分子は、マイクロ粒子上に堆積される層に組み込まれる。発光分子が均一に面を覆うことにより、例えば、単位面積当たりの蛍光体の数が一定であることにより、不均一な空気密度が得られる。空気密度は、単位長さ又は単位面積当たりの強度として定義され、光学画像面における視野の深さ通して積算される。この例では、空気密度は、検出器、例えば CCD カメラ又は光電子増倍管によって測定される信号強度プロファイルとして測定される。図 2 7 a ~ 2 7 c は、図 2 6 a ~ 2 6 c の対応する粒子に関して、粒子面に対して直角（すなわち、垂直）に測定された不均一な空気密度を示す。信号強度プロファイルは、粒子の面のへこみの場所に対応するピークを有し、それらが結果として検出可能かつ有用なコードをもたらし。図 2 6 a ~ 2 6 c のコード化されたマイクロ粒子の面形体は、光散乱の測定、例えば暗視野光学顕微鏡などを包含するがそれに限定されない、発光分子を使用する以外の方法によって検出されてもよい。

【0088】

マイクロ粒子に対するコードを生成する本発明の一般的な方法は、粒子領域当たり単一のコード要素を多重リソグラフィ印刷する工程を使用することから成る。多重印刷工程により、粒子領域当たり多数のコード要素が作成される。コード要素は総合的にマイクロ粒子のためのコードを形成する。好ましい一例では、印刷工程は、マスター・パターンを使用して多くの粒子に対して並行して行われる。マスター・パターンは、粒子領域当たり単一のコード要素のアレイを含む。コード要素は、穴、ストライプ、又はギャップなどの 2 つ以上の物理的特徴を表す。マスター・パターンは、完全なコードを備えた多数のマイクロ粒子が形成されるように複数回印刷され、その際、多数のマイクロ粒子は同一の粒子を含む（例えば、全ての粒子が同じコードを有する）。この主題に対する変形例、例えば多数のマイクロ粒子が同一でない場合が予想され、以下に詳細に記載される。多重印刷工程間において、印刷システム全体の 1 つの構成要素が変わって、粒子領域内のコード要素を並進させる。最も好ましい一例では、この変更は粒子がその上に形成される基板の移動である。別の好ましい一例では、この変更はマスター・パターンの移動である。さらに他の例では、この変更はミラーなどの光学素子の移動である。

【0089】

多重印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代表的な一例は、印刷機構としてのフォトリソグラフィ、例えば接触リソグラフィ又は投影リソグラフィを含む。投影リソグラフィの代表的な一例は、ステップ・アンド・リピート・システム（ステッパとして知られる）を利用する。レチクルは、粒子当たり単一のコード要素を有するコード・パターンを含む。このコード・パターンを異なる横方向のオフセットで多重露光することにより、多数のコード要素（粒子当たり）が作成される。これらのコード要素は組み合わせられて完全なコードを形成する。横方向のオフセットはコードを決め、ステッパ・ソフトウェアにプログラムされる。オフセット、したがってコードは、ダイごとに、又はウェハごとに変更させることができる。したがって、ウェハ上の異なるダイ上に、かつ／又は異なるウェハ上にまとめて印刷されるコードは、ソフトウェアによって制御され、任意に変更することができる。これにより、大きな組のコードを製造する際の強力な柔軟性が可能になる。1 個～数個のマスクを有する単一のマスクの組を使用して、 10^5 個程度以上の任意の数のコードを生成することができる。

【0090】

図 2 8 a ~ 図 2 8 c は、マイクロ粒子のためのコードを作成する本発明の方法の代表的な一例を示す。マイクロ粒子領域 290 は、製造プロセスを完了する際に離散的な粒子になる区域である。図 2 8 a は、各マイクロ粒子領域 290 に第 1 のコード要素 292 を印

刷した後の状態を示し、この代表的な例では、コード要素は垂直のストライプである。図 2 9 bは、各マイクロ粒子領域 2 9 0 に次のコード要素 2 9 4 を印刷した後の状態を示す。図 2 8 cは、各マイクロ粒子領域 2 9 0 にさらに 3 つのコード要素 2 9 6 を印刷した状態を示す。このようにして、多重印刷工程はマイクロ粒子上にコードを設ける。

【0091】

図 2 9 a～図 2 9 cは、マイクロ粒子のためのコードを作成する本発明の方法の別の例を示す。マイクロ粒子領域 3 0 0 は、製造プロセスを完了する際に離散的な粒子になる区域である。図 2 9 aは、各マイクロ粒子領域 3 0 0 に第 1 のコード要素 3 0 2 を印刷した後の状態を示し、この代表的な例では、コード要素は円形である。図 2 9 bは、各マイクロ粒子領域に次のコード要素 3 0 4 を印刷した後の状態を示す。図 2 9 cは、各マイクロ粒子領域 3 0 0 にさらに 3 つのコード要素 3 0 6 を印刷する状態を示す。このようにして、多重印刷工程はマイクロ粒子上にコードを設ける。

【0092】

図 3 0 a～3 0 cは、マイクロ粒子構造の好ましい実施形態における 3 つのマスク・フィールドの図を示し、図 3 0 dは、レチクル・プレートの図を示す。図 3 0 a～3 0 cは、はるかに大きなフィールド全体の小さな代表的区域である（約 2 0 0 万個の粒子のうち 4 6 個のみが示される）。これらの図面では、灰色の領域は実際のレチクル上にクロムを有し（レチクル用語においていわゆる「暗い」）、白い領域はクロムを有さない（いわゆる「明るい」）。物理的には、レチクルは、通常 $12.7 \sim 15.9 \text{ cm}^2$ （5～6.2 平方インチ）及び厚さ約 0.23 cm（0.09 インチ）のガラス・プレートである。それらは、クロムの薄い（数百 nm）層で覆われる。クロムは、連続リソグラフィ・プロセスによって、通常はレーザ又は電子ビームシステムを使用して、レジストを用いてパターンニングされる。次に、レチクルに湿式エッチングが施され、それによってクロムが選択的に除去される。その結果、最終的なレチクルは、一方の側面上に所望のパターンでクロムを有するガラス・プレートから成る。

【0093】

図 3 0 aに示されるコード・パターンは、明るい垂直のストライプ 1 1 0 を有する。粒子当たり 1 つの垂直のストライプがある。図 3 0 bは、暗い水平のストライプ（又は、同等に明るいより幅広の水平のストライプ）から成るバー・パターンを示す。図 3 0 cに示される輪郭パターンは、暗い長方形 1 1 4 から成る。明るい列 1 1 6 は水平方向と垂直方向に延びて、長方形 1 1 4 を分離する。長方形 1 1 4 は粒子の外側の境界線を形成する。水平のストライプ 1 1 2 は不透明材料の内側セグメントの幅を規定する。垂直のストライプ 1 1 0 はセグメント内のギャップを形成する。ギャップ双方は、粒子内のコードを形成し、かつ 2 つの隣接した粒子を分離する。図 3 0 dはレチクル・プレート全体を示す。レチクル・フィールド 1 1 8 は、露光されるパターンを含むレチクルの中央領域である。コード及びバーのパターンを組み合わせ、記載される多重印刷方法にしたがって使用することができる単一パターンとするなど、記載されるパターンの代替例も想起される。

【0094】

コードを作成するための本発明の方法の代表的な一例は、フォトリソグラフィやポジティブ型フォトリソレジストを使用する。ポジティブ型は、感光される区域が現像によって取り除かれることを意味する。ネガティブ型レジストの場合、露光領域は現像後に残る領域である。光硬化性エポキシ樹脂 SU-8 はネガティブ型レジストの一例である。SU-8 などのネガティブ型レジストを使用する代替例では、ギャップとなる領域の変わりにセグメントとなる領域が露光される。

【0095】

図 5 1 a～5 1 cは、コード要素のパターンニング及びエッチング工程の例のフローチャートを示す。図 5 1 aは、ハード・マスクが使用されない場合を示す。このプロセスはより単純であるが、フォトリソレジスト露光の近接効果のため、丸みを帯びた角を有するセグメントが作成されることがある。セグメントの角において、フォトリソレジストは、コード・パターンの垂直のストライプとバー・パターンの水平のストライプの両方から、ある程度の

残留している露光を受ける。結果として得られる角の丸みは、本発明の範囲内であるものの、作成される最終的な粒子が側面からと上面及び下面からとでは異なって見えるため、あまり望ましくない。丸みが生じる程度は、レチクル上のパターン、光源の波長、フォトレジストなど、フォトリソグラフィ・プロセスの詳細によって変わる。図 5 1 bは、多重印刷方法に基づくパターンニング・プロセスの代表的な一例を示し、以下の図 3 2 a～3 2 m及び図 3 3 a～3 3 mに詳細に記載される。図 5 1 cは、粒子製造プロセスの別の例を示し、バー・パターンをハード・マスクに転写する代わりに、バー・パターンのフォトレジストが、ハード・マスク酸化物と併せてマスクとして使用される。この例の方法によっていくつかの工程が不要になるが、ポリ・エッチング化学作用の詳細によっては適切でないことがある。

【0096】

多重印刷工程を使用してコードを生成する一般的な方法の代替例は、印刷機構としてスタンピング（インプリント・リソグラフィとして知られる）を利用するもので、図 3 1に概略的に示される。図 3 1は、本発明のコードを構築するための多重印刷工程方法、例えば、1) 粒子を含む基板にスタンプ装置を型押しするか、又は押し付け、次に、2) スタンプ装置又は基板のどちらかを動かし、3) 近くの位置で少なくとももう一度型押しすることで、マイクロ粒子上の完全なコードが形成される方法による、スタンプ印刷のためのマスター・パターンの例の小さな領域を概略的に示す。インプリント・リソグラフィを使用して、マイクロ粒子をその上に形成することができる基板は、100mm、150mm、200mm、若しくは300mmのシリコン・ウェハなどのウェハ、あるいは、12.7cm（5インチ）以上のガラス若しくは石英のパネル、又は巻取りシート（ポリマー・シートが挙げられるがそれに限定されない）であってもよい。

【0097】

図 3 2 a～3 2 m及び図 3 3 a～3 3 mは、図 1 Aのコード化されたマイクロ粒子の例の微細加工プロセス工程を示す。これらの工程は内部の不透明なセグメント（コードを含む）を形成する。工程は、図 6 a～6 mよりも詳細に示され、フォトレジスト露光と現像を包含する。図 3 2 a～図 3 2 mは上面図を示し、図 3 3 a～図 3 3 mはそれに対応する断面図を示す。横断線 50 が 図 3 2 a～図 3 2 mに示される。図 3 2 aでは、上面はハード・マスク酸化物 58 である。図 3 3 aでは、下地基板 52 上のフィルム・スタックは、下側の酸化物 54、ポリ 56、ハード・マスク酸化物 58 から成る。図 3 2 bでは、ウェハは未露光のフォトレジスト 120 で覆われている。未露光のフォトレジスト 120 は、図 3 3 bでは最上層として示される。図 3 2 c、3 3 cでは、未露光のフォトレジスト 120 は、コード・パターンを用いて 1 回露光されて、露光済みのフォトレジスト 122 領域を形成している。図 3 2 d、3 3 dでは、コード・パターンは、露光の間に横方向にずらして複数回露光されている。好ましい実施形態では、コード・パターンは直接隣接した領域で 2 回露光されて、二重幅のストライプ 124 を形成する。単一幅のストライプ 126 はコードを形成する「ギャップ」である。二重幅のストライプ 124 は粒子の中間に位置し、粒子を分離する。明確にするため、横方向のオフセットは、ウェハがその上に載せられるステージを動かすことによって得られる。横方向のオフセットはステッパ・ソフトウェアにプログラムされる。横方向のオフセットは、そのダイの上のマイクロ粒子のコードを形成する。横方向のオフセット（したがって、コード）は、ウェハ上の全てのダイにおいて異なることができる。多数のウェハにおける各ウェハは、異なる組のコードを有することができる。このようにして、非常に大きな組のコードを実現することができる。

【0098】

図 3 2 e、3 3 eは、フォトレジストの現像後のウェハを示す。図 3 2 d、3 3 dからの露光済みのフォトレジスト 122 は除去されて、下にあるハード・マスク酸化物 58 が現れる。図 3 2 f、3 3 fは酸化物エッチング後のウェハを示す。酸化物エッチングにより、露光済み領域内のハード・マスク酸化物 58 が除去されて、下にあるポリ 56 が現れる。図 3 2 g、3 3 gは、図 3 2 f、3 3 fの未露光のフォトレジスト 120 が除去された後のウェハを示す。ハード・マスク酸化物 58 はセグメントとなる領域内に存在する。

ポリ 5 6 は、不透明材料のギャップとなる領域内において露光する。図 3 2 h、3 3 h は、未露光のフォトリソ 1 2 0 で再び覆われた後のウェハを示す。

【0099】

図 3 2 i、3 3 i は、バー・パターンを露光した後のウェハを示す。これは 1 回のみの露光であり、全てのダイに対して同じである。この露光は、好ましくはウェハ上に既にあるパターンと整列される。露光の後、未露光のフォトリソ 1 2 0 パターンは、セグメント幅を定める水平のストライプから成る。露光済みのフォトリソ 1 2 2 パターンは、セグメント間の水平方向の分離を定める水平のストライプから成る。図 3 2 j、3 3 j は、フォトリソを現像した後のウェハを示す。図 3 2 i、3 3 i からの露光済みのフォトリソ 1 2 2 は除去されて、下にあるハード・マスク酸化物 5 8 とポリ 5 6 が現れる。図 3 2 k、3 3 k はハード・マスク酸化物を酸化エッチングした後のウェハを示す。図 3 2 i の露光済みのフォトリソ領域内にはポリ 5 6 のみが存在する。図 3 2 l、3 3 l は、未露光のフォトリソ 1 2 0 が除去された後のウェハを示す。プロセス中のこの時点では、ウェハの上面はポリ 5 6 であり、不透明材料のセグメントとなる領域内でハード・マスク酸化物 5 8 がポリ 5 6 を覆っている。最後に、図 3 2 m、3 3 m は、ポリ・エッチング後のウェハを示す。ポリ・エッチングにより、図 3 2 l、3 3 l のポリ 5 6 が除去されて、下にある下側の酸化物 5 4 が現れる。ハード・マスク酸化物 5 8 は、セグメント・パターン内においてポリ 5 6 の上面に依然として存在する。

【0100】

図 1 A に示されるようなマイクロ粒子に加えて、上述の方法を使用して、現在知られている粒子設計や他の代替設計など、他のコード化されたマイクロ粒子設計のためのコードを作成することができる。上述の方法を使用して、例えば図 3 4 a～3 4 c のコード化されたマイクロ粒子のためのコードを作成することができる。

【0101】

図 3 4 a を参照すると、枠材 1 8 2 によって取り囲まれた、穴 1 7 8、1 8 0 などの穴から成るコード要素を備えた棒状のマイクロ粒子が示される。穴の数と配列は、予め定められたコード体系から得られるコードを形成する。

【0102】

図 3 4 b は、切欠き 1 9 6 などの切欠きを含むコード要素を備えた別の棒状の粒子を示す。隣接した切欠きは、幅が異なる一組の突起構造を定める。突起構造の総数と幅が異なる突起構造の配列は、コード体系から得られるコードを表す。図 3 4 c は、ギャップ 2 0 2 によって分離された穴 2 0 0、2 0 2 などの穴から成る、コード要素を備えた正方形のプレート状の粒子を示す。プレート状粒子は、粒子の対称性を壊し、結果としてより多数のコードを可能にするため、1 つの角にへこみ 1 9 8 も包含する。さらなる形状とコード要素アーキテクチャも、コードを作成する上述の方法を用いて作成することができる。

【0103】

図 3 5 は、ダイからリリースする直前の、実際のコード化されたマイクロ粒子の 4 つの顕微鏡画像を示す。これらの粒子は、多重印刷工程を用いてコードを作成する本発明の技術にしたがって、また上述の設計にしたがって作成される。

【0104】

図 3 6 は、ウェハ上の全てのダイ上に異なるコードを生成するために、ステッパ・ソフトウェアに入力されるデータの例のチャートを示す。チャートは、どのダイに 9 個の異なるパスが印刷されるか、またどのオフセットを用いて印刷されるかを示す。図 3 6 に示されるデータは、ウェハ上の多数のダイの上に多数のコードを設けるため、ステッパを使用して多重印刷方法を体系化するための 1 つのシステムの一例である。この例では、各ダイは単一パスの間に最大でも 1 回しか露光されない。この例におけるステッパ露光パスの間にどのダイが露光されるかに関するウェハ・マップは、左側の列に示される。「1」は露光を表す。「0」は露光なしを表す。中央の列は、オフセット文字「A」、「B」、「C」、「D」で表される、露光オフセットのウェハ・ショット・マップを示す。右側の列は、1) 粒子の端部に対する露光位置、2) オフセット文字、3) ステッパ基準点に対して

プログラムされた露光位置のルックアップ・チャートを示す。行は、この例では9回である異なるパスに対応する。

【0105】

ステッパを使用して、多重印刷方法を体系化するためのシステムの別の例は、次のダイに移る前に、単一のダイ内にあるコード要素の全てを露光するものである。当然ながら、4つ以外の多数のオフセットを使用することができる。マイクロ粒子上にコードを作成する一般的な方法のこの例や他の例は、投影フォトリソグラフィ及びステッパを使用するものに関して記載してきたが、接触リソグラフィや他のパターンニング方法も使用されてもよい。

【0106】

図37は、ダイ当たりより多数のコードを作成するスキームの例の図を示す。このスキームでは、ダイ内に、固定コード要素と可変コード要素の位置がある。ダイは部分領域に分割され、部分領域はそれぞれ、固定コード要素の異なるパターンを有する。各ダイに対して、可変コード要素の異なるパターンが露光される。固定コード要素と可変コード要素は併せてコード全体を形成する。したがって、単一のウェハが含むコードの総数は、ウェハ当たりのダイの数とダイ当たりの部分領域の数の積に等しい。異なるコードの部分領域を含む個々のダイは、より小さなサブ・ダイに物理的に分離することができ、異なるコードが異なるチューブ内に放出される。代替例は、ダイをそのままに保ち、ダイ全体を単一のチューブ内に放出するものである。これにより、異なる部分領域からのコードの混合物が作られる。この方策は、組み合わせ合成用途に特に有用なことがある。

【0107】

コードを作成する本発明の方法、例えば、単一のレチクル・フィールドの複数回の露光工程によって完全なコードを形成するためのフォトリソグラフィによるステップ・アンド・リピート・システムの使用は、固有のコードを多くのタイプの構成要素、例えばMEMS及びICデバイスに適用するためにも利用できる。

【0108】

上述したようなマイクロ粒子の中は、二進又は非二進コード化などの、任意の所望のコード体系から得られるコードが組み込まれている。

【0109】

一例として、図38aは、本発明の非二進コード体系にしたがって形成された、コード化されたマイクロ粒子の図解を示す。図38aを参照すると、コード体系パラメータは、 L （粒子の長さ）、 w （セグメント間のギャップの幅）、 d （ギャップのギャップ中心の位置のデルタ）である。図38aは、ギャップの1つのみの場所が変化するような異なるコードを備えた4個の粒子を示す。ギャップは、 d に等しい量だけ変化しており、「隣接した」コード（例えば、類似しており、したがって互いに対して誤って識別される可能性が高いコード）を示す。図38b、38cは、ギャップの数が異なりギャップの位置が変化しているランダム・コードを示す。表1は、様々な異なるパラメータの組み合わせのためのコードの総数（コードスペース）を示す。コードの数は、本発明の非二進コード体系を実施するコンピュータ・ソフトウェア・プログラムから計算される。コードの縮重は、アルゴリズムにおいて考慮される（例えば、一対のコード、1つが反転されたときのような、コードは等価であり、2つのコードは単一のコードと見なされる）。表1及び表2のパラメータは100nm単位で指定される。30, 069となる $L=152$ 、 $w=8$ 、 $d=4$ のパラメータの組み合わせは、図38a~38cに示される。表2は、異なる L によるマイクロ粒子によって表すことができるコードの総数を示す。代表的な一例では、離散化距離 w は特徴的なセグメント・サイズに等しいか、又はそれよりも小さい。表2に示されるように、非常に大きなコードスペースが利用可能であり、上述の方法を用いて実際に達成可能である。 $L=152$ 、 $w=5$ 、 $d=4$ のパラメータの組み合わせは、約200万のコードスペースを有する。

【0110】

【表 2】

表 1

L	w	d	コード数 (コード スペース)
152	8	8	2134
152	8	7	3281
152	8	6	5846
152	8	5	11439
152	8	4	30069
152	8	3	105154
100	5	5	3,409
110	5	5	8,904
120	5	5	23,296
130	5	5	62,376
140	5	5	170,083

【0 1 1 1】

【表 3】

表 2

L	w	d	コード数 (コード スペース)
80	5	4	928
90	5	4	2,683
100	5	4	7,753
110	5	4	22,409
120	5	4	64,777
130	5	4	187,247
140	5	4	541,252
150	5	4	1,564,516
152	5	4	1,934,524
160	5	4	4,522,305

【0 1 1 2】

代表的な一例では、コード体系は、コード要素のサイズ自体よりも小さな間隔長さだけ離れた場所に置かれたコード要素を利用する。これは、コードが、離散的な均等に間隔を空けた場所における機構が存在するかしないかで構成される、標準的な二進コード化から逸脱している。多重印刷技術を使用して製造された上述の構造に当然適用可能な、このコード体系の好ましい実施形態では、コード要素は、セグメント化された内部の不透明材料内のギャップである。ギャップのサイズは、ステップやフォトリソグラフィ・プロセスによって信頼性高く定義され、かつ顕微鏡（所望の倍率で作動する）によって解像できるものであるように選択される。ギャップのサイズ、間隔長さ、粒子長さは、コードスペース（可能なコードの数）を決定する。コードスペースの決定は、ウェハ上の粒子密度、識別精度、光学検出システムの複雑さ、顕微鏡画像当たりの粒子数の間のトレードオフを伴う。実際のパラメータの組み合わせを使用して、100万個を超えるコードスペースを作成し、正確に識別することができる。

【0 1 1 3】

標準的な二進コード体系の例では、粒子は等しい長さの単位に分割される。結果として、各単位は、黒又は白、0又は1である。粒子が対称的なので、1つが反転されているとき、同じ2個のコードがある（いわゆる「縮重」コード）。コードを計数するとき、縮重コードの各対からの1つは好ましくは廃棄される。縮重がない場合、 2^N 個の可能なコー

ドが存在し、ここでNはビット数（単位）である。縮重がある場合、その半分の数が存在する。正確には、標準的な二進フォーマットを有する可能なコードの数は、 $\lceil 2^N + 2^{\lceil N/2 \rceil} \rceil / 2$ である。図13、図16などに上述した、本発明の高コントラストのコード化されたマイクロ粒子構造の例では、コードの完全な組の中に、黒又は白の領域が長く延びる個々のコードがある。粒子の黒は背景の黒と区別不能なので、粒子は非常に高いコントラストにされる。しかし、黒が長く延びるコードは、白の領域を関連させて個別の粒子とすることがより困難なので、あまり望ましくない（ただし、当然本発明の範囲内である）。例えば、より困難なコードは、1 0 0 0 ... 0 0 0 1（単一の白のビットが両端にある）であろう。特に本明細書において上述した構造及び作成方法の場合、上述の例で考察されたものよりも他の多くのコード体系が可能なので、任意の適切なコード体系を使用できることに留意されたい。

【0114】

上述した非二進コード体系は、高いコードスペースとロバストなコード識別がもたらされるなど、マイクロ粒子の製造や検出において多くの利点を有する。コード体系の例では、マイクロ粒子の製造プロセスの信頼性は、単一のサイズの機構、例えば単一の幅を有するセグメント内のギャップのための、パターンニング及びエッチング条件を最適化できるようにすることで改善される。

【0115】

コード化されたマイクロ粒子とその中のコードを決定する方法の代表的な例では、例えば図20に示されるように、コードは、セグメントの長さではなくギャップの中心位置によって決定される。したがって、製造のばらつき、若しくは画像化条件のばらつき、又は使用される画像処理アルゴリズムのばらつきによって寸法が変わる場合、ギャップの中心位置は変わらないので、コードIDがロバストになる。このスキームは、光学イメージング・システムにおいて、機構の、この場合はギャップの位置を、機構自体の解像可能な最小寸法よりもはるかに小さい解像度に定めることができる。例えば、ギャップ幅は、1.5 μm 以下であってもよく、1.0 μm よりも小さい、さらに好ましくは0.5 μm よりも小さい距離に定められてもよい。

【0116】

一般に、高いコードスペースが望ましい。ゲノミクスの分野では、数万個のコードスペースを有することが特に重要であるが、それは、ヒトゲノムなど複雑な生体のゲノム全体を単一組の粒子上に置くことが可能になるためである。表1の上部分は、デルタ・パラメータdを変化させることがコードスペースに与える影響を示す。dを縮小することにより、より多くのコードが与えられるが、光学系に対する要求が増加する。より小さなdを解像する必要があるということは、一般的により高価な対物レンズが使用されることを意味する。実際に、ギャップ間隔の距離の下限は、光学系による解像度（CCDカメラを使用して捕捉されたデジタル画像のピクセル・サイズとして表される）によって設定される。60倍対物レンズ及び6.2mmの1024×1024 CCDチップを使用すると、d = 0.4 μm の間隔距離は約4ピクセルに等しい。間隔距離が0.3 μm （3ピクセル）に低減された場合、105,154個のコードとなる。より長い粒子長さL、及び／又はより小さなギャップ幅wに対して、コードスペースは数百万に拡張することができる。

【0117】

表1の下部分は、wとdが固定で、粒子の長さを変化させた場合の影響を示す。長さLは、ダイ上の粒子の密度（単位面積当たりの粒子の数）に反比例する。長さは、画像中の粒子の数、したがってスループット（毎秒ごとに検出される粒子）にも影響する。コードスペース、密度、識別、スループットの間にトレードオフが存在する。コード体系パラメータの最適化によって、特定の用途に対する選択されたコード体系が決定される。

【0118】

図39は、マイクロ粒子のプロトタイプの大きな集合の様々な形態の、4枚の写真を合成したものを示す。この集合は、1,000個以上のコードと、各コードの約200万個の粒子とを含む。左上の写真は、製造プロセス中の40個のウェハを示す。各ウェハは3

2 個のダイを有し、各ダイは、単一のコードの約 2 0 0 万個の粒子を含む。さらなる例として、ウェハ上のダイは、ウェハ当たりより多くの粒子、例えば 5 0 0 万個以上を含有してもよい。さらに、ウェハ（又はガラス・パネルなどの他の基板）は、1 0 0 個以上のダイ、あるいは 2 0 0 個以上、又は 1 0 0 0 個以上のダイを含有してもよい。ウェハは、全体として、コード化されたマイクロ粒子の 1 0 0 個以上のコード、あるいは 2 0 0 個以上、1 0 0 0 個以上のコード、又は 5, 0 0 0 個以上のコードを有してもよい。コード化されたマイクロ粒子の大きな集合の代表的な一例では、大きな集合、例えばダイからリリースされるマイクロ粒子を作成するのに使用されるほぼ全てのダイは異なるコードを含む。別の例では、ウェハ又は基板上の全てのダイは同じコードを有してもよい。ダイのサイズは、コード当たりの粒子の数と大きな集合内のコードの数との間のバランスを最適化するように選択される。ダイ当たりの粒子の数及びウェハ当たりのダイの数は、例えば、コードを作成する本発明の方法を利用して、ソフトウェア内で変更され、また、固定の成型型、例えばフォトマスクの大きく高価な集合の高い資本コストを必要とすることなく、異なる用途向けの製造ロット又は製品単位で最適化されてもよい。

【0119】

図 3 9 の右上の写真では、ウェハ製造は完了しており、粒子はシリコン基板からリリースされて試験管に入れられている。試験管は、6 4 本の試験管をそれぞれ保持するコンテナに入れられた状態で写真に示されている。左下の写真は、大きな集合からの粒子の 1 0 3 5 本の試験管それぞれの小さな一部分（約数千個の粒子）を含む、単一の試験管を示す。右下の画像は、単一の試験管の試料の顕微鏡画像である。この画像は、互いに混合された 1 0 3 5 個のコードの構成要素を示す。

【0120】

本発明のコード化されたマイクロ粒子、システム、方法は、生物学、化学、医学の分野だけでなく、紙幣、身分証明証、パスポートなどの標識付けを伴うセキュリティや商用分野、及び市販製品などにおける広範囲の用途を有する。一例では、マイクロ粒子は、DNA、RNA、タンパク質の分析など、分子検出に使用することができる。他の例では、当該分野において知られているように、コンビナトリアル・ケミストリー又は薬剤スクリーニング・アッセイが行われる。

【0121】

図 4 0 に示されるフローチャートを参照すると、マイクロ粒子は、個別のチューブ（又はウェル・プレートのウェル）に収容される。各チューブは、工程 4 1 0 で、単一のコードの多数のマイクロ粒子（例えば、1 0 0 万個以上）を含む。DNA 又は RNA などの生体分子は、工程 4 1 2 で、粒子の面上で不動化され、「プローブ」と称される。プローブの種はそれぞれ異なるコード上で不動化され、後で参照するためのルックアップ・テーブルが生成される。プローブの種はそれぞれ、「標的」の 1 つ又は複数の対応する種も有し、それら 2 つの間の結合は特異性である。プローブ／標的の用語は、通常は DNA と RNA の補体に関して使用されるが、本書では抗体を含む全ての生体分子を指す。多くのプローブが、一般的に $10^4 / \mu\text{m}^2$ 程度以上の密度で、単一粒子上で不動化される。「プローブ (a probe)」の単数での使用は、複数のプローブ分子を指す場合が多く、「コード (a code)」は、本明細書に使用される他の用語と同様に、特定のコードの複数の粒子を指す場合が多い。

【0122】

コード化された粒子と生体分子を組み合わせることで、工程 4 1 4 によって、「プールド・プローブ・セット」が作成される。プールド・プローブ・セットは、各コードが粒子面に付着された特定のプローブを有する、コード化された粒子の混合物である。次に、プールド・プローブ・セットは、標的の混合物中にある個々の標的の量を決定するのに使用することができる。標的の混合物は試料と称され、一般的に生物試験体から得られる。次に、工程 4 1 6 で、試料は、一般的には蛍光体を用いて標識付けされる。試料がプールド・プローブ・セットと混合されると、プローブと標的は溶液中で互いを見つけ出し、結合する。核酸では、工程 4 1 8 で、この反応はハイブリッド形成と呼ばれ、非常に選択的で

ある。反応後、粒子は、工程 420 で、コードを読み取り、かつ蛍光を定量化するために画像化される。コードとプローブのルックアップ・テーブルを参照すると、混合試料中の異なる標的種の量は、ここで測定することができ、工程 422 でアッセイ結果として決定される。

【0123】

マイクロ粒子で反応させる試料は、精製された生物学的抽出物か、又は、全血、血清、細胞可溶化物、スワブ、又は組織抽出物などであるが、これらに限定されない精製されていない試料であってもよい。マイクロ粒子で反応させる試料は、培養、クローニング、解剖、又は顕微解剖によって作成されてもよい。細胞は、マイクロ粒子を利用するバイオアッセイ及び他の上述の発明における、試料又はプローブのどちらかとして役立つことがある。

【0124】

図 43、44 は、多数のコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す。画像中に示されるマイクロ粒子は、それらの面に付着されたオリゴ・プローブ分子を有し、ハイブリッド化されて、標的の塩基対配列がプローブの配列に対して相補的である、予め標識付けされた蛍光オリゴ標的となっている。

【0125】

図 41 は、プロセスの代表的な一例の図を示しており、そのプロセスによって、ウェハ全体が、バイオアッセイを行うために試料と反応することができる、粒子プローブ共役体の混合物になる（いわゆる「ハイブリッド形成準備完了コードアレイ（Hybridization-Ready Code Arrays）」）。ウェハ製造工程が完了した後、ウェハは多くのダイを有し、各ダイは単一のコードの多くの粒子を含有している。上述したように、ダイが同じコードを持って作成されるか、又はダイが細分され、多数のコードを含む、代替のスキームが使用されてもよい。ウェハは（通常はウェハ・ソウによって）個別のダイにダイシングされ、次に、各ダイはウェル・プレートの個別のウェルに入れられる。あるいは、ウェルの代わりに試験管を使用することができる。リリース工程は、例えば、ダイの面から粒子を除去する TMAH などの化学エッチング剤を使用して行われる。次に、ダイは、遊離粒子を残してウェルから除去される。リリース後、生体分子プローブの共役が行われ、結果として、各ウェルは単一のタイプの粒子プローブ共役体を含む（粒子は単一のコードのものであり、それらの粒子は面上に生体分子の単一の種を有する）。共役後、粒子は全て互いに混合されて、「プールド・マスター・ミックス」を形成する。プールド・マスター・ミックスは、粒子・プローブ共役体の全ての種からの十分な発現が存在するようにして部分標本に分割される。結果として、これらの部分標本はバイオアッセイを行うため、試料と反応できるようになっている。

【0126】

多数の異なる試料が、上述したように、単一のバイオ・アッセイにおいて識別されてもよいことに留意されたい。検出の前かつハイブリッド形成の後、マイクロ粒子は、検出のため、ウェル・プレート又は他のコンテナのウェルに入れることができる。1つの検出例では、マイクロ粒子は、重力によってウェル・プレートの底面上に沈む。検出のために粒子を準備するのを助けるため、ウェル内のマイクロ粒子に対して、遠心分離、超音波処理、又は他の物理的若しくは化学的プロセス（多重洗浄工程など）を行うことができる。別の例では、検出のため、マイクロ粒子をスライド・ガラス又は他の特に準備された基板上に置くことができる。さらに他の例では、粒子は検出の間フロー・ストリーム中に存在し、又は懸濁液中に存在する。

【0127】

共役という用語は、それによって、事実上それぞれのマイクロ粒子が面に付着させる 1 つ又は複数のプローブ分子を有するようになるプロセスを指す。共役の方法は、当該技術分野において、例えば、Bioconjugate Techniques, First Edition, Greg T. Hermanson, Academic Press, 1996: Part I (Review of the major chemical

l groups that can be used in modification or crosslinking reactions), Part II (A detailed overview of the major modification and conjugation chemicals in common use today), and Part III (Discussion on how to prepare unique conjugates and labeled molecules for use in applications)において良く知られている。

【0128】

粒子の面に付着された分子プローブは、一般的に、既知の属性又は特性を有する。一例では、分子プローブは、生物試験体又は試料に由来し、大きな母集団の、遺伝シーケンシングを含むがこれに限定されないスクリーニングに使用することができ、その場合一般的に、母集団の一員からの派生物は単一のコードに、一般的には単一のコードの多数の粒子に当てはめられる。好ましくは、同じコードを有するマイクロ粒子にはほぼ同じプローブ分子が付着され、同様に、異なるコードを有するマイクロ粒子は異なるプローブ分子を有する。

【0129】

平坦なマイクロアレイの代わりに、コード化された粒子の溶液アレイをプラットフォームとして使用する、多重アッセイの最も強力な特徴の1つは、単に新しい粒子を付加することによって機能性がアッセイに加わるという柔軟性である。標準的なマイクロアレイでは、アレイが印刷されるか、又は合成されてしまうと、一般的にアレイは変更することができない。研究者がアレイ上の遺伝子に対するプローブを変更するか、又は新しい遺伝子に対するプローブを付加しようとする場合、一般的に全く新しいアレイが作成される。粒子のプールド・プローブ・セットを用いると、新しいプローブと粒子の共役体（略してプローブ）を既存のプールド・プローブ・セットに容易に付加することができる。實際上、新しいプローブは、既に発現している遺伝子のためのプローブ、遺伝子の代替のスプライシング変異株、又は遺伝子のためのタイリング・プローブとは異なることができる。

【0130】

図45a及び図45bは、本発明のマイクロ粒子の同じ組に対する反射画像と蛍光画像の対を示す。画像は約1秒間隔で連続して得られたものである。図45aの反射画像は、青色光で照明し集光して（励起フィルタ＝436/10nm、放射フィルタ＝457/50、すなわち重なり合ったフィルタ）得られたものである。この画像は各粒子のコードを決定するために使用される。図45bの蛍光画像は、緑色光で照明し赤色光を集光して（励起フィルタ＝555/28nm、放射フィルタ＝617/73、すなわちCy3用フィルタ）得られたものである。図45cは、図45aと図45bの画像対を互いに重ね合わせて単一画像としたものである。

【0131】

図46a～図46fは、時間順に並べたコード化されたマイクロ粒子の稠密な蛍光顕微鏡画像を示す。画像はエッジ検出のために処理されている。画像は約1秒間隔で得られたものであり、時間系列のフレームである。画像を構成する個々の粒子は、分子衝突（ブラウン運動として知られる）によって、フレーム間で測定可能な量だけ移動する。このブラウン運動は、稠密な二次元単分子層への粒子のアセンブリを促進する。画像中に示される粒子は、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子の例である。粒子は、面に付着されたオリゴヌクレオチド・プローブを有し、また、相補的なオリゴヌクレオチド標的とハイブリッド化（すなわち、溶液中で反応）されている。

【0132】

本発明のマイクロ粒子は、溶液ベースのアレイ、バイオチップ、DNAマイクロアレイ、タンパク質マイクロアレイ、ラボオンチップ・システム、側方流動デバイス（免疫クロマトグラフィ・テスト・ストリップ）などであるが、これらに限定されない、生化学（又は化学）分析システムの主要な機能的構成要素として使用することができる。用途として

は、gDNA及びタンパク質シーケンシング、形質発現プロファイリング、遺伝子型判定、多形分析、比較ゲノム・ハイブリダイゼーション（CGH）、クロマチン免疫沈降（CHIP）、メチル化検出、並びに、疾病メカニズムの発見、遺伝子機能の研究、生物学的経路の調査、また、タンパク質、ペプチド、ポリペプチドの検査及び分析など、様々な他の生化学及び生体分子関連の用途、並びに関連する生化学用途が挙げられるが、これらに限定されない。分析アーキテクチャは、直接DNAハイブリダイゼーション、DNAからRNA若しくはRNAからRNAへのハイブリダイゼーション、ポリメラーゼ伸長や連結反応などの酵素アッセイなどであるが、これらに限定されない、当該技術分野において良く知られているものを包含してもよい。マイクロ粒子は、試料調製、生化学反応、バイオ分析が統合されたシステムなどが挙げられるが、これらに限定されない、マイクロ流体システム若しくはラブオンチップ・システム、又は任意のフロー・ベースのシステムにも使用することができる。

【0133】

例えば、蛍光の存在に基づく光学イメージング方法を使用することができる場合、蛍光標識を使用することができる。関連する写真フィルムを露光又は現像するのにマイクロ粒子が利用される場合、放射性標識を使用することができる。あるいは、検出が、試料分子がマイクロ粒子上のプローブ分子に結合するか、又はそれと反応したときに放出される酵素標識の生成物を検出することを伴う場合、酵素標識を使用することができる。その主題が全体として参照により本明細書に組み込まれる、「Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray」（Schen et al. Science, 1995, 270-467）に記載されているような、他の標識付け方法も可能である。

【0134】

標識を有さない試料をマイクロ粒子と反応させることもできる。例えば、分子ビーコン・プローブをマイクロ粒子に適用することができる。分子ビーコン・プローブは、一般的にU字形の構造を含み、標識のない、若しくは場合によっては標識された試料分子を結合する際に伸ばされ、結果として結合イベントを示す信号を生成する。そのような分子ビーコン・プローブや他のプローブは、例えば、蛍光体又はクエンチャーがマイクロ粒子の面上又は中に置かれる、FRET（蛍光共振エネルギー転移）を伴うアッセイに使用されてもよい。

【0135】

図47は、2プレックスDNAハイブリダイゼーション・アッセイからの実際のアッセイ・データを示す。この実験では、2つの異なるオリゴ・プローブ（2つの異なる配列が下側に示される）を、異なる粒子バッチ（異なるコードを有する）の面に付着させた。プローブの付着後、粒子を互いに混合し、混合物の部分標本をウェル・プレートの2つのウェルに入れた。次に、プローブ配列と蛍光体標識を相補する配列を有するオリゴから成る標的を2つのウェルに付加し、粒子・プローブ共役体の混合物と反応させた。プローブ1を相補する標的1を第1のウェルに付加し、プローブ2を相補する標的2を第2のウェルに付加した。両方のウェルの粒子の画像化を行い、その結果が図47に示される。第1のウェル（標的1を有する）内では、対応するコードの粒子は、比較的高い蛍光信号を示し、第2のウェルに関してはその逆である。

【0136】

多数の試料分子に対する、迅速で信頼性が高く、かつ効率的なバイオアッセイを促進するため、マイクロ粒子は、マイクロ粒子をその中に含むウェルの底面などの面上に、ほぼ単分子層の形でそれら自身を配列させることができることが好ましい。マイクロ粒子は、光学検出が行われる特定の液体中で、ブラウン運動を行うことができることが好ましい。マイクロ粒子がハイブリッド化され検出される特定の液体を前提として、マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{ cm}^2/\text{s}$ 以上であるか、かつ又は、1秒以下、好ましくは3秒以下、又は5秒以下の時間間隔内で、マイクロ粒子の10%以上、例えば15%以

上、さらには20%以上、及び50%以上において、20nm以上、例えば30nm以上、さらには50nm以上の横方向の変位が測定されることが好ましい。

【0137】

可視光を使用する光学イメージングなど、所望の検出手段によって正確に検出できるものと言われる、検出可能なマイクロ粒子は、マイクロ粒子が収容されるコンテナの底面的一部分など、マイクロ粒子がその上で収集される面積の30%以上、40%以上、一般的には50%以上を占めることができる。全てのマイクロ粒子の少なくとも90%（一般的には少なくとも95%、より一般的には少なくとも99%、多くの場合は100%）が配置される面積を定めると、マイクロ粒子は、1000粒子/mm²以上、例えば1500粒子/mm²以上、2000粒子/mm²以上、一般的には3000粒子/mm²以上（例えば、5000粒子/mm²以上）の密度を有することが理解できる。上述の面積内の検出率は、検出時のマイクロ粒子の集合体のうち検出されたマイクロ粒子（空間コードが検出されたマイクロ粒子）の総数とマイクロ粒子の集合体の総数との比として定められるものであり、80%以上、一般的には90%以上、より一般的には99%以上であることが好ましい。

【0138】

本発明の別の好ましい例は、200個以上、より好ましくは500個以上、1000個以上、さらには10,000個以上の異なるコード（本発明によって可能になる大きなコードスペースにより、さらに多数のコード）をキット内に収容した、生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子を含むキットである。統計的試料を便利に液体ピペッティングするための要件や、キット内の特定のコードの所望の冗長度により、キット内に同じコードの10個を超える粒子（同じコードの20個以上の、さらには30個以上のマイクロ粒子）が一般的に供給されるが、これは、いくつかの用途の例では、冗長度によってアッセイ全体の性能が改善されるためである。用語「生化学的に活性のコード化されたマイクロ粒子」は、生物学部分又は化学部分を面上に有し、したがってアッセイに使用することができるマイクロ粒子を指し、また、用語「部分」は、核酸、合成核酸、オリゴヌクレオチド、単鎖核酸、二重鎖核酸、タンパク質、ポリペプチド、抗体、抗原、酵素、受容体、配位子、及び薬剤分子、細胞、並びに複雑な生物由来の試料などであるが、これらに限定されない分子種と称される。

【0139】

汎用的アダプタ・スキームは、プローブ上に設けられる配列に対して相補的な一組の相互作用しない合成配列を供給するのに使用されてもよい。遺伝子型判定は、共通のプローブと対立遺伝子特異性のレポーターを使用して、又は対立遺伝子特異性のプローブと共通のレポーターを使用して行うことができる。PCR、パドロック・プローブ、又は分子反転プローブを必要とするものなどの増幅アッセイは、本発明の粒子を使用して行うことができる。これらのアッセイのうち2つの例が、図48a及び図48bに示される。本発明の代替例では、粒子の面上に存在する生体分子は、予め合成し、次に粒子面に付着させることができる。あるいは、生体分子は粒子上で*in situ*合成することができる。

【0140】

タンパク質ベースのアッセイも適用可能である。これらには、サンドイッチ・イムノアッセイ、抗体・タンパク質結合アッセイ、受容体・配位子結合アッセイ、又はタンパク質間相互作用アッセイが包含されるが、これらに限定されない。これらのアッセイの例が図49に示される。本発明のコード化されたマイクロ粒子の組は、タンパク質間相互作用を調査するため、溶液ベースのアッセイに使用することができる。これは図49の右下に示される。

【0141】

単一のタイプのタンパク質を、単一のコードのマイクロ粒子に適用することができる。粒子・タンパク質共役体を混合し、特定の生化学環境内で反応させる際、互いに相互作用し結合するタンパク質は、検出中に隣接した粒子が存在することによって決定される。本発明のマイクロ粒子構造の断面が正方形であることにより、平坦な長方形の形状における

接触面積が増加されることで、従来技術よりも改善される。形状が球状又は円筒状の従来技術の粒子では、それぞれ、接触面積が単一点又は線に限定される。本発明はタンパク質に限定されず、任意の相互作用する分子が、このアッセイ・アーキテクチャと共に使用されてもよい。さらに、本発明の全方向性のコード化されたマイクロ粒子は、蛍光体、量子ドット、ラテックス若しくはガラス・ビーズ、コロイド金属粒子、分光学的に活性の粒子、SERS粒子、又は半導体ナノロッドなどであるが、これらに限定されない、他の任意のコード化された粒子と共に使用されてもよい。

【0142】

コード化されたマイクロ粒子は、分子の二次元平面アレイと共に使用されてもよい。粒子の面上の分子と二次元平面アレイ上のスポットに含有される分子との相互作用は、粒子がそれらのスポットに結合することによって決定される。好ましくは洗浄工程後に、予め定められたスポットの場所に粒子が存在することは、粒子上の分子と二次元平面アレイ上の分子との間の結合相互作用を示す。アッセイ結果は、1) 粒子コード、2) スポットの場所を識別することによって決定することができる。これは図50に示される。図50は、粒子の画像を包含する概略図であるが、ただし実際の実験結果ではなく、すなわち本発明を例示するためのものである。本発明では、本発明のマイクロ粒子の断面が正方形であることにより、結合接触面積が増加し、従来技術よりも大幅に改善される。

【0143】

本発明のマイクロ粒子は他の用途を有してもよい。例えば、タンパク質検出分子（例えば、特定のタンパク質分子と接触すると、色を変える、蛍光を発する、若しくは電気信号を発生する配位子、染料）をマイクロ粒子上に置くことによって、バイオアッセイ分析（すなわち、生物学的試料におけるタンパク質及び／又は遺伝子の発現レベルの評価）を行うことができる。別の例として、（細胞）受容体、核酸／プローブ、オリゴヌクレオチド、接着分子、メッセンジャーRNA（所与の疾病状態で「作動」する遺伝子に特異性）、cDNA（「作動」した各遺伝子によってコードされたmRNAに対して相補的）、オリゴ糖及び他の関連する炭水化物分子、又は細胞（どの細胞経路が「作動」したかを示すものなど）をマイクロ粒子上に置くことによって、マイクロ粒子は、疾病（すなわち、治療標的）に対して作用するタンパク質又は他の化学化合物をスクリーニングするのに使用することができる。これは、（生物学的試料からの関連成分）が、特定の（標的分子）が前もって配置／付着されているマイクロアレイ上の特定のスポット（場所）において接着又はハイブリッド形成することによって示される。実際に、本発明のマイクロ粒子は、それぞれの主題が参照により本明細書に組み込まれる、添付の付表に記載されるものなど、他の多くの生化学分野又は生体分子分野に適用することができる。

【0144】

当業者であれば、新しくかつ有用なマイクロ粒子とその作成方法を本明細書に記載してきたことを理解するであろう。本発明によって作成されるコード化されたマイクロ粒子の大きな集合は、特にバイオテクノロジーの分野において、より具体的にはゲノミクスの分野において広範な用途を有する基本的技術であり得る。それは、高度に多重化されたバイオアッセイのコストを大幅に低減する可能性を有する。さらに、研究者らが、内容物をカスタマイズした溶液アレイを容易に設計することを可能にする。研究者は、例えば、本発明のマイクロ粒子を有する新しく発見された対象の遺伝子など、新しい粒子タイプをプール・セットに容易に付加することもできる。

【0145】

しかし、本発明の原理が適用されてもよい多くの可能な実施形態を考慮して、図面を参照して本明細書に記載された実施形態は単に例示のためのものであり、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではないことを認識されたい。当業者であれば、例示の実施形態は、本発明の趣旨から逸脱することなく、その配置及び詳細を修正できることを認識するであろう。

【0146】

例えば、マイクロ粒子は、4つの細長い辺と2つの端辺を有する六辺形を有してもよい

。コード化されたマイクロ粒子は、4つの細長い辺のどれの上にバーコードが配置されているかに関わらず、コード化されたマイクロ粒子のコードが検出可能であるように構成することができる。マイクロ粒子は、2:1~50:1、4:1~20:1の長さとの幅の比を有してもよい。マイクロ粒子の長さは、好ましくは5~100 μm 、より好ましくは50 μm 未満である。マイクロ粒子の幅は0.5~10 μm であってもよい。他の例では、マイクロ粒子の長さは、10 μm 未満、25 μm 未満、25 μm 未満、5 μm 未満、27 μm 未満であることができ、マイクロ粒子の幅は3 μm 未満である。マイクロ粒子の幅と高さの比は0.5~2.0である。マイクロ粒子の長さとの幅の比は2:1~50:1である。マイクロ粒子の長さに沿って取った断面はほぼ長方形であり、長さは幅の少なくとも2倍である。

【0147】

マイクロ粒子は、セグメントが中に埋め込まれたガラス体を有してもよい。ガラス体とセグメントの透過率の差は10%以上である。ガラス体は、50未満 μm の長さとの10 μm 未満の幅を有し、ガラス体の体積が5~500 μm^3 であってもよい。コード化されたマイクロ粒子は、コード化されたマイクロ粒子内に、2~15個、3~10個、又は4~8個の透明度がより低い材料の部分の有してもよい。マイクロ粒子に組み込まれたコードは、二進、非二進、又は他の任意の所望のコードである。マイクロ粒子は、DNAプローブやRNAプローブなど、 $10^2 \sim 10^6 / \mu\text{m}^2$ の密度でマイクロ粒子の1つ又は複数の面に付着された、生化学分子を有してもよい。ウェハ・レベルで製造されたとき、ウェハは80.6 cm^2 (12.5平方インチ) ~ 774.2 cm^2 (120平方インチ)の面積を有してもよく、ウェハの6.5 cm^2 (1平方インチ)当たり少なくとも300万個のマイクロ粒子が存在する。ウェハは、基板上に形成された少なくとも100万個のコードを有してもよく、又は少なくとも200個の異なるコードが100万個のコードの中に存在し、あるいは少なくとも3000個の異なるコードが100万個のコードの中に存在する。例えばバイオアッセイの際に、液体バッファ中に置かれると、マイクロ粒子は、マイクロ粒子の二次元拡散係数が $1 \times 10^{-12} \text{cm}^2/\text{s}$ よりも大きい、より好ましくは $1 \times 10^{-11} \text{cm}^2/\text{s}$ よりも大きい単一の単分子層を形成することができる。

【0148】

したがって、本明細書に記載される本発明は、特許請求の範囲及びその等価物の範囲内にあるような全ての実施形態を考慮する。

【0149】

(別表)

以下の参考文献それぞれの主題は、全体として参照により本明細書に組み込まれる。

(プローブを不動化したアレイの調製)

G. Steinberg, K. Stromborg, et al. Strategies for Covalent Attachment of DNA to Beads. Biopolymers. Vol. 73, 597-605. Published online 17 February, 2004 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/bip.20006.

Kumar, O. Larsson, D. Parodi, & Z. Liang. 2000. Silanized nucleic acids: a general platform for DNA immobilization. Nucleic Acids Research, 2000, Vol. 28. No. 14.

F. Vianello, L. Zennaro, et al. Preparation, Morphological Characterization, and Activity of Thin Films of Horseradish Peroxidase. Biotechnology and Bioengineering, Vol. 68, No. 5, June 5, 2000.

U. Maskos, & E. M. Southern. 1992. Oligonucle

otide hybridizations on glass supports: a novel linker for oligonucleotide synthesis and hybridization properties of oligonucleotides synthesized in situ. *Nucleic Acids Research*, Vol. 20, No. 7 1679-1684.

M. Bele, O. Silman, & E. Matijevic. 2002. Preparation and Flow Cytometry of Uniform Silica-Fluorescent dye microspheres. *Journal of Colloid and Interface Science*. 254, 274-282.

N. Zammattéo, L. Jeanmart, et al. Comparison between Different Strategies of Covalent Attachment of DNA to Glass Surfaces to Build DNA Microarrays, *Analytical Biochemistry*. 280, 143-150 (2000)

N. P. Mellott, S. L. Brantley, et al. Evaluation of surface preparation methods for glass. *Surface and Interface Analysis*. 2001; 31:362-368

F. Dlehl, S. Grahlmann, et al. Manufacturing DAN microarrays of high spot homogeneity and reduced background signal. *Nucleic Acids Research*, 2001, Vol. 29, No. 7 e38.

(粒子アレイ)

Nicewarner-Pena, S. R., R. G. Freeman, B. D. Reiss, L. He, D. J. Pena, I. D. Walton, R. Cromer, C. D. Keating, and M. J. Natan, "Submicrometer Metallic Barcodes," *Science*, 294 (5540), 137-141 (2001).

Natan, M. J., J. Lissack, "Barcoding Tackles the Nanometer," *Tags and Labels* ??

Walton, I. D., S. M. Norton, A. Balasingham, L. He, D. F. Ovisio, D. Gupta, P. A. Raju, M. J. Natan, and R. G. Freeman, "Particles for multiplexed analysis in solution: detection and identification of striped metallic particles using optical microscopy," *Anal. Chem.*, 74, 2240-2247 (2002).

True, R. J., M. K. Taylor, G. S. Chakarova, I. D. Walton, "Microfabricated templates for the electrodeposition of metallic barcodes for use in multiplexed bioassays," *IEEE - EMB Proceedings*, 26 (IV), 2619-2622 (2004).

Xu, H. X., M. Y. Sha, E. Y. Wong, J. Uphoff, Y. H. Xu, J. A. Treadway, A. Truong, E. O'Brien, S. Asquith, M. Stubbins, et al., "Multiplexed SNP genotyping using the Qbead (TM) system: a quantum dot-encoded microsphere-based assay," *Nucleic Acids Res.*, 31 (8), E43 (2003).

Han, M. , X. Gao, J. Z. Su, S. Nie, " Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules, " Nat. Biotechnol. , 19 (7) , 631-635 (2001) .

(タンパク質アレイ)

Haab, B. B. , M. J. Dunham, & P. O. Brown. 2001. Protein microarrays for highly parallel detection and quantitation of specific proteins and antibodies in complex solutions. *Genome Biology*. 2 (2) :0004. 1-0004. 13.

MacBeath, G. , & S. L. Schreiber. 2000. Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination. *Science*. 289 ;1760-1763.

Zhu, H. , J. F. Klemic, et al. 2000. Analysis of yeast protein kinases using protein chips. *Nature Genetics*. 26 :283-289.

Zhu, H. , & M. Snyder. 2001. Protein arrays and microarrays. *Current Opinion in Chemical Biology*. 5 :40-45.

B. B. Haab, M. J. Dunham & P. O. Brown. Protein microarrays for highly parallel detection and quantitation of specific proteins and antibodies in complex solutions. *Genome Biology* 2001, 2 (2) research 0004. 1-0004. 13

(グリカン・アレイ)

Blixt, O;Head, S;Mondala, T;Scanlan, C;Huflejt, ME;Alvarez, R;Bryan, MC;Fazio, F;Calarese, D;Stevens, J;Razi, N;Stevens, DJ;Skehel, JJ;van Die, I;Burton, DR;Wilson, IA;Cummings, R;Bovin, N;Wong, CH;Paulson, JC. 2004 Printed covalent glycan array for ligand profiling of diverse glycan binding proteins. *PROC NAT ACAD SCI USA* 101:49 17033-17038

A focused microarray approach to functional glycomics: transcriptional regulation of the glycome. Comelli, E. M. et al. *Glycobiology* 16 (2) , 117-31, 2006

Glycomics investigation into insulin action. Parry, S. et al. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects* 1760 (4) , 652-68 , 2006

(がんチップ)

Alizadeh. A. A. , M. B. Eisen, et al. 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 403 :503-511.

Ein-Dor, L. , I. Kela, et al. 2005. Outcome si

signature genes in breast cancer: is there a unique set? *Bioinformatics*. 21 (2) : 171-178.

Ross, D. T., U. Scherf, et al. 2000. Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. *Nature Genetics*. 24 : 227-238.

Sorlie, T., R. Tibshirani, et al. 2003. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *PNAS USA*. 200 : 8418-8423.

(異数体チップ)

Behr, M. A., M. A. Wilson, et al. 1999. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science*. 284 : 1520-1523.

Forozan, F., E. H. Mahlamaki, et al. 2000. Comparative genomic Hybridization analysis of 38 breast cancer cell lines: A basis for interpreting complementary DNA microarray data. *Cancer Research*. 60 : 4519-4528.

Grimm, D. 2004. Disease back cancer origin theory. *Science* 306 : 389.

Hughes, T. R., C. J. Roberts, et al. 2000. Widespread aneuploidy revealed by DNA microarray expression profiling. *Nature Genetics*. 25 : 333-337

(レプチン・チップ)

Belkin, L. 2000, December 24. The making of an 8-year-old woman. How do we understand puberty? Through the prism of our times. *New York Times magazine*. 38-43.

Nohturfft, A., & R. Losick. 2002. Fats, flies and palmitate. *Science*. 296 : 857-858.

Soukas, A., P. Cohen, et al. 2000. Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes and Development*. 14 : 963-980.

(マイクロアレイの製造方法)

Brown, P. O., et al. 2001. The Mguide. <http://cmgm.stanford.edu/pbrown/mguide/>. Accessed 8 February 2002.

Kane, M. D., T. A. Jatkoe, et al. 2000. Assessment of the sensitivity and specificity of oligonucleotide (50mer) microarrays. *Nucleic Acids Research*. 28 (22) : 4552-4557.

Kumar, A., & A. Liang. 2001. Chemical nanoprinting: A novel method for fabricating DNA microchips. *Nucleic Acids Research* 29 (2) : e2.

Okamoto, T., T. Suzuki, & N. Yamamoto. 2000. Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using bubble jet technology. *Nature Biotechnology*. 18:438-441.

Harris, T. M., A. Massimi, & G. Childs. 2000. Injecting new ideas into microarray printing. *Nature Biotechnology*. 18:384-385.

(一般参照)

Cummings, C. A., & D. Relman. 2000. Using DNA microarrays to study host-microbe interactions. *Genomics*. 6 (5):513-525.

Schaffer, J. L., M. Perez-Amador, & E. Wisman. 2000. Monitoring genome-wide expression in plants. *Current Opinion in Biotechnology*. 11:162-167

Lockhart, D. J., & C. Barlow. 2001. Expressing what's on your mind: DNA arrays and the brain. *Nature Reviews*. 2:63-68.

Shoemaker, D. D., E. E. Schadt, et al. 2001. Experimental annotation of the human genome using microarray technology. *Nature*. 409:922-927.

Dalton, R. 2000. DIY (Do it yourself) microarrays promise DNA chips with everything. *Nature*. 403:236

DeRisi, J. L. V. R. Iyer, & P. O. Brown 1997. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*. 278:680-686.

Gasch, A. P., P. T. Spellman, et al. 2000. Genomic expression programs in the response of yeast cells to environmental changes. *Molecular Biology of the Cell*. 11:4241-4257

Geschwind, D. H. 2000. Mice, microarrays, and the genetic diversity of the brain. *PNAS*. 97:10676-10678.

R. Drmanac, S. Drmanac, G. Chui, et al. Sequencing by Hybridization (SBH): Advantages, Achievements, and Opportunities. *Advanced in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 77, 75-100.

(メンブラン・チップ)

Fang Y, Frutos AG, Webb B, Hong Y, Ferrie A, Lai F, Lahiri J. Membrane biochips. *Biotechniques*. 2002 Dec; Suppl:62-5. PMID:12514931 Fang Y, Frutos AG, Lahiri J. G-protein-coupled receptor microarrays. *Chembiochem*. 2002 Oct 4; 3 (10):987-91. PMID:12362364

Fang Y, Frutos AG, Lahiri J. Membrane prot

ein microarrays. J Am Chem Soc. 2002 Mar 20;124(11):2394-5. PMID:11890761

Fang Y, Webb B, Hong Y, Ferrie A, Lai F, Frutos AG, Lahiri J. Fabrication and application of G protein-coupled receptor microarrays. Methods Mol Biol. 2004;264:233-43. PMID:15020794

Fang Y, Lahiri J, Picard L. G protein-coupled receptor microarrays for drug discovery. Drug Discov Today. 2003 Aug 15;8(16):755-61. Review. PMID:12944098

Mishina YM, Wilson CJ, Bruett L, Smith JJ, Stoop-Myer C, Jong S, Amaral LP, Pedersen R, Lyman SK, Myer VE, Kreider BL, Thompson CM. Multiplex GPCR assay in reverse transfection cell microarrays. J Biomol Screen. 2004 Apr;9(3):196-207. PMID:15140381

Mack J. Fulwyler and Thomas M. McHugh, "Flow Microsphere Immunoassay for the Quantitative and Simultaneous Detection of Multiple Soluble Analytes," Methods In Cell Biology, vol. 33, pp. 613-619.

Fulwyler et al, "Immunoreactive Bead (IRB) Assay for the Quantitative and Simultaneous Flow Cytometric Detection of Multiple Analytes", Cytometry, Supplement 2, p. 19, Sep. 2, 1988.

Fulwyler et al., "Flow Microspheres Immunoassay for the Quantitative and Simultaneous Detection of Multiple Soluble Analytes," Methods in Cell Biology, 33, 613-629 (1990).

Vener et al., "A Novel Approach to Nonradioactive Hybridization Assay of Nucleic Acids Using Stained Latex Particles," Analytical Biochemistry, 198, 308-311 (1991).

Wilson et al., "A New Microsphere-Based Immunofluorescence Assay Using Flow Cytometry," Journal of Immunological Methods, 107, 225-230 (1988).

Bayerl, T. M. & Bloom, M. Physical properties of single phospholipid bilayers adsorbed to micro glass beads. Biophys. J. 58, 357-362 (1990).

Buranda, T. et al. Biomimetic molecular assemblies on glass and mesoporous silica microbeads for biotechnology. Langmuir 19, 1654-1663 (2003).

(病原体検出)

Seung Min Yoo, Ki Chang Keum, et al. 2004.

Development of DNA Microarray for Pathogen Detection. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 9:93-99

Call DR, Borucki MK, Loge FJ. Detection of bacterial pathogens in environmental samples using DNA microarrays. *J Microbiol Methods*. 2003 May; 53 (2) : 235-43. Review. PMID: 12654494

Somer L, Kashi Y. A PCR method based on 16S rRNA sequence for simultaneous detection of the genus *Listeria* and the species *Listeria monocytogenes* in food products. *J Food Prot*. 2003 Sep; 66 (9) : 1658-65. PMID: 14503721

Warsen AE, Krug MJ, LaFrentz S, Stanek DR, Loge FJ, Call DR. Simultaneous discrimination between 15 fish pathogens by using 16S ribosomal DNA PCR and DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol*. 2004 Jul; 70 (7) : 4216-21. PMID: 15240304

Maynard C, Berthiaume F, Lemarchand K, Har el J, Payment P, Bayardelle P, Masson L, Bro usseau R. Waterborne pathogen detection by use of oligonucleotide-based microarrays. *Appl Environ Microbiol*. 2005 Dec; 71 (12) : 8548-57. PMID: 16332846

Gonzalez SF, Krug MJ, Nielsen ME, Santos Y, Call DR. Simultaneous detection of marine fish pathogens by using multiplex PCR and a DNA microarray. *J Clin Microbiol*. 2004. Apr; 42 (4) : 1414-9. PMID: 15070982

M. T. McBride, S. M. Messenger, T. R. Slezak, & P. M. Imbro. Tailored assays for the detection of foreign disease pathogens in animals. *IVD Technology*, May 2005

(小RNA)

Remodelling of the *Escherichia coli* outer membrane by two small regulatory RNAs. Guillier, M. et al. *Molecular Microbiology* 59 (1), 231-47, 2006

Genes for small, noncoding RNAs under sporulation control in *Bacillus subtilis*. Silvaggi, J. M. et al. *Journal of Bacteriology* 188 (2), 532-41, 2006

Comparative RNA expression analyses from small-scale, single-donor platelet samples. Hillmann, A. G. et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4 (2), 349-56, 2006

Optimization and validation of small quantity RNA profiling for identifying TNF

responses in cultured human vascular endothelial cells. Shou, H. Y. et al. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 53 (2), 152-9, 2006

An antibody-based microarray assay for small RNA detection. Hu, Z. L. et al. Nucleic Acids Research 34 (7), NPG, 2006

Notch3 gene amplification in ovarian cancer. Park, J. T. et al. Cancer Research 66 (12), 6312-8, 2006

Dissecting the biological functions of Drosophila histone deacetylases by RNA interference and transcriptional profiling. Foglietti, C. et al. Journal of Biological Chemistry 281 (26), 17968-76, 2006

c-Myb is an essential downstream target for homeobox-mediated transformation of hematopoietic cells. Hess, J. L. et al. Blood 108 (1), 297-304, 2006

Localization of candidate regions for a novel gene for Kartagener syndrome. Gutierrez-Roelens, I. et al. European Journal of Human Genetics 14 (7), 809-15, 2006

MicroRNA-targeted and small interfering RNA-mediated mRNA degradation is regulated by Argonaute, Dicer, and RNA-dependent RNA polymerase in Arabidopsis. Ronemus, M. et al. Plant Cell 18 (7), 1559-74, 2006

(メチル化)

High-Throughput DNA Methylation Profiling Using Universal Bead Arrays, M. Bibikova, Z. Lin, L. Zhou, E. Chudin, E. Wickham Garcia, B. Wu, D. Doucet, N. J. Thomas, Y. Wang, E. Vollmer, T. Goldmann, C. Seifart, W. Jiang, D. L. Barker, M. S. Chee, J. A. Floros and J. B. Fan, Genome Research, 16 (3), 383 - 393, March 2006.

Human Embryonic Stem Cells Have a Unique Epigenetic Signature, M. Bibikova, E. Chudin, B. Wu, L. Zhou, E. Wickham Garcia, Y. Liu, S. Shin, T. W. Plaia, J. M. Auerbach, D. E. Arking, R. Gonzalez, J. Crook, B. Davidson, T. C. Schulz, A. Robins, A. Khanna, P. Sartipy, J. Hyllner, P. Vanguri, S. Savant-Bhonsale, A. K. Smith, A. Chakravarti, A. Maitra, M. Rao, D. L. Barker, J. F. Loring and J. B. Fan, Genome Research, Published online August 9, 2006, 10.1101/gr.5319906.

(標識付け)

Summary of the Sensing and Positioning Technology, Workshop of the Committee on

nanotechnology for Intelligence Community: Interim Report (2004), National Materials Advisory Board, Topic 1: Security Technologies Overview

Desouza, K. C. Vanapalli, G. K. Securing Knowledge Assets and Processes: Lessons from the Defense and Intelligence Sectors System Sciences, 2005. HICSS '05. Proceedings of the 38th Annual Hawaii International Conference on Publication Date: 03-06 Jan. 2005

(書籍)

D. Bowtell and J. Sambrook. 2003, DNA Microarrays, A Molecular Cloning Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press (特に第1～4節) G. T. Hermanson, Bioconjugate Techniques, 1996, Academic Press (パート1、2、、3は全て直接利用可能)

Hacia J, Brody L, Chee M, et al. "Detection of heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucleotide arrays and two-color fluorescence Analysis" Nat Genet, 1996, 14, 441.

Hacia J, Edgemon K, Sun B et al. "Two color hybridization analysis using high density oligonucleotide arrays and energy transfer dyes" Nucleic Acids Res, 1998, 26, 4249.

Hacia J. "Resequencing and mutation analysis using oligonucleotides microarrays" Nature Genetics (Supplement), 1999, 21, 42.

Wodicka L et al. "Genome-wide expression monitoring in Saccharomyces cerevisiae" Nature Biotechnology, 1997, 15, 1359.

Lockhart D et al. "Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays" Nature Biotechnology, 1997, 14, 1675.

DeRisi J. et al. "Use of a cDNA microarray to analysis gene expression patterns in human cancer" Nat Genet, 1996, 14, 457.

Brown P O, Botstein D. "Exploring the new world of genome with DNA microarrays" Nature Genetics (Supplement), 1999, 21, 33.

Jelinsky S and Samson L. "Global response of Saccharomyces cerevisiae to a alkylating agent" proc. Natl Acad Sci USA, 1999, 96, 486.

Golub T. et al., 1999, "Molecular Classification of cancer: Class Discovery and Prediction by Gene Expression Monitoring" Sc

ience, 1999, 286, 531.

Heller RA, Schena M, Chai A, et al. "Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays". Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94, 2150.

Wang D, Fan J, Siao C et al. "Large-scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphism in human genome" Science, 1998, 280, 1077.

Lipshutz RJ, Morris D, Chee M, et al. "Using oligonucleotide probe arrays to access genetic diversity" Bio Feature, 1995, 19(3), 442.

Wallraff G., Labadie J., Brock P. et al. "DNA

Sequencing on a Chip" Chemtech, 1997, 22, 32.

【手続補正2】

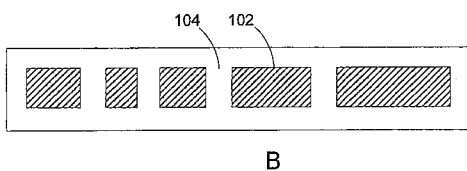
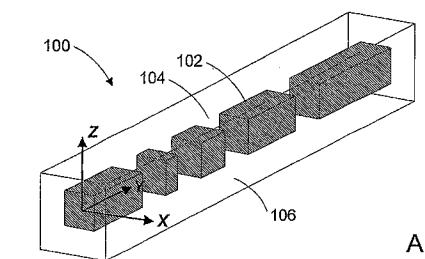
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

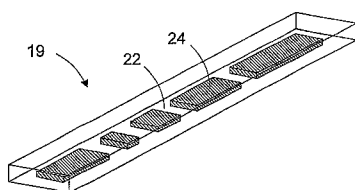
【補正方法】変更

【補正の内容】

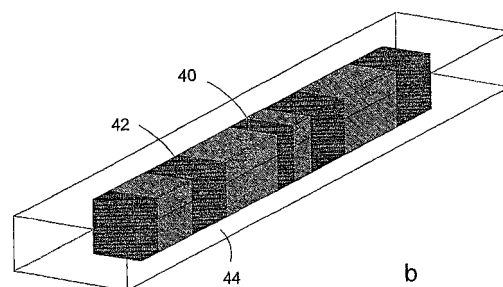
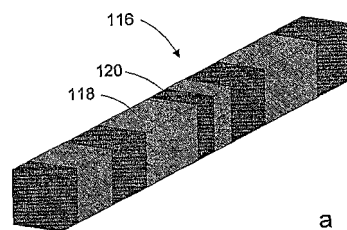
【図1】



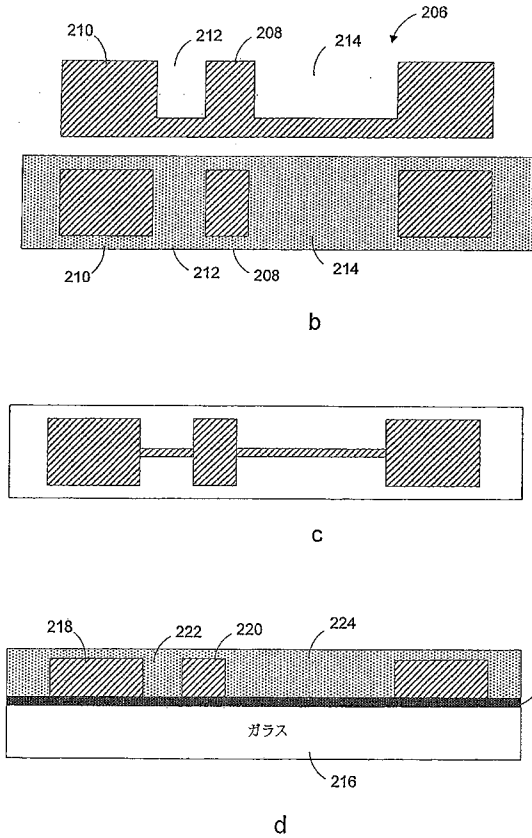
【図2】



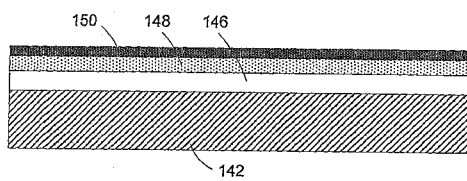
【図3】



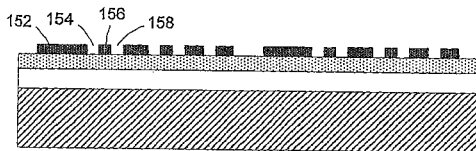
【図 4】



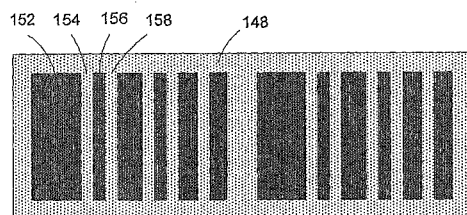
【図 6 a】



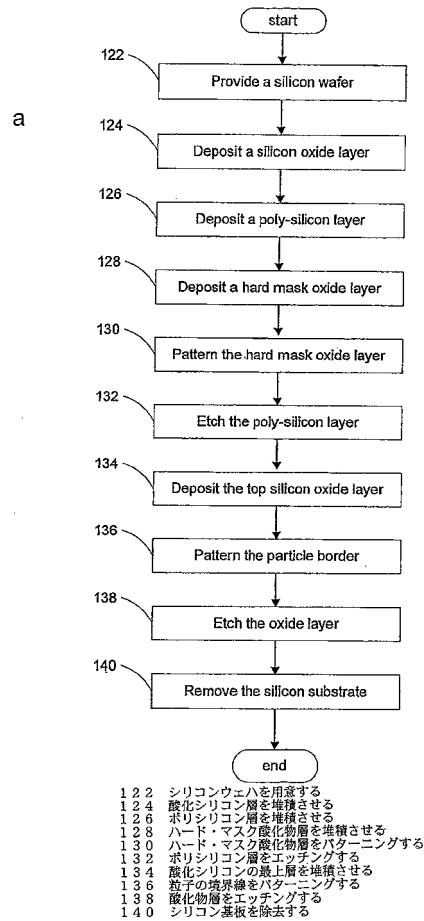
【図 6 b】



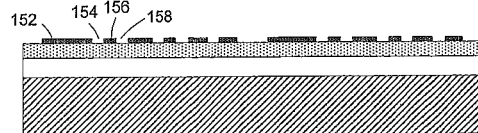
【図 6 c】



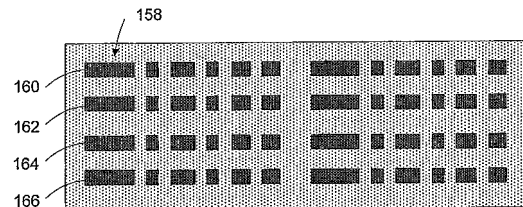
【図 5】



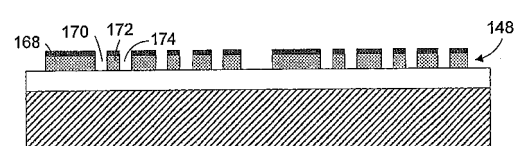
【図 6 d】



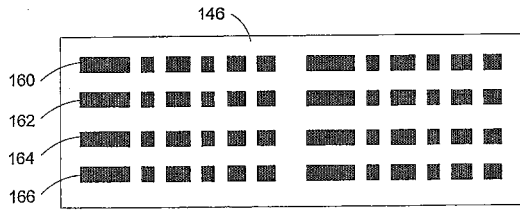
【図 6 e】



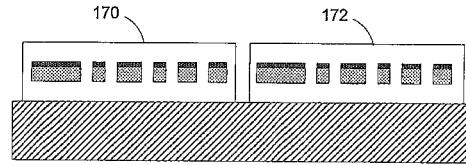
【図 6 f】



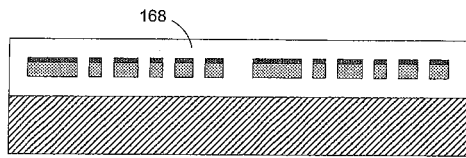
【図 6 g】



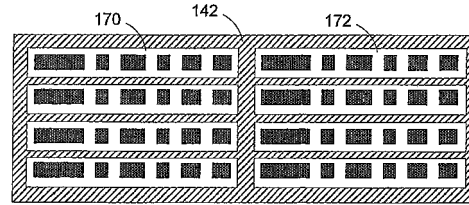
【図 6 j】



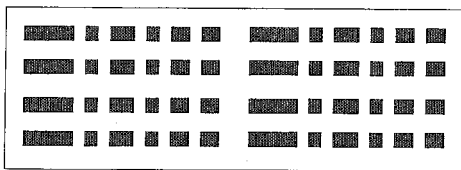
【図 6 h】



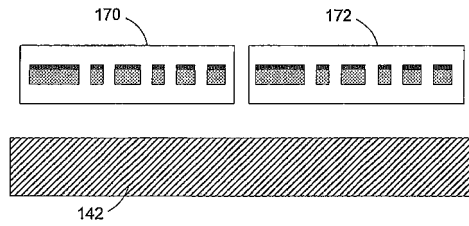
【図 6 k】



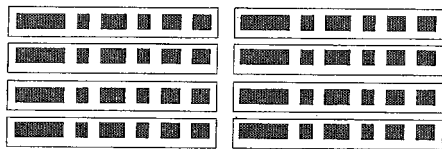
【図 6 i】



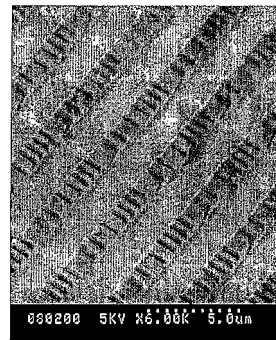
【図 6 l】



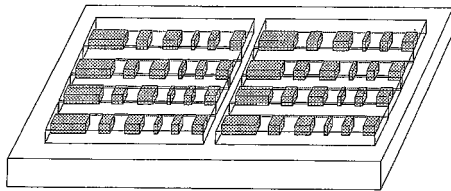
【図 6 m】



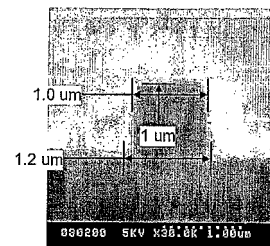
【図 8 b】



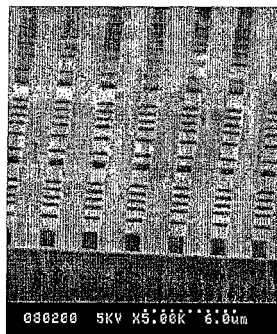
【図 7】



【図 8 c】



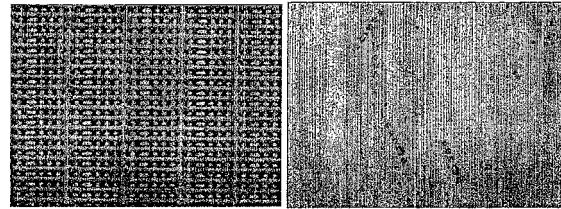
【図 8 a】



【図 9 a】



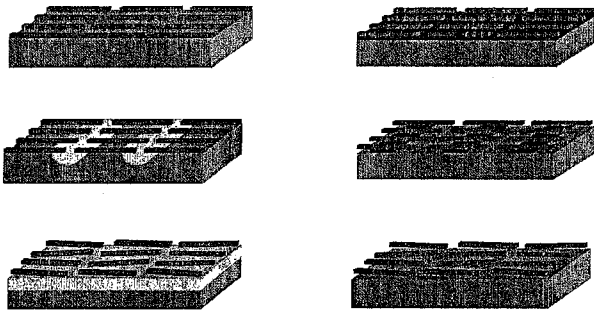
【図 1 1】



a

b

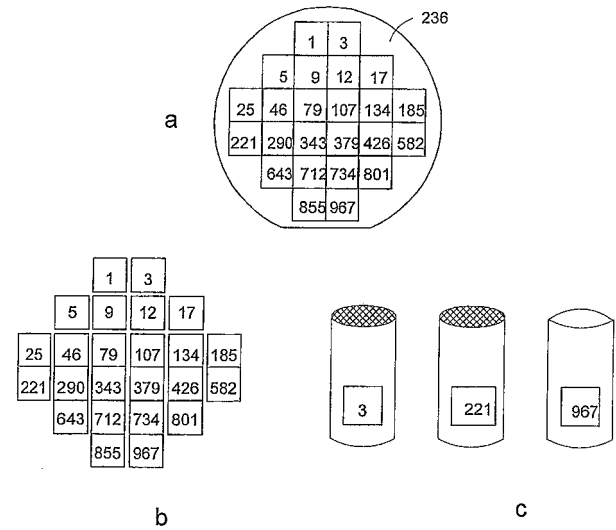
【図 1 0】



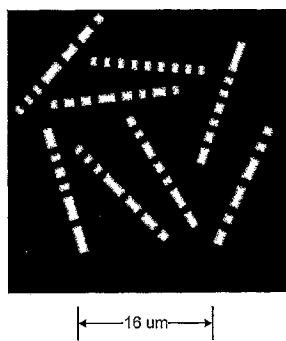
a

b

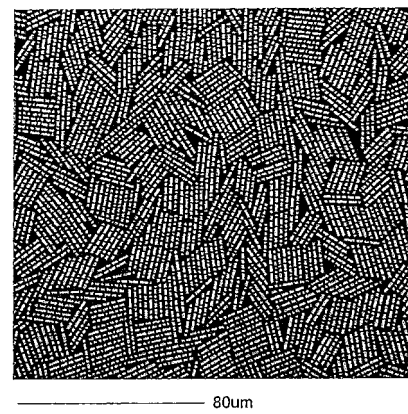
【図 1 2】



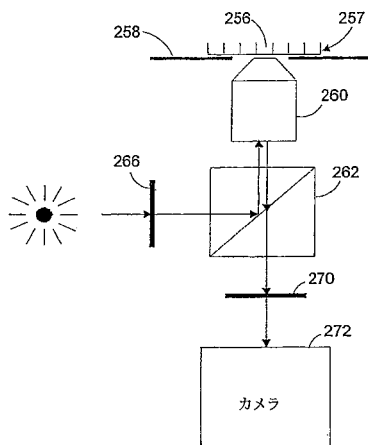
【図 1 3】



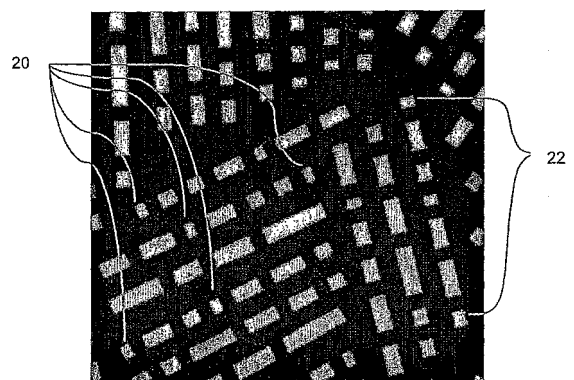
【図 1 5】



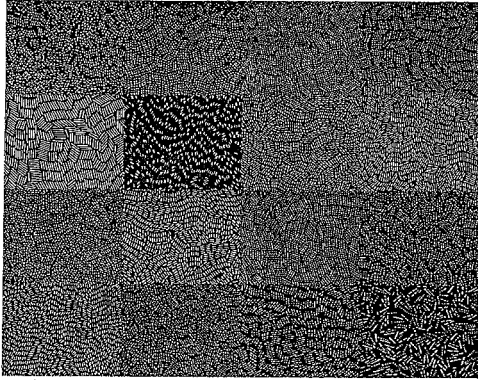
【図 1 4】



【図 1 6】

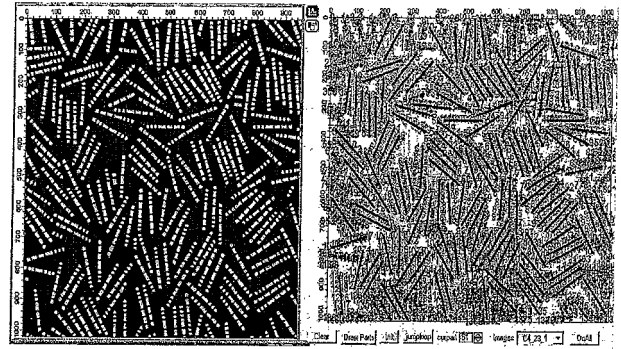


【図 17】



a

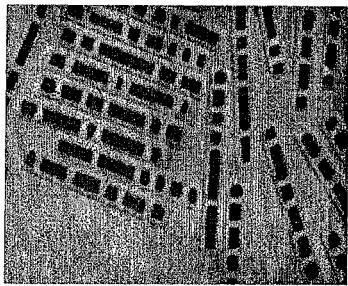
【図 18】



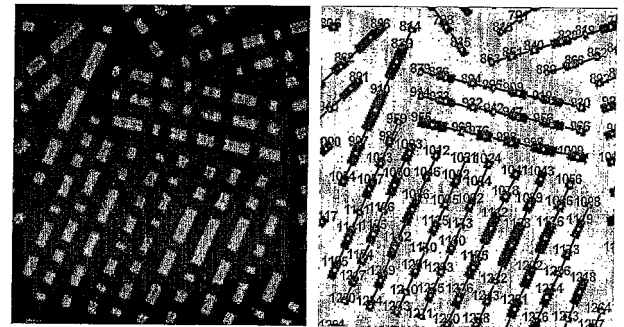
a

b

【図 19】



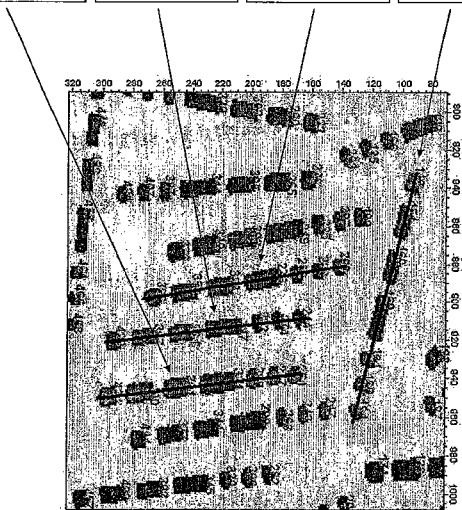
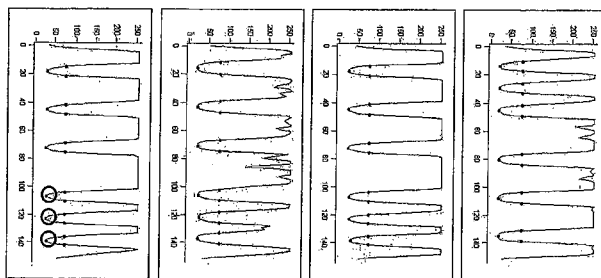
b



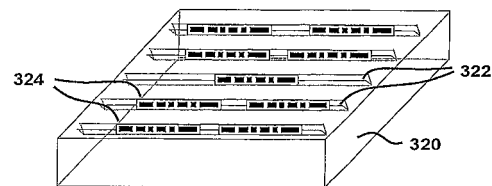
a

b

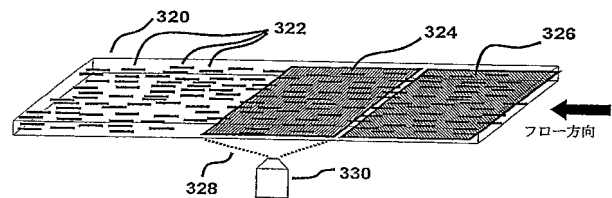
【図 20】



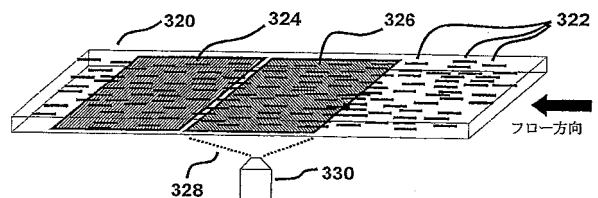
【図 21】



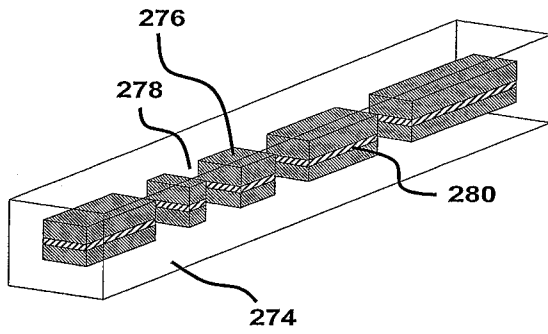
【図 22】



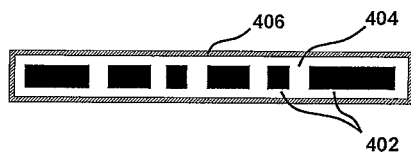
【図 23】



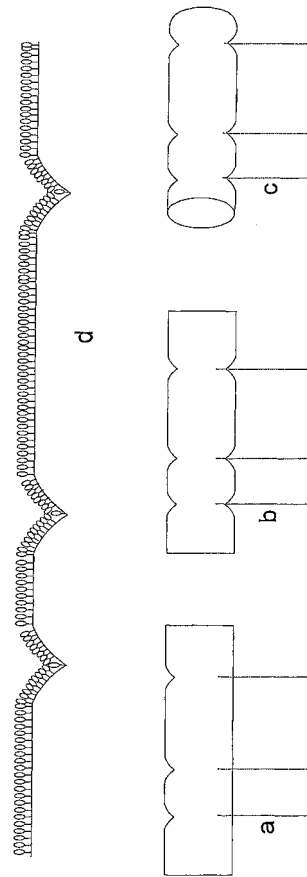
【図 2 4】



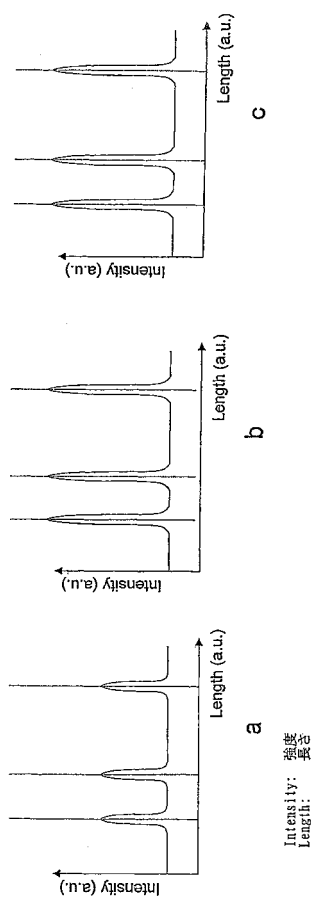
【図 2 5】



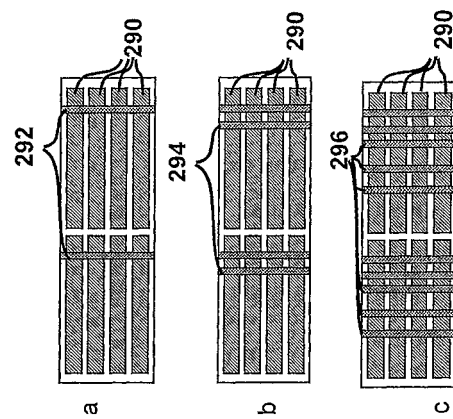
【図 2 6】



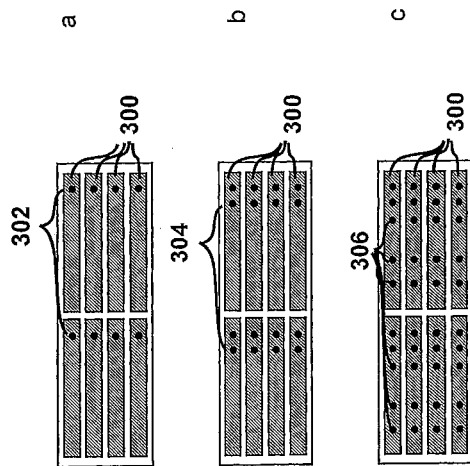
【図 2 7】



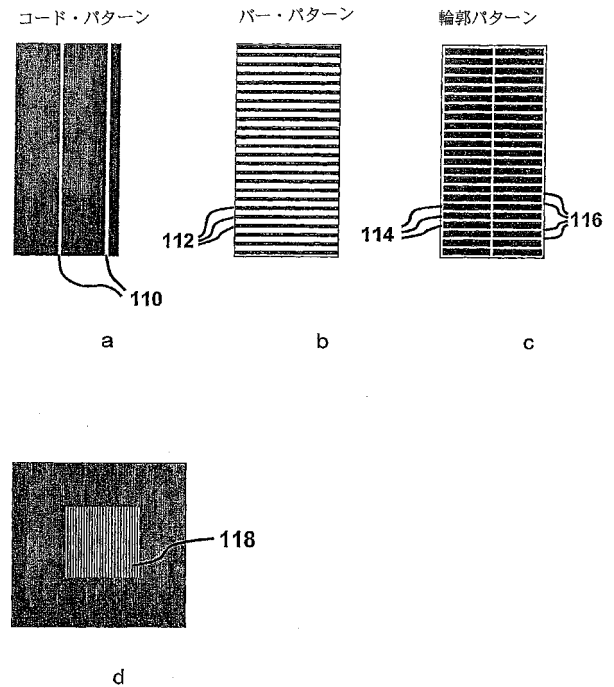
【図 2 8】



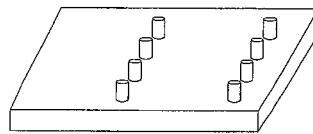
【図 29】



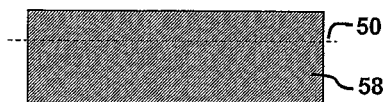
【図 30】



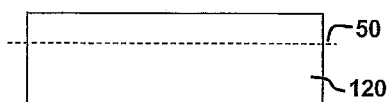
【図 31】



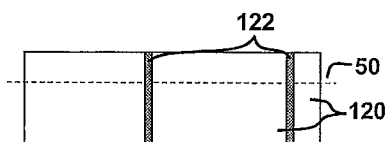
【図 32 a】



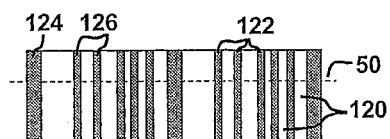
【図 32 b】



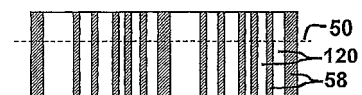
【図 32 c】



【図 32 d】



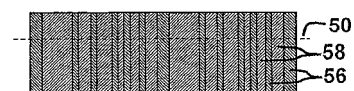
【図 32 e】



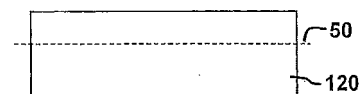
【図 32 f】



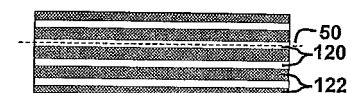
【図 32 g】



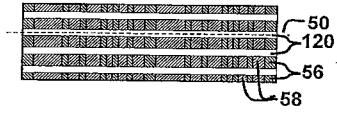
【図 32 h】



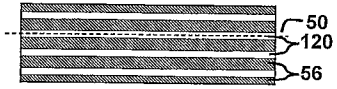
【図 32 i】



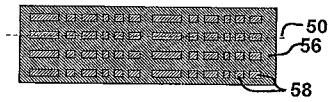
【図 3 2 j】



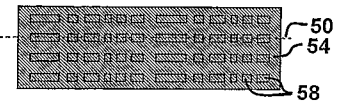
【図 3 2 k】



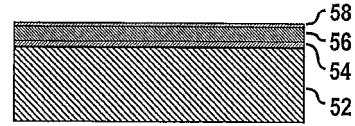
【図 3 2 l】



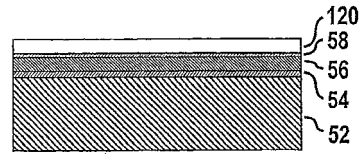
【図 3 2 m】



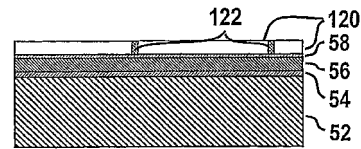
【図 3 3 a】



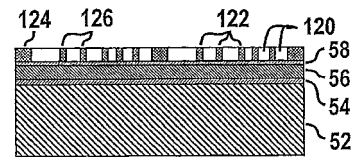
【図 3 3 b】



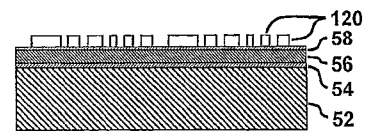
【図 3 3 c】



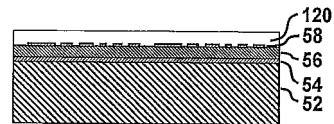
【図 3 3 d】



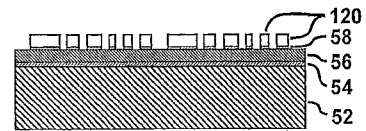
【図 3 3 e】



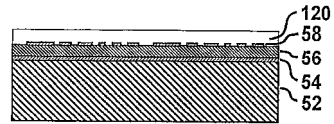
【図 3 3 i】



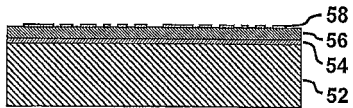
【図 3 3 f】



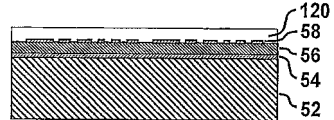
【図 3 3 j】



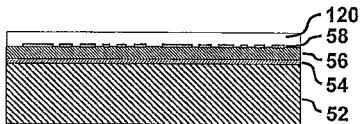
【図 3 3 g】



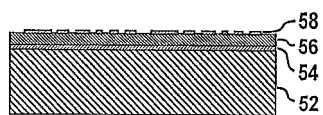
【図 3 3 k】



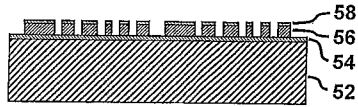
【図 3 3 h】



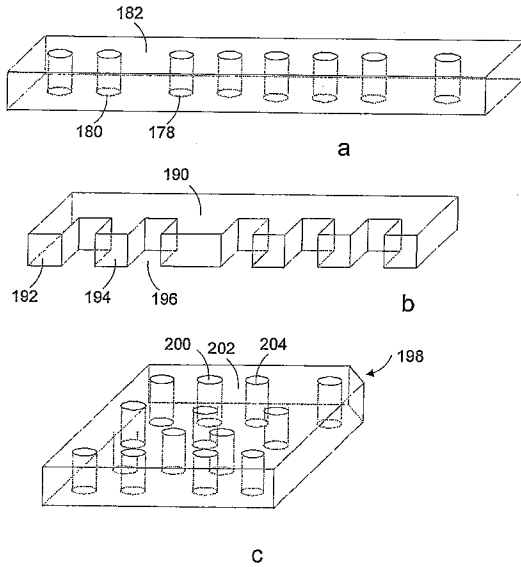
【図 3 3 l】



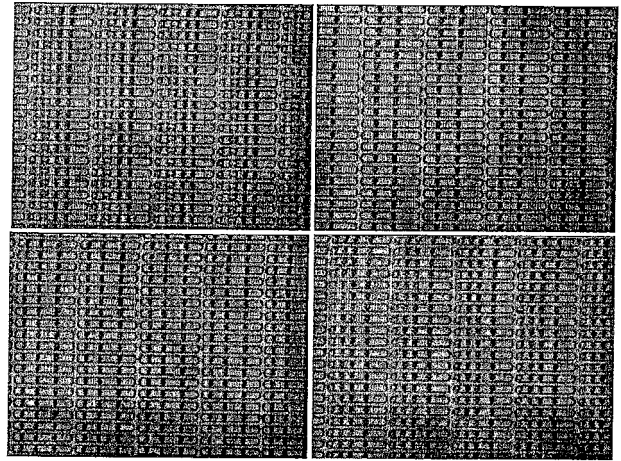
【図 3 3 m】



【図 3 4】



【図 3 5】



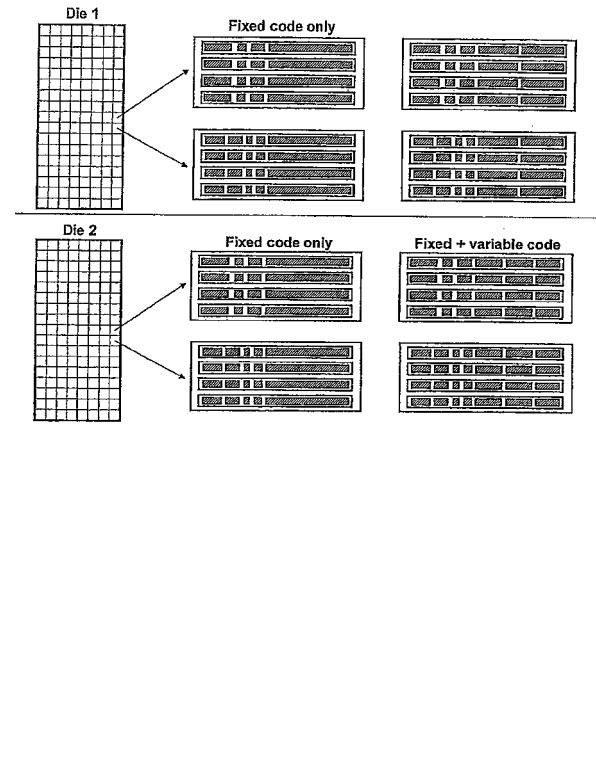
【図 3 6】

Sequence Pass: シーケンス・パス
Offset Pass: オフセット・パス

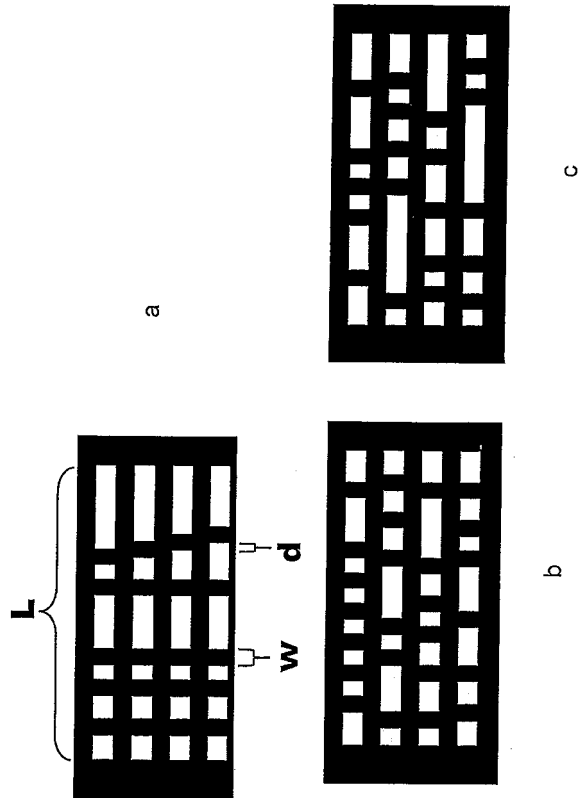
RTLATD_v1	
Sequence Pass 1	Offset Pass 1
- 0 1 1 1 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X -
1 1 1 0 1 1 1 1 1	- A C G A A A A A A -
1 1 1 1 1 1 1 1 1	- C A X X A G A A A -
1 0 0 1 1 1 1 1 1	- A C G X A A A A A -
- 1 1 1 1 1 1 1 1 -	- - - - - - - - -
Sequence Pass 2	Offset Pass 2
- 0 0 1 1 1 0 0 1 1 -	- X X X X X X X X -
1 0 1 1 1 0 0 1 1	- C X X C A X X X A -
0 0 1 1 0 0 0 1 1	- G X X C A X X X A -
1 1 1 1 1 0 1 1 1	- C X X C A X X X A -
- 0 1 1 1 0 1 1 1 -	- - X X X X X X X X -
Sequence Pass 3	Offset Pass 3
- 1 1 0 1 1 0 0 1 -	- G A X X X X X X X -
0 0 1 1 0 0 1 0 1	- C X X C A X X X A -
1 1 0 1 1 0 1 0 1	- C X X C A X X X A -
0 0 1 1 0 0 1 1 0	- - A A A X X X X X -
- 1 1 1 1 1 1 1 1 -	- - - - - - - - -
Sequence Pass 4	Offset Pass 4
- 0 0 1 1 1 0 0 1 1 -	- X X X X X X X X -
1 0 1 1 1 1 0 1 1	- A X X C A X X X A -
0 0 1 1 1 1 0 1 1	- C X X C A X X X A -
1 1 1 1 1 0 1 0 1	- A C G X A A A A A -
- 1 1 1 1 1 1 1 1 -	- - A C A C X X X X -
Sequence Pass 5	Offset Pass 5
- 0 0 1 1 1 0 0 1 1 -	- X X X X X X X X -
0 0 0 1 1 1 0 0 1	- X X X C A X X X A -
0 0 1 1 1 0 0 0 1	- X X X C A X X X A -
0 1 1 1 1 1 1 1 1	- X X X C A X X X A -
- 0 1 1 1 1 1 1 1 -	- - X X X X X X X X -
Sequence Pass 6	Offset Pass 6
- 0 1 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X -
0 1 1 1 1 0 1 1 1	- X X X C A X X X A -
1 0 1 1 1 0 1 1 1	- X X X C A X X X A -
- 1 0 1 1 1 1 1 1 -	- - X X X X X X X X -
Sequence Pass 7	Offset Pass 7
- 1 0 0 1 1 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X -
1 0 0 1 1 0 1 1 1	- A X X X X X X X X -
1 0 0 1 1 1 1 1 1	- A X X X X X X X X -
- 0 0 1 1 1 1 1 1 -	- - X X X X X X X X -
Sequence Pass 8	Offset Pass 8
- 0 1 1 1 0 0 1 1 1 -	- X X X X X X X X -
0 1 1 1 1 0 1 1 1	- X X X C A X X X A -
1 0 1 1 1 0 1 1 1	- X X X C A X X X A -
- 0 1 1 1 1 1 1 1 -	- - X X X X X X X X -
Sequence Pass 9	Offset Pass 9
- 0 0 0 1 1 0 0 1 1 -	- X X X X X X X X -
0 0 0 1 1 0 0 1 1	- X X X X X X X X X -
0 0 0 1 1 0 0 1 1	- X X X X X X X X X -
- 0 0 1 1 1 0 0 1 -	- - X X X X X X X X -

【図 3 7】

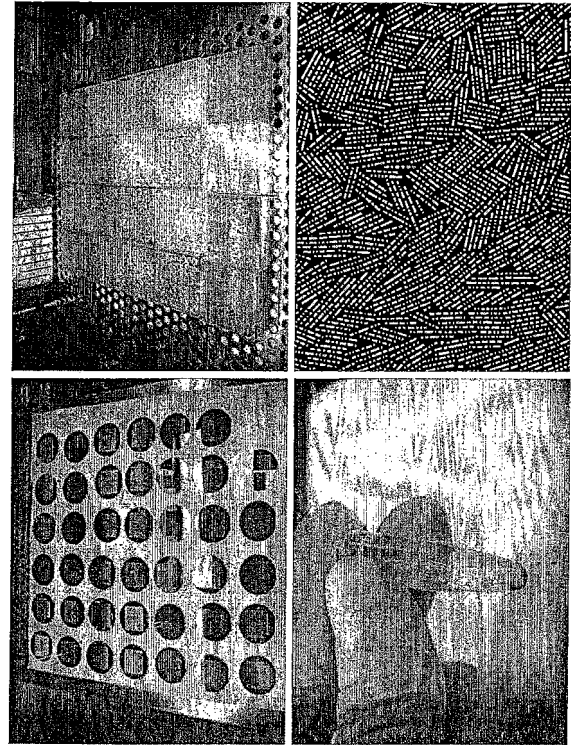
Die: ダイ
Fixed code only: 固定コードのみ
Fixed + variable code: 固定+可変コード



【図 38】

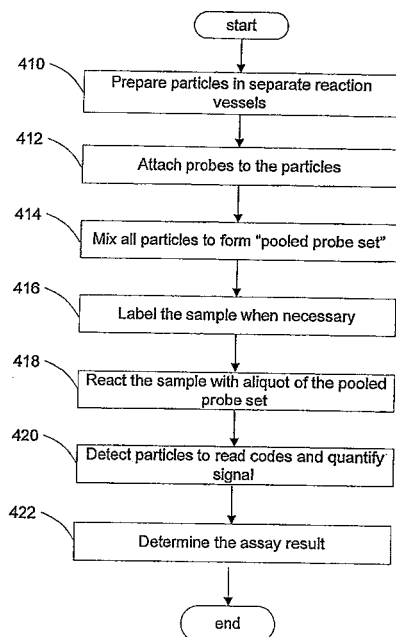


【図 39】

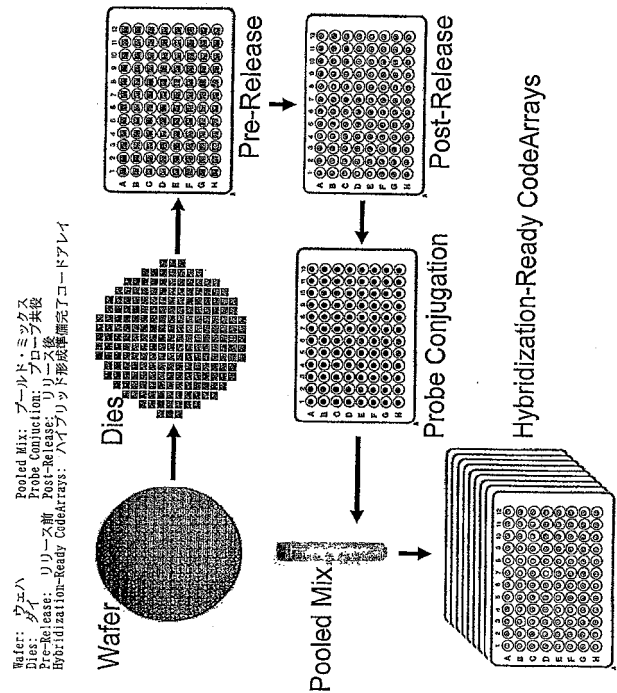


【図 40】

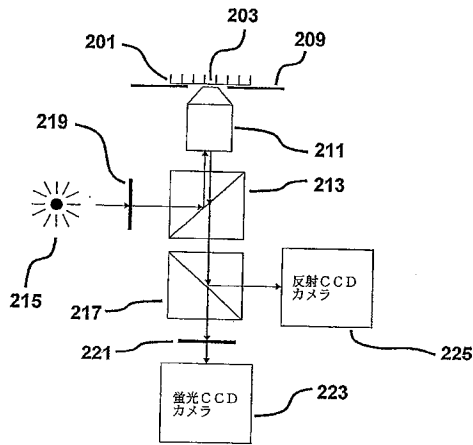
- 410 個別の反応容器内に粒子を準備する
 412 プローブを粒子に付着させる
 414 全ての粒子を混合して「プールド・プローブ・セット」を形成する
 416 必要であれば試料を標識付ける
 418 試料をプールド・プローブ・セットの部分標本と反応させる
 420 粒子を検出して、コードを読み取り信号を定量化する
 422 アッセイ結果を決定する



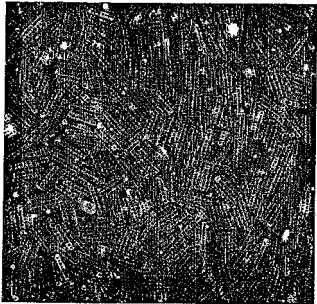
【図 41】



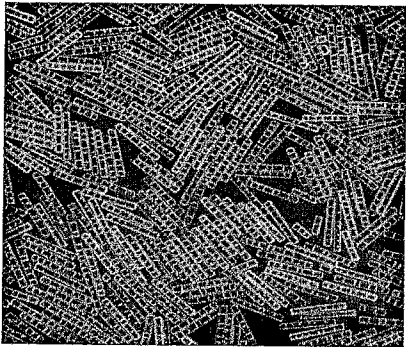
【図 4 2】



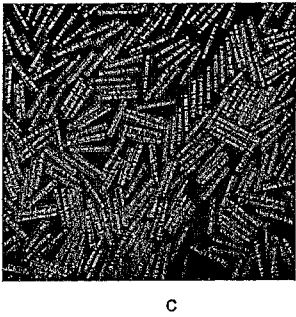
【図 4 4】



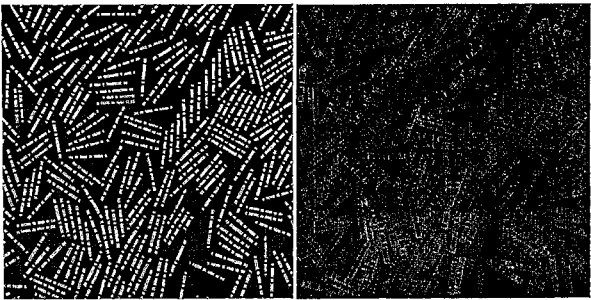
【図 4 3】



【図 4 5】



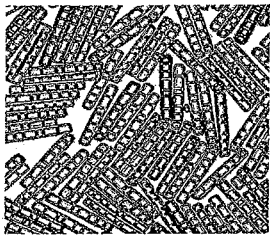
c



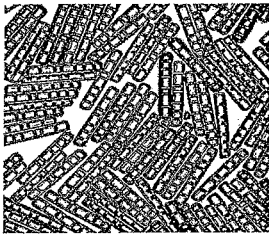
a

b

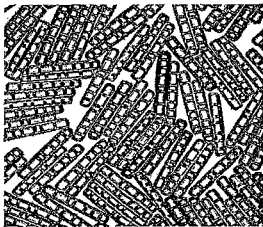
【図 4 6】



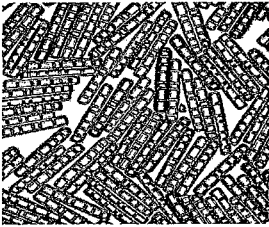
a



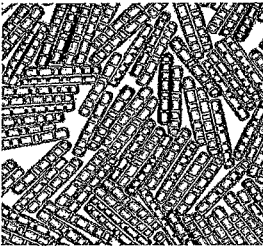
b



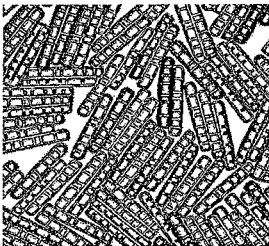
c



d

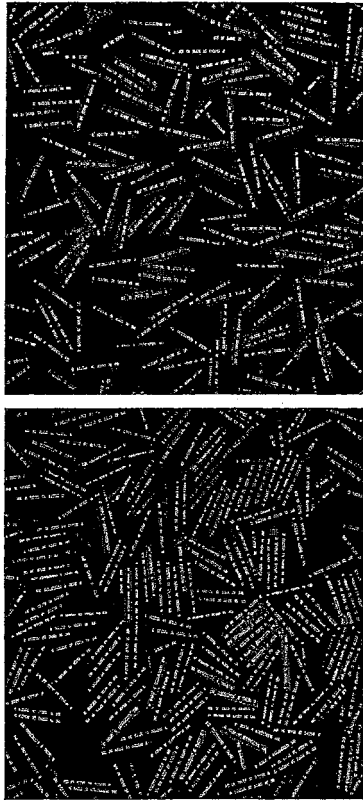


e



f

【図 47】



プロープ1 & プロープ2 + 標的 2

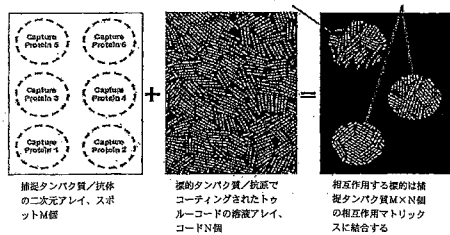
4 箇所の「切れ目」を持つコード - プロープ 15' / 5AmMCS/AAA TCA TCG GGA GCA TTG TG-3' 標的 1

5 箇所の「切れ目」を持つコード - プロープ 2 5' / 5AmMCS/AAC GCC TGG TCA CTG CTA TT-3' 標的 2

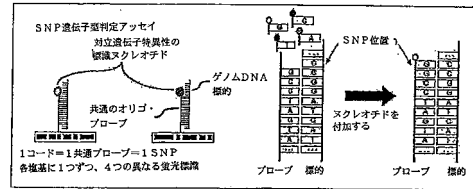
プロープ1 & プロープ2 + 標的 1

【図 50】

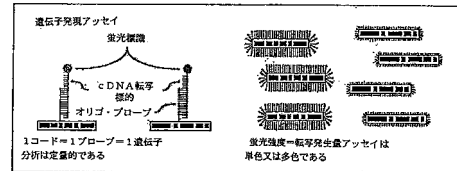
Capture Protein: 捕捉タンパク質



【図 48】

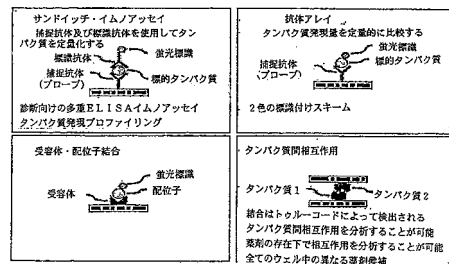


a

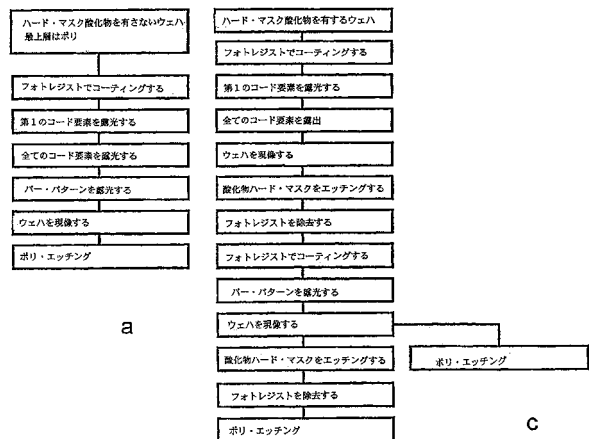


b

【図 49】



【図 51】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	G 0 1 N 33/543 5 4 1 A 5 B 0 3 5
C 1 2 M	1/00	(2006.01)	G 0 1 N 33/553 5 B 0 7 2
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	G 0 1 N 33/552
G 0 6 K	7/00	(2006.01)	G 0 1 N 33/543 5 9 7
G 0 6 K	19/06	(2006.01)	G 0 1 N 21/17 A
			G 0 1 N 21/64 E
			C 1 2 N 15/00 F
			C 1 2 M 1/00 A
			C 1 2 Q 1/68 A
			G 0 6 K 7/00 U
			G 0 6 K 19/00 E

F ターム (参考)	2G043	AA03	BA16	DA01	EA01	FA01	FA02	HA01	HA09	JA02	KA02
		LA03									
	2G059	AA05	BB12	CC16	EE02	EE07	EE17	FF01	FF03	HH02	JJ02
		JJ11	JJ22	KK04							
	4B024	AA11	CA01	CA11	HA12						
	4B029	AA07	BB20	CC03	FA12						
	4B063	QA01	QA18	QQ42	QQ52	QR55	QR66	QR82	QS36	QX02	
	5B035	BA03	BB08	BC00							
	5B072	CC21	DD01	DD22							