



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I826089 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：111141528

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 03 日

(51)Int. Cl. : G01N21/64 (2006.01)

G01N33/52 (2006.01)

(30)優先權：2016/11/03 美國

62/416,813

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

(72)發明人：鍾成法蘭克 ZHONG, CHENG FRANK (CN)

(74)代理人：李世章；彭國洋

(56)參考文獻：

TW 201629484A

US 2011/0127619A1

US 2013/0293749A1

US 2015/0079596A1

WO 2015/089092A1

審查人員：陳勇志

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：15 共 60 頁

(54)名稱

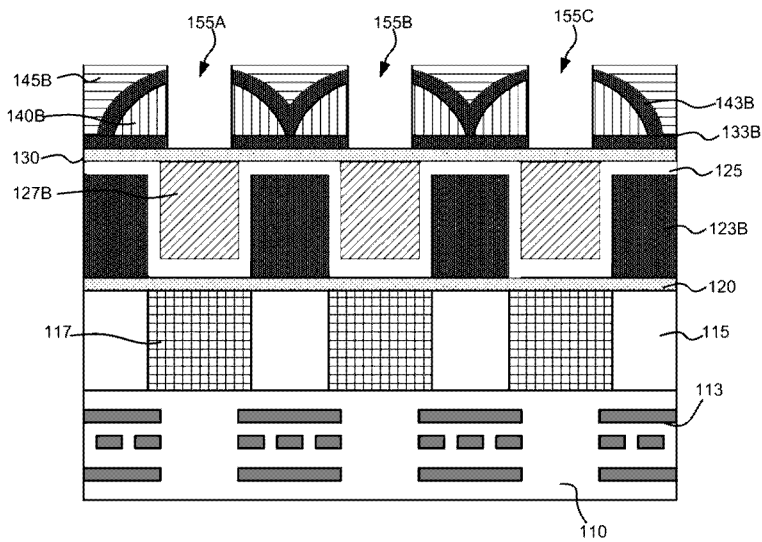
用於生物或化學分析的生物感測器以及製造其的方法

(57)摘要

本發明之實施例提供用於生物或化學分析之經改良生物感測器。根據本發明之實施例，背面照明(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感測器可用於有效地分析並量測樣本之螢光或化學發光。此量測值可用於幫助鑑別樣本。本發明之實施例亦提供製造用於生物或化學分析之經改良生物感測器的方法及 DNA 測序之系統及方法。

Embodiments of the invention provide an improved biosensor for biological or chemical analysis. According to embodiments of the invention, backside illumination (BSI) complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) image sensors can be used to effectively analyze and measure fluorescence or chemiluminescence of a sample. This measured value can be used to help identify a sample. Embodiments of the invention also provide methods of manufacturing an improved biosensor for biological or chemical analysis and systems and methods of DNA sequencing.

指定代表圖：



第13圖

- 符號簡單說明：
- 110:第一介電質層
 - 113:金屬佈線
 - 115:基板層
 - 117:光電二極體
 - 120:第一鈍化層
 - 123B:第一金屬層
 - 125:第二介電質層
 - 127B:濾色器材料
 - 130:第二鈍化層
 - 133B:第二金屬層
 - 140B:微透鏡
 - 143B:第三金屬層
 - 145B:平坦化層
 - 155A-C:第三開口
 - 1300:生物感測器



I826089

【發明摘要】

【中文發明名稱】用於生物或化學分析的生物感測器以及製造其的方法

【英文發明名稱】BIOSENSORS FOR BIOLOGICAL OR CHEMICAL ANALYSIS
AND METHODS OF MANUFACTURING THE SAME

【中文】

本發明之實施例提供用於生物或化學分析之經改良生物感測器。根據本發明之實施例，背面照明(BSI)互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感測器可用於有效地分析並量測樣本之螢光或化學發光。此量測值可用於幫助鑑別樣本。本發明之實施例亦提供製造用於生物或化學分析之經改良生物感測器的方法及DNA測序之系統及方法。

【英文】

Embodiments of the invention provide an improved biosensor for biological or chemical analysis. According to embodiments of the invention, backside illumination (BSI) complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) image sensors can be used to effectively analyze and measure fluorescence or chemiluminescence of a sample. This measured value can be used to help identify a sample. Embodiments of the invention also provide methods of manufacturing an improved biosensor for biological or chemical analysis and systems and methods of DNA sequencing.

【指定代表圖】第（ 13 ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

1 1 0 : 第 一 介 電 質 層

1 1 3 : 金 屬 佈 線

1 1 5 : 基 板 層

1 1 7 : 光 電 二 極 體

1 2 0 : 第 一 鈍 化 層

1 2 3 B : 第 一 金 屬 層

1 2 5 : 第 二 介 電 質 層

1 2 7 B : 濾 色 器 材 料

1 3 0 : 第 二 鈍 化 層

1 3 3 B : 第 二 金 屬 層

1 4 0 B : 微 透 鏡

1 4 3 B : 第 三 金 屬 層

1 4 5 B : 平 坦 化 層

1 5 5 A - C : 第 三 開 口

1 3 0 0 : 生 物 感 測 器

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】用於生物或化學分析的生物感測器以及製造其的方法

【英文發明名稱】BIOSENSORS FOR BIOLOGICAL OR CHEMICAL ANALYSIS
AND METHODS OF MANUFACTURING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本申請案主張2016年11月3日提交之美國臨時專利申請案第62/416,813號之優先權，其內容以全文引用方式併入。

【0002】 本發明一般係關於用於生物或化學分析之生物感測器，並且更具體而言，係關於包括背面照明(backside illumination; BSI)互補金屬氧化物半導體(complementary metal-oxide-semiconductor; CMOS)影像感測器之生物感測器及製造其之方法。

【先前技術】

【0003】 CMOS影像感測器適用於電子成像裝置，包括數位攝影機、醫療成像設備、雷達裝置及類似裝置。藉由使用積體電路及一系列光電二極體，CMOS影像感測器可捕獲光並且將其轉換成電信號。

【0004】 CMOS影像感測器通常在晶片中實行。晶片可具有用於每個像素之放大器。儘管在晶片中包含眾多放大器

可導致捕獲光之面積減少，但是其他組件可整合至晶片上以便將更多光引導至光電二極體中。舉例而言，微透鏡可安置在光電二極體前面以便將光引導至光電二極體中。為了進一步增加到達光電二極體之光之量，可使用背面照明 (backside illumination; BSI)。BSI事實上將光電二極體放置在更接近於光源處，而非在積體電路佈線下方以及其之間，從而減少相消干涉。BSI CMOS感測器亦具有其他優勢。舉例而言，BSI CMOS感測器可具有低操作電壓、低功耗、高效率及低雜訊。

【0005】 BSI CMOS影像感測器通常具有兩個功能區域：光感測區域及電子電路區域。光感測區域包括被配置成陣列的光電二極體，該等光電二極體耦合至金屬氧化物半導體 (metal-oxide-semiconductor; MOS) 電晶體，該等電晶體偵測光強度。電子電路區域提供MOS電晶體與外部連接之間之連接，該等外部連接諸如通向用於處理來自MOS電晶體之資料的其他裝置。

【0006】 實際上，BSI CMOS影像感測器使用過濾器，該等過濾器將入射光劃分成不同波長之光之頻帶。光藉由基板上之光電二極體來接收並且轉化成不同強度之電信號。舉例而言，入射束可被劃分成紅、綠及藍光並且藉由每個顏色之相應光電二極體來接收。每個光電二極體將偵測到之光強度轉化成電信號。此藉由光電二極體積累電荷來實現。舉例而言，光之強度愈高，在光電二極體中積累之電荷愈高。隨後，積累之電荷可與顏色及亮度相關聯。

【0007】 除了如上所述之用途以外，CMOS影像感測器亦可用於生物或化學分析。對於此分析而言，生物或化學樣本可安置在光電二極體上方，並且藉由生物或化學樣本發出的光可被引導至光電二極體。樣本之螢光或化學發光可藉由光電二極體來偵測，並且可判定顏色及亮度。此顏色及亮度可用於鑑別生物或化學樣本。

【發明內容】

【0008】 本發明之實施例藉由提供用於生物或化學分析之經改良生物感測器來解決與先前方法相關聯之缺點。根據本發明之實施例，BSI CMOS影像感測器可用於有效地分析並量測樣本之螢光或化學發光。此量測值可用於幫助鑑別樣本。本發明之實施例亦提供製造用於生物或化學分析之經改良生物感測器的方法。如本文使用，術語「生物感測器」可用於代表用於判定在生物分子內或附接至該生物分子之發光物質的設備，該生物分子尤其是核酸大分子，該核酸大分子藉由DNA及分支或另外衍生之核酸來例示。如本文使用，術語「核酸大分子」可代表例如DNB或單鏈實施例。

【0009】 根據本發明之一些實施例，提供生物感測器。生物感測器包含背面照明互補金屬氧化物半導體(complementary metal-oxide-semiconductor; CMOS)影像感測器。背面照明CMOS影像感測器包括電子電路層及在電子電路層上之光感測層。光感測層包括基板

層及與電子電路層接觸之光電二極體。光接收表面藉由光電二極體的與電子電路層相反之表面來定義。生物感測器進一步包含光電二極體上之濾色器材料。生物感測器進一步包含濾色器材料上之點或孔，該點或孔被設定大小並且官能化以便接收核酸大分子，並且吸收來自核酸大分子之光或將來自核酸大分子之光傳遞至光接收表面。

【0010】 根據一些實施例之製造方法包含提供背面照明互補金屬氧化物半導體 (complementary metal-oxide-semiconductor; CMOS) 影像感測器。提供背面照明 CMOS 影像感測器包括提供電子電路層並且在電子電路層上提供光感測層。光感測層包括基板層及與電子電路層接觸之光電二極體。光接收表面藉由光電二極體的與電子電路層相反之表面來定義。方法進一步包含將濾色器材料沉積在光電二極體上。方法進一步包含在濾色器材料上提供點或孔，該點或孔被設定大小並且官能化以便接收核酸大分子，並且吸收來自核酸大分子之光或將來自核酸大分子之光傳遞至光接收表面。

【0011】 根據一些實施例之 DNA 測序方法包含重複執行一流程，該流程可包括用螢光標記物來標記核酸大分子，該螢光標記物鑑別核酸大分子中之特定位置處之核苷酸鹼基。流程進一步包括偵測與核酸大分子相關聯之螢光標記物。偵測螢光標記物包括用激發光來照明核酸大分子。核酸大分子吸收激發光並且將發射光透過濾色器來傳輸並且到達背面照明互補金屬氧化物半導體 (complementary

metal-oxide-semiconductor; CMOS) 影像感測器之光電二極體上。偵測螢光標記物進一步包括量測在光電二極體處接收之發射光之至少一個參數。偵測螢光或化學發光標記物進一步包括將發射光之至少一個參數與螢光標記物相關聯。流程進一步包括將螢光標記物從核酸大分子上移除。在不受限制之情況下，本發明之實施例之生物感測器可用於執行合成測序 (sequencing-by-synthesis; SBS)、連接測序、cPAL測序、焦磷酸測序及前述測序之組合。

【0012】 在參考以下說明書、申請專利範圍及附圖後，前述內容與其他特徵及實施例變得更明顯。

【圖式簡單說明】

【0013】 本發明之示例性實施例在下文參考以下附圖來詳細描述：

【0014】 第1圖係根據一些實施例之背面照明CMOS影像感測器之橫截面視圖。

【0015】 第2圖係根據一些實施例之具有第一鈍化層之背面照明CMOS影像感測器之橫截面視圖。

【0016】 第3圖係根據一些實施例之具有第一金屬層之背面照明CMOS影像感測器之橫截面視圖。

【0017】 第4圖係根據一些實施例之具有經蝕刻第一金屬層之背面照明CMOS影像感測器之橫截面視圖。

【0018】 第 5 圖係根據一些實施例之具有介電質層之背面照明 CMOS 影像感測器之橫截面視圖。

【0019】 第 6 圖係根據一些實施例之具有濾色器層之背面照明 CMOS 影像感測器之橫截面視圖。

【0020】 第 7 圖係根據一些實施例之具有平坦化濾色器層之背面照明 CMOS 影像感測器之橫截面視圖。

【0021】 第 8 A 圖係根據一些實施例之具有第二鈍化層、第一材料層及第二金屬層之背面照明 CMOS 影像感測器之橫截面視圖。

【0022】 第 8 B 圖係根據一些實施例之具有第二鈍化層及第二金屬層之背面照明 CMOS 影像感測器之橫截面視圖。

【0023】 第 9 圖係根據一些實施例之使用背面照明 CMOS 影像感測器之生物感測器之橫截面視圖。

【0024】 第 10 圖係根據一些實施例之使用背面照明 CMOS 影像感測器及微透鏡之生物感測器之橫截面視圖。

【0025】 第 11 圖係根據一些實施例之使用背面照明 CMOS 影像感測器、微透鏡及第三金屬層之生物感測器之橫截面視圖。

【0026】 第 12 圖係根據一些實施例之使用背面照明 CMOS 影像感測器、微透鏡、第三金屬層及平坦化層之生物感測器之橫截面視圖。

【0027】 第 13 圖係根據一些實施例之使用背面照明 CMOS 影像感測器之生物感測器之橫截面視圖。

【0028】 第 14 A 圖係根據一些實施例之可用於生物感測器中之雙通道濾色器之頂視圖。

【0029】 第 14 B 圖係根據一些實施例之可用於生物感測器中之四通道濾色器之頂視圖。

【0030】 第 15 A - 15 C 圖係照相影像，該等影像展示在根據一些實施例之多步測序之各個階段下、來自 BSI CMOS 晶片中之陣列上之眾多點之 DNB 的信號。

【實施方式】

【0031】 第 1 - 13 圖描述根據本發明之實施例之生物感測器之製造之各個階段。根據此說明書，製造及組配之其他實施例對於熟習此項技術者而言係明顯的。因此，規定以下說明書係描述性的而不具有限制性。

【0032】 為了便於閱讀，以下文字組織成多個節段。然而，應瞭解一個節段中之標的物之描述(例如，大分子、過濾器、測序方法等之描述)亦可適用於其他節段中之標的物。

【0033】 根據本發明之實施例之生物感測器不限於特定用途。在一態樣中，本發明之實施例之生物感測器尤其適用於大規模平行 DNA 測序。DNA 測序技術係熟知的(參見，例如，Drmanac 等人，2010，「Human genome sequencing using unchained base reads on self-assembling DNA nanoarrays,」*Science* 327:78-81; Shendure & Ji, (2008, 「Next-generation DNA sequencing,」*Nature*

Biotechnology 26:1135-45)，因此在以下節段中僅一般性地描述。以下段落提供測序及相關聯術語之簡要初步論述以使得以下描述之生物感測器之某些特徵可更容易理解。

【0034】 各種DNA測序方法係已知的。在眾多方法中，將大分子（例如，基因組DNA）分解成眾多較小片段，每個片段具有特徵DNA序列。在基於陣列之技術中，將片段分佈至基板上之位置之陣列以使得陣列中之每個位置含有DNA片段，該片段具有單一特徵序列。同時從數千或更經常數百萬個位置中之每一者處之DNA中獲得序列資訊（「讀取」）並且藉由電腦來組裝。在大多數測序方法中，片段在序列判定之前加以擴增。擴增可在將片段定位在每個位置處之前、在將片段定位在每個位置處之後，或在定位之前及之後發生。擴增步驟產生「擴增子」，該等擴增子充當測序流程中之「模板」。因此，作為例示，擴增可使用RCA來在陣列之每個位置處產生單鏈連環體（例如，DNA奈米球）或使用橋式PCR來在每個位置處產生具有相同序列的DNA分子之純系群體（或群集）。

【0035】 應瞭解提及「DNA大分子」及其類似表述包括DNA奈米球、分支結構，及群集純系群體（即，一個以上單一分子）或其前驅物。另外，「DNA大分子」及其類似表述可包括輔助DNA分子諸如引子，並且包括藉由引子延伸或其他流程所產生的生長鏈。在眾多測序技術中，輔助DNA分子包含可偵測（例如，螢光或化學發光）染料（或用

該染料來「標記」)，該染料發出藉由生物感測器之光電二極體偵測到之光。因此，片語諸如「用激發光源來照明核酸大分子並且偵測從大分子發出之光」應理解為包括「將DNA奈米球或純系群集及相關聯標記輔助分子暴露至激發光源並且偵測從標記輔助分子之染料發出之光」。

【0036】 在基於陣列之測序方法中，及本發明之實施例之生物感測器中，DNA大分子定位在基板上之孔中或「點」上。孔或點能夠接收並且保持大分子。通常，點，有時被稱為「離散間隔開之區域」或「襯墊」，包含經官能化以便接收核酸大分子之基板並且點藉由一些區域來分隔，由於DNA大分子不結合此等區域，因此該等區域係「惰性的」。例如並且在不受限制之情況下，參見D r m a n a c 2010，上述。「孔」係包含壁的一種類型之點，該等壁形成DNA大分子之邊界或屏障。除了從上下文明顯易知以外，在下文中提及「點」可包括孔。

【0037】 在本發明之實施例之生物感測器中，點總體上具有均勻尺寸並且組織成有規則的(即，並非隨機的)陣列。陣列之點總體上組織成直線圖案，經常呈行及列，但是可使用其他有規則的圖案(例如，螺旋形)。陣列之點可具有特徵尺寸、間距及密度。點本身可為圓形、正方形、六邊形或其他形狀。在以下論述中，點總體上假定係圓形的(即，可描述為具有直徑)。應瞭解提及「直徑」亦可意指其他成形點之線性尺寸(例如，對角線、長度或寬度)。因此，如本文使用，「線性尺寸」可意指圓形之直徑、正方

形之寬度、對角線及其類似尺寸。在本發明之實施例之生物感測器之情形中，點之大小具有兩個方面的含義。首先，點可設定大小且/或官能化以便限於由單一目標序列來佔據。此可為單一DNA奈米球(單一目標序列之連環體)或具有單一目標序列之純系群集。參見，例如，美國專利案第8,133,719號及美國專利申請公開案第2013/0116153號，兩者出於所有目的全部以引用方式併入。其次，總體上點可設定大小並且相對於下伏光電二極體來定位以使得每個光電二極體接收從單一點發射的光。在一些實施例中，點之陣列可以1對1關係定位在對應光電二極體(及/或濾色器)之陣列上。亦即，從例如個別點處之DNA大分子發射之光傳送至上伏過濾器中並且未由過濾器阻斷之光藉由與過濾器相關聯之單一光電二極體來偵測，或從例如個別點處之DNA大分子發射之光傳送至上伏過濾器中，每個過濾器與(對於特定波長具有特異性)之過濾器相關聯，每個過濾器與單一光電二極體相關聯，並且未由過濾器阻斷之光藉由相關聯之光電二極體來偵測。因此，亦如以下論述，在一些實施例中，從單一點發射之光可藉由一個以上光電二極體(例如，2、3、4個等之光電二極體)來偵測。在此等實施例中，與單一點相關聯之多個光電二極體之群組可被稱為光電二極體之「單元」。點及過濾器(例如，單一過濾器或單元)可配置在生物感測器中以使得單元中之每個光電二極體接收從相同單一點發射之光。另外，在一些實施例中，光電二極體之光接收表面之面積，或與

同一點相關聯之多個光電二極體之光接收表面之組合面積，小於點(發射光)之面積。換言之，點可小於下伏光電二極體以使得若將點投影至光電二極體之光接收表面上，則點之邊界包含在光接收表面內。

【0038】 如熟知，核酸測序總體上涉及重複流程，其中螢光或化學發光標記物以特定方式按順序與所測序之DNA模板(擴增子)締合，將締合物加以偵測，並且將標記物移除以使得其不再發射信號。參見，例如，美國專利申請公開案第2016/0237488號；美國專利申請公開案第2012/0224050號；美國專利案第8,133,719；7,910,354；9,222,132；6,210,891；6,828,100，6,833,246；及6,911,345號，其全部以引用方式併入本文。因此，應認識到，例如，「用螢光標記物來標記核酸大分子」可係指將經標記輔助分子與固定在點上之DNA模板締合。

【0039】 現在參看附圖，第1圖係根據一些實施例之背面照明(backside illumination; BSI) CMOS影像感測器100之橫截面視圖。BSI CMOS影像感測器100可包括第一介電質層110。儘管描述為介電質，但是預期第一介電質層110可包括任何合適電氣絕緣材料。第一介電質層100可包括金屬佈線113。金屬佈線113可包括積體電路材料及外部連接。總之，第一介電質層100及金屬佈線113可在本文中統稱為BSI CMOS影像感測器之「電子電路層」。

【0040】 基板層 115 可在第一介電質層 110 及金屬佈線 113 上提供。基板層 115 可由任何合適材料製成，例如矽、矽上第 III-V 族、矽上石墨烯、絕緣體上矽、其組合及其類似材料。基板層 115 可包括開口，光感測組件（例如，光電二極體 117）可定位在該等開口中。儘管本文相對於光電二極體 117 來描述，但是預期可使用任何合適光感測組件。光電二極體 117 可經組配來將所測量的光轉換成電流。光電二極體 117 可包括 MOS 電晶體（未示出）之源極與汲極，該源極與汲極可將電流傳遞至其他組件，如其他 MOS 電晶體。其他組件可包括重設電晶體、電流源跟隨器或用於將電流轉化成數位信號之列選擇器及其類似組件。總之，基板層 115 及光電二極體 117 可在本文中統稱為 BSI CMOS 影像感測器之「光感測層」。

【0041】 光電二極體 117 可與金屬佈線 113 接觸以便經由金屬佈線 113 將數位信號傳送至外部連接。在第 1 圖示出之 BSI CMOS 影像感測器 100 中，光接收表面定位在光電二極體 117 之頂部（即，不與電子電路層接觸並且與電子電路層相反之表面），並且入射光藉由光電二極體 117 接收在此光接收表面上。

【0042】 根據第 2 圖，為了構建生物感測器 200，第一鈍化層 120 可藉由習知半導體處理技術（例如，低溫電漿化學氣相沉積）來沉積在 BSI CMOS 影像感測器 100 之基板層 115 及光電二極體 117 上。第一鈍化層 120 可包括任何合適保護材料。例如，第一鈍化層 120 可包括材料諸如矽、氧

化物、金屬、其組合及其類似材料。第一鈍化層120可充當用於如本文進一步描述之稍後蝕刻步驟之蝕刻止擋物。第一鈍化層120可替代地或另外用於保護活性裝置(亦即,背面照明CMOS感測器)。第一鈍化層120可替代地或另外用於保護光電二極體117以避免由於經常使用所導致的磨損。第一鈍化層120可為透明的。在一個實例中,第一鈍化層120可具有100奈米或更少之厚度。

A. 第2圖之生物感測器200

【0043】 第2圖示出根據一些實施例之可用於生物或化學分析(例如,偵測大分子或大分子複合物之化學發光)之生物感測器200。生物感測器200包括背面照明CMOS影像感測器100。背面照明CMOS影像感測器100包括電子電路層(包含第一介電質層110及金屬佈線113)及在電子電路層上之光感測層(包含基板層115及光電二極體117)。光電二極體117可與電子電路層接觸以使得電子信號可從光電二極體117傳輸至電子電路層,並且在一些實施例中,傳輸至外部裝置。光接收表面藉由光電二極體117的與電子電路層相反之表面(即,與第一鈍化層120接觸之表面)來界定。

【0044】 生物感測器200可進一步包括背面照明CMOS影像感測器100上之第一鈍化層120,並且點或孔(未示出)在第一鈍化層120上或中形成,化學或生物樣本可安置在該等點或孔上或上方以供分析。在一些實施例中,生物感測器200可適於偵測來自生物分子之對應陣列之光學信號

(例如，螢光或化學發光)，其中個別生物分子可定位在一或更多個光電二極體上方(例如，在點或孔中)以使得一或更多個光電二極體接收來自生物分子之光，如以下更詳細論述。

【0045】 現在可描述使用背面照明CMOS感測器100來構建生物感測器之各種其他實施例。根據第3圖，第一金屬層123A可藉由習知半導體處理技術來沉積在生物感測器200之第一鈍化層120上(例如，藉由金屬沉積技術)。第一金屬層123A可包括任何合適金屬材料。例如，第一金屬層123A可包括材料諸如鎢、鋁、金、銅、其組合或合金及其類似材料。在一些實施例中，第一金屬層123A可為厚層，例如，比第一鈍化層120更厚。例如，第一金屬層123A可多達3微米。

【0046】 根據第4圖，可將第一金屬層123A蝕刻以便提供光電二極體117上方之第一開口，從而留下第一金屬層123B。第一金屬層123A可藉由任何合適製程，例如濕式蝕刻、乾式蝕刻、其組合及其類似製程來蝕刻。預期蝕刻第一金屬層123A可涉及使用例如遮罩。蝕刻可使用任何各種材料，例如酸(例如，鹽酸、氫氟酸、硝酸等)、具有氧化劑之鹼金屬、其組合及其類似材料來完成。預期蝕刻第一金屬層123A所需要的酸之類型可視用於形成第一金屬層123A之材料而定。在一些實施例中，第一開口可與光電二極體117中心至中心對準，從而最大化光電二極體117在後來使用中之效率。遮罩(未示出)可界定光電二極體

117 上方之開口，保留第一金屬層 123 B，並且在第一金屬層 123 A 中蝕刻開口時，第一鈍化層 120 可充當蝕刻止擋物。如本文描述，第一金屬層 123 B 之支柱可將藉由單獨濾色器接收之光分離並且可將意欲用於某個濾色器之光反射回到此濾色器中或進入對應光電二極體 117 中。

【0047】 根據第 5 圖，第二介電質層 125 可藉由習知半導體處理技術來沉積在第一金屬層 123 B 上方以及第一開口中。在一些實施例中，第二介電質層 125 可在第一金屬層 123 B 之所有暴露側上形成。儘管描述為介電質，但是預期第二介電質層 125 可包括任何合適電氣絕緣材料，如氮化矽、氧化鋁、其組合及其類似材料。第二介電質層 125 可由與第一介電質層 110 相同或不同之材料形成。

【0048】 根據第 6 圖，濾色器材料 127 A 可沉積在第二介電質層 125 上。在一些實施例中，濾色器材料 127 A 可藉由旋轉塗佈來沉積。濾色器材料 127 A 填充藉由第二介電質層 125 建置之開口。在此實施例中，濾色器材料 127 A 亦沉積在開口之間的第二介電質層 125 之部分上。因此，根據第 7 圖，第二介電質層 125 之開口上方之過量濾色器材料 127 A 可諸如例如藉由化學機械平坦化 (chemical-mechanical planarization; CMP) 來移除，從而在第二介電質層 125 之開口中留下濾色器材料 127 B。

【0049】 然而，亦預期在一些實施例中，可省去第 6 圖示出之流程。換言之，如在第 7 圖中，濾色器材料 127 B 可僅選

擇性地沉積在第二介電質層 1 2 5 之開口中，以使得一個以上（例如，2、3 或 4 個）不同濾色器材料 1 2 7 B 可安置在光電二極體 1 1 7 上方。在一些應用中，每個不同濾色器材料 1 2 7 B 可與單獨光電二極體 1 1 7 相關聯。

【0050】 濾色器材料 1 2 7 B 可包括例如基於顏料之聚合物、基於顏料之染料、基於染料之聚合物、樹脂或其他基於有機物之材料、其組合，及其類似材料。濾色器材料 1 2 7 B 可為例如生物感測器必需的，因為光電二極體 1 1 7 可僅偵測光強度而幾乎沒有波長專一性，因此不能分離色彩資訊。

【0051】 濾色器材料 1 2 7 B 可包括藍色過濾材料、紅色過濾材料、綠色過濾材料、祖母綠過濾材料、藍綠色過濾材料、黃色過濾材料、品紅色過濾材料、白色過濾材料、其組合，及其類似材料。因此，濾色器材料 1 2 7 B 可按照波長範圍來過濾入射光，以使得單獨過濾之強度包括關於光之顏色的資訊。例如，紅色過濾材料 1 2 7 B 可給出關於紅色波長區域中之光強度的資訊。藍色過濾材料 1 2 7 B 可給出關於藍色波長區域中之光強度的資訊。綠色過濾材料 1 2 7 B 可給出關於綠色波長區域中之光強度的資訊，依此類推。

【0052】 在一些實施例中，濾色器材料 1 2 7 B 可包括單一顏色之材料。例如，濾色器材料 1 2 7 B 中之每一者可為紅色。在一些實施例中，濾色器材料 1 2 7 B 可包括不同顏色之材料，其中每個濾色器材料 1 2 7 B 對應於單獨光電二極體 1 1 7。例如，一個濾色器材料 1 2 7 B 可為紅色，並且相鄰濾色器材料 1 2 7 B 可為綠色。第 1 4 圖 A 示出此實施例，其中使

用雙通道濾色器。在第 14 A 圖中，生物或化學樣本(例如，DNA 大分子)可定位在點或孔 1450 中以使得來自大分子之發射進入紅色濾色器材料 1427B 及綠色濾色器材料 1427A (例如，與紅色濾色器材料 1427B 及綠色濾色器材料 1427A 重疊)，並且使得可偵測穿過不同顏色之濾色器材料之發射光波長。在另一實例中，兩個以上周圍濾色器材料 127B 可包括不同顏色之材料。第 14 B 圖示出此實施例，其中使用四通道濾色器。四通道濾色器可包括作為紅色的一個濾色器材料 1427B、作為黃色的一個濾色器材料 1427D、作為綠色的一個濾色器材料 1427A，及作為藍色的一個濾色器材料 1427C。在此實例中，生物或化學樣本可安置在四個濾色器相交處的點或孔 1450 中，以使得可偵測穿過四種顏色之濾色器材料之發射光波長。在一些實施例中，點或孔 1450 可相等地位於下伏濾色器材料(及對應光電二極體)中之每一者上方，亦即，使得每個過濾之相等區域位於點下方。

【0053】 第 8 A 圖示出構建生物感測器 800 之實施例。根據第 8 A 圖，第二鈍化層 130 可根據習知半導體技術來沉積在第二介電質層 125 及濾色器材料 127B 上。第二鈍化層 130 可如下相對於第 8 B 圖描述。第一材料層 135 可沉積在第二鈍化層 130 上。第一材料層 135 可包括任何合適材料，如氮化矽、氧化鋁、其組合及其類似材料。第二材料層 137 可沉積在第一材料層 135 上。第二材料層 137 可包括任何合適材料，如二氧化矽及其類似材料。在一些實施例中，第一

材料層 135 可具有比第二材料層 137 之折射率更高之折射率。在一些實施例中，第一材料層 135 可具有比第二鈍化層 130 更高之折射率。因此，在螢光量測的情況下，第 8 A 圖之實施例可導致將激發光有效遞送至光接收表面。例如，第一材料層 135 可形成光波導之核心，由此允許激發光之低損耗傳輸。在一些實施例中，生物或化學樣本可安置在光電二極體 117 上方之第二材料層 137 上(在一些實施例中，在第二材料層 137 中形成之開口或孔中)，並且其螢光或化學發光可藉由光電二極體 117 來量測，如在本文中進一步描述。然而，在一些實施例中，在第 8 A 圖示出之實施例中，在量測螢光時，激發光可沿著生物感測器 800 之表面側向引導。

B. 第 8 A 圖之生物感測器 800

【0054】 因此，第 8 A 圖示出根據一些實施例之可用於生物或化學分析之生物感測器 800。生物感測器 800 可包括背面照明 CMOS 影像感測器 100。背面照明 CMOS 影像感測器 100 包括電子電路層(包含第一介電質層 110 及金屬佈線 113)及在電子電路層上之光感測層(包含基板層 115 及光電二極體 117)。光電二極體 117 可與電子電路層接觸以使得電子信號可從光電二極體 117 傳輸至電子電路層，並且在一些實施例中，傳輸至外部裝置。光接收表面藉由光電二極體 117 的與電子電路層相反之表面(即，與第一鈍化層 120 接觸之表面)來界定。

【0055】 生物感測器 800 可進一步包括背面照明 CMOS 影像感測器 100 上之第一鈍化層 120，及第一鈍化層 120 上之第一金屬層 123B。第一金屬層 123B 亦可定位在基板層 115 上。第一金屬層 123B 可包括第一開口。生物感測器 800 可進一步包括在金屬層 123B 及第一鈍化層 120 上之第二介電質層 125。第二介電質層 125 亦可定位在金屬層 123B 之第一開口中。

【0056】 生物感測器 800 可進一步包括濾色器材料 127B，該濾色器材料在第二介電質層 125 上並且在金屬層 123B 之第一開口中及上方，以使得濾色器材料 127B 之頂部表面可與在金屬層 123B 上之第二介電質層 125 之頂部表面係平面的。生物感測器 800 可進一步包括在第二介電質層 125 及濾色器材料 127 上之第二鈍化層 130。生物感測器 800 可進一步包括第一材料層 135 及第二材料層 137。第一材料層 135 可具有比第二材料層 137 更高之折射率。生物或化學樣本可安置在第二材料層 137 中或該第二材料層上形成之點或孔(未示出)中以供分析，如在本文中進一步描述。

【0057】 第 8B 圖示出第 8A 圖之替代實施例。根據第 8B 圖，第二鈍化層 130 可根據習知半導體技術來沉積在第二介電質層 125 及濾色器材料 127B 上。第二鈍化層 130 可包括任何合適材料，例如氮化矽、氧化鋁、其組合及其類似材料。在一些實施例中，第二鈍化層 130 可包括一或更多個高介電常數材料。第二鈍化層 130 可包括與第一鈍化層

120 相同或不同之材料。在一些實施例中，第二鈍化層 130 由比第一鈍化層 120 更緻密之材料製成。在一些實施例中，第二鈍化層 130 可充當所分析之樣本與濾色器材料 127B 之間之保護材料。在一些實施例中，第二鈍化層 130 充當用於稍後蝕刻步驟之蝕刻止擋物。第二鈍化層 130 可為透明的。

【0058】 此外根據第 8B 圖，第二金屬層 133A 可根據習知半導體技術來沉積在第二鈍化層 130 上。第二金屬層 133A 可包括任何合適金屬材料，例如鎢、鋁、銅、其組合及其類似材料。第二金屬層 133A 可由與第一金屬層 123B 相同或不同的材料製成。第二金屬層 133A 對於入射或激發光可為不透明的。

【0059】 隨後，根據第 9 圖，第二金屬層 133B 可從第二金屬層 133A 中蝕刻出或圖案化，從而在第二金屬層 133A 中產生第二開口 150A-C。在一些實施例中，第二開口 150A-C 可與光電二極體 117 中心至中心對準。在一些實施例中，第二開口 150A-C 可具有 100 奈米至 1 微米範圍內之直徑。第二開口 150A-C 可具有比濾色器材料 127B 更小之寬度或直徑。在一些實施例中，生物或化學樣本可安置在第二開口 150A-C 中，並且從樣本發射之光可用於量測其螢光或化學發光，如在本文中進一步描述。在第二開口 150A-C 之寬度或直徑比濾色器材料 127B 更小的實施例中，可增加入射或激發光之阻斷，從而在偵測樣本之螢光

或發光的流程中導致更少雜訊。第二開口150A-C之寬度或直徑可大致對應於所分析之生物或化學樣本之尺寸。

C. 第9圖之生物感測器900

【0060】 因此，第9圖示出根據一些實施例之可用於生物或化學分析之生物感測器900。生物感測器900包括背面照明CMOS影像感測器100。背面照明CMOS影像感測器100包括電子電路層(包含第一介電質層110及金屬佈線113)及在電子電路層上之光感測層(包含基板層115及光電二極體117)。光電二極體117可與電子電路層接觸以使得電子信號可從光電二極體117傳輸至電子電路層，並且在一些實施例中，傳輸至外部裝置。光接收表面藉由光電二極體117的與電子電路層相反之表面(即，與第一鈍化層120接觸之表面)來界定。

【0061】 生物感測器900可進一步包括背面照明CMOS影像感測器100上之第一鈍化層120，及第一鈍化層120上之第一金屬層123B。第一金屬層123B亦可定位在基板層115上。第一金屬層123B可包括第一開口。生物感測器900可進一步包括在金屬層123B及第一鈍化層120上之第二介電質層125。第二介電質層125亦可定位在金屬層123B之第一開口中。

【0062】 生物感測器900可進一步包括濾色器材料127B，該濾色器材料在第二介電質層125上並且在金屬層123B之第一開口中及上方，以使得濾色器材料127B之頂部表面可與在金屬層123B上之第二介電質層125之頂部

表面係平面的。生物感測器 900 可進一步包括在第二介電質層 125 及濾色器材料 127 上之第二鈍化層 130。生物感測器 900 可進一步包括具有第二開口 150 A - C 的第二金屬層 133 B。第二開口 150 A - C 可充當經組配來接收生物或化學樣本的點或孔，如在本文中進一步描述。

【0063】 再次參看第 9 圖之實施例，可實行各種其他製造技術來進一步增強信號，如本文相對於第 10 - 13 圖所描述。根據第 10 圖，微透鏡 140 A 可在第二鈍化層 130 及第二金屬層 133 B 上生長。在一些實施例中，微透鏡 140 A 可與光電二極體 117 中心至中心對準。微透鏡 140 A 可包括各種材料，如玻璃、聚合物、塑膠、其組合及其類似材料。微透鏡 140 A 可包括在裝置中之濾色器 127 B 中之每一者上方以便將發射光聚焦至濾色器 127 B 中之每一者。

【0064】 微透鏡 140 A 可根據任何合適微透鏡製造流程來生長，諸如關於 CMOS 影像感測器通常使用之製造流程。如一個實例，微影術可對於光致抗蝕劑或紫外線可固化環氧樹脂材料來執行並且材料可熔化以形成微透鏡 140 A 之陣列。如另一個實例，可將較小玻璃絲熔化，並且熔融玻璃之表面張力可形成光滑球形表面。隨後，可將球形表面玻璃安裝並且視情況研磨以形成微透鏡 140 A。在仍然另一個實例中，可使用晶圓級光學元件 (wafer-level optics; WLO)，其中將多個透鏡晶圓精確對準，黏合在一起，並且切割以形成多元件堆疊，該等堆疊可用作微透鏡 140 A。

【0065】 根據第 11 圖，第三金屬層 143 A 可根據習知半導體處理技術來沉積在微透鏡 140 A 上。第三金屬層 143 A 可包括任何合適材料，如鎢、鋁、銅、其組合及其類似材料。第三金屬層 143 A 可為相對薄層，例如，比第二金屬層 133 B 更薄。第三金屬層 143 A 可由與第一金屬層 123 B 及 / 或第二金屬層 133 B 相同或不同的材料製成。

【0066】 根據第 12 圖，平坦化層 145 A 可沉積在第三金屬層 143 A 上。平坦化層 145 A 可包括任何合適材料。平坦化層 145 A 可藉由例如旋轉塗佈或任何其他合適方法來沉積。若平坦化層 145 A 超過第三金屬層 143 A 之頂部暴露表面，平坦化層 145 A 可藉由例如化學-機械平坦化 (CMP) 來平坦化，從而在第三金屬層 143 A 之間之開口中留下平坦化層 145 A 並且產生實質上平坦的上部表面。

【0067】 根據第 13 圖，可透過平坦化層 145 A (留下剩餘的平坦化層 145 B)、第三金屬層 143 A (留下剩餘的第三金屬層 143 B)，及微透鏡 140 A (留下剩餘的微透鏡 140 B) 來蝕刻第三開口 155 A - C。例如，平坦化層 145 B 可用光致抗蝕劑 (未示出) 來旋轉塗佈以便蝕刻第三開口 155 A - C。在一些實施例中，第三開口 155 A - C 之寬度可對應於第二開口 150 A - C 之寬度，以使得第二金屬層 133 B 不需要進一步蝕刻。第三開口 155 A - C 可蝕刻至第二鈍化層 130，其中第二鈍化層 130 充當蝕刻止擋物。在一些實例中，第三開口 155 A - C 可具有 100 奈米與 1 微米之間之直徑，並且可與濾色器材料 127 B 及 / 或光電二極體 117 中心至中心對準。在

一些實施例中，生物或化學樣本可安置在第二鈍化層 130 上之第三開口 155 A - C 中，並且可量測螢光或化學發光樣本，如在本文中進一步描述。

D. 第 13 圖之生物感測器 1300

【0068】 因此，第 13 圖示出根據一些實施例之可用於生物或化學分析之生物感測器 1300。生物感測器 1300 包括背面照明 CMOS 影像感測器 100。背面照明 CMOS 影像感測器 100 包括電子電路層 (包含第一介電質層 110 及金屬佈線 113) 及在電子電路層上之光感測層 (包含基板層 115 及光電二極體 117)。光電二極體 117 可與電子電路層接觸以使得電子信號可從光電二極體 117 傳輸至電子電路層，並且在一些實施例中，傳輸至外部裝置。光接收表面藉由光電二極體 117 的與電子電路層相反之表面 (即，與第一鈍化層 120 接觸之表面) 來界定。

【0069】 生物感測器 1300 可進一步包括背面照明 CMOS 影像感測器 100 上之第一鈍化層 120，及第一鈍化層 120 上之第一金屬層 123 B。第一金屬層 123 B 亦可定位在基板層 115 上。第一金屬層 123 B 可包括第一開口。生物感測器 1300 可進一步包括在金屬層 123 B 及第一鈍化層 120 上之第二介電質層 125。第二介電質層 125 亦可定位在金屬層 123 B 之第一開口中。

【0070】 生物感測器 1300 可進一步包括濾色器材料 127 B，該濾色器材料在第二介電質層 125 上並且在金屬層 123 B 之第一開口中及上方，以使得濾色器材料 127 B 之頂

部表面可與在金屬層 123 B 上之第二介電質層 125 之頂部表面係平面的。生物感測器 1300 可進一步包括在第二介電質層 125 及濾色器材料 127 上之第二鈍化層 130。生物感測器 1300 可進一步包括在第二鈍化層 130 上之第二金屬層 133 B，該第二金屬層具有第二開口 150 A - C。

【0071】 生物感測器 1300 可進一步包括第二金屬層 133 B 上之微透鏡 140 B、微透鏡 140 B 上之第三金屬層 143 B，及第三金屬層 143 B 上之平坦化層 145。第三金屬層 143 B 可在生物感測器 1300 中用於眾多不同用途。例如，第三金屬層 143 B 可有助於阻斷入射光進入濾色器材料 127 B。另外，因為第三金屬層 143 B 係彎曲的，從生物或化學樣本發射之任何光可穿過微透鏡 140 B，從第三金屬層 143 B 上反射，並且向後朝向濾色器材料 127 B，由此朝向光電二極體 117 之光接收表面來引導。換言之，可藉由光電二極體 117 量測之發射光之量可最大化。

【0072】 平坦化層 145 可在第三金屬層 143 B 上形成平坦表面。在一些實施例中，微透鏡 140 B、第三金屬層 143 B 及平坦化層 145 可具有在其中形成之第三開口 155 A - C，該等第三開口可與第二開口 150 A - C 重疊。例如，第三開口 155 A - C 可具有與第二開口 150 A - C 相同之寬度。然而，預期在一些實施例中，第三開口 155 A - C 可具有與第二開口 150 A - C 不同的寬度。總之，第二開口 150 A - C 及第三開口 155 A - C 可充當經組配來接收生物或化學樣本的點或孔，如在本文中進一步描述。因為第 13 圖之第三開口

155 A - C 比第 9 圖之第二開口 150 A - C 更深，所以激發光可總體上從直接定位在生物感測器 1300 中之第三開口 155 A - C 上方的來源引導。生物感測器 900 可容許激發光之更大角偏差，因為第二開口 150 A - C 之深度不及第三開口 155 A - C。

核酸測序應用

【0073】 如上相對於第 2、8 A、9 及 13 圖所述，生物或化學樣本可安置在所描述生物感測器中之每一者上之濾色器材料 127 B 及光電二極體 117 上方。生物或化學樣本可包括任何數目之組件。例如，樣本可含有核酸大分子（例如，DNA、RNA 等）、蛋白質及類似物質。可分析樣本以便判定基因序列、DNA-DNA 雜化、單一核苷酸多態性、蛋白質交互作用、肽交互作用、抗原-抗體交互作用、葡萄糖監測、膽固醇監測及其類似者。

【0074】 如以上論述，在一些實施例中，生物分子係核酸，如 DNA。在不受限制之情況下，DNA 生物分子可為 DNA 奈米球（單鏈連環體），該奈米球雜化至經標記探針（例如，在藉由連接或 cPAL 方法之 DNB 測序中）或雜化至互補生長鏈（例如，在藉由合成方法之 DNB 測序中）或兩者；或雜化至單一 DNA 分子（例如，在單一分子測序中）；或雜化至 DNA 分子之純系群體，如在基於橋接 PCR 之測序中產生。因此，提及「生物分子」、「DNA 大分子」或「核酸大分子」可包括一個以上分子（例如，與多個生長互補鏈相關聯之 DNB 或包含數百或數千個 DNA 分子之純系群體的 DNA

群集)。參見，例如，美國專利案第8,133,719號；美國專利申請公開案第2013/0116153號，美國專利申請公開案第2016/0237488號；美國專利申請公開案第2012/0224050號；美國專利案第8,133,719；7,910,354；9,222,132；6,210,891；6,828,100，6,833,246；及6,911,345號，其全部以引用方式併入本文。

【0075】 在一些實施例中，核酸大分子可為基因組DNA片段或cDNA庫之擴增子。如本文使用，「擴增子」可為核酸分子之擴增產物，通常基因組DNA片段或cDNA庫。擴增方法包括但不限於滾環擴增，如例如在美國專利案第8,445,194號(全部以引用方式併入本文)中所描述，或橋式聚合酶鏈反應(polymerase chain reaction; PCR)，如例如在美國專利案第7,972,820號(全部以引用方式併入本文)中所描述。擴增可在核酸與生物感測器接觸之前或原位執行，如例如在美國專利案第7,910,354號中所描述，其全部以引用方式併入本文。

【0076】 在一些實施例中，濾色器材料127B可設定大小並且官能化以便將生物或化學樣本接收(在濾色器材料127B上方之點或孔中)並且在一些實例中，吸收從生物或化學樣本發射之光。例如，若濾色器材料127B係紅色並且從生物或化學樣本發射之光係綠色，則濾色器材料127B可吸收綠色發射光。在一些實施例中，濾色器材料127B可設定大小並且官能化以便將生物或化學樣本接收(在濾色器材料

127B 上方之點或孔中)並且傳送從生物或化學樣本發射之光穿過濾色器材料 127B 並且到達光電二極體 117 之光接收表面上。例如，若濾色器材料 127B 係藍色並且從生物或化學樣本發射之光係藍色，濾色器材料 127B 可將藍色發射光傳送至對應光電二極體 117 之光接收表面。換言之，在一些實施例中，發射光可藉由濾色器材料 127B 來吸收。在一些實施例中，發射光可經由濾色器材料 127B 來傳輸並且到達光電二極體 117 上。

【0077】 例如，可將與螢光或化學發光染料締合之生物樣本，如 DNA 大分子、寡核苷酸或核苷酸安置在光電二極體 117 上方。在螢光的情況下，染料可藉由來自激發光源之激發光來照明。激發光可對應於任何合適類型或強度之光，包括例如可見光、紅外線(infrared; IR)、紫外線(ultraviolet; UV)及其類似光。激發光亦可來自任何合適來源，諸如發光二極體(light emitting diodes; LED)、燈、雷射、其組合及其類似來源。當染料用某個波長之激發光來照明時，生物樣本可吸收光，隨後發射不同波長之光。例如，生物樣本可吸收具有 450 nm 波長之激發光，但是發射具有 550 nm 波長之光。換言之，在染料藉由不同特徵波長之光(即，激發光源)來照明時，可發射特徵波長之螢光。然而，因為激發光用於量測螢光，所以必須將該激發光過濾以便在光電二極體 117 處進行精確量測。

【0078】 在化學發光的情況下，為了偵測所發射之光，光電二極體 117 不需要激發光源。替代地，生物樣本可由於

化學或酶促反應而發射光，該反應可在生物樣本與化學發光染料(或其他解決方案)之間發生，導致由於破壞或形成化學鍵而發射光。

【0079】 對於螢光及化學發光而言，光電二極體 117 可偵測發射光之強度並且基於光之強度來將該發射光轉化成電子信號，該電子信號可經由金屬佈線 113 來提供至外部裝置。基於電子信號及在此特定光電二極體 117 上方使用之濾色器材料 127B 之顏色，外部裝置可將電子信號與特定波長及亮度相關聯。

【0080】 為了達成高密度並且有助於核酸大分子與生物感測器之光電二極體 117 之間之對準，生物感測器之表面可被構建來使得存在活性點或孔(例如，開口 150A-C、開口 155A-C 等)，該等點或孔被設定大小並且化學官能化以便接收核酸大分子，該等點或孔藉由核酸大分子不可結合之表面區域來包圍。使用任何合適表面化學作用，核酸大分子可固定至與光電二極體 117 對準之活性表面。此可包括非共價交互作用(例如，與帶有正電荷之區域)或與附接至表面之捕獲探針或寡核苷酸之交互作用，該捕獲探針或寡核苷酸帶有與包含在核酸大分子中之序列互補的序列。參見，例如，美國專利案第 8,445,194 號，全部以引用方式併入本文。

【0081】 在一些實施例中，生物感測器之表面上之活性點或孔與核酸大分子可相互組配以使得每個點僅結合一個核酸大分子。此可例如藉由使表面與在尺寸上對應於活性點

之擴增子(例如,具有實際上與活性點之直徑一樣大或更大之直徑的擴增子)接觸來達成。參見美國專利案第8,445,194,全部以引用方式併入本文。或者,活性點可化學調適以便結合單一DNA片段,隨後可將該片段擴增以便填充原始結合位點處及周圍之較大區域。

【0082】 本發明之一些實施例可用於判定對應於不同波長之光的不同標記物。標記物可為例如螢光、化學發光或生物發光標記物。例如,在基因測序(或DNA測序)的情況下,本發明之實施例可用於判定核酸大分子(例如,DNA鏈)內之核苷酸鹼基之精確順序。核苷酸鹼基可用特定螢光標記物(例如,腺嘌呤(A)、鳥嘌呤(G)、胞嘧啶(C)或胸腺嘧啶(T))來標記。或者,可使用例如一種顏色、兩種顏色或三種顏色測序方法。

【0083】 相對於螢光而言,藉由用激發光來連續地激發核酸大分子,可依序判定核苷酸鹼基中之每一者。核酸大分子可吸收激發光並且將不同波長之發射光傳送至如本文描述之生物感測器上(例如第2、8A、9或13圖示出)。生物感測器可量測藉由光電二極體接收之發射光之波長及強度。在每個核苷酸藉由某個波長及/或強度之激發光來激發時,該核苷酸可將某個波長及/或強度之光發射至光電二極體中(即,「螢光標記物」),從而允許鑑別核酸大分子中之特定位置處之特定核苷酸鹼基之存在。一旦判定此特定核苷酸鹼基,該鹼基可從核酸大分子中移除,以使得可根據類似流程來判定下一個連續核苷酸鹼基。

【0084】 在出於任何目的來附接至生物感測器之前或之後，核酸大分子可用一或更多個不同螢光、化學發光或生物發光標記物來標記。例如，核酸大分子可與經標記寡核苷酸探針或擴增引子雜交。或者，核酸大分子可與未經標記寡核苷酸雜交，隨後，該寡核苷酸可連接至經標記探針，或使用經標記核苷酸類似物來延伸。作為例示，可出於表徵核酸大分子（例如，與疾病相關聯之單一核苷酸多態性（single nucleotide polymorphism; SNP）之存在）之目的，或為了對核酸大分子之全部或一部分進行核酸測序來進行標記，如上所述。藉由探針雜交來DNA測序例如在美國專利案第8,105,771號中描述，全部以引用方式併入本文。藉由錨定探針連接來測序例如在美國專利案第8,592,150號中描述，全部以引用方式併入本文。合成測序例如在美國專利案第7,883,869號中描述，全部以引用方式併入本文。通常，合成測序是一種方法，在該方法中，核苷酸連續地添加至藉由雜交至模板序列之測序引子所提供的自由3'羥基，導致在5'至3'方向上合成核酸鏈。在一種方法中，可使用另一個示範性類型之SBS，焦磷酸測序技術（Ronaghi等人，1998，Science 281:363）。

【0085】 在一些實施例中，第2、8A、9及13圖示出之生物感測器可耦合至流槽（未示出）。藉由使生物感測器與流槽中之液體樣本接觸，核酸大分子可附接至生物感測器。流槽可包括一或更多個流道，該等流道與反應位點（例如，開口150A-C、開口155A-C等）流體連通。在一個實例

中，生物感測器可流體及電氣耦合至生物檢定系統。生物檢定系統可根據預定協定將試劑遞送至反應位點並且執行成像事件。例如，生物檢定系統可引導溶液以便沿著反應位點流動。溶液可包括具有相同或不同螢光標記物的四種類型之核苷酸。隨後，生物檢定系統可使用激發光源來照明反應位點。激發光可具有一或更多個預定波長。激發螢光標記物可提供可藉由光電二極體 117 偵測之發射信號。

【0086】 使用者可藉由以下步驟來準備進行測序：使根據所描述實施例之生物感測器（例如，在第 2、8 A、9 及 13 圖中）與核酸擴增子，或與隨後擴增之核酸接觸，以使得核酸大分子結合活性點或孔並且藉由該等點或孔來保持，並且過量核酸大分子可清洗掉。核酸大分子可預先或原位與經標記試劑接觸。隨後，生物感測器可如本文描述來操作以便判定在陣列上之核酸大分子上或附近發射之光。光可量化，或可充分地用二進位方式來判定表面上的哪一個核酸大分子用發射特定波長之標記物來標記。舉例而言，可同時使用具有發射不同波長之光之標記物的不同探針或不同核酸類似物，以便判定序列中之特定位置處之不同鹼基，或將多個位置加以測序。

實例

【0087】 此實例證明 B S I C I S 感測器可用於偵測來自表面附接光子發射分子之微弱信號。構建如第 9 圖所描述，但是沒有濾色器層（即，沒有元件 120、123 B、125 及 127 B）之生物感測器。另外，使表面 133 B 呈現疏水性，並且使開

□ 150 A / B / C 之底部表面呈現親水性 (以使得 DNB 朝向親水性表面分佈並且遠離疏水性表面) 。

【0088】 將 DNA 奈米球 (DNA nanoball; DNB) 之稀溶液塗覆至生物感測器陣列，允許個別 DNB 沉澱在陣列之點上。出於此實驗之目的，所有 DNB 具有相同序列，而與如下測序方法相反，在該等測序方法中，陣列上之基本上所有 DNB 具有不同序列，並且在任何特定點 / 位置處之 DNB 之序列在序列判定之前並非已知的。

【0089】 兩個引子雜交至 DNA 模板 (參見第 15 A 圖，頂部)。「左側」引子具有阻斷 (不可伸長) 之 3' 末端並且在 5' 末端處用螢光染料來標記。螢光染料用於證實陣列上之 DNB 之位置 (未示出)。「右側」引子充當用於合成測序之可伸長引子。與經由可裂解連接子用生物素加標記之 dATP 一起，添加測序試劑及偵測試劑 4 (DNA 聚合酶、鏈黴親和素、生物素化螢光素酶 3、ATP 及螢光素)。在此系統中，鏈黴親和素 2 與偶聯至所併入核苷酸之生物素相關聯並且亦與生物素化螢光素酶相關聯，如第 15 A 圖中示出。(生物素 1 藉由菱形來表示。) ATP 充當螢光素酶介導之螢光素轉變為氧化螢光素所導致的光產生之受質。光藉由光電二極體接收，從而產生信號。信號與 dATP 之併入相關聯，指示在模板序列之對應位置處之胸腺嘧啶之存在。第 15 A 圖示出來自陣列上之眾多點處之 DNB 的信號。

【0090】 隨後，THPP 用於裂解可裂解連接子，釋放生物素 / 鏈黴親和素 / 螢光素酶複合物，並且將陣列清洗以便移

除所有可溶性試劑。第 15 B 圖示出在清洗步驟之後，來自陣列之信號不存在或顯著減少。

【0091】 第二併入循環使用 d T T P - 地谷新及 D N A 聚合酶來執行，如第 15 C 圖中示出。使用生物素化抗地谷新抗體、鏈黴親和素、生物素化螢光素酶、A T P 及螢光素來偵測 d T T P 之併入。使用生物素化抗地谷新抗體放大藉由每個併入事件所產生的信號。第 15 C 圖係展示在陣列上之眾多點處產生化學發光的影像。此實例使用兩個不同 d N T P 及兩個不同偵測系統來證明本發明之 B S I C I S 感測器可用於偵測來自表面附接光子發射分子諸如 D N B 之微弱信號。

【0092】 儘管本文所述流程相對於以某個順序執行之一定數目之步驟來描述，但是預期可包括未明確示出及 / 或描述的額外步驟。此外，預期可包括比示出及描述之步驟更少的步驟，而不脫離所描述實施例之範疇（即，所描述步驟中之一者或一些可為任擇的）。另外，預期本文所述步驟可以與所描述順序不同的順序來執行。

【0093】 在前述說明書中，本申請案之態樣參考其特定實施例來描述，但是熟習此項技術者認識到本發明不限於此。因此，儘管本申請案之示例性實施例在本文中詳細描述，但是應瞭解本發明概念可另外不同地實施及使用，並且附加申請專利範圍意欲理解為包括此等變化，除了藉由先前技術限制以外。上述本發明之各種特徵及態樣可單獨或共同地使用。此外，實施例可用於除了本文所述之環境及應用以外的任何數目之環境及應用，而不脫離說明書之

更廣泛精神及範疇。相應地，說明書及附圖被視為示例性而非限制性的。出於例示目的，方法以特定順序來描述。應瞭解在替代實施例中，方法可以與所描述順序不同的順序來執行。

【0094】 其他變化符合本發明之精神。因此，儘管所揭示技術易作出各種修改及替代性構建，但是其某些例示實施例在附圖中示出並且在以上詳細描述。然而，應瞭解不意圖將本發明限於所揭示的一或更多個特定形式，而是相反，意圖涵蓋屬附加申請專利範圍所定義之本發明之精神及範疇內的所有修改、替代性構建及等效物。

【符號說明】

【0095】

1 0 0 : 背 面 照 明 (B S I) C M O S 影 像 感 測 器

1 1 0 : 第 一 介 電 質 層

1 1 3 : 金 屬 佈 線

1 1 5 : 基 板 層

1 1 7 : 光 電 二 極 體

1 2 0 : 第 一 鈍 化 層

1 2 3 A : 第 一 金 屬 層

1 2 3 B : 第 一 金 屬 層

1 2 5 : 第 二 介 電 質 層

1 2 7 A : 濾 色 器 材 料

1 2 7 B : 濾 色 器 材 料

1 3 0 : 第 二 鈍 化 層

1 3 3 A : 第 二 金 屬 層

1 3 3 B : 第 二 金 屬 層

1 3 5 : 第 一 材 料 層

1 3 7 : 第 二 材 料 層

1 4 0 A : 微 透 鏡

1 4 0 B : 微 透 鏡

1 4 3 A : 第 三 金 屬 層

1 4 3 B : 第 三 金 屬 層

1 4 5 : 平 坦 化 層

1 4 5 A : 平 坦 化 層

1 4 5 B : 平 坦 化 層

1 5 0 A - C : 第 二 開 口

1 5 5 A - C : 第 三 開 口

2 0 0 : 生 物 感 測 器

8 0 0 : 生 物 感 測 器

9 0 0 : 生 物 感 測 器

1 3 0 0 : 生 物 感 測 器

1 4 2 7 A : 綠 色 濾 色 器 材 料

1 4 2 7 B : 紅 色 濾 色 器 材 料

1 4 2 7 C : 藍 色 濾 色 器 材 料

1 4 2 7 D : 黃 色 濾 色 器 材 料

1 4 5 0 : 點 或 孔

【生物材料寄存】

國內寄存資訊(請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

國外寄存資訊(請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記)

無

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種生物感測器，其包含：

一背面照明互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感測器，該影像感測器包括：

一電子電路層；及

在該電子電路層上之一光感測層，其中該光感測層包括：

一基板層，及

覆蓋該電子電路層之複數個光電二極體，並且其中一光接收表面藉由與該電子電路層相反之該複數個光電二極體之一表面來定義；

形成於該光接收表面上方之點的一規則的陣列，其中每個點為被設定大小並且官能化之一離散帶正電區域以便接收及含有一核酸大分子，其中點陣列的每個點與其他點藉由惰性的區域來分隔，該等惰性的區域經配置而不接收及含有核酸大分子，以及其中每個點覆蓋一單一光電二極體或覆蓋一單元，該單元包含複數個光電二極體

一濾色器材料，該濾色器材料插入每個光電二極體與每個點之間；及

該基板層上之一第一金屬層，其中該第一金屬層包括該複數個光電二極體上之複數個第一開口，以及其中該濾色器材料定位在該複數個第一開口之每一者中。

【請求項 2】 如請求項 1 所述之生物感測器，其進一步包

含：

一介電質層，該介電質層在該第一金屬層上並且在每個濾色器材料與該複數個第一開口中之該第一金屬層之間。

【請求項3】 如請求項1所述之生物感測器，其進一步包含：

一鈍化層，該鈍化層在該第一金屬層及該濾色器材料上。

【請求項4】 如請求項3所述之生物感測器，其進一步包含：

該鈍化層上之一第二金屬層，其中該第二金屬層包括該濾色器材料上之複數個第二開口。

【請求項5】 如請求項4所述之生物感測器，其進一步包含：

該第二金屬層上之複數個微透鏡；及

該複數個微透鏡上之一第三金屬層，其中該複數個微透鏡及該第三金屬層包括複數個第三開口，該複數個第三開口與該複數個第二開口重疊。

【請求項6】 如請求項5所述之生物感測器，其進一步包含：

該第三金屬層上之一平坦化層，其中該平坦化層包括複數個第四開口，該複數個第四開口與該複數個第三開口及該複數個第二開口重疊。

【請求項7】 如請求項3所述之生物感測器，其進一步包

含：

在該第一金屬層及該濾色器材料上之一第一材料層，其中該第一材料層藉由一第一折射率來表徵；及

該第一材料層上之一第二材料層，其中該第二材料層藉由一第二折射率來表徵，以及其中該第一折射率高於該第二折射率。

【請求項 8】 如請求項 1 所述之生物感測器，其中點之該規則的陣列為孔之一規則的陣列。

【請求項 9】 如請求項 1 所述之生物感測器，其中每個點覆蓋一單一光電二極體以及一單一濾色器材料插入該光電二極體與該點之間。

【請求項 10】 如請求項 1 所述之生物感測器，其中每個點覆蓋光電二極體之一單元以及一濾色器材料插入該點與該單元之每個光電二極體之間。

【請求項 11】 如請求項 10 所述之生物感測器，其中每個單元包含 2、3 或 4 個光電二極體；及

其中與一單元之每個光電二極體相關聯之該濾色器材料各自過濾一不同顏色之光。

【請求項 12】 一種使用如請求項 1 所述之生物感測器進行生物分子測序之方法，該方法包含重複執行一流程，該流程包括以下步驟：

用一發光物質來標記一生物分子，該發光物質鑑別該生物分子中之一特定位置處之一核苷酸鹼基；

偵測與該生物分子相關聯之發光物質，其中偵測該發

光物質包括：

用激發光來照明該生物分子，其中該生物分子吸收該激發光並且將發射光透過一濾色器材料來傳輸並且到達一背面照明互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感測器之一光電二極體上；

量測在該光電二極體處接收之該發射光之至少一個參數；及

將該發射光之該至少一個參數與該發光物質相關聯；及

將該發光物質從該生物分子上移除。

【請求項13】如請求項12所述之方法，其中該生物分子包含核酸大分子，其包括DNA及分支或另外衍生之核酸；

其中核酸大分子包含DNA奈米球(DNB)或單鏈實施例。

【請求項14】一種使用如請求項1所述之生物感測器進行DNA測序之方法，該方法包含重複執行一流程，該流程包括以下步驟：

用一化學發光標記物來標記一核酸大分子，該化學發光標記物鑑別該核酸大分子中之一特定位置處之一核苷酸鹼基；

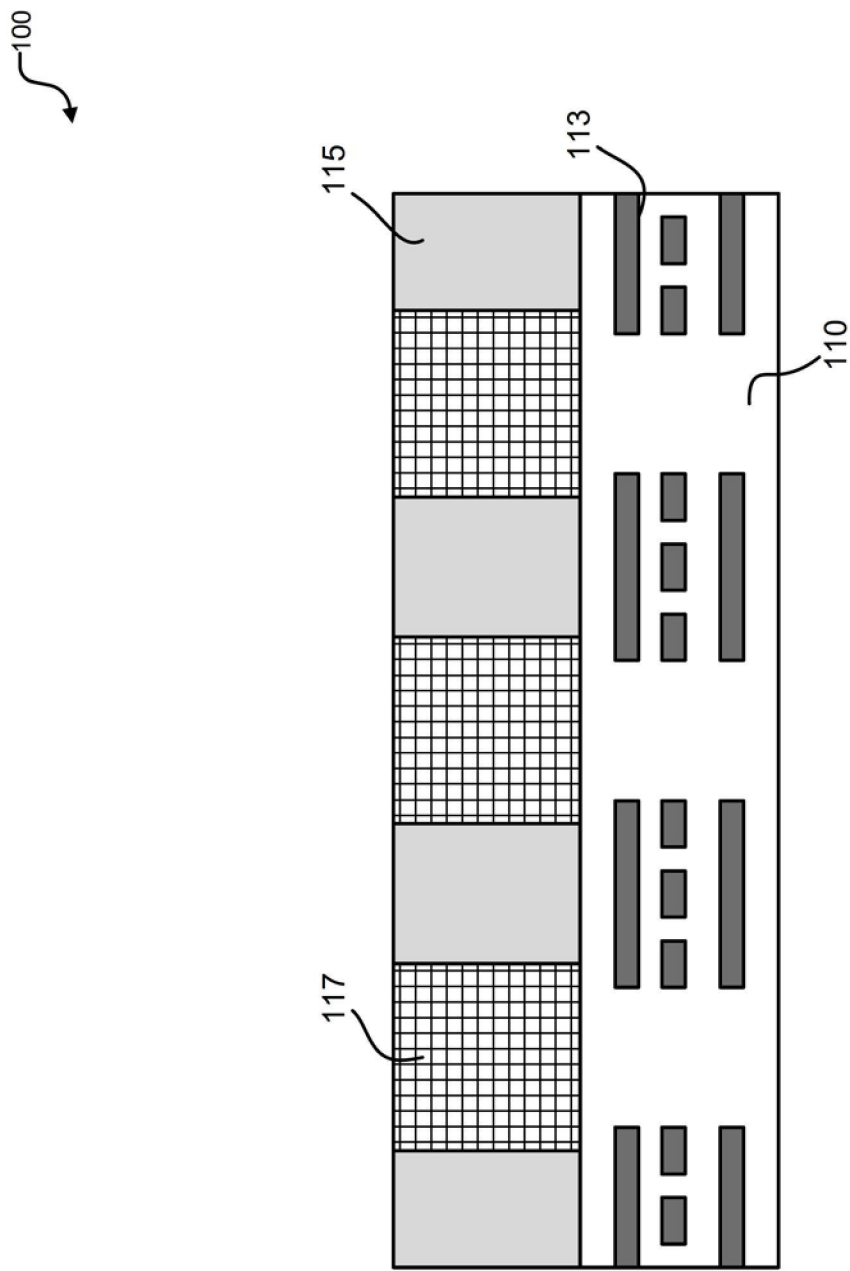
偵測自該核酸大分子發射至一背面照明互補金屬氧化物半導體(CMOS)影像感測器之一光電二極體上之化學發光；

量測在該光電二極體處接收之發射光之至少一個參數；

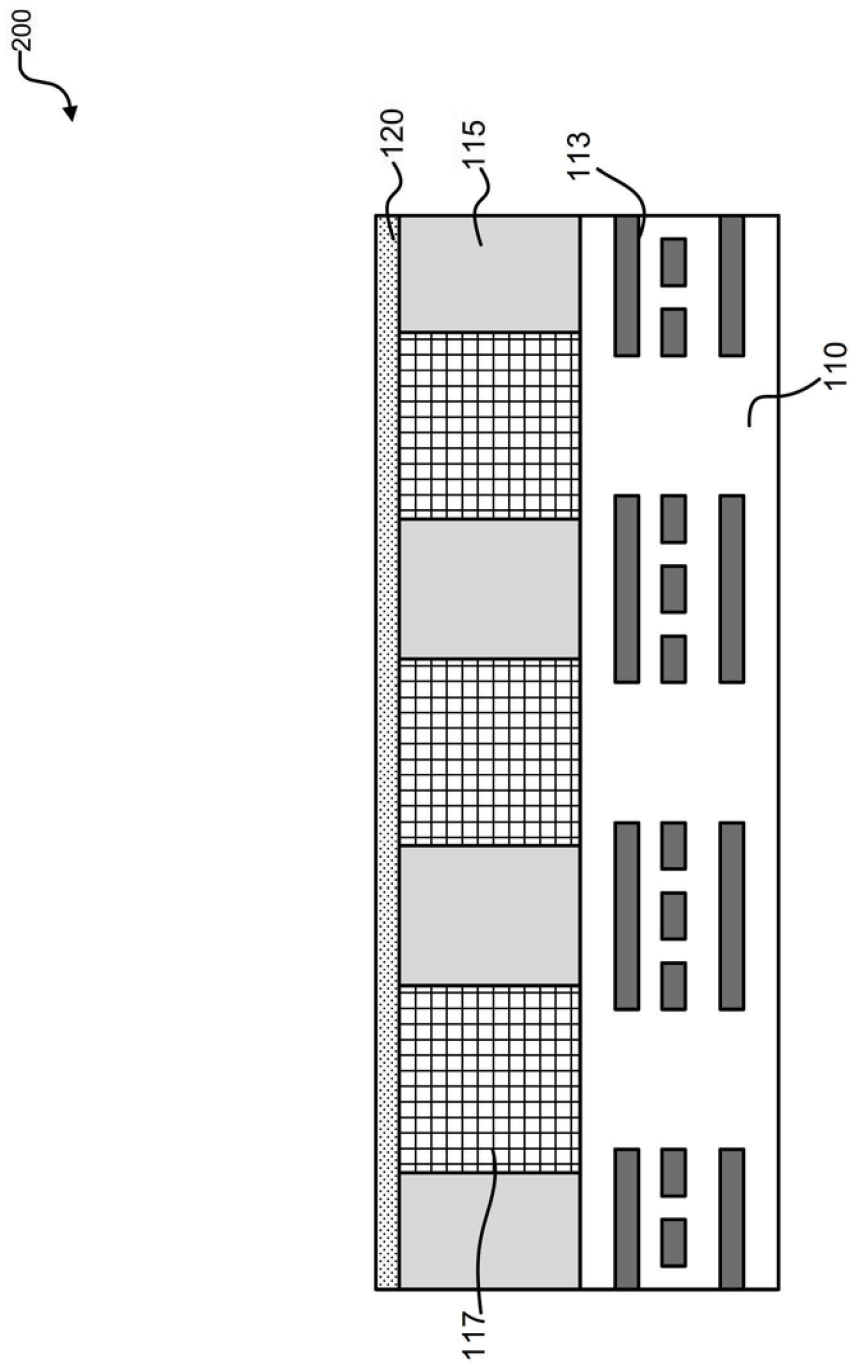
將該發射光之該至少一個參數與該化學發光標記物相關聯；及

將該化學發光標記物從該核酸大分子上移除。

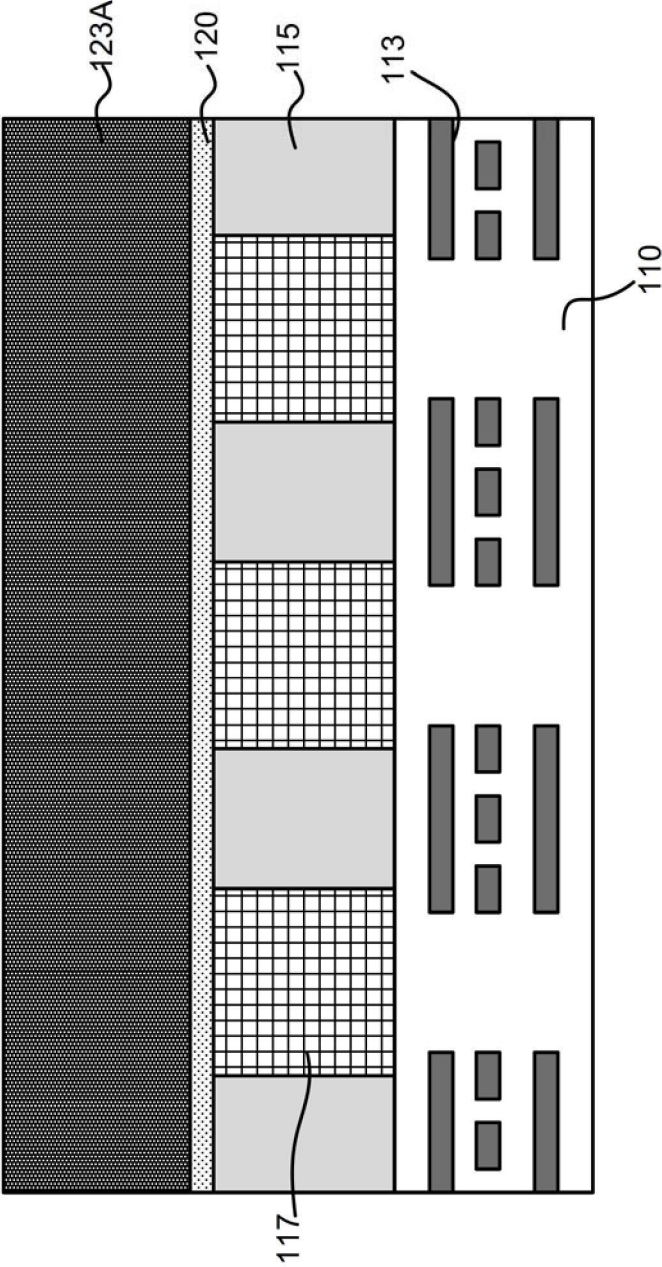
【發明圖式】



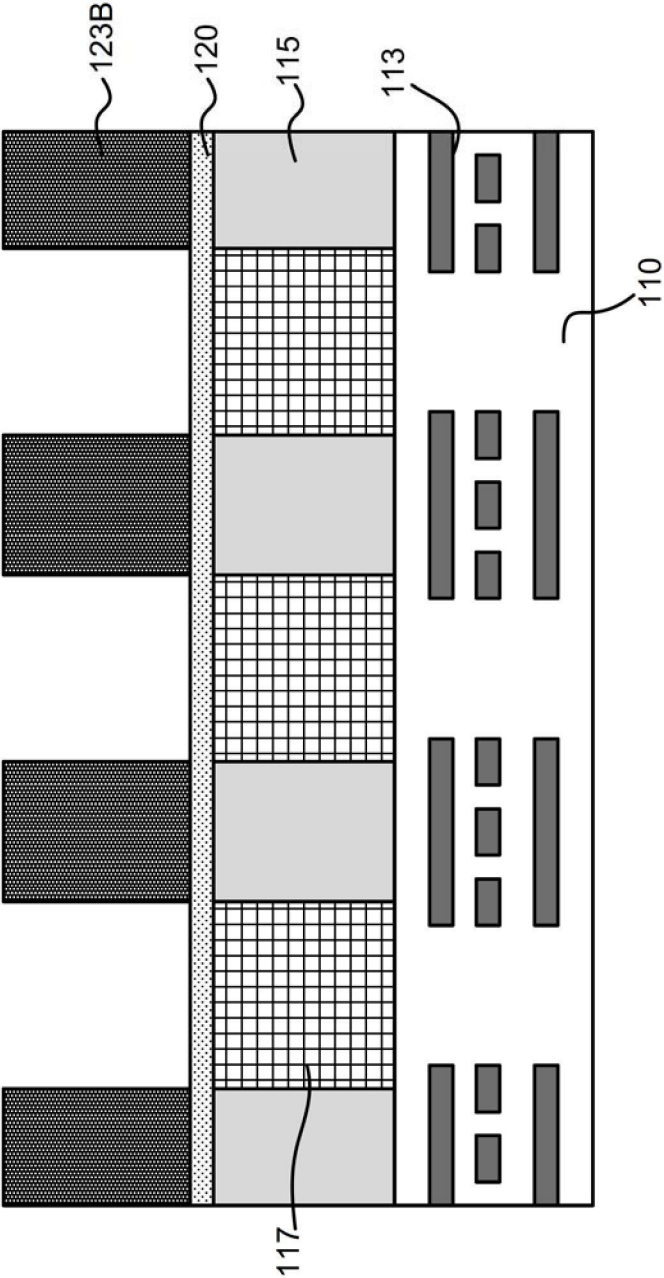
第1圖



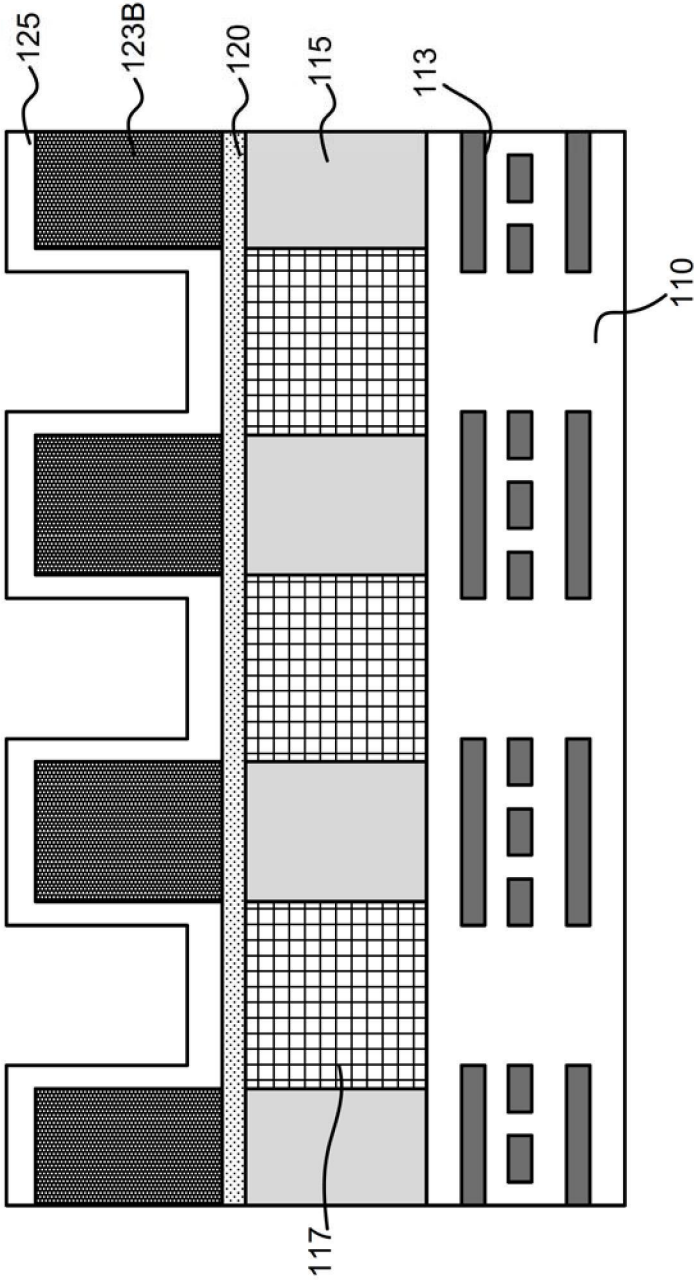
第2圖



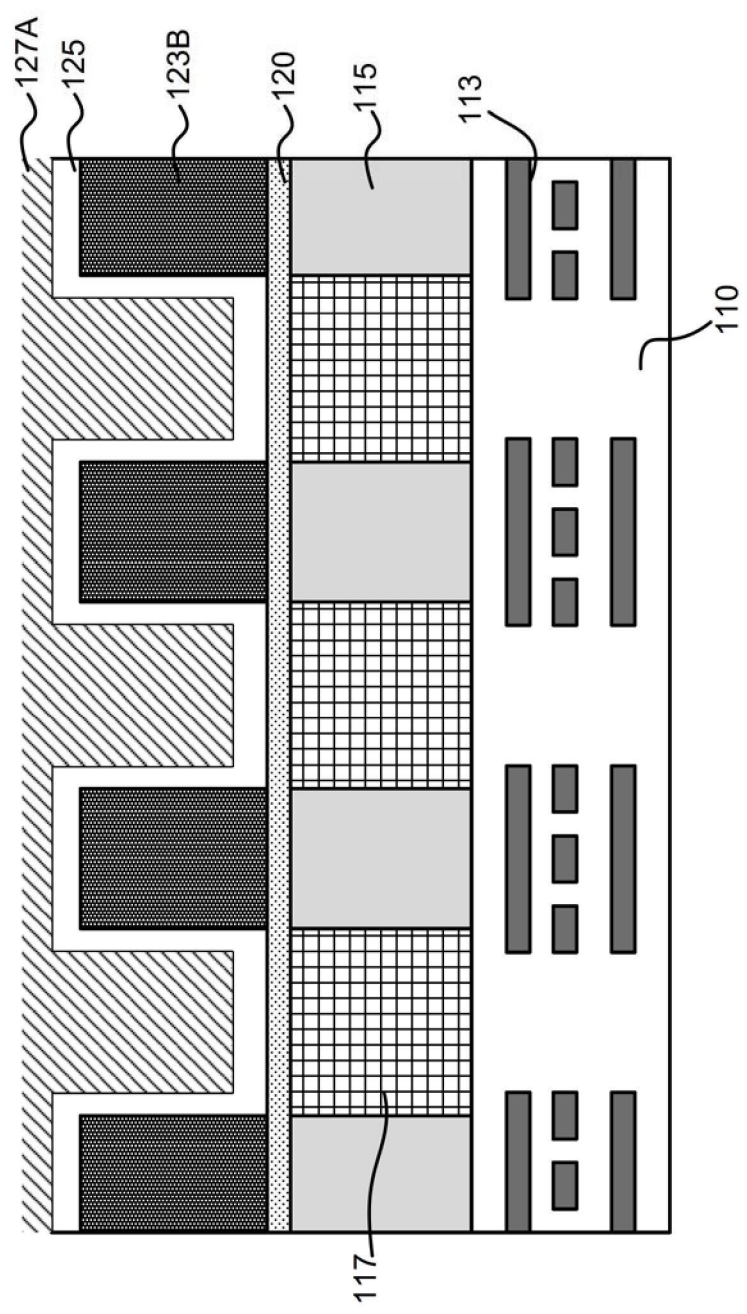
第3圖



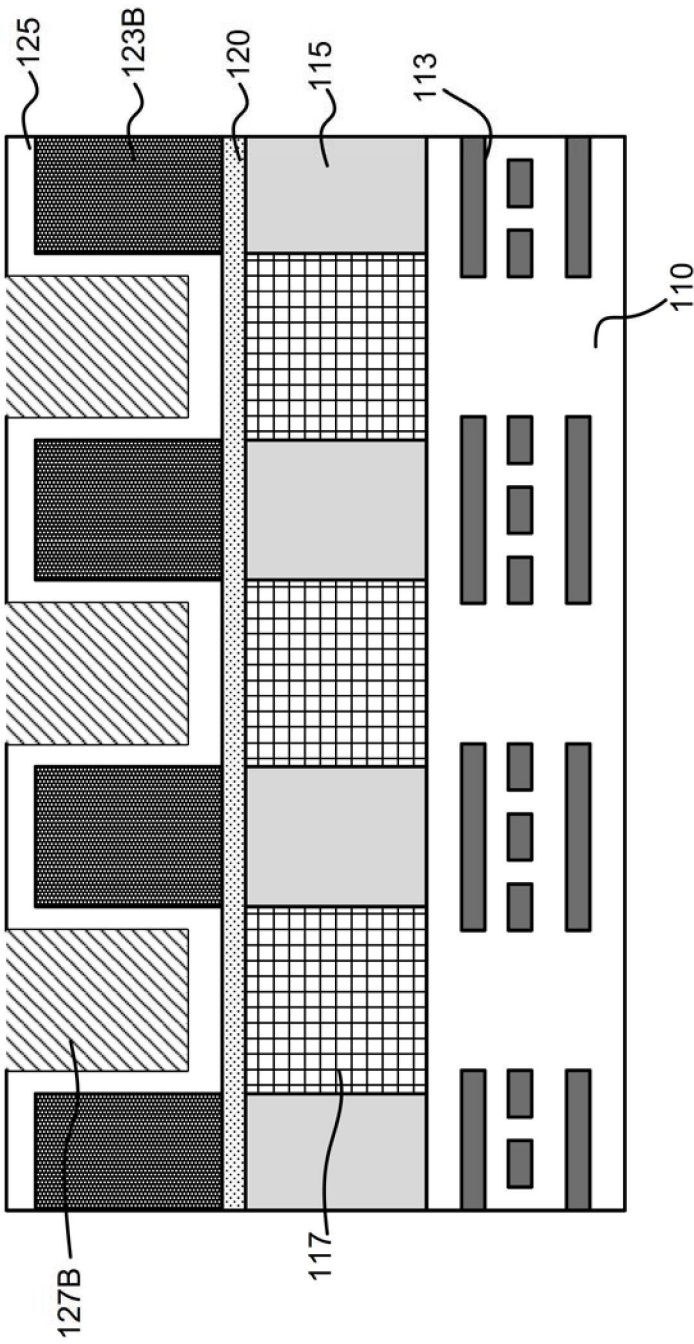
第4圖



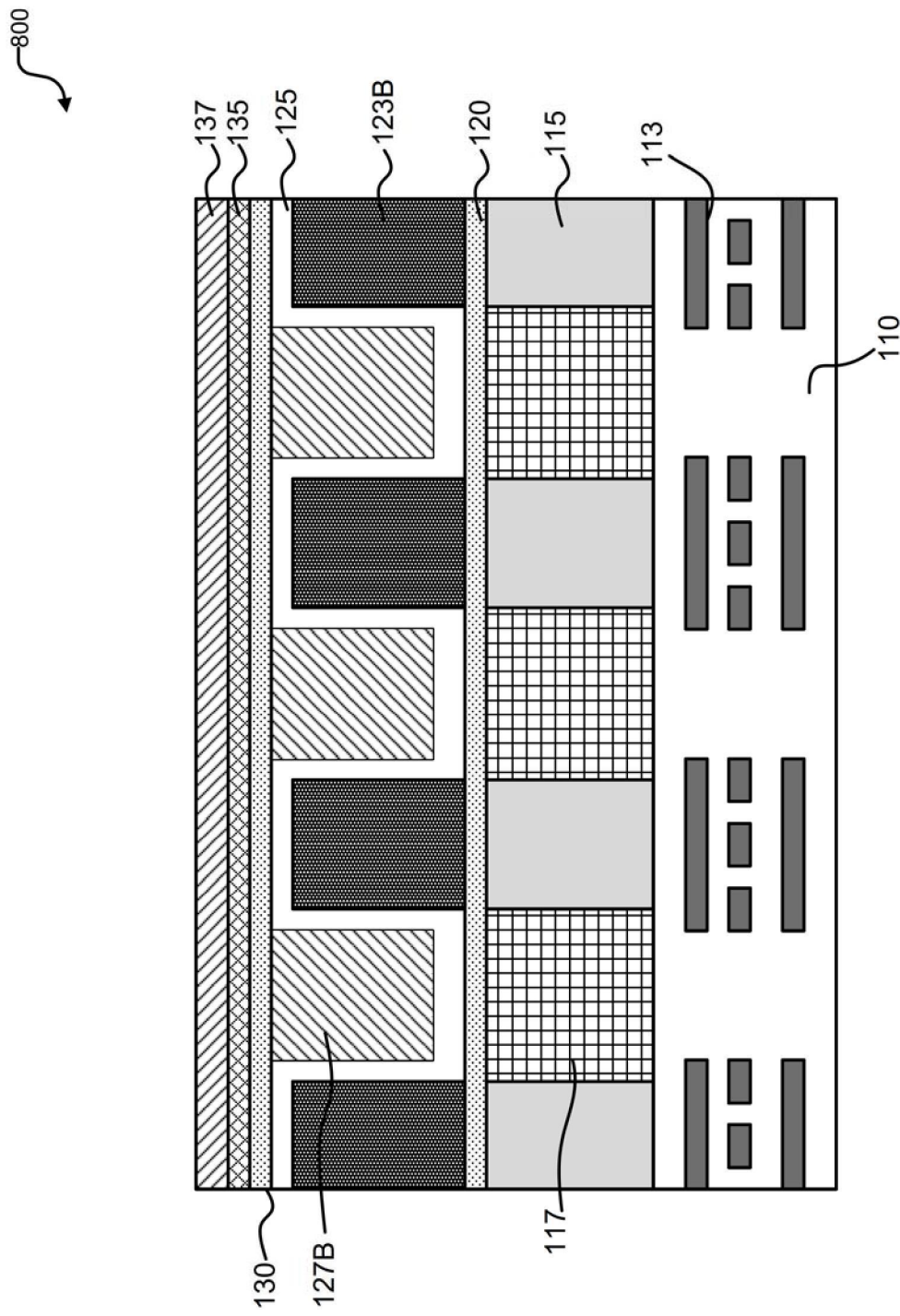
第5圖



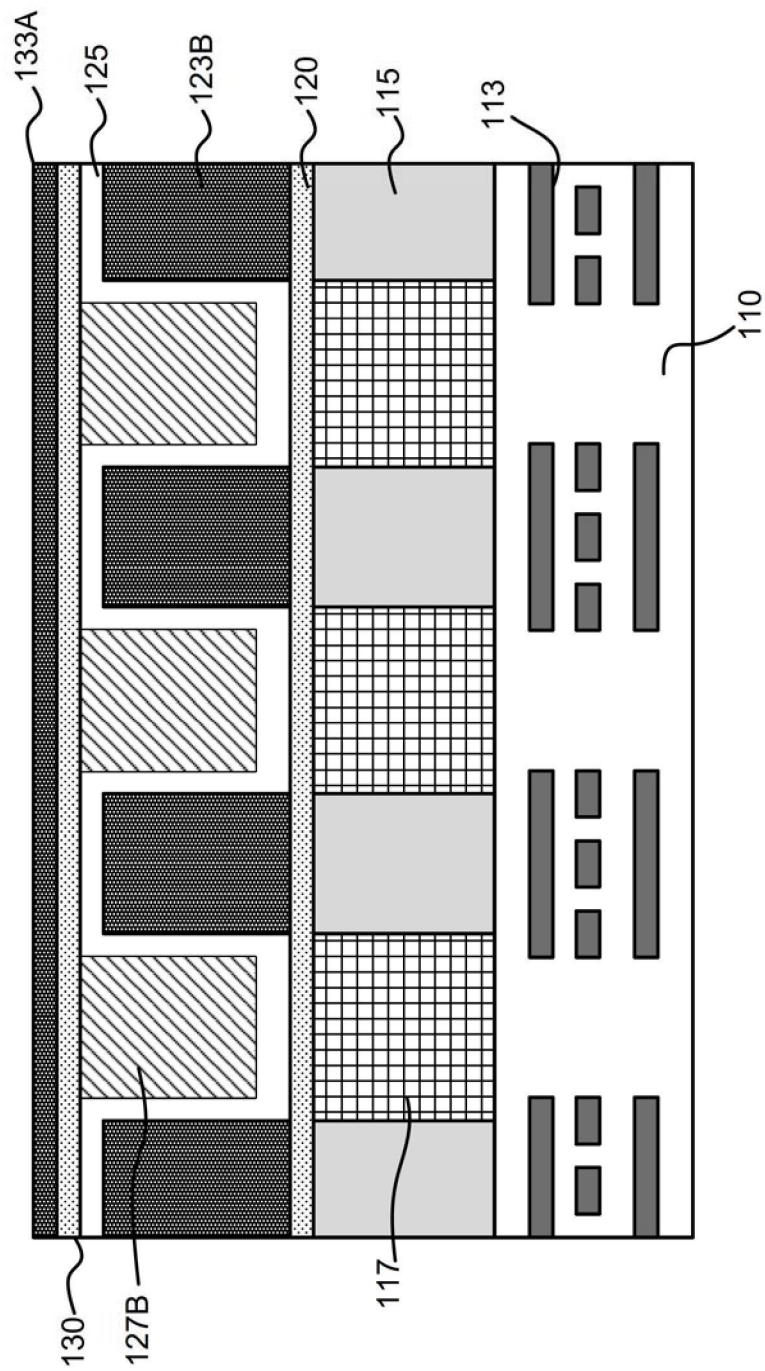
第6圖



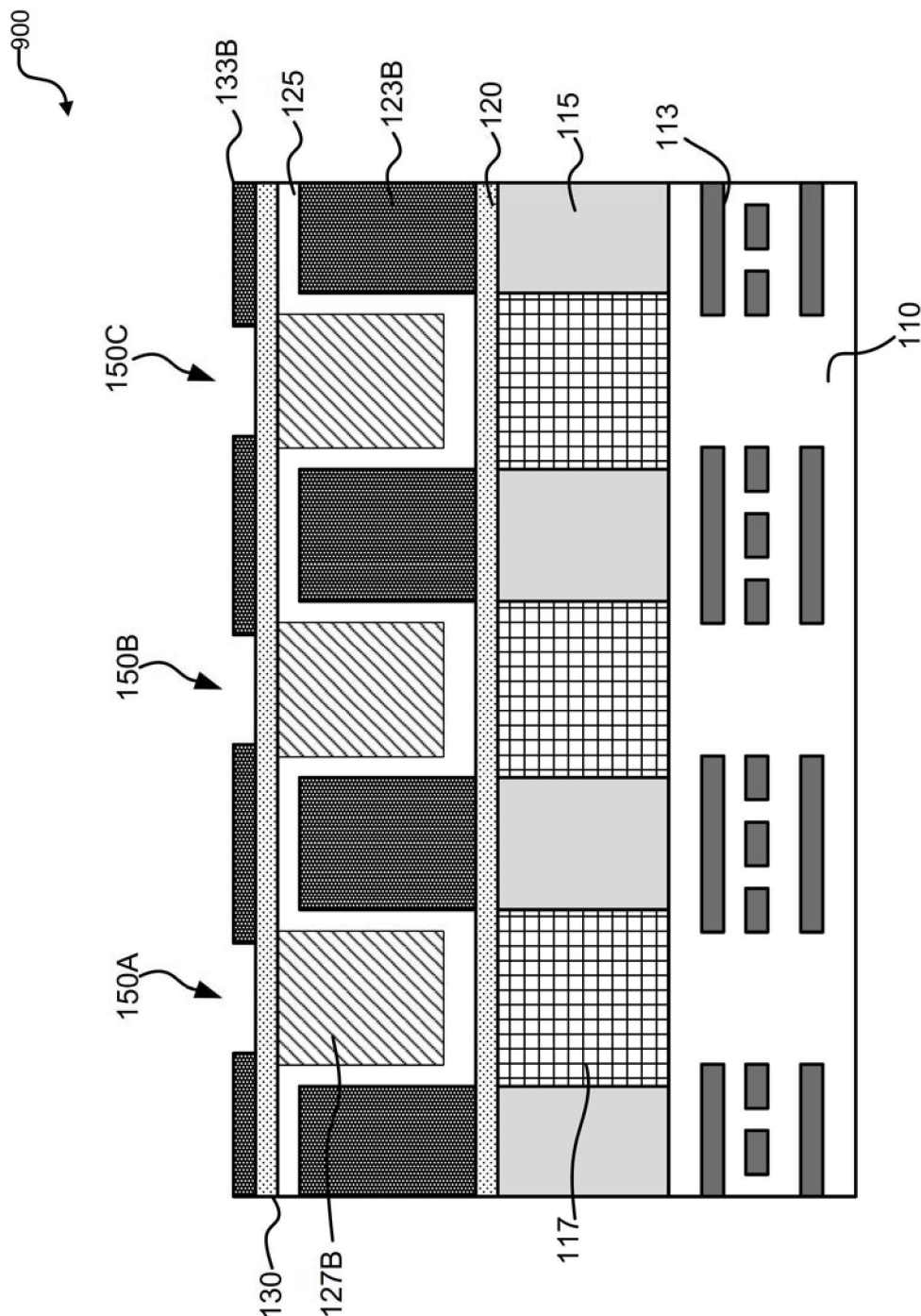
第7圖



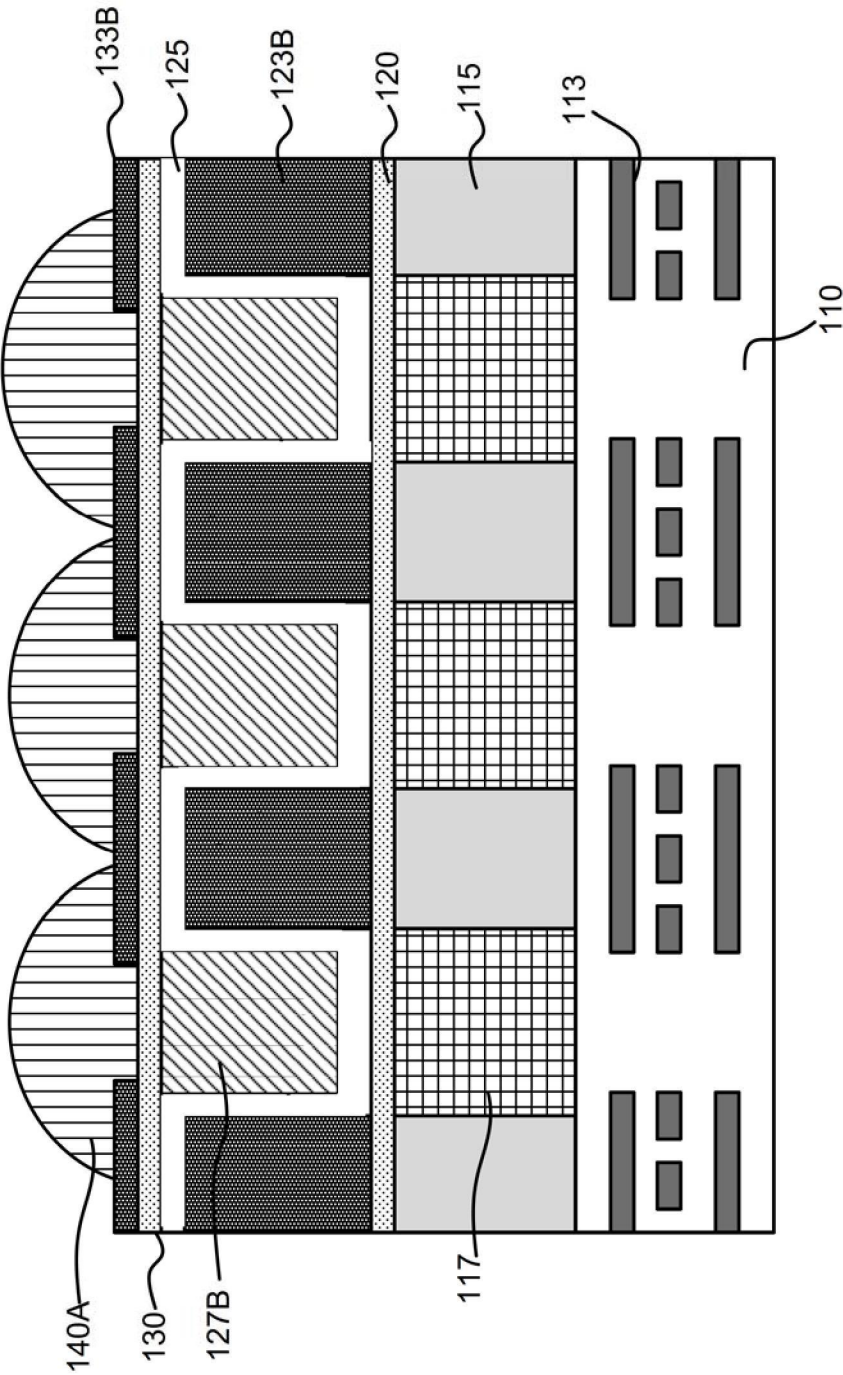
第8A圖



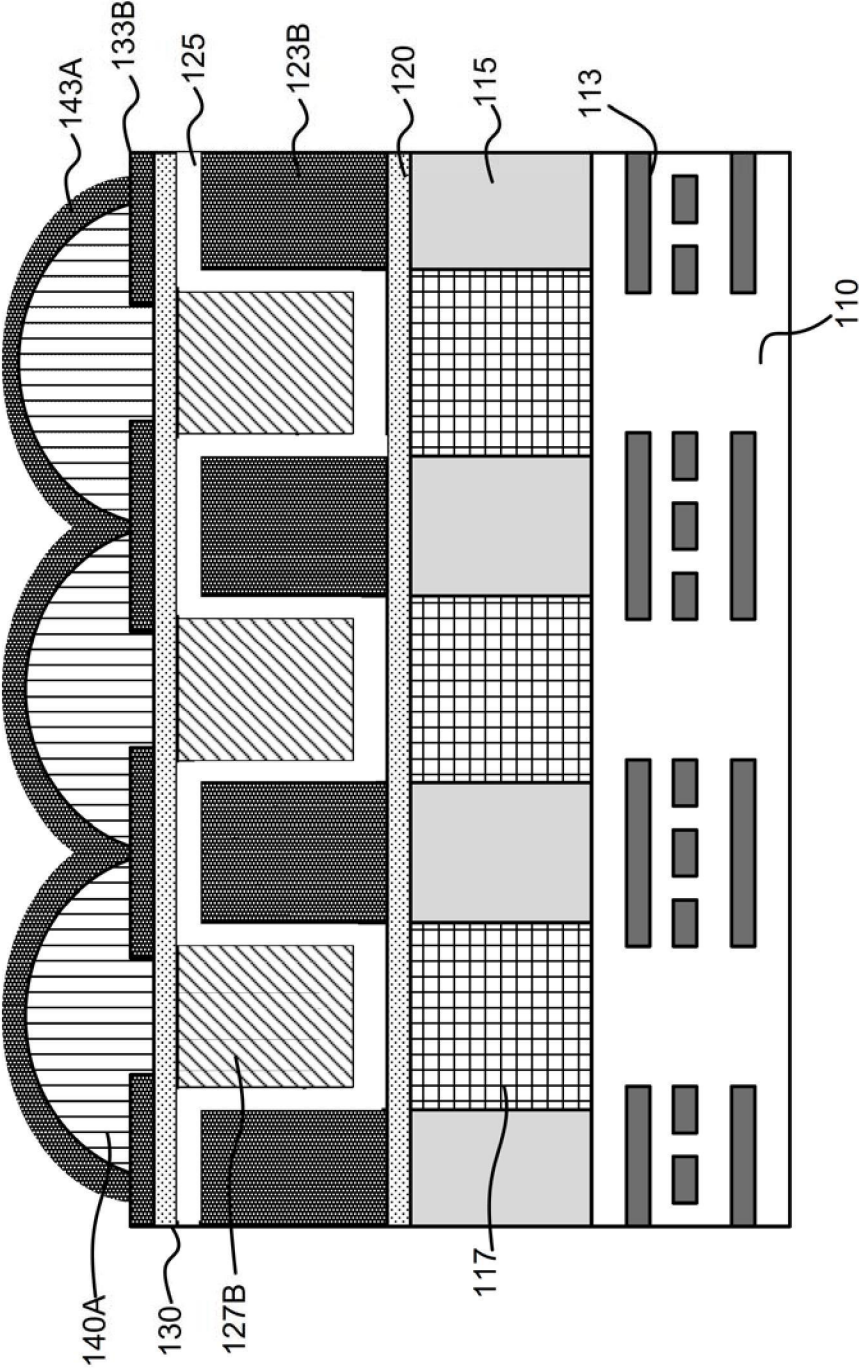
第8B圖



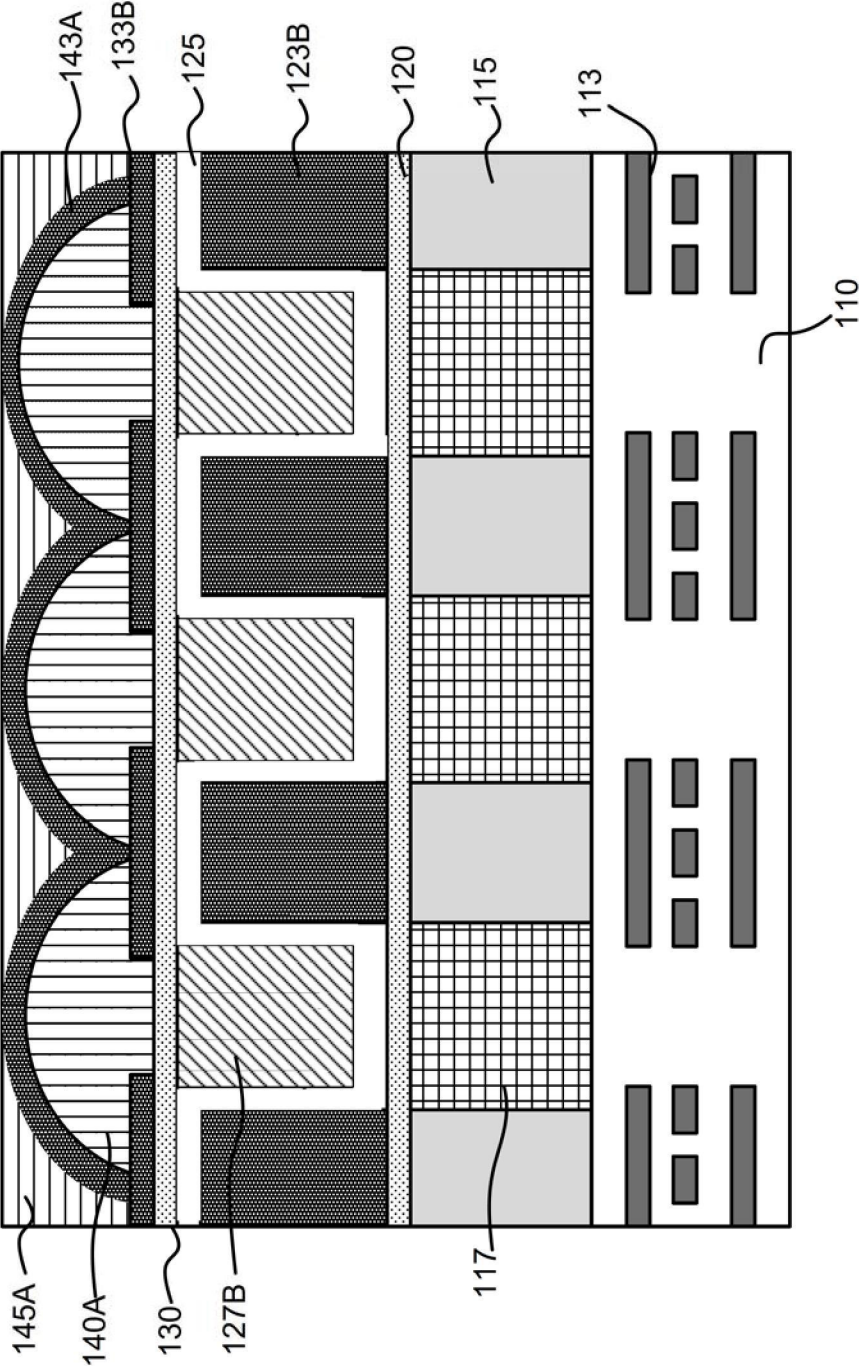
第9圖



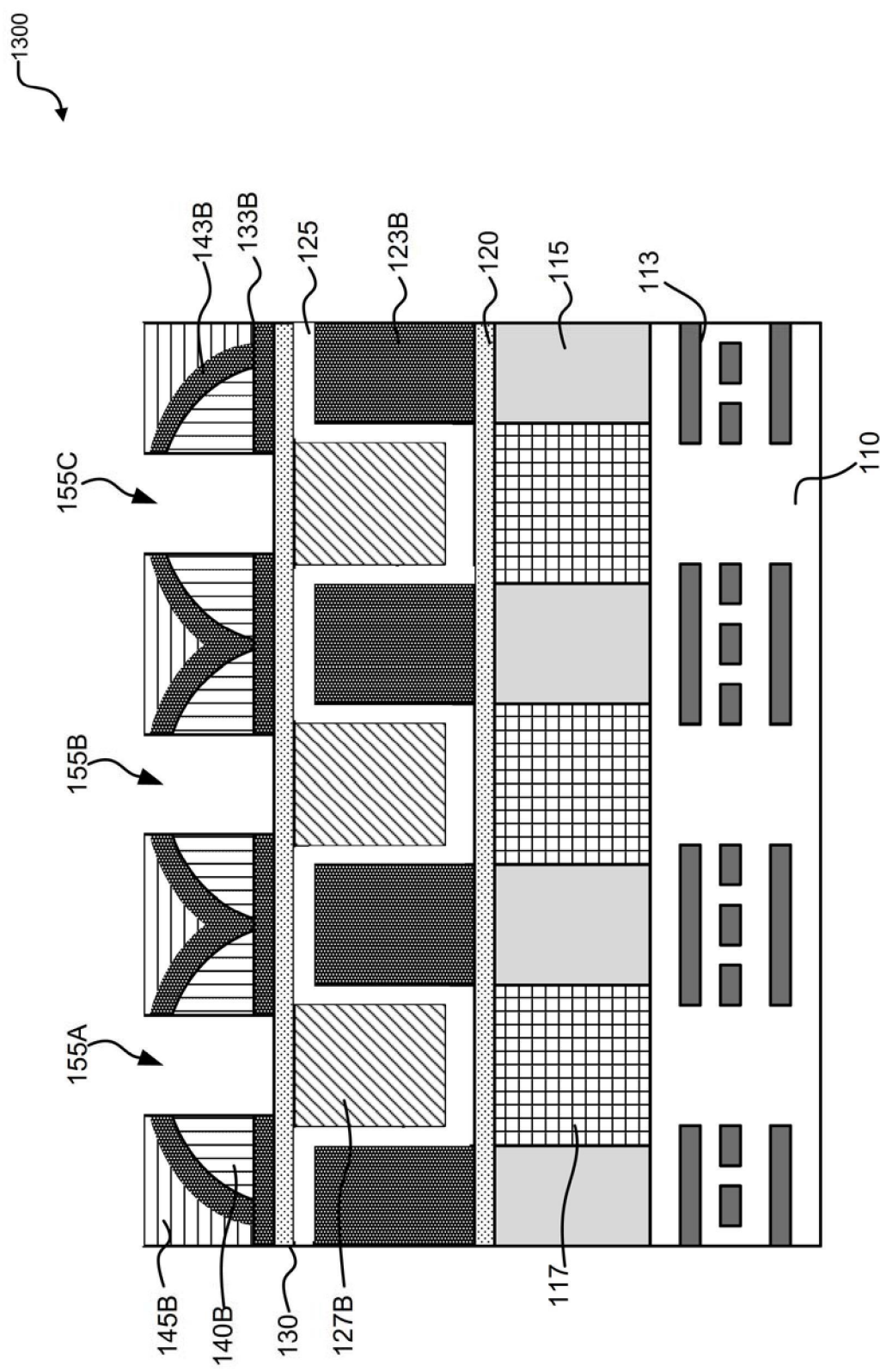
第10圖



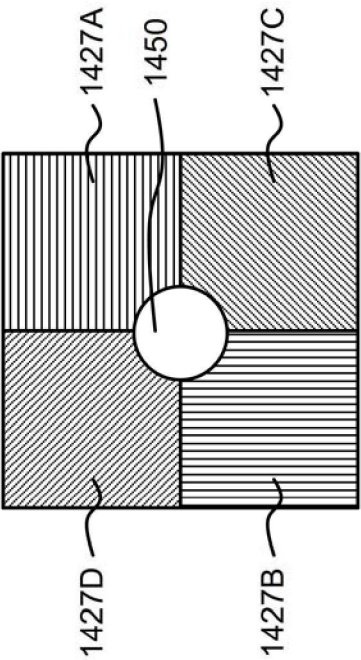
第11圖



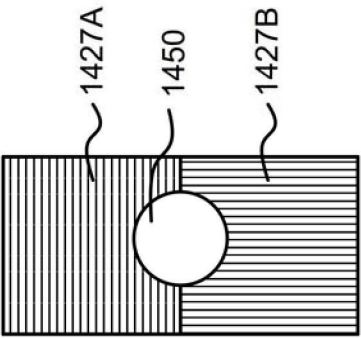
第12圖



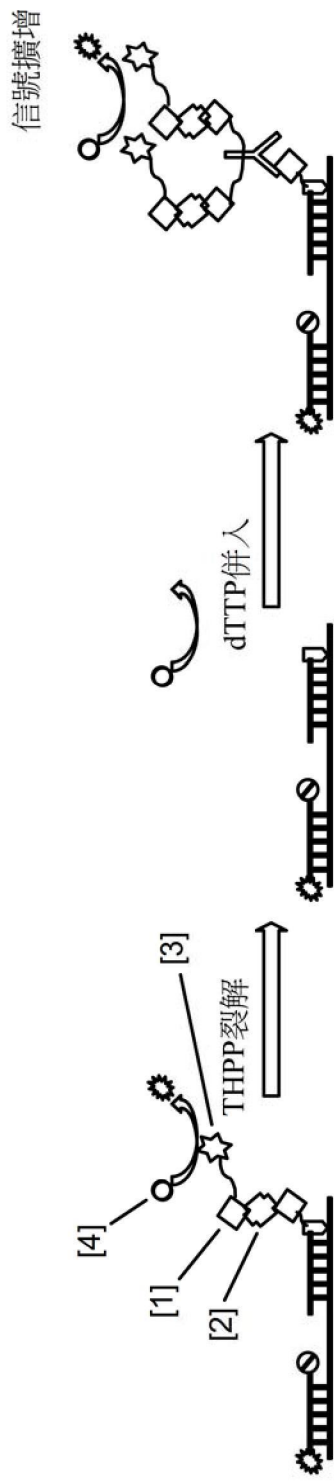
第13圖



第14B圖



第14A圖



第15A圖

第15B圖

第15C圖