



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월06일

(11) 등록번호 10-2475314

(24) 등록일자 2022년12월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/6834 (2018.01) **C12N 15/10** (2017.01)
B82Y 30/00 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
C12Q 1/6834 (2018.05)
C12N 15/1093 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7038658(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2014년12월23일
 심사청구일자 2021년12월22일
- (85) 번역문제출일자 2021년11월25일
- (65) 공개번호 10-2021-0148407
- (43) 공개일자 2021년12월07일
- (62) 원출원 특허 10-2016-7018459
 원출원일자(국제) 2014년12월23일
 심사청구일자 2019년12월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/072256
- (87) 국제공개번호 WO 2015/100373
 국제공개일자 2015년07월02일
- (30) 우선권주장
 61/920,244 2013년12월23일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 US20030059929 A1
 WO2003049677 A2
 WO2013063382 A2

- (73) 특허권자
 일루미나, 인코포레이티드
 미국 캘리포니아 92122 샌디에고 일루미나 웨이 5200
- (72) 발명자
 보웬, 엠., 세인
 미국 92122 캘리포니아 샌디에고 일루미나 웨이 5200 일루미나, 인코포레이티드 (내)
 벤카테산, 바라, 무라리
 미국 92122 캘리포니아 샌디에고 일루미나 웨이 5200 일루미나, 인코포레이티드 (내)
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 15 항

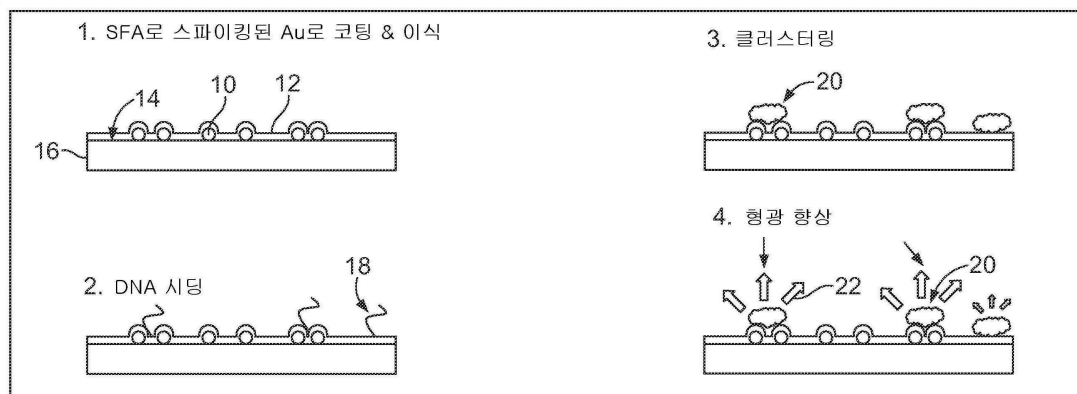
심사관 : 최수형

(54) 발명의 명칭 광 방출의 검출을 개선시키기 위한 구조화 기관 및 이와 관련한 방법

(57) 요약

(a) 고체 지지체 상에 분포된 복수의 나노입자, (b) 복수의 나노입자와 회합된 층 형성 겔 물질, 및 (c) 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 구조화된 기관이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

B82Y 30/00 (2013.01)

C12Q 2563/107 (2013.01)

C12Q 2565/628 (2013.01)

(72) 발명자

한, 휘

미국 92122 캘리포니아 샌디에고 일루미나 웨이

5200 일루미나, 인코포레이티드 (내)

박, 상, 렬

미국 92122 캘리포니아 샌디에고 일루미나 웨이

5200 일루미나, 인코포레이티드 (내)

명세서

청구범위

청구항 1

활성면을 갖는 기판 본체로서, 기판 본체가 활성면을 따라 개방된 반응 공동 및 반응 공동을 분리시키는 간극 영역을 포함하는, 기판 본체; 및

반응 공동 각각 내에 위치한 앙상블 증폭기(ensemble amplifier)로서, 앙상블 증폭기가 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 복수의 나노구조를 포함하며, 나노구조가 거리를 두고 분리되는 앙상블 증폭기를 포함하는, 구조화된 기판.

청구항 2

제 1항에 있어서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조가 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 갖고, 앙상블 증폭기가 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는 구조화된 기판.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 활성면이 간극 영역을 따라 걸쳐 있는 측면 표면을 포함하고, 측면 표면이 실질적으로 평면이고, 반응 공동이 측면 표면에 대해 개방된, 구조화된 기판.

청구항 4

제 1항에 있어서, 반응 공동 내에 배치되고 나노구조를 덮는 유기 물질을 추가로 포함하고, 유기 물질이 해당 반응 공동 내에 생체분자를 유지시키도록 형성된, 구조화된 기판.

청구항 5

제 4항에 있어서, 유기 물질이 하이드로겔을 포함하는 구조화된 기판.

청구항 6

제 4항에 있어서, 유기 물질이 단일 생체분자만 수용하도록 형성된 부피를 가져 입체 배제가 하나 초과인 생체분자가 포획되거나 반응 공동을 시딩하는 것을 방지하는 구조화된 기판.

청구항 7

제 1항에 있어서, 기판 본체가 베이스 층으로부터 돌출되는 나노구조를 갖는 베이스 층을 포함하고, 기판 본체가 베이스 층과 관련하여 적층된 공동 층을 추가로 포함하고, 공동 층이 반응 공동을 포함하도록 성형된 구조화된 기판.

청구항 8

제 7항에 있어서, 나노구조가 베이스 층으로부터 공동 층의 일부를 통해 해당 반응 공동에 걸쳐 있는 구조화된 기판.

청구항 9

제 1항에 있어서, 나노구조가 플라스몬 공명 물질로 형성되는 구조화된 기판.

청구항 10

제 1항에 있어서, 나노구조가 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti), 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드 중 적어도 하나를 포함하는 구조화된 기판.

청구항 11

제 1항에 있어서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조가 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 물질 조성, 형태, 및 상대 위치를 갖는 구조화된 기관.

청구항 12

베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계;

베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조를 형성시키는 단계로서, 나노구조가 거리를 두고 분리되는, 단계;

베이스 면 상에 적층되는 공동 층을 형성시키는 단계로서, 공동 층이 복수의 반응 공동을 포함하고, 여기서 각각의 반응 공동이 그 안에 복수의 나노구조를 포함하고, 복수의 나노구조가 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성하는, 단계를 포함하는,

구조화된 기관을 제조하는 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조가 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 갖고, 앙상블 증폭기가 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는 방법.

청구항 14

제 12항 또는 제 13항에 있어서, 앙상블 증폭기가 편광된 형태를 가져 앙상블 증폭기로부터의 반응이 전자기 에너지의 편광에 기초로 하도록 하는 방법.

청구항 15

제 12항에 있어서, 유기 물질이 나노구조를 덮도록 반응 공동 내에 유기 물질을 제공하고, 유기 물질이 해당 반응 공동 내에 생체분자를 고정시키도록 형성되는 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2013년 12월 23일에 출원되고, "ENHANCING DNA CLUSTER FLUORSCENCE USING LOCALIZED SURFACE PLASMON RESONANCE"을 제목으로 하는 미국 가출원 번호 61/920,244호의 이익을 주장하며, 이는 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

배경 기술

[0002] **배경**

[0003] 본 발명의 개시는 일반적으로 생물학적 또는 화학적 분석, 더욱 특히 반응 부위로부터의 광 방출을 검출하기 위한 시스템 및 방법에 관한 것이다.

[0004] 생물학적 또는 화학적 연구에서 다양한 프로토콜은 지지체 표면의 국소화된 영역 또는 반응 공동 내에서의 많은 수의 조절되는 반응을 수행하는 것을 수반한다. 이후, 지정된 반응은 관찰되거나 검출될 수 있고, 이후의 분석은 반응과 관련된 화학 물질의 특성을 확인하거나 나타내는 것을 도울 수 있다. 예를 들어, 일부 다중 분석에서, 확인 가능한 표지(예를 들어, 형광 표지)를 갖는 공지되지 않은 분석물이 조절되는 반응 하에서 수천개의 공지된 프로브에 노출될 수 있다. 각각의 공지된 프로브는 마이크로플레이트의 해당 웰에 증착될 수 있다. 웰 내에서 공지된 프로브와 공지되지 않은 분석물 사이에 발생하는 임의의 화학적 반응을 관찰하는 것은 분석물의 특성을 확인하거나 나타내는 것을 도울 수 있다.

[0005] 반응 부위의 어레이로부터의 광 방출을 검출하는 다른 프로토콜은 공지된 DNA 시퀀싱 프로토콜, 예를 들어, 합성을 통한 시퀀싱(SBS) 또는 사이클릭-어레이 시퀀싱을 포함한다. SBS에서, 기관의 표면 상에 위치한 증폭된 DNA의 다수의 클러스터(또는 클론 집단)의 핵산을 시퀀싱하기 위해 복수의 형광 표지된 뉴클레오티드가 이용된다. 표면은, 예를 들어, 플로우 셀 내의 채널을 규정할 수 있다. 다양한 클러스터 내의 핵산의 서열은 형광 표지된 뉴클레오티드가 클러스터에 첨가된 후, 광원에 의해 여기되어 광 방출을 제공하는 다수의 주기를 수행함으로써 결정된다.

[0006] 현재 사용되는 시퀀싱 시스템은 뉴클레오티드를 확인하고 핵산의 서열을 결정하는데 효과적이거나, 더욱 비용 효과적이고/이거나 더 적은 오류율을 달성하는 시스템이 요망된다. 예를 들어, 반응 부위의 밀도를 증가시키는 것이 바람직하다. 그러나, 시퀀싱 방법 및 해당 시스템은 복잡한 기술의 집합체를 활용한다. 이들 기술 중 일부에서의 개선은 상당한 비용 절감을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 있다 하더라도 비용 절감 개선을 예측하는 것은 어렵다. 시퀀싱 시스템에서의 기술 사이의 의존성을 고려할 때, 방법 또는 시스템의 전체 성능에 불리한 영향을 미치지 않고 변형될 수 있는 것을 예측하는 것은 더욱 어렵다.

[0007] 많은 시스템 및 프로토콜에 의해 직면되는 한 난점은 광 방출을 발생시키는 지정된 반응을 적합한 수준의 신뢰성으로 검출하는 것이다. 이러한 난점은 반응 부위가 더 적고, 반응 부위의 밀도가 더 클수록 더욱 어렵다. 더 적어지는 반응 부위의 한 결과는 발생하는 광 방출의 양이 또한 더 적어진다는 점이다. 또한, 반응 부위의 밀도가 더 커질수록, 반응 부위가 광 방출을 제공한 것을 구별하기가 더욱 어려워질 수 있다. 상기에 더하여, 광 방출을 검출하기 위해 이용되는 시간(스캔 시간 또는 이미지 시간으로도 언급됨)을 감소시키는 것이 일반적으로 바람직하다. 스캔 시간이 감소함에 따라, 더 적은 광자가 검출되고, 이에 의해 지정된 반응 발생을 나타내는 광 방출을 확실하게 검출하는 것을 더욱 어렵게 만들 수 있다.

[0008] 따라서, 반응 부위의 어레이 내에서의 지정된 반응을 검출하기 위한 충분한 양의 광을 발생시키는 장치, 시스템, 및 방법이 필요하다.

발명의 내용

[0009] **개요**

[0010] 별개의 반응 부위에 의해 제공되는 광학 방출의 검출감도를 개선시키는 구조 기관 및 구조 기관을 제조하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 구조 기관은 별개의 부위에서 생물학적 물질에 의해 겪게 되는 여기 광의

강도를 증가시킬 수 있고/있거나, 생물학적 물질로부터의 광학 방출의 강도를 증가시킬 수 있고/있거나, 광학 방출의 방향성을 조절할 수 있다. 별개의 부위의 어레이로부터의 광학 방출을 검출하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 별개의 부위는 기관 본체 내에 형성된 반응 공동 또는 장치 기관의 표면에 따라 국소화된 영역일 수 있다. 광학 방출은, 예를 들어, 형광, 화학발광, 생물발광, 전자발광, 방사선발광 등에 의해 발생될 수 있다. 공지된 시스템보다 더 큰 밀도의 별개의 부위(또는 인접한 부위 사이의 더 작은 피치(pitch))를 갖는 구조화된 기관 및 이를 제조하는 방법이 또한 본원에 제공된다.

[0011] 일부 구체예에서, 상기 방법 및 구조화된 기관은 형광-표지된 샘플, 더욱 특히 형광-표지된 핵산의 광 방출을 향상시키도록 형성될 수 있다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법 및 조성물은 염료-표지된 뉴클레오티드를 수반하는 합성 반응에 의해 시퀀싱에서의 DNA 클러스터의 형광 향상을 제공한다. 그러나, 본원에 기재된 방법 및 장치는 또한 다른 적용에 적합할 수 있음이 이해되어야 한다.

[0012] 일부 구체예에서, 표면 상에서의 형광 향상을 위한 방법 및 조성물이 제공된다. 상기 방법 및 조성물은 고체 지지체 상의 표지된 핵산의 형광 강도를 향상시키는데 충분히 적합하다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법 및 조성물은 염료-표지된 뉴클레오티드를 수반하는 합성 반응에 의해 시퀀싱에서의 DNA 클러스터의 형광 향상을 제공한다.

[0013] 따라서, 본원에 제공된 한 구체예는 고체 지지체 상에 분포된 복수의 나노입자; 복수의 나노입자와 회합된 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 기관이다. 특정 구체예에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질로 형성된다. 특정 구체예에서, 플라스몬 공명 물질은 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 실리콘(Si)(예를 들어, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘), 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함한다. 특정 구체예에서, 겔 물질은 나노입자를 덮는다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 복수의 웰(또는 반응 공동)을 갖는 평면 표면을 포함하고, 나노입자는 복수의 웰 내에 분포된다.

[0014] (a) 평면 표면을 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계; (b) 고체 지지체의 표면 상에 복수의 나노입자를 분산시키는 단계; 및 (c) 겔 물질로 고체 지지체의 적어도 일부를 코팅함으로써 복수의 나노입자를 덮는 겔 층을 형성시키는 단계를 포함하는, 기관을 제조하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질로 형성된다. 상기 방법의 특정 구체예에서, 단계 (b) 및 (c)는 동시에 수행된다. 특정 구체예에서, 단계 (b)는 단계 (c) 전에 수행된다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 (d) 겔 물질로 표적 핵산의 라이브러리를 전달하여 겔 물질 내에 핵산 특징부의 어레이를 생성시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 각각의 특징부는 다양한 핵산 종을 포함한다. 특정 구체예에서, 플라스몬 공명 물질은 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 실리콘(Si)(예를 들어, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘), 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함한다.

[0015] 복수의 나노입자; 복수의 나노입자를 덮는 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계; 고체 지지체와 표적 핵산에 결합하는 적어도 하나의 형광 표지된 프로브를 접촉시키는 단계; 및 고체 지지체 상의 형광 신호를 검출하여 적어도 하나의 프로브에 결합하는 표적 핵산을 구별하는 단계를 포함하는, 핵산을 검출하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질로 형성된다. 특정 구체예에서, 플라스몬 공명 물질은 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 실리콘(Si)(예를 들어, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘), 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 복수의 웰(또는 반응 공동)을 갖는 평면 표면을 포함하며, 나노입자는 복수의 웰 사이에 분포되어 있다. 특정 구체예에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구체예에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 특정 구체예에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 올리고뉴클레오티드 프로브의 하이브리드화의 검출을 포함한다. 특정 구체예에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 프로브의 혼입의 검출을 포함한다.

[0016] 표면을 포함하는 고체 지지체로서, 표면이 복수의 웰(또는 반응 공동)을 포함하고, 웰이 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있는, 고체 지지체; 및 상기 복수의 웰 각각 내의 복수의 나노구조를 포함하는 어레이가 또한 본원에

제공된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 플라스몬 나노구조이다. 특정 구체예에서, 나노구조는 웰의 하부에 위치된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 웰의 벽을 따라 위치된다. 특정 구체예에서, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있다. 특정 구체예에서, 나노구조는 나노입자를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노입자는 1 nm, 2 nm, 3 nm, 4 nm, 5 nm, 6 nm, 7 nm, 8 nm, 9 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm 초과 또는 100 nm 초과와 직경을 갖는다. 특정 구체예에서, 나노입자는 100 nm, 90 nm, 80 nm, 70 nm, 60 nm, 50 nm, 40 nm, 30 nm, 20 nm, 10 nm, 9 nm, 8 nm, 7 nm, 6 nm, 5 nm, 4 nm, 3 nm, 2 nm 미만, 또는 1 nm 미만의 직경을 갖는다. 특정 구체예에서, 나노입자는 웰 내에 이합체 또는 삼합체를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 보타이 나노안테나를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 나노로드를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 나노링을 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 나노플러그를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 나노그레이팅을 포함한다. 특정 구체예에서, 웰은 겔 물질을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 겔 물질은 하이드로겔을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함한다.

[0017] 평면 표면을 포함하는 고체 지지체를 획득하는 단계로서, 표면이 복수의 웰(또는 반응 공동)을 포함하고, 웰이 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있는, 단계; 고체 지지체 상에 금속 필름을 코팅시키는 단계; 금속 필름을 열 어닐링(annealing) 과정에 적용시킴으로써 상기 복수의 웰 각각 내에 복수의 나노구조를 형성시키는 단계를 포함하는, 어레이를 제조하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 플라스몬 공명 물질로 형성된다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 간극 영역으로부터 나노구조를 실질적으로 제거하고, 웰 내에 나노구조를 유지시키기 위해 평면 표면을 폴리싱(polishing)시키는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 상기 방법은 고체 지지체의 적어도 일부를 겔 물질로 코팅함으로써 복수의 웰 내에 겔 물질을 증착시키는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 실리콘(Si)(예를 들어, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘), 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함한다.

[0018] 평면 표면으로서, 표면이 복수의 웰을 포함하고, 웰이 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있는, 평면 표면; 상기 복수의 웰 각각 내의 복수의 나노구조; 복수의 나노구조를 덮는 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계; 고체 지지체와 표적 핵산에 결합하는 적어도 하나의 형광 표지된 프로브를 접촉시키는 단계; 및 고체 지지체 상의 형광 신호를 검출하여 적어도 하나의 프로브에 결합하는 표적 핵산을 구별하는 단계를 포함하는, 핵산을 검출하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 플라스몬 공명 물질로 형성된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 실리콘(Si)(예를 들어, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘), 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 웰의 하부에 위치된다. 특정 구체예에서, 나노구조는 웰의 벽을 따라 위치된다. 특정 구체예에서, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여된다. 특정 구체예에서, 웰은 겔 물질을 추가로 포함한다. 특정 구체예에서, 겔 물질은 하이드로겔을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함한다. 특정 구체예에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 올리고뉴클레오타이드 프로브의 하이브리드화의 검출을 포함한다. 특정 구체예에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 프로브의 혼입의 검출을 포함한다.

[0019] 구체예에서, 구조화된 기관이 제공된다. 구조화된 기관은 활성면을 갖는 기관 본체를 포함한다. 기관 본체는 활성면을 따라 개방된 반응 공동 및 반응 공동을 분리시키는 간극 영역을 포함한다. 구조화된 기관은 반응 공동 각각 내에 위치한 앙상블 증폭기를 포함한다. 앙상블 증폭기는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 복수의 나노구조를 포함한다.

[0020] 구체예에서, 구조화된 기관을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계 및 베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조를 형성시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 베이스 면 상에 적층되는 공동 층을 형성시키는 단계를 포함한다. 공동 층은 복수의 반응 공동을 포함하고, 여기서 각각의 반응 공동은 그 안에 복수의 나노구조를 포함한다. 복수의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해

형성되는 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성한다.

[0021] 구체예에서, 구조화된 기판을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계 및 베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조를 형성시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 나노구조의 어레이 상에 나노임프린트 리소그래피(NIL) 층을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 NIL 층으로 반응 공동의 어레이를 임프린팅시키는 단계를 포함하고, 여기서 나노구조의 다양한 서브어레이는 각각의 반응 공동 아래에 위치된다. 나노구조의 각각의 서브어레이는 NIL 층의 각각의 충전 영역에 의해 둘러싸인다. 상기 방법은 또한 NIL 층의 각각의 충전 영역을 제거하여 해당 반응 공동 내의 나노구조의 서브어레이를 노출시키는 단계를 포함한다. 각각의 반응 공동 내의 나노구조의 서브어레이는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성되는 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성한다.

[0022] 구체예에서, 구조화된 기판을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계 및 베이스 면을 따라 나노임프린트 리소그래피(NIL) 층을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 NIL 층을 임프린팅시켜 베이스 부분 및 베이스 부분으로부터 돌출된 나노바디의 어레이를 형성시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 나노바디를 덮는 플라스몬 공명 필름을 증착시켜 복수의 나노구조를 형성시키는 단계를 포함한다. 각각의 나노구조는 해당 나노바디 및 플라스몬 공명 필름의 부분을 포함한다. 상기 방법은 또한 복수의 반응 공동을 포함하는 공동 층을 형성시키는 단계를 포함하고, 여기서 각각의 반응 공동은 그 안에 복수의 나노구조를 포함한다. 복수의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성되는 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성한다.

[0023] 하나 이상의 구체예의 세부사항은 수반하는 도면 및 하기 설명에 기재되어 있다. 다른 특징, 목적, 및 장점은 설명 및 도면, 및 청구항으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도면의 간단한 설명

도 1은 표면 상에서의 형광 향상을 위한 예시적 방법을 나타내는 개략도이다.

도 2는 나노웰에서의 플라스몬 나노구조의 여러 예의 도식적 표현이다.

도 3a는 나노웰에서의 나노입자 증착의 개략도를 제시한다. 도 3b 및 3c는 다양한 두께의 나노입자의 증착을 나타내는 SEM 이미지이다.

도 4는 나노웰에서의 나노링의 형성을 나타내는 개략도 및 SEM 이미지를 나타낸다.

도 5는 열 어닐링 후의 나노웰에 증착된 나노입자의 SEM 이미지이다. 축척 막대는 2 μm 이다.

도 6은 Sn/Au 입자 두께의 함수로서의 4개의 형광 표지된 염기에 대한 주기 당 클러스터 강도를 나타내는 한 세트의 그래프이다.

도 7은 어닐링된 Sn/Au 나노입자 필름에 대한 주기 1 및 주기 26에서의 클러스터 강도 향상의 요약표이다.

도 8a는 한 구체예에 따른 나노웰에서의 Au 나노플러그의 형성을 나타내는 개략도이다. 도 8b는 Au 나노플러그의 형성을 입증하는 SEM 이미지이다.

도 9a는 한 구체예에 따른 나노웰에서의 Au 나노플러그를 이용한 첫번째 주기의 시퀀싱 강도의 향상을 나타내는 막대 그래프이다. 도 9b는 나노웰에서의 어닐링된 Au 나노플러그에 대한 클러스터 강도 향상의 요약표이다.

도 10은 구체예에 따라 형성된 구조화된 기판의 일부의 단면을 예시한다.

도 11은 구체예에 따른 구조화된 기판을 제조하는 방법을 예시하는 흐름도이다.

도 12는 나노-임프린트 리소그래피(NIL) 물질을 포함하는 구체예에 따른 구조화된 기판을 제조하는 방법을 예시하는 흐름도이다.

도 13은 도 12에 제시된 방법의 다양한 단계를 예시한다.

도 14는 도 12에 제시된 방법의 다양한 단계를 예시한다.

도 15는 NIL 물질을 포함하는 구체예에 따른 구조화된 기판을 제조하는 방법을 예시하는 흐름도이다.

도 16은 도 15에 제시된 방법의 다양한 단계를 예시한다.

도 17a-17e는 하나 이상의 구체예와 함께 이용될 수 있는 나노구조의 투시도를 예시한다.

도 18a-18d는 하나 이상의 구체예와 함께 이용될 수 있는 나노구조의 단면을 예시한다.

도 19a-19d는 하나 이상의 구체예와 함께 이용될 수 있는 나노구조의 평면도를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

본 출원의 주제는 또한 미국 특허 출원 공개 번호 2014/0242334호; 미국 특허 출원 공개 번호 2014/0079923호; 및 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0059865호에 기재된 주제와 함께 적용될 수 있거나 이에 포함될 수 있다. 상기 출원 공개 각각은 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

본원에 기재된 하나 이상의 구체예는 광 방출이, 예를 들어, 영상화 시스템 또는 장치에 의해 검출될 수 있도록 반응 부위의 어레이로부터의 광 방출을 직접적 또는 간접적으로 향상시키도록 형성된다. 이로 인해, 구체예는 광 방출이 검출될 수 있도록 생물학적 물질에 의해 겪게 되는 여기 광의 강도를 증가시키고/시키거나, 생물학적 물질에 의해 발생하는 광 방출의 강도를 증가시키고/시키거나, 광 방출의 방향성을 조절하는 것 중 적어도 하나 일 수 있다. 광 방출의 강도의 증가 및/또는 방향성의 조절은 부분적으로 해당 반응 부위에 위치된 하나 이상의 나노구조에 의해 야기될 수 있다. 증가의 양은 나노구조(들) 없이 반응 부위에 존재하는 전자기 에너지의 양과 관련하여 측정될 수 있다.

반응 부위의 어레이는 구조화된 기판을 따라 배치될 수 있다. 구조화된 기판은, 예를 들어, 반응 부위 옆에 시약을 유도하기 위한 채널을 갖는 플로우 셀일 수 있다. 광 방출은 반응 부위로부터의 광 방출을 검출하기 위해 구조화된 기판 옆을 스캔하거나 스위핑(sweeping)하는, 예를 들어, 대물 렌즈를 포함할 수 있는 영상화 시스템에 의해 검출될 수 있다. 본원에 기재된 구조화된 기판으로부터의 광 방출을 검출할 수 있는 예시적 시스템은 각각의 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 출원 공개 번호 2012/0270305 A1호 및 2013/0261028 A1호에 기재되어 있다. 대안적으로, 구조화된 기판은 영상화 장치, 예를 들어, 고체-상태 영상화 장치(예를 들어, CMOS)에 통합되어 있을 수 있다. 상기 구체예에서, 영상화 장치는 반응 부위로부터의 광 방출을 포착하기 위해 반응 부위와 함께 정렬되는 하나 이상의 광 센서를 가질 수 있다. 상기 구체예는 각각의 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 가출원 번호 61/914,275호 및 국제 출원 번호 PCT/US14/69373호에 기재되어 있다.

구체예 중 적어도 하나에 의해 제공되는 기술적 효과는 생물학적 물질의 방출체로부터의 증가된 신호 강도를 포함할 수 있다. 신호 강도에서의 증가는 낮은 강도의 광을 방출하는 생물학적 물질의 수를 감소시킴에 의해 오류율을 감소시킬 수 있다. 또 다른 기술적 효과는 신호 대 노이즈 비의 감소를 포함할 수 있으며, 이는 신속한 스캔 속도를 가능케 하고, 프로토콜을 수행하기 위한 전체 시간을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 합성을 통한 시퀀싱 기술과 관련하여, 시퀀싱 기계에 대한 신속한 스캔 속도가 요망되나, 신속한 스캔 속도는 영상화 카메라 상의 클러스터 당 수거되는 더 적은 광자를 발생시킨다. 더 적은 광자가 포착됨에 따라, 신호 대 노이즈 비는 통상적으로 감소하고, 염기를 확실히 지정하는 것이 더 어려워진다. 또한, 일부 시퀀싱 기계에 대해, 낮은 NA 광학은 본질적으로 더 크고 더 흐릿한 신호를 발생시키며, 이는 잠재적으로 더 높은 오류율을 발생시킨다. 본원에 기재된 구체예는 포착되는 광자의 수를 증가시킬 수 있다. 적어도 일부 구체예에 대한 또 다른 기술적 효과는 적어도 일부 공지된 방법보다 더욱 신뢰성 있고, 적어도 일부 공지된 방법보다 더욱 비용 효과적인 구조화된 기판을 제조하는 방법을 포함한다.

본 발명의 개시는 일반적으로 고상 분석 화학에 관한 것으로, 고 처리량 유전체학 분석을 위한 핵산 어레이에 대해 특정한 적용성을 갖는다. 인간 유전 변화를 목록화시키고, 이러한 변화와 질병에 대한 민감성을 연관시키는 작업은 전체 유전체 시퀀싱 방법에서의 진전으로부터 이익을 얻을 것이다. 이러한 목록화 노력은 의료 전문가가 질병에 대한 개인의 민감성, 특정 요법, 예를 들어, 처방 약물에 대한 반응성, 위험한 약물 부작용에 대한 민감성 및 다른 의학적으로 작용할 수 있는 특징을 결정하는 것을 도울 각각의 개인의 유전체에서의 마커를 확인하기 위한 가망성을 남긴다. 목록화 노력은 잘 진행되고 있다. 이는 많은 부분이 연구 환경에서 시험 대상체가 평가되는 것을 가능케 하기에 충분히 비용 효과적인 상업적으로 이용 가능한 유전체 시퀀싱 기술로 인한 것이다. 시퀀싱 방법에서의 개선은 목록화 노력을 촉진시키는데 필요하다. 또한, 시퀀싱의 비교적 높은 비용은 상기 기술이 연구 센터를 넘어 의사가 일반 집단의 환자에 대한 서열을 획득할 수 있는 진료소로 이전되는

것을 방해하였다.

- [0031] 시퀀싱 방법 및 이를 수행하기 위해 이용되는 시스템은 복잡한 기술의 집합체를 활용한다. 이들 기술 중 일부에서의 개선은 상당한 비용 절감을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 있다 하더라도 비용 절감 개선을 예측하는 것은 어렵다. 시퀀싱 시스템에서의 기술 사이의 의존성을 고려할 때, 방법 또는 시스템의 전체 성능에 불리한 영향을 미치지 않고 변형될 수 있는 것을 예측하는 것은 더더욱 어렵다. 따라서, 삶이 개선될 수 있고, 많은 경우에 보호될 수 있는 진료소로 유전체학 연구의 가망성을 제공할 수 있는 개선을 확인할 필요가 있다. 본 발명은 상기 필요를 충족시키며, 관련된 장점을 또한 제공한다.
- [0032] 본원에서 사용되는 "생물학적 물질" 또는 "화학적 물질"은 생체분자, 관심 샘플, 관심 분석물, 및 다른 화학 화합물(들)을 포함한다. 생물학적 또는 화학적 물질은 다른 화학 화합물(들)을 검출하거나, 확인하거나, 분석하기 위해 이용될 수 있거나, 다른 화학 화합물(들)을 연구하거나 분석하기 위한 매개로 작용할 수 있다. 특정 구체예에서, 생물학적 물질은 핵산, 또는 더욱 특히 공통의 서열을 갖는 핵산의 집합이다. 특정 구체예에서, 생물학적 또는 화학적 물질은 생체분자를 포함한다. 본원에서 사용되는 "생체분자"는 생체중합체, 뉴클레오타이드, 핵산, 폴리뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 단백질, 효소, 폴리펩티드, 항체, 항원, 리간드, 수용체, 당류, 탄수화물, 폴리포스페이트, 세포, 조직, 기관, 또는 이들의 단편 또는 임의의 다른 생물학적 활성 화학 화합물(들), 예를 들어, 상기 언급된 종의 유사체 또는 모방체 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0033] 또 다른 예로서, 생물학적 또는 화학적 물질은 또 다른 반응의 생성물을 검출하기 위한 커플링된 반응에서 사용되는 효소 또는 시약, 예를 들어, 피로시퀀싱(pyrosequencing) 반응에서 피로포스페이트를 검출하기 위해 사용되는 효소 또는 시약을 포함할 수 있다. 피로포스페이트 검출에 유용한 효소 및 시약은, 예를 들어, 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 공개 번호 2005/0244870 A1호에 기재되어 있다.
- [0034] 생물학적 또는 화학적 물질은 자연 발생 또는 합성 물질일 수 있고, 지정된 영역 또는 공간 내에 위치될 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 또는 화학적 물질은 고체상 또는 겔 물질에 결합될 수 있다. 생체분자, 샘플, 및 생물학적 및 화학적 물질은 또한 약학적 조성물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 관심 생체분자, 샘플, 및 생물학적 또는 화학적 물질은 표적, 프로브, 또는 분석물로 언급될 수 있다.
- [0035] 구체예는 형광 표지된 핵산으로부터의 방출을 향상시키기에 특히 적합할 수 있다. 예를 들어, 구체예는 염료 표지된 뉴클레오타이드를 수반하는 합성 반응에 의한 시퀀싱에서 DNA 클러스터의 형광 향상을 제공할 수 있다. 구체예는 합성에 의한 시퀀싱 동안 형광 표지로부터의 신호 강도를 증가시킬 수 있다. 신호 강도에서의 증가는 낮은 강도 클러스터 및 긴 시퀀싱 작업 동안 클러스터 드롭아웃(dropout)으로부터 발생하는 시퀀싱 오류를 감소시킴으로써 전체 시퀀싱 성능을 개선시킬 수 있다.
- [0036] 표면 상에서의 형광 향상을 위한 방법 및 조성물이 본원에 제공된다. 상기 방법 및 조성물은 고체 지지체(또는 기관 본체) 상의 표지된 핵산의 형광 강도를 향상시키기 위해 충분히 적합화된다. 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법 및 조성물은 염료 표지된 뉴클레오타이드를 수반하는 합성 반응에 의한 시퀀싱에서 DNA 클러스터의 형광 향상을 제공한다. 또한, 약 350nm 내지 약 750nm의 광범위한 형광 향상을 가능케 하는 시퀀싱 기관 상의 나노구조, 예를 들어, 플라스몬 나노구조의 저비용의 신속하고 확실한 제작을 위한 방법이 본원에 제공된다.
- [0037] 본 발명의 개시는 플라스모닉스(plasmonics) 및/또는 나노안테나와 예시적 시퀀싱 기관/플랫폼 및 SBS 화학을 조합시킴으로써 클러스터화된 핵산으로부터의 증가된 강도가 획득될 수 있다는 놀라운 발견을 상술한다. 이는 시퀀싱 기관 상의 플라스몬 나노구조 및 나노-안테나의 탑-다운 나노제작(top-down nanofabrication) 또는 상향식 자가 조립(bottom up self-assembly)을 통해 달성된다. 패턴화되지 않은 기관 및 패턴화된 기관 둘 모두 상에 플라스몬 나노구조를 제작하기 위한 다양한 방법이 본원에 제공된다.
- [0038] 이론으로 한정하고자 하는 것은 아니지만, 클러스터 강도에서 발생된 향상은 국소화된 표면 플라스몬 공명과 공명 에너지 전달 과정의 조합으로 인한 것이다. 본원에 제공된 방법 및 조성물은 여러 장점을 갖는다. 예를 들어, 합성을 통한 시퀀싱 동안 형광 표지로부터의 증가된 신호 강도는 낮은 강도 클러스터 및 긴 시퀀싱 작업 동안 클러스터 드롭아웃으로부터 발생하는 시퀀싱 오류를 감소시킴으로써 전체 시퀀싱 성능을 개선시킨다. 또한, 신호 대 노이즈 비가 감소되고, 이에 의해 신속한 스캔 속도가 가능하게 되고, 전체 시퀀싱 작업 시간이 감소된다. 시퀀싱 기계에 대한 더 신속한 스캔 속도가 요망되나, 신속한 스캔 속도는 영상화 카메라 상의 클러스터당 수거되는 더 적은 광자를 발생시키며, 이는 낮은 신호 대 노이즈 및 높은 오류율을 발생시킨다. 또한, 일부 시퀀싱 기계에 대해, 낮은 NA 광학은 본질적으로 더 크고 더 흐릿한 신호를 발생시키며, 이는 잠재적으로 더 높은 오류율을 발생시킨다. 따라서, 클러스터 강도를 증가시키기 위한 방법은 다수의 이점을 제공한다.

- [0039] 따라서, 본원에 제공된 한 구체예는 고체 지지체(또는 기관 본체) 상에 분포된 플라스몬 공명 물질로 형성된 복수의 나노입자; 복수의 나노입자와 회합된 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 기관이다.
- [0040] 특정 구체예에서, 겔 물질은 나노입자를 덮는다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함한다. 특정 구체예에서, 고체 지지체는 복수의 웰(또는 반응 공동)을 갖는 평면 표면을 포함하고, 나노입자는 복수의 웰 내에 분포된다.
- [0041] 본원에서 사용되는 용어 "나노입자" 및 "나노구조"는 1 nm와 1000 nm 사이의 임의의 정수 또는 비-정수 값을 포함하는 약 1 nm 내지 약 1000 nm의 범위 내의 한 치수를 갖는 입자를 나타내기 위해 상호교환적으로 사용된다. 통상적인 구체예에서, 나노입자는 금속 입자이다. 일부 구체예에서, 나노입자 코어는 20-200 nm 직경의 구형 또는 거의 구형의 입자이다. 일부 구체예에서, 상기 범위는 약 1 nm 내지 약 50 nm(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50 nm)이다. 일부 구체예에서, 상기 범위는 약 350 nm 내지 약 750 nm이다. 비등방성 나노입자는 길이 및 폭을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 비등방성 나노입자의 길이는 나노입자가 생성된 구멍의 평면과 평행한 치수이다. 일부 구체예에서, 비등방성 나노입자의 길이는 나노입자가 생성된 구멍의 평면과 수직인 치수이다. 비등방성 나노입자의 경우에서, 일부 구체예에서, 나노입자는 약 350 nm 내지 약 750 nm 범위의 직경(폭)을 갖는다. 다른 구체예에서, 나노입자는 약 350 nm 이하의 직경(폭)을 갖는다. 다른 구체예에서, 나노입자는 250 nm 이하의 직경, 일부 구체예에서, 100 nm 이하의 직경을 갖는다. 일부 구체예에서, 폭은 15 nm 내지 300 nm 이다. 일부 구체예에서, 나노입자는 약 10-350 nm의 길이를 갖는다. 일부 구체예에서, 나노입자는 미리 선택된 형태를 가지며, 예를 들어, 나노튜브, 나노와이어, 나노스피어, 또는 상기 기재된 치수를 포함하는 임의의 형태(예를 들어, 2차원의 삼각형, 사각형, 직사각형, 또는 다각형 형태, 또는 3차원의 입방형, 피라미드형, 원통형, 구형, 원반형, 또는 반구형 형태)일 수 있다. 도 2는 나노웰(26) 내의 플라스몬 나노구조의 여러 예의 도식적 표현이다. 나노구조의 일부 예는, 예를 들어, 보타이 안테나(28), 나노스피어(34), 나노피라미드, 나노셀, 나노로드, 나노와이어, 나노링, 나노플러그(30), 나노그레이팅(32) 등을 포함한다. 나노입자의 미리 형성된 이합체(36) 및 삼합체(28)가 또한 웰로 로딩될 수 있으며, 나노입자 간격을 정확하게 조절하는 장점을 갖는다.
- [0042] 이들 나노구조는 표면 상에 제작될 수 있거나, 미리 형성된 후, 나노웰에 로딩될 수 있다. 상기 구조의 예는 나노웰의 하부에 제작된 플라스몬 나노플러그, 나노웰 내의 보타이 및 공동 안테나, 나노웰이 형성될 수 있는 금속 나노그레이팅, 나노웰 내에 리플로우(reflow)된 나노입자 또는 이들 중 일부 또는 전부의 조합을 포함한다. 한 예는 간단한 전자 빔 증발 과정을 통해 형성된 벽 상의 나노입자를 갖는 나노웰 내의 금속 나노플러그일 것이다. DNA 오리가미(origami) 또는 링커 분자, 예를 들어, 쿼터비투릴[n]을 이용하여 형성된 나노입자 작제물(이합체, n-머)이 또한 웰로의 로딩에 매력적이다. 상기 방법은 나노입자 간격 상에서의 정확한 나노미터 이하의 조절을 가능케 하며, 상향식 자가 조립을 이용하여 대규모로 형성될 수 있다. 이들 구조의 예는 도 2에 제시되어 있다.
- [0043] 표면 상의 임의의 2개의 나노입자 사이의 간격은 임의의 거리일 수 있다. 일부 구체예에서, 간격은 입사광 에너지의 파장, 예를 들어, 형광 분광법에서의 특정 방출 또는 여기 파장의 배수일 수 있다. 간격은, 예를 들어, 1λ , 2λ , 3λ , 4λ 또는 입사광 에너지의 선택된 파장(λ)의 또 다른 배수일 수 있다. 따라서, 예로서 532 nm의 방출 파장(λ)을 이용하면, 나노입자 사이의 간격은 약 532 nm(1λ), 약 1064 nm(2λ), 또는 방출 파장의 또 다른 배수일 수 있다. 일부 구체예에서, 간격은 입사광 에너지의 파장, 예를 들어, 형광 분광법에서 특정 방출 또는 여기 파장의 분획일 수 있다. 간격은, 예를 들어, 1λ , $\frac{1}{2}\lambda$, $\frac{1}{3}\lambda$, $\frac{1}{4}\lambda$ 또는 입사광 에너지의 선택된 파장의 또 다른 배수일 수 있다. 따라서, 예로서 532 nm의 방출 파장(λ)을 이용하면, 나노입자 사이의 간격은 약 532 nm(1λ), 266 nm($\frac{1}{2}\lambda$), 133 nm($\frac{1}{3}\lambda$) 또는 방출 파장의 또 다른 분획일 수 있다.
- [0044] 용어 "플라스몬 나노구조" 또는 "나노플라스몬 구조"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 나노구조, 나노입자 및 나노입자의 조합물 또는 회합물을 모두 포함하는(이에 제한되지는 않음) 구조의 플라스몬 공명 특징을 나타내는 임의의 독립적인 구조를 나타낸다.
- [0045] 본원에서 사용되는 용어 "나노안테나"는 전자기 에너지, 예를 들어, 광 에너지를 증폭시키는 작용을 하는 나노입자 또는 나노구조를 나타낸다. 본원에서 사용되는 나노안테나는 플라스몬 공명 특징을 반드시 나타내지는 않는다. 일부 구체예에서, 나노안테나는 플라스몬 공명 물질을 실질적으로 포함하지 않는다. 따라서, 일부 구체

예에서, 비-금속 물질로 제조되나, 전자기 에너지의 증폭 특징을 나타내는 나노안테나가 제공된다. 본원에 제공된 나노입자는 요망되는 에너지 증폭을 발생시키기 위한 임의의 적합한 형태 및 크기일 수 있다. 나노안테나의 일부 예시적 형태는, 예를 들어, 보타이 나노안테나, 나노스피어, 나노피라미드, 나노셀, 나노로드, 나노와이어, 나노링, 나노플러그, 나노그레이팅 등을 포함한다. 고체 지지체(또는 기판 본체) 상의 나노안테나의 제작 및/또는 증착에 적합한 다수의 공지된 방법 중 임의의 방법이 이용될 수 있음이 인지될 것이다. 나노안테나의 제작을 위한 방법은 당 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 나노입자 제작 및 증착을 위해 본원에 기재된 방법을 포함한다.

[0046] 나노입자는 본원에 기재된 방법 및 조성물에서 사용하기에 적합한 임의의 물질, 예를 들어, 표면 플라스몬 공명 (SPR)을 나타내는 임의의 유형의 물질을 포함할 수 있다. 특정한 바람직한 구체예에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질을 포함한다. 예로는 금속 나노입자를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 나노입자는 금속, 예를 들어, 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 또는 임의의 다른 적합한 금속 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 나노입자는 단일 물질, 예를 들어, 단일 금속으로부터 형성될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 나노입자는 2개 이상의 상이한 물질, 예를 들어, 2개 이상의 금속의 조합으로부터 형성될 수 있다. 예를 들어, 나노입자는 금속/금속 혼합물, 예를 들어, Sn/Au 또는 Ag/Au를 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 수직 증착된 나노입자, 예를 들어, 금속-절연체-금속 타입의 다층 구조가 적용될 수 있다. 예로는 실리콘(Si)을 포함한다. 예를 들어, 나노입자는 p-타입 도핑된 실리콘 및 n-타입 도핑된 실리콘을 포함할 수 있다. 갈륨 아르세나이드가 또한 이용될 수 있다.

[0047] 고체 지지체 상의 나노입자의 형성은 당 분야에 공지된 다수의 방법 중 어느 하나를 이용하여 수행될 수 있다. 나노입자는 시퀀싱 기판 상의 플라스몬 나노구조 및 나노-안테나의 상향식 자가 조립을 이용하여 형성될 수 있다. 예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Gaspar et al. (Scientific Reports, 2013, 3, 1469)]에 기재된 것과 같은 물질 층의 증착을 위한 다수의 방법 중 어느 하나가 이용될 수 있다. 본원에 기재되고 실시예 1 및 도 1에 예시된 예시적 구체예에서, 나노입자(10)는 미리 형성되고, 콜로이드-유사 조성물에서 겔 물질(12)과 혼합될 수 있고, 이는 고체 지지체(16)의 표면(14) 상에 증착된다. 핵산(18)(또는 다른 생체분자)이 겔 물질(12)에 고정되는 시딩 작업이 발생할 수 있다. 핵산(18)의 클러스터(20)를 형성시키기 위해 클러스터링 작업이 수행될 수 있다. 클러스터는, 예를 들어, 브릿지(bridge) 증폭을 통해 생성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 나노입자가 표면 상에 먼저 증착된 후, 나노입자 위에 겔 물질이 증착될 수 있다. 다른 구체예에서, 겔 물질이 표면 상에 증착될 수 있고, 나노입자가 겔 물질 상에 증착된다.

[0048] 일부 구체예에서, 나노입자는 고체 표면의 웰(또는 오목한 특징부 또는 반응 공동) 내에 형성된다. 도 3a에 제시된 바와 같이, 시작 물질(40), 예를 들어, Sn/Au의 필름이 나노웰(44)을 함유하는 고체 표면(42) 상에 증착될 수 있고, 이후 열 어닐링될 수 있다. 일부 구체예에서, 필름이 별개의 입자에 접촉됨에 따라 나노입자(46)의 형성을 촉진하기 위해 열 어닐링이 이용될 수 있다. 도 3b 및 3c에 제시된 결과에 의해 입증되는 바와 같이, 나노입자 크기는 시작 필름 두께의 함수일 수 있다. 열 어닐링 후의 추가의 폴리싱 단계는 나노입자가 실질적으로 결여된 간극 영역(48)을 남기면서 웰에만 나노입자(46)를 발생시킬 수 있다. 도 5는 Sn/Au의 층의 증착 후 열 어닐링의 추가 예이다. 도 5에 제시된 나노입자의 SEM 이미지는 나노입자가 모든 나노웰에서 관찰되는 것을 입증한다. 간극 영역 내의 나노입자는, 예를 들어, 화학적 및/또는 기계적 폴리싱을 통해 제거될 수 있다. 나노입자 크기의 분포가 각각의 나노웰에서 관찰되며, 이는 광범위한 형광 향상을 가능케 한다.

[0049] 일부 구체예에서, 나노구조, 예를 들어, 나노링은 표면 상의 웰의 벽(또는 오목한 특징부 또는 반응 공동)을 따라 형성될 수 있다. 나노구조는 당 분야에 공지된 다수의 방법 중 어느 하나를 이용하여 제작될 수 있다. 예를 들어, 도 4는 나노웰(52) 내의 나노고리(50)의 형성을 나타내는 개략도 및 SEM 이미지를 제시한다. 도 4에 제시된 바와 같이, Au는 Au와 같은 물질의 층(54)의 스퍼터 증착(sputtered deposition)을 이용하여 증착될 수 있다. 도 4에 제시된 구체예에서, ~65 nm Au 층의 등각 증착(conformal deposition)에 이어 반응성 이온 식각(RIE) 과정이 후속된다. 나머지 Au 층이 나노웰의 벽을 따라 위치되어, 나노웰 각각에 나노링(52)을 형성한다.

[0050] 본원에서 사용되는 용어 "표면"은 고체 지지체 또는 겔 물질의 내부 부분 또는 외부층을 의미하는 것으로 의도된다. 표면은 또 다른 물질, 예를 들어, 기체, 액체, 겔, 중합체, 유기 중합체, 유사하거나 상이한 물질의 두 번째 표면, 금속, 또는 코트와 접촉될 수 있다. 표면 또는 이의 영역은 실질적으로 편평할 수 있다. 표면은 표면 특징부, 예를 들어, 웰, 피트, 채널, 릿지(ridge), 상승된 영역, 페그(peg), 기둥 등을 가질 수 있다.

[0051] 본원에서 사용되는 용어 "고체 지지체"는 수성 액체 중에서 불용성인 단단한 기판을 나타낸다. 고체 지지체는

또한 기관 본체로 언급될 수 있다. 고체 지지체의 기관은 비-다공성 또는 다공성일 수 있다. 기관은 임의로 액체를 흡수(예를 들어, 다공성으로 인함)할 수 있으나, 통상적으로 기관이 액체를 흡수하는 경우에 실질적으로 팽창하지 않고 액체가 건조에 의해 제거되는 경우에 실질적으로 수축하지 않는 점에서 충분히 단단할 것이다. 비다공성 고체 지지체는 일반적으로 액체 또는 기체에 대해 불투과성이다. 고체 지지체는 임의로 겔을 변형시키기 위해 이용되는 화학 물질에 대해 비활성일 수 있다. 예를 들어, 고체 지지체는 본원에 기재된 방법에서 겔에 분석물, 예를 들어, 핵산을 부착시키기 위해 이용되는 화학 물질에 대해 비활성일 수 있다. 예시적 고체 지지체는 유리 및 변형되거나 기능화된 유리, 플라스틱(아크릴성 플라스틱, 폴리스티렌 및 스티렌 및 다른 물질의 공중합체, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리부틸렌, 폴리우레탄, Teflon™, 고리형 올레핀, 폴리이미드 등), 나일론, 세라믹, 수지, 제오노아(Zeonor), 실리카 또는 실리카-기반 물질, 예를 들어, 실리콘 및 변형된 실리콘, 탄소, 금속, 무기 유리, 광섬유 다발, 및 중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0052] 본원에 제공된 방법 및 조성물의 특정 구체예는 패턴화되거나 구조화된 기관을 갖는 고체 지지체를 이용한다. 패턴화되거나 구조화된 기관은 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 일련 번호 13/787,396호(미국 특허 출원 공개 번호 2014/0243224 A1호)에 기재된 바와 같이 패턴화된 겔 어레이를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 구조화된 기관은 고체 지지체 물질을 웰(예를 들어, 마이크로웰 또는 나노웰)과 함께 패턴화시키고, 패턴화된 지지체를 겔 물질(예를 들어, PAZAM, SFA 또는 이의 화학적으로 변형된 변이체, 예를 들어, SFA의 아지도화된 형태(아지도-SFA))로 코팅하고, 겔 코팅된 지지체를, 예를 들어, 화학적 또는 기계적 폴리싱을 통해 폴리싱시키고, 이에 의해 웰 내에 겔을 유지시키거나, 웰 사이의 구조화된 기관의 표면 상의 간극 영역으로부터의 겔을 실질적으로 모두 제거하거나 비활성화시킴으로써 제조될 수 있다. 프라이머 핵산은 겔 물질에 부착될 수 있다. 표적 핵산(예를 들어, 단편화된 인간 유전체)의 용액은 이후 개별적 표적 핵산이 겔 물질에 부착된 프라이머와의 상호작용을 통해 개별적 웰을 시딩하나, 표적 핵산이 겔 물질의 부재 또는 비활성으로 인해 간극 영역을 점유하지 않도록 폴리싱된 기관과 접촉될 수 있다. 표적 핵산의 증폭은 웰로 제한될 것인데, 이는 간극 영역 내의 겔의 부재 또는 비활성이 발달하는 핵산 집락의 외부로의 이동을 방지하기 때문이다. 상기 과정은 편리하게 제조 가능하고, 확장 가능하고, 통상적인 마이크로제작 또는 나노제작 방법을 이용한다.

[0053] 본원에 기재된 구조화된 기관에서 사용되는 고체 지지체는 본원, 예를 들어, 상기 정의, 하기 실시예 또는 직후에 기재되는 다양한 물질 중 임의의 물질로부터 제조될 수 있다. 특히 유용한 물질은 유리이다. 다른 적합한 기관 물질은 중합체 물질, 플라스틱, 실리콘, 석영(융합된 실리카), 보로플로트 유리(borofloat glass), 실리카, 실리카-기반 물질, 탄소, 금속, 광섬유 또는 광섬유 다발, 사파이어, 또는 플라스틱 물질, 예를 들어, COC 및 에폭시를 포함할 수 있다. 특정 용도에 요망되는 특성을 기초로 하여 특정 물질이 선택될 수 있다. 예를 들어, 요망되는 방사선 파장에 투명한 물질이 요망되는 파장의 방사선을 이용하는 분석 기술, 예를 들어, 본원에 기재된 기술 중 하나 이상에 유용하다. 반대로, 특정 파장의 방사선을 통과시키지 않는 물질(예를 들어, 불투명하거나, 흡수성이거나, 반사성임)을 선택하는 것이 요망될 수 있다. 이는 본원에 기재된 방법과 같은 구조화된 기관의 제조 동안 이용되거나, 본원에 기재된 것과 같은 구조화된 기관을 이용하여 수행되는 화학 반응 또는 분석 검출에 이용되는 마스크의 형성에 유용할 수 있다. 활용될 수 있는 물질의 다른 특성은 본원에 기재된 것과 같은 하류 공정에서 사용되는 특정 시약에 대한 비활성 또는 반응성, 또는 본원에 기재된 것과 같은 제조 공정 동안의 조작의 용이성 또는 낮은 비용이다. 본 발명의 개시의 구조화된 기관 또는 방법에서 이용될 수 있는 물질의 추가 예는 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 일련 번호 13/661,524호 및 미국 특허 출원 공개 번호 2012/0316086 A1호에 기재되어 있다.

[0054] 일부 구체예에 대한 특히 유용한 고체 지지체는 플로우 셀 장치 내에 위치된다. 예시적 플로우 셀, 이들의 제조를 위한 방법 및 이들의 사용 방법은 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2010/0111768 A1호 또는 2012-0270305 A1호; 또는 WO 05/065814호에 기재되어 있다. 플로우 셀은 본 발명의 개시의 방법에 의해 생성되고, 합성을 통한 시퀀싱(SBS) 또는 주기적인 시약의 반복된 전달을 수반하는 다른 기술(예를 들어, 반복적 또는 주기적 단계를 갖는 합성 기술 또는 검출 기술)에 적용되는 어레이를 수용하기 위한 편리한 포맷을 제공한다. 예시적 검출 방법이 하기에 추가로 상세히 기재된다.

[0055] 일부 구체예에서, 플로우-셀 또는 다수의 표면을 갖는 다른 용기가 이용된다. 다수의 표면을 갖는 용기는 단지 하나의 표면이 겔을 함유하는 오목한 특징부(예를 들어, 웰)를 갖도록 이용될 수 있다. 대안적으로, 용기에 존재하는 2개 이상의 표면은 겔을 함유하는 오목한 특징부를 가질 수 있다. 플로우 셀의 하나 이상의 표면이 선택적으로 검출될 수 있다. 예를 들어, 플로우 셀의 내부의 반대 표면은 동일초점 기술과 같은 당 분야에 공지된 방법을 이용하여 초점화된 방사선으로 선택적으로 다루어질 수 있다. 용기(예를 들어, 플로우 셀)의 다수의 표면으로 방사선을 선택적으로 유도하기 위한 유용한 동일초점 기술 및 장치는, 예를 들어, 각각이 참조로서 본

원에 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2009/0272914 A1호 또는 미국 특허 번호 8,039,817호에 기재되어 있다.

[0056] 본원에서 사용되는 용어 "겔 물질"은 액체 및 기체에 대해 투과성인 어느 정도 단단한 물질을 의미하는 것으로 의도된다. 통상적으로, 겔 물질은 액체가 흡수되는 경우 팽창할 수 있고, 액체가 건조에 의해 제거되는 경우 수축할 수 있다. 예시적인 겔은 콜로이드 구조를 갖는 겔, 예를 들어, 아가로스; 중합체 메쉬 구조, 예를 들어, 젤라틴; 또는 가교된 중합체 구조, 예를 들어, 폴리아크릴아미드, SFA(예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0059865 A1호 참조) 또는 PAZAM(예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 출원 일련 번호 61/753,833호 또는 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0059865 A1호 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특히 유용한 겔 물질은 존재하는 웰 또는 다른 오목한 특징부의 형태에 순응할 것이다. 일부 유용한 겔 물질은 (a) 존재하는 웰 또는 다른 오목한 특징부의 형태에 순응할 수 있고, (b) 존재하는 웰 또는 오목한 특징부의 부피를 실질적으로 초과하지 않는 부피를 가질 수 있다.

[0057] 본원에서 사용되는 용어 "간극 영역"은 기관 또는 표면의 다른 영역을 분리시키는 기관 내 또는 표면 상의 영역을 나타낸다. 예를 들어, 간극 영역은 어레이의 또 다른 웰(또는 오목한 특징부)로부터 어레이의 한 웰(또는 오목한 특징부)을 분리시킬 수 있다. 서로 분리되는 2개의 영역은 서로 접촉하지 않고 분리되어 있을 수 있다. 또 다른 예에서, 간극 영역은 특징부의 두번째 부분으로부터 특징부의 첫번째 부분을 분리시킬 수 있다. 많은 구체예에서, 간극 영역은 연속적인 반면, 예를 들어, 달리 연속적인 표면 내의 웰의 어레이에 대한 경우에서와 같이 특징부는 분리되어 있다. 간극 영역에 의해 제공된 분리는 부분적이거나 완전한 분리일 수 있다. 간극 영역은 통상적으로 표면 상의 특징부의 표면 물질과 상이한 표면 물질을 가질 것이다. 예를 들어, 어레이의 특징부는 간극 영역에 존재하는 양 또는 농도를 초과하는 겔 물질 또는 분석물의 양 또는 농도를 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 겔 물질 또는 분석물은 각극 영역에 존재하지 않을 수 있다.

[0058] 많은 구체예에서, 고체 지지체를, 예를 들어, 화학적 또는 기계적 폴리싱을 통해 폴리싱시킴으로써 웰 내에 나노구조를 유지시키나, 웰 사이의 구조화된 기관의 표면 상의 간극 영역으로부터 실질적으로 모든 나노구조를 제거하거나 비활성화시킴으로써 간극 영역에는 실질적으로 나노구조가 결여되어 있을 수 있다. 기계적 폴리싱은 고체 지지체의 표면에 연마력을 적용시킴으로써 수행될 수 있다. 예시적 방법은 비드의 슬러리를 이용한 연마, 시트 또는 직물을 이용한 닦음, 문지름 등을 포함한다. 폴리싱 또는 본원에 기재된 다른 용도를 위해 사용되는 비드는 구형일 수 있으나, 반드시 그러한 것은 아님이 이해될 것이다. 오히려, 비드는 불규칙한 형태, 다각형 형태, 난형 형태, 연장된 형태, 원통형 형태 등을 가질 수 있다. 비드의 표면은 평탄하거나 거칠 수 있다. 다양한 입자 중 임의의 입자가 본원에 기재된 방법 및 조성물을 위한 비드로 유용할 수 있다. 폴리싱의 한 예는 간극 나노구조를 제거하기 위해 3 μm 실리카 비드 슬러리(수 중 10%w/v)로 코팅된 린트리스(lintless)(무균실 등급) 와이프를 이용하는 것을 포함한다. 폴리싱 휠/분쇄기가 또한 상기 슬러리와 함께 이용될 수 있다. 기계적 폴리싱은 또한 간극 영역으로부터 겔을 제거하기 위해 유체 제트 또는 기체(예를 들어, 공기 또는 비활성 기체, 예를 들어, 아르곤 또는 질소) 제트를 이용하여 달성될 수 있다.

[0059] 분석물을 참조로 하여 사용되는 경우 본원에서 사용되는 용어 "라이브러리"는 상이한 화학 조성을 갖는 분석물의 집합체를 나타낸다. 통상적으로, 라이브러리 내의 분석물은 종류 또는 부류의 공통적인 특징 또는 특성을 갖지만, 일부 경우에는 상이한 다양한 종일 것이다. 예를 들어, 라이브러리는 뉴클레오타이드 서열에 있어서 상이하나, 당-포스페이트 백본을 갖는 것과 관련하여 유사한 핵산 종을 포함할 수 있다.

[0060] 본원에서 사용되는 용어 "핵산" 및 "뉴클레오타이드"는 당 분야에서의 이들의 사용과 일치하고, 자연 발생 중 또는 이의 기능성 유사체를 포함하는 것이 의도된다. 핵산의 특히 유용한 기능성 유사체는 서열 특이적 방식으로 핵산에 하이브리드화될 수 있거나, 특정 뉴클레오타이드 서열의 복제를 위한 주형으로 사용될 수 있다. 자연 발생 핵산은 일반적으로 포스포디에스테르 결합을 함유하는 백본을 갖는다. 유사체 구조는 당 분야에 공지된 다양한 것 중 임의의 것을 포함하는 대안적 백본 결합을 가질 수 있다. 자연 발생 핵산은 일반적으로 데옥시리보스 당(예를 들어, 데옥시리보핵산(DNA)에서 발견됨) 또는 리보스 당(예를 들어, 리보핵산(RNA)에서 발견됨)을 갖는다. 핵산은 당 분야에 공지된 이들 당 모이어티의 다양한 유사체 중 임의의 유사체를 갖는 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다. 핵산은 자연 또는 비-자연 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 자연 데옥시리보핵산은 아데닌, 티민, 시토신 또는 구아닌으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 염기를 가질 수 있고, 리보핵산은 우라실, 아데닌, 시토신 또는 구아닌으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 염기를 가질 수 있다. 핵산 또는 뉴클레오타이드에 포함될 수 있는 유용한 비-자연 염기는 당 분야에 공지되어 있다. 핵산과 관련하여 사용되는 용어 "프로브" 또는 "표적"은 본원에 기재된 방법 또는 조성물의 상황에서 핵산에 대한 의미론적 확인자로서 의도되며, 달리 명백히 지정되는 것 이상으로 핵산의 구조 또는 기능을 반드시 제한하지는 않는다.

다. 용어 "프로브" 및 "표적"은 다른 분석물, 예를 들어, 단백질, 소분자, 세포 등으로 유사하게 적용될 수 있다.

[0061] 동사로서 사용되는 경우 본원에서 사용되는 용어 "코트" 및 "코팅" 등의 용어는 층을 제공하거나 표면을 덮는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 표면의 적어도 일부에는 층 또는 덮개가 제공될 수 있다. 일부 경우에, 전체 표면에는 층 또는 덮개가 제공될 수 있다. 대안적 경우에서, 표면의 단지 일부에 층 또는 덮개가 제공될 것이다. 표면과 물질 사이의 관계를 기재하기 위해 사용되는 경우 용어 "코트"는 상기 물질이 표면 상의 층 또는 덮개로 제공되는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 상기 물질은 표면을 밀봉할 수 있고, 예를 들어, 액체 또는 기체와 표면의 접촉을 방지할 수 있다. 그러나, 물질은 밀봉을 형성할 필요는 없다. 예를 들어, 상기 물질은 액체, 기체, 또는 액체 또는 기체에 담겨된 하나 이상의 성분에 대해 다공성일 수 있다. 표면을 코팅할 수 있는 예시적 물질은 겔, 중합체, 유기 중합체, 액체, 금속, 제2의 표면, 플라스틱, 실리카, 또는 기체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0062] 핵산 어레이를 함유하는 본 발명의 개시의 구조화된 기관이 다양한 목적 중 임의의 목적을 위해 이용될 수 있다. 핵산에 대해 특히 요망되는 용도는 상보적 서열을 갖는 표적 핵산을 하이브리드화시키는 포획 프로브를 제공하는 것이다. 포획 프로브에 하이브리드화된 후 표적 핵산은, 예를 들어, 포획 프로브에 보충된 표지를 통해 검출될 수 있다. 포획 프로브로의 하이브리드화를 통한 표적 핵산의 검출을 위한 방법은 당 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 7,582,420호; 6,890,741호; 6,913,884호 또는 6,355,431호 또는 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0053980 A1호; 2009/0186349 A1호 또는 2005/0181440 A1호에 기재된 것을 포함한다. 예를 들어, 표지를 갖는 표적 프로브로의 포획 프로브의 하이브리드화에 의해 포획 프로브에 표지가 보충될 수 있다. 또 다른 예에서, 표지는 포획 프로브가 표지된 올리고뉴클레오티드로의 라이게이션(예를 들어, 리가제 활성을 통한) 또는 표지된 뉴클레오티드의 첨가(예를 들어, 중합효소 활성을 통한)에 의해 연장될 수 있도록 포획 프로브에 표적 프로브를 하이브리드화시킴으로써 포획 프로브에 보충될 수 있다.

[0063] 핵산 어레이는 또한 시퀀싱 절차, 예를 들어, 합성을 통한 시퀀싱(SBS) 기술에서 사용될 수 있다. 간단히, SBS는 표적 핵산과 하나 이상의 표지된 뉴클레오티드, DNA 중합효소 등을 접촉시킴으로써 개시될 수 있다. 프라이머가 주형으로서 표적 핵산을 이용하여 연장되는 상기 특징부는 검출될 수 있는 표지된 뉴클레오티드를 포함할 것이다. 임의로, 표지된 뉴클레오티드는 뉴클레오티드가 프라이머에 첨가된 후 추가의 프라이머 신장을 종결시키는 가역적 종결 특성을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 모이어티를 제거하기 위해 차단제거제(deblocking agent)가 전달될 때까지 이후의 신장이 발생할 수 없도록 가역적 종결자 모이어티를 갖는 뉴클레오티드 유사체가 프라이머에 첨가될 수 있다. 따라서, 가역적 종결을 이용하는 구체예에 대해, 차단제거 시약이 플로우 셀(검출이 발생하기 전 또는 후)에 전달될 수 있다. 다양한 전달 단계 사이에 세척이 수행될 수 있다. 이후, n개의 뉴클레오티드까지 프라이머를 연장시키기 위해 상기 주기가 n회 반복될 수 있고, 이에 의해 길이 n의 서열이 검출될 수 있다. 본 발명의 개시의 방법에 의해 생성되는 어레이와 함께 사용하기 위해 용이하게 적합화될 수 있는 예시적 SBS 절차, 유체 시스템 및 검출 플랫폼은, 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Bentley et al., *Nature* 456:53-59 (2008)], WO 04/018497호; WO 91/06678호; WO 07/123744호; 미국 특허 번호 7,057,026호; 7,329,492호; 7,211,414호; 7,315,019호 또는 7,405,281호, 및 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0108082 A1호에 기재되어 있다.

[0064] 주기적 반응을 이용하는 다른 시퀀싱 절차, 예를 들어, 피로시퀀싱이 이용될 수 있다. 피로시퀀싱은 특정 뉴클레오티드가 초기 핵산 가닥으로 혼입됨에 따라 무기 피로포스페이트(PPi)의 방출을 검출한다(Ronaghi, et al., *Analytical Biochemistry* 242(1), 84-9 (1996); Ronaghi, *Genome Res.* 11(1), 3-11 (2001); Ronaghi et al. *Science* 281(5375), 363 (1998); 미국 특허 번호 6,210,891호; 6,258,568호 및 6,274,320호, 각각은 참조로서 본원에 포함됨). 피로시퀀싱에서, 방출된 PPi는 ATP 설포릴라제(sulfurylase)에 의해 아데노신 트리포스페이트(ATP)로 전환됨으로써 검출될 수 있고, 생성된 ATP는 루시페라제-생성된 광자를 통해 검출될 수 있다. 따라서, 시퀀싱 반응은 발광 검출 시스템을 통해 모니터링될 수 있다. 형광 기반 검출 시스템에 사용되는 여기 방사선원이 피로시퀀싱 절차에 필요하지는 않다. 본 발명의 개시의 어레이로의 피로시퀀싱의 적용을 위해 이용될 수 있는 유용한 유체 시스템, 검출기 및 절차는, 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 WIPO 특허 출원 일련 번호 PCT/US11/57111호, 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0191698 A1호, 미국 특허 번호 7,595,883호, 및 미국 특허 번호 7,244,559호에 기재되어 있다.

[0065] 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Shendure et al. *Science* 309:1728-1732 (2005)]; 미국 특허 번호 5,599,675호; 및 미국 특허 번호 5,750,341호에 기재된 것을 포함하는 라이게이션을 통한 시퀀싱 반응

이 또한 유용하다. 일부 구체에는, 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Bains et al., *Journal of Theoretical Biology* 135(3), 303-7 (1988); Drmanac et al., *Nature Biotechnology* 16, 54-58 (1998); Fodor et al., *Science* 251(4995), 767-773 (1995)]; 및 WO 1989/10977호에 기재된 것과 같은 하이브리드화를 통한 시퀀싱 절차를 포함할 수 있다. 라이게이션을 통한 시퀀싱 및 하이브리드화를 통한 시퀀싱 절차 둘 모두에서, 겔-함유 웰(또는 다른 오목한 특징부)에 제공되는 핵산은 반복된 주기의 올리고뉴클레오타이드 전달 및 검출에 적용된다. 본원에 기재된 바와 같거나, 본원에 인용된 참조에서의 SBS 방법을 위한 유체 시스템은 라이게이션을 통한 시퀀싱 또는 하이브리드화를 통한 시퀀싱 절차를 위한 시약의 전달을 위해 용이하게 적합화될 수 있다. 통상적으로, 올리고뉴클레오타이드는 형광 표지되고, 본원 또는 본원에 인용된 참조에서의 SBS 절차에 관하여 기재된 것과 유사한 형광 검출기를 이용하여 검출될 수 있다.

[0066] 일부 구체에는 DNA 중합효소 활성의 실시간 모니터링을 수반하는 방법을 이용할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오타이드 혼입은 형광단을 갖는 중합효소와 γ -포스페이트-표지된 뉴클레오타이드 사이의 형광 공명 에너지 전달(FRET) 상호작용을 통해, 또는 제로모드 웨이브가이드(zeromode waveguide)를 이용하여 검출될 수 있다. FRET-기반 시퀀싱을 위한 기술 및 시약은, 예를 들어, 개시내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Levene et al., *Science* 299, 682-686 (2003); Lundquist et al., *Opt. Lett.* 33, 1026-1028 (2008); Korfach et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 1176-1181 (2008)]에 기재되어 있다.

[0067] 본 발명의 개시의 어레이를 위한 또 다른 유용한 적용은 유전자 발현 분석이다. 유전자 발현은 RNA 시퀀싱 기술, 예를 들어, 디지털 RNA 시퀀싱으로 언급되는 것을 이용하여 검출되거나 정량될 수 있다. RNA 시퀀싱 기술은 당 분야에 공지된 시퀀싱 방법, 예를 들어, 상기 기재된 것을 이용하여 수행될 수 있다. 유전자 발현은 또한 어레이로의 직접적 하이브리드화에 의해 수행되는 하이브리드화 기술을 이용하거나 다중 검정을 이용하여 검출되거나 정량될 수 있고, 이의 생성물은 어레이 상에서 검출된다. 본 발명의 개시의 어레이는 또한 하나 이상의 개체로부터의 유전체 DNA 샘플에 대해 유전형을 결정하기 위해 이용될 수 있다. 본 발명의 개시의 어레이에서 수행될 수 있는 어레이-기반 발현 및 유전자형 분석을 위한 예시적 방법은 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 7,582,420호; 6,890,741호; 6,913,884호 또는 6,355,431호 또는 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0053980 A1호; 2009/0186349 A1호 또는 2005/0181440 A1호에 기재되어 있다.

[0068] 본 발명의 개시의 어레이에 대한 여러 적용이 상상할 검출의 상황에서 상기 예시되었으며, 여기서 표적 핵산의 다수의 카피가 각각의 특징부에 제공되고 함께 검출된다. 대안적 구체예에서, 표적 핵산이거나 이의 앰플리콘 이진 간에 단일 핵산이 각각의 특징부에서 검출될 수 있다. 예를 들어, 겔-함유 웰(또는 다른 오목한 특징부)은 검출되는 표적 뉴클레오타이드 서열을 갖는 단일 핵산 분자를 함유하도록 형성될 수 있다. 예를 들어, 증가된 해상도로 부위를 검출하기 위해 상기 기재된 상상할 검출 기술의 변형을 포함하거나 더욱 민감한 표지를 이용하는 다양한 단일 분자 검출 기술 중 임의의 기술이 이용될 수 있다. 이용될 수 있는 단일 분자 검출 방법의 다른 예는 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0312529 A1; 미국 일련 번호 61/578,684호; 및 미국 일련 번호 61/540,714호에 기재되어 있다.

[0069] 본원에서 사용되는 용어 "웰"은 표면의 간극 영역(들)에 의해 완전히 둘러싸이는 표면 구멍을 갖는 고체 지지체 내의 별개의 오목한 특징부를 나타낸다. 웰은 표면 내의 이들의 구멍에서 원형, 타원형, 사각형, 다각형, 별모양 형태(임의의 수의 정점을 가짐) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 형태 중 임의의 형태를 가질 수 있다. 표면과 수직을 취하는 웰의 단면은 곡선을 갖거나, 사각형이거나, 다각형이거나, 쌍곡선이거나, 원뿔형이거나, 각진 형태 등일 수 있다.

[0070] 고체 지지체와 관련하여 사용되는 경우 본원에서 사용되는 용어 "오목한 특징부"는 고체 지지체 내의 오목 또는 함입을 나타낸다. 예시적인 오목한 특징부는 웰, 피트, 구멍, 침하, 채널, 또는 골을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 오목한 특징부는 임의로 곡선 모양의 단면(고체 지지체의 표면에 수직인 치수 내)을 가질 수 있으나, 하나 이상의 선형 섹션, 각 또는 모서리를 갖는 단면이 또한 가능하다. 곡선 모양 및 선형 섹션의 조합을 갖는 단면이 또한 가능하다. 일반적으로, 오목한 특징부는, 예를 들어, 기판 내에 하부 표면 또는 포인트를 갖는 대신 고체 지지체를 통해 완전히 통과할 필요는 없다.

[0071] 하기 기재되고 청구항에 열거된 구체에는 상기 정의에 비추어 이해될 수 있다.

[0072] 실시예 1

[0073] 패턴화되지 않은 표면 상의 국소화된 SPR

[0074] 본 실시예는 고체 표면 상의 증폭된 DNA(DNA "클러스터")의 형광 강도를 증가시키기 위한 국소화된 표면 플라스

몬 공명(SPR)의 이용을 기재한다. 본 실시예에서, 결과는 Au 나노입자로 스파이킹(spiking)된 실란-비함유 아크릴아미드(SFA)로 코팅된 패턴화되지 않은 유리 표면에 제시된다. 이후, DNA 클러스터가 상기 표면에서 증폭되었다.

[0075] 예시적 워크플로우(workflow)가 도 1에 제시된다. 제시된 첫번째 패널에서, Au 나노입자(10)로 스파이킹된 SFA가 유리 표면(14) 상에 코팅되고, 증폭 프라이머(제시되지 않음)가 SFA에 이식된다. 제시된 두번째 패널에서, 주형 DNA(18)가 표면 또는 겔 물질 상에 시딩된다. 시딩된 주형 DNA(18)는 이후 세번째 패널에 제시된 바와 같이 표면 상에서 증폭되어 증폭된 DNA의 클러스터(20)를 형성하고, 일부 클러스터는 Au 나노입자(10) 상에 직접 형성되는 반면, 다른 클러스터는 Au 나노입자를 함유하지 않는 표면의 일부 상에 형성된다. 네번째 패널에 제시된 바와 같이, 각각의 클러스터로부터의 형광(22)은 합성 반응에 의한 시퀀싱 동안 검출된다. Au 나노입자에 대한 근접은 Au 나노입자와 근접하지 않은 클러스터로부터 방출된 신호에 비해 향상된 형광을 발생시킨다.

[0076] 도 1에 기재된 워크플로우를 8개의 레인을 갖는 D263 유리 플로우 셀 표면 상에서 수행하였다. 레인 1, 2는 대조군 레인(나노입자 없음)이었다. 레인 3-6은 50 nM 농도의 6nm 구형 Au 나노입자로 스파이킹되었다. 높은 Au NP 농도는 이들 레인에서 제자리 코팅된 SFA의 중합을 방지하여 이식을 방지하였다. 레인 7, 8은 10 nM 농도의 Au 나노입자로 스파이킹된 SFA로 코팅되었다. 더 높은 형광 강도가 대조군 레인에 비해 레인 7, 8로부터 관찰될 수 있었다. 시퀀싱 결과는 염기 A에 대한 강도가 대조군 레인에 비해 ~27% 증가한 것을 나타내었다. 대조군 레인에 비해 모든 4개의 염기에 대해 강도에서의 평균 ~24% 증가가 관찰되었다.

[0077] 이들 데이터는 Au 나노입자와 근접한 클러스터가 국소화된 표면 플라스몬을 유도하는 입사광과 밑에 있는 Au 나노입자의 상호작용으로 인해 향상된 형광을 나타내는 것을 입증한다. 나노입자와 근접하지 않은 클러스터는 상기 향상된 형광을 나타내지 않았다.

[0078] 실시예 2

[0079] 나노입자로 패턴화된 기관 상에서의 향상된 형광

[0080] 플라스몬 나노구조는 또한 향상된 형광을 위해 패턴화된 나노웰 기관과 조합될 수 있다. 본 실시예에서, 형광 향상이 나노웰 중 나노입자를 이용하여 달성되었다. 나노입자는 신규 Sn/Au 리플로우 접근법을 이용하여 나노웰에서 형성되었다. 도 3a에 예시된 바와 같이, Sn/Au의 균일한 필름이 먼저 나노웰 기관 상에 코팅된 후, 400 °C에서 열 어닐링 과정이 수행되었고, 이는 필름의 작은 나노입자로의 리플로우를 발생시켰다(도 3b 및 3c 참조). 최초 필름 두께를 조절함으로써, 나노입자 크기가 조작되었다. 이의 예는 각각 >50 nm 직경의 입자 및 <30 nm의 입자를 발생시키는 각각의 6 nm 및 10 nm의 시작 필름 두께에 대해 도 3b 및 3c에 제시되어 있다.

[0081] 나노입자 형성 후, 간극 영역으로부터 나노입자를 제거하여 웰 내에만 입자를 발생시키기 위해 기계적 폴리싱을 이용하였다. 이러한 기술의 한 장점은 나노입자가 모든 웰에 로딩된다는 사실로부터 발생하는 로딩 효율이다. 이러한 기술의 추가 장점은 나노입자 크기의 광범위한 분포가 단일한 나노입자 크기를 이용하여 통상적으로 달성되는 바와 같은 작은 범위의 파장에서의 향상에 비해 광범위한 형광 향상을 제공한다는 점이다.

[0082] 상기 실험을 3개의 동일한 플로우셀에서 3회 반복하였다. 3개의 별개의 실험에서, 나노웰 중 직경 ~ 50 nm 이상의 나노입자에 해당하는 대조군 D263에 비해 ~ 6nm 두께의 Sn/Au 영역에서 4개 모두의 염기에 대해 형광 향상이 관찰되었다. 평균적으로, 이들 실험에서 염기 강도는 대조군에 비해 ~37% 증가하였으며, C, G, T는 강한 향상을 겪었으나, A는 더 약한 향상을 겪었다. 더 작은 <30 nm 나노입자에 해당하는 ~10 nm 두께의 Sn/Au 영역에서 형광 향상이 관찰되지 않았다.

[0083] 도 6 및 7에는 예시적 결과가 기재되어 있다. 도 6에는 등은 증폭 후 SBS 시퀀싱을 이용한 시퀀싱 결과가 기재되어 있다. 합성을 통한 시퀀싱을 26주기로 수행하였고, Sn/Au 증착이 결여된 대조 영역과 비교하였다. 4개의 형광 표지된 염기 각각에 대한 주기 당 클러스터 강도를 Sn/Au 입자 두께의 함수로 측정하였다. 패턴화된 기관은 850 nm의 피치와 함께 ~500 nm 직경의 웰을 가졌다. 다양한 Sn/Au 두께를 단일 플로우셀의 다양한 영역에 증착시킨 후, 어닐링시켰다. 각각의 레인에서 다양한 필름 두께와 대조군 영역을 조합시키는 것은 동일 플로우셀의 다양한 영역으로부터의 강도의 직접적인 비교를 가능케 하였고, 이에 의해 화학 변화를 분리시켰다. 클러스터가 각각의 레인의 3개 모두의 영역에서 관찰되었고, 이는 다양한 크기의 지지체의 리플로우된 Sn/Au 나노입자가 클러스터링된 것을 입증하였다. 주기 1 및 주기 26에서 상기 영역에서의 표준화된 클러스터 강도 향상(대조군에 포함)의 비교가 도 7에 제시되어 있다. 도 6에서, 상부 라인은 6nm 입자에 대한 강도와 주기 수 사이의 관계를 예시하고, 중간 라인은 유리에 대한 강도와 주기 수 사이의 관계를 예시하고, 하부 라인은 10nm 입자에 대한 강도와 주기 수 사이의 관계를 예시한다.

- [0084] 이들 데이터는 패턴화된 표면의 웰 내의 나노입자의 증착이 합성 반응에 의한 시퀀싱 동안 형광 강도의 향상을 제공하는 것을 입증한다.
- [0085] **실시예 3**
- [0086] 금 나노플러그로 패턴화된 기관 상에서의 향상된 형광
- [0087] 본 실시예에서, 웰의 하부에 증착된 금 나노플러그를 이용한 나노웰에서 형광 강도가 향상되었다. 나노웰(62) 내의 Au 나노플러그(60)의 제작이 도 8a에 예시되어 있다. 간단히, Au를 패턴화된 플로우 셀(64) 전체에 걸쳐 증착시켜, 각각의 웰(62)의 하부 및 각각의 간극 영역(68)에 Au의 층(66)을 발생시켰다. 기계적 폴리싱은 간극 영역(68) 상에 증착된 Au를 제거하여, 웰(62)의 하부에만 Au 플러그(60)를 남겼다. 도 8b는 생성된 나노플러그의 SEM 이미지를 제시한다. 고체 금(Au) 플러그가 벽 상에서 관찰되었던 Au 나노입자를 갖는 웰의 하부 및 간극 영역에서 관찰된다. 이러한 간단한 구조는 또한 하기 기재되는 시퀀싱 실험에 의해 입증되는 바와 같이 클러스터 형광 강도의 향상을 가능케 한다.
- [0088] 합성 통한 시퀀싱 작업을 일부 레인에 나노플러그를 갖는 패턴화된 플로우셀 및 Au 증착이 걸여된 대조군 영역에 대해 수행하였다. 4개의 형광 표지된 염기 각각에 대한 주기 당 클러스터 강도를 측정하였다. 도 9b에는 나노웰 내의 어닐링된 Au 나노플러그에 대한 결과로서 발생된 클러스터 강도 향상이 요약되어 있다. 이들 데이터는 신호 강도가 웰 내의 나노플러그에 의해 향상되는 것을 입증한다.
- [0089] 다양한 구체에는 반응 부위에서 전자가 에너지를 증폭시키기 위해 하나 이상의 나노구조를 이용한다. 복수의 나노구조(예를 들어, 2개 이상의 나노구조)를 이용하는 구체예에 대해, 복수의 나노구조는 양상불 증폭기로 언급될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "나노구조" 및 "나노입자"는 1 nm와 1000 nm 사이의 임의의 정수 또는 비-정수 값을 포함하는 약 1 nm 내지 약 1000 nm의 범위 내의 가장 큰 치수(예를 들어, 높이, 폭, 직경)를 갖는 구조를 나타내기 위해 상호교환적으로 사용된다. 통상적인 구체예에서, 나노입자는 금속 입자 또는 실리콘 입자이다. 일부 구체예에서, 나노입자 코어는 20-200 nm 직경의 구형 또는 거의 구형의 입자이다. 일부 구체예에서, 상기 범위는 약 1 nm 내지 약 50 nm(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50 nm)이다.
- [0090] 비등방성 나노구조(예를 들어, 비-구형 구조)는 길이 및 폭 또는 일부 구체예에 대해 직경을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 비등방성 나노구조의 길이는 나노구조의 가장 큰 치수이다. 일부 구체예에서, 비등방성 나노입자의 길이는 나노입자가 생성된 구멍의 평면과 평행한 치수이다. 일부 구체예에서, 비등방성 나노입자의 길이는 나노입자가 생성된 구멍의 평면과 수직인 치수이다. 비등방성 나노구조의 경우에서, 나노구조는 약 50 nm 내지 약 750 nm의 범위의 폭 또는 직경을 가질 수 있다. 다른 구체예에서, 나노구조는 약 350 nm 이하의 폭 또는 직경을 갖는다. 다른 구체예에서, 나노입자는 250 nm 이하의 폭 또는 직경 및 일부 구체예에서 100 nm 이하의 폭 또는 직경을 갖는다. 일부 구체예에서, 폭 또는 직경은 15 nm 내지 300 nm이다.
- [0091] 일부 구체예에서, 나노입자는 약 10-750 nm의 길이를 갖는다. 일부 구체예에서, 나노구조는 미리 선택된 형태를 가지며, 예를 들어, 나노튜브, 나노와이어, 나노스피어, 또는 상기 기재된 치수를 포함하는 임의의 형태(예를 들어, 2차원의 삼각형, 사각형, 직사각형, 또는 다각형 형태, 또는 3차원의 입방형, 피라미드형, 원통형, 구형, 원반형, 또는 반구형 형태)일 수 있다. 나노구조의 일부 예는, 예를 들어, 보타이 나노안테나, 나노스피어, 나노피라미드, 나노셀, 나노로드, 나노와이어, 나노링, 나노플러그, 나노그레이팅 등을 포함한다. 나노구조의 미리 형성된 이합체 및 삼합체가 또한 웰로 로딩될 수 있으며, 나노입자 간격을 정확하게 조절하는 장점을 갖는다.
- [0092] 나노구조는 표면 상에 제작될 수 있거나, 미리 형성된 후, 반응 공동, 예를 들어, 웰(예를 들어, 나노웰)에 로딩될 수 있다. 상기 구조의 예는 나노웰의 하부에 제작된 플라스몬 나노플러그, 나노웰 내의 보타이 및 공동 안테나, 나노웰이 형성될 수 있는 금속 나노그레이팅, 나노웰 내에 리플로우된 나노구조 또는 상기 중 일부 또는 전부의 조합을 포함한다. 한 예는 전자 빔 증발 과정을 통해 형성된 벽 상의 나노구조를 갖는 나노웰 내의 금속 나노플러그일 것이다. 양상불 증폭기 또는 작제물(이합체, n-머)이 또한 반응 공동 내에 위치될 수 있다. 상기 방법은 나노구조 간격 상에서의 정확한 나노미터 이하의 조절을 가능케 하며, 상향식 자가 조립을 이용하여 대규모로 형성될 수 있다.
- [0093] 표면 상의 임의의 2개의 나노구조 사이의 간격은 임의의 거리일 수 있다. 일부 구체예에서, 간격은 입사광 에너지의 파장, 예를 들어, 형광 분광법에서의 특정 방출 또는 여기 파장의 배수일 수 있다. 간격은, 예를 들어,

1 λ , 2 λ , 3 λ , 4 λ 또는 입사광 에너지의 선택된 파장(λ)의 또 다른 배수일 수 있다. 따라서, 예로서 532 nm의 방출 파장(λ)을 이용하면, 나노구조 사이의 간격은 약 532 nm(1 λ), 약 1064 nm(2 λ), 또는 방출 파장의 또 다른 배수일 수 있다. 일부 구체예에서, 간격은 입사광 에너지의 파장, 예를 들어, 형광 분광법에서 특정 방출 또는 여기 파장의 분획일 수 있다. 간격은, 예를 들어, 1 λ , $\frac{1}{2}$ λ , $\frac{1}{3}$ λ , $\frac{1}{4}$ λ 또는 입사광 에너지의 선택된 파장의 또 다른 배수일 수 있다. 따라서, 예로서 532 nm의 방출 파장(λ)을 이용하면, 나노구조 사이의 간격은 약 532 nm(1 λ), 266 nm($\frac{1}{2}$ λ), 133 nm($\frac{1}{3}$ λ) 또는 방출 파장의 또 다른 분획일 수 있다.

[0094] 일부 구체예에서, 나노구조는 "플라스몬 나노구조" 또는 "나노플라스몬 구조"로 언급될 수 있다. 이들 용어는 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 나노구조, 나노구조 및 나노구조의 조합물 또는 회합물을 모두 포함하는(이에 제한되지는 않음) 구조의 플라스몬 공명 특징을 나타내는 임의의 독립적인 구조를 나타낸다.

[0095] 본원에서 사용되는 용어 "나노안테나"는 전자기 에너지, 예를 들어, 광 에너지를 증폭시키는 작용을 하는 나노구조 또는 복수의 나노구조(또는 앙상블 증폭기)를 포함한다. 본원에서 사용되는 나노안테나(또는 앙상블 증폭기)는 플라스몬 공명 특징을 반드시 나타내지는 않는다. 일부 구체예에서, 나노안테나는 플라스몬 공명 물질을 실질적으로 포함하지 않는다. 따라서, 일부 구체예에서, 비-금속 물질로 제조되나, 전자기 에너지의 증폭 특징을 나타내는 나노안테나가 제공된다. 본원에 제공된 나노구조는 요망되는 에너지 증폭을 발생시키기 위한 임의의 적합한 형태 및 크기일 수 있다. 나노안테나의 일부 예시적 형태는, 예를 들어, 보타이 나노안테나, 나노스피어, 나노피라미드, 나노셸, 나노로드, 나노와이어, 나노링, 나노플러그, 나노그레이팅 등을 포함한다. 고체 지지체 상의 나노안테나의 제작 및/또는 증착에 다수의 공지된 방법 중 임의의 방법이 적합할 수 있음이 인지될 것이다. 나노안테나의 제작을 위한 방법은 당 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 나노입자 제작 및 증착을 위해 본원에 기재된 방법을 포함한다.

[0096] 나노구조는 본원에 기재된 방법 및 조성물에서 사용하기에 적합한 임의의 물질, 예를 들어, 표면 플라스몬 공명 (SPR)을 나타내는 임의의 유형의 물질을 포함할 수 있다. 특정한 바람직한 구체예에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질을 포함한다. 예로는 금속 나노구조를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 나노구조는 금속, 예를 들어, 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), 또는 임의의 다른 적합한 금속 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 나노구조는 단일 물질, 예를 들어, 단일 금속으로부터 형성될 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 나노구조는 2개 이상의 상이한 물질, 예를 들어, 2개 이상의 금속의 조합으로부터 형성될 수 있다. 예를 들어, 나노구조는 금속/금속 혼합물, 예를 들어, Sn/Au 또는 Ag/Au를 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 수직 층화된 나노구조, 예를 들어, 금속-절연체-금속 타입의 다층 구조가 적용될 수 있다. 예로는 p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드를 포함한다. 특정 구체예에서, 나노구조는 플라스몬 공명 물질 및/또는 금속 물질에 의해 코팅되는 중합체로부터 형성될 수 있다.

[0097] 고체 지지체 상의 나노구조의 형성은 당 분야에 공지된 다수의 방법 중 어느 하나를 이용하여 수행될 수 있다. 나노구조는 시퀀싱 기판 상의 플라스몬 나노구조 및 나노-안테나의 상향식 자가 조립을 이용하여 형성될 수 있다. 예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Gaspar et al. (Scientific Reports, 2013, 3, 1469)]에 기재된 것과 같은 물질 층의 증착을 위한 다수의 방법 중 어느 하나가 이용될 수 있다. 나노구조를 형성시키기 위해 이용될 수 있는 층-제작 과정은 포토리소그래피, 식각, 스퍼터링(sputtering), 증발, 주조(예를 들어, 회전 코팅), 화학적 증기 증착, 전착(electrodeposition), 에피택시(epitaxy), 열 산화, 물리적 증기 증착 등을 포함한다. 일부 구체예에서, 나노구조는 섀도우(shadow) 기술을 이용하여 형성될 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 나노리소그래피, 예를 들어, 나노임프린트 리소그래피(NIL)를 이용하여 형성될 수 있다.

[0098] 본원에 기재된 예시적 구체예에서, 나노구조는 미리 형성되고, 콜로이드-유사 조성물에서 겔 물질과 혼합될 수 있고, 이는 표면 상에 증착된다. 대안적으로 또는 추가로, 나노구조가 표면 상에 먼저 증착된 후, 나노구조 위에 겔 물질이 증착될 수 있다. 다른 구체예에서, 겔 물질이 표면 상에 증착될 수 있고, 나노구조가 겔 물질 상에 증착된다.

[0099] 일부 구체예에서, 나노구조는 고체 표면의 웰(또는 오목한 특징부) 내에 형성된다. 시작 물질, 예를 들어, Sn/Au의 필름이 나노웰을 함유하는 고체 표면 상에 증착될 수 있고, 이후 열 어닐링될 수 있다. 일부 구체예에서, 필름이 별개의 입자에 정착됨에 따라 나노구조의 형성을 촉진하기 위해 열 어닐링이 이용될 수 있다. 나노입자 크기는 시작 필름 두께의 함수일 수 있다. 열 어닐링 후의 추가의 폴리싱 단계는 나노구조가 실질적으로 결여된 간극 영역을 남기면서 웰 내에만 나노구조를 발생시킬 수 있다. 간극 영역 내의 나노구조는, 예를

들어, 화학적 및/또는 기계적 폴리싱을 통해 제거될 수 있다. 나노입자 크기의 분포가 각각의 나노웰에서 관찰되며, 이는 광범위한 형광 향상을 가능케 한다.

[0100] 일부 구체예에서, 나노구조, 예를 들어, 나노링은 표면 상의 웰(또는 오목한 특징부)의 벽을 따라 형성될 수 있다. 나노구조는 당 분야에 공지된 다수의 방법 중 어느 하나를 이용하여 제작될 수 있다. 예를 들어, Au는 스퍼터 증착을 이용하여 증착될 수 있다. 구체예에서, ~65 nm Au 층의 등각 증착(conformal deposition)에 이어 반응성 이온 식각(RIE) 과정이 후속될 수 있다. 나머지 Au 층이 나노웰의 벽을 따라 위치되어, 나노웰 각각에 나노링을 형성시켰다.

[0101] 용어 "여기 광" 및 "광 방출"은 전자기 에너지를 의미하고, 전자기 에너지를 구별하기 위해 이용된다. 여기 광은 일반적으로 반응 부위로부터 떨어진 거리에 위치되는 광원(예를 들어, 레이저)으로부터 제공된다. 예를 들어, 반응 공동을 포함하는 구체예에 대해, 광원은 반응 공동의 외부에 위치될 수 있다. 그러나, 광 방출은 통상적으로 반응 부위 또는 반응 부위 내의 방출체에 의해 발생된다. 방출체는, 예를 들어, 형광단일 수 있다. 특정 구체예는 300 nm 내지 750 nm의 임의의 파장(예를 들어, 300 nm, 301 nm, 302 nm, 303 nm, 304 nm, 305 nm, 306 nm, 307 nm, 308 nm... 745 nm, 746 nm, 747 nm, 748 nm, 749 nm, 및 750 nm)의 전자기 에너지를 증폭시키도록 형성될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "파장"은 "단일 파장" 또는 "단일 하나의 파장"을 구성하도록 명백히 언급되지 않는 한 단일 파장으로 제한되지 않는다. 대신, 용어 "파장"은 요망되는 파장 또는 표적 파장 근처에 위치한 파장의 협소한 범위(예를 들어, $532\text{ nm} \pm 10\text{ nm}$, $532\text{ nm} \pm 5\text{ nm}$, $660\text{ nm} \pm 10\text{ nm}$, $660\text{ nm} \pm 5\text{ nm}$)를 포함한다.

[0102] 각각의 양상블 증폭기의 나노구조는 지정된 방식으로 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 서로 관련되어 형성될 수 있다. 예를 들어, 해당 양상블 증폭기의 나노구조를 분리시키는 거리는 증폭되는 것이 요망되는 전자기 에너지를 기초로 할 수 있다. 양상블 증폭기의 나노구조는 특정 파장(예를 들어, 협소한 대역의 파장)에 대해 형성될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 구체예는 532 nm의 파장을 갖는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 형성될 수 있다. 하나 이상의 구체예는 660 nm의 파장을 갖는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 형성될 수 있다. 일부 구체예에서, 양상블 증폭기는 다수의 파장 또는 더 넓은 범위의 파장을 증폭시킬 수 있다.

[0103] 일부 구체예에서, 양상블 증폭기는 편광된 형태를 가져 반응 부위로부터의 반응이 전자기 에너지의 편광에 기초하도록 한다. 예를 들어, 양상블 증폭기는 하나 이상의 소정의 편광을 갖는 전자기 에너지에 우선적으로 반응하도록 형성될 수 있다. 양상블 증폭기가 소정의 편광을 갖는 전자기 에너지에 의해 조명되는 경우, 광 방출은 전자기 에너지가 소정의 편광을 갖지 않는 경우의 광 방출의 신호 강도보다 큰 신호 강도를 가질 수 있다. 예를 들어, 양상블 증폭기가 소정의 편광을 갖는 전자기 에너지에 의해 조명되는 경우, 광 방출은 X인 신호 강도를 가질 수 있다. 이러한 예에서, 양상블 증폭기는 소정의 편광을 갖는 전자기 에너지와 본질적으로 평행한 쌍극자 모멘트를 가질 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 실질적 평행은 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 30^\circ$ 일 수 있다. 일부 구체예에서, 실질적 평행은 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 25^\circ$ 또는 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 20^\circ$ 일 수 있다. 특정 구체예에서, 본질적 평행은 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 15^\circ$ 또는 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 10^\circ$ 일 수 있다. 더욱 특정된 구체예에서, 본질적 평행은 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 8^\circ$, 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 5^\circ$, 또는 쌍극자 모멘트에 대한 평행으로부터 $\pm 3^\circ$ 일 수 있다.

[0104] 양상블 증폭기가 소정의 편광을 갖지 않는 전자기 에너지에 의해 조명되는 경우, 광 방출은 쌍극자 모멘트가 전자기 에너지에 대해 본질적으로 평행한 경우의 신호 강도보다 0.4X 이하(40% 이하)인 신호 강도를 가질 수 있다. 이러한 예에서, 양상블 증폭기는 소정의 편광을 갖는 전자기 에너지에 대해 본질적으로 수직인 쌍극자 모멘트를 가질 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같은 본질적 수직은 쌍극자 모멘트에 대한 수직(90°)으로부터 $\pm 30^\circ$ 일 수 있다. 일부 구체예에서, 본질적 수직은 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 25^\circ$ 또는 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 20^\circ$ 일 수 있다. 일부 구체예에서, 본질적 수직은 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 15^\circ$ 또는 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 10^\circ$ 일 수 있다. 더욱 특정된 구체예에서, 본질적 수직은 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 8^\circ$, 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 5^\circ$, 또는 쌍극자 모멘트에 대한 수직으로부터 $\pm 3^\circ$ 일 수 있다.

[0105] 도 10은 구체예에 따라 형성된 구조화된 기판(100)의 일부의 단면이다. 구조화된 기판(100)은 고체 지지체로도 언급될 수 있는 기판 본체(102)를 포함한다. 기판 본체(또는 고체 지지체)(102)는 활성면(104)을 갖는다. 활성면(104)은 복수의 반응면(106) 및 반응면(106) 사이에 걸쳐 있는 측면 표면(105)을 포함한다. 제시된 바와 같이, 반응 부위(106)는 반응 공동 또는 웰(예를 들어, 나노웰)이다. 따라서, 반응 부위(106)는 이하 반응 공

동(106)으로 언급될 것이나, 다른 구체예가 반응 부위를 포함할 수 있음이 이해된다. 반응 공동(106)은 본원에 기재된 나노웰과 유사한 치수를 가질 수 있다. 예를 들어, 반응 공동(106)은 측면 측(191)을 따라 측정된 직경 또는 폭을 가질 수 있다. 반응 공동의 직경 또는 폭은 5000 nm 미만일 수 있다. 일부 구체예에서, 반응 공동의 직경 또는 폭은 4000 nm 미만, 3000 nm 미만, 2000 nm 미만, 또는 1000 nm 미만이다. 특정 구체예에서, 반응 공동의 직경 또는 폭은 900 nm 미만, 800 nm 미만, 700 nm 미만, 또는 600 nm 미만이다. 더욱 특정한 구체예에서, 반응 공동의 직경 또는 폭은 550 nm 미만, 500 nm 미만, 450 nm 미만, 또는 400 nm 미만이다. 더욱 특정한 구체예에서, 반응 공동의 직경 또는 폭은 350 nm 미만, 300 nm 미만, 250 nm 미만, 200 nm 미만, 150 nm 미만, 또는 100 nm 미만이다. 본원에 기재된 반응 부위는 유사한 직경 또는 폭을 가질 수 있다.

[0106] 반응 공동(106)은 기관 본체(102)의 간극 영역(118)에 의해 서로 떨어져 있다. 간극 영역(118)은 활성면(104)을 따른 영역이거나, 서로로부터 반응 공동(106)을 분리시키는 기관 본체(102)의 일부이다. 측면 표면(105)은 간극 영역(118)을 따라 걸쳐 있다. 일부 구체예에서, 복수의 반응 공동(106)은 인접한 반응 공동(106)이, 예를 들어, 1000 nm 미만까지 분리되도록 반응 부위(106)의 밀집 어레이를 형성한다. 더욱 특정한 구체예에서, 인접한 반응 공동(106)은 900 nm 미만, 800 nm 미만, 700 nm 미만, 또는 600 nm 미만까지 분리되어 있을 수 있다. 더욱 특정한 구체예에서, 인접한 반응 공동(106)은 500 nm 미만, 400 nm 미만, 300 nm 미만, 또는 200 nm 미만까지 분리되어 있을 수 있다. 더욱 특정한 구체예에서, 인접한 반응 공동(106)은 150 nm 미만, 100 nm 미만, 또는 50 nm 미만까지 분리되어 있을 수 있다. 본원에 기재된 반응 부위는 유사한 분리 거리를 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 인접한 반응 공동(106) 사이의 중심 간격(center-to-center spacing)(119)은 1000 nm 미만일 수 있다. 더욱 특정한 구체예에서, 중심 간격(119)은 700 nm 미만, 600 nm 미만, 500 nm 미만, 또는 450 nm 미만일 수 있다. 더욱 특정한 구체예에서, 중심 간격(119)은 400 nm 미만, 350 nm 미만, 300 nm 미만, 250 nm 미만, 또는 200 nm 미만일 수 있다. 본원에 기재된 반응 부위는 중심 간격을 가질 수 있다.

[0107] 예시된 구체예에서, 간극 영역(118)은 연속적인 평면의 측면 표면(105)을 형성하나, 간극 영역(118)은 다른 구체예에서 비-평면 표면을 포함할 수 있다. 간극 영역(118)은 반응 공동(106)의 물질과 상이한 표면 물질을 포함할 수 있고, 서로로부터 반응 공동(106)을 기능적으로 분리시킬 수 있다. 예시된 구체예에서, 단지 2개의 반응 공동(106)이 활성면(104)을 따라 제시된다. 그러나, 반응 공동(106)이 수백, 수천, 또는 수백만 개의 반응 공동(또는 부위)을 포함할 수 있는 반응 부위의 어레이의 일부일 수 있음이 이해되어야 한다.

[0108] 반응 공동(106)은 통상적으로 활성면(104)을 따라 침하 또는 함입을 형성하는 오목한 특징부이다. 반응 공동(106)은, 예를 들어, 웰, 피트, 채널, 골 등일 수 있다. 그러나, 다른 구체예는 공동 내에 위치되지 않은 반응 부위를 포함할 수 있음이 이해되어야 한다. 예를 들어, 반응 부위는 평면 표면을 따라 분포될 수 있다. 상기 구체예는 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 가출원 번호 61/920,244호에 기재되어 있다.

[0109] 기관 본체(102)는 하나 이상의 적층된 층으로부터 형성될 수 있다. 예시된 구체예에서, 기관 본체(102)는 베이스 층(112) 및 공동 층(114)을 포함한다. 베이스 층(112)은, 예를 들어, 유리(SiO_2) 웨이퍼일 수 있다. 공동 층(114)은 중합체일 수 있다. 그러나, 기관 층(102)은 대안적 구체예에서 다른 층을 포함할 수 있다.

[0110] 본원에서 사용되는 용어 "층"은 달리 기재되지 않는 한 물질의 단일한 연속체로 제한되지는 않는다. 예를 들어, 각각의 층은 동일하거나 상이한 물질의 다수의 하위층으로 형성될 수 있다. 또한, 각각의 층은 그 안에 위치되거나 이를 통해 연장되어 위치된 상이한 물질의 하나 이상의 특징부를 포함할 수 있다. 상이한 층은 공지된 층-제작 과정, 예를 들어, 포토리소그래피, 식각, 스퍼터링, 증발, 주조(예를 들어, 회전 코팅), 화학적 증기 증착, 전착(electrodeposition), 에피택시(epitaxy), 열 산화, 물리적 증기 증착 등을 이용하여 형성될 수 있다. 하나 이상의 층은 또한 나노리소그래피, 예를 들어, 나노임프린트 리소그래피(NIL)를 이용하여 형성될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "작업 기관"은 층의 적어도 하나가 처리되어 작업 기관으로부터 구조화된 기관을 형성하는 하나 이상의 적층된 층을 포함한다. 작업 기관은 하나 이상의 다른 요소를 수용하여 구조화된 기관을 형성하도록 형성되는 고체 지지체 또는 기관 본체를 형성할 수 있다. 예를 들어, 작업 기관은 나노입자 및/또는 유기 물질(예를 들어, 젤 물질)을 수용하여 구조화된 기관을 형성할 수 있다.

[0111] 도 10에 제시된 바와 같이, 반응 공동은 활성면(104)에 수직을 취하는 단면을 갖는다. 단면은 곡선의 단면, 선형의 단면, 각, 모서리를 포함할 수 있다. 일반적으로, 반응 공동은 하나 이상의 층을 통해 완전히 통과할 필요는 없다. 예를 들어, 반응 공동(106) 각각은 활성면(104)과 반응 공동(106)의 하부 표면(126) 사이에 걸쳐 있는 적어도 하나의 측벽(124)을 갖는다. 측벽(124) 및 하부 표면(126) 둘 모두는 공동 층(114)에 의해 규정된다. 대안적 구체예에서, 베이스 층(112)(또는 다른 층)은 반응 공동(106)의 하부(126)를 규정할 수 있다.

[0112] 반응 공동(106)은 반응 공동(106)이 활성면(104)을 따라 접근 가능하도록 활성면(104)에 대해 개방되어 있다.

예를 들어, 반응 공동(106)은 구조화된 기관(100)의 제조 동안 또는 구조화된 기관(100)이 분석 동안 사용되는 경우 활성면(104)을 따라 겔 물질 및/또는 유체를 수용할 수 있다. 활성면(104)은 또한 광원(제시되지 않음)으로부터 여기 광(108)을 수용할 수 있고/있거나 반응 공동으로부터의 광 방출(110)을 검출하는 광학 성분(제시되지 않음), 예를 들어, 대물 렌즈를 대면할 수 있다.

[0113] 반응 공동(106) 각각은 적어도 하나의 나노구조(116)를 포함할 수 있다. 간극 영역(118)에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있을 수 있다. 도 10의 예시된 구체예에서, 반응 공동(106) 각각은 복수의 나노구조(116)를 포함한다. 그러나, 대안적 구체예가 단지 하나의 나노구조를 포함할 수 있음이 이해되어야 한다. 복수의 나노구조(116)는 이하 양상블 증폭기(120)로 언급되는 나노구조의 양상블을 형성할 수 있다. 양상블 증폭기(120)는 반응 공동(106)의 각각 내에 위치되고, 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된다.

[0114] 본원에서 사용되는 "나노구조의 양상블" 또는 "양상블 증폭기"는 별개의 부위(예를 들어, 반응 공동) 상에 입사되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 별개의 부위에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성되는 복수의 나노구조를 포함한다. 예를 들어, 전자기 에너지는 외부 환경으로부터 반응 공동(106)으로 전파되는 여기 광(108)일 수 있으며, 여기 광은 생물학적 물질과 회합된 방출체(예를 들어, 형광단)에 의해 흡수된다. 또 다른 예로서, 전자기 에너지는 생물학적 물질로부터 방출되는 광 방출(110)일 수 있다. 더욱 특히, 여기된 후, 형광단은 이후 나노구조의 양상블(120)에 의해 증폭되는 전자기 에너지(예를 들어, 광 방출(110))를 방출할 수 있다. 일부 구체예에서, 양상블 증폭기(120)는 또한 나노안테나로 언급될 수 있는데, 나노구조가 집합적으로 반응 부위로부터 떨어진 광 방출(110)을 증폭시키고 전달하는 작용을 하기 때문이다.

[0115] 양상블 증폭기는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 함께 작용하는 2개 이상의 나노구조를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 일부 구체예에서, 양상블 증폭기는 전자기 에너지의 한 유형 또는 더욱 특히 소정의 파장을 갖는 전자기 에너지를 우선적으로 증폭시키도록 형성될 수 있다. 예를 들어, 양상블 증폭기는 여기 광에 대해서보다 광 방출에 대해 더 큰 증폭 효과를 가질 수 있거나, 그 반대도 마찬가지이다. 그럼에도 불구하고, 일부 구체예에서, 양상블 증폭기는 광 방출 및 여기 광 둘 모두를 증폭시킬 수 있다.

[0116] 본원에서 사용되는 경우, 양상블 증폭기가 "전자기 에너지를 증폭시키도록 형성되는" 경우, 나노구조 각각은 양상블 증폭기가 집합적으로 전자기 에너지를 증폭시키는 작용을 하도록 하나 이상의 특성을 가질 수 있다. 특성은, 예를 들어, 나노구조의 물질 조성, 나노구조의 형태, 나노구조의 크기, 및 양상블 내의 다른 나노구조에 비한 나노구조의 위치를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인접한 나노구조(116)는 그 사이에 구속되는 전자기 에너지를 증폭시키도록 형성된 그 사이의 거리(128)를 가질 수 있다. 특정 이론으로 제한하고자 하는 것은 아니지만, 광 방출에서 발생한 증폭은 국소화된 표면 플라스몬 공명과 공명 에너지 전달 과정의 조합으로 인한 것일 수 있다.

[0117] 또한, 도 10에 제시된 바와 같이, 반응 공동(106)은 반응 공동(106) 내에 배치된 유기 물질(122)을 포함할 수 있다. 유기 물질(122)은 나노구조(116)를 덮을 수 있다. 일부 구체예에서, 유기 물질(122)은 해당 반응 공동 내에 생체분자를 유지시키거나 고정시키도록 형성된다. 예를 들어, 생체분자는 핵산일 수 있다.

[0118] 특정 구체예에서, 유기 물질(122)은 겔 물질, 예를 들어, 하이드로겔을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "겔 물질"은 액체 및 기체에 대해 투과성인 어느 정도 단단한 물질을 의미하는 것으로 의도된다. 통상적으로, 겔 물질은 액체가 겔 물질에 의해 흡수되거나 수용되는 경우 팽창할 수 있고, 액체가 겔 물질로부터 제거(예를 들어, 건조를 포함)되는 경우에 수축할 수 있다. 예시적 겔 물질은 콜로이드 구조를 갖는 겔 물질, 예를 들어, 아가로스; 중합체 메시 구조, 예를 들어, 젤라틴; 또는 가교된 중합체 구조, 예를 들어, 폴리아크릴아미드, SFA(예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0059865 A1호 참조) 또는 PAZAM(예를 들어, 참조로서 본원에 포함되는 미국 가특허 출원 일련 번호 61/753,833호 참조)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특히 유용한 겔 물질은 존재하는 반응 공동의 형태에 순응할 것이다. 일부 유용한 겔 물질은 (a) 존재하는 반응 공동의 형태에 순응할 수 있고, (b) 존재하는 반응 공동의 부피를 실질적으로 초과하지 않는 부피를 가질 수 있다.

[0119] 특정 구체예에서, 유기 물질(122)은 입체 배제가 하나 초과의 생체분자가 포획되거나 반응 공동을 시딩하는 것을 방지하도록 단지 하나의 생체분자(예를 들어, 핵산)를 수용하도록 형성되는 부피를 갖는다. 입체 배제는 핵산에 대해 특히 유용할 수 있다. 더욱 특히, 반응 공동은 기관 상에 시딩되어야 하는 표적 핵산의 배제 부피의 직경과 동등하거나 이보다 작은 영역을 갖는 유기 물질(예를 들어, 겔 물질)의 표면을 노출시킬 수 있다. 표적 핵산에 대한 배제 부피 및 이의 직경은, 예를 들어, 표적 핵산의 길이로부터 결정될 수 있다. 핵산의 배제 부

피 및 배제 부피의 직경을 결정하기 위한 방법은, 예를 들어, 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 특허 번호 7,785,790호; 문헌[Rybenkov et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 5307-5311 (1993); Zimmerman et al., *J. Mol. Biol.* 222:599-620 (1991); 또는 Sobel et al., *Biopolymers* 31:1559-1564 (1991)]에 기재되어 있다. 입체 배제를 위한 조건은 각각이 참조로서 본원에 포함되는 미국 일련 번호 13/661,524호 및 미국 특허 번호 7,785,790호에 기재되어 있으며, 이는 본 발명의 개시의 구조화된 기관에 대해 용이하게 이용될 수 있다.

[0120] 일부 구체예, 예를 들어, 입체 배제를 이용하는 구체예에서, 표적 핵산의 라이브러리는 증폭 과정의 개시 전에 겔 물질을 함유하는 반응 공동으로 전달될 수 있다. 예를 들어, 표적 핵산은 표적 핵산을 갖는 기관에 겔 물질을 시딩하기 위한 조건하에서 구조화된 기관으로 전달될 수 있다. 구조화된 기관은 임의로 겔 물질을 시딩하지 않는 표적 핵산 뿐만 아니라 구조화된 기관의 이후의 공정 또는 사용에 원치 않는 임의의 다른 물질을 제거하기 위해 세척될 수 있다.

[0121] 그럼에도 불구하고, 다른 구체예에서, 노출된 겔 물질의 영역은 증폭 부위로 운반되는 표적 핵산의 배제 부피의 직경보다 실질적으로 클 수 있음이 이해될 것이다. 따라서, 특징부에 대한 영역은 입체 배제가 발생하지 않도록 충분히 클 수 있다.

[0122] 도 10으로 돌아가서, 일부 구체예에서, 나노구조(116)는 나노구조(116)가 베이스 층(112)으로부터 반응 공동(106)으로 돌출되도록 베이스 층(112)을 따라 형성된다. 일부 구체예에서, 나노구조(116)는 공동 층(114)의 일부를 통해 걸쳐 있다. 다른 구체예에서, 하부 표면(126)은 나노구조(116)가 공동 층(114)을 통해 걸쳐 있지 않도록 베이스 층(122)의 일부에 의해 규정될 수 있다. 또한 도 10에 제시된 바와 같이, 플로우 덮개(135)가 기관 본체(102)에 마운팅될 수 있다.

[0123] 광 방출이 검출기에 의해 검출되는 프로토콜 동안, 여기 광(108)에 반응하여 광 방출이 발생할 수 있다. 대안적 구체예에서, 여기 광(108)은 제공되지 않고, 대신, 여기 광(108)은 생체분자(129)에 커플링된 방출체에 의해 발생된다. 일부 구체예에서, 나노구조(116) 중 하나를 따라 또는 2개 이상의 나노구조(116) 사이에 게인 필드(gain field)(130)가 존재한다. 게인 필드(130)는 고강도 전기장이 여기 광 및/또는 광 방출에 반응하여 나노구조(116)에 의해 발생하는 공간을 나타낼 수 있다. 일부 적용에서, 나노구조(116)는 방출체가 여기 광에 의해 전압이 가해지고, 검출을 위한 더 큰 신호 강도를 제공하도록 여기 광(108)을 증폭시킨다. 다른 적용에서, 나노구조(116)는 여기 광(108)을 증폭시키지 않으나, 광 방출(110)이 검출을 위해 더 큰 신호 강도를 제공하도록 광 방출(110)을 증폭시킨다. 그러나, 일부 적용에서, 나노구조(116)는 여기 광(108)의 더 큰 강도가 방출체에 경험되고, 광 방출(110)의 더 큰 강도가 방출체에 의해 제공되도록 여기 광(108) 및 광 방출(110) 둘 모두를 증폭시킬 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 구체예는 나노구조 또는 앙상블 증폭기를 포함하지 않는 공지된 시스템에 비해 영상화 시스템 또는 장치에 의해 검출하기에 더 용이한 더 큰 신호 강도를 제공할 수 있다.

[0124] 본 출원은 지정된 반응을 검출하거나 분석하기 위해 이용될 수 있는 구조화된 기관을 제조하거나 제작하기 위한 다양한 방법을 기재한다. 상기 방법의 적어도 일부는 복수의 단계로서 도면에 예시되어 있다. 그러나, 구체예는 도면에 예시된 단계로 제한되지 않음이 이해되어야 한다. 단계는 생략될 수 있고/있거나, 단계는 변형될 수 있고/있거나, 다른 단계가 추가될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 일부 구체예는 단지 2개의 층을 포함할 수 있으나, 다른 구체예는 3, 4개 이상의 층을 포함할 수 있다. 또한, 본원에 기재된 단계는 조합될 수 있거나, 단계는 동시에 수행될 수 있거나, 단계는 공동으로 수행될 수 있거나, 단계는 다수의 하위단계로 나누어질 수 있거나, 단계는 다양한 순서로 수행될 수 있거나, 단계(또는 일련의 단계)는 반복 방식으로 재수행될 수 있다. 또한, 다양한 방법이 본원에 기재되어 있으나, 다양한 방법(또는 다양한 방법의 단계)은 다른 구체예에서 조합될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0125] 구조화된 기관은, 예를 들어, 미세제작 동안 집적 회로를 제조하고/하거나 나노기술을 제조하기 위해 이용될 수 있는 하나 이상의 과정을 이용하여 형성될 수 있다. 리소그래피(예를 들어, 포토리소그래피)는 본원에 기재된 구조화된 기관을 제조하기 위해 이용될 수 있는 한 부류의 기술 또는 과정이다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 층은 나노임프린트 리소그래피(NIL)를 이용하여 형성된다. 예시적 리소그래피 기술 또는 과정은 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌[Marc J. Madou, Fundamentals of Microfabrication and Nanotechnology: Manufacturing Techniques for Microfabrication and Nanotechnology, Vol. II, 3rd Edition, Part I (pp. 2-145)]에 더욱 상세히 기재되어 있다.

[0126] 구조화된 기관을 제작하기 위한 하나 이상의 방법은 또한 물질이 작업 기관으로부터 제거되는 제거 기술을 포함할 수 있다. 상기 방법은 화학적 기술, 예를 들어, 건식 화학 식각, 물리적/화학적 식각, 증기상 식각, 화학적 기계가공(CM), 비등방성 습식 화학적 식각, 습식 광식각; 전기화학 기술, 예를 들어, 전기화학 식각(ECM), 전기

화학 분쇄(ECG), 광전기화학 식각; 열 기술, 예를 들어, 레이저 기계가공, 전자 빔 기계가공, 전기 방출 기계가공(EDM); 및 기계 기술, 예를 들어, 물리적 건식 식각, 스퍼터 식각, 이온 제분, 물-제트 기계가공(WJM), 연마 물-제트 기계가공(AWJM), 연마 제트 기계가공(AJM), 연마 제분, 전기분해 공정중 드레싱(ELID) 제분, 초음파 천공, 초점화된 이온 빔(FIB) 제분 등을 포함한다. 상기 목록은 제한되는 것으로 의도되지 않으며, 다른 제거 기술 또는 과정이 이용될 수 있다. 예시적 제거 기술 또는 과정은 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌 [Marc J. Madou, Fundamentals of Microfabrication and Nanotechnology: Manufacturing Techniques for Microfabrication and Nanotechnology, Vol. II, 3rd Edition, Part II (pp. 148-384)]에 더 상세히 기재되어 있다.

[0127] 구조화된 기판을 제작하기 위한 하나 이상의 과정은 또한 물질이 작업 기관에 첨가되는 추가 기술을 포함할 수 있다. 상기 방법은 물리적 증기 증착(PVD), 증발(예를 들어, 열 증발), 스퍼터링, 이온 플레이팅, 이온 클러스터 빔 증착, 펄스화된 레이저 증착, 레이저 제거 증착, 분자 빔 에피택시(epitaxy), 화학적 증기 증착(CVD)(예를 들어, 대기압 CVD(APCVD), 낮은 압력 CVD(LPCVD), 매우 낮은 압력 CVD(VLPCVD), 초고 진공 CVD(UHVCVD), 유기금속 CVD(MOCVD), 레이저-보조 화학 증기 증착(LCVD), 플라즈마-증착 CVD(PECVD), 원자층 증착(ALD)), 에피택시(예를 들어, 액체상 에피택시, 고체상 에피택시), 애노드화(anodization), 열 분무 증착, 전기도금, 이식, 확산, 용해물 내의 혼입, 열 산화, 레이저 스퍼터 증착, 반응 사출 성형(RIM), 자가 조립 단층(SAM), 졸-겔 첨가, 회전 코팅, 중합체 분무, 중합체 건조 필름 층상배열, 주조, 플라즈마 중합, 실크 스크리닝(silk screening), 잉크 젯 프린팅, 기계 마이크로스포팅(mechanical microspotting), 미세접촉 프린팅, 임체리소그래피 또는 마이크로포토포밍(microphotolithography), 전기화학 형성 과정, 전기증착, 분무 열분해, 레이저 빔 증착, 전자 빔 증착, 플라즈마 분무 증착, 마이크로몰딩(micromolding), LIGA(x-선 리소그래피, 전기증착, 및 몰딩에 대해 독일어 약어임), 압축 몰딩 등을 포함한다. 상기 목록은 제한되는 것으로 의도되지 않으며, 다른 추가 기술 또는 과정이 이용될 수 있다. 예시적 첨가 기술 또는 과정은 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌 [Marc J. Madou, Fundamentals of Microfabrication and Nanotechnology: Manufacturing Techniques for Microfabrication and Nanotechnology, Vol. II, 3rd Edition, Part III (pp. 384-642)]에 더 상세히 기재되어 있다. 본원에서 사용되는 용어 "예시적 구체예"는 한 예로서 제공되는 구체예를 의미한다. 상기 용어는 구체예가 다른 구체예에 비해 바람직한 것을 나타내지는 않는다.

[0128] 도 11은 구조화된 기판을 제조하는 방법(200)을 예시하는 흐름도이다. 상기 방법(200)은 202에서 베이스 면을 갖는 베이스 층(또는 작업 기관)을 제공하는 것을 포함한다. 베이스 층은 물질의 단지 단일한 층일 수 있거나, 하나 이상의 하위층을 포함할 수 있다. 베이스 면은 이 위에 직접 증착된 또 다른 층을 갖도록 형성된 평면 표면을 가질 수 있다. 그러나, 베이스 면은 다른 층과 조합되기 전에 비-평면 특징부를 포함할 수 있음이 고려된다. 특정 구체예에서, 베이스 층은 유리(SiO₂) 웨이퍼를 포함하나, 다른 물질이 이용될 수 있다.

[0129] 상기 방법(200)은 또한 204에서 베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조의 어레이를 형성시키는 것을 포함할 수 있다. 204에서의 형성은 다수의 공정 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 204에서의 형성은 베이스 층의 베이스 면을 따라 특징부 층을 제공(예를 들어, 증착, 발달, 또는 또 다른 첨가 기술을 포함)하는 것을 포함할 수 있다. 204에서의 형성은 베이스 층의 하위층을 성형(예를 들어, 식각 또는 또 다른 제거 기술을 포함)시켜 나노구조를 형성시키는 것을 포함할 수 있다. 하위층은 또한 나노구조가 하위층으로부터 형성될 수 있음에 따라 특징부 층으로 언급될 수 있다. 특징부 층은 나노구조의 베이스를 적어도 부분적으로 형성할 수 있는 개별적 특징부로 성형될 수 있는 물질을 포함할 수 있다. 물질은 순수한 물질(예를 들어, 금) 또는 물질의 합금을 포함할 수 있다. 특징부 층은 또한 서로 나란히 적층되는 물질(예를 들어, 금 및 크롬)의 다수의 하위층을 포함할 수 있다. 임의로, 물질 중 하나 이상의 플라스몬 공명 물질이다.

[0130] 특정 구체예에서, 204에서의 형성은 특징부 층을 식각시켜 나노바디를 형성시키는 것을 포함한다. 나노바디는 각각의 서브어레이(또는 세트)가 양상불 증폭기가 될 수 있는 서브어레이 또는 세트로 배열될 수 있다. 일부 구체예에서, 식각 과정으로부터 형성된 나노바디는 추가 변형 없이 전자기 에너지를 증폭시킬 수 있는 나노구조를 구성할 수 있다. 그러나, 다른 구체예에서, 나노구조를 형성시키기 위해 추가 공정 단계가 필요할 수 있다. 예를 들어, 특징부 층은 성형되어 나노구조를 작제하기 위한 나노바디를 형성할 수 있는 중합체(또는 플라스몬 공명 물질이 아닌 다른 물질)를 포함할 수 있다. 얇은 층 또는 필름이 이후에 나노바디의 외부면에 첨가되어 나노구조를 형성할 수 있다. 또한 다른 구체예에서, 나노구조는 선택된 위치에 국소적으로 증착될 수 있다.

[0131] 일부 구체예에서, 나노구조는 문헌 [Li, Zhipeng, et al. "Multiple-particle nanoantennas for enormous enhancement and polarization control of light emission." *Acs Nano* 3.3 (2009): 637-642; Bharadwaj,

Palash, et al. "Optical Antennas" *Advances in Optics and Photonics* 1, 438-483 (2009); Boltasseva, Alexandra. "Plasmonic components fabrication via nanoimprint." *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics* 11.11 (2009); Kinkhabwala, Anika, et al. "Large single-molecule fluorescence enhancements produced by a bowtie nanoantenna." *Nature Photonics* 3.11 (2009): 654-657; Bakker, Reuben M., et al. "Nanoantenna array-induced fluorescence enhancement and reduced lifetimes." *New Journal of Physics* 10.12 (2008); Liang, Chia-Ching, et al. "Plasmonic metallic nanostructures by direct nanoimprinting of gold nanoparticles." *Optics express* 19.5 (2011): 4768-4776; Olmon, Robert L., and Markus B. Raschke. "Antenna-load interactions at optical frequencies: impedance matching to quantum systems." *Nanotechnology* 23.44 (2012); Krasnok, Aleksandr E., et al. "Optical nanoantennas." *Physics-Uspekhi* 56.6 (2013)]에 기재된 것과 유사하고/하거나 상기 문헌에 기재된 것과 유사한 방식으로 형성될 수 있다. 상기 참고문헌 각각은 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.

[0132] 상기 방법(200)은 또한 206에서 베이스 층의 베이스 면을 따라 공동 층을 형성시키는 것을 포함한다. 공동 층은 반응 공동층을 포함하도록 형성된다. 반응 공동층을 포함하지 않는 구체예에 대해, 공동 층은 부위 층으로 언급될 수 있다. 본원에서 사용되는 구 "베이스 면에 따른" 또는 "베이스 층에 따른"은 베이스 층과 직접 접촉되는 공동 층을 포함하거나, 하나 이상의 간극 층에 의해 베이스 층으로부터 분리되는 공동 층을 포함한다. 본원에서 사용되는 공간적으로 상대적인 용어, 예를 들어, "상단", "상부", "하부" 등은 하나의 요소 또는 특징부를 다른 것과 구별하기 위해 기재의 용이함을 위해 본원에서 사용된다. 공간적으로 상대적인 용어는 구조화된 기관이 사용 또는 작업 동안 중력과 관련하여 특정 배향을 갖는 것을 필요로 하지 않는다. 예를 들어, 구조화된 기관의 활성면은 일부 구체예에서 중력 방향에 반대하는 방향으로 면할 수 있다. 대안적으로, 구조화된 기관의 활성면은 다른 구체예에서 중력 방향과 동일한 방향으로 면할 수 있다. 가장 위의 표면, 예를 들어, 작업 동안 액체가 따라서 유동하는 측면 표면은 중력과 관련하여 구조화된 기관의 배향에 상관 없이 상단 표면으로 언급될 수 있다.

[0133] 206에서의 형성은 반응 공동층의 어레이를 갖도록 형성되는 공동 층을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 206에서의 형성은 다수의 단계를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 공동 층은 미리 형성된 반응 공동층을 포함한다. 반응 공동층 각각은 해당 서브어레이 또는 나노구조의 세트(예를 들어, 2개 이상의 나노구조)와 정렬될 수 있다. 임의로, 공동 층은 공동 층의 일부를 제거하고, 해당 반응 공동층 내의 나노구조를 노출시키기 위해 식각될 수 있다.

[0134] 다른 구체예에서, 공동 층이 위에 위치되고 베이스 층에 커풀링되는 동안 반응 공동층이 성형될 수 있다. 예를 들어, NIL 물질은 나노구조가 형성된 후에 베이스 층의 베이스 면을 따라 증착될 수 있고, 나노구조를 덮을 수 있다. NIL 물질은, 예를 들어, 회전 코팅 기술을 이용하거나, 베이스 면을 따라 비말을 증착시킴으로써 증착될 수 있다. NIL 물질은 NIL 기술을 이용하여 임프린팅될 수 있는 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, NIL 물질은 중합체를 포함할 수 있다. 이후, NIL 물질은 NIL 물질에서 반응 공동층을 형성하는 특징부의 패턴을 갖는 몰드(주형으로도 언급됨)로 임프린팅되거나 스탬핑(stamping)될 수 있다. 일부 구체예에서, 몰드는 자외선(UV) 또는 가시 광선이 이를 통해 전파되도록 하기 위해 투명하다. 상기 구체예에서, NIL 물질은 몰드가 NIL 물질로 압착되는 동안 UV 또는 가시 광선에 의해 경화되는 광경화성 중합체를 포함할 수 있다. 따라서, NIL 물질은 경화되어(예를 들어, 굳어져) 반응 공동층을 형성할 수 있다. 이러한 과정은 스텝-앤-플래시(step-and-flash) 임프린트 리소그래피(SFIL)와 동일하거나 유사할 수 있다. 다른 구체예에서, NIL 물질은 열 에너지 및/또는 압력의 적용에 의해 경화될 수 있다. NIL 기술 및 유사 과정은 각각의 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 문헌 [Marc J. Madou, Fundamentals of Microfabrication and Nanotechnology: Manufacturing Techniques for Microfabrication and Nanotechnology, Vol. II, 3rd Edition, Part I (pp. 113-116) 및 Lucas et al., "Nanoimprint Lithography Based Approach for the Fabrication of Large-Area, Uniformly Oriented Plasmonic Arrays" *Adv. Mater.* 2008, 20, 1129-1134]에 기재되어 있다.

[0135] 반응 공동층 각각은 나노구조의 해당 서브어레이와 함께 정렬될 수 있다. NIL 물질은 해당 반응 공동층 내의 복수의 나노구조를 노출시키기 위해 우선적으로 식각될 수 있다. 제조 방법에 상관 없이, 나노구조의 서브어레이는 해당 반응 공동층의 양상불 증폭기를 형성할 수 있다. 양상불 증폭기는 해당 반응 공동층으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동층 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된다.

[0136] 임의로, 상기 방법(200)은 또한 208에서 반응 공동층 내에 유기 물질을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 유기 물질은 나노구조를 덮을 수 있다. 일부 구체예에서, 간극 영역을 포함하는 활성면 전체에 걸쳐 유기 물질이 제공

된다. 이후, 유기 물질은 활성면을 폴리싱시킴으로써 제거될 수 있다. 활성면이 폴리싱된 후, 반응 공동 각각은 다른 반응 공동의 다른 유기 물질로부터 분리된 해당 유기 물질을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 유기 물질은 겔 물질, 예를 들어, 본원에 기재된 것(예를 들어, PAZAM, SFA 또는 이의 화학적으로 변형된 변이체, 예를 들어, SFA의 아지도화된 형태(azido-SFA))이다.

[0137] 상기 방법(200)은 또한 추가 단계, 예를 들어, 지정된 프로토콜의 유체 및 샘플과 상호작용하는 구조화된 기관의 표면을 제조하는 단계를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 상기 방법(200)은 210에서 공동 층의 활성면에 플로우 덮개를 마운팅시키는 것을 포함할 수 있다. 플로우 덮개는 플로우 덮개와 활성면 사이에 플로우 채널을 규정할 수 있다. 플로우 덮개를 포함하는 구체예는 각각의 전제내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 가출원 번호 61/914,275호 및 국제 출원 번호 PCT/US14/69373호에 기재되어 있다.

[0138] 도 12는 구조화된 기관(280)을 제조하는 방법(220)의 흐름도를 예시한다(도 14에 제시됨). 상기 방법(220)은 도 13 및 14를 참조로 하여 기재된다. 상기 방법(220)은 방법(200)의 단계와 유사하거나 동일한 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다(도 11). 상기 방법(220)은 222에서 베이스 면(242)을 갖는 베이스 층(또는 작업 기관)(240)을 제공하는 것을 포함한다. 상기 방법(220)은 또한 224에서 베이스 면(242)을 따라 나노구조(246)의 어레이(244)를 형성시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 특징부 층(245)은 베이스 층(240)의 베이스 면(242)에 제공(예를 들어, 증착 과정을 통해)될 수 있다. 특징부 층(245)은 식각되어 나노구조(246)의 어레이(244)를 형성할 수 있다. 어레이(244)는 나노구조(246)의 서브어레이(248)를 포함할 수 있다. 또한, 도 13에 제시된 바와 같이, 인접한 서브어레이(248)는 베이스 면(242)을 따라 간격(250)에 의해 분리되어 있다.

[0139] 각각의 서브어레이(248)는 구조화된 기관(280)(도 14)이 완전히 형성되는 경우 양상블 증폭기를 집합적으로 형성하는 복수의 나노구조(246)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 각각의 서브어레이(248)의 나노구조(246)는 나노구조(246)가 전자기 에너지를 증폭시키도록 크기 조절되고, 성형되고, 서로에 대해 위치될 수 있다. 예시된 구체예에서, 나노구조(246)는 공동의 형태 및 크기를 갖는 수직 기둥으로 예시된다. 그러나, 나노구조(246)는 다른 구체예에서 다양한 형태를 가질 수 있음이 이해되어야 한다. 일부 구체예에서, 양상블 증폭기는 본질적으로 동일한 배열의 나노구조(246)를 가질 수 있다. 본원에서 사용되는 "본질적으로 동일한"은 배열이 동일하나, 제조 오차 허용도가 있음을 의미한다. 그러나, 다른 구체예에서, 단일 서브어레이(248)의 나노구조(246)는 동일한 형태 및/또는 동일한 크기를 가질 필요는 없다.

[0140] 226에서, NIL 물질(252)은 베이스 층(240)의 베이스 면(242)을 따라 제공될 수 있다. NIL 물질(252)은 나노구조(246)의 어레이(244)를 덮을 수 있다. NIL 물질(252)은 NIL 물질(252)이 나노구조(246) 사이의 빈 공간을 둘러싸고 충전시키도록 하는 점성 물질일 수 있다. NIL 물질(252)은, 예를 들어, 중합체를 포함할 수 있다. 예시된 구체예에서, NIL 물질(252)은 베이스 면(242)을 따라 NIL 층으로 제공된다. 다른 구체예에서, NIL 물질은 임프린팅 작업 동안 압축되는 경우 베이스 면(242)의 적어도 일부를 효과적으로 덮는 별개의 비밀의 어레이로 제공될 수 있다.

[0141] 228에서, 반응 공동(256)의 어레이(254)는 NIL 물질(252)로 임프린팅될 수 있다. 228에서 임프린팅은 NIL 물질(252)로 몰드(258)를 적용시키는 것을 포함할 수 있다. 몰드(258)는 특징부의 패턴을 포함하는 비-평면 측면(260)을 가질 수 있다. 특징부는 반응 공동(256)이 형성되도록 소정의 방식으로 NIL 물질(252)을 성형시키도록 크기 조절되고, 성형되고, 서로에 대해 위치된다. 몰드(258)가 NIL 물질(252)에 적용되는 경우, 몰드(258), NIL 물질(252), 나노구조(246), 및 베이스 층(240)을 포함하는 적층된 어셈블리(262)가 형성된다.

[0142] 228에서의 임프린팅은 또한 NIL 물질(252)의 형태를 응고시키기 위해 NIL 물질(252)을 경화시키는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 경화 과정은 적층된 어셈블리(262)에 UV 광 또는 가시 광선(264)을 적용시키는 것을 포함할 수 있다. NIL 물질(252)은 UV 또는 가시 광선(264)에 노출된 후 응고될 수 있는 광중합체를 포함할 수 있다. 그러나, NIL 물질(252)을 응고시키거나 경화시키는 대안적 방법이 이용될 수 있다. 예를 들어, 열 에너지(예를 들어, 열) 또는 압력이 NIL 물질(252)에 적용되어 NIL 물질(252)을 응고시키고 반응 공동(256)을 형성시킬 수 있다.

[0143] 도 14와 관련하여, 경화 과정 후, NIL 물질은 반응 공동(256)의 어레이(254)를 갖는 응고된 NIL 층(253)이 된다. 응고된 NIL 층(253)은 공동 층, 예를 들어, 반응 공동(256)을 포함하는 공동 층(114)(도 10)을 구성할 수 있다. 각각의 반응 공동(256)은 반응 공동(256)이 해당 서브어레이(248) 상에 위치되도록 나노구조(246)의 해당 서브어레이(248)와 함께 정렬될 수 있다. 도 13에 제시된 바와 같이, 나노구조(246)는 응고된 NIL 층(253)의 충전 영역(266) 내에 위치될 수 있다. 충전 영역(266)은 NIL 층(253)의 응고된 물질에 의해 둘러싸인 나노구조(246)를 포함한다. 이러한 단계에서, 충전 영역(266)은 반응 공동(256)의 하부 표면(268)을 규정할 수

있다. 또한 제시된 바와 같이, 이러한 단계에서, 반응 공동(256)은 반응 공동(256) 사이에 걸쳐 있는 간극 영역(270)에 의해 분리될 수 있다.

[0144] 상기 방법(220)은 또한 230에서 해당 반응 공동(256) 내의 나노구조(246)의 적어도 일부를 노출시키기 위해 충전 영역(266)을 제거하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 나노구조(246)에 실질적으로 손상을 주거나 제거함이 없이 나노구조(246)를 둘러싸는 NIL 층(253)의 물질을 제거하기 위해 우선적 식각 과정이 적용될 수 있다. 제거 동안, 230에서, 각각의 반응 공동(256)의 하부 표면(268)은 하부 표면(268)이 베이스 층(240)에 접근하도록 낮아질 수 있다. 일부 구체예에서, 충전 영역(266) 내의 NIL 층(253)은 베이스 층(240)이 하부 표면(268)의 적어도 일부를 형성하도록 전체적으로 식각될 수 있다. 다른 구체예에서, 도 10의 구조화된 기관(100)과 유사하게, NIL 층(253)의 일부는 식각 과정 후에 남아있을 수 있다. 이러한 구체예에서, 나노구조(246)는 NIL 층(253)(또는 공동 층)을 통해 걸쳐 있을 수 있다. 제거 동안, 230에서, 간극 영역(270)은 또한 베이스 층(240)에 비한 간극 영역(270)의 높이가 감소되도록 표시된 바와 같이 식각될 수 있다. 높이는 271A로부터 271B로 감소된다.

[0145] 상기 기재된 바와 같이, 각각의 반응 공동(256) 내의 나노구조(246)는 해당 반응 공동(256)의 양상블 증폭기(272)를 형성할 수 있다. 양상블 증폭기(272)는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생된 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된다.

[0146] 구조화된 기관(280)은 도 14의 하부에 제시되어 있다. 구조 기관(280)은 활성면(282)을 포함하고, 반응 공동(256) 및 반응 공동(256)을 분리시키는 간극 영역(270)을 갖는다. 임의로, 상기 방법(200)은 232에서 반응 공동(256) 내에 유기 물질(274)을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 유기 물질(274)을 제공하기 전에, 작업 기관은 유기 물질(274)을 수용하기 위해 처리될 수 있다. 예를 들어, 패시베이션 층(예를 들어, 탄탈륨 옥사이드 등) 및 실란의 층이 패시베이션 층에 제공될 수 있다. 패시베이션 층 및 실란 층 둘 모두는 나노구조(246)를 덮을 수 있다. 232에서의 제공은 작업 기관으로의 유기 물질의 회전 코팅을 포함할 수 있다. 그러나, 다른 첨가 기술이 또한 이용될 수 있다. 임의로, 패시베이션 층, 실란 층, 및 유기 물질을 갖는 작업 기관은 인큐베이션될 수 있다.

[0147] 도 14에 제시된 바와 같이, 유기 물질(274)은 반응 공동(256) 내의 나노구조(246)를 덮을 수 있다. 일부 구체예에서, 유기 물질(274)은 유기 물질(274)이 간극 영역(270)의 표면을 덮도록 전체 활성면(282)에 걸쳐 제공된다. 이후, 유기 물질(274)은 활성면(282)을 폴리싱시킴으로써 제거될 수 있다. 활성면(282)이 폴리싱된 후, 반응 공동(256) 각각은 인접한 반응 공동(256) 내 유기 물질(274)로부터 분리된 유기 물질(274)을 그 안에 포함할 수 있다. 각각의 반응 공동(256) 내 유기 물질(274)은 양상블 증폭기(272)의 나노구조(246)를 둘러싼다. 유기 물질(274)은 광 방출을 제공할 수 있는 생물학적 또는 화학적 물질, 예를 들어, 염료-표지된 핵산을 지지하고/하거나 유지시키도록 형성될 수 있다.

[0148] 도 15는 구조화된 기관을 제조하거나 제작하는 방법(300)을 예시하는 흐름도이다. 일부 구체예에서, 상기 방법(300)은 방법(200)(도 11) 및 방법(220)(도 12)의 단계와 유사하거나 동일한 단계를 포함한다. 방법(300)의 다양한 단계가 도 16에 예시되어 있다. 상기 방법(300)은 302에서 베이스 면(322)을 갖는 베이스 층(또는 작업 물질)(320)을 제공하고, 304에서 베이스 층(320)의 베이스 면(322)을 따라 NIL 물질(324)을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, NIL 물질(324)은 NIL 층으로 제공될 수 있다. 다른 구체예에서, NIL 물질(324)은 베이스 면(322)을 따라 별개의 비말로 제공될 수 있다.

[0149] 상기 방법(300)은 또한 306에서 NIL 물질(324)을 임프린팅시키는 것을 포함할 수 있다. 임프린팅 후, NIL 물질(324)은 베이스 부분(326)(점선에 의해 표시됨) 및 베이스 부분(326)으로부터 돌출된 나노바디(330)의 어레이(328)를 갖는 응고된 NIL 층(324)일 수 있다. 어레이(328)는 다수의 서브어레이(329)를 포함할 수 있다. 베이스 부분(326)은 인접한 나노바디(330) 사이에 걸쳐 있다. 이와 같이, 나노바디(330) 각각은 동일한 패턴화된 층의 일부일 수 있다. 나노바디(330)는 다양한 형태를 가질 수 있다. 예시된 구체예에서, 나노바디(330)는 NIL 층(324)의 베이스 부분(326)으로부터 돌출된 신장된 기둥이다. 대안적 구체예에서, 베이스 부분(326)은 임프린팅 후에 형성되지 않는다. 대신, 임프린팅 후에 나노바디(330)만 형성될 수 있다. 임의로, 베이스 부분(326)은 식각될 수 있다.

[0150] 상기 방법(300)은 또한 308에서 NIL 물질(324) 및 특히 나노바디(330)를 따라 플라스몬 공명 층(334)을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 308에서의 제공은 또한 증착 또는 발달로 언급될 수 있다. 일부 구체예에서, 플라스몬 공명 층(334)은 얇은 필름 또는 코팅일 수 있다. 308에서의 제공은 하나 이상의 추가 기술을 이용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 308에서의 제공은 PECVD, ALD, 증발, 스퍼터링, 회전 코팅 등 중 적어도 하나를 포함

할 수 있다. 플라스몬 공명 층(334)은 나노바디(330)를 덮는 플라스몬 공명 물질(예를 들어, 금, 은, 실리콘 등)을 포함한다. 플라스몬 공명 층(334)은 전체 NIL 층(324)을 덮을 수 있다. 다른 구체예에서, 플라스몬 공명 층(334)은 서브어레이(329) 상에 선택적으로 증착될 수 있다. 따라서, 각각의 나노구조(332)가 각각의 나노바디(330) 및 각각의 나노바디(330)를 덮거나 둘러싸는 플라스몬 공명 층(334)의 일부를 포함하는 나노구조(332)가 형성될 수 있다.

[0151] 임의로, 상기 방법(300)은 310에서 패시베이션 층(336)을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 패시베이션 층(336)은 구조화된 기관의 사용 동안 손상으로부터 밑에 있는 층, 예를 들어, 플라스몬 공명 층(334)을 보호하도록 형성된다. 패시베이션 층(336)은 각각의 전체내용이 참조로서 본원에 포함되는 미국 가출원 번호 61/914,275호 및 국제 출원 번호 PCT/US14/69373호에 기재된 패시베이션 층 중 하나 이상과 유사할 수 있다.

[0152] 또한 임의로, 상기 방법(300)은 312에서 이하 실란 층(제시되지 않음)으로 언급되는 고정 층을 제공하는 것을 포함할 수 있다. 실란 층(또는 고정 층)은 유기 물질 및/또는 생물학적 또는 화학적 물질 사이의 커플링을 촉진시키도록 형성될 수 있다. 예를 들어, 312에서의 제공은 증기 증착에 의해 달성될 수 있다. 일부 구체예에서, 실란 층은 다른 처리 단계 후에 제공될 수 있다. 이 단계에서, 베이스 층(320), NIL 물질(324), 플라스몬 공명 층(334), 패시베이션 층(336), 및 임의의 실란 층이 작업 면(341)을 갖는 작업 기관(339)을 형성할 수 있다.

[0153] 314에서, 상기 방법(300)은 복수의 반응 공동(340)을 포함하는 작업 면(341)을 따라 공동 층(338)을 형성시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 공동 층(338)은, 예를 들어, NIL 물질이 임프린팅되고 경화되어 반응 공동(340)을 형성하는 NIL 기술을 이용하여 형성될 수 있다. 그러나, 공동 층(338)을 제공하기 위해 다른 첨가 기술이 이용될 수 있다. 도 16에서, 단지 하나의 반응 공동(340)이 제시되어 있으나, 반응 공동(340)의 어레이가 형성될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0154] 공동 층(338)이 NIL 과정을 이용하여 형성되는 경우, 나노구조(332) 사이의 빈 공간은 NIL 물질(324)로 충전될 수 있다. 방법(220)과 관련하여 상기 기재된 바와 같이, NIL 물질(324)은 우선적 식각을 통해 제거될 수 있다. 임의로, 공동 층(338) 및 반응 공동(340)이 작업 기관(339)을 따라 형성된 후에 실란 층이 제공될 수 있다. NIL 물질이 제거된 후, 나노구조(332)의 양상불 증폭기(342)가 해당 반응 공동(340) 내에 형성될 수 있다. 316에서 유기 물질이 반응 공동(340)에 제공될 수 있다.

[0155] 예시된 구체예에서, 공동 층(338)이 NIL 과정을 이용하여 형성된다. 그러나, 공동 층(338)이 다른 추가 및 임의로 제거 방법, 예를 들어, 상기 기재된 방법을 이용하여 형성될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0156] 도 17-19는 하나 이상의 구체예와 함께 실행될 수 있는 다양한 나노구조를 예시한다. 그러나, 도 17-19에 제시된 나노구조는 단지 예시이며, 제한하고자 하는 것이 아니다. 대안적 구체예에서 다른 나노구조가 이용될 수 있다. 도 17a-17d에서, 나노구조는 해당 원통형 형태 반응 공동 내에 위치된다. 다른 구체예에서, 반응 공동은 다양한 형태를 가질 수 있다. 예를 들어, 반응 공동의 단면은 타원형, 사각형, 직사각형, 다른 다각형 등일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 나노구조는 평면 표면을 따라 위치될 수 있다.

[0157] 도 17a는 나노웰로도 언급될 수 있는 반응 공동(404) 내의 나노플러그(402)의 투시도이다. 나노플러그(402)는 금(Au)을 포함할 수 있다. 예시된 구체예에서, 나노플러그(402)는 반응 공동(404) 내에 중심적으로 위치하나, 이는 다른 구체예에서 다른 위치를 가질 수 있다. 도 17b는 하나 이상의 구체예에서 사용될 수 있는 보타이 안테나(406)의 투시도이다. 보타이 안테나(406)는 삼각형 형태이고, 사이에 작은 갭과 함께 서로를 향해 있는 2개의 별개의 나노구조(408)를 포함한다. 보타이 안테나(406)는 양상불 증폭기를 형성할 수 있다. 도 17c는 일련의 이격된 빔(411)을 포함하는 반응 공동(412) 내 나노그레이팅(410)을 예시한다. 나노그레이팅(410)은 하부 층에 형성될 수 있고, 이후 반응 공동(412)이 나노그레이팅(410) 상에 형성되는 경우에 노출될 수 있다. 제시된 바와 같이, 나노그레이팅(410)은 반응 공동(412) 내에 구속되지 않고, 반응 공동(412)의 벽을 넘어 걸쳐 있다. 도 17d는 반응 공동(416) 내에 배치된 복수의 나노입자(414)를 예시한다. 나노입자(414)는 반응 공동(416) 내에 무작위 위치에 분포되어 있을 수 있다. 나노입자(414)는, 예를 들어, 리플로우 또는 증착 과정을 통해 형성될 수 있다. 도 17e는 이합체(420) 및 삼합체(422)를 예시한다. 이합체(420) 및 삼합체(422)는 그 안에 배치된 다른 나노구조 없이 단일 반응 공동(제시되지 않음) 내에 단독으로 배치될 수 있다. 대안적으로, 이합체(420) 및 삼합체(422)는 공통의 반응 공동을 공유할 수 있다. 임의로, 이합체(420) 및 삼합체(422)는 반응 공동 내에 배치되지 않고, 대신 평면 표면을 따라 분포(제시되지 않음)된다.

[0158] 도 18a-18d는 안에 배치된 나노구조를 갖는 반응 공동의 측단면을 예시한다. 반응 공동은, 예를 들어, 원통형

또는 사각형일 수 있다. 도 18a에서, 복수의 나노구조(432)를 포함하는 반응 공동(430)이 제시된다. 나노구조(432)는 원통형 또는 사각형일 수 있는 기둥이다. 도 18b에서, 복수의 나노구조(436)를 포함하는 반응 공동(434)이 제시된다. 나노구조(436)는 원뿔형 또는 피라미드형일 수 있다. 도 18c에서, 복수의 나노구조(440)를 포함하는 반응 공동(438)이 제시된다. 나노구조(440) 각각은 원뿔형 또는 피라미드형일 수 있고, 나노구조(440)의 상단에 배치된 입자 부분(442)(예를 들어, 금 입자)을 가질 수 있다. 도 18d에서, 복수의 나노구조(446)를 포함하는 반응 공동(444)이 제시된다. 나노구조(446)는 서로 마주하는 측벽을 구성한다.

[0159] 도 19a-19d는 안에 배치된 하나 이상의 나노구조를 갖는 반응 공동의 평면도를 예시한다. 더욱 특히, 도 19a는 중심축(452)을 둘러싸는 나노링(450)을 예시한다. 나노링(450)은 도 19a에서 원형이나, 다른 구체예에서 다른 형태(예를 들어, 다각형)를 가질 수 있다. 도 19b는 서로에 대해 배치되는 5개의 기둥(454)을 예시한다. 도 19c 및 19d는 각각 보타이 안테나(456 및 458)이다. 보타이 안테나(456 및 458)는 광의 다양한 편광에 우선적으로 반응하도록 형성된다.

[0160] 도 17a-17c, 18a-18d, 및 19b-19d 각각에서, 나노구조는 양상블 증폭기가 지정된 배향의 편광된 광에 우선적으로 반응하도록 하는 배향으로 해당 양상블 증폭기를 형성하도록 구성될 수 있다. 상기 양상블 증폭기는 편광된 증폭기로 언급될 수 있다. 예를 들어, 양상블 증폭기는 지정된 편광의 여기 광과 본질적으로 평행한 쌍극자 모멘트를 갖도록 형성될 수 있다. 상기 편광된 증폭기를 갖는 반응 공동에 의해 제공되는 광 방출의 양은 여기 광의 편광에 좌우된다.

[0161] 다른 구체예에서, 양상블 증폭기는 소정의 파장의 광 방출에 우선적으로 반응하도록 형성될 수 있다. 예를 들어, 방출체가 소정의 파장과 동등하거나 근접한 광 방출을 제공하는 경우, 양상블 증폭기는 광 방출을 증폭시킬 수 있다. 그러나, 방출체가 소정의 파장과 동등하거나 근접하지 않은 광 방출을 제공하는 경우, 양상블 증폭기는 광 방출을 단지 부분적으로 증폭시킬 수 있거나, 광 방출을 아주 약간의 양까지 증폭시킬 수 있다.

[0162] 따라서, 본 출원은 다양한 구체예 및 구체예와 함께 사용될 수 있는 하나 이상의 양태(예를 들어, 특징부)를 기재한다. 다양한 양태가 특정 구체예에서 조합되고/되거나 추가로 변형될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0163] 다양한 구체예는 나노구조를 포함한다. 일부 구체예에서, 나노입자는 웰 내에 이합체 또는 삼합체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 보타이 나노안테나를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 나노로드를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 나노링을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 나노플러그를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노구조는 나노그레이팅을 포함할 수 있다.

[0164] 임의로, 나노구조는 플라스몬 공명 물질을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 나노구조는 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti) 및 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함할 수 있다.

[0165] 구체예에서, (a) 고체 지지체 상에 분포된 복수의 나노입자; (b) 복수의 나노입자와 회합된 층 형성 겔 물질; 및 (c) 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 구조화된 기판이 제공된다.

[0166] 또 다른 양태에서, 겔 물질은 나노입자를 덮을 수 있다.

[0167] 또 다른 양태에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함할 수 있다.

[0168] 또 다른 양태에서, 고체 지지체는 복수의 웰을 갖는 평면 표면을 포함할 수 있고, 나노입자는 복수의 웰 내에 분포된다.

[0169] 구체예에서, 구조화된 기판을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 (a) 평면 표면을 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계; (b) 고체 지지체의 표면 상에 복수의 나노입자를 분산시키는 단계; 및 (c) 고체 지지체의 적어도 일부를 겔 물질로 코팅함으로써 복수의 나노입자를 덮는 겔 층을 형성시키는 단계를 포함한다.

[0170] 구체예의 한 양태에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질로 형성될 수 있다.

[0171] 또 다른 양태에서, 단계 (b) 및 (c)는 동시에 수행될 수 있다.

[0172] 또 다른 양태에서, 단계 (b)는 단계 (c) 전에 수행될 수 있다.

[0173] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 (d) 겔 물질로 표적 핵산의 라이브러리를 전달하여 겔 물질 내에 핵산 특징부의 어레이를 생성시키는 단계를 포함한다. 임의로, 각각의 특징부는 다양한 핵산 종을 포함할 수 있다.

- [0174] 구체예에서, 핵산을 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 (a) 복수의 나노입자; 복수의 나노입자를 덮는 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계; (b) 고체 지지체와 표적 핵산에 결합하는 적어도 하나의 형광 표지된 프로브를 접촉시키는 단계; 및 (c) 고체 지지체 상의 형광 신호를 검출하여 적어도 하나의 프로브에 결합하는 표적 핵산을 구별하는 단계를 포함한다.
- [0175] 구체예의 한 양태에서, 나노입자는 플라스몬 공명 물질로 형성될 수 있다. 예를 들어, 나노입자는 은, 금, p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드로 구성된 군으로부터 선택된 물질을 포함할 수 있다.
- [0176] 또 다른 양태에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함할 수 있다.
- [0177] 또 다른 양태에서, 고체 지지체는 복수의 웰을 갖는 평면 표면을 포함할 수 있다. 나노입자는 복수의 웰 사이에 분포될 수 있다.
- [0178] 또 다른 양태에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [0179] 또 다른 양태에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [0180] 또 다른 양태에서, 검출 작업(즉, 검출)은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 올리고뉴클레오티드 프로브의 하이브리드화의 검출을 포함한다.
- [0181] 또 다른 양태에서, 검출 작업(즉, 검출)은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 프로브의 혼입의 검출을 포함한다.
- [0182] 구체예에서, 표면을 갖는 고체 지지체를 포함하는 어레이가 제공된다. 표면은 복수의 웰을 포함한다. 웰은 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있다. 어레이는 또한 상기 복수의 웰 각각에 복수의 나노구조를 포함한다.
- [0183] 구체예의 한 양태에서, 나노구조는 플라스몬 나노구조일 수 있다.
- [0184] 또 다른 양태에서, 나노구조는 웰의 하부에 위치될 수 있다.
- [0185] 또 다른 양태에서, 나노구조는 웰의 벽을 따라 위치될 수 있다.
- [0186] 또 다른 양태에서, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있을 수 있다.
- [0187] 또 다른 양태에서, 나노구조는 나노입자를 포함할 수 있다.
- [0188] 또 다른 양태에서, 나노입자는 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm 초과 또는 100 nm 초과와 직경을 가질 수 있다. 또 다른 양태에서, 나노입자는 100 nm, 90 nm, 80 nm, 70 nm, 60 nm, 50 nm, 40 nm, 30 nm, 20 nm 미만 또는 10nm 미만의 직경을 가질 수 있다.
- [0189] 또 다른 양태에서, 웰은 겔 물질을 포함할 수 있다. 임의로, 겔 물질은 하이드로겔을 포함한다.
- [0190] 또 다른 양태에서, 고체 지지체는 플로우 셀의 표면을 포함할 수 있다.
- [0191] 구체예에서, 어레이를 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 평면 표면을 포함하는 고체 지지체를 획득하는 단계를 포함한다. 표면은 복수의 웰을 포함한다. 웰은 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있다. 상기 방법은 또한 고체 지지체 상에 금속 필름을 코팅하고, 금속 필름을 열 어닐링 과정에 적용시킴으로써, 상기 복수의 웰 각각에 복수의 플라스몬 나노구조를 형성시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0192] 구체예의 한 양태에서, 상기 방법은 또한 간극 영역으로부터 나노구조를 실질적으로 제거하고, 웰 내에 나노구조를 유지시키기 위해 평면 표면을 폴리싱시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0193] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 고체 지지체의 적어도 일부를 겔 물질로 코팅함으로써 복수의 웰 내에 겔 물질을 증착시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0194] 구체예에서, (a) 복수의 웰을 포함하는 평면 표면으로서, 웰이 간극 영역에 의해 서로 분리되어 있는 평면 표면; 상기 복수의 웰 각각 내의 복수의 나노구조; 복수의 나노구조를 덮는 층 형성 겔 물질; 및 겔 물질 내의 표적 핵산의 라이브러리를 포함하는 고체 지지체를 제공하는 단계를 포함하는 핵산을 검출하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 또한 (b) 고체 지지체와 표적 핵산에 결합하는 적어도 하나의 형광 표지된 프로브를 접촉시키는 단계 및 (c) 고체 지지체 상의 형광 신호를 검출하여 적어도 하나의 프로브에 결합하는 표적 핵산을 구별하는 단계를 포함한다.

- [0195] 구체예의 한 양태에서, 나노구조는 플라스몬 나노구조일 수 있다.
- [0196] 또 다른 양태에서, 나노구조는 웰의 하부에 위치될 수 있다.
- [0197] 또 다른 양태에서, 나노구조는 웰의 벽을 따라 위치될 수 있다.
- [0198] 또 다른 양태에서, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있을 수 있다.
- [0199] 또 다른 양태에서, 나노구조는 나노입자를 포함할 수 있다.
- [0200] 또 다른 양태에서, 나노입자는 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm 초과 또는 100 nm 초과와 직경을 가질 수 있다.
- [0201] 또 다른 양태에서, 나노입자는 100 nm, 90 nm, 80 nm, 70 nm, 60 nm, 50 nm, 40 nm, 30 nm, 20 nm 미만 또는 10nm 미만의 직경을 가질 수 있다.
- [0202] 또 다른 양태에서, 겔 물질은 하이드로겔을 포함할 수 있다.
- [0203] 또 다른 양태에서, 평면 표면은 플로우 셀의 표면을 포함할 수 있다.
- [0204] 또 다른 양태에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0205] 또 다른 양태에서, 형광 표지된 프로브는 형광 표지된 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0206] 또 다른 양태에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 올리고뉴클레오타이드 프로브의 하이브리드화의 검출을 포함할 수 있다.
- [0207] 또 다른 양태에서, 검출은 각각의 특징부 내의 표적 핵산으로의 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 프로브의 혼입의 검출을 포함할 수 있다.
- [0208] 구체예에서, 활성면을 갖는 기관 본체를 포함하는 구조화된 기관이 제공된다. 기관 본체는 활성면을 따라 개방된 반응 공동 및 반응 공동을 분리시키는 간극 영역을 포함한다. 구조화된 기관은 또한 반응 공동 각각 내에 위치된 앙상블 증폭기를 포함한다. 앙상블 증폭기는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 복수의 나노구조를 포함한다.
- [0209] 구체예의 한 양태에서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조는 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 갖는다. 임의로, 앙상블 증폭기는 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는다.
- [0210] 또 다른 양태에서, 활성면은 간극 영역을 따라 걸쳐 있는 측면 표면을 포함할 수 있다. 측면 표면은 실질적으로 평면일 수 있다. 반응 공동은 측면 표면에 대해 개방되어 있다.
- [0211] 또 다른 양태에서, 구조화된 기관은 반응 공동 내에 배치되고 나노구조를 덮는 유기 물질을 포함할 수 있다. 유기 물질은 해당 반응 공동 내에 생체분자를 유지시키도록 형성될 수 있다.
- [0212] 임의로, 유기 물질은 겔 물질을 포함한다. 임의로, 유기 물질은 하이드로겔을 포함한다.
- [0213] 임의로, 유기 물질은 단일 생체분자만 수용하도록 형성된 부피를 가져 입체 배제가 하나 초과와 생체분자가 포획되거나 반응 공동을 시딩하는 것을 방지한다.
- [0214] 임의로, 유기 물질은 액체에 대해 투과성이고, 핵산에 부착하도록 형성된다.
- [0215] 또 다른 양태에서, 기관 본체는 이로부터 돌출되는 나노구조를 갖는 베이스 층을 포함할 수 있다. 기관 본체는 또한 베이스 층과 관련하여 적층된 공동 층을 포함할 수 있다. 공동 층은 반응 공동을 포함하도록 성형될 수 있다.
- [0216] 임의로, 나노구조는 베이스 층으로부터 공동 층의 일부를 통해 해당 반응 공동에 걸쳐 있다.
- [0217] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 물질 조성, 형태, 및 상대 위치를 갖는다.
- [0218] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 물질 조성, 형태, 및 상대 위치를 갖는다.

- [0219] 임의로, 전자기 에너지는 형광 광 방출을 포함한다.
- [0220] 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 조성, 형태, 및 상대 위치를 갖는다.
- [0221] 임의로, 여기 광 또는 광 방출의 파장은 300 나노미터(nm) 내지 750 nm이다.
- [0222] 또 다른 양태에서, 나노구조 각각은 나노임프린트-리소그래피(NIL) 물질을 포함하는 나노바디 및 나노바디를 둘러싸는 외부층을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 외부층은 플라스몬 공명 물질을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 외부층은 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti), 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0223] 임의로, 패시베이션 층은 나노바디 상에 걸쳐 있을 수 있다.
- [0224] 또 다른 양태에서, 구조화된 기관은 또한 기관 본체의 활성면과 장치 덮개 사이에 흐름 채널을 형성시키도록 기관 본체에 커플링된 장치 덮개를 포함하고, 흐름 채널은 이를 통해 반응 공동으로 흐르는 액체의 흐름을 유도하도록 형성된다.
- [0225] 또 다른 양태에서, 반응 공동은 해당 하부 표면을 갖는다. 나노구조는 해당 반응 공동의 하부 표면으로부터 활성면을 향해 돌출되어 있다.
- [0226] 또 다른 양태에서, 반응 공동 각각은 활성면과 반응 공동의 하부 표면 사이에 걸쳐 있는 적어도 하나의 측벽에 의해 규정된다. 나노구조는 적어도 하나의 측벽의 적어도 일부를 형성한다. 임의로, 나노구조는 해당 반응 공동의 하부 표면으로부터 돌출되어 있다.
- [0227] 또 다른 양태에서, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있다.
- [0228] 또 다른 양태에서, 나노구조는 상승 축을 따라 활성면을 향해 걸쳐 있는 높이를 가질 수 있고, 높이는 적어도 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm 또는 100 nm이다.
- [0229] 또 다른 양태에서, 나노구조는 상승 축을 따라 활성면을 향해 걸쳐 있는 높이를 가질 수 있고, 나노구조는 상승 축에 대해 가로 방향의 단면 치수를 갖고, 단면 치수는 적어도 10 nm, 20 nm, 30 nm, 40 nm, 50 nm, 60 nm, 70 nm, 80 nm, 90 nm 또는 100 nm이다.
- [0230] 또 다른 양태에서, 나노구조는 상승 축을 따라 활성면을 향해 걸쳐 있는 높이를 가질 수 있고, 나노구조는 상승 축에 대해 가로 방향의 단면 치수를 갖고, 단면 치수는 100 nm, 90 nm, 80 nm, 70 nm, 60 nm, 50 nm, 40 nm, 30 nm, 20 nm 또는 10 nm 미만이다.
- [0231] 임의로, 단면 치수는 직경일 수 있다.
- [0232] 임의로, 단면 치수는 나노구조 전체에 걸쳐 취해질 수 있는 가장 큰 단면 치수일 수 있다.
- [0233] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기는 반응 공동 내에 이합체 또는 삼합체를 포함한다.
- [0234] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기는 보타이 나노안테나를 형성한다.
- [0235] 구체예에서, 구조화된 기관을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계 및 베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조를 형성시키는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 베이스 면 상에 적층되는 공동 층을 형성시키는 단계를 포함한다. 상기 공동 층은 복수의 반응 공동을 포함하고 여기서 각각의 반응 공동은 그 안에 복수의 나노구조를 포함한다. 복수의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성한다.
- [0236] 구체예의 한 양태에서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조는 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 갖는다. 임의로, 앙상블 증폭기는 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는다.
- [0237] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기는 편광된 형태를 가져 앙상블 증폭기로부터의 반응이 전자기 에너지의 편광에 기초하도록 한다.
- [0238] 또 다른 양태에서, 활성면은 간극 영역을 따라 걸쳐 있는 측면 표면을 포함하고, 측면 표면은 실질적으로 평면

이다.

- [0239] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 유기 물질이 나노구조를 덮도록 반응 공동 내에 유기 물질을 제공하는 단계를 포함할 수 있다. 유기 물질은 해당 반응 공동 내에 생체분자를 고정시키도록 형성될 수 있다. 임의로, 유기 물질은 겔 물질을 포함한다. 임의로, 유기 물질은 하이드로겔을 포함한다.
- [0240] 임의로, 상기 방법은 또한 간극 영역으로부터 유기 물질을 제거하기 위해 활성면을 폴리싱시키 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0241] 임의로, 유기 물질은 단일 생체분자만 수용하도록 형성된 부피를 가져 입체 배제가 하나 초과인 생체분자가 포획되거나 반응 공동을 시딩하는 것을 방지한다.
- [0242] 임의로, 유기 물질은 액체에 대해 투과성이고, 핵산에 부착하도록 형성된다.
- [0243] 또 다른 양태에서, 나노구조는 베이스 층으로부터 공동 층의 일부를 통해 해당 반응 공동에 걸쳐 있을 수 있다.
- [0244] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 물질 조성, 형태, 및 상대 위치를 갖는다.
- [0245] 특정 구체예에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 물질 조성, 형태, 및 상대 위치를 가질 수 있다.
- [0246] 임의로, 전자기 에너지는 형광 광 방출을 포함한다.
- [0247] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 내의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키기 위해 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 조성, 형태, 및 상대 위치를 가질 수 있다.
- [0248] 임의로, 여기 광 또는 광 방출의 파장은 300 나노미터(nm) 내지 750 nm이다.
- [0249] 또 다른 양태에서, 나노구조 각각은 나노임프린트-리소그래피(NIL) 물질을 포함하는 나노바디 및 나노바디를 둘러싸는 외부층을 포함할 수 있다. 임의로, 외부층은 금(Au), 은(Ag), 주석(Sn), 로듐(Rh), 루테튬(Ru), 팔라듐(Pd), 오스뮴(Os), 이리듐(Ir), 백금(Pt), 티탄(Ti), 알루미늄(Al), 크롬(Cr), 구리(Cu), p-타입 도핑된 실리콘, n-타입 도핑된 실리콘, 및 갈륨 아르세나이드 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0250] 임의로, 패시베이션 층이 나노바디 상에 걸쳐 있을 수 있다.
- [0251] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 기관 본체의 활성면과 장치 덮개 사이에 흐름 채널을 형성시키도록 기관 본체에 장치 덮개를 마운팅시키는 단계를 포함하고, 흐름 채널은 이를 통해 반응 공동으로 흐르는 액체의 흐름을 유도하도록 형성된다.
- [0252] 또 다른 양태에서, 반응 공동은 해당 하부 표면을 가질 수 있다. 나노구조는 해당 반응 공동의 하부 표면으로부터 활성면을 향해 돌출될 수 있다.
- [0253] 또 다른 양태에서, 반응 공동 각각은 활성면과 반응 공동의 하부 표면 사이에 걸쳐 있는 적어도 하나의 측벽에 의해 규정될 수 있다. 나노구조는 적어도 하나의 측벽의 적어도 일부를 형성할 수 있다. 임의로, 나노구조는 해당 반응 공동의 하부 표면으로부터 돌출되어 있을 수 있다.
- [0254] 임의로, 간극 영역에는 나노구조가 실질적으로 결여되어 있다.
- [0255] 구체예에서, 구조화된 기관을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계, 베이스 층의 베이스 면을 따라 나노구조를 형성시키는 단계, 및 나노구조의 어레이 상에 나노임프린트 리소그래피(NIL) 층을 제공하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 또한 반응 공동의 어레이를 NIL 층으로 임프린팅시키는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 나노구조의 다양한 서브어레이는 각각의 반응 공동 아래에 위치된다. 나노구조의 각각의 서브어레이는 NIL 층의 각각의 충전 영역에 의해 둘러싸일 수 있다. 상기 방법은 또한 해당 반응 공동 내의 나노구조의 서브어레이를 노출시켜 NIL 층의 각각의 충전 영역을 제거하는 단계를 포함할 수 있다. 각각의 반응 공동 내의 나노구조의 서브어레이는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성할 수 있다.
- [0256] 구체예의 한 양태에서, NIL 층은 상부 NIL 층이고, 나노구조를 형성시키는 것은 하부 NIL 층을 제공하고, 나노

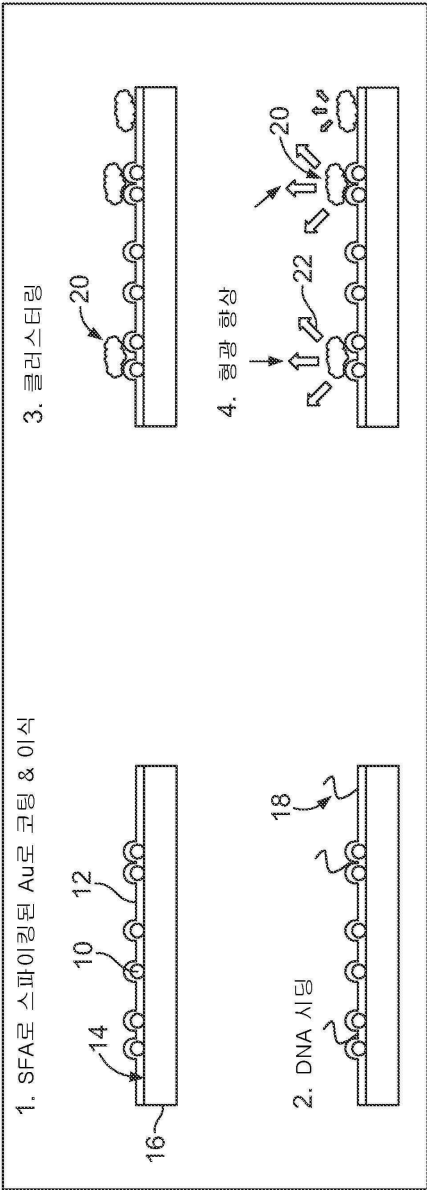
구조를 임프린팅시키는 것을 포함한다.

- [0257] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조는 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 갖고, 앙상블 증폭기는 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는다.
- [0258] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기는 편광된 형태를 가져 앙상블 증폭기로부터의 반응이 전자기 에너지의 편광에 기초하도록 한다.
- [0259] 또 다른 양태에서, 활성면은 간극 영역을 따라 걸쳐 있는 측면 표면을 포함하고, 측면 표면은 실질적으로 평면이다.
- [0260] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 유기 물질이 나노구조를 덮도록 반응 공동 내에 유기 물질을 제공하는 단계를 포함할 수 있고, 유기 물질은 해당 반응 공동 내에 생체분자를 고정시키도록 형성된다. 임의로, 유기 물질은 겔 물질을 포함한다. 임의로, 유기 물질은 하이드로겔을 포함한다.
- [0261] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 간극 영역으로부터 유기 물질을 제거하기 위해 활성면을 폴리싱시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0262] 구체예에서, 구조화된 기판을 제조하는 방법이 제공된다. 상기 방법은 베이스 면을 갖는 베이스 층을 제공하는 단계 및 베이스 면을 따라 나노임프린트 리소그래피(NIL) 층을 제공하는 단계를 포함한다. 상기 방법은 또한 NIL 층을 임프린팅시켜 베이스 부분 및 베이스 부분으로부터 돌출된 나노바디의 어레이를 형성시키는 단계를 포함할 수 있다. 상기 방법은 또한 나노바디를 덮는 플라스몬 공명 필름(또는 층)을 증착시켜 복수의 나노구조를 형성시키는 단계를 포함할 수 있다. 각각의 나노구조는 해당 나노바디 및 플라스몬 공명 필름의 부분을 포함한다. 상기 방법은 또한 복수의 반응 공동을 포함하는 공동 층을 형성시키는 단계를 포함하며, 여기서 각각의 반응 공동은 그 안에 복수의 나노구조를 포함한다. 복수의 나노구조는 해당 반응 공동으로 전파되는 전자기 에너지를 증폭시키거나 해당 반응 공동 내에서 발생하는 전자기 에너지를 증폭시키는 것 중 적어도 하나를 위해 형성된 해당 반응 공동의 앙상블 증폭기를 형성한다.
- [0263] 구체예의 한 양태에서, 공동 층은 NIL 물질을 포함할 수 있다. 공동 층 형성은 공동 층의 NIL 물질을 임프린팅시켜 반응 공동을 형성시키는 것을 포함할 수 있다.
- [0264] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기 각각에 대한 나노구조는 해당 앙상블 증폭기의 다른 나노구조와 관련된 소정의 위치를 가질 수 있다. 임의로, 앙상블 증폭기는 본질적으로 동일한 나노구조의 배열을 갖는다.
- [0265] 또 다른 양태에서, 앙상블 증폭기는 편광된 형태를 가져 앙상블 증폭기로부터의 반응이 전자기 에너지의 편광에 기초하도록 한다.
- [0266] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 또한 유기 물질이 나노구조를 덮도록 반응 공동 내에 유기 물질을 제공하는 단계를 포함할 수 있고, 유기 물질은 해당 반응 공동 내의 생체분자를 고정시키도록 형성된다. 임의로, 상기 방법은 간극 영역으로부터 유기 물질을 제거하기 위해 활성면을 폴리싱시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0267] 또 다른 양태에서, 상기 방법은 기판 본체의 활성면과 장치 덮개 사이에 흐름 채널을 형성시키도록 기판 본체에 장치 덮개를 마운팅시키는 단계를 포함하고, 흐름 채널은 이를 통해 반응 공동으로 흐르는 액체의 흐름을 유도하도록 형성된다.
- [0268] 본 출원 전체에 걸쳐, 다양한 간행물, 특허 및/또는 특허 출원이 언급되었다. 이들 간행물의 전체내용의 개시는 본 출원에 참조로서 포함된다.
- [0269] 본원에서 사용되는 용어 "함유하는", "포함하는", "갖는" 등은 열거된 요소를 포함할 뿐만 아니라 추가의 요소를 포함하는 것도 가능한, 제한이 없는 것으로 의도된다.
- [0270] 상기 기재는 예시적 것으로, 제한적이지 않은 것으로 의도됨이 이해되어야 한다. 예를 들어, 상기 기재된 구체예(및/또는 이의 양태)는 서로 조합하여 이용될 수 있다. 또한, 본 발명의 범위를 벗어남이 없이 본 발명의 교시내용에 특정 상황 또는 물질을 적합화시키기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 본원에 기재된 치수, 물질의 유형, 다양한 성분의 배향, 및 다양한 성분의 수 및 위치는 특정 구체예의 파라미터를 규정하고자 한 것이며, 제한하고자 한 것이 아니라, 단지 예시적 구체예이다. 청구항의 사상 및 범위 내의 많은 다른 구체예 및 변형은 상기 설명의 개관시 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 범위는 첨부된 청구항과 권리가 등등한 동등물의 전체 범위와 함께 첨부된 청구항과 관련하여 결정되어야 한다.

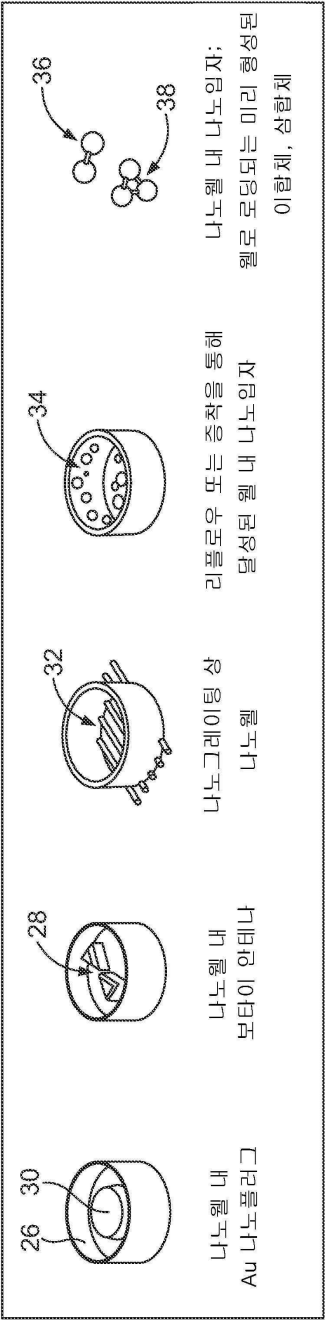
- [0271] 설명에서 이용되는 구 "예시적 구체예", "일부 구체예", "특정 구체예" 등은 기재된 구체예(들)이 본 출원에 따라 형성되거나 수행될 수 있는 구체예의 예임을 의미한다. 상기 구는 본 발명의 주제를 상기 구체예로 제한하고자 하는 것이 아니다. 더욱 특히, 본 발명의 주제의 다른 구체예는 열거된 특징 또는 특정 구체예와 함께 기재된 구조를 포함하지 않을 수 있다.
- [0272] 첨부된 청구항에서, 용어 "포함하는" 및 "여기서(in which)"는 각각의 용어 "함유하는" 및 "여기서(wherein)"의 명백한 영어 동등부로 사용된다. 또한, 하기 청구항에서, 용어 "제1", "제2" 및 "제3" 등은 단지 표시로 사용되며, 이들의 대상에 대한 숫자적 필요조건을 부과하고자 하는 것이 아니다. 추가로, 하기 청구항의 제한은 기능식 청구항(means-plus-function) 포맷으로 기재되지 않으며, 상기 청구항의 제한이 추가 구조가 없는 기능의 언급 후에 구 "~로 정하다"를 명백히 사용할 때까지 35 U.S.C. § 112 (f)를 기초로 하여 해석되는 것으로 의도되지 않는다.
- [0273] 본 출원의 주제는 또한 미국 특허 출원 공개 번호 2014/0242334호; 2014/0079923호; 및 2011/0059865호에 기재된 주제에 적용 가능할 수 있거나, 상기 주제와 유사한 주제를 포함할 수 있다. 이들 간행물 각각은 전체내용이 참조로서 본원에 포함된다.
- [0274] 하기 청구항은 본 출원의 하나 이상의 구체예를 열거하며, 본 출원의 설명에 포함된다.

도면

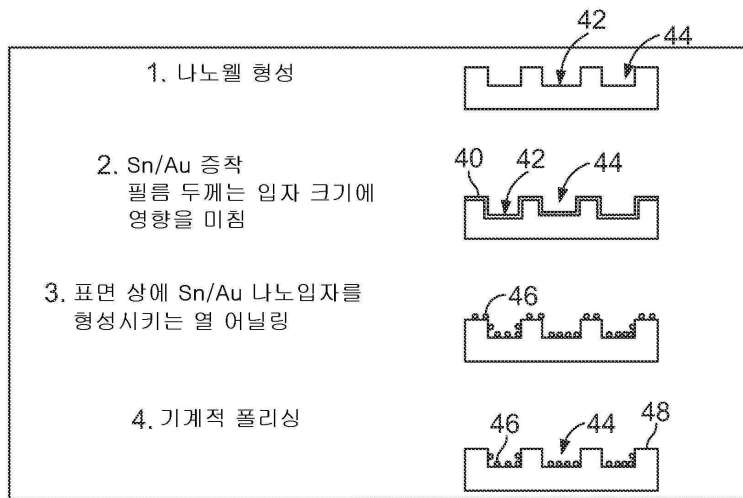
도면1



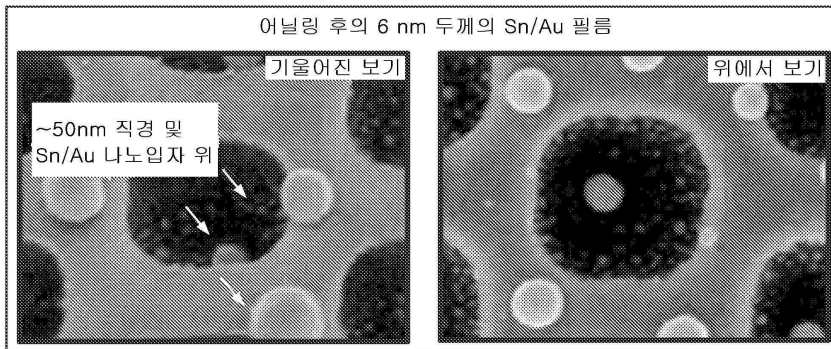
도면2



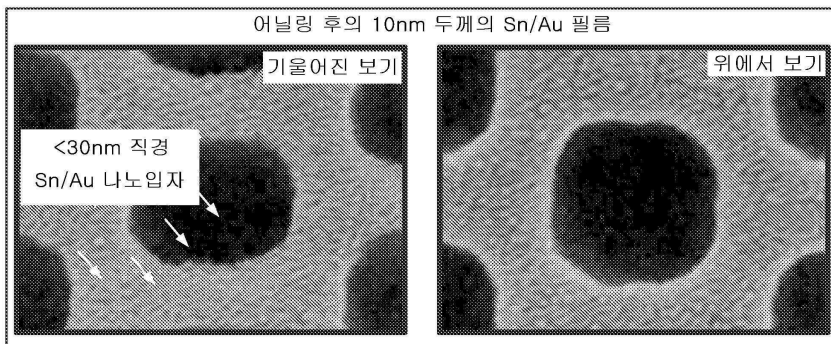
도면3a



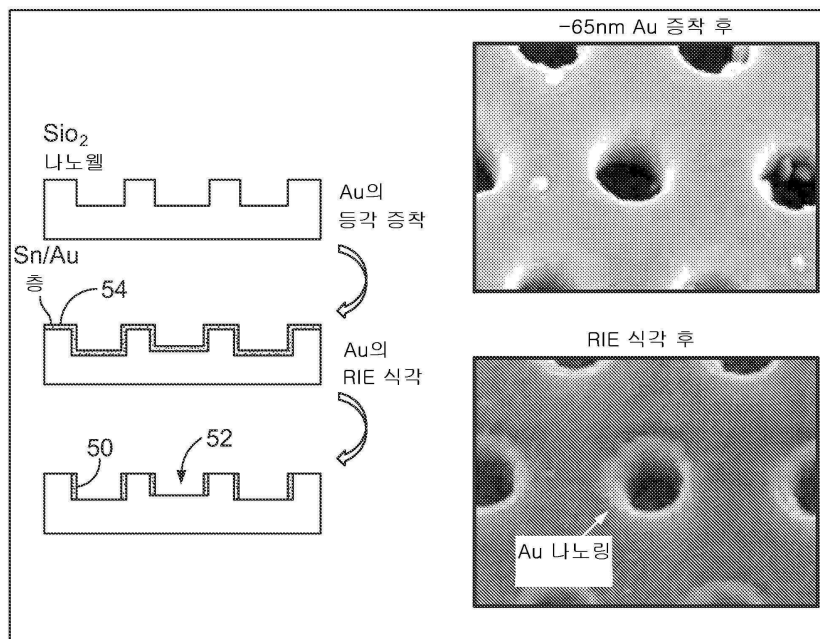
도면3b



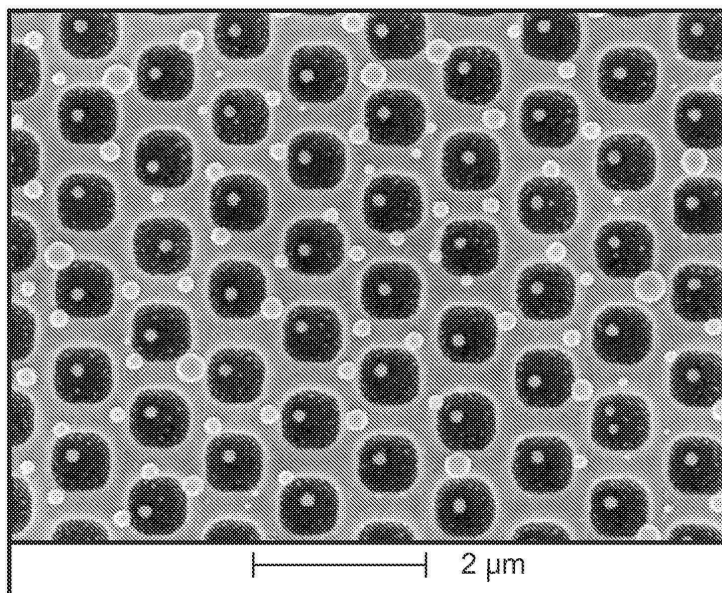
도면3c



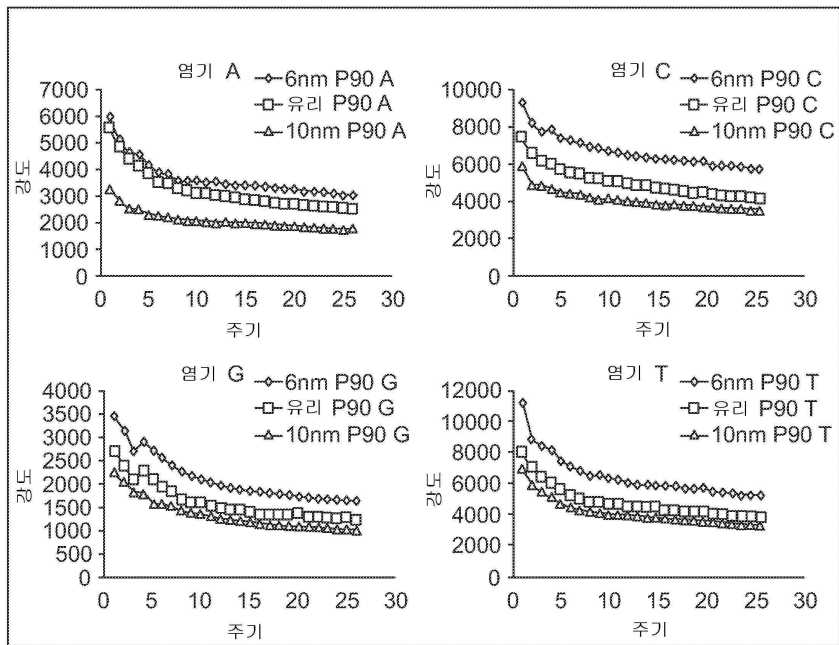
도면4



도면5



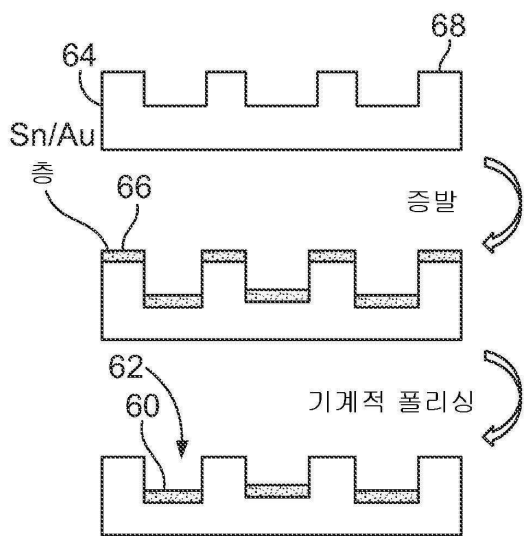
도면6



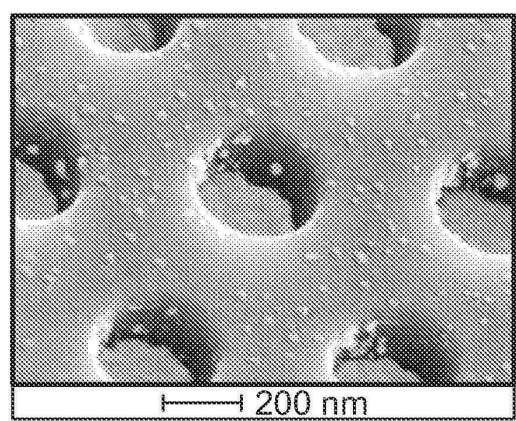
도면7

	A	C	G	T
주기 1	1.08	1.25	1.28	1.39
주기 26	1.22	1.39	1.33	1.39

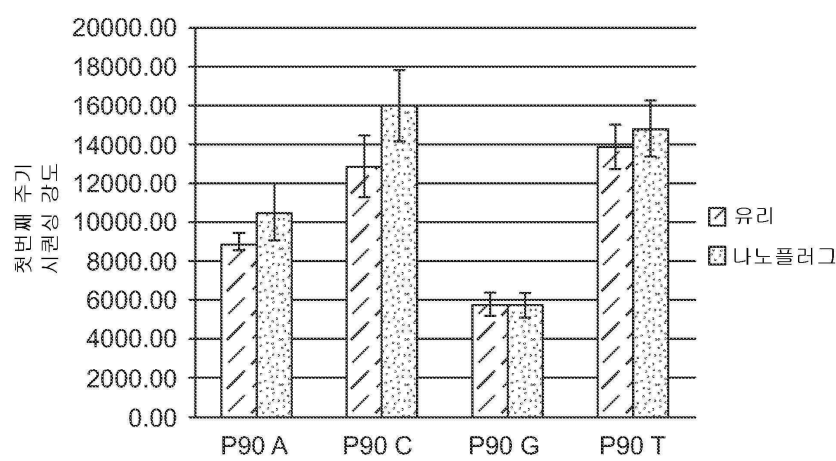
도면8a



도면8b



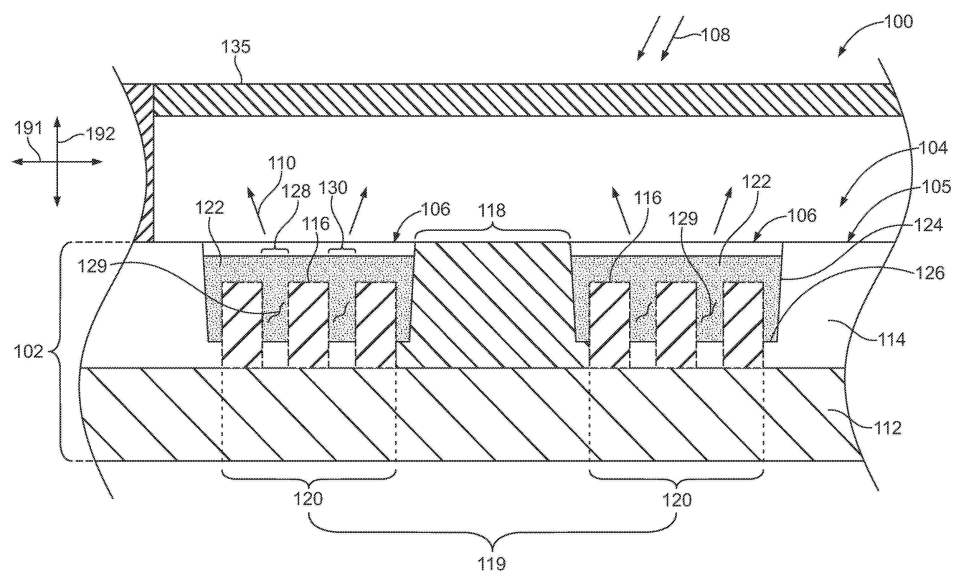
도면9a



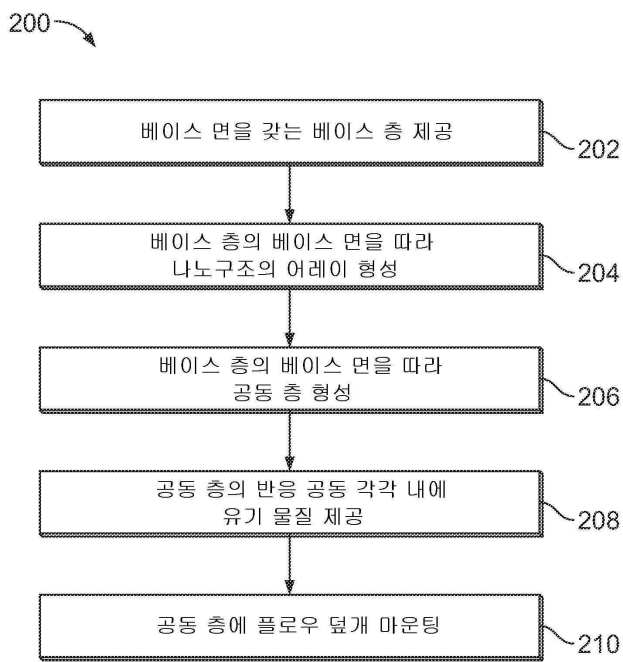
도면9b

	A	C	G	T
Au 나노플러그로부터의 강도 향상 %	1.17	1.24	0.99	1.06

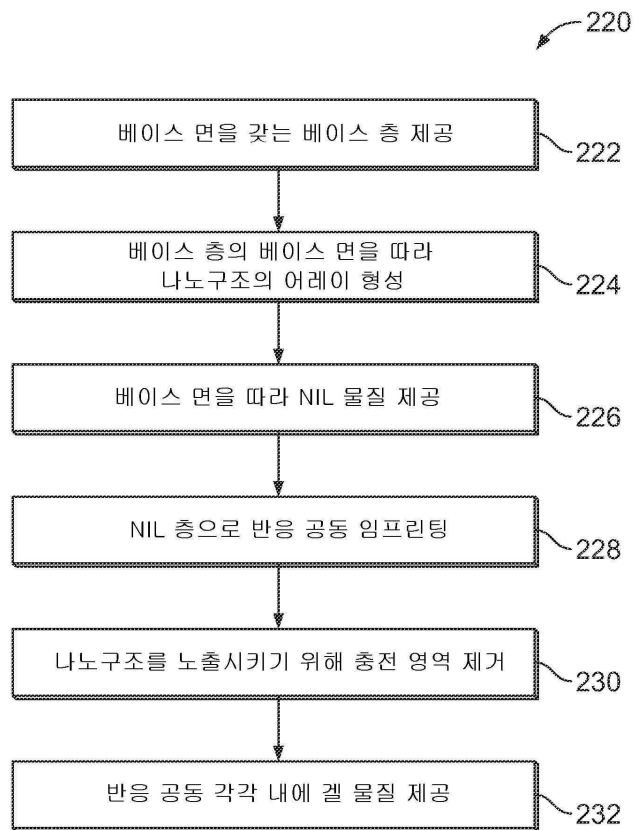
도면10



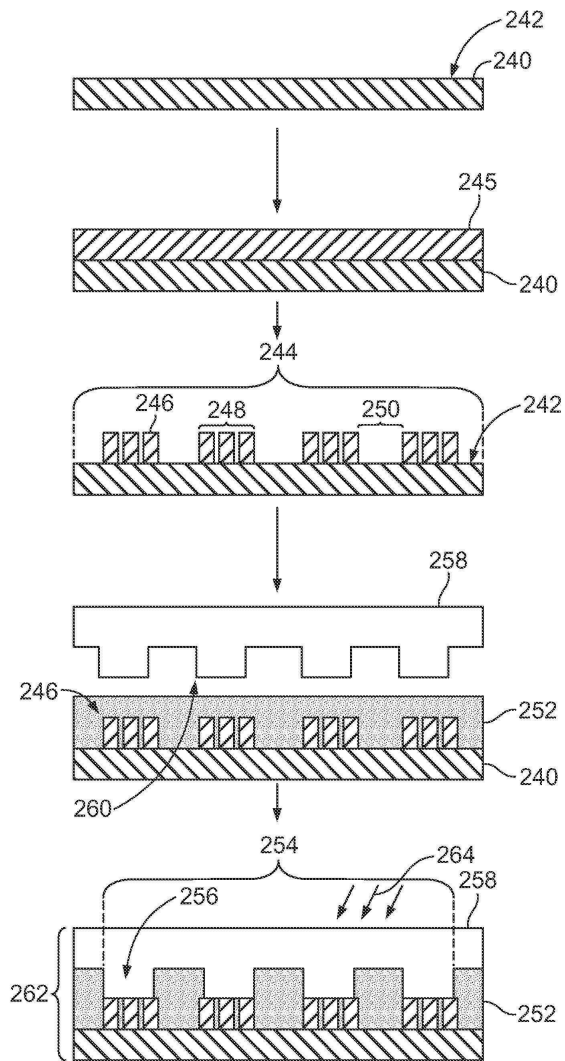
도면11



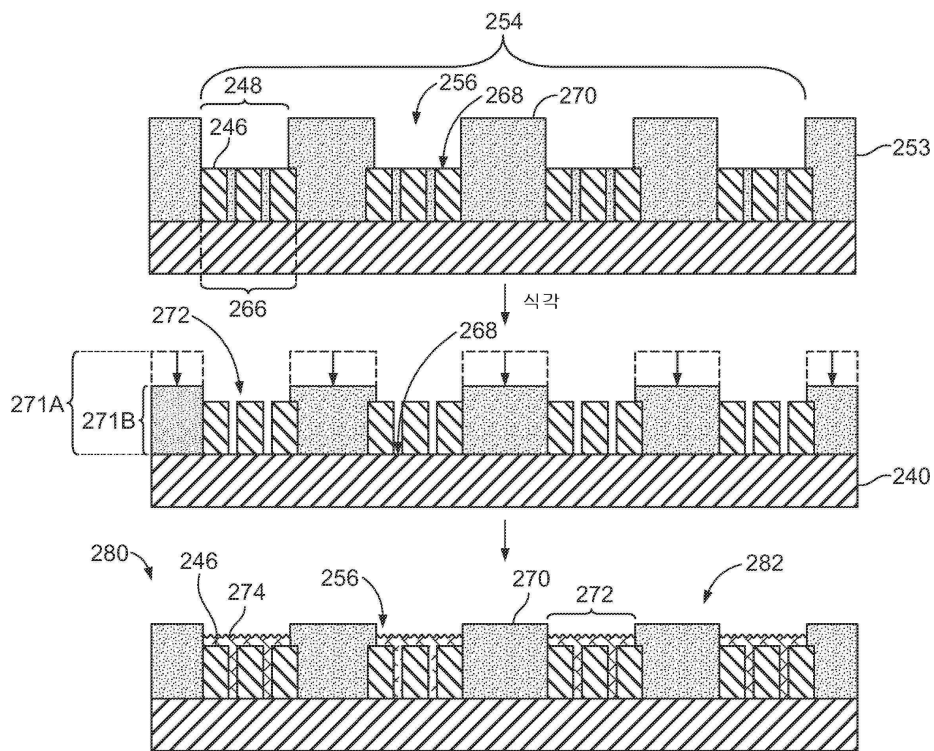
도면12



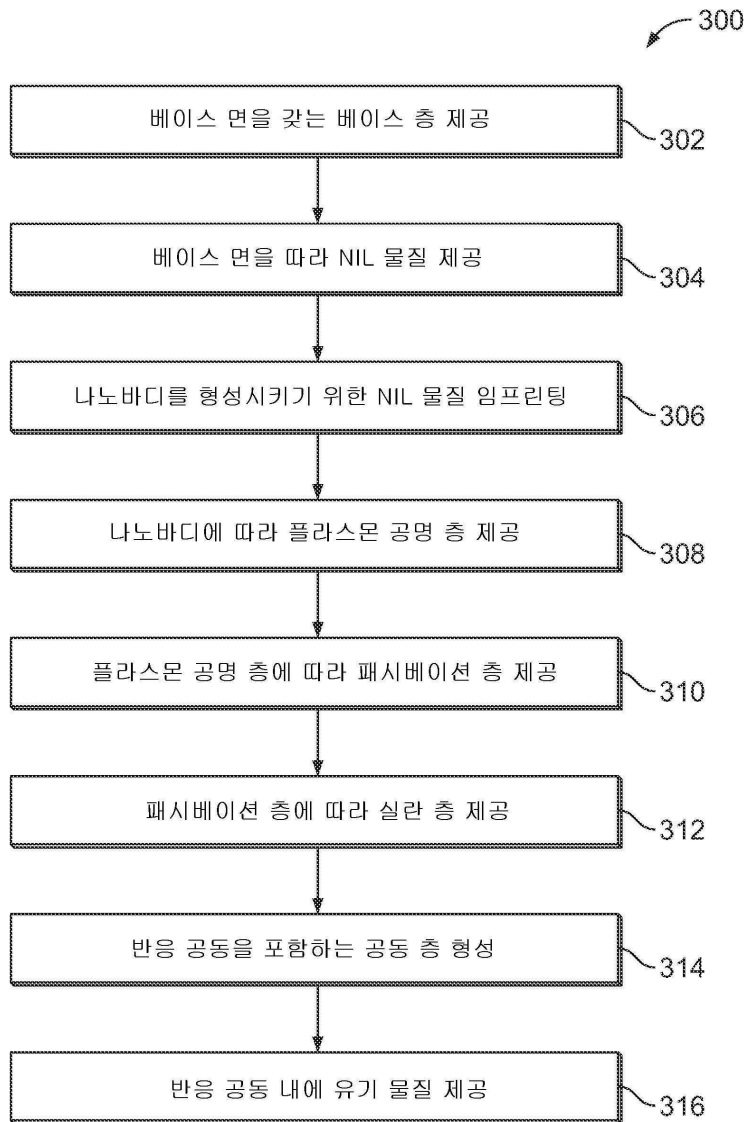
도면13



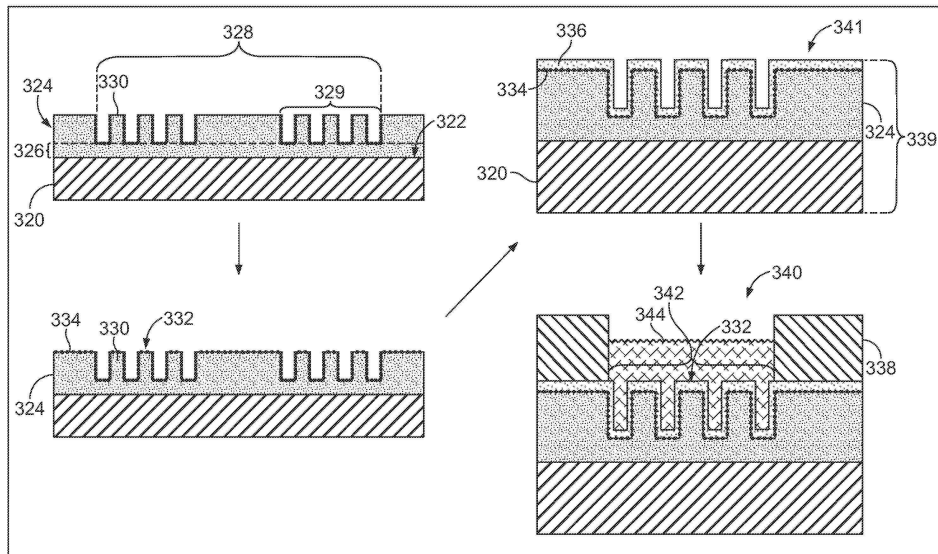
도면14



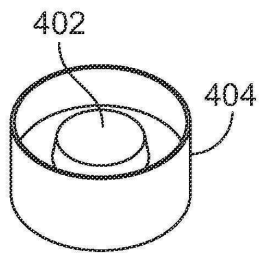
도면15



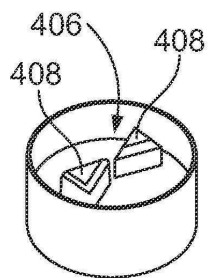
도면16



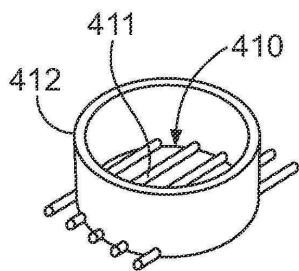
도면17a



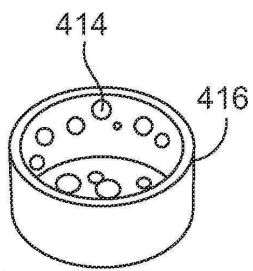
도면17b



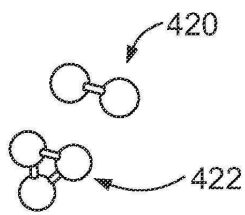
도면17c



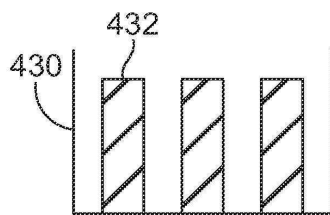
도면17d



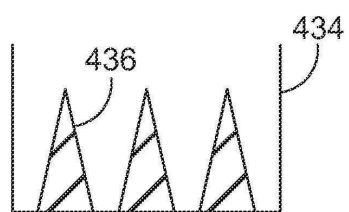
도면17e



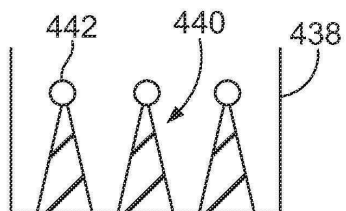
도면18a



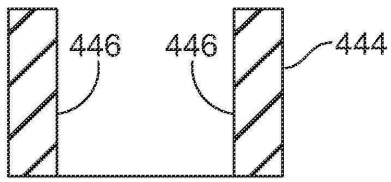
도면18b



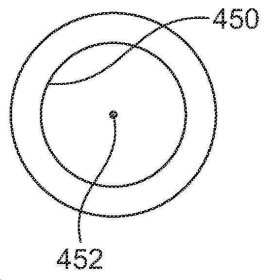
도면18c



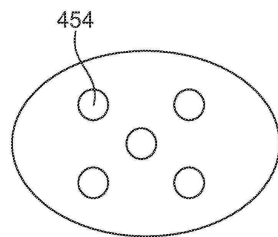
도면18d



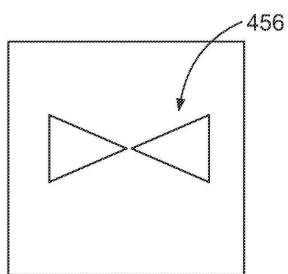
도면19a



도면19b



도면19c



도면19d

