(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112903639 B
(45)授权公告日 2022.09.13

(21)申请号 202110063547.6
(22)申请日 2015.08.07
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112903639 A
(43)申请公布日 2021.06.04
(30)优先权数据
62/035,258 2014.08.08 US
62/164,464 2015.05.20 US
(62)分案原申请数据
201580054785.3 2015.08.07
(73)专利权人 宽腾矽公司
地址 美国康涅狄格州
(72)发明人 乔纳森·M·罗思伯格
阿里·卡比里 杰森·W·斯克勒
布雷特·J·格亚凡思
杰瑞米·拉基 杰勒德·施密德
罗伦斯·C·威斯特
本杰明·西普里亚尼
基思·G·法夫 法席德·加塞米
(74)专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司 72003
专利代理师 石海霞 金鹏
(51)Int.Cl.
G01N 21/64(2006.01)
审查员 李步骎

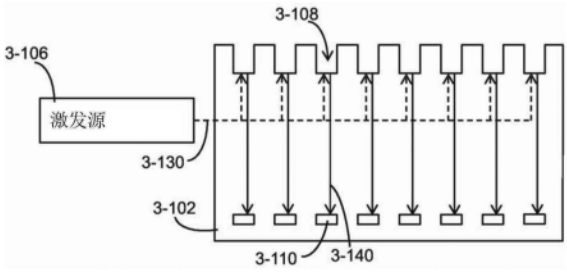
权利要求书1页 说明书94页 附图105页

(54)发明名称

用于对分子进行探测、检测和分析的带外部光源的集成装置

(57)摘要

本发明涉及一种用于对单分子进行分析并且执行核酸测序的系统和方法。集成装置包括具有构造成接受样品的样品阱的多个像素，该样品当被激发时发出辐射。该集成装置包括至少一个波导，其构造成将来自用于与激发能量源耦合的集成装置的区域的激发能量传播至样品阱。一个像素也可包括用于朝向像素内的传感器引导发射能量的至少一个元件。该系统还包括与集成装置连接的仪器。该仪器可包括激发能量源，用于通过耦合到集成装置的激发能量耦合区而将激发能量提供给集成装置。可利用发射能量的时间参数而区分的多个标志的一个标志来标记样品，并且在一个像素内部的传感器的构造可允许对与标记样品的标志相关的时间参数的检测。



CN 112903639 B

1.一种集成装置,包括:

样品阱,布置在该装置的表面上并且构造成接收样品;

波导,构造成将光学激发能量的多个脉冲传播到所述样品阱;以及

传感器,定位成接收来自样品阱的光,该传感器将接收到的所述样品发射的发光的光子的载流子根据载流子产生的时间聚集到至少两个时间仓中。

2.根据权利要求1所述的集成装置,其中,所述传感器鉴别样品。

3.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述样品是生物样品。

4.根据权利要求3所述的集成装置,其中所述生物样品包括靶核酸分子。

5.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述传感器还被构造成产生指示所述发光的强度的信号。

6.根据权利要求1所述的集成装置,还包括光学耦合到所述波导的光栅耦合器。

7.根据权利要求6所述的集成装置,还包括第一监控传感器,该第一监控传感器通过对准监测来帮助将光学激发能量束与所述光栅耦合器对准。

8.根据权利要求7所述的集成装置,还包括第二监控传感器,该第二监控传感器通过监控光学激发能量的功率进一步帮助将光学激发能量束与所述光栅耦合器对准。

9.根据权利要求1所述的集成装置,其中所述传感器包括与所述至少两个时间仓对应的至少两个存储区。

用于对分子进行探测、检测和分析的带外部光源的集成装置

[0001] 本申请是是中国申请号为201580054785.3(对应于PCT国际申请号PCT/ US2015/044379)、申请日为2015年8月7日、发明名称为“用于对分子进行探测、检测和分析的带外部光源的集成装置”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于2014年8月8日提交的名称为“用于对分子进行探测、检测和分析的带外部光源的集成装置”的美国临时专利申请62/035,258及于2015年5月20日提交的名称为“用于对分子进行探测、检测和分析的带外部光源的集成装置”的美国临时专利申请62/164,464的优先权,以上各专利申请的全部内容以参考的方式并入本文中。

[0004] 本申请与下列美国专利申请有关:

[0005] 于2015年5月20日提交的名称为“用于对接收的光子进行时间划分的集成装置”的美国临时专利申请62/164,506;

[0006] 于2015年5月20日提交的名称为“脉冲激光器”的美国临时专利申请 62/164,485;

[0007] 于2015年5月20日提交的名称为“用于核酸测序的方法”的美国临时专利申请62/164,482;

[0008] 于2014年8月8日提交的名称为“用于对分子进行探测、检测和分析的光学系统和检测芯片”的美国临时专利申请62/035,242,该专利申请的全部内容以参考的方式并入本文中;

[0009] 与同一日期提交的文号R0708.70002US02、名称为“用于对所接收光子进行时间划分的集成装置”的美国非临时专利申请;

[0010] 于同一日期提交的文号R0708.70003US01、名称为“用于对分子进行探测、检测和分析的光学系统和检测芯片”的美国非临时专利申请。

[0011] 以上所列出的各相关申请的全部内容以参考的方式并入本文中。

技术领域

[0012] 本申请总体上涉及用于执行生物和/或化学样品的快速、大规模并行定量分析的装置、方法和技术,以及制造所述装置的方法。

背景技术

[0013] 对生物样品的检测和分析可利用生物学测定(“生物测定”)而进行。生物测定通常涉及到大且高价的实验室设备,这要求对助理研究员进行培训以便操作该设备并进行生物测定。此外,生物测定通常是整批地进行,因此大量特定类型的样品对于检测和定量而言是必需的。

[0014] 一些生物测定是通过给具有发出特定波长光的荧光标记的样品加标签而进行。用光源照射这些标记从而导致发光,并且用光检测器对发光进行检测以便对由标记所发出冷光的量进行定量。使用荧光标记的生物测定通常涉及到用于照射样品的高价激光光源、和复杂的大体积检测光学装置、及收集来自被照射样品的发光的电子器件。

发明内容

[0015] 本文中所描述的技术涉及用于快速地利用可以与移动计算仪器相互作用的有源像素集成装置对试样进行分析的装置和方法。该集成装置可采用一次性使用或可循环使用的芯片实验室或封装模块的形式，该芯片实验室或封装模块构造成接收少量试样并且并行地对在试样内部的样品进行大量分析。该集成装置在一些实施方式中可用于检测特定化学或生物学分析物的存在，在一些实施方式中用于对化学或生物反应进行评估，并且在一些实施方式用于确定基因序列。根据一些实施例，该集成装置可用于单分子基因测序。

[0016] 根据一些实施例，用户将试样放置于在集成装置上的一个室中，并且将集成装置插入接受仪器中。该接受仪器单独地或者在与计算机连接的情况下自动地与集成装置相互作用，接收来自集成装置的数据，对所接收的数据进行处理，和将分析的结果提供给用户。正如可理解的，在芯片上的一体化和计算智能、接受仪器、和/或计算机降低了要求用户所具备的技能水平。

[0017] 根据本申请的一些实施方式，提供一种包括多个像素的集成装置。多个像素中的一个像素包括：用于接收来自在集成装置外部的激发源的激发能量的样品阱、和用于接收来自位于样品阱中的样品的发光并基于所接收的发光而产生提供样品鉴别信息的信号的至少一个传感器。

[0018] 在一些实施方式中，信号是所接收发光的时间参数的指示物。在一些实施方式中，时间参数是与来自样品的发光相关的寿命。在一些实施方式中，信号是发光光谱的指示物。在一些实施方式中，信号是发光的特征波长的指示物。在一些实施方式中，信号和激发能量表示样品的吸收光谱。在一些实施方式中，信号和激发能量表示被样品吸收的特征波长。

[0019] 根据本申请的一些实施方式，提供一种包括像素区的集成装置，该像素区包括多个像素。多个像素中的一个像素具有：在集成装置表面上的样品阱，其中该样品阱构造成接受样品；用于接收来自样品阱的发光的至少一个传感器；和用于将激发能量输送到样品阱附近的至少一个波导。该集成装置包括激发源耦合区，该激发源耦合区包括用于接收来自外部激发能量源的激发能量并将激发能量耦合进入波导的耦合部件。

[0020] 根据本申请的一些实施方式，提供一种包括激发源模块的系统，该激发源模块包括用于发出具有第一时间段的激发能量的脉冲的激发源和集成装置。该集成装置包括：用于接受样品的样品阱，该样品当被耦合到激发能量的脉冲时发出冷光；在第二时间段中对发光进行检测的传感器，其中第二时间段是出现在第一时间段之后；第一能量路径，激发能量的脉冲沿该路径从激发源移动到能量源耦合部件；第二能量路径，激发能量的脉冲沿该路径从能量源耦合部件移动到样品阱；和第三能量路径沿，发光沿该路径从样品阱移动到传感器。

[0021] 根据本申请的一些实施方式，提供一种检测分子在样品中的存在的方法。该方法包括将用多个发光标志的一个加标记的样品导入样品阱，其中多个发光标志中的至少一部分具有不同的发光寿命值。该方法还包括：用光的脉冲辐射样品阱，测量从样品阱中所发出光子的到达时间，和基于光子到达的时间确定标志的特征。

[0022] 根据本申请的一些实施方式，提供一种包括样品阱和传感器的集成装置。样品阱是用于接受用多个发光标志加标记的样品，多个发光标志的每个发光标志具有不同的发光寿命值。传感器是用于在多个时间段中检测来自多个发光标志中的一个发光标志的发光，

其中对多个时间段进行选择以便在多个发光标志中进行区别。

[0023] 根据本申请的一些实施方式，提供一种包括样品阱和多个传感器的集成装置。样品阱是用于接收用多个发光标志中的一个发光标志加标记的样品。多个发光标志的每个发光标志在多个光谱范围的一个光谱范围内发出冷光，并且在多个光谱范围的一个光谱范围内发出冷光的多个发光标志的一部分各自具有不同的发光寿命值。多个传感器的各传感器是用于在多个时间段中对多个光谱范围的一个光谱范围进行检测，并且对多个时间段进行选择以便在多个发光标志的一部分之间进行区别。

[0024] 根据一些实施方式，提供一种包括多个激发源和集成装置的系统。多个激发源是用于发出多种激发能量，其中多个激发源的每个激发源发出多种激发能量的一种激发能量的脉冲。集成装置包括用于接受用多个发光标志中的一个加标记的样品的样品阱。多个发光标志中的一部分在被各自具有不同寿命值的多种激发能量中的一种照射后发出冷光。集成装置还包括传感器，该传感器是用于在多种激发能量中的一种激发能量的脉冲之后的多个时间段中检测来自多个发光标志中一个的发光，其中多种激发能量中的一种的脉冲的定时和多个时间段在多个发光标志中进行区别。

[0025] 根据本申请的一些实施方式，提供一种形成集成装置的方法。该方法包括形成多个传感器区，其中多个传感器区的一个传感器区包括多个传感器，从而形成多个样品阱，其中多个样品阱的一个样品阱与多个传感器区中的对应的一个传感器区对准，并且形成用于与多个样品阱分离的激发能量耦合的至少一个波导并且将激发能量引导到至少一个样品阱。

[0026] 根据本申请的一些实施方式，提供一种仪器。该仪器包括：用于提供至少一种激发能量的至少一个激发源、用于使由至少一个激发源所发出的至少一种激发能量与集成装置的耦合区对准的激发源定位系统、和用于接收是由集成装置上的传感器所检测发射能量的代表的至少一个读出信号的读出电路。

[0027] 根据本申请的一些实施方式，提供一种对靶核酸分子进行测序的方法。该方法包括提供一种集成装置，该集成装置包括容纳靶核酸分子、聚合酶、及多种类型的核苷酸或核苷酸类似物的样品阱。多种类型的核苷酸或者核苷酸类似物中的各类型是用一个或多个标志加标记。该方法还包括在聚合酶存在下在靶核酸分子的引发位置执行延伸反应，从而将至少一部分的核苷酸或核苷酸类似物顺序地结合入与靶核酸分子为互补的生长链中，其中当用激发能量激发时给掺入生长链中的核苷酸或核苷酸类似物加标记的标志产生来自样品阱的发射，并且对于多种类型核苷酸或核苷酸类似物而言发射寿命是可区分的。该方法还包括基于是发射寿命的指示物的从传感器中所接收的信号来鉴定核苷酸或核苷酸类似物，由此对靶核酸分子进行测序。

[0028] 根据本申请的一些实施方式，提供一种用于核酸测序的方法。该方法包括提供集成装置，该集成装置包括多个样品阱和可操作地被耦合到多个样品阱的激发能量源。多个样品阱的单独样品阱包含靶核酸分子、聚合酶及核苷酸或核苷酸类似物。多个标志的一个标志给每个核苷酸或核苷酸类似物加标记。该方法还包括：在核苷酸或核苷酸类似物和聚合酶的存在下使靶核酸分子经历聚合反应，从而获得与靶核酸分子为互补的生长链。在将核苷酸或核苷酸类似物结合入生长链中的情况下，当被来自激发源的激发能量所激发时多个标志发出发射光。该方法还包括：检测发光的寿命同时执行延伸反应，其中就多个标志而

言发光寿命是可区分的;和基于发光寿命来鉴定靶核酸分子的序列。

[0029] 根据本申请的一些实施方式,提供一种对试样进行分析的方法。该方法包括:使试样沉积在具有多个像素的集成装置的表面上,其中各像素具有用于接受用多个标志的第一标志加标记的样品的样品阱和具有至少一个传感器的传感器区;使集成装置与仪器对准,该仪器具有至少用于将激发能量耦合到第一像素的样品阱的一个激发能量源和用于接收来自第一像素的传感器区的至少一个传感器的读出信号的读出电路;用激发能量照射第一标志;和基于来自第一像素的传感器区的至少一个传感器的读出信号来检测由第一标志的发射所产生的发射能量的寿命。

[0030] 本公开中所使用的术语“像素”可指代集成装置的一个单元体。该单元体可包括样品阱和传感器。该单元体还可包括至少一个激发耦合光学结构(可被称为“第一结构”),该结构是用于增强激发能量从激发源到样品阱的耦合。单元体还可包括至少一个发射耦合结构,该耦合结构是用于增强发射从样品阱到传感器的耦合。单元体还可包括集成电子器件(例如,CMOS器件)。可存在被布置于在集成装置上的阵列中的多个像素。

[0031] 本公开中所使用的术语“光学”可指代可见、近红外、和短波长红外光谱带。

[0032] 本公开中所使用的术语“标签”可指代标签、探针、或报道基因(reporter),并且包括附接到待分析样品的标志、或者附接到可与样品结合的反应剂的标志。

[0033] 本公开中所使用的短语“激发能量”可指代被输送到样品和/或在样品阱内部的标志的任何形式的能量(例如,辐射的或非辐射的)。辐射的激发能量可包括在一个或多个特征波长处的光辐射。

[0034] 本公开中所使用的短语“特征波长”可指代在辐射的有限带宽内的中心波长或主波长。在一些情况下,“特征波长”可指代辐射带宽的峰值波长。荧光团的特征波长的例子为563nm、595nm、662nm、和687nm。

[0035] 本公开中所使用的短语“特征能量”可指代与特征波长相关的能量。

[0036] 本公开中所使用的术语“发射”可指代来自标签和/或样品的发射。这可包括辐射发射(例如,光发射)或非辐射性能量传递(例如,Dexter能量传递或Förster 共振能量传递)。发射是由在样品阱内部的样品和/或标志的激发所导致。

[0037] 本公开中所使用的短语“来自样品阱的发射”或“来自样品的发射”可指代来自标志和/或在样品阱内部的样品的发射。

[0038] 本公开中所使用的术语“自对准的”可指代微加工工艺,其中可制作至少两个不同的元件(例如,样品阱和发射耦合结构、样品阱和激发源)并且在不采用两个单独的光刻图案化步骤的情况下使彼此对准,其中第一光刻图案化步骤(例如,光刻、离子束光刻、EUV光刻)印刷第一元件的图案而第二光刻图案化步骤与第一光刻图案化步骤一致并印刷第二元件的图案。自对准工艺可包括将第一和第二元件两者的图案包括在单个光刻图案化步骤中,或者可包括利用第一元件的制作结构的特征而形成第二元件。

[0039] 本公开中所使用的术语“传感器”可指代一个或多个集成电路装置,用于感测来自样品阱的发射并且产生是所感测发射的代表的至少一个电信号。

[0040] 本公开中所使用的术语“纳米尺度”可指代具有大约150纳米(nm)以下但不大于大约500nm的至少一个尺度或最小特征尺寸的结构。

[0041] 本公开中所使用的术语“微米尺度”可指代具有在大约500nm和大约100 微米之间

的至少一个尺度或最小征尺寸的结构。

[0042] 本公开中所使用的短语“增强激发能量”可指代增加在样品阱的激发区处的激发能量的强度。例如，可通过使入射到样品阱上的激发能量集中和/或共振，而增加该强度。在一些情况下，可利用允许激发能量进一步穿透进入样品阱的激发区中的防反射涂层或损耗层来增加该强度。激发能量的增强可以是对不包括用于增强在样品阱激发区中的激发能量的结构的实施方式的比较性参考。

[0043] 本公开中所使用的术语“约”、“大约”和“大致”可指代一个值，并且意图包括该引用值加上和减去可接受的变差。在一些实施方式中，变差的量可以是小于5％，在一些实施方式中小于10％，在一些实施方式中小于20％。在其中装置可在大范围的值中(例如，包括一个或多个数量级的范围)正确地起作用的实施方式中，变差的量可以是2倍。例如，如果装置对于在20至350范围内的值而言可正确地起作用，那么“大约80”可包括在40和160之间的值。

[0044] 本公开中所使用的术语“相邻”可指代被布置成相互非常靠近的两个元件 (例如，在小于像素的横向或垂直尺寸的约五分之一的距离内)。在一些情况下，在相邻的元件之间可存在介于中间的结构或层。在一些情况下，相邻的元件可相互紧邻并且没有介于中间的结构或元件。

[0045] 本公开中所使用的术语“检测”可指代在传感器处接收来自样品阱的发射，并且产生是发射的代表或者与发射相关的至少一个电信号。本公开中所使用的术语“检测”也可指代基于来自样品阱的发射而确定在样品阱中的特定样品或标志的存在，或者鉴定其特性。

[0046] 基于以下的描述并结合附图，可以更充分地理解本公开的前述及其它方面、实施方式和特征。

附图说明

[0047] 本领域技术人员将理解的是，本文中所描述的附图只是用于说明的目的。应当理解的是，在一些情况下本发明的各种方面可放大或扩大地显示从而便于对本发明的理解。在附图中，类似的附图标记一般指代在全部各种附图中的类似特征、在功能上相似和/或在结构上相似的元件。这些附图未必按比例绘制，相反重点是放在说明本公开的原理上。这些附图并非意图以任何方式限制本公开的范围。

[0048] 基于下面所陈述的详细描述并结合附图，本发明的特征和优点将变得显而易见。

[0049] 当参照附图描述实施方式时，可使用方向词(“在上方”、“在下方”、“顶部”、“底部”、“左”、“右”、“水平的”、“竖直的”等)。这种方向词仅仅是用作在正常方向上看附图时对读者的辅助。这些方向词并非意图描述具体化装置的优选方向或仅有的方向。装置可采用其它方位。

[0050] 图1-1示出了作为时间的函数的从标志中发出光子的概率的图表。

[0051] 图1-2A示出了根据一些实施方式的发射定时光谱。

[0052] 图1-2B示出了根据一些实施方式的吸收波长光谱。

[0053] 图1-2C示出了根据一些实施方式的发射波长光谱。

[0054] 图1-3A示出了用于发射波长和发射寿命的相空间。

[0055] 图1-3B示出了用于吸收波长和发射寿命的相空间。

[0056] 图1-4示出了用于发射波长、吸收波长、和发射寿命的相空间。

[0057] 图2-1A是根据一些实施方式的可用于生物学和化学试样的快速移动分析的装置的方框图。

[0058] 图2-1B是根据一些实施方式的集成装置和仪器的方框图。

[0059] 图2-2示出了根据一些实施方式的集成装置。

[0060] 图3-1A示出了根据一些实施方式的集成装置的一排像素。

[0061] 图3-1B示出了根据一些实施方式的向一排像素中的样品阱的激发能量耦合及从各样品阱中朝向传感器引导的发射能量。

[0062] 图3-2示出了根据一些实施方式的集成装置和激发源。

[0063] 图4-1A示出了根据一些实施方式的激发源向波导的边缘耦合。

[0064] 图4-1B示出了根据一些实施方式的用于将集成装置耦合到激发源的光栅耦合器。

[0065] 图4-2示出了根据一些实施方式的集成装置和激发源。

[0066] 图4-3A示出了根据一些实施方式的示例性激发耦合区。

[0067] 图4-3B示出了图4-3A中所示激发耦合区的光强度的模拟。

[0068] 图4-3C示出了根据一些实施方式的光栅耦合器和波导。

[0069] 图4-4绘制了不同波导结构的作为弯曲半径的函数的损耗。

[0070] 图4-5示出了根据一些实施方式的星形耦合器。

[0071] 图4-6示出了根据一些实施方式的用于耦合来自两个光栅耦合器的输入光的星形耦合器。

[0072] 图4-7示出了根据一些实施方式的MMI分束器的构造。

[0073] 图4-8示出了经过MMI分束器的光强度的模拟。

[0074] 图4-9A示出了根据一些实施方式的光栅耦合器。

[0075] 图4-9B和图4-9C示出了根据一些实施方式的光栅耦合器。

[0076] 图5-1示出了根据一个实施方式的形成于集成装置的像素区中的样品阱。

[0077] 图5-2示出了根据一些实施方式的入射到样品阱上的激发能量。

[0078] 图5-3示出了根据一些实施方式的形成为零模式波导的沿样品阱的激发能量的衰减。

[0079] 图5-4示出了包括凹坑的样品阱,在一些实施方式中该凹坑增加在与样品阱相关的激发区处的激发能量。

[0080] 图5-5对根据一个实施施方式的有凹坑与无凹坑的样品阱的激发强度进行了比较。

[0081] 图5-6A示出了根据一些实施方式的在突起部处所形成的样品阱和凹坑。

[0082] 图5-6B示出了根据一些实施方式的样品阱和凹坑。

[0083] 图5-7A示出了根据一些实施方式的具有锥形侧壁的样品阱。

[0084] 图5-7B示出了根据一些实施方式的包括弯曲侧壁和具有较小横向尺寸的凹坑的样品阱。

[0085] 图5-7C和图5-7D示出了由表面等离激元结构所形成的样品阱。

[0086] 图5-7E示出了根据一些实施方式的包括沿样品阱侧壁所形成的激发能量增强结构的样品阱。

[0087] 图5-7F示出了根据一些实施方式的形成于多层堆中的样品阱。

[0088] 图5-8示出了根据一些实施方式的形成于样品阱表面上的表面涂层。

[0089] 图5-9A至图5-9E示出了根据一些实施方式的与形成样品阱的剥离工艺 (lift-off)相关的结构。

[0090] 图5-9F示出了根据一些实施方式的与形成样品阱的替代剥离工艺相关的结构。

[0091] 图5-10A至图5-10D示出了根据一些实施方式的与形成样品阱的直接蚀刻工艺相关的结构。

[0092] 图5-11示出了根据一些实施方式的可利用剥离工艺或直接蚀刻工艺而形成于多层中的样品阱。

[0093] 图5-12示出了根据一些实施方式的与可用于形成凹坑的蚀刻工艺相关的结构。

[0094] 图5-13A至图5-13C示出了根据一些实施方式的与形成凹坑的替代工艺相关的结构。

[0095] 图5-14A至图5-14D示出了根据一些实施方式的与用于使粘附剂和钝化层沉积的工艺相关的结构。

[0096] 图5-15示出了根据一些实施方式的与使粘附剂中心地沉积于样品阱内部的工艺相关的结构。

[0097] 图5-16示出了根据一些实施方式的带凹坑的样品阱。

[0098] 图6-1A示出了根据一些实施方式的从波导被耦合到样品阱的激发辐射的模拟。

[0099] 图6-1B示出了根据一些实施方式的耦合到样品阱的激发辐射的模拟。

[0100] 图6-2A、图6-2B和图6-2C示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0101] 图6-3A示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0102] 图6-3B示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0103] 图6-3C示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0104] 图6-3D示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0105] 图6-4示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0106] 图6-5示出了根据一些实施方式的对在具有微腔的集成装置中传播的激发辐射的模拟。

[0107] 图6-6A、图6-6B和图6-6C示出了根据一些实施方式的在具有微腔的集成装置中传播的激发辐射的模拟。

[0108] 图6-6D示出了根据一些实施方式的在具有微腔的集成装置中传播的激发辐射的模拟。

[0109] 图6-7A示出了根据一些实施方式的具有微腔的集成装置。

[0110] 图6-7B示出了根据一些实施方式的在具有微腔的集成装置中传播的激发辐射的模拟。

[0111] 图6-7C示出了根据一些实施方式的在具有微腔的集成装置中传播的激发辐射的模拟。

[0112] 图6-7D示出了根据一些实施方式的集成装置的剖视图。

[0113] 图6-8A和图6-8B示出了根据一些实施方式的具有锥形波导的集成装置。

[0114] 图6-9A和图6-9B示出了根据一些实施方式的具有锥形波导的集成装置。

[0115] 图6-10示出了作为锥形部长度的函数的损耗的图表。

[0116] 图6-11A示出了根据一些实施方式的具有样品阱下沉部的集成装置。

[0117] 图6-11B和图6-11C示出了根据一些实施方式的具有样品阱下沉部的集成装置。

[0118] 图6-12示出了根据一些实施方式的集成装置的样品阱的阵列。

[0119] 图6-13示出了根据一些实施方式的包括具有可变尺寸的波导的集成装置。

[0120] 图6-14示出了根据一些实施方式的包括具有可变尺寸的波导的集成装置。

[0121] 图7-1A、图7-1B和图7-1C示出了根据一些实施方式的用于耦合来自集成装置的样品阱的发射能量的部件。

[0122] 图7-2A示出了来自样品阱的发射能量的模拟。

[0123] 图7-2B示出了以一个角度从样品阱中发射出的发射能量的图表。

[0124] 图7-3示出了作为波长的函数的吸收率和反射率的图表。

[0125] 图7-4A和图7-4B示出了根据一些实施方式的偏振滤光器。

[0126] 图7-5示出了根据一些实施方式的波长滤波器。

[0127] 图7-6示出了作为波长的函数的透光率的图表。

[0128] 图7-7示出了根据一些实施方式的多波长滤波器。

[0129] 图7-8示出了作为波长的函数的透光率的图表。

[0130] 图7-9A和图7-9B示出了根据一些实施方式的具有时间仓(time bins)的传感器。

[0131] 图8-0A示出了根据一些实施方式的用于提供光脉冲的一个示例性系统。

[0132] 图8-0B示出了作为时间的函数的光强度的图表。

[0133] 图8-1示出了作为时间的函数的载流子密度的图表。

[0134] 图8-2示出了根据一些实施方式的用于形成光输出的修整电信号。

[0135] 图8-3示出了根据一些实施方式的来自激发源的光输出。

[0136] 图8-4示出了根据一些实施方式的来自激发源的光输出。

[0137] 图8-5示出了根据一些实施方式的激光二极管的性能。

[0138] 图8-6A示出了根据一些实施方式的传输线脉冲星。

[0139] 图8-6B示出了根据一些实施方式的利用传输线脉冲星所获得的光脉冲。

[0140] 图8-7示出了根据一些实施方式的用于获得光脉冲的电路。

[0141] 图8-8示出了根据一些实施方式的用于获得光脉冲的电路。

[0142] 图8-9A示出了根据一些实施方式的用于获得光脉冲的电路。

[0143] 图8-9B示出了来自图8-9A中所示电路的电信号。

[0144] 图8-10A示出了根据一些实施方式的用于获得光脉冲的电路。

[0145] 图8-10B示出了来自图8-10A中所示电路的电信号。

[0146] 图8-11A示出根据一些实施方式的用于将光源加以组合的布置。

[0147] 图8-11B示出了图8-10A中所示电路的性能的图表。

[0148] 图9-1示出了根据一些实施方式的激发源模块和基础仪器。

[0149] 图9-2示出了根据一些实施方式的激发源模块和基础仪器。

[0150] 图9-3示出了根据一些实施方式的用于使激发源与集成装置对准的光学部件。

[0151] 图9-4示出了根据一些实施方式的激发源模块和基础仪器。

[0152] 图9-5至图9-11示出了根据一些实施方式的激发源模块和基础仪器。

[0153] 图9-12至图9-19示出了根据一些实施方式的用于激发源与集成装置的被动对准的部件。

[0154] 图9-20示出了根据一些实施方式的监控传感器。

[0155] 图9-21示出了根据一些实施方式的具有监控传感器的集成装置。

[0156] 图9-22示出了根据一些实施方式的集成装置的波导和监控传感器的布置。

[0157] 图9-23示出了根据一些实施方式的集成装置的监控传感器。

[0158] 图9-24示出了根据一些实施方式的用于将激发能量耦合到集成装置的光学部件。

[0159] 图9-25A示出了根据一些实施方式的用于将激发能量耦合到集成装置的部件。

[0160] 图9-25B示出了根据一些实施方式的用于将激发能量耦合到集成装置的部件。

[0161] 图9-25C示出了根据一些实施方式的用于将激发能量耦合到集成装置的部件。

[0162] 图10-1示出了包含用于核酸测序的各种部件的样品阱的示意图，图中示出了靶空间、聚合酶复合物、靶核酸、互补链和引物、及用于固定化的接头。

[0163] 图10-2示出了用于测序反应的四个阶段的核酸测序的一个示例性实验；(A)在荧光标记核苷酸的掺入之前；(B)第一掺入事件；(C)在第一和第二掺入事件之间的时段；和(D)第二掺入事件；以及在阶段(A)-阶段(D)期间原始数据和经处理数据的相应例子。

[0164] 图10-3示出了表面预处理的示例性工艺，该工艺包括以下步骤：(a)Al_2O_3沉积、(b)PEG-膦酸酯钝化、(c)生物素/PEG-硅烷化、(d)复合物加载、和(e)测序反应启动。

[0165] 图10-4示出了根据一些实施方式的用于执行测量的示意图。

[0166] 图10-5示出了根据一些实施方式的菲涅耳透镜。

[0167] 图10-6示出了根据一些实施方式的作为时间的函数的光信号的图表。

[0168] 图10-7示出了根据一些实施方式的用于在时间仓中的标志的信号曲线。

[0169] 图10-8示出了根据一些实施方式的作为时间的函数的光信号的图表。

[0170] 图10-9示出了根据一些实施方式的用于在时间仓中的标志的信号曲线。

[0171] 图10-10示出了根据一些实施方式的用于执行测量的示意图。

[0172] 图10-11示出了根据一些实施方式的作为发射波长的函数的寿命的图表。

[0173] 图10-12示出了根据一些实施方式的作为波长的函数的光信号的图表。

[0174] 图10-13示出了根据一些实施方式的作为时间的函数的光信号的图表。

[0175] 图10-14示出了根据一些实施方式的用于在多个传感器的时间仓中的标志的信号曲线。

[0176] 图10-15示出了根据一些实施方式的作为时间的函数的光信号的图表。

[0177] 图10-16示出了根据一些实施方式的用于多个传感器的在时间仓中的标志的信号曲线。

[0178] 图10-17示出了根据一些实施方式的用于执行测量的示意图。

[0179] 图10-18示出了根据一些实施方式的作为波长的函数的光信号的图表。

[0180] 图10-19示出了根据一些实施方式的作为时间的函数的光信号的图表。

[0181] 图10-20示出了根据一些实施方式的用于多个传感器的在时间仓中的标志的信号曲线。

[0182] 图11-1示出了根据一些实施方式的用于制作样品阱的方法。

[0183] 图11-2示出了根据一些实施方式的用于制作样品阱的方法。

[0184] 图11-3示出了根据一些实施方式的用于制作样品阱的方法。

[0185] 图11-4A示出了根据一些实施方式的用于制作样品阱的方法。

[0186] 图11-4B示出了根据一些实施方式的用于制作样品阱的方法。

[0187] 图11-5示出了根据一些实施方式的用于制作具有下沉部的样品阱层的方法。

[0188] 图11-6示出了根据一些实施方式的用于制作具有下沉部的样品阱层的方法。

[0189] 图11-7示出了根据一些实施方式的用于制作同心光栅的方法。

[0190] 图11-8示出了根据一些实施方式的用于制作同心光栅的方法。

[0191] 图11-9示出了根据一些实施方式的用于制作同心光栅的方法。

[0192] 图11-10示出了根据一些实施方式的示例性微腔设计。

[0193] 图11-11示出了根据一些实施方式的用于制作折射光学部件的方法。

[0194] 图11-12示出了根据一些实施方式的在制作折射光学部件中的不同步骤的图像。

[0195] 图11-13示出了根据一些实施方式的折射光学部件。

[0196] 图11-14示出了根据一些实施方式的用于制作折射光学部件的方法。

[0197] 图11-15示出了根据一些实施方式的用于制作折射光学部件的方法。

[0198] 图11-16示出了根据一些实施方式的菲涅耳透镜。

[0199] 图11-17示出了根据一些实施方式的菲涅耳透镜。

[0200] 图11-18示出了根据一些实施方式的菲涅耳透镜。

[0201] 图11-19示出了根据一些实施方式的用于制作菲涅耳透镜的方法。

[0202] 图11-20示出了根据一些实施方式的用于制作菲涅耳透镜的方法。

[0203] 图11-21示出了根据一些实施方式的用于制作菲涅耳透镜的方法。

[0204] 图11-22示出了根据一些实施方式的用于制作菲涅耳透镜的方法。

具体实施方式

[0205] 本发明人已认识并意识到，用于执行单分子或颗粒的检测和定量的紧凑型高速装置可以降低执行生物和/或化学样品的复杂定量测量的费用，并且快速地推进生物化学技术发现的速度。此外，可容易地运输的高性价比的装置不仅可以转变在发达国家所执行的生物测定的方式，而且为在发展中国家中的人们第一次提供对可以显著地改进他们的健康和福利的基本诊断测试的快速获取。例如，在一些实施方式中，用于执行生物测定装置是用于执行对生物样品(例如血液、尿液和/或唾液)的诊断测试。该装置可由个人在他们的家中使用、由在发展中国家的偏远诊所或任何其它位置(例如乡村医生的办公室)中的医生所使用。这种诊断测试可以包括对在受试对象的生物样品中的生物分子 (例如核酸分子或蛋白质)的检测。在一些例子中，诊断测试包括对受试对象的生物样品中的核酸分子进行测序，例如对受试对象的生物样品中的无细胞脱氧核糖核酸分子或表达产物的测序。例如，本文中所描述的实施方式可用于血液、尿液和/或唾液的诊断测试可由个人在他们的家中使用，由在发展中国家的偏远诊所或任何其它位置(例如乡村医生的办公室)中的医生所使用。

[0206] 具有大量像素(例如，数百、数千、数百万以上)的像素化传感器装置允许对多个单独分子或颗粒的并行检测。例如但不限于，这些分子可以是蛋白质和 /或DNA。此外，可以以大于100帧每秒的速率获取数据的高速装置允许对随时间推移在正在进行分析的样品内部所发生的动态工艺或变化进行检测和分析。

[0207] 本发明人已认识并意识到,阻止生物测定设备被制作成更紧凑的一个障碍是需要对激发光进行过滤以避免导致在传感器处的不良检测事件。用于传递期望的信号光(发光)并充分地阻挡激发光的光滤波器可以是厚的、大体积的、和高价的并且不容许光入射角中变化,从而阻止了小型化。然而,本发明人已认识并意识到,使用脉冲激发源可以减小对这种功率的需要,或者在一些情况下排除对这种滤光器的需要。通过使用传感器能够确定相对于激发光脉冲的光子被检测时间,基于光子被接收的时间而不是基于所接收光的光谱可以将信号光从激发光中分离出来。因此,在一些实施方式中,对大体积的光滤波器的需求被减小和/或排除。

[0208] 本发明人已认识到并意识到,发光寿命测量也可用于鉴定存在于样品中的分子。当光子被检测能够进行检测的光学传感器能够利用从许多事件中所采集的统计数据、被激发光所激发分子的发光寿命进行测量。在一些实施方式中,除发光的光谱测量外,也可以进行发光寿命测量。可替代地,在对样品分子的鉴定中,可将发光的光谱测量完全省略。发光寿命测量可利用脉冲激发源而完成。此外,发光寿命测量可利用包括传感器的集成装置、或者其中光源位于与集成装置分开的系统中的装置而完成。

[0209] 本发明人也已认识并意识到,将样品阱(其可包括纳米孔)和传感器并入能够测量从生物样品中所发出发光的单个集成装置中可降低制造这种装置的成本,从而可形成一次性使用的生物分析集成装置。可在世界上没有要求用于样品分析的高成本生物实验室的约束的地方使用与基础仪器相互作用的用后丢弃的一次性使用集成装置。因此,可将自动生物分析带到世界上以前不能执行生物样品的定量分析的地区。例如,婴儿的验血可以通过以下方式而进行:将血液样品置于一次性使用集成装置上,将一次性使用集成装置置于用于分析的小型便携式基础仪器中,和利用计算机对结果进行处理以便用户立即查看。也可将数据具有数据网络传递到远距离位置进行分析,和/或存档用于以后的临床分析。

[0210] 本发明人也已认识并意识到,用后丢弃的一次性使用装置可通过不在集成装置上包括光源而更简单地以较低成本制造。相反,光源可包括并入系统的可重复使用部件,这些部件与用后丢弃的集成装置相互作用以便对样品进行分析。

[0211] 本发明人也已认识并意识到,当用多种不同类型的发光标志给样品加标签时,可利用任何合适的发光标志特征来鉴定存在于集成装置的特定像素中的标志的类型。例如,可利用由激发吸收的标志和/或特征所发出的发光特征来鉴定标志。在一些实施方式中,可利用发光的发射能量(与光的波长直接有关)将第一类型的标志与第二类型的标志加以区分。此外或可替代地,发光寿命测量也可用于鉴定存在于特定像素处的标志的类型。在一些实施方式中,可利用能够区分何时以充分的分辨率检测光子从而获得寿命信息的时间传感器,用脉冲激发源而完成发光寿命测量。此外或可替代地,可利用被不同类型标志所吸收激发光的能量来鉴定存在于特定像素处的标志的类型。例如,第一标志可吸收第一波长的光但不同样地吸收第二波长的光,同时第二标志可吸收第二波长的光但不同样地吸收第一波长的光。因此,当以交错的方式将多于一个的各自具有不同激发能量的激发光源用于照射样品时,可以将标志的吸收能量用于鉴定存在于样品中的标志的类型。不同的标志也可具有不同的发光强度。因此,也可利用发光的检测强度来鉴定存在于特定像素处的标志的类型。

[0212] 本发明人所想到的装置的一个应用的一个非限制性例是能够执行生物分子的测

序的装置，例如核酸或者具有多个氨基酸的多肽(例如蛋白质)。可利用这种装置所执行的诊断测试包括：对在受试对象的生物样品中的核酸分子进行测序，例如对在受试对象的生物样品中的无细胞脱氧核糖核酸分子或表达产物进行测序。

[0213] 本申请提供用于对生物分子或其亚单位(例如核酸分子)进行检测的装置、系统和方法。这种检测可以包括测序。可从自受试对象中所获得的生物样品中提取生物分子。该生物样品可从受试对象的体液或组织，例如呼吸液、唾液、尿液或血液(例如，全血或血浆)中提取。受试对象可怀疑具有健康状态，例如疾病(例如，癌症)。在一些实例中，可从受试对象的体液或组织中提取一个或多个核酸分子。一个或多个核酸可从自受试对象中随获得的一个或多个细胞中提取，例如受试对象的组织的部分，或者自从受试对象的无细胞体液(例如全血)中获得。

[0214] 测序可以包括通过合成与模板为互补或类似的另一个生物分子而确定模板生物分子(例如，核酸分子)的单独亚单位，例如通过合成与模板核酸分子为互补的核酸分子并鉴定随时间推移的核苷酸的掺入(例如，通过合成的测序)。作为一个替代，测序可以包括生物分子的单独亚单位的直接鉴别。

[0215] 在测序期间，可将是生物分子的单独亚单位的指示物的信号采集于存储器中并实时地或者在之后的时间点进行处理以确定生物分子的序列。这种处理可以包括对信号与使单独亚单位的鉴别成为可能的参考信号的比较，这在一些情况下获得读取。读取可是可以用于鉴定较大序列或区域的具有充分长度(例如，至少约30、50、100个碱基对(bp)或更多)的序列，例如可以对准在染色体或基因组区或基因上的位置。

[0216] 可利用标志来鉴别生物分子的单独亚单位。在一些实例中，利用发光标志来鉴定生物分子的单独亚单位。发光标志(在本文中也被称为“标志”)可以是外源性或内源性标志。外源性标志可以是在用于发光加标记的报道基因和/或标签中所使用的外部发光标志。外源性标志的例子可包括但不限：荧光分子、荧光团、荧光染料、荧光染色、有机染料、荧光蛋白、酶类、参与荧光共振能量转移(FRET)的原子团、酶、和/或量子点。这种外源性标志可偶联到探针或者特异性地结合到特定的靶或部件官能团(例如，分子、离子、和/或配体)。将外源性标志附接到探针允许通过检测外源性标志的存在而鉴别靶。探针的例子可包括蛋白质、核酸(例如DNA、RNA)分子、脂类和抗体探针。外源性标志与官能团的组合可形成用于检测的任何合适的探针、标签、和/或标记，包括分子探针、标记探针、杂交探针、抗体探针、蛋白质探针(例如，生物素结合探针)、酶标记、荧光探针、荧光标签、和/或酶报道基因。

[0217] 尽管本公开提到了发光标志，但其它类型的标志可用于本文中所提供的装置、系统和方法。这种标志可包括质量标签或静电标签。

[0218] 虽然可将外源性标志加入样品中，但内源性标志已可以是样品的部分。内源性标志可包括在激发能量存在下可发冷光或“自发荧光”的任何存在的发光标志。内源性荧光团的自发荧光可提供在无需将外源性荧光团导入的无标记和无创性加标记。这种内源性荧光团的例子可包括例如但不限于：血红蛋白、氧合血红蛋白、脂类、胶原和弹性蛋白交联、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH)、氧化型黄素类(FAD和FMN)、脂褐素、角蛋白、和/或卟啉类。

[0219] 虽然一些实施方式可涉及通过检测在试样中的单分子的诊断测试，但本发明人也已认识到一些实施方式可利用单分子检测能力来执行一个或多个核酸片段的核酸(例如

DNA、RNA)测序,例如基因或多肽。核酸测序允许在靶核酸分子中的核苷酸的顺序和位置的确定。核酸测序技术可在用于确定核酸序列的方法中以及在测序工艺中的速率、读取长度、和错误率中有变化。例如,一些核酸测序方法是基于通过合成的测序,其中核苷酸的特征被确定为被掺入与靶核酸分子为互补的新合成核酸链中的核苷酸。一些通过合成方法的测序要求一群靶核酸分子(例如,靶核酸的拷贝)的存在或者靶核酸的扩增步骤从而获得靶核酸的群体。

[0220] 由于已认识到对用于执行单分子检测和/或核酸测序的简单且较不复杂的装置的需求,本发明人已设想出了利用荧光标记的组来检测单分子的技术,从而利用标签的组例如光学(例如,发光)标签给不同的分子加标记,从而给不同的分子加标记。这种单分子可以是具有标签的核苷酸或氨基酸。可以在结合到单分子时、当从单分子中释放时、或者在结合到单分子和从单分子中释放时,对标签进行检测。在一些例子中,标签是荧光标记。在所选择组中的各荧光标记与各个分子相关。例如,可利用一组的四个标签给存在于DNA中的核碱基"加标记",该组的各标签与不同的核碱基是相关的,例如,第一标签是与腺嘌呤(A)相关,第二标签是与胞嘧啶(C)相关,第三标签是与鸟嘌呤(G)相关,第四标签是与胸腺嘧啶(T)相关。此外,该组的标签中的每个荧光标记具有不同的特性,这可用于将该组的第一标签与该组中的其它标签加以区分。因此,可利用这些可区分特性中的一个或多个来唯一地鉴定各标签。例如但不限于,可用于将一个标签与另一个标签加以区分的标签的特性可包括:响应于激发能量由标签所发出光的发射能量和/或波长、和/或激发特定标签的的激发光的波长和/或能量。在四个标志的组中区分标志唯一地鉴定与该标志相关的核碱基。

[0221] 发光标志可在它们所发出光的波长、它们所发出光的时间特征(例如,它们的发射延迟时间段)、和它们对激发能量(例如,它们吸收激发光子的概率) 的响应中有变化。因此,可基于对这些特性的检测对发光标志与其它发光标志进行鉴别或区分。这种鉴别或区分技术可单独地使用,或者以任何合适的组合使用。

[0222] 在一些实施方式中,在本申请中所描述的集成光检测器可以测量或区分发光寿命,例如荧光寿命。寿命测量是基于对一个或多个标志(例如,荧光分子)的激发、和测量在所发出发光中的时间变化。在标志达到激发状态后标志发出光子的概率随时间推移而指数地降低。概率降低的速率可以是标志的特征,并且对于不同的标志而言会是不同的。对由标志所发出光的时间特征的检测可允许相对于彼此的标志的鉴别和/或标志的区分。随时间推移发射光子的概率下降可用指数衰减函数$p(t)=e^{(-t/\tau)}$来表示,其中$p(t)$是在时间t光子发射的概率,τ是标记的时间参数。时间参数τ表示当标记发射光子的概率为某个值时在激发后的时间。时间参数τ是可不同于从其吸收和发射光谱特性的标记的一个特性。这种时间参数τ被称为标记的发光寿命、荧光寿命或者简单地被称为标记的"寿命"。

[0223] 图1-1绘制了用于具有不同寿命的两个标志的作为时间的函数的发出光子的概率。由概率曲线B所代表的标志具有相比由概率曲线A所代表标志的发射概率更快速地衰减的发射的概率。由概率曲线B代表的标志具有短于由概率曲线A所代表的标志的时间参数τ或寿命。在一些实施方式中,标志可具有在0.1-20ns范围内的寿命。然而,本文中所描述的技术并不局限于所使用标志的寿命。

[0224] 标志的寿命可用于在多于一个的标志中进行区分、和/或可用于鉴定标志。在一些实施方式中,可执行寿命测量,其中具有不同寿命的多个标志是由激发源所激发。作为一个

例子，分别具有0.5、1、2、和3纳秒的寿命的四个标志可由发出具有所选择波长(例如，635nm，通过举例)光的光源所激发。这些标志可基于对由标志所发出光的寿命进行测量而彼此鉴别或区别。

[0225] 寿命测量可采用通过对强度如何随时间推移而变化进行比较的相对强度测量，与绝对强度值相反。因此，寿命测量可避免绝对强度测量的一些困难。绝对强度测量可取决于所存在标志的浓度，并且会需要用于变化的标志浓度的校准步骤。相反，寿命测量对标志的浓度会是不敏感的。

[0226] 实施方式可利用任何合适的标志特征的组合将一组标志中的第一标志与相同组中的其它标志加以区分。例如，一些实施方式可仅利用来自标志的发射光的定时信息来鉴定标志。在这种实施方式中，在所选择标志组中的各标志具有与该组中的其它标志不同的发射寿命，并且发光标志都是由来自单激发源的光所激发。图1-2A示出了根据一个实施方式的来自四个发光标志的发射定时，其中这四个标志显示不同的平均发射寿命(τ)。标志被测量具有特定值的寿命的概率在本文中被成为标志的“发射定时”。来自第一发光标志的第一发射定时1-101具有具有在τ1处的寿命的峰值概率，来自第二发光标志的第二发射定时1-102具有具有在τ2处的寿命的的峰值概率，来自第三发光标志的第三发射定时1-103具有具有在τ3处的寿命的峰值概率，来自第四发光标志的第四发射定时1-104具有具有在τ4处的寿命的峰值概率。在此实施方式中，四个发光标志的寿命概率峰可具有满足关系τ1<τ2<τ3<τ4的任何合适的值。由于在特定发光标志的寿命中的略微变化，四个定时发射图形可以或者可以不重叠，如图1-2A中所示。在此实施方式中，四个标志各自最大程度地吸收来自激发源的光的激发波长是大致相同，但无需是这种情况。利用上述的标志组，四个不同的分子可用来自该标志组的各个标志加标记，这些标志可利用单个激发源激发，并且这些标志可以通过利用光学系统和传感器检测标志的发射寿命而相互区分。虽然图1-2A示出了四个不同的标志，但应当理解的是可使用任意合适数量的标志。

[0227] 其它实施方式可利用任何合适的标志特征的组合来确定在一组标志中的标志的特征。可使用的标志特征的例子包括但不限于：激发波长、发射波长、和发射寿命。来自相空间和各标志的标志特征的组合可表示为在此相空间内部的一个点。应对在一组标志内的标志进行选择，使得在该组内的各标志之间“距离”是充分地大以便检测机构可以将各标志与该组中的其它标志加以区分。例如，在一些实施方式中，可对一组标志进行选择，其中一个亚组的标志具有相同的发射波长，但具有不同的发射寿命和/或不同的激发波长。在其它实施方式中，可对一组标志进行选择，其中一个亚组的标志具有相同的发射寿命，但具有不同的发射波长和/或不同的激发波长。在其它实施方式中，可对一组标志进行选择，其中一个亚组的标志具有相同的激发波长，但具有不同的发射波长和/或不同的发射寿命。

[0228] 例如但不限于，图1-2B示出了根据一个实施方式的来自四个发光标志的发射光谱，其中两个标志具有第一峰值发射波长并且其它两个标志具有第二峰值发射波长。来自第一发光标志的第一发射光谱1-105具有在λ1处的峰值发射波长，来自第二发光标志的第二发射光谱1-106也具有在λ1处的峰值发射波长，来自第三发光标志的第三发射光谱1-107具有在λ2处的峰值发射波长，来自第四发光标志的第四发射光谱1-108也具有在λ2处的峰值发射波长。在此实施方式中，四个发光标志的发射峰可具有满足关系λ1<λ2的任何合适的值。在例如其中多于一个发光标志的峰值发射波长是相同的实施方式中，具有相同发射波

长的各标志的单独特征必须是不同的。例如，在λ1处发光的两个标志可具有不同的发射寿命。图1-3A示意性地示出了在利用发射波长和发射寿命而划分的相空间中的这种情况。第一标志具有发射波长λ1和发射寿命τ1，第二标志具有发射波长λ1和发射寿命τ4，第三标志具有发射波长λ2和发射寿命τ1，第四标志具有发射波长λ2和发射寿命τ4。因此，在图1-3A中所示标志组中的所有四个标志可相互区分。使用这种标志组允许在四个标志之间进行区分，甚至当四个标志的吸收波长是相同时。能够使用可以对光致发光的发射的时间以及发射波长进行检测的传感器。

[0229] 例如但不限于，图1-2C示出了根据另一个实施方式的来自四个发光标志的吸收光谱。在此实施方式中，两个标志具有第一峰值吸收波长并且其它两个标志具有第二峰值吸收波长。第一发光标志的第一吸收光谱1-109具有在λ3 处的峰值吸收波长，第二发光标志的第二吸收光谱1-110具有在λ4处的峰值吸收波长，第三发光标志的第三吸收光谱1-111具有在λ3处的峰值吸收波长，第四发光标志的第四吸收光谱1-112具有在λ4处的峰值吸收波长。应注意，在图1-2C中共有共同吸收峰值波长的标志可利用另一个其它标志特征(例如发射寿命)加以区分。图1-3B示意性地示出了在由吸收波长和发射寿命所划分的相空间中的这种情况。第一标志具有吸收波长λ3和发射寿命τ1，第二标志具有吸收波长λ3和发射寿命τ4，第三标志具有吸收波长λ4和发射寿命τ1，第四标志具有吸收波长λ4和发射寿命τ4。因此，在图1-3A中所示该标志组中的所有四个标志可相互区分。

[0230] 使用这种标志组允许在四个标志之间进行区分，甚至当这四个标志的发射波长是不可区分时。能够使用在不同波长处发射的两个激发源或能够在多个波长处发射的单激发源，连同可以检测光致发光的发射时间的传感器。如果用于各检测发射事件激的发光的波长是已知的，那么可以确定哪个标志存在。激发源可在第一激发波长和第二激发波长之间变换，这被称为交错。可替代地，可使用两个或更多的第一激发波长的脉冲，接着使用两个或更多的第二激发波长的脉冲。

[0231] 用于区分标志的激发源或激发波长的数量并不限于两个，在一些实施方式中可利用多于两个的激发波长或能量来区分标志。在这种实施方式中，可利用响应于多个激发波长所发出光子的强度或数量来区分标志。通过检测响应于使标志暴露于某个激发波长所发出光子的数量，可在多个标志中区分一个标志。在一些实施方式中，标志通过在一个时间用多种激发能量的一种照射标志并鉴定来自多种激发能量的其中标志发出最高数量光子的激发能量而加以鉴别。在其它实施方式中，可利用响应于不同激发能量从标志中所发出光子的数量来鉴定标志。具有响应于高于第二激发能量的第一激发能量发出光子概率的第一标志可与具有响应于高于第一激发能量的第二激发能量发出光子的概率的第二标志加以区分。这样，具有响应于不同激发能量而发出特定量光子的可区分的概率的标志可通过使未知标志暴露于不同的激发能量的同时测量发出的光子而加以鉴别。在这种实施方式中，可使标志暴露于多种激发能量并且标志的鉴别可通过确定该标志是否发出任何光和/或特定数量的发出光子而实现。可使用任意合适数量的激发能量源。在一些实施方式中，可利用四种不同的激发能量在不同的标志(例如，四个不同标志)中加以鉴别。在一些实施方式中，可利用三种不同的激发能量在不同的标志中加以鉴别。可结合响应于不同激发能量所发出光子的量(包括发射寿命和发射光谱)并利用标志的其它特征来区分标志的存在。

[0232] 在其它实施方式中，在标志组中标志的多于两个的特征可用于区分哪个标志存

在。图1-4示出了利用各标志的吸收波长、发射波长和发射寿命进行划分的说明性的相空间。在图1-4中，将八个不同的标志分布在相空间中。八个标志中的四个标志具有相同的发射波长，不同的四个标志具有相同的吸收波长并且不同的四个标志具有相同的发射寿命。然而，当考虑标志的所有三个特征时，可将每个标志与从每个其它标志加以区分。实施方式并不限于任意数量的标志。此概念可以延伸至包括可利用至少这三个标志特征而相互区分的任意数量的标志。

[0233] 虽然在附图中未示出，其它实施方式可单独地基于吸收频率来确定发光标志的特征。如果可以将激发光调整到与标志组中的各标志的吸收光谱相匹配的特定波长，那么这种实施方式是可行的。在这种实施方式中，用于引导并检测从各标志中所发出光的光学系统和传感器无需能够检测所发出光的波长。在一些实施方式中这会是有利的，因为它降低了光学系统和传感器的复杂性，因为在这种实施方式中不要求检测发射波长。

[0234] 如上所述，本发明人已认识并意识到能够利用各标志的各种特征而相互区分不同发光标志的需要。用于确定标志特征的各特征的类型影响到用于执行此分析的物理装置。本申请公开了用于执行这些不同实验的器械、装置、仪器和方法的若干实施方式。

[0235] 本发明人已认识并意识到，可结合包括激发源的仪器而使用包括光学部件和传感器的低成本一次使用用后丢弃的集成装置来测量用于给生物样品加标签的一个或多个标志中所发出光的不同特征，从而对该样品进行分析。使用低成本集成装置可降低执行给定的生物测定的成本。将生物样品置于集成装置上，当生物测定完成时可将该生物样品丢弃。集成装置与可与许多不同的一次性使用集成装置一起重复使用的更高价的多次使用仪器相互作用。可在世界上的任何地方使用与紧凑型便携式仪器相互作用的低成本集成装置，没有要求具备实验室专业技能进行分析样品的高成本生物实验室的约束。因此，可将自动化生物分析带到以前不能执行生物样品的定量分析的地区。例如，可通过如下方法来执行婴儿的验血：将血液样品置于一次性使用的集成装置上，将一次性使用的集成装置于小的便携式仪器中加以分析，和利用连接到仪器的计算机对结果进行处理以便用户立即查看。也可将数据在数据网络上传递至远程位置进行分析，并且/或者存档用于以后的临床分析。可替代地，仪器可包括用于对从集成装置的传感器中所获取的数据进行分析的一个或多个处理器。

[0236] 下面更详细地描述各种实施方式。

[0237] I.系统的概略图

[0238] 系统包括集成装置和用于与集成装置相互作用的仪器。该集成装置包括像素的阵列，其中一个像素包括一个样品阱和至少一个传感器。集成装置的表面具有多个样品阱，其中样品阱是用于接受来自置于集成装置的表面上的试样的样品。一个试样可包含多个样品，并且在一些实施方式中不同类型的样品。多个样品阱可被设计成使得至少一部分的样品阱是用于接受来自试样的一个样品。在一些实施方式中，可将在样品阱内部的这些数量的样品分配在各样品阱中，使得一些样品阱容纳一个样品而其它样品阱容纳零、两个以上的样品。例如，试样可包含多个单链DNA模板，并且在集成装置的表面上的样品阱可接收单链DNA模板。集成装置的至少一部分的样品阱可容纳单链DNA 模板。试样也可容纳加标签的dNTP，该加标签的dNTP然后进入样品阱并且当把它掺入DNA的互补链时可允许鉴别核苷酸。在这种实例中，“样品”可指代现在利用聚合酶被掺入的单链DNA和加标签dNTP两者。在一些

实施方式中，试样可包含单链DNA模板，随后当把核苷酸掺入在样品阱内部的DNA 的互补链时可将加标签dNTPS导入样品阱。这样，当把加标签dNTP导入集成装置的样品阱时，可对核苷酸掺入的定时加以控制。

[0239] 从位于与集成装置的像素阵列分离位置的激发源中提供激发能量。利用集成装置的元件将激发能量至少部分地朝向一个或多个像素引导以便对在样品阱内部的照射区域进行照射。然后，当位于照射区域内部并响应于被激发能量照射时，标志或标签可发出发射能量。在一些实施方式中，一个或多个激发源是系统的仪器的一部分，其中仪器和集成装置的各部件是用于朝向一个或多个像素引导激发能量。在其它实施方式中，一个或多个激发源位于集成装置上但位于来自像素的阵列的单独的区域中，并且集成装置中的各部件是用于将激发能量从激发源区引导至一个或多个像素。

[0240] 然后，可利用在集成装置的一个像素内部的一个或多个传感器，对由样品发出的发射能量进行检测。在一些实施方式中，多个传感器的尺寸被设计并布置成俘获发射能量的空间分布。在一些实施方式中，一个或多个传感器可用于检测与样品的发射能量相关的定时特征(例如，荧光寿命)。然后，可利用来自一个或多个传感器的输出信号将一个标志从多个标志中加以区分，其中多个标志可用于鉴定在试样内部的样品。在一些实施方式中，可利用多种激发能量来激发样品，并且响应于多种激发能量由样品所发出发射的发射能量和/或定时特征可将一个标志从多个标志中加以区分。

[0241] 将系统2-100的示意性概略图示于图2-1A和图2-1B。该系统包括与仪器 2-104相互作用的两个集成装置2-102。在一些实施方式中，仪器2-104可包括一个或多个激发源2-106。在一些实施方式中，激发源可在仪器2-104和集成装置2-102两者的外部，仪器2-104可构造成接收来自激发源的激发能量并将激发能量引导至集成装置。集成装置利用接受集成装置并将其保持在与激发源精确光学对准的任何合适的插座而与仪器相互连接。激发源2-106可用于将激发能量提供给集成装置2-102。尽管在图2-1B中将激发源图示为位于仪器上，但在一些情况下该激发源也可在与像素分离的区域中位于集成装置上。正如在图2-1B示意性地示出，集成装置2-102具有多个像素，其中各像素2-112能够对样品进行独立分析。这种像素2-112可被称为“无源像素”，因为像素接收来自与像素分离的激发源2-106的激发能量，其中该激发源激发多个像素。各像素2-112具有用于保持和分析样品的样品阱2-108、和用于检测响应于由激发源2-106所提供的激发能量照射样品而由样品所发出的发射能量的传感器2-110。在一些实施方式中，各传感器2-110可包括多个子传感器，各子传感器是用于检测来自样品的不同波长的发射能量。

[0242] 用于将激发能量引导并耦合至样品阱2-108的光学元件是位于集成装置 2-102和仪器2-104两者上。这种源到阱元件可包括：位于集成装置2-102上用于将激发能量耦合到集成装置的光栅耦合器、用于将激发能量输送至各像素2-112的波导、和透镜、在集成装置上的等离激元元件、和用于将从仪器2- 104中所接收的激发能量引导至样品阱2-108的介电涂层。此外，位于集成装置上的光学元件将发射能量从样品阱朝向传感器引导。这种阱到样品元件可包括将发射能量引导入辐射图案的部件，其中辐射图案取决于由在样品阱中的样品所发出的发射能量。样品阱2-108、一部分的激发源-到阱光学部件、和样品阱-到-传感器光学部件是位于集成装置2-102上。激发源2-106和一部分的激发源-到-阱的部件是位于仪器2-104中。在一些实施方式中，单个部件可在将激发能量耦合到样品阱2-108和将来自

样品阱2-108的发射能量传递至传感器2-110中发挥作用。

[0243] 如图2-1B中所示,集成装置包括多个像素,各像素2-112与其自己的单独样品阱2-108和传感器2-110是相关的。可将多个像素布置在一个阵列中,并且可存在任何合适数量的像素。例如,集成装置2-102根据一些实施方式可包括在100和1,000之间的像素,根据一些实施方式在1,000和10,000之间的像素,根据一些实施方式在10,000和100,000之间的像素,根据一些实施方式在100,000和1,000,000之间的像素,根据一些实施方式在1,000,000和 10,000,000之间的像素。在一些实施例中,在集成装置2-102上可存在更少或更多的像素。集成装置2-102和仪器2-104可包括多通道高速通信链路,用于处理与大像素阵列(例如,多于1000个像素)相关的数据。

[0244] 激发源2-106可以是布置成将激发能量输送到至少一个样品阱的任何合适的激发源。在一些实施方式中,一个或多个激发源的阵列是位于与在相同的集成装置上的像素阵列相邻的位置。在其它实施方式中,一个或多个激发源是在被安装在非常靠近衬底的位置的第二衬底上,在衬底上形成像素阵列。

[0245] 仪器2-104经过集成装置接口2-114与集成装置2-102相互连接。集成装置接口2-114可包括将集成装置2-102定位和/或对准到仪器2-104用以改进激发能量从激发源2-106到集成装置2-102的耦合的各部件。在一些实施方式中,激发源2-106包括多个激发源,将这些激发源加以组合以便将激发能量输送至集成装置2-102。多个激发源可用于产生多种激发能量或波长。集成装置接口2-114可接收来自在位于集成装置上的像素中的传感器的读出信号。此外,集成装置接口2-114可被设计成使得通过将集成装置固定到集成装置接口2-114而将集成装置附接到仪器。

[0246] 仪器2-104包括用于控制仪器2-104的操作的用户界面2-116。该用户界面2-116是用于允许用户将例如用于控制仪器的运行的命令和/或设置的信息输入仪器。在一些实施方式中,用户界面2-116可包括按键、开关、表盘、和用于语音命令的传声器。此外,用户界面2-116可允许用户接收关于仪器和/ 或集成装置的性能的反馈(例如正确的对准)、和/或基于来自在集成装置上的传感器的读出信号所获得的信息。在一些实施方式中,用户界面2-116可利用扬声器来提供用于提供听觉反馈的反馈、和用于提供视觉反馈的指示灯和/或显示屏。在一些实施方式中,仪器2-104包括用于与计算装置2-120连接的计算机接口2-118。可使用任何合适的计算机接口2-118和计算装置2-120。例如,计算机接口2-118可以是USB接口或火线接口。计算装置2-120可以是任何通用计算机,例如笔记本电脑或桌上计算机。计算机接口2-118促成仪器 2-104与计算装置2-120之间的信息通信。用于控制和/或设置仪器2-104的输入信息可经过连接到仪器的计算机接口2-118的计算装置2-120而提供。此外,可经过计算机接口2-118由计算装置2-120接收输出信息。这种输出信息可包括关于仪器2-104和/或集成装置2-112的性能的反馈、和基于传感器2- 110的读出信号的信息。仪器2-104也可包括用于对从传感器2-110中所接收的数据进行分析和/或将控制信号发送至激发源2-106的处理装置2-122。在一些实施方式中,处理装置2-122可包括通用处理器、专业处理器(例如,中央处理单元(CPU)例如一个或多个微理器或微控制器核、现场可编程门阵列 (FPGA)、专用集成电路(ASIC)、定制集成电路、数字信号处理器(DSP)、或者其组合)。在一些实施方式中,对来自传感器2-110的数据的处理可由处理装置2-122和外部计算装置2-120两者执行。在其它实施方式中,可将计算装置 2-120省略并且对来自传感器2-110的数

据的处理可仅由处理装置2-122执行。

[0247] 将图示一排像素的集成装置3-102的截面示意图示于图3-1A。各像素3- 112包括样品阱3-108和传感器3-110。可将传感器3-110对于样品阱3-112对准并定位。当激发源被耦合到集成装置时，将激发能量提供给一个或多个像素。图3-1B是图示说明将激发源3-106耦合到集成装置3-102的示意图。在集成装置3-102中，激发源3-106提供集成装置3-102中的激发能量3-130(用虚线表示)。图3-1B示出了在像素3-112中从激发能量源3-106到样品阱3- 108的激发能量的路径。位于与集成装置分离位置的部件可用于将激发源3- 106定位并对准到集成装置。这种部件可包括光学部件，包括透镜、反射镜、棱镜、孔、衰减器、和/或光纤。其它机械部件可包括在仪器中，从而允许对一个或多个对准部件的控制。这种机械部件可包括致动器、步进电机、和/或旋钮。集成装置包括将激发能量3-130朝向集成装置中的像素引导的部件。在各像素3-112内部，将激发能量耦合到与该像素相关的样品阱3-108。尽管图 3-1B示出了在一排像素中向各样品阱的激发能量耦合，但在一些实施方式中，激发能量可以不耦合到在这排中的全部像素。在一些实施方式中，激发能量可耦合到在集成装置的一排像素中的一部分的像素或样品阱。激发能量可照射位于样品阱内部的样品。样品可响应于被激发能量照射而达到激发状态。当样品处于激发状态时，样品可发出发射能量，并且可利用传感器对发射能量进行检测。图3-1B示意性地示出了从样品阱3-108到像素3-112的传感器3-110 的发射能量3-140的路径(图示为实线)。在像素3-112中的传感器3-110可构造并定位成检测来自样品阱3-108的发射能量。在一些实施方式中，传感器3- 110可包括一个或多个子传感器。

[0248] 可将要被分析的样品导入像素3-112的样品阱3-108中。该样品可以是生物样品或任何其它合适的样品，例如化学样品。该样品可包括多个分子，并且样品阱可用于分离单分子。在一些情况下，样品阱的尺寸的作用可以是将单分子限制在样品阱内部，从而允许对单分子进行测量。激发源3-106可用于将激发能量输送入样品阱3-108，从而当样品是在样品阱3-108内部的激发区内部时激发样品或附接到样品或者与样品相联的至少一个发光标志。在多个分子的样品中，发光标志的类型可唯一地与一个分子类型相关。在激发期间或之后，发光标志可发出发射能量。当使用多个标志时，它们可在不同的特征能量处发光。在一些实施方式中，多个标志可具有不同的特征寿命。此外，多个标志可响应于多种激发能量而不同。用于样品的标志可利用它们的激发响应、特征能量或波长、和/或特征寿命而加以区分。来自样品的发射可从样品阱3- 108辐射到传感器3-110。

[0249] 各部件可使发射能量朝向传感器集中，此外或者可替代地，在空间上分离具有各特征能量或波长的发射能量。可以任何合适的方式将从激发源3-106中发出的激发能量朝向样品阱3-108引导，并且用于激发被接受在样品阱3-108 中的至少一个样品。根据一些实施方式，激发源3-106可激发可发光的样品。该激发源可一个或多种激发能量提供给样品阱3-108。在一些实施例中，激发源3-106可激发响应于激发而发光或发出能量并且附接到样品或与样品相关的的一个或多个标志。可将基于激发所发出的发光或所形成的能量引导至传感器3-110，该传感器3-110可用于检测所接收发射的强度和/或定时。发光的非限制性例子是光致发光、荧光和磷光。

[0250] 在一些实施方式中，集成装置可包括各部件将发射能量引导入取决于发射能量的光谱范围的辐射图案。传感器或含有多个子传感器的传感器区可检测取决于辐射图案的发

射能量的空间分布。发出不同发射能量和/或光谱范围的标志可形成不同的辐射图案。传感器或传感器区可检测关于发射能量的空间分布的信息，该发射能量可以用于鉴定多个标志中的一个标志。

[0251] 一种或多种发射能量可由传感器进行检测并且转换成至少一个电信号。电信号可沿在经过集成装置接口(例如图2-1B中所示的仪器2-104的集成装置接口2-114)连接到仪器的集成装置的电路中的导线而传递。随后，可对这些电信号进行处理和/或分析。对电信号的处理或分析可在位于仪器2-104上或离开仪器的合适的计算装置(例如在图2-1B中所示的计算装置2-120上)进行。

[0252] 集成装置2-210可以是如图2-2中所示。可将电子、光学和相关结构全部并入到单个衬底2-200上。集成装置可包括像素2-205的阵列、和集成电子电路。集成电子电路可包括被耦合到像素阵列的传感器的驱动与读出电路2-215、和信号处理电路。信号处理电路可包括模拟-数字转换器2-217、和一个或多个现场可编程门阵列和/或数字信号处理器2-219。一些实施方式可具有更多的电路部件，并且一些实施方式可具有集成于衬底上的较少的电路部件。尽管在图2-2中集成装置的各部件被图示在单水平面上，但可将这些部件制造在在衬底2-200上的多个水平面上。

[0253] 在一些实施方式中，可存在位于集成装置上的光学元件(未图示)，该光学元件是布置用于将激发能量从一个或多个激发源引导并耦合至样品阱。这种激发源-到-阱元件可包括位于与样品阱相邻位置的等离激元结构和其它微加工结构。此外，在一些实施方式中，可存在用于将来自样品阱的发射能量引导至相应的传感器的位于集成装置上的光学元件。这种阱-到-样品元件可包括位于与样品阱相邻位置的等离激元结构和其它微加工结构。在一些实施方式中，单个部件可在将激发能量耦合到样品阱和将来自样品阱的发射能量输送至相应的传感器两种情况下发挥作用。

[0254] 在一些实施例中，集成装置可包括多于一种类型的用于激发在样品阱处的样品的激发源。例如，可存在用于产生激发样品的多种激发能量或波长的多个激发源。在一些实施方式中，单激发源发出可用于发出激发样品阱中的样品的多个波长。在一些实施方式中，在集成装置的一个像素处的各传感器可包括用于检测来自样品的不同发射能量特征的多个子传感器。

[0255] 在操作中，对样品阱内部的样品的并行分析是通过用激发源激发阱内部的样品并且用传感器检测来自样品发射的信号而执行。来自样品的发射能量可由相应的传感器进行检测并且转换成至少一个电信号。在一些实施方式中可在集成装置上对所形成的一个或多个信号进行处理，或者传递至仪器由处理装置和/或计算装置进行处理。可独立于与其它像素相关的信号，接收并处理来自样品阱的信号。

[0256] 当激发源将激发能量输送至样品阱时，在阱内部的至少一个样品可发冷光，并且可由传感器对所形成的发射进行检测。本文中所使用的短语“样品可发冷光”或“样品可发出辐射”或“来自样品的发射”表示荧光标记、标志、或报道基因、样品本身、或与样品相关的反应产物可产生所发出的辐射。

[0257] 在一些实施方式中，可用一个或多个标志给样品加标记，并且可利用仪器来区分与标志相关的发射。例如，传感器可用于将来自发射能量的光子转换成电子从而形成可用于区分依赖于来自特定标志的发射能量的寿命的电信号。通过使用用具有不同寿命标志给

样品加标签，可基于由传感器所检测的所形成的电信号来鉴别特定的样品。在一些实施方式中，集成装置的各部件可影响来自样品阱的发射从而产生取决于发射波长的空间发射分布图案。用于样品阱的相应的传感器可用于检测来自样品阱的空间分布图案并且产生在不同发射波长之间有所区别的信号，如下面更详细地描述。

[0258] II.集成装置

[0259] 集成装置可用于接收来自外部激发能量源的激发能量。在一些实施方式中，装置一个区域可用于耦合到位于远离集成装置位置的激发能量源。集成装置的各部件可将激发能量从激发源耦合区引导到至少一个像素。在一些实施方式中，至少一个波导可用于将激发能量输送到至少一个具有样品阱的像素。位于样品阱内部的样品可响应于用激发能量照射而发出发射能量。位于像素内部的一个或多个传感器是用于接收发射能量。

[0260] 根据一些实施方式，在图3-2中所示的集成装置3-200的部件和/或层包括被集成进入一个装置的样品阱3-203、波导3-220、和传感器3-275。样品阱 3-203可形成于集成装置3-200的样品阱层3-201中。在一些实施方式中，样品阱层3-201可以是金属。样品阱3-203可具有可表示样品阱的截面尺寸的尺寸D_{tv}。样品阱3-203可起纳米孔的作用并且具有导致增加样品阱3-203中样品的激发强度的场增强效应的一个或多个亚波长尺寸。波导3-220是用于将来自位于远离集成3-200位置的激发源3-230的激发能量输送至样品阱3-203。波导3-220可形成于在样品阱层3-201和传感器3-275之间的层中。集成装置 3-200的设计允许传感器3-275收集从在样品阱3-203中的样品中发出的发光。在至少部分的时间，样品吸收激发能量并发出具有小于激发能量的能量的光子，这被称为发射能量或发光。

[0261] 在集成装置3-200上具有样品阱3-203和传感器3-275，由此可减小光从样品阱3-203行进到传感器3-215的光学距离。在集成装置内部的集成装置3- 200或部件的尺寸可用于某个光学距离。装置的各部件和/或一层或多层的材料的光学特性可确定在样品阱与传感器之间的光学距离。在一些实施方式中，一层或多层的厚度可确定在一个像素中样品阱与传感器之间的光学距离。此外或可替代地，构成一层或多层的集成装置3-200的材料的折射率可决定在一个像素中样品阱3-203与传感器3-275之间光学距离。在一个像素中在样品阱与传感器之间的这种光学距离可以是小于1mm、小于100微米、小于25 微米、和/或小于10微米。一层或多层可存在于样品阱层3-201和波导层3- 220之间，用以改进激发能量从波导3-220向样品阱3-203的耦合。尽管在图 3-2中所示的集成装置3-200仅显示单层3-210，但在样品阱3-203和波导3- 220之间可形成多层。层3-210可形成具有用以改进激发能量从波导3-220到样品阱3-203的耦合的光学特性。层3-210可用于减少激发能量的散射/或吸收和/或增加来自样品阱3-203中的样品的发光。根据一些实施方式，层3-210 可以是光学透明的，以便光可在有很少衰减的情况下行进到样品阱3-203和从样品阱3-203中行进出。在一些实施方式中，可利用介电材料形成层3-210。在一些实施方式中，可提供在层3-210内部和/或在层3-210与样品阱层3-201 之间界面处的激发能量耦合部件，用以改进激发能量从波导3-220向样品阱 3-203的耦合。作为一个例子，形成于在样品阱层3-201与层3-210之间的接口处的能量采集部件3-215可用于改进激发能量从波导3-220到样品阱3-203 的耦合。能量采集部件3-215是任选的，并且在一些实施方式中，波导3-220 和样品阱3-203的构造可允许在激发能量采集部件3-215不存在情况下的充分的耦合激发能量。

[0262] 可以多种方式将从在样品阱3-203中的样品中所发出的发光或能量传递至传感器

3-275，下面更详细地描述其一些例子。一些实施方式可利用光学部件来增加将特定波长光引导至传感器3-275专用于检测该特定波长光的区域或部分的可能性。传感器3-275可包括用于同时地检测可与来自不同发光标志的发射相对应的不同波长光的多个部分。

[0263] 在样品阱3-203与传感器3-275之间可存在可用于改进来自样品阱3-203 的发光向传感器3-275的采集的一层或多层。发光引导部件可位于在样品阱层3-201与层3-210之间的接口处。能量采集部件3-215可将发射能量朝向传感器3-275集中，此外或者可替代地可在空间上分离具有不同特征能量或波长的发射能量。这种能量采集部件3-215可包括用于朝向传感器3-275引导发光的光栅结构。在一些实施方式中，该光栅结构可以是一系列的同心环或“牛眼”光栅结构构造。同心圆光栅可从样品阱层3-201的底表面突出。这些圆光栅可起等离激元元件的作用，该等离激元元件可用于减小信号光的扩散和朝向相关的传感器3-275引导信号光。这种牛眼光栅可更高效地朝向传感器3- 275引导发光。

[0264] 可在与波导相邻的位置形成层3-225。可对层3-225的光学特性进行选择以改进从样品阱向传感器3-275的发光采集。在一些实施方式中，层3-225可以是介电材料。可在样品阱层3-201与传感器3-275之间形成挡板。挡板3- 240可构造成使得传感器3-275接收与样品阱3-203相对应的发光并且减小从其它样品阱中的发光、和反射/散射的激发。滤光元件3-260可定位并构造成减少激发能量到达传感器3-275。在一些实施方式中，滤光元件3-260可包括滤光器，该滤光器选择性地传递用于给样品加标签的一个或多个标志的发射能量。在使用样品阱阵列和传感器阵列并且其中各样品阱具有相应的传感器的实施方式中，可形成与各样品阱相对应的挡板以减少来自其它样品阱的发光和反射和/或散射与样品阱相对应的传感器所收集的激发光。

[0265] 可在波导3-220与传感器3-275之间形成一层或多层，以减小激发能量向传感器的传输。在一些实施方式中，可在波导3-220与传感器3-275之间形成滤光元件。这种滤光元件可用于减少激发能量向传感器3-275的传输同时允许来自样品阱的发光被传感器3-275收集。

[0266] 一种或多种发射能量可由传感器3-275检测并且转换成至少一个电信号。一个或多个电信号可沿一行或多行或一列或多列的导线(未图示)被传递至在衬底3-200上的集成电子电路，用于随后的信号处理。

[0267] 上面对图3-2的描述是根据一些实施方式装置的部分的部件的概略图。在一些实施方式中，图3-2的一个或多个元件可以不存在或者不同的位置。下面更详细地描述集成装置3-200和激发源3-230的各部件。

[0268] A.激发源耦合区

[0269] 集成装置可具有激发源耦合区用于与外部激发能量源耦合并且朝向集成装置的像素区中的至少一个像素引导激发。激发源耦合区可包括用于将光耦合进入至少一个波导的一个或多个结构。可采用用于将激发能量耦合进入波导的任何合适机制。

[0270] 在一些实施方式中，来自外部激发源的激发能量可通过边缘耦合耦合到集成装置的波导。集成装置的边缘可包括波导的一端，使得位于靠近波导的该端部的外部激发源可将光耦合进入波导。在这种实施方式中，激发源耦合区的制造可包括将波导的一端定位在集成装置的边缘处。图4-1A示出了边缘耦合的一个实例。用于传播激发能量的光纤4-106是位于靠近集成装置4-102的边缘，其中集成装置4-102的波导4-104的一端是位于该边缘处，

使得光纤4- 106可将光耦合进入波导4-104。在这种实施方式中，对光纤4-106或其它激发源与波导4-104的对准进行监测可以提高由光纤提供给波导的光的量。

[0271] 在一些实施方式中，棱镜可将光耦合到波导。可由棱镜引导并折射光从而与传播波导模式的光学相位频率相匹配。可对用于棱镜的材料的折射率进行选择，以改进与波导的耦合。在一些情况下，棱镜具有相对于波导较高的折射率和较窄的缝隙。在其它实施方式中，光可直接地耦合到波导的一端。可对集成装置的边缘充分地抛光从而允许光向波导的聚焦和对准。

[0272] 集成装置的激发源耦合区可包括用于与外部激发源耦合的结构部件。集成装置可包括用于与外部激发源耦合的光栅耦合器，该光栅耦合器是位于紧邻集成装置的表面且朝向集成装置的至少一个波导引导光。光栅耦合器的特征，例如尺寸、形状、和/或光栅构造可形成用于改进激发能量从激发源向波导的耦合。光栅耦合器可包括一个或多个结构部件，其中在各结构部件之间的间距可起传播光的作用。一个或多个尺寸光栅耦合器可提供具有某个特征波长的光的理想的耦合。

[0273] 集成装置也可包括波导，该波导具有在波导的一端的锥形区。波导的垂直于光在波导中传播方向的一个或多个尺寸在波导的一端可以是较大的，从而形成波导的锥形区。在一些实施方式中，波导的锥形区可具有垂直于光传播且平行于集成装置表面的尺寸，该尺寸在波导的一端较大并且沿波导的长度变得较小。在包括光栅耦合器的实施方式中，锥形区可以位于靠近光栅耦合器的位置，使得锥形区的较大端位于最靠近光栅耦合器。锥形区的尺寸和和形状可以被设计成通过扩张波导的一个或多个尺寸而改进光在光栅耦合器与波导之间的耦合从而允许改进的与光栅耦合器的波导的模式重叠。这样，位于紧邻集成装置表面的激发源可利用光栅耦合器将光耦合进入波导。这种光栅耦合器与波导锥形结构的组合可允许在激发源与集成装置的对准和定位中有更多的公差。

[0274] 将具有光栅耦合器和带锥形区的波导的一个示例性集成装置示于图4-1B。集成装置4-100具有包括带锥形区4-114和光栅耦合器4-116的波导的激发源耦合区。锥形区4-114具有平行于集成装置4-100的表面4-112且垂直于沿波导的光传播的较大尺寸的一端。锥形区4-114的端部的尺寸和形状可被设计成提供在光栅耦合器4-116与波导之间的合适的耦合。相对于光栅耦合器4- 116而定位的光纤4-120或其它合适的激发源可将激发能量耦合到波导。

[0275] 光栅耦合器可位于在集成装置的像素外部的集成装置的区域中。在集成装置的表面上，各像素的样品阱可占据与激发源耦合区分离的表面区域。位于靠近激发源耦合区表面的激发源可与光栅耦合器耦合。样品阱可以位于与激发源耦合区分离的位置，以减小来自激发源的光对像素性能的干扰。集成装置的光栅耦合器可形成于包括波导的集成装置的一层或多层的内部。这样，集成装置的激发源耦合区可包括在集成装置的与波导相同的平面内的光栅耦合器。光栅耦合器可构造成用于特定组的光束参数，包括入射激发能量的光束宽度、入射角、和/或偏振。

[0276] 将集成装置4-200的剖视图示于图4-2。集成装置4-200包括形成于集成装置4-200的层4-223中的至少一个样品阱4-222。集成装置4-200包括形成于集成装置4-200大致相同平面中的光栅耦合器4-216和波导4-220。在一些实施方式中，光栅耦合器4-216和波导4-220是由集成装置4-200的相同层所形成，并且可包含相同的材料。集成装置4-200的激发源

耦合区4-201包括光栅耦合器4-216。如图4-2中所示，样品阱4-222位于在激发源耦合区4-201 外部的集成装置4-200的表面上。相对于集成装置4-200而定位的激发源4- 214可提供入射到在激发源耦合区4-201内的集成装置4-200的表面4-215上的激发能量。通过将光栅耦合器4-216定位在激发源耦合区4-201内部，光栅耦合器4-216可与来自激发源4-214的激发能量耦合并且将激发能量耦合至波导4-220。波导4-220是用于将激发能量传播到一个或多个样品阱4-222的附近。

[0277] 光栅耦合器可由一种或多种材料构成。在一些实施方式中，光栅耦合器可包括沿平行于在波导中的光传播方向的不同材料的交替区域。如图4-2中所示，光栅耦合器4-216包括被材料4-224所包围的结构。构成光栅耦合器的一种或多种材料可具有适合于耦合和传播光的一个或多个折射率。在一些实施方式中，光栅耦合器可包括由具有被较大折射率材料包围的一种材料所构成的结构。作为一个例子，光栅耦合器可包括由氮化硅所构成且被二氧化硅包围的结构。

[0278] 任何合适的尺寸和/或栅线间距可用于形成光栅耦合器。光栅耦合器4-216 可具有大约50nm、大约100nm、大约150nm、或大约200nm的垂直于经过波导的光传播(例如沿y-方向)的尺寸，如图4-2中所示。沿平行于光在波导中传播方向(例如沿z-方向)的在光栅耦合器的各结构之间的间距，如所示图4-2 中所示，可具有任何合适的距离。栅线间距可以是大约300nm、大约350nm、大约400nm、大约420nm、大约450nm、或大约500nm。在一些实施方式中，在光栅耦合器内部栅线间距是可变的。光栅耦合器4-216可具有大致平行于集成装置4-200的表面4-215的一个或多个尺寸，该尺寸为与外部激发源4- 214的耦合提供合适的面积。光栅耦合器4-216的该区域可与来自激发源4- 214的光束的一个或多个尺寸相一致，使得光束与光栅耦合器4-215重叠。光栅耦合器可具有用于大约10微米、大约20微米、大约30微米、或大约40 微米的光束直径的区域。

[0279] 将集成装置的示例性激发源耦合区的一部分的剖视图示于图4-3A中。激发源耦合区包括光栅耦合器4-326和反射层4-336，该反射层是用于通过光栅耦合器4-326朝向光栅耦合器4-326反射回激发光。光栅耦合器4-326可包括具有沿图4-3A中所示的z-方向的用Λ所代表的栅线间距的结构。这些结构可具有线性的、弯曲的、或任何其它合适的形状。在一些实施方式中，光栅耦合器4-326可具有类似于波导4-330的沿y-方向的尺寸，如在波导4-330任一侧上的箭头所代表。光栅耦合器4-326被区4-324所包围，并且构成光栅耦合器4-324和区4-324的各材料的组合可提供光向波导4-330的期望的耦合。波导4-330、光栅耦合器4-326、和/或包围材料4-324的折射率可影响激发能量向波导的耦合和激发能量向波导4-330的总耦合效率。集成装置的激发源耦合区可具有大于约50％的耦合效率。光栅耦合器4-326可用于激发能量4-314 的入射光束的一个或多个特征，包括特征波长、光束直径(用箭头代表)、和光束入射角(用θ代表)。光栅耦合器4-326可构造用于具有大约10微米、大约20微米、大约30微米、或大约40微米的光束直径的光束。光栅耦合器4-326 可构造成用于具有大约2度、大约5度、或大约7度的入射角的光束。光栅耦合器4-326可用于与某个偏振的激发能量耦合，例如TM或TE偏振光。

[0280] 将对利用光栅耦合器从光束进入波导的光耦合的模拟示于图4-3B。波导和光栅耦合器是沿z-轴大致位于y-轴的0点。光束是在相对于y-方向大约5 度的入射角，并且具有20微米的直径。此模拟中所使用的波导具有100nm的高度(沿y-方向)，并且定级耦合器具有

420nm的栅线间距。波导和光栅耦合器结构具有大约1.87的折射率。包围波导和光栅结构的材料具有大约1.45的折射率。图4-3B示出了耦合到光栅耦合器和波导的光束的光强度，并且用较暗的区示出了光在波导中的模式。

[0281] 一个或多个尺寸的波导的锥形区和锥形区与光栅耦合器的相对定位可提供激发能量进入波导的充分的耦合。锥形区的曲率和线性调频可适应入射激发能量向波导的传播的会聚和/或发散。将包括光栅耦合器4-316和锥形波导区4-318的示例性波导层的平面视图示于图4-3C。锥形波导区4-318具有垂直于光传播的尺寸并且在图4-3C的平面上从右向左逐渐地减小以便实现波导 4-320的尺寸。光栅耦合器4-316可具有适合于与外部激发源的耦合的在图4- 3C的平面内的区域。激发能量的光束与光栅耦合器4-316的对准使得光束大致与光栅耦合器4-316的该区域重叠从而改进激发能量进入波导4-320的耦合。锥形区4-318相对于光栅耦合器4-316的布置可提供合适的耦合效率。可对锥形区4-318与光栅耦合器4-316的角度进行选择，以便通过减小激发能量的损耗(因为垂直于光传播的波导的尺寸减小)而提高激发能量从激发源向波导4-320的耦合效率。

[0282] 集成装置可包括形成于光栅耦合器的与激发源相反的一侧上的一层用于反射光。该层可反射朝向光栅耦合器而通过光栅耦合器的激发能量。通过将该层包括在集成装置中，可提高激发能量向波导的耦合效率。反射层的一个例子是图4-2中所示集成装置4-200的层4-218、和图4-3A中所示的层4- 336。层4-218是位于集成装置4-200的激发源耦合区4-201的内部，并且是用于朝向光栅耦合器4-216反射光。层4-218是形成于靠近与来自激发源4- 214的入射激发能量相反的光栅耦合器4-216的一侧。将层4-218定位在集成装置4-200的像素外部可减小层4-218对各像素的性能的干扰。层4-218 可包含任何合适的材料。层4-218对于一个或多种激发能量基本上是反射的。在一些实施方式中，此层可包含Al、AlCu、和/或TiN。

[0283] B.波导

[0284] 集成装置可包括一个或多个波导，该波导是用于将期望量的激发能量输送至集成装置的一个或多个样品阱。波导是位于一个或多个样品阱的附近使得当激发能量沿波导传播时一部分的激发能量耦合到一个或多个样品阱。波导可将激发能量耦合到多个像素并且用作总线波导。例如，单个波导可将激发能量输送至集成装置的一行或一列像素。在一些实施方式中，可利用波导来传播具有多个特征波长的激发能量。集成装置的一个像素可包括其它结构(例如，微腔)用于将来自波导的激发能量朝向样品阱附近引导。在一些实施方式中，波导可承载具有用于延伸进入样品阱中和/或在样品阱附近区域中的倏逝波拖尾的光学模式。位于样品阱附近的其它能量耦合结构可将能量从倏逝波拖尾 (evanescent tail)耦合进入样品阱。

[0285] 集成装置的一个或多个尺寸的波导可提供激发能量沿波导和/或进入一个或多个样品阱的期望的传播。波导可具有垂直于光传播且平行于波导平面的尺寸，该尺寸可被视为截面宽度。波导可具有大约0.4微米、大约0.5微米、大约0.6微米、大约0.65微米、大约0.8微米、大约1微米、或大约1.2微米的截面宽度。波导可具有垂直于光传播且垂直于波导平面的尺寸，该尺寸可被视为截面高度。波导可具有大约0.05微米、大约0.1微米、大约0.15微米、大约0.16微米、大约0.17微米、大约0.2微米、或大约0.3微米的截面高度。在一些实施方式中，波导具有大于截面高度的截面宽度。波导可位于与集成装置中的一个或多个样品阱

相隔某个距离处，例如在图4-2中所示的在样品阱 4-222与波导4-220之间的距离D，该距离是大约0.3微米、0.5微米、或大约 0.7微米。

[0286] 在一个示例性实施方式中，波导可具有大约0.5μm的截面宽度和大约0.1 μm的截面高度，并且位于样品阱层下方大约0.5μm处。在另一个示例性实施方式中，波导可具有大约1μm的截面宽度和0.18μm的截面高度，并且位于在样品阱层下方0.3μm处。

[0287] 波导的尺寸可被设计成支持单横向辐射模式，或者尺寸可被设计成支持多横向辐射模式。在一些实施方式中，一个或多个尺寸的波导可起作用使得波导仅维持单横向模式并且可选择性地传播TE或TM偏振模式。在一些实施例中，波导可具有形成于其端部上的高反射部，以便它支持在波导内部的纵向驻波模式。通过支持一个模式，波导可具有减小的来自具有不同传播常数的各模式的交叉耦合的模式干扰效应。在一些实施方式中，高反射部包括单个高反射表面。在其它实施方式中，高反射部包括多个反射结构，这些结构共同地导致高反射率。波导可用于利用波导光分束器来划分具有较高输出强度的来自单激发源的激发能量，从而形成来自单激发源的多种激发能量光束。这种光分束器可包括倏逝波耦合机构。此外或可替代地，光子晶体可使用于波导结构中以改进激发能量的传播并且/或者使用于包围波导的材料以减小激发能量的散射。

[0288] 波导相对于在集成装置的一个像素中的其它部件的位置和布置可用于改进激发能量朝向样品阱的耦合，改进传感器对发射能量的采集，和/或减少由激发能量所导入的信号噪声。波导的尺寸可被设计成和/或相对于样品阱而定位从而减小在波导中传播的激发能量与从样品阱中所发出发射能量的干涉。波导在集成装置中的定位和布置可取决于波导的折射率和包围波导的材料。例如，垂直于沿波导的光传播方向且在波导平面内的波导的尺寸可减小以便当发射能量传播到像素的传感器时来自样品阱的大量发射能量通过波导。在一些实施例中，可对样品阱与波导之间的距离和/或波导厚度进行选择以减小来自在波导与包围材料之间的一个或多个接口的反射。根据一些实施方式，波导对发射能量的反射在一些实施方式中可减小至小于约5％，在一些实施方式中小于约2％，在一些实施方式中小于约1％。

[0289] 波导传播激发能量的能力可取决于用于波导的材料和包围波导的材料。这样，波导结构可包括芯材料(例如波导4-220)、和覆层材料(例如图4-2中所示的区4-224)。波导和包围材料两者的材料可允许具有特征波长的激发能量经过波导的传播。对于特定的折射率或折射率的组合而言，可对波导或包围材料的材料进行选择。波导材料可具有低于包围波导材料的折射率。示范性的波导材料包括：氮化硅(Si_xN_y)、氮氧化硅、碳化硅、氧化钽(TaO_2)、二氧化铝。示范性的包围波导材料包括二氧化硅(SiO_2)和硅氧化物。波导和/或包围材料可包括一种或多种材料。在一些情况下，用于波导和/或包围材料的期望的折射率可通过形成波导和/或包含多于一种材料的包围材料而获得。在一些实施方式中，波导包含氮化硅，包围材料包括二氧化硅。

[0290] 在一个示例性实施方式中，波导包含氮化硅并且具有大约1.90的折射率和大约100nm的截面高度，包围材料包括二氧化硅并且具有大约1.46的折射率。在一些实施方式中，可使用可具有大约1.88的折射率的波导同时包围材料具有大约1.46的折射率。在这种实施方式中，用于波导的较低的折射率可减小光学损耗。在另一个示例性实施方式中，波导包含氮化硅芯和二氧化硅覆层，并且是用于传播具有635nm特征波长的激发能量。芯可具有

1.99的折射率和100nm×500nm的尺寸。

[0291] 集成装置的波导可形成为具有在一个波导内部和/或在多个波导中的期望程度的均匀性。在集成装置内部的均匀性可通过制作芯和/或具有沿一个波导和在多个波导中大致相似尺寸和/或折射率的波导结构的覆层而实现。此外，波导可通过确保可重复制造工艺而以可重复方式形成于不同集成装置中，以便在不同装置中实现某个程度的顺应性。在一个波导和/或多个波导的截面高度中的变化可小于大约2％、小于大约3％、或小于大约4％。一个波导和/或多个波导的折射率中的变化可小于大约0.5％、小于大约1％、或小于大约2％。在一个波导和/或多个波导的包围材料或覆层的折射率中的变化可小于大约 0.5％、小于大约1％、或小于大约2％。

[0292] 波导可位于一个像素中在样品阱与一个或多个传感器之间。例如，如图4- 2中所示，波导4-220是位于样品阱4-222与包括至少一个传感器的层4-230 之间。在一些实施方式中，样品阱4-222可位于波导与传感器之间。波导可以例如中心对中心的方式与传感器对准，使得波导的中心大致与样品阱的中心对准。在一些实施方式中，波导可从与样品阱中心-中心对准的位置位移达某个距离。在一些实施方式中，两个大致平行的波导可将相同波长或不同波长的激发能量输送至一个像素，并且样品阱可位于两个波导之间。在一些实施方式中，在集成装置内部的不同高度的多个波导可朝向位于集成装置上的一个或多个样品阱的附近引导激发能量。

[0293] 集成装置的一个或多个波导可包括弯曲部。各波导的弯曲部可提供波导和/或像素的期望的布置，以便充分量的激发能量耦合到集成装置的一个或多个样品阱。该波导弯曲部的设计可利用各弯曲部的弯曲和空间尺寸来平衡激发能量损耗。此外，利用正确的设计，在波导内部的弯曲部也可用于滤除部分的传播光。将一部分的波导设计成：具有由波导中的曲率所提供的某个曲率半径所提供的滤光而减少一个偏振的光。这种弯曲可用于选择用于特定的偏振模式，例如TM和TE。在一些实施方式中，弯曲部可用于滤除和/或减弱TM 模式和保持TE模式。图4-4绘制了由于作为具有100nm截面高度及300nm、 400nm、500nm、700nm和1000nm宽度的波导弯曲部的曲率半径的函数的弯曲的光损耗。作为一个例子，为了实现至少0.1dB/90度弯曲的损耗，具有 500nm截面宽度的波导可具有大于大约35微米的弯曲半径，或者具有700 nm截面宽度的波导可具有大于大约22微米的弯曲半径。

[0294] 将各波导从单波导划分成多个波导可允许激发能量到达集成装置中的多行或多列的样品阱。激发源可耦合到输入波导，并且该输入波导可被划分成多个输出波导，其中各输出波导将激发能量输送至一行或一列的样品阱。可采用用于将波导划分和/或组合的任何合适的技术。这种波导划分和/或组合技术可包括星形分路器或耦合器、Y形分路器、和/或倏逝波耦合器。此外或可替代地，多模干涉型分束器(MMI)可用于将波导划分和/或组合。一个或多个的这些波导划分和/或组合技术可用于将激发能量引导至样品阱。

[0295] 将一个示范性星形耦合器4-500示于图4-5。可利用单各波导或两个波导 4-501和4-502将两个不同波长的光输入星形耦合器，如图4-5中所示。各输入波导的尺寸和形状可用于单独地调整每个激发光束的扩散以便在输出波导 4-504处匹配从而增加在各输出波导4-504中获得相似功率分布的可能性。星形耦合器包括自由传播区4-503，该区域可具体化为平板波导。自由传播区4- 503是允许输入光在平板波导的平面中大体上自由地传播的高多模式区。自由传播区4-503可具有从第一输出波导到最后的输出波导的例如300-400微

米的宽度。

[0296] 可利用星形耦合器的各种参数对激发能量向输出波导4-504的耦合进行调整，包括星形耦合器的单独各部件的一个或多个尺寸。例如，每个输入波导 4-501和4-502的横向截面的尺寸、每个输出波导4-504的横向截面的尺寸、和每个输出波导4-504与输入波导的距离可以是星形耦合器的参数，用以进行调整从而改进激发能量向输出波导4-504的耦合。在一些实施方式中，可形成星形耦合器使得输出波导4-504具有相对于彼此大致相同的功率分布。在一些实施方式中，靠近星形耦合器的外侧边缘的输出波导可具有不同于靠近中心的输出波导的尺寸。例如，靠近边缘的波导可具有较大的横向截面积，由此收集比靠近星形耦合器中心的输出波导(其具有较小的横向截面积)更多的光。在一些实施方式中，输出波导与输入波导的距离可变化。例如，如图4-5 中所示，靠近边缘的输出波导可具有与输入波导4-501和4-502之间的距离，该距离小于靠近星形耦合器中心的输出波导。

[0297] 星形耦合器4-500可具有任意合适数量的输出波导。在一些实施方式中，单个星形耦合器将激发能量分布到整个集成装置。因此，输出波导的数量等于在集成装置中像素的行数。例如，可存在128个输出波导。在其它实施方式中，可使用多于一个的星形耦合器。在这种实施方式中，第一星形耦合器可具有64个输出波导并且第二星形耦合器可具有64个输出波导，使得第一和第二星形耦合器的组合将激发能量提供至集成装置中的128行的像素。

[0298] 在一些实施方式中，并非具有输入波导，一个或多个光栅耦合器可将激发能量直接地耦合进入具有多个输出波导的星形耦合器的自由传播区。可利用单个光栅耦合器将多个波长耦合到星形耦合器的自由传播区。为此，不同波长的光可以不同角度入射到光栅耦合器上。在一些实施方式中，可利用多个光栅耦合器来耦合不同波长的激发能量。例如，对于各激发波长而言，可使用一个光栅耦合器。构造成部分的自由传播区的光栅耦合器可以类似于一个上述光栅耦合器的方式而操作，而不是将光耦合进入将光传播到星形耦合器的输入波导，光被直接地耦合入形成自由传播区的平板波导，例如4-603。

[0299] 将星形耦合器的另一个示例性构造示于图4-6。可分别利用连接到波导4- 609和4-610的光栅耦合器4-605和4-606，将两个波长的光输入星形耦合器。可利用光栅耦合器4-605和4-606及波导4-609和4-610通过减少弯曲部的数量并且/或者选择用于改进激发能量朝向自由传播区4-607的传播的弯曲角而减小激发能量的损耗。来自星形耦合器的输出波导4-608可以任何合适的方式而配置以便将激发能量提供至一排像素。在图4-6中所示的实例中，存在 32个输出波导。靠近自由传播区4-607的输出波导4-608的横向截面积可变化，使得靠近自由传播区4-607的一端的输出波导具有大于靠近自由传播区 4-607的中心的输出波导的横向截面积。例如，如图4-6中所示，输出波导4- 608a具有大于位于更靠近自由传播区4-607的中心的输出波导4-608b的横向截面积。这种在各输出波导4-608中的横向截面积中的变化可改进激发能量在各输出波导4-608中的分布，并且在一些实施方式中，允许由各输出波导将大致相似量的激发能量输送至一排像素。这样，多行的像素可在各行像素中接收大致相似量的激发能量。

[0300] 可基于用于该数量输出波导的划分技术的效率，对用于波导划分的设计进行选择。如果划分效率较高，那么可产生更多的输出波导并且仅可执行单个划分步骤。在一些实施方式中，来自分路器的单输出波导可与各行的样品阱相对应。一些实施方式包括多个划分步骤，用以获得用于将激发能量输送至集成装置的一部分样品阱的充分数量的波导。在

一些实施方式中,可利用多模干涉分路器(MMI)将波导进一步划分成多个波导。在MMI中,可将输入波导划分成多个输出波导,其中一个或多个尺寸的MMI可确定输出波导的数量和/或被输送至输出波导的激发能量的量。例如,如图4-7中所示,MMI分路器4- 707是用于提供来自输入4-710的输出4-708。输出4-708可耦合到用于将激发能量传播至样品阱的各行的波导。在一些实施方式中,MMI分路器4-707 可具有280个输出,这些输出被耦合到用于将激发能量传播至280行的样品阱的波导。在一些实施方式中,MMI分路器是用于接收来自多个输入的激发能量并且将激发能量引导至多个输出。如图4-7中所示,MMI分路器4-717联接到多个输入4-720并且提供多个输出4-718。在这种实施方式中,输出4-718 的数量可大于输入4-720的数量。在一些实施方式中,输入4-720可将不同的激发能量提供至MMI分路器4-717。在其它实施方式中,各波导的划分可在多个划分步骤中进行。作为一个例子,可使用两组的多模干涉分路器进行划分,其中将来自第一MMI分路器的输出波导用作第二MMI分路器的输入。例如,如图4-7中所示,MMI分路器4-727将输入波导4-730划分成多个输出,包括被耦合到MMI分路器4-737用于提供输出4-738的输出4-728。在一些实施方式中,MMI分路器4-727可提供35个输出并且利用另一个MMI 分路器(例如4-737)将每个输出划分成8个输出波导。因为每个中间的35个波导被划分成8个波导,所以在此非限制性例中形成280个波导。

[0301] 在一些实施方式中,多个输入波导可在MMI分路器中交叉耦合,从而形成用于将光耦合到集成装置的样品阱的输出波导。在这种集成装置上,可以存在与多个激发源耦合的多个光栅耦合器。交叉耦合MMI是用于将多个激发源耦合到一起并且形成多个输出波导,如图4-7中所示。多个输入波导的每个输入波导可开始于光栅耦合器中的一个,用以将来自一个激发源的光耦合到 MMI分路器。多个激发源的这种交叉耦合可提高系统的稳健性以阻止激发源退化和/或失效。例如,如果多个激发源中的一个停止产生激发能量,那么可利用其它激发源来提供充分的激发能量以便获得集成装置的期望水平的性能。也可包括补偿机制,该补偿机制通过增加由剩余的起作用的激发源所提供的强度来补偿由于一个或多个多个激发源所导致的激发能量的减小。

[0302] 可对用于对波导进行划分和/或组合的技术进行选择以便减小当对波导进行划分和/或组成时激发能量的损耗,包括插入损耗。由于对波导进行划分和/或组合而出现的插入损耗可以是大约小于10%、大约小于20%、或大约小于30%。用于对波导进行划分的技术可允许激发能量在多个输出波导中的近似均匀的划分,从而将激发能量均匀地分布于各输出波导中。用于将波导组合的技术可允许来自多个输入波导的激发能量在各输出波导中的大致均匀的相对分布。在一些实施方式中,在输出波导中的均匀性可以是大约小于10%、大约小于20%、或大约小于30%。对于制造参数(包括波导截面高度、截面宽度、和/或波导的折射率)的某个公差,可对用于设计波导的技术进行选择。

[0303] MMI分路器的一个或多个尺寸影响输出波导的数量和/或波导划分和/或组合的效率。设计MMI分路器可包括确定MMI分路器的尺寸以便具有某个数量的输出波导和/或某个划分效率。图4-8示出了用于在用于接收来自输入波导的光和引导光进入八个输出波导的示范性MMI分路器内部的光的强度波形的模拟。在此实例中,输入波导和输出波导具有500nm的截面宽度,MMI 分路器的尺寸具有16.35微米的宽度W和84.28微米的长度L。通过测量在每个输出波导处所传递的光,可测量耦合均匀性和/或效率。就图4-8中所示的示例性MMI分路器而言,八个输出波导的强度可变化达大约0.1%。

[0304] 在一些实施方式中，光栅耦合器可构造成将输入光引导入多个输出波导。图4-9A示出了薄片光栅耦合器，该耦合器可用于将具有一个或多个波长的光耦合进入多个输出波导4-904。该薄片光栅是远宽于光波长(例如，数百微米宽)的线性光栅结构。它是由交替层的介电体(例如氮化硅和氧化硅)所形成。在一些实施方式中，可以通过在薄片光栅处发射不同的波长而将多个波长耦合到薄片光栅，使得它们以不同的角度入射。在一些实施方式中，入射在光栅耦合器上的一个或多个光束具有大约为光栅结构自身尺寸光斑尺寸4-603，如图4-9A中所示。

[0305] 图4-9B和图4-9C示出了一个示例性薄片光栅耦合器，其中图4-9C是图 4-9B中所示区域4-906的缩放视图，并且包括薄片光栅耦合器4-903和输出波导4-905。这种构造提供不同激发波长的输入功率进入多个输出波导的耦合和划分。在图4-9B中所示的实例中，存在128个输出波导4-905。在采用多个激发波长的实施方式中，光栅区4-906具有被设计用于将多个激发波长耦合到输出波导的光栅栅距。可以通过在光栅区中的单个薄片给波导提供功率，其中薄片的宽度可变化以补偿在光栅耦合器上的输入激发能量光束的变化的强度。

[0306] C.样品阱

[0307] 根据一些实施方式，可在集成装置的一个或多个像素处形成样品阱5-210。样品阱可包括小空间或区域形成于衬底5-105的表面且布置成使得样品5-101 可从沉积在衬底表面上的试样扩散进入样品阱中或者从其扩散出，如图5-1和图5-2中所示，图中示出了集成装置的单个像素5-100。在各种实施方式中，样品阱5-210可布置成接收来自波导5-240的激发能量。可利用粘附剂5-211 将扩散进入样品阱的样品5-101暂时地或永久地保持在样品阱的激发区5-215 的内部。在激发区中，可利用激发能量(例如，激发辐射5-247)激发样品随后发出辐射，可对该辐射进行观察和评估以鉴定样品。

[0308] 在更详细的操作中，可将要进行分析的至少一个样品5-101导入样品阱 5-210，例如从含有样品的流体悬浮液的试样(未图示)中。当样品使在样品阱内部的激发区5-215内部时，来自波导5-240的激发能量可激发样品或者附接到样品或包括在与样品相关的标签中的至少一个标志。根据一些实施方式，标志可以是发光分子(例如，荧光团)或量子点。在一些实施例中，可存在用于对样品进行分析的多于一个的标志(例如，用于单分子基因测序的不同标志和标签，如由J.Eid等人发表的“基于单聚合酶分子的实时DNA测序”中所描述，Science 323，133页(2009年)，该文献的全部内容以参考的方式并入本文中)。在激发期间和/或之后，样品或标志可发出发射能量。当使用多个标志时，它们可发出不同的特征能量和/或以包括不同寿命的不同时间特征而发射。来自样品阱的发射能量可辐射或行进至传感器5-260，其中对发射能量进行检测并且转换成可以用于鉴定样品的电信号。

[0309] 根据一些实施方式，样品阱5-210可以是部分封闭的结构，如图5-2中所示。在一些实施例中，样品阱5-210包括形成于至少一层材料5-230中的亚微米尺寸的孔或开口(用至少一个横向尺寸Dsw表征)。在一些情况下，可被称为“纳米孔”。样品阱的横向尺寸根据一些实施方式可以是在大约20纳米和大约1微米之间，尽管在一些实施例中可采用更大和更小的尺寸。在一些实施例中，样品阱5-210的体积可以是在约10^{-21}升和约10^{-15}升之间。样品阱可形成为可以或可以不支持传播模式的波导。样品阱可形成为可以或可以不支持传播模式的波导。在一些实施方式中，样品阱可形成为具有圆柱形形状(或相似的形状)和直径(或大的横向尺寸)D_{SW}的零模式波导(ZMW)。ZMW可以不支持经过孔的传播光学模式的纳米尺度孔

的形式而形成于单金属层中。

[0310] 因为样品阱5-210具有小的容积，所以在各像素处对单样品事件(例如，单分子事件)的检测可以是可行的，即使可以类似于在自然环境中所发现的浓度将样品浓缩于被检查的试样中。例如，微摩尔浓度的样品可存在于被置于与集成装置接触的试样中，但在该像素高度仅大约一个的样品(或单分子事件)可在任何给定的时间在样品阱内部。在统计学上，一些样品阱可不容纳样品而一些样品阱可容纳多于一个的样品。然而，可观数量的样品阱可容纳单个样品 (例如，在一些实施方式中至少30％)，从而可以为大量的像素并行地执行单分子分析。因为可在各像素处对单分子或单样品事件进行分析，所以该集成装置能够检测在集合平均中被忽视的罕见事件。

[0311] 样品阱的横向尺寸D_{SW}在一些实施方式中可以是在约500纳米(nm)和约1 微米之间，在一些实施方式中是在约250nm和约500nm之间，在一些实施方式中是在约100nm和约250nm之间，在一些实施方式中是在约20nm和约 100nm之间。根据一些实施例，样品阱的横向尺寸是在大约80nm和大约180 nm之间，或者在激发波长或发射波长的大约1/4和1/8之间。根据其它实施例，样品阱的横向尺寸是在大约120nm和大约170nm之间。在一些实施方式中，样品阱5-210的深度或高度可在约50nm和约500nm之间。在一些实施例中，样品阱5-210的深度或高度可在约80nm和约250nm之间。

[0312] 具有亚波长横向尺寸的样品阱5-210可以以至少两种方式改进一个像素 5-100集成装置的操作。例如，从与试样相反侧入射到样品阱上的激发能量可以指数下降的功率耦合进入激发区5-215，并且不传播经过样品阱而到达试样。因此，在激发区中使激发能量增加，其中该激发能量激发感兴趣的样品，并且在试样中减小，其中激发能量将会激发将会导致背景噪声的其它样品。另外，来自被保持在样品阱基部(例如，更靠近传感器5-260)的样品的发射，优选地朝向传感器被引导，因为向上传播经过样品阱的发射被高度抑制。这两个效应可以提高在像素处的信噪比。本发明人已认识到可以加以改进以进一步提高在该像素处的信噪比的样品阱的若干方面。这些方面涉及到样品阱的形状和结构，并且也涉及到有助于将激发能量耦合到样品阱和从样品阱中所发出辐射的相邻的光学和等离激元结构(下述)。

[0313] 根据一些实施方式，样品阱5-210可形成为构造成不支持用于感兴趣的特定波长的传播模式的纳米孔。在一些情况下，纳米孔构造成其中所有模式都低于阈值波长并且孔可以是亚截止纳米孔(SCN)。例如，样品阱5-210可包括在导电层中的圆柱形形状的孔或内孔。样品阱的截面无需是圆形的，并且在一些实施方式中可以是椭圆形、正方形、矩形、或多边形。激发能量5-247(例如，可见或近红外辐射)可经过进口孔5-212进入样品阱，该孔5-212可由在阱第一端处的样品阱的壁5-214所限定，如图5-2中所示。当形成为SCN时，激发能量可沿纳米孔的长度指数地衰减(例如，在试样的方向上)。在一些实施例中，波导可包括用于从样品中发出辐射的SCN，但也可以不是用于激发能量的SCN。例如，由样品阱所形成的孔和波导可以是大到足以支持用于激发能量的传播模式，因为激发能量可具有短于发出辐射的波长。在较长波长处的发射可超过用于在波导中的传播模式的截止波长。根据一些实施方式，样品阱 5-210可包括用于激发能量的SCN，使得最大强度的激发能量被局限于在样品阱5-210入口处的样品阱的激发区5-215(例如，局限于靠近在层5-235与层 5-230之间的界面，如附图中所示)。这种激发能量的局部化可以改进来自样品的发射能量的局部化，并且

限制从单个样品(例如,单分子)中所发出的观察发射。

[0314] 根据一些实施方式,像素5-100可包括其它结构。例如,一个像素5-100 可包括实现激发能量向在样品阱内部的样品的耦合一个或多个激发耦合结构 5-220。像素也可包括将来自样品阱内部的样品的发射能量引导至传感器5-260 的发射引导结构5-250。

[0315] 将激发局部化靠近包括SCN的样品阱入口的一个实例示于图5-3。执行数值模拟以确定在形成为SCN的样品阱5-210内部和附近的激发辐射的强度。结果表明,激发辐射的强度是在样品阱进口孔处的入射能量的大约70%并且在样品阱中约100nm内下降至入射强度的约20%。就此模拟而言,激发能量的特征波长为633nm并且样品阱5-210的直径为140nm。样品阱5-210是形成于金金属的层中。在该图形中的各水平的划分为50nm。如该图形中所述,多于一半的在样品阱中所接收激发能量被局限于在样品阱的进口孔5-212内部的大约50nm。

[0316] 为了提高被局部化于样品阱处的激发能量的强度,本发明人开发并研究了其它样品阱结构。图5-4示出了包括在样品阱的激发端处的空腔或凹坑5- 216的样品阱的一个实施方式。正如可以中图5-3的模拟结果中所示,较高激发强度的区域是存在于样品阱的进口孔5-212的前面。根据一些实施方式,将凹坑5-216加入样品阱中允许样品移动进入较高激发强度的区域。在一些实施例中,凹坑的形状和结构改变局部激发场(例如,由于在层5-235与样品阱中的流体之间折射率的差异),并且可以进一步增加在凹坑中的激发能量的强度。凹坑5-216可形成于层5-235的内部,使得占据样品阱5-214和凹坑5- 216的一部分的样品空间被构成层5-216的材料所包围。

[0317] 凹坑可具有任何合适的形状。凹坑可具有大致等同于样品阱的横向形状的横向形状,例如圆形、椭圆形、正方形、矩形、多边形等。在一些实施方式中,凹坑的侧壁可以是大致笔直和竖直的,如同样品阱的壁。在一些实施例中,凹坑的侧壁可以是倾斜和/或弯曲的,如附图中所示。凹坑的横向尺寸在一些实施方式中可以是与样品阱的横向尺寸大致相同的尺寸,在一些实施方式中可小于样品阱的横向尺寸,或者在一些实施方式中可大于样品阱的横向尺寸。凹坑5-216可延伸超过样品阱层5-230达在大约10nm和大约200nm之间。在一些实施例中,凹坑可延伸超过样品阱层5-230达在大约50nm和大约150 nm之间。在一些实施方式中,凹坑可延伸超过样品阱层5-230达在大约150 nm和大约250nm之间。通过形成凹坑,激发区5-215可延伸到样品阱的外部,如图5-4中所示。

[0318] 图5-5示出了在用于包含凹坑的样品阱的激发区处的激发能量的提高(示于左模拟图像中)。为了比较,就在右侧所示的没有凹坑的样品阱而言,也对激发场进行了模拟。已在这些图表中从显色性转换成场幅值,并且在凹坑基部的暗区代表比在样品阱内部的光区更高强度的。在样品阱上方的暗区代表最低强度。正如可以从图中所见,凹坑允许样品5-101移动到较高激发强度的区域,并且凹坑也增加在样品阱的激发端处的最高强度的区域的局部化。应注意,就没有凹坑的样品阱而言,高强度的区域有更多的分布。在一些实施方式中,凹坑5-216提供在激发区处的激发能量的增加达两倍以上。在一些实施例中,基于凹坑的形状和深度,可获得多于两倍的增加。在这些模拟中,含有样品阱的层包含铝并且具有大约100nm的厚度,该凹坑具有大约50nm的深度,激发能量波长为635nm。

[0319] 图5-6A示出了样品阱5-210的另一个实施方式,其中样品阱是在衬底的表面形成于突起部5-615的上方。用于样品阱的所形成的结构与图5-1中所示的样品阱相比可增加在

样品处的激发能量达多于两倍，并且可将来自样品阱的发射集中到传感器5-260。根据一些实施方式，使突起部5-615图案化在材料的第一层5-610中。在一些实施方式中，突起部包括波导。在一些实施例中突起部可形成为具有矩形截面的脊部，并且可使第二层5-620的材料沉积在突起部的第一层的上方。在突起部处，可在最接近圆柱形部5-625的突起部的上方形成第二层，如图中所示。在一些实施方式中，可使导电层5-230(例如，反射性金属)沉积在第二层5-620的上方并且图案化从而在突起部上方的导电层中形成样品阱5-210。然后，可将凹坑5-216蚀刻入第二层。凹坑5-216可在导电层5-230下方延伸达在约50nm和约150nm之间。根据一些实施方式，第一层5-610和第二层5-620可以是光学透明的，并且可以或可以不由相同材料构成。在一些实施例中，第一层5-610可由氧化物(例如，SiO_2)或氮化物(例如，Si_3N_4)所构成，第二层5-620可由氧化物或氮化物所构成。

[0320] 根据一些实施方式，在突起部5-615上方的导电层5-230的形状被设计成大致如圆柱形反射器5-630。通过对突起部高度h、突起部的宽度或横向尺寸 w、和第二层5-620的厚度t进行选择，可控制圆柱形部的形状。通过对凹坑深度d的选择，可以调整相对于圆柱形反射器光学焦点的激发区的位置和样品的位置。可理解的是，圆柱形反射器5-630可以将激发能量集中在激发区5- 215，并且也可以收集从样品中所发出的辐射并且将辐射朝向传感器5-260反射和集中。

[0321] 一些实施方式涉及一种具有带位于靠近波导的位置的凹坑的样品阱的集成装置。图5-6B示出了具有形成于层5-630和层5-636中的样品阱5-632的集成装置。层5-630可以是金属层，并且包含一种或多种金属(例如，Al)。层 5-636可充当介电层，并且包含一种或多种介电材料(例如，二氧化硅)。样品阱5-632可具有在平行于层5-630和/或层5-636的方向上的可变尺寸。样品阱5-632可具有至少在集成装置的层5-630内部沿z-方向的尺寸D2，在一些实施方式中尺寸D2可被看作是样品阱5-632的直径。样品阱5-632的尺寸D2 可以是大约700nm、大约800nm、大约900nm、大约1微米、或大约1.1微米。样品阱5-632可具有集成装置的层5-636内部沿z-方向的尺寸D1，在一些实施方式中可被看作是在样品阱5-632的表面的直径。尺寸D1可以是大约 100nm、大约150nm、大约200nm、或大约250nm。具有尺寸D1的样品阱 5-632的表面是位于沿x-方向与波导5-634相距尺寸d1处。定位样品阱5-632 靠近波导5-634达距离d1可允许激发能量从波导5-634向样品阱5-632的改进耦合。尺寸d1可以是大约50nm、大约100nm、大约150nm、大约200 nm、或大约250nm。

[0322] 如上所述，样品阱可以任何合适的形状而形成，并且不仅限于圆柱形形状。在一些实施例中，样品阱可以是圆锥形、四面体、五面体等。图5-7A-图 5-7F示出了可在一些实施方式中所采用的一些示范性样品阱形状和结构。根据一些实施方式，样品阱5-210可形成具有大于用于激发能量的出口孔5-218 的进口孔5-212that。样品阱的侧壁可以是锥形或弯曲的。以这种方式形成样品阱可以允许更多的激发能量进入激发区，但仍然明显地减弱朝向试样行进的激发能量。此外，由于在该方向上的有利的能量转移，因而由样品所发射的辐射可优先地朝向样品阱的具有较大孔的端部辐射。

[0323] 在一些实施方式中，凹坑5-216可具有小于样品阱基部的横向尺寸，如图 5-7B中所示。较小的凹坑可通过在蚀刻凹坑之前用牺牲层涂覆样品阱的侧壁，随后去除牺牲层而形成。可形成较小的凹坑，用以将样品保持在与样品阱的导电壁更加等距离的区域中。将样品保持在与样品阱的壁等距离的状态可减小样品阱壁对辐射样品的不良效果，例如发射的

淬灭和/或辐射寿命的改变。

[0324] 图5-7C和图5-7D示出了样品阱的另一个实施方式。根据此实施方式，样品阱5-210可包括激发能量增强结构5-711、和形成于与激发能量增强结构相邻位置的粘附剂5-211。根据一些实施方式，能量增强结构5-711可包括形成于在光学透明层5-235上的导电材料中的表面等离激元或纳米天线结构。图5-7C示出了样品阱5-210和附近结构的正视图，图5-7D示出了平面视图。激发能量增强结构5-711的形状可被设计和布置成增强在小的局部区域中的激发能量。例如，这些结构可包括具有在样品阱处的锐角的尖导体，该尖导体增加在激发区5-215内部的激发能量的强度。在图示的实例中，激发能量增强结构5-711是采用蝴蝶结的形式。可利用粘附剂5-211暂时地或永久地保持扩散进入区域的样品5-101，并利用可从位于与样品阱5-210相邻位置的波导5- 240中输出的激发能量而激发。根据一些实施方式，激发能量可驱动表面-等离激元waves在能量增强结构5-711中。所形成的表面等离激元电流可在结构5-711的尖锐点处产生高电场，这些高电场可激发被保持在激发区5-215中的样品。在一些实施方式中，图5-7C中所示的样品阱5-210可包括凹坑5- 216。

[0325] 将样品阱的另一个实施方式示于图5-7E，并且示出了沿样品阱5-210内壁所形成的激发能量增强结构5-720。激发能量增加结构5-720可包含金属或导体，并且利用倾斜(或浅)定向沉积而形成，其中在沉积期间使在其上形成样品阱的衬底旋转。在沉积期间，样品阱5-210的基部被阱的上壁所掩盖，使得沉积的材料不在基部积聚。所形成的结构5-720可结构底部附近形成锐角5- 722，并且导体的此锐角可以增强在样品阱内部的激发能量。

[0326] 在图5-7E中所示的实施方式中，其中构成样品阱的材料5-232无需是导体，并且以是任何合适的介电体。根据一些实施例，样品阱5-210和激发能量增强结构5-720可形成于被蚀刻入介电层5-235中的盲孔处，并且无需使单独的层5-232沉积。

[0327] 在一些实施例中，随后可以在图5-7E中所示的结构上执行浅蒸发从而使金属或导电能量增强结构沉积，例如在样品阱基部的梯形结构或尖锥，如用虚线所表示。能量增强结构可利用表面等离激元增强在样品阱内部的激发能量。在后浅蒸发之后，可执行平坦化工艺(例如，化学机械抛光步骤或者等离子体蚀刻工艺)以去除或回蚀在样品阱顶部的沉积材料，同时使能量增强结构留在阱内部。

[0328] 在一些实施方式中，样品阱5-210可由多于单个的金属层所形成。图5- 7F示出了形成于多层结构中的样品阱，其中可将不同的材料使用于不同的层。根据一些实施方式，样品阱5-210可形成于第一层5-232(可以是半导体材料或导电材料)，第二层5-234(可以是绝缘体或介电材料)、和第三层5-230(可以是导体或半导体)中。在一些实施方式中，也可将退变掺杂半导体或石墨烯使用于样品阱的一层。在一些实施例中，样品阱可形成于两个层中，并且在其它实施例中样品阱可形成于四个或更多的层中。在一些实施方式中，可对用于形成样品阱的多层材料加以选择，以增加或抑制利用入射到样品阱上的激发辐射而产生的界面激子。在一些实施方式中，可对用于形成样品阱的多层材料进行选择，以增加在样品阱基部的表面等离激元产生或者抑制在样品阱顶部的表面等离激元辐射。在一些实施方式中，可以对用于形成样品阱的多层材料进行选择，从而抑制激发辐射传播超过样品阱和多层结构而进入主体试样。在一些实施方式中，可对用于形成样品阱的多层材料进行选择，以增加或抑制可由入射在样品阱上的激发辐射所产生的界面激子。

[0329] 各种材料可用于构成在前面的实施方式中所描述的样品阱。根据一些实施方式，

样品阱5-21可由至少一层的材料5-230构成，该材料可包含导电材料、半导体、和绝缘体中的何一个或组合。在一些实施方式中，样品阱5-210 包括高导电金属层，例如金、银、铝、铜。在一些实施方式中，层5-230可包括多层堆，该堆包含金、银、铝、铜、钛、氮化钛、钯、铂、和铬中的任一个或组合。此外或可替代地，在一些实施例中，可使用其它金属。根据一些实施方式，样品阱可包含合金，例如AlCu或AlSi。

[0330] 在一些实施方式中，多层的不同金属或合金可用于形成样品阱。在一些实施例中，其中构成样品阱5-210的材料可包括金属和非金属的交替层，例如金属和一种或多种氧化物的交替层。在一些实施方式中，非金属可包括聚合物，例如聚乙烯基膦酸或者聚乙二醇(PEG)-巯基。

[0331] 根据一些实施方式可使其中形成样品阱的层5-230沉积在至少一个光学透明层5-235上或相邻，以便在没有明显衰减的情况下激发能量(采用光辐射的形式，例如可见或近红外辐射)和发射能量(采用光辐射的形式，例如可见或近红外辐射)可行进至样品阱5-210和从其中行进出。例如，来自波导5-240的激发能量可通过至少一个光学透明层5-235到达激发区5-215，并且来自样品的发射可通过相同的一层或多层而到达传感器5-260。此激发能量可以是来自由波导所引导的激发光的倏逝波拖尾(evanescent tail)。

[0332] 在一些实施方式中，可用实现样品在样品阱内部的作用的一层或多层5- 211、5-280的材料涂覆样品阱5-210的至少一个表面，如图5-8中所示。例如，可使薄介电层5-280(例如，氧化铝、氮化钛或氧化硅)以钝化涂层的形式沉积在样品阱的侧壁上。这种涂层可用于减小在激发区5-215外部的样品的样品粘附，或者减小样品与其中构成样品阱5-210的材料5-230之间的相互作用。根据一些实施方式，在样品阱内部的钝化涂层的厚度可在约5nm和约50 nm之间。

[0333] 在一些实施例中，可基于用于该材料的化学剂的亲和性对用于涂层5-280 的材料进行选择，以便可用化学或生物物质对涂层5-280进行处理，以进一步抑制样品原子团向涂层5-280的粘附。例如，根据一些实施方式，涂层5-280 可包含氧化铝，可用聚膦酸酯钝化层使氧化铝而钝化。在一些实施方式中，可使用另外的或替代的涂层和钝化剂。

[0334] 根据一些实施方式，可用化学或生物粘附剂5-211(例如，生物素)对至少样品阱5-210和/或凹坑5-216的底面进行处理以促进样品的保持。可可永久地或暂时地保持该样品例如达至少在约0.5毫秒和约50毫秒之间的时间段。在另一个实施方式中，粘附剂可促进样品5-101的暂时保持达较长时间段。在各种实施方式中，可使用任何合适的粘附剂，并且不局限于生物素。

[0335] 根据一些实施方式，可基于用于该层的材料的粘附剂的亲和性，对与样品阱相邻的材料5-235的层进行选择。在一些实施方式中，样品阱的侧壁的钝化可抑制粘附剂在侧壁上的涂覆，以便粘附剂5-211优先地沉积在样品阱的基部。在一些实施方式中，粘附剂涂层可沿一部分的样品阱的侧壁向上延伸。在一些实施例中，可利用各向异性物理沉积工艺(例如，蒸发、溅射)使粘附剂沉积，使得粘附剂积聚在样品阱或凹坑的基部并且不明显地形成于样品阱的侧壁上。

[0336] 可采用各种制造技术来制作用于集成装置的样品阱5-210。下面描述一些示范性工艺，但本发明并近不局限于这些实例。

[0337] 可利用任何合适的微米或纳米制造工艺形成样品阱5-210，该制造工艺可包括但

不限于:与光刻、深紫外光刻、浸没式光刻、近场光学接触光刻、EUV 光刻、X射线光刻、纳米压印光刻、干涉光刻、步进快闪式光刻、铣、离子束光刻、离子束铣、剥离工艺、反应性离子蚀刻,等相关的处理步骤。根据一些实施方式,可利用光刻和剥离工艺形成样品阱5-210。将与样品阱的剥离工艺相关的示范性制造步骤示于图5-9A-F。尽管通常在附图中描绘了在一个像素处的仅单个样品阱或结构的制造,但应当理解的是可将大量的样品阱或结构并行地制作在衬底上(例如,在各像素处)。

[0338] 根据一些实施方式,在衬底上的层5-235(例如,氧化物层)可用防反射涂 (ARC)层5-910和光刻胶5-920覆盖,如图5-9A中所示。可通过抗蚀剂的光刻和显影使光刻胶暴露和图案化。可将抗蚀剂显影以去除暴露部分或未暴露部分(基于抗蚀剂类型),留下具有大致等于样品阱的期望直径Dsw的直径的柱5-922,如图5-9B中所示。柱的高度可大致不同于样品阱的期望深度。例如,柱的高度可大体上大于样品阱的期望深度。

[0339] 可利用各向异性反应性离子蚀刻(RIE)将柱5-922的图案转移到ARC层 5-910,例如图5-9C中所示。然后,可用对于形成样品阱为理想的至少一种材料5-230(例如导体或金属)涂覆该区域。一部分的一种或多种沉积材料在柱5- 922的上方形成盖5-232,如图5-9D中所示。然后,可利用选择性去除工艺将光刻胶5-920和ARC层5-910从衬底上剥去(例如,利用在搅拌或不搅拌下的化学浴,该化学浴至少溶解抗蚀剂并释放或“剥离”盖)。如果ARC层5-910保留,则可利用选择性蚀刻将它从衬底中剥去,从而留下样品阱5-210,如图5- 9E中所示。根据一些实施方式,由于至少一种材料5-230的沉积的性质,因而样品阱的侧壁5-214会是倾斜的。

[0340] 本文中所使用的“选择性蚀刻”表示其中蚀刻剂选择性地以比蚀刻剂蚀刻不意图去除的其它材料更高的速率(例如,至少两倍的速率)去除或蚀刻的一种材料的蚀刻工艺。

[0341] 因为光刻胶5-920和ARC层5-910通常是基于聚合物的,所以它们被看作是软质材料,该材料会不适于形成具有高高宽比(例如,大于约2:1的高宽比,就高度/宽度而言)的样品阱。就具有较高高宽比的样品阱而言,可将硬质材料包括在剥离工艺中。例如,在使ARC层和光刻胶沉积之前,可使一层硬质材料(例如,无机材料)沉积。在一些实施方式中,可使一层的钛或氮化硅沉积。该硬材料的层应当显示在其中构成样品阱的一种或多种材料5-230上方的优先蚀刻。在使光刻胶图案化之后,可将柱的图案转移进入ARC层和下面的硬材料5-930,从而获得如图5-9F中所示的结构。然后,可将光刻胶和ARC 层剥去,使材料5-230沉积,并执行剥离步骤从而形成样品阱。

[0342] 根据一些实施方式,可利用剥离工艺形成包括能量增强结构5-711的样品阱,如图5-7C和图5-7D中所示。

[0343] 将用于形成样品阱的一个替代工艺示于图5-10A-D。在此工艺中,可将样品阱直接地蚀刻进入至少一种材料5-230中。例如,可使其中构成样品阱的至少一种材料5-230沉积在衬底上。可用ARC层5-910和光刻胶5-920覆盖该层,如图5-10A中所示。可使光刻胶图案化从而形成具有大致等于样品阱的期望直径的直径的孔,如图5-10B中所示。例如,可利用各向异性反应性离子蚀刻,将孔的图案转移到ARC和经过层5-230,如图5-10C中所示。可将光刻胶和ARC层剥去,从而获得如图5-10D中所示的样品阱。根据一些实施方式,通过蚀刻进入材料5-230的层所形成样品阱的侧壁,可比利用剥离工艺所形成的侧壁更加竖直。

[0344] 在一些实施方式中,可利用光刻胶和ARC层使硬掩膜(例如,氮化硅或氧化物层,未

图示)在材料5-230上方图案化。然后,可将图案化的孔转移到硬掩膜,然后用于将图案转移进入材料5-230的层。硬掩膜可允许进入材料5- 230的层的更大的蚀刻深度,从而形成具有较高高宽比的样品阱。

[0345] 应当理解的是,当把多层的不同材料用于形成其中构成样品阱的材料5- 230的堆时,可利用上述剥离工艺和直接蚀刻制造技术形成样品阱。将一个示范性的堆示于图5-11中。根据一些实施方式,可将材料的堆用于形成样品阱,以改进激发能量向样品阱的激发区的耦合或者减少激发能量进入主体试样的传输或再辐射。例如,可使吸收层5-942沉积在第一层5-940的上方。第一层可包含金属或金属合金,吸收层可包含抑制表面等离激元的材料,例如非晶硅、TaN、TiN或Cr。在一些实施例中,也可使表面层5-944沉积以使包围样品阱的表面钝化(例如,抑制分子的粘附)。

[0346] 包括凹坑5-216的样品阱的形成可以任何合适的方式而完成。在一些实施方式中,可通过进一步蚀刻进入相邻的层5-235和/或与样品阱相邻的任何介于中间的一层或多层,而形成凹坑。例如,在材料5-230的层中形成样品阱之后,可将该层5-230用作用于使凹坑图案化的蚀刻掩膜,如图5-12中所示。例如,可使衬底经历选择性各向异性反应性离子蚀刻,以便可将凹坑5-216蚀刻进入相邻的层5-235。例如,在其中材料5-230是金属且相邻的层5-235是氧化硅的实施方式中,可利用具有包含CHF_3或CF_4的进料气体的反应性离子等离子体蚀刻优先地去除在样品阱下方的暴露的氧化硅并形成凹坑5-216。例如,本文中所使用的“氧化硅”通常是指SiO_x,并且可包括二氧化硅。

[0347] 在一些实施方式中,可对蚀刻期间在等离子体内部的条件(例如,向衬底的偏移和压力)加以控制,以确定凹坑的蚀刻外形。例如,在低压力(例如,小于约100mTorr)和高直流偏压(例如,大于约20V)下,蚀刻可以是高度各向异性的并且形成凹坑的大致平直和垂直的侧壁,如附图中所示。在较高压力和较低偏压下,蚀刻可以是更加各向同性的,从而获得凹坑的锥形和/或弯曲的侧壁。在一些实施例中,可利用湿法蚀刻形成凹坑,该湿法蚀刻可以是大致各向同性的并且形成大致呈球形的凹坑,该凹坑可在材料5-230下方侧向地延伸,高达或超过样品阱的侧壁。

[0348] 图5-13A至图5-13C示出了可用于形成具有小于样品阱5-210的横向尺寸的凹坑5-216(例如,如图5-7B中所示的凹坑)的工艺步骤。在一些实施例中,在形成样品阱之后,可使共形的牺牲层5-960沉积在包括样品阱的区域的上方。根据一些实施方式,可利用气相沉积工艺例如化学气相沉积(CVD)、等离子体增强CVD、或原子层沉积(ALD)使牺牲层5-960沉积。然后,可利用对牺牲层5-960为选择性的第一各向异性蚀刻对牺牲层进行回蚀,从水平的表面中去除该层,使侧壁涂层5-962留在样品阱的壁上,如图5-13B中所示。回蚀在一些实施方式中可以是选择性的并且停止于材料5-230和相邻的层5-235 上,或者在一些实施方式中可以是非选择性的定时蚀刻。

[0349] 可执行对相邻层5-235为选择性的第二各向异性蚀刻从而将凹坑5-216蚀刻进入相邻的层,如图5-13C中所示。然后,可任选地利用选择性湿法或干法蚀刻将牺牲侧壁涂层5-962去除。侧壁涂层的去除打开了样品阱,从而具有大于凹坑5-216的横向尺寸。

[0350] 根据一些实施方式,牺牲层5-960可包含与相邻层5-235相同的材料。在这种实施方式中,当把凹坑蚀刻进入相邻的层5-235时,第二次蚀刻可去除至少部分的侧壁涂层5-962。在一些实施方式中,侧壁涂层的该回蚀可以形成凹坑的锥形侧壁。

[0351] 在一些实施例中，可由用于使样品阱的侧壁钝化材料的层(例如，减少样品在样品阱侧壁除的粘附)形成牺牲层5-960或者包括该层。然后，在凹坑的形成后，可在样品阱的壁上留下至少部分的层5-960。

[0352] 根据一些实施方式，侧壁涂层5-962的形成可在凹坑的形成之后进行。在这种实施方式中，层5-960覆盖凹坑的侧壁。这种工艺可用于使凹坑的侧壁钝化并且将样品局限于凹坑的中心区内部。

[0353] 将与使粘附剂5-211沉积在样品阱5-210基部、和钝化层5-280相关的工艺步骤示于图5-14。根据一些实施方式，样品阱可包括在样品阱壁上的第一钝化层5-280。例如，可以如上面结合图5-13B或图5-8所描述的方式，形成第一钝化层。在一些实施方式中，可利用任何合适的沉积工艺和回蚀，而形成第一钝化层5-280。在一些实施方式中，可通过将其中构成样品阱的将材料5- 230氧化，而形成第一钝化层。例如，样品阱可由铝构成，可将铝氧化从而在样品阱的侧壁上形成氧化铝的涂层。

[0354] 可利用各向异性物理沉积工艺，例如蒸发沉积，使粘附剂5-980或粘附剂前体(例如，优先地与粘附剂结合的)材料沉积在衬底上，如图5-14A中所示。粘附剂或粘附剂前体可在样品阱基部形成粘附剂层5-211，如图5-14B中所示，并且可覆盖其中构成样品阱的材料5-230的上表面。可利用图5-14C中所示的随后的倾斜定向沉积(有时被称为浅沉积或浅蒸发工艺)使钝化材料5-990 的第二钝化层5-280沉积在材料5-230的上表面的上方并且不覆盖粘附剂层 5-211。在浅沉积工艺期间，可使衬底围绕垂直于衬底的轴线旋转，以便第二钝化层5-280更均匀地沉积在样品阱的上缘附近。根据一些实施方式，将所形成的结构示于图5-14D。作为使第二钝化层沉积的替代，可利用平坦化蚀刻(例如，CMP步骤)将粘附剂从材料5-230的上表面去除。

[0355] 根据一些实施例，可使粘附剂层5-211中心地沉积在锥形样品阱的基部，如图5-15中所示。例如，如图5-14A中所示，可使粘附剂或粘附剂前体定向地沉积在以上述方所形成的锥形样品阱中。在粘附剂层5-211的沉积的之前或之后，利用氧化工艺使样品阱壁钝化。可以结合图5-14D所描述的方式，使保留在材料5-230表面上的粘附剂或前体钝化。在一些实施方式中，可通过化学机械抛光步骤将在材料5-230的上表面上的粘附剂去除。通过中心地在样品阱的基部形成粘附剂层或粘附剂层前体，可有效地减小对来自样品的发射(例如，来自样品壁的样品辐射的抑制或淬灭、来自样品的不利的辐射分布，因为它不相对于形成于样品阱周围的能量耦合结构中心地定位、对样品发光寿命的负面影响)的有害作用。

[0356] 在一些实施方式中，用于形成样品阱和凹坑的剥离图案化、蚀刻、和沉积工艺可与用于在集成装置上形成集成CMOS电路的CMOS工艺相容。因此，集成装置可利用常规的CMOS设备和制造技术而制造，尽管在一些实施例中可使用定制或专用制造设备。

[0357] 可利用上述工艺步骤的变化来形成样品阱的替代实施方式。例如，可利用图5-14C中所示的倾斜沉积工艺形成例如在图5-7A或图5-7B中所示的锥形样品阱。就图5-7B的样品阱而言，可在沉积工艺期间改变沉积的角度。就这种实施方式而言，可首先形成具有大致平直和垂直的侧壁的样品阱，然后利用倾斜沉积使其它材料5-230沉积以使样品阱的侧壁锥形化。

[0358] 在一些实施方式中，可由包括多层的多层堆形成样品阱。图5-16示出了具有形成于衬底层5-105中的凹坑的样品阱。在此施方式中，样品阱具有大约 140-180nm的直径用大

约40-90nm的凹坑深度。衬底5-105可由任何合适的材料(例如氧化硅)所构成。第一层5-1001可形成与衬底5-105的表面上。可由任何合适的金属(例如铝)构成此第一层5-1001,并且可具有例如大约60nm 的厚度。第二层5-1003可形成于第一层5-1001上。此第二层5-1003可由从任何合适的金属(例如钛)构成,并且可具有例如10nm的厚度。第三层5-1005 可形成于第二层5-1003上。该第三层5-1005可由任何合适的陶瓷(例如氮化钛)所构成,并且可具有例如30nm的厚度。第四层5-1007可形成于第三层5- 1005的顶部上并且涂覆样品阱的垂直壁。此第四层5-1007可由从任何合适的材料(例如氧化铝)构成,并且可具有大约5nm的厚度。

[0359] 图5-16的样品阱可形成于在用于承载采用向样品阱的光脉冲形式的激发能量的波导5-240上方的大约350nm处。波导可具有例如250nm-700nm的宽度。在一些实施方式中,波导具有大约500nm的宽度。

[0360] 样品阱可以任何合适的方式而形成。例如,可使前三层(5-1001、5-1003、和5-1005)形成于衬底5-105上,如上所述。此外,可使薄层(大约5nm)的氧化铝在前三层的上方。然后,可将样品阱和凹坑化学蚀刻进入这些层。可使第二氧化铝层沉积从而共形地涂覆样品阱的边缘,包括凹坑的底部。根据一些实施方式,可利用原子层沉积使第二氧化铝层沉积。然后,可从凹坑的底部各向异性地对第二层的氧化铝进行蚀刻,以使氧化硅衬底暴露。

[0361] D.将激发能量耦合到样品阱

[0362] 利用经过一个或多个技术将激发能量耦合到集成装置的一个或多个样品阱。如前所述,在一些实施方式中,将波导定位成将激发源耦合到一个或多个样品阱。当激发能量沿波导传播时,可利用多种光耦合技术将一部分的激发能量耦合到一个或多个样品阱。例如,波导可大致在一个方向上引导激发能量,并且倏逝波或拖尾可以垂直于此一个方向的方式而形成,并且在一些情况下是位于波导结构的外部。这种倏逝波拖尾可朝向一个或多个样品阱引导一部分的激发能量。在一些实施方式中,样品阱层可被设计成并且用于将激发能量引导至在样品阱内部的局部区域。样品阱可用于将样品保持在样品阱的局部区域的内部,以便朝向样品引导激发能量。

[0363] 图6-1A和图6-1B是集成装置的剖视图,并且提供利用波导将激发能量耦合入样品阱中的示例性说明。图6-1A是显示位于靠近在样品阱层6-116中的样品阱6-108的波导6-104的截面示意图。激发能量沿波导在垂直于图6- 1A的视图的场的方向上传播。将样品阱定位在波导附近可允许激发能量耦合进入样品阱。图6-1B示出了样品阱6-108和样品阱层6-116的和区域的近视图,并且示出了位于在样品阱6-108内部的激发能量。

[0364] 此外,一个或多个部件可形成于集成装置中,用以改进或增强激发能量进入样品阱的耦合。这些其它各部件可形成于一个像素中,并且提供激发能量从波导进入像素并朝向样品阱的耦合。位于一个像素中的一个或多个部件可将一部分的激发能量从波导汲取入像素中。这种部件可包括光学结构,例如光栅结构、散射结构、微腔和/或纳米天线。可对一个或多个的这些部件的特征或构造进行选择,用以将每个量的激发能量耦合到在一行或一列的样品阱内部的各样品阱。用于将激发能量通过至一排像素的波导可联接到在各像素区中的部件,从而将一部分的激发能量提供至在各行像素中的各像素。当利用波导将激发能量从激发源朝向一个或多个像素引导时,波导可被称为总线波导。

[0365] 位于与样品阱相邻位置的部件可改进激发能量从波导到样品阱的耦合。这种部件

可称为光分接器和/或微腔。微腔可使一部分的激发能量从波导中偏转使得激发能量到达样品阱。可利用一个或多个微腔将激发能量耦合至样品阱。一个或多个微腔可减小来自波导的激发能量，包括金属损耗。一个或多个微腔可起用于将激发能量集中到样品阱的透镜的作用。在一些实施方式中，一个或多个微腔可改进将来自标志的发光在样品阱中朝向传感器的引导。微腔可具有圆柱形、凸形、凹形、矩形、球形、或椭圆形构造或者任何其它合适的形状。可由任何合适的材料构成成微腔。在一些实施方式中，微腔可包含氮化硅。

[0366] 当从其中存在样品阱的集成装置的顶部看时，一个或多个微腔可与至少一部分的波导重叠从而将激发能量朝向样品阱引导。波导的厚度可构造成减小激发能量的损耗并改进激发能量向一个或多个微腔的耦合。在一些实施方式中，沿一排样品阱的微腔可在波导与各样品阱之间的耦合强度中有变化。微腔可增强沿激发能量传播方向的耦合从而适应当把激发能量从波导引导至各样品阱时在波导中的减小的功率。在一些实施方式中，一个或多个微腔与样品阱相邻。在样品阱中心的位置与微腔中心之间可存在偏移距离。在其它实施方式中，一个微腔是位于样品阱的下方，使得当从其中存在样品阱集成装置的顶部看时至少一部分的样品阱与一部分的微腔重叠，。

[0367] 图6-2A示出了具有波导6-204的示例性像素区的平面视图，该波导6- 204是位于靠近样品阱6-208的位置使得波导6-204与样品阱6-208是不重叠的。如图6-2A中所示，微腔6-218b具有小于微腔6-218a的截面直径。微腔 6-218a和6-218b是相对于波导6-204和样品阱6-208而定位，以便将来自波导6-204的激发能量耦合到样品阱6-208。共同地，微腔6-218a和6-218b使一部分的激发能量在波导内部偏转到样品阱。一部分的微腔6-218b被定位成与波导6-204重叠。微腔6-218b被定位成于靠近微腔6-218b的位置，用以提供在两个微腔之间的充分耦合。相比微腔6-218b，微腔6-218a位于更靠近样品阱6-208。在这种构造中，微腔6-218a和6-218b可起光分接器的作用，用以将来自波导6-204的一部分激发能量耦合到样品阱6-208。图6-2B示出了从沿图6-2A中所示的线A-A’的视角所见的正视图。微腔6-218a和6-218b位于与层6-216相邻的位置，从而形成样品阱6-208。层6-216可包含金属(例如，铝)。在此示例性实施方式中，微腔6-218a和6-218b具有圆柱形形状，其中圆柱体的一端是位于层6-218的表面处或者至少靠近层6-218的表面。在波导6-204与微腔6-218a和/或微腔6-218b的边缘之间的距离，可允许将期望量的激发能量耦合进入样品阱6-218。图6-2C示出了从沿在图6-2A中所示的线B-B’的视角所见的正视图。微腔6-218b被定位成与波导6-204重叠，同时微腔6-218a被定位成不与波导6-204重叠。

[0368] 图6-3A-D示出了在集成装置中相对于样品阱和波导的一个或多个微腔的其它示例性构造的平面视图。一个或多个微腔可与一部分的波导重叠。在一些情况下，微腔位于样品阱的下方。图6-3A示出了相对于波导6-304与样品阱6-308重叠的微腔6-306。图6-3B示出了相对于波导6-314与样品阱6-318 重叠的空腔6-316b。在其它实施方式中，微腔是位于从样品阱偏移一定距离处，使得微腔不与样品阱重叠。图6-3B示出了位于与样品阱6-318分离使得在微腔6-316a与样品阱6-318之间不存在重叠区的微腔6-318a。类似地，图 6-3C示出了位于相对于波导6-324与样品阱6-328分离使得在微腔6-316a与样品阱6-318之间不存在重叠区的微腔6-326。在一些实施方式中，多个微腔可定位成与样品阱偏移。图6-3D示出了定位成相对于波导6-334与样品阱6- 338分离因此在样品阱6-338与6-336a或6-336b之间不存在重叠区域的微腔 6-336a和6-336b。基于减少总耦合损耗和提高波导与样品阱之间

的耦合效率，可确定微腔设计、相对于样品阱的位置、和/或相对于波导的位置。

[0369] 图6-4示出了用于将来自波导6-404的激发能量耦合到层6-416中的样品阱6-408的微腔6-418的剖视图。一个或多个尺寸的微腔6-418和/或波导6- 404可提供期望量的耦合。集成装置的波导(例如波导6-404)具有截面高度t，该截面高度可为大约50nm、大约100nm、大约150nm、大约160nm、大约 170nm、或大约200nm。微腔6-418具有截面尺寸D，例如如果微腔具有圆柱形形状则为直径。截面尺寸D可以是大约550nm、大约600nm、大约650 nm、大约700nm、大约750nm、或大约800nm。微腔6-418具有截面高度 h，该截面高度可以是大约450nm、大约500nm、大约550nm、或大约600 nm。微腔6-418相对于波导6-408和样品阱6-408的位置可允许激发能量从波导6-408耦合到样品阱6-408。在微腔6-418与垂直于光在波导6-408中传播的波导6-408之间的距离，在图6-4中图示为x，可以是大约300nm、大约 350nm、大约400nm、大约450nm、或大约500nm。微腔6-418与样品阱6- 408偏移的距离，在图6-4中图示为d，可以是大约500nm、大约550nm、大约600nm、大约650nm、或大约700nm。包括样品阱6-408的层6-416可具有大约50nm、大约100nm、或大约150nm的截面高度。样品阱6-408可具有截面尺寸，例如大约75nm、大约100nm、大约125nm、大约150nm、或大约175nm的直径。

[0370] 在一个示例性实施方式中，波导6-404具有667nm的截面宽度和100nm 的截面高度。微腔6-418具有591nm的尺寸h、750nm的截面直径，并且被定位成使得与波导6-404的距离x为398nm并且与样品阱6-408的距离d为 693nm。这种像素构造可具有0.28％的总耦合损耗，该总耦合损耗如果具体化具有256个像素的集成装置中，可具有大约51％的传输损耗和大约11％的金属损耗。

[0371] 在另一个示例性实施方式中，波导6-404具有639nm的截面宽度和100 nm的截面高度。微腔6-418具有椭球体形状，该椭球体具有600nm的一个截面尺寸、639nm的另一个截面尺寸、512nm的尺寸h。这种像素构造可具有大约0.77％的总耦合损耗，该总耦合损耗如果具体化在具有64个像素的集成装置中，可具有大约30％的传输损耗和大约35％的金属损耗。

[0372] 图6-5示出了光在具有两个微腔6-536a和6-536b的构造中相对于样品阱 6-538和波导6-534的传播的模拟结果。如图6-5中所示，暗区与从波导6-534 延伸至样品阱6-538且被微腔6-536a和6-536b所支持的较高强度的光相对应。

[0373] 在另一个示例性实施方式中，波导具有700nm的截面宽度和100nm的截面高度。微腔是具有600nm的直径且具有650nm的尺寸h的圆柱形。微腔被定位在靠近波导和样品阱的位置，因此存在0.148％的耦合、0.09856％的金属损耗、0.1225％的回波损耗、和0.1270％的辐射损耗。图6-6A至图6-6C 示出了根据这种实施方式的光传播的模拟。图6-6A示出了样品阱6-638、微腔6-636、和波导6-634的剖视图。波导6-634支持沿波导6-634传播的光的模式，并且微腔6-636被定位成起光分接器的作用，从而将部分的激发能量耦合进入样品阱6-638。在图6-6A中，较暗区表示具有较高光强度的区域。图 6-6B示出了微腔6-636和样品阱6-638的平面视图，其中将光通过被微腔6- 636朝向样品阱6-638引导。图6-6C示出了显示从波导6-634被耦合至样品阱6-638的光的横向剖视图。

[0374] 图6-6D示出了用于具有波导6-654、微腔6-656、和样品阱6-658的另一个示例性构造的模拟的平面视图。在此构造中，样品阱6-658与微腔6-656重叠，并且微腔6-658与波导6-654重叠。图6-6D示出了光，其中暗区表示较高的强度、由微腔6-656所支持的向样品阱6-658的传播。

[0375] 一些实施方式涉及一种微腔，该微腔被定位在样品阱层与波导之间，使得微腔与样品阱层的表面偏移。微腔可在垂直于光沿波导传播的方向上与样品阱层的表面偏移。在一些实施方式中，也可使微腔从样品阱的位置偏移，使得样品阱与微腔不重叠。微腔的尺寸和形成可被设计成提供从波导向样品阱的期望量的激发能量耦合。在一些实施方式中，相比在垂直于经过波导的光传播的维度，在沿平行于经过波导的光传播方向的方向上微腔可具有更长的尺寸。

[0376] 图6-7A示出了具有位于靠近样品阱6-708和波导6-704的微腔6-718的集成装置的剖视图。样品阱6-708形成于样品阱层6-716中。微腔具有尺寸 D，该尺寸D是平行于经过波导6-704的光传播方向；和尺寸h，该尺寸h是垂直于经过波导6-704的光传播的方向。在一些实施方式中，微腔6-718的尺寸D大于微腔6-718的尺寸h。微腔6-718可具有大约100nm、大约150nm、或大约200nm的尺寸h。微腔6-718可具有大约500nm、大约750nm、或大约1000nm的尺寸D。微腔6-718是位于沿y-方向与具有尺寸x1的波导6- 704表面相隔的一定距离处，和沿y-方向与具有尺寸x2的样品阱层6-716的表面一定距离处。在一些实施方式中，尺寸x2小于尺寸x1。在一些实施方式中，可使微腔6-718从样品阱层6-716中偏移，使得x2为大约200nm、大约 300nm、或大约400nm。

[0377] 在一些实施方式中，沿平行于经过波导6-704的光传播方向的方向，使微腔6-718从样品阱6-708偏移达一定距离。可使微腔6-718从样品阱6-708中偏移达中心-中心距离d。在一些实施方式中，使微腔6-718从样品阱6-708中偏移，使得微腔6-718与样品阱6-708不重叠。在一些实施方式中，微腔6- 718可定位成使得靠近样品阱6-708的微腔6-718的边缘从样品阱6-708中偏移达一定距离。在微腔6-718的边缘与样品阱6-708之间的偏移距离可以是大约50nm、大约100nm、大约150nm、或大约200nm。

[0378] 图6-7B示出了当激发能量传播经过波导6-704并利用微腔6-718被耦合到在样品阱层6-716中的样品阱6-708的光的强度的剖视图，类似于图6-7A 中所示的构造。激发能量沿z-方向行进经过波导6-704。如图6-7B中所示，一部分的激发能量(图示为黑线)通过耦合到微腔6-718而到达样品阱6-708。自从激发能量继续沿波导6-704传播，微腔6-718通过将一部分的激发能量从波导6-704朝向样品阱6-708引导而起光分接器的作用。

[0379] 图6-7C示出了位于靠近样品阱6-708位置的微腔6-718的平面视图。激发能量(图示为暗区)传播经过微腔并且被引导至样品阱6-708的内部。如图6- 7C中所示，微腔6-718可具有具有弯曲边缘的矩形形状，该弯曲边缘起朝向样品阱6-708引导光的作用。微腔6-718的边缘可具有曲率半径，从而允许期望水平的激发能量向样品阱6-708的耦合。靠近样品阱6-708的微腔6-718的第一边缘可具有小于与第一边缘的曲率半径相反的微腔6-718的第二边缘的曲率半径。

[0380] 一些实施方式涉及定位在样品阱与波导之间使得微腔与样品阱重叠并且与样品阱偏移一定距离的微腔。该微腔与样品阱可在垂直于沿波导的光传播方向的方向上重叠。该微腔可起增强激发能量进入样品阱的耦合的作用。在一些实施方式中，可利用微腔与样品阱之间显著的中心-中心对准，而使微腔与样品阱对准。在一些实施方式中，可将微腔定位成与样品阱相比更靠近波导。在一些实施方式中，微腔可位于波导的表面上。

[0381] 图6-7D示出了具有样品阱6-728、波导6-734、和位于样品阱6-728与波导6-734之间的微腔6-738的集成装置的剖视图。样品阱6-728是形成于样品阱层6-738中并且可延伸

超过样品阱层6-738从而包括在集成装置的层6-732 中的凹坑。层6-732可具有沿x-方向的尺寸h，如图6-7D中所示。微腔6-738 可位于层6-732内部。使得在微腔6-738与样品阱6-728之间存在一部分的层 6-732，并且在微腔6-738与波导6-734之间存在一部分的层6-732。如图6-7D 中所示，微腔6-738是位于沿y-方向与具有尺寸d1的样品阱6-728相隔一定距离处。微腔6-738是位于沿y-方向与具有尺寸d2的波导6-734相隔一定距离处。在一些实施方式中，尺寸d2小于d1。在一些实施方式中，微腔6-738 是位于样品阱6-728的表面和层6-732内部，使得尺寸d1等于零。

[0382] 集成装置的波导的一个或多个尺寸可在经过波导的光传播方向上沿波导的长度而变化。沿波导变化的一个或多个尺寸可提高耦合效率和在由波导提供给多个样品阱的激发能量的量中的大致均匀性。在一些实施方式中，波导的截面宽度可沿一行或列的像素而变化。波导可包括锥形部，使得波导的截面宽度沿激发能量经过波导的传播方向减小。图6-8A示出了在集成装置中的波导 6-804的平面视图。利用本文中所描述的一个或多个技术(例如，光栅耦合器、星形耦合器、MMI分路器)，将激发源6-802耦合到波导6-804。波导6-804呈锥形，使得沿图6-8A中所示的x-方向、沿波导6-804的尺寸、沿z-方向或者经过波导6-804光传播方向，波导6-804的尺寸减小。这样，波导6-804在靠近入射激发源6-802处具有与在进一步沿波导6-804的长度(沿z-方向)的位置相比更大的截面宽度(沿x-方向)。将波导6-804定位成与一排像素中样品阱耦合，可提供足以将期望量的激发能量耦合进入各样品阱的构造。因为一部分的激发能量从波导6-804中被耦合出用于各样品阱，所以由波导6-804所传播激发能量的量沿z-方向减小。当激发能量从样品阱中被耦合出时，沿着波导6- 804功率的量减小。通过减少波导6-804的截面宽度，与没有这种锥形部的波导相比可进一步沿波导6-804传播激发能量。

[0383] 图6-8B示出了图8A中所示波导6-804的剖视图。沿y-方向的波导6-804 的尺寸仍然大致相似，使得沿y-方向在样品阱6-808与波导6-804之间的距离沿波导6-804的长度是大致恒定的。虚线曲线表示当激发能量沿波导6-804 在z-方向上传播时激发能量的扩散。当波导6-808的截面宽度变窄时，激发能量的扩散变得更宽并且可补偿减小的功率。这样，波导6-802的截面宽度可平衡由波导6-802所传播的激发能量功率的减小，以便将充分量的激发能量输送至在一排像素中的各样品阱从而获得集成装置的期望性能。

[0384] 在一些实施方式中，锥形波导可构造成用于用于一排像素的相似耦合效率，其中在该行中的各像素包括微腔和样品阱。锥形波导和/或微腔的变化的一个或多个尺寸的组合可适应当激发能量被耦合到该行中的各样品阱时激发能量功率沿波导长度的减小。

[0385] 在一些实施方式中，一个或多个传感器可相对于波导而定位，以便测量沿波导传播的激发能量。其它结构(例如，光栅)可用于将至少一部分的激发能量汲取到传感器。如图6-8B中所示，监控传感器6-812a和6-812b是位于靠近波导端部的位置。光栅6-810a和6-810b是位于传感器6-812a和6-812b相反的波导6-808的一侧上。光栅6-810a和6-810b可用于分别在波导6-808中朝向传感器6-812a和6-812b引导激发能量。光栅6-810a与传感器6-812a的组合可监测被输入到波导6-804中的激发能量。光栅6-810b与传感器6-812b的组合可监测激发能量，如果有的话，在将激发能量耦合到一排样品阱6-808之后仍然存在的在波导6-804一端的激发能量。这样，传感器6-812a和6-812b 可监测在输入端、和输出端、和/或沿波导6-808的任何合适位置的波导6-804 中的功率。传感器6-812a和6-812b可检测信息，

包括在沿波导6-808的位置的功率水平。此信息可用于对使激发源与集成装置对准的各部件的各方面、和 /或激发源的功率加以控制。

[0386] 在一些实施方式中，波导可通过倏逝波场而耦合到样品阱。在一些实施方式中，具有位于样品阱附近的同心光栅环的牛眼光栅结构可改进激发能量从波导到样品阱的耦合。在一些实施方式中，波导可包括具有在样品阱附近减小的截面宽度的区域，使得来自在波导中传播的激发能量的倏逝波场耦合到样品阱。就一排像素而言，波导可包括具有沿波导长度减小的截面宽度的多个区域，用以提高在该行中各样品阱中的耦合均匀性和效率。这样，波导可被认为是在沿波导的某些位置具有缩紧部分。

[0387] 集成装置中具有一个或多个样品阱的层可干涉光经过波导的传播。在一些实施方式中，样品阱层是由金属(例如，铝)构成。理想的是将样品阱层定位在与波导相隔的某个距离处，以减小装置的损耗并提高性能。这些技术可允许通过将样品阱层定位在与波导的某个距离同时允许在该层中厚度样品阱接收充分量的激发能量而实现所期望的性能。

[0388] 图6-9A示出了相对于牛眼光栅结构6-910的波导6-904的平面视图。牛眼光栅结构6-910包括被定心在样品阱处的多个同心圆光栅。波导6-904包括缩紧区域，其中在靠近牛眼光栅结构6-910的中心位置的波导6-904的截面宽度较小。波导6-904的缩紧区域可通过沿波导6-904的某个距离形成锥形而形成。形成锥形的波导6-904的长度可以是对于减小激发能量损失和/或提高耦合效率为合适的量。波导可包括多个缩紧区，其中各缩紧区是与样品阱是相关的。多个缩紧区可具有沿波导长度而变化的一个或多个尺寸，以便将适当地均匀的功率和耦合效率提供给每个样品阱。图6-9B示出了用于将激发能量耦合到样品阱6-908的波导6-904的剖视图。牛眼光栅6-910被大致定位在样品阱 6-908处，并且用于将激发能量从波导6-904耦合至样品阱6-908。波导6-904 的截面宽度具有靠近样品阱6-908的缩紧区，使得当截面宽度变窄时激发能量场的扩散变宽。虚线表示激发能量的场从波导6-904中在y-方向上垂直地延伸的程度。在与样品阱6-908重叠的沿波导6-904的位置，激发能量的场是在某个位置从而允许将激发能量耦合到样品阱6-908。

[0389] 在缩紧区中的一个或多个尺寸的锥形部和/或在波导缩紧区中的锥形部的形状可提供期望水平的耦合效率。图6-10示出了用于作为在上方存在锥形部波形的长度的函数的不同锥形波形的总损耗、或者表示由于锥形加工所导致的损耗的量的锥形部长度的图表。如图10中所示，缩紧区的倾斜度更小的锥形部可通过减小总耦合损耗而提高耦合效率。对于线性或S形状的构造而言使截面宽度从0.5微米渐缩至0.3微米具有与使截面宽度从0.5微米渐缩至0.2 微米相比更低的总损耗。此外，增加截面宽度减小的长度可改善总耦合损耗。在一些实施方式中，波导可包括缩紧区，其中在大约20微米、大约40微米、大约50微米、大约60微米、大约80微米、或大约100微米的沿波导的长度上波导的截面宽度从大约0.3微米变化到大约0.5微米。

[0390] 在一些实施方式中，波导可通过减小在样品阱区域内部在样品阱与波导之间的距离而耦合到样品阱。这种构造可允许使部分的波导位于与样品阱层相隔的某个距离处，以提供期望的效率和激发能量的损耗。图6-11A示出了相对于具有样品阱6-1108的层6-1102而定位的波导6-1104的剖视图。形成与层6-1102相邻且大致定心在样品阱6-1108处的牛眼光栅。在这种实施方式中，波导具有大致均匀的截面厚度，并且从波导6-1104中延伸出的激发能量的场沿波导6-1104的长度是大致均匀的。通过形成层6-1102使得样品阱6- 1108和

波导6-1104具有沿y-方向的某个距离，可将激发能量耦合到样品阱6- 1108。牛眼光栅6-1110可将激发能量从波导6-1104进一步耦合到样品阱6- 1108。沿与样品阱6-1108分离的波导6-1104的其它区域在沿y-方向与靠近样品阱6-1108相比较大距离处可具有层6-1102。这种构造可被认为是样品阱下降部构造，并且在一些实施方式中提供大约0.3％的耦合效率。

[0391] 一些实施方式涉及在波导上形成一层或多层的材料，用以改进激发能量从波导到样品阱耦合。图6-11B示出了由样品阱层6-1116所形成的样品阱6- 1112的剖视图。如图6-11B中所示，样品阱层6-1116包括具有样品阱层6- 1116的开口的区域，该样品阱层6-1116形成样品阱6-1112。样品阱层6-1116 的该区域从集成装置的表面偏移达尺寸h。尺寸h可以是大于大约200nm、大约250nm、大约300nm、大约350nm、或大约400nm。通过蚀刻一部分的层6-1120并且在层6-1120上方形成样品阱层6-116，可形成样品阱层6- 1116的可偏移区。包括样品阱6-1112的样品阱层6-1116的区域是位于沿y- 方向与从波导6-1118相隔距离d1处。距离d1可以是大约250nm、大约300 nm、大约350nm、大约400nm、或大约450nm。在与波导6-1118相邻的位置形成层6-1114。层1114可具有高于层6-1120的折射率和低于波导6-1118的折射率。在一些实施方式中，层6-1114包括具有不同材料的多层。在一个示例性实施方式中，波导6-1118包含氮化硅并且层6-1114包含氧化铝和/或氧化钛。层6-1114是位于与样品阱层6-1116a相隔距离d2处。距离d2可以是大约50nm、大约100nm、大约150nm、大约200nm、或大约250nm。图 6-11C示出了沿图6-11B中所示线A-A’的剖视图。如图6-11C中所示，波导 6-1118可具有沿x-方向的侧向横向尺寸，该尺寸与包括样品阱6-1112的样品阱层6-1116的偏移区重叠。层6-1114可形成于波导6-1118上，使得层6-1114 与波导6-111C的多个侧面接触。

[0392] 此外或可替代地，可对沿波导在一行中的各像素之间的间距进行选择以减小波导损失。各像素可包括样品阱、一个或多个传感器、和/或牛眼光栅。可对在像素的各行之间的间距进行，以便容纳其它集成装置部件，例如电路。图6-12示出了具有被布置在带波导6-1204的矩形阵列中的像素6-1208的集成装置的平面视图，波导6-1204是用于将激发能量输送至一排的像素6-1208。图6-12示出了像素阵列的构造，其中在一行中各像素之间的间距x，小于在各行之间的间距y。通过将像素定位在一行中的某个距离处，可减小沿波导波导损耗。在各行之间具有较大的间距可减小一行像素对另一行的干涉，并且/ 或者提供合适的间距以适应在装置上的其它各部件，包括电路部件。

[0393] 集成装置的整个像素阵列可具有任何合适数量的像素和任何合适的像素布置。在一些实施方式中，一个像素阵列可具有正方形和/或矩形构造。在一些实施方式中，像素阵列可以是矩形，并且具有平行于波导的长度，该长度长于垂直于波导的长度。在其它实施方式中，可存在更多的波导和/或像素的行，并且平行于波导的各行的像素的长度可短于垂直于波导的长度。

[0394] 一些实施方式涉及一种带波导的集成装置，在垂直于经过波导的光传播且垂直于具有一个或多个样品阱的集成装置的表面的方向上该波导具有可变尺寸。在一些实施方式中，波导的尺寸在靠近样品阱但不与样品阱重叠的区域中可变化到较大。在一些实施方式中，波导的尺寸可与样品阱重叠的波导区域中减小。集成装置可包括用于与一排样品阱耦合的波导，其中在波导尺寸中的变化允许将大致相似量的激发能量耦合到各样品阱。

[0395] 图6-13示出了具有形成于样品阱层6-1316中的样品阱6-1308的集成装置的剖视图。波导6-1304包括具有沿y-方向x1的尺寸x1的区域6-1310，该尺寸x1是大于与具有沿y-方向的尺寸x2的样品阱6-1308重叠的一部分的波导6-1304。如图6-13中所示，区域6-1310从样品阱6-1308偏移并且形成在波导6-1304中的脊部。区域6-1310的尺寸和形状被设计成将期望量的激发能量从波导6-1304提供至样品阱6-1308。图6-14示出了具有形成于样品阱层 6-1416中的样品阱6-1408的集成装置的剖视图。波导6-1404包括与样品阱 6-1408重叠的区域6-1410。在区域6-1410中的波导具有沿y-方向的尺寸x2，该尺寸x2小于在区域6-1410外部的波导区域，这些区域具有沿y-方向的尺寸x1。在此构造中，波导6-1404包括在与样品阱6-1408重叠的区域6-1410 内部较小的尺寸。

[0396] 尽管图6-13和图6-14示出了单样品阱，但波导6-1304和6-1404可构造成耦合到一排的样品阱并且具有类似于位于靠近各样品阱的区域6-1310和6- 1404的区域。在一些实施方式中，位于靠近该行中的多个样品阱的区域的尺寸和/或形状可变化，使得大致相似量的激发能量耦合到各样品阱。这样，波导的区域可构造成适应用于减小沿波导且沿一排样品阱的激发能量传播。

[0397] E.将发射能量引导至传感器

[0398] 集成装置可包括位于一个像素的样品阱与传感器之间的一个或多个部件，用以改进传感器对来自样品阱中的样品的发光的采集。这种部件可提高发光信号与背景信号的信噪比，从而提供改进的发光标志的检测。一些部件可将来自样品阱的发光引导至在一个像素中的相应的传感器。在一些实施方式中，一个部件可提供合适的激发能量向样品阱的耦合、和来自样品阱的发光的耦合。其它部件(例如，滤光器)可减少激发能量和不与样品相关的其它光、和/或导致由传感器所获取的信号的标志。

[0399] 牛眼光栅可由在样品阱周围的同心光栅环所组成。牛眼光栅可与样品阱耦合以改进来自样品阱的发光的传播。该牛眼光栅结构可在具有样品阱的像素中朝向传感器引导发光。在一些实施方式中，由牛眼光栅所引导发光的有效直径为大约5微米。

[0400] 图7-1A示出了构造成引导来自样品阱7-108的发光的牛眼7-110的平面视图。牛眼结构7-110包括多个同心光栅。这些同心光栅可与样品阱7-108的中心大致对准。波导7-104可位于与至少一部分的牛眼结构7-110和样品阱7- 108重叠。波导7-104包括锥形区，该锥形区可允许发光到达位于具有样品阱 7-108的像素内部的传感器、和期望程度的通过传感器的发光的采集。锥形区可允许减小的波导7-104对于传感器的发光采集的干涉。在一些实施方式中，牛眼光栅可构造成朝向传感器引导多于一个特征发光能量或波长。图7-1B示出了用于引导来自样品阱7-108的发光的牛眼光栅的剖视图。虚线表示可从样品阱7-108中耦合出的两个特征波长λ1和λ2的扩散。两个特征波长λ1和λ2可以是用于给样品加标签的、从不同标志中所发出的特征波长。图7-1C示出了在波导7-104的横向剖视图中的牛眼光栅7-110的剖视图。牛眼光栅7- 110和波导7-104构造成使得从样品阱7-108中发出的发光被扩散从而允许发光能量通过集成装置的区域而是不是波导7-104。牛眼光栅7-110可在与样品阱7-108相隔的某个距离上方引导发光，如果牛眼光栅不存在该距离是较大。在一些实施方式中，牛眼光栅7-110可在发光的所有散射上减小。牛眼光栅7- 110可构造成用于激发能量耦合到样品阱7-108和将发光能量从样品阱7-108 中引导出。

[0401] 微腔提供波导和样品阱的耦合从而允许将激发能量传播至样品阱并且也可将来

自样品阱的发光引导至传感器。图7-2A示出了从样品阱7-208中偏移的波导7-204的剖视图。微腔7-211构造成引导来自样品阱7-208的发光。图 7-2A示出了由样品阱7-208所发出发光的强度，其中具有较高发光强度的区域较暗。微腔7-211可以远离波导7-204的角度而引导发光，从而减小波导7- 204对发光的散射。图7-2B示出了作为角度的函数的从样品阱中发出的发光的图表。如图7-2B中所示，微腔7-211可以从y-方向大约15度的角度引导发光。一个或多个微腔可以与y-方向的大约5度、大约10度、大约15度、大约20度、大约25度的角度引导发光。在一些实施方式中，传感器可从样品阱中偏移以便接收以这种角度所引导的发光。微腔7-211也可用于将来自波导的激发能量耦合到样品阱，使得微腔7-211提供激发能量向样品阱的耦合和发光从样品阱中的引导。在一些实施方式中，可形成多于一个微腔，用以耦合来自样品阱的发光。

[0402] 具有定心在传感器上的开口的挡板可形成于样品阱与传感器之间。如图 4-2中所示，挡板层4-226是位于样品阱4-22与传感器层4-230之间。在一个像素中的挡板可被设计用于除用于像素的发光外还抑制能量的采集。与样品阱和传感器相关的挡板可允许来自样品阱的发光到达传感器同时减少来自相邻像素的发光、激发能量、和不与来自与传感器相联的样品阱的发光相关的其它能量。挡板的开口的尺寸可构造成允许在相同像素上的牛眼所引导的发光。如图4-2中所示，挡板4-226具有沿z-方向的开口，从而允许发光通过位于层4-230中的传感器。可为了某些光学性质(例如减少在某些入射角上某些光波长或能量的传输)，而对挡板的材料进行选择。在一些实施方式中，挡板可由多层的具有不同折射率的材料所形成。挡板可包括一层或多层的硅、氮化硅(Si_3N_4)、硅、氮化钛(TiN)、和铝(Al)。用于形成挡板的层可具有大约20nm、大约20nm、大约50nm、大约60nm、大约70nm、大约80nm、或大约90 nm的截面高度。

[0403] 在一个例性实施方式中，挡板包括四层：具有22.34nm的截面厚度的氮化硅层、具有81.34nm的截面厚度的非晶硅层、具有30nm的截面厚度的氮化钛层、和具有50nm的截面厚度的铝层。将示例性挡板设计的吸收和反射示于图7-3，该图示出了在用于p和s偏振的0、20和35度的不同入射角下的吸收率和反射率。如图7-3中所示，挡板具有用于不同的向挡板的入射角的变化水平的吸收率，并且在较大的入射角处具有较大的吸收率。

[0404] 滤光部件可形成于波导和传感器之间，用于减少传感器对激发能量的采集。可提供用于过滤激发能量的任何合适方式。用于过滤激发能量的技术可包括基于光的一个或多个特征进行过滤。这种特征可包括波长和/或偏振。滤光部件可选择性地抑制散射的激发能量，同时允许发光通过传感器。图4-2中所示的层4-228可包括本文中所描述的一个或多个滤光部件。

[0405] 用于反射和/或吸收特定偏振的光的偏振滤光器可充当用于集成装置的滤光器。偏振滤光器可使用于其中经过波导的激发能量传播具有某个偏振并且由标志所发出发光可具有不同于激发能量的偏振的系统。偏振激发滤光器可构造成对激发能量的偏振进行过滤并由此减小传感器对激发能量的收集。在一些实施方式中，偏振滤光器可构造成当由激发所提供的激发能量被TE极化时吸收TE偏振光。偏振滤光器可由图案化线网偏振器所组成。在一些实施方式中，在线网中的线是铝。线的取向可沿垂直于一个或多个波导传播方向的方向而平行对准。当激发能量被TE偏振时，利用TE偏振激发能量的振荡电场使线的取向对准。这种线网偏振器的制造可提供合适的滤光器同时可忽略地导致总体集成装置的厚

度。这种线网偏振器可具有大约大于10dB的散射激发能量的损耗和大约3dB的发光损耗。在一些实施方式中，在其中线是不存在的线网滤光器中的开口可与一个或多个下面的传感器对准。这些开口可具有小于或大于一个或多个传感器的尺寸的尺寸。开口可允许来自像素的样品阱的发光被像素中的传感器收集同时周围的线网图案可提供对激发能量的过滤。

[0406] 图7-4A示出了具有包括多条线7-406的网的偏振激发滤光器的平面视图。该线网具有形成在集成装置的一个像素阵列中的像素区的开口7-408。波导7- 404可被定位成通过一排的开口7-408。图7-4B示出了沿线A-A'的剖视图，如图7-4A中所示。线7-406被定位在波导7-404与传感器7-410之间。在线 7-406中的开口7-408被定位成至少部分地与传感器7-410重叠。这样，可将开口7-408和传感器7-410包括在集成装置的相同像素中。开口7-408可允许发光能量通过，使得传感器7-410可检测发光，同时减小由传感器7-410所检测的激发能量的量。

[0407] 集成装置可包括波长滤光器，该波长滤光器是用于反射一个或多个特征波长的光并且允许具有不同特征波长的光的传输。在一些实施方式中，由波长滤光器反射的光可具有短于由波长滤光器所传递光的特征波长。这种波长滤光器可反射激发能量并且允许发冷光的传输，因为用于激发标志的激发能量通常具有短于响应于利用激发能量达到激发状态而由标志所发出发光的特征波长。

[0408] 波长滤光器可包括具有一种或多种材料的一层或多层。波长滤光器可包含二氧化钛(TiO_2)和/或二氧化硅(SiO_2)。在一些实施方式中，波长滤波器可包括具有高折射率材料和低折射率材料的交替层的多层的堆。各层的截面厚度可以是任何合适的厚度，并且在一些情况下可用于反射和/或传递特定波长的光。各层的截面厚度可以是由波长滤光器所传递光的波长的大约1/4。波长滤光器的一层的厚度可以是大约10nm、大约40nm、大约50nm、大约60nm、大约70nm、大约80nm、大约90nm、大约100nm、大约110nm、大约130 nm、或大约150nm。在一些实施方式中，一层的波长滤光器在中整个层的厚度中有小于1％的变化，从而提供在波长滤光器内部的合适的厚度均匀性。

[0409] 在一些实施方式中，不同的材料可包括二氧化钛(TiO_2)和二氧化硅(SiO_2) 的交替层。将二氧化钛和二氧化硅用作波长滤光器中的交替层可减小波长滤光器的结构的总厚度。

[0410] 交替层的堆可具有任何合适的厚度，以便提供期望水平的激发能量的过滤同时允许发光的传输。波长滤光器可具有大约3微米、大约3.5微米、大约 4微米、或大约4.5微米的厚度。可在集成装置的多个像素中形成波长滤光器。

[0411] 图7-5示出了集成装置的波长滤波器7-500的剖视图。波长滤光器包括层 7-501和层7-502的交替层。层7-501和7-502具有不同的折射率。例如，层 7-501可具有高于层7-502的折射率。可以通过使用具有不同折射率的材料，而实现用于层7-501和7-502的不同折射率。在一些实施方式中，层7-501可包含二氧化硅，层7-502可包含二氧化钛。波长滤波器7-500是形成于具有传感器7-510的像素区7-508内部。波长滤波器7-500可构造成允许具有一个特征波长λ2的光的传输，同时大体上反射不同的特征波长λ1。标志可发出具有λ2波长的冷光，该冷光可以通过激发滤光器7-500并且被传感器7-510所检测。激发能量可包括λ1。这样，传感器7-510可检测大致相对于标志的发光的信号。

[0412] 在一个示例性实施方式中，波导滤光器可包括49层的交替TiO_2和SiO_2，其中SiO_2的

层是在TiO_2和SiO_2层的堆的任一侧上。整个堆的总厚度为大约 3.876微米。图7-6绘制了作为波长的函数的用于大约10度入射角的p-偏振，平均偏振、s-偏振的透光率和大约0度入射角的透光率。消光损耗可在大约21 nm的波长范围内显著地变化，并且就大约10度的入射角而言在大约646nm 处为大约30dB。这种滤光器的厚度变化可以是小于大约1％从而减小由于厚度均匀性所造成的伪像。

[0413] 改变在波长滤光器的多层堆内部各层的厚度可改变其传输性能。改变在波长滤光器中的一层或多层的厚度可改变滤光器所传递光的波长。利用这种技术，滤光元件的各部分可传递一个波长的光，同时其它部分可传递不同波长的光，从而形成多波长滤光器。多波长滤波器的一个部分可与传感器重叠，用于接收经过该部分所传递的光。多波长滤光器的交替层的堆可具有两个部分，其中交替层的厚度为光波长的大约1/4，并且间隔件具有在两个1/4波长部分之间的一半波长。间隔件可起Fabry-Perot谐振器的作用。间隔件可具有可变厚度使得它具有在第一区中的厚度，该厚度是大于在第二区中的厚度。由于在间隔件厚度中的变化，因而由波长滤光器所传递光的波长可在整个滤光器中变化。第一区可允许具有第一波长的光的传输，第二区可允许具有第二波长的光的传输，其中第一波长比第二波长更长。此外，滤光器的第一区可大致反射具有第二波长的光，滤光器的第二区可大致反射具有第一波长的光。这样，长滤光器可提供由于间隔件厚度的变化所提供的在波长滤光器中所传递光的波长的变化。在其中对多于一个发光波长进行检测的实施方式中，可使用这种多波长滤光器。多波长滤光器可反射激发能量达大于10dB。

[0414] 在制作这种波长滤光器中，间隔件可形成为用于较长波长光的传输的厚度，并且被蚀刻在其中传递较短波长的光的区域中。在传递较短波长光的区域中的高折射率层可具有图案化的蚀刻区。

[0415] 图7-7示出了多波长滤波器7-700的剖视图。像素7-707包括多波长滤波器7-700和传感器7-710和传感器7-711的区域7-708和区域7-709。多波长滤波器7-700包括7-701和7-702的交替层及间隔件7-706。层7-701和层7- 702具有不同的折射率。例如，层7-701可具有高于层7-702的折射率。层7- 701和层7-702的不同折射率可以通过使用具有不同折射率的材料而实现。在一些实施方式中，层7-701可包含二氧化硅，层7-702可包含二氧化钛。如图7-7中所示，间隔件7-706具有可变厚度使得区域7-708具有小于区域7-709 的厚度。通过改变间隔件7-706的厚度，由滤光器7-700所传递光的波长从区域7-708变化到区域7-709。基于该区域，间隔件7-706的厚度可等于被传递光的波长的大约一半。间隔件7-706在区域7-708中具有小于在区域7-709中的厚度，使得经过区域7-708的光传输具有小于经过区域7-709的光传输的波长。区域7-708和7-709的厚度中变化的可以是大约5nm、大约10nm、大约15nm、大约20nm、或大约25nm。如图7-7中所示，区域7-708允许λ1的光的传输，区域7-709允许λ2的光的传输，其中λ2大于λ1。这样，位于区域7-708中的传感器7-710可检测λ1的光并且位于区域7-709中的可传感器 7-711检测λ2的光。此外，多波长滤光器7-706可构造成利用区域7-708和7- 709反射激发能量。如图7.7中所示，区域7-708和7-709两者反射λ3的光，该光可具有长于λ1和λ2两者的波长。

[0416] 图7-8示出了具有13层的交替TiO_2和SiO_2的示例性波长滤光器的作为波长的函数的偏振光的透光率的图表，具有在堆的任一侧上的SiO_2层和具有可变厚度的TiO_2间隔物。构成1/4波长层的TiO_2和SiO_2的交替层分别具有 76.0nm和118.51nm的厚度。TiO_2间隔物具有

在一个区域中的厚度(为137.16 nm)和在另一个区域中的厚度(大约122.16nm)。整个堆的总厚度为1.3微米。间隔层具有蚀刻区,该蚀刻区就滤光器的带通传输区而言与较长波长带通传输区相比薄大约15nm。传输区是定心在大约660nm和685nm处。其它空腔间隔件可使传输峰值变宽成为方波脉冲发生器。消光损耗可大致在10dB至 15dB的范围内。这种滤光器的厚度变化可小于大约1%,从而减小由于厚度均匀性所造成的伪像。

[0417] F.传感器

[0418] 可将能够获取时间仓信息的任何合适的传感器用于测量,以便检测发光标志的寿命。例如,于2015年5月20日提交的名称为“用于接收光子的时间划分的集成装置”的美国临时专利申请62/164,506描述了一种能够确定光子到达时间的传感器,该专利申请的全部内容以参考的方式并入本文中。使传感器对准,使得各样品阱具有用于检测来自样品阱的发光的至少一个传感器区。在一些实施方式中,集成装置可包括Geiger模式雪崩光电二极管阵列、和/或单光子雪崩二极管阵列(SPAD)。

[0419] 本文中所描述的是一种可以对入射光子的到达定时进行准确测量或“时间划分”并且可用于多种用途(例如核酸测序(例如,DNA测序))的集成光检测器。在一些实施方式中,集成光检测器可以以纳秒或皮秒分辨率测量光子的到达,这可以简化入射光子到达的时域分析。

[0420] 一些实施方式涉及一种具有光检测器的集成电路,该光检测器响应于入射光子而产生载流子并且能够相对于参考时间(例如,触发事件)区别利用入射光子的到达而产生载流子的定时。在一些实施方式中,载流子偏析结构将在不同时间所产生的载流子分离并且将载流子引导入一个或多个载流子存储区(称为“仓”),该载流子存储区聚集在不同时间段内所产生的载流子。各仓存储在所选择时间区间内产生的载流子。读出存储于各仓中的电荷可以提供关于在各时间区间内所到达光子数量的信息。这种集成电路可以使用于多种用途中的任何用途,例如本文中所描述的用途。

[0421] 下面将对具有光检测区和载流子偏析结构的集成电路的一个实例进行描述。在一些实施方式中,集成电路可包括像素的阵列,并且各像素可包括一个或多个光检测区和一个或多个载流子偏析结构,如下所述。

[0422] 图7-9A示出了根据一些实施方式的像素7-900的图示。像素7-900包括:光子吸收/载流子产生区7-902(也被称为光检测区)、载流子行进/俘获区7- 906、具有一个或多个载流子存储区的载流子存储区7-908,在本文中也被称为“载流子存储仓”或者简单地称为“仓”、用于从载流子存储仓中读出信号的读出电路7-910。

[0423] 光子吸收/载流子产生区7-902可以是可以将入射光子转换成光生载流子的半导体材料(例如,硅)的区域。光子吸收/载流子产生区7-902可暴露于光并且可接收入射光子。当光子被光子吸收/载流子产生区7-902所吸收时,光子可产生光生载流子,例如电子-空穴对。光生载流子在本文中也被简称为“载流子”。

[0424] 可在光子吸收/载流子产生区7-902中建立电场。在一些实施方式中,电场可以是“静止的”,正如通过改变在载流子行进/俘获区7-906中的电场而区分。在光子吸收/载流子产生区7-902中的电场可包括侧向分量、垂直分量、或者侧向分量和垂直分量两者。电场的侧向分量以是在图7-9A的向下方向上,如用箭头所表示,该侧向分离导致作用于光生载流子的力,该力朝向载流子行进/俘获区106驱动光生载流子。可以多种方式产生电场。

[0425] 在一些实施方式中，一个或多个电极可形成于光子吸收/载流子产生区7- 902的上方。电极可具有施加到其上面从而在中光子吸收/载流子产生区7-902 建立电场的电压。这种电极可称为“光门”。一些实施方式中，光子吸收/载流子产生区7-902可以是是完全贫含载流子的硅的区域。

[0426] 在一些实施方式中，可利用结(例如PN结)在光子吸收/载流子产生区7- 902中建立电场。可对光子吸收/载流子产生区7-902的半导体材料进行掺杂以形成具有产生电场的方位和/或形状的PN结，该电场导致作用于光生载流子的力，该力朝向载流子行进/俘获区7-906驱动光生载流子。在一些实施方式中，PN结的二极管P端子可连接到设定其电压的端子。这种二极管可被称为“钉扎”光电二极管。由于设定其电压并吸引载流子的端子，因而钉扎光电二极管可促进在表面处的载流子重组，由此可以减小暗电流。期望被俘获的光生载流子可在表面处的重组区下面通过。在一些实施方式中，可可利用在半导体材料中的梯度掺杂浓度建立侧向电场。

[0427] 如图7-9A中所示，可俘获光子并且可在时间t1产生载流子7-901A(例如，电子)。在一些实施方式中，可沿光子吸收/载流子产生区7-902和载流子行进 /俘获区7-906建立电位梯度，该电位梯度导致载流子7-901A在图7-9A的向下方向上行进(如图7-9A中的箭头所表示)。响应于电位梯度，载流子7-901A 可从在时间t1的其位置移动到在时间t2的第二位置、在时间t3的第三位置、在时间t4的四位置、和在间t5的第五位置。因此，响应于电位梯度，载流子 7-901A移动进入载流子行进/俘获区7-906。

[0428] 载流子行进/俘获区7-906可以是半导体区。在一些实施方式中，载流子行进/俘获区7-906可以是与光子吸收/载流子产生区7-902相同材料(例如，硅) 的半导体区，除了可将载流子行进/俘获区7-906屏蔽入射光(例如，利用覆盖的不透明材料，例如金属层)外。

[0429] 在一些实施方式中并且如下面进一步的描述，可利用位于这些区域上方的电极，在光子吸收/载流子产生区7-902和载流子行进/俘获区7-906中建立电位梯度。然而，本文中所描述的技术并不局限于用于产生电位梯度的电极的特定位置。本文中所描述的技术也不局限于利用电极建立电位梯度。在一些实施方式中，可利用在空间渐变掺杂分布建立电位梯度。可利用任何合适的技术来建立电位梯度，该电位梯度导致载流子沿光子吸收/载流子产生区7-902和载流子行进/俘获区7-906而行进。

[0430] 载流子偏析结构可形成于该像素中，从而能够将在不同时间所产生的载流子加以分离。在一些实施方式中，至少一部分的载流子偏析结构可形成于载流子行进/俘获区7-906的上方。如将在下面所描述的，载流子偏析结构可包括：形成于载流子行进/俘获区7-906上方的一个或多个电极，可通过控制电路以改变在载流子行进/俘获区7-906中的电位而控制其电压。

[0431] 可改变载流子行进/俘获区7-906中的电位从而能够俘获载流子。可通过以下方法来改变电位梯度：改变在覆盖载流子行进/俘获区7-906的一个或多个电极上的电压从而产生势垒，该势垒可以将载流子限制在预定空间区域内部。例如，可在时间t5改变覆盖图7-9A的载流子行进/俘获区7-906中的虚线的电极上的电压，从而提高沿图7-9A的载流子行进/俘获区7-906中的虚线的势垒，由此俘获载流子7-901A。如图7-9A中所示，在时间t5所俘获的载流子被转移到载流子存储区7-908的仓“仓0”。载流子向载流子存储仓的转移可通过以下方法而执行：可通过改变在载流子行进/俘获区7-906和/或载流子存储区7-908中的电位

(例如,通过改变覆盖这些区域的电极的电压)从而导致载流子进入载流子存储仓。

[0432] 在某个时间点改变在载流子行进/俘获区7-906的预定空间区域内的电位可使对由于在特定时间区间内发生的光子吸收所产生的载流子的俘获成为可能。通过在不同的时间和/或位置俘获光生载流子,通过光子吸收而产生载流子的时间可以是可区分。从这个意义上讲,可通过在触发事件发生后的某个时间点和/或空间点俘获载流子,而对载流子进行“时间划分”。在特定仓内部的载流子的时间划分提供关于通过入射光子的吸收而产生光生载流子的时间、因此同样地关于相对于触发事件的“时间仓”、产生光生载流子的入射光子的到达的信息。

[0433] 图7-9B示出了在不同的时间点和空间点俘获载流子。如图7-9B中所示,可时间t9改变覆盖载流子行进/俘获区7-906中的虚线的电极上的电压从而提高沿图7-9B的载流子行进/俘获区106中的虚线的势垒,由此俘获载流子7- 901B。如图7-9B中所示,可将在时间t9所俘获的载流子转移至载流子存储区7-908的仓“仓1”。因为载流子7-901B是在时间t9被俘获,所以它代表在不同于在时间t5被俘获的载流子7-901A的光子吸收事件(即,在t1)的时间 (即,时间t6)发生的光子吸收事件。

[0434] 基于载流子被俘获的时间执行多次测量并且在载流子存储区7-908的载流子存储仓中分离载流子,可以提供在光子吸收/载流子产生区7-902中俘获光子的时间的信息。这种信息可以用于如上所述的多种用途。

[0435] 在一些实施方式中,在激发脉冲后各时间元俘获的时间段可变化。例如,较短的时间元可用于在激发脉冲后立即检测发光,同时在进一步远离激发脉冲的时间可采用较长的时间元。通过改变时间源区间,可为给定的传感器提高与各时间元相关的电信号测量的信噪比。因为在激发脉冲后不久光子发射事件的概率较高,所以在此时间内时间元可具有较短的时间区间从而导致更多光子被检测的可能性。同时在较长的时间,光子发射的概率会是较低并且在此时间内进行检测的时间元可较长从而导致较少数量的光子的可能性。在一些实施方式中,可将具有显著较长时间段的时间元用于在多个寿命中的区分。例如,大部分的时间元可俘获在大约0.1-0.5ns范围内的时间区间,同时时间元可俘获在大约2-5ns范围内的时间区间。时间元的数量和/或各元的时间区间可取决于用于检测从样品物体中所发出光子的传感器。确定各元的时间区间可包括鉴定由传感器所提供时间元的数量所需的时间区间,以便在用于样品分析的各发光标志中进行区分。可在相似的条件下和时间元中对所记录的直方图的分布与标志的已知直方图进行比较,以鉴定在样品阱中的标志的类型。本申请的不同实施方式可测量各标志的寿命,但在用于激发标志的激发能量、在各像素中传感器区的数量、和/或由传感器检测的波长中有变化。

[0436] III.激发源

[0437] 根据一些实施方式,一个或多个激发源可位于集成装置的外部,并且可布置成将光的脉冲输送至具有样品阱的集成装置。例如,于2015年5月20日提交的名称为“脉冲激光器”的美国临时专利申请62/164,485描述了一种可用作激发源的脉冲激光器源,该专利申请的全部内容以参考的方式并入本文中。例如,可将光的脉冲耦合到多个样品阱,并且用于激发在阱内部的一个或多个标志。根据一些实施例,一个或多个激发源可在一个或多个特征波长处输送光的脉冲。在一些情况下,可将激发源封装成安装在基础仪器中或者耦合到基础仪器的可交换模块,可将集成装置装载进入该可交换模块中。可将来自激发源的能量

辐射地或非辐射地输送到至少一个样品阱或在至少一个样品阱中的至少一个样品。在一些实施例中，具有可控制强度的激发源可布置成将激发能量输送至集成装置的多个像素。可这些像素布置在线性阵列(例如，行或列)中，或者布置在2D阵列(例如，像素阵列的子区域或者整个像素阵列)中。

[0438] 可将任何合适的光源用于激发源。一些实施方式可采用不相干光源并且其它实施方式可采用相干光源。通过举出非限制性例，根据一些实施方式的相干光源中可包括不同类型的发光二极管(LED)，例如有机LED(OLED)、量子点(QLED)、纳米LED、和(无机)有机半导体LED。通过举出非限制性例，根据一些实施方式的相干光源可包括不同类型的激光器，例如半导体激光器(例如，垂直空腔表面发射激光器(VCSEL)、边缘发射激光器、和分布反馈(DFB) 激光二极管)。此外或可替代地，可采用平板耦合光波导激光器(SCOWL)或其它不对称单模波导结构。在一些实施例中，相干光源可包括有机激光器、量子点激光器、和固态激光器(例如，Nd:YAG或者ND:玻璃激光器，利用激光二极管或闪光灯进行抽运)。在一些实施方式中，可使用激光二极管抽运的光纤激光器。可将相干光源被动地锁模以产生超短脉冲。就在集成装置上的像素阵列而言，可存在多于一种类型的激发源。在一些实施方式中，可将不同类型的激发源加以组合。可根据用于制造所选择类型的激发源的常规技术来制造激发源。

[0439] 通过介绍并且不限制本发明，将相干光源的示范性布置示于图8-0A。该附图示出了分析仪器8-100，该仪器可包括超短脉冲激光激发源8-110作为激发源。超短脉冲激光器8-110可包括：增益介质8-105(在一些实施方式中可以是固态材料)、用于激发增益介质(未图示)的抽运源、和限定光学激光器空腔的端部的至少两个空腔反射镜8-102、8-104。在一些实施方式中，在激光器空腔中可存在一个或多个其它光学元件，用于光束整形、波长选择、和/或脉冲形成的目的。当操作时，脉冲激光器激发源8-110可产生超短光学脉冲8-120，该脉冲在激光器空腔中在空腔的端部反射镜8-102、8-104之间来回循环并且经过增益介质8-105。空腔反射镜8-104中的一个可部分地传递一部分的循环脉冲，以便从脉冲激光器8-110发出一连串的光学脉冲8-122并到达随后的部件8-160，例如光学部件和集成装置。发出的脉冲可清除用光束束腰w加以鉴定的光束(用虚线表示)。

[0440] 发出脉冲8-122的测量的时间强度波形可以是如图8-0B中所示。在一些实施方式中，发出脉冲的峰值强度值可以是大致相同的，并且各波形可具有 Gaussian时间波形，尽管其它波形(例如双曲正割波形)也是可行的。在一些情况下，脉冲可不具有对称的时间波形并且可具有其它时间形状。在一些实施方式中，增益和/或损耗动力学可获得具有不对称波形的脉冲。各脉冲的持续时间可通过全宽度半最大(FWHM)值加以鉴定，如图8-0B中所示。超短光学脉冲可具有小于100皮秒的FWHM值。

[0441] 从激光器激发源中发出的脉冲可间隔达有规律的间隔T。在一些实施方式中，T可通过在激光器中的主动增益和/或损耗调制率而确定。就锁模激光器而言，T可通过在腔端反射镜8-102、8-104之间往返行程时间而确定。根据一些实施方式，脉冲间隔时间T可以是在约1ns和约100ns之间。在一些情况下，脉冲间隔时间T可以是在约0.1ns和约1ns之间。在一些实施例中，脉冲间隔时间T可以是在约100ns和约2ns之间。

[0442] 在一些实施方式中，光学系统8-140可在来自激光激发源8-110的脉冲8- 122的光束上操作。例如，该光学系统可包括一个或多个透镜，用于对光束进行整形和/或改变光束

的发散。光束的整形可包括增加或减小光束束腰的值和 /或改变光束的截面形状(例如,从椭圆形变为圆形、从圆形变为椭圆形,等)。改变光束的发散可包括使束流会聚或发散。在一些实施例中,光学系统8-140 可包括用于改变光束能量的量的衰减器或放大器。在一些情况下,该光学系统可包括波长滤光元件。在一些实施例中,该光学系统可包括脉冲整形元件,例如脉冲展宽器和/或脉冲压缩器。在一些实施方式中,该光学系统可包括一个或多个非线性光学元件,例如用于减小脉冲长度可饱和吸收体。根据一些实施方式,光学系统8-140可包括改变来自激光激发源8-110的脉冲偏振的一个或多个元件。

[0443] 在一些实施例中,光学系统8-140可包括非线性晶体,用于利用倍频或者将来自激发源8-110的输出波长转换成较短波长、或者较长波长利用参量放大。例如,可在非线性晶体中使激光器的输出倍频(例如,在周期极化铌酸锂 (PPLN)中)或者其它非极化非线性晶体。这种倍频工艺可允许更高效的激光器产生更适合于所选择荧光团的激发的波长。

[0444] 短语“特征波长”或“波长”可指代在由激发源所产生辐射的有限带宽内的中心波长或主波长。在一些情况下,它可指代在由激发源所产生辐射的带宽内的峰值波长。例如,基于对在生物分析装置中所使用发光标志或探针的选择,可对激发源的特征波长进行选择。在一些实施例中,就所选择荧光团的直接激发(例如,单光子激发)而言对激发能量源的特征波长进行选择。在一些实施例中,对激发源的特征波长进行选择用于间接激发(例如,多光子激发或者谐波转换成将提供直接激发的波长)。在一些实施方式中,激发辐射可由构造成在特定波长处产生激发能量以便施加给样品阱的光源所产生。在一些实施方式中,激发源的特征波长可小于来自样品的相应的发射的特征波长。例如,激发源可发出具有在500nm和700nm之间的特征波长(例如,515nm、532nm、 563nm、594nm、612nm、632nm、647nm)的辐射。在一些实施方式中,例如激发源可提供定心在两个不同波长处的激发能量,例如532nm和593nm。

[0445] 在一些实施方式中,脉冲激发源可用于激发发光标志从而测量发光标志的发射寿命。这可用于基于发射寿命而不是基于发射颜色或波长来区分发光标志。作为一个例子,脉冲激发源可周期性地激发发光标志,从而产生并检测随后的光子发射事件,该事件是用于确定标志的寿命。当来自激发源的激发脉冲在小于发光标志寿命的时间段从峰值脉冲功率或强度变化到较低(例如,几乎熄灭)功率或强度时,发光标志的寿命测量可以是可行的。有利的是激发脉冲迅速地终止,以便它在激发后阶段中当对光标志的寿命进行评估时不再次激发发光标志。例如但不限于,在250皮秒后脉冲功率可下降至小于峰值功率大约20dB、大约40dB、大约80dB、或大约120dB。在一些实施例中,在100皮秒后脉冲功率可下降至小于峰值功率大约20dB、大约40dB、大约 80dB、或大约120dB。

[0446] 利用超短激发脉冲来激发发光标志的另一个优点是减小标志的光褪色。将连续激发能量施加给标志会随着时间推移使发光标志褪色和/或损坏。即使激发源的峰值脉冲功率可显著地高于在连续暴露中将会快速地损坏标志的水平,但超短脉冲的使用可增加在标志变得被激发能量损坏之前的有用测量的时间量和数量。

[0447] 当利用脉冲激发源来区分发光标志的寿命时,在激发能量的脉冲之间的时间可与标志的最长寿命一样长或更长以便观察并评估在各激发脉冲后的发射事件。例如,在各激发脉冲之间的时间间隔T(参见图8-0B)可长于被检查荧光团的任何发射寿命。在这种情况下,在来自以前脉冲的激发荧光团已具有合理量的时间来发荧光之前,随后的脉冲可不到

达。在一些实施方式中，间隔T 需是足够长以便确定在激发荧光团的激发脉冲与在激发脉冲的终止之后且在下一个激发脉冲之前随后由荧光团发出光子之间的时间。

[0448] 尽管在各激发脉冲之间的间隔T应足够长以便观察荧光团的衰减性能，但是也理想的是T足够短从而允许在短时间段中进行多此测量。例如但不限于，在一些应用中所使用荧光团的发射寿命可在约100皮秒至约10纳秒的范围内。因此，用于检测和/或区分这种寿命的激发脉冲可具有在约25皮秒至约 2纳秒范围内的持续时间(FWHM)，并且可以在约20MHz至约1GHz范围内的脉冲重复频率而提供。

[0449] 更详细地，可采用用于调制激发能量以形成用于寿命测量的脉冲激发源的任何合适技术。激发源(例如激光器)的直接调制可包括调制激发源的电驱动信号使得发出的功率是采用脉冲的形式。可对光源的输入功率(包括光学抽运功率)和激发状态载流子注入和/或从一部分增益区的载流子去除进行调制以实现增益介质的增益，从而允许经过动态增益整形而形成激发能量脉冲。此外，可通过各种方式对光学谐振腔的品质因数(Q)进行调制从而利用调Q技术形成脉冲。这种调Q技术可以是主动的和/或被动的。可对激光器的谐振腔的纵向模式进行锁相，从而通过锁模而产生发射光的一系列脉冲。这种锁模技术可以是主动的和/或被动的。激光器腔可包括单独的吸收部分从而允许对载流子密度的调制和对该部分的吸收损耗的控制，因此提供用于对激发脉冲进行整形的其它机制。在一些实施方式中，光调制器可用于调制连续波(CW)光的光束以便采用激发能量的脉冲形式。在其它实施方式中，被发送至联接到激发源的声光调制器(AOM)的信号可用于改变输出光的偏转、强度、频率、相位、和/或偏振从而产生脉冲激发能量。AOM也可用于连续波光束扫描、调Q、和 /或锁模。尽管上述技术是用于形成脉冲激发源的，但产生脉冲激发源的任何合适的方式可用于测量发光标志的寿命。

[0450] 在一些实施方式中，用于形成适于寿命测量的脉冲激发源的技术可包括对驱动光子发射的输入电信号的调制。一些激发源(例如，二极管激光器和 LED)将电信号(例如输入电流)转换成光信号。光信号的特征可取决于电信号的特征。在产生脉冲光信号中，电信号可随时间推移而变化从而产生可变光信号。将电信号调制成具有特定波形可产生具有特定波形的光学信号。电信号可具有带某个频率的正弦波形并且所形成的光脉冲可出现在与该频率相关的时间区间内。例如，具有500MHz频率的电信号可每2纳秒产生脉冲的光信号。由不同脉冲激发源所产生的组合光束，无论是否彼此相似或不同，可具有低于 1mm的相对路径差。

[0451] 在一些激发源(例如激光二极管)中，电信号改变载流子密度并且通过电子与空穴对的重组而产生光子。载流子密度是与光信号有关，使得当载流子密度超过阈值时利用模拟的发射而产生大量的相干光子。提供给激光二极管的电流可将电子或载流子注入装置，由此增加载流子密度。当载流子密度超过阈值时，可以比提供载流子的电流更快的速率而产生光子，因此可将载流子密度减小到低于阈值并且光子产生减小。由于光子产生减少，所以载流子密度开始再次增加，由于连续的电流引入和光子的吸收，并且最后再次增加次超过阈值。此循环导致载流子密度在阈值附近振荡用于光子产生，从而导致光信号的振荡。由于载流子密度的振荡，这些动力学(被称为张弛振荡)可以导致光信号中的伪像。当电流最初被提供给激光器时，在光信号达到稳定功率之前由于载流子密度中的振荡可存在振荡。当形成脉冲激发源时，载流子密度的振荡可导入脉冲光信号的伪像。例如，图8-1中的图表

示出了载流子密度如何经过增益开关的调制而具有张弛振荡和具有振荡功率的相应的光信号。来自这种张弛振荡伪像可使脉冲光信号变宽并且/或者产生在光信号中的拖尾，从而限制可以由这种脉冲光源所检测的寿命，因为激发信号可与由发光标志所发出的光子重叠。

[0452] 在一些实施方式中，用于缩短激发脉冲的时间段的技术可用于减小检测发光标志所需的激发能量并由此减小或延迟发光标志的褪色和其它损坏。用于缩短激发脉冲的时间段的技术可用于减小在激发脉冲的最大值或峰值后的激发能量的功率和/或强度，从而允许较短的寿命检测。这种技术可电驱动激发源，从而减小在峰值功率后的激发功率。这可抑制脉冲的拖尾，如图8-2中所示。可对电驱动信号进行修整以便将激发能量的脉冲强度在峰值脉冲后尽可能迅速地驱动到零。将修整电驱动信号与增益开关的组合的实例示于图8-2。这种技术可包括在产生峰值功率后使电驱动信号的标记反转。这种经修整的电驱动信号可产生图8-2中所示的光输出。可对电信号进行修整从而在光学信号的第一张弛振荡或第一振荡之后迅速地减小载流子密度。通过在第一次振荡之后减小载流子密度，可仅产生第一振荡的光脉冲。电信号可用于产生短脉冲，该短脉冲通过减小在信号中峰值后所发出光子的数量而迅速地将光信号关闭，例如显示这种电信号的光学输出的图8-3的图表中所示。根据一些实施方式，皮秒激光二极管系统可被设计用于发出光脉冲。图8-4示出了具有985mW的峰值、84.3皮秒的宽度的示例性光脉冲、和在峰值后大约250皮秒处减小达大约24.3dB的信号的图表。在一些实施方式中，可利用可饱和吸收体，包括半导体可饱和吸收体(SESAMs)来抑制光学拖尾。在这种实施方式中，使用可饱和吸收体可抑制光学拖尾达3-5dB，或者在一些情况下大于5dB。减少激发脉冲中的拖尾的影响可减小和/或排除对激发能量进行进一步滤光的需要，延长可以测量的寿命的范围，并且/或者获得更快的脉冲频率。增加激发脉冲频率可使在给定的时间中进行更多的实验成为可能，由此可减少获取足够的统计数据以便鉴定标记样品物体的标志的寿命所需的时间。

[0453] 此外，两个以上的这些技术可共同地用于产生脉冲激发能量。例如，可利用光学调制技术对从直接调制源中所发出的脉冲激发能量做进一步的调整。可以任何合适的方式将用于调制激发脉冲和调整电脉冲驱动信号的技术加以组合从而使用于执行寿命测量的脉冲激发能量最大化。可从直接调制源将修整的电驱动信号提供给脉冲激发能量。

[0454] 在一些实施方式中，具有某个数量的引线接合的激光二极管可用作脉冲激发源。具有更多引线接合的激光二极管可减小激发源的电感量。具有较低电感量的激光二极管可使进入激光器的电流能够在较高频率下操作。如图8-中所示5，当在50欧姆传输线中由18V脉冲驱动时，具有3欧姆串联电阻的和 36个引线接合的激光源在高于具有较少引线接合的激光器源的频率下具有较高的电流。对封装方法进行选择使电感量最小化可提高在较高频率下提供给激发源的功率，从而能够获得较短的激发脉冲、在峰值后更快的光学功率降低、和/或增加的用于检测发光标志的脉冲重复频率。

[0455] 在一些实施方式中，传输线结合激发源可用于产生光脉冲。该传输线可与激光二极管的阻抗匹配从而改进光脉冲的性能和/或品质因数。在一些实施方式中，传输线阻抗可以是50欧姆。在一些情况下，终端电阻可类似于线的电阻从而避免反射。可替代地或此外，终端阻抗可类似于线的电阻从而避免反射。终端电阻可小于线的阻抗以便反射负脉冲。在其它实施方式中，诊断阻抗可具有电容或电感部件，以便控制负反射脉冲的形状。在其它实

施方式中，传输线可允许较高频率的脉冲。图8-6A中示出了传输线脉冲星的示范性原型，图8-6B示出了利用这种传输线所获得的示例性光脉冲。使用传输线可产生具有在40MHz至500MHz范围内的频率的电脉冲。传输线使用于上述修整电信号，从而产生具有具有某个时间段和特定时间区间的光脉冲的脉冲光源。

[0456] 用于调整电信号以改进光脉冲的产生的技术可包括：将激发源连接到具有负偏移能力的电路。在一些实施方式中，可在光脉冲发出之后在激发源上提供负偏移以减小光脉冲中的拖尾的发射。图8-7示出了包含电源、二极管激光器、电阻器、电容器、可以用于减少光脉冲中的拖尾的存在的开关的一个示例性电路。这种电路可形成恒定电流，当开关被关闭时或者在导电状态中该恒定电流绕过二极管激光器。当开关是打开时，开关可具有高电阻并且电流可流动经过二极管激光器。可通过打开和闭合开关而产生光脉冲从而将断续电流提供给二极管激光器。在一些情况下，电阻可以是充分地高并且电容器充分地小，使得当开关是打开并且二极管激光器发出光时存在经过电容器的电压。当把开关闭合时，经过电容器的电压将使二极管激光器反向偏置。这种反向偏置可减少或排除光脉冲中拖尾的存在。在这种情况下，开关可构造成在光脉冲的峰值后闭合从而在峰值光脉冲后立即减小激光器功率。可对电路中电阻器的值进行选择，使得在开关随后被打开和/或随后由激光二极管产生光脉冲之前在电容器上的电荷将放电。

[0457] 可提供其它电路部件用以调整激光二极管的电信号从而产生光脉冲。在一些实施方式中，可将多个电容器、电阻器、和电压以网络电路的形式加以连接，以控制提供给激光二极管的电信号的波形。当存在N个电容器子电路时，通过转换具有相应的信号S1、S2、…、SN的电压V1、V2、…、VN的数量，可形成受控制的波形。将四个电容器子电路的一个示例性网络电路示于图8- 8，其中所控制的电波形可通过切换分别具有信号S1、S2、S3和S4的电压V1、V2、V3、和V4而形成。在一些实施方式中，电压V1、V2、V3、和V4 可以是可变的。在图8-8中所示的实例中，对激光器的V4是负的并且基于信号S4而形成反向偏置。对由激光器所发出光脉冲的频率的定时、各光脉冲的持续时间、和各光脉冲的特征，可用信号输入S1、S2、S3和S4进行调整。在一些实施方式中，可增加其它电阻以降低峰值电流。在这种情况下，可在一个或多个开关S1、S2、S3、S4之后添加电阻。尽管图8-8示出了具有四个电容器和四个电压的一个构造，但任何合适的构造和任何合适的数量的其它电路部件可提供用于产生对激光二极管的修整电信号从而产生用于寿命测量的光脉冲。

[0458] 在一些实施方式中，用于产生光脉冲的信号可使用具有分立部件的电路，包括射频(RF)和/或微波部件。可包括在这种电路中的分立部件是直流隔断器、适配器、逻辑门、终端联结器、移相器、延迟、衰减器、合束器、和/或射频放大器。这种部件可用于形成具有某个波幅的正电信号接着产生具有另一个波幅的负电信号。在正电信号与负电信号之间可存在延迟。图8-9A示出了具有一个RF放大器的示例性电路，该电路可用于产生作为输出脉冲的修整电信号，例如在图8-9B中所述的脉冲波形，该电信号可提供给激发源(例如激光二极管)从而发出光脉冲。在其它实施方式中，电路可产生多个电信号，将这些电信号加以组合而形成用于驱动激发源的电脉冲信号。这种电路可产生差分输出，该差分输出可用于增加光脉冲的功率。通过调整电路的分立部件，可对电输出信号进行调整从而产生适于寿命测量的光脉冲。在图8-10A中所示的实例中，利用两个RF放大器产生输出具有在图8-10B中所示波形的脉冲信号，该脉冲信号是由正电信号脉冲和相应的负电信号脉冲所组成，其中正

和负电信号脉冲重叠并且具有相似的宽度。

[0459] 在一些实施方式中，可将各激发源组合从而产生用于寿命测量的光脉冲。同步脉冲激发源可耦合到在某个距离处的电路或载荷。在一些实施方式中，激发源可并联地联接到电路。这些激发源可以是来自相同的源或来自多个源。在使用多个激发源的一些实施方式中，多个激发源的类型可变化。当将把各激发源组合时，重要的是考虑电路和激发源的阻抗，从而具有提供给激发源的充分的功率。各激发源的组合可通过采用一种或多种的用于制造脉冲激发源的上述技术而实现。图8-11A示出了用于具有一个或多个阻抗值的四个不同的激发源的组合的示意图。图8-11B示出了为阻抗的函数的电流、功率效率和电压的图表。该示例性实施方式示出了将功率输送到50欧姆传输线并且当载荷的阻抗等于各单独线的阻抗与激发源数量的比率时实现优化功率输送的4个激发源。

[0460] 激发源可包括电池或者用于将功率提供给激发源的任何其它电源。例如，激发源可位于基础仪器中，并且其操作功率可以经过与激发源联接的集成生物分析装置而接收(例如，经由导电引线)。可独立于或者与集成生物分析装置合作对激发源进行控制。仅作为一个例子，可以无线方式或者经由与个人计算机和/或集成生物分析装置的有线互连(例如，USB互连)，将用于激发源的控制信号提供给激发源。

[0461] 在一些实施例中，用于集成装置的一个或多个传感器的激发源可以时间选通和/或同步的方式而操作。例如，可将激发源打开以激发发光标志，然后关闭。在将激发源打开时将传感器关闭，然后在将激发源关闭后可开启达采样区间。在一些实施方式中，在将激发源开启时可将传感器开启达采样区间。

[0462] IV.激发源与集成装置的对准

[0463] 激发能量从一个或多个激发源向在集成装置上的光栅耦合器的定位，可利用任何合适的技术而执行。在一些实施方式中，可将激发能量从激发源经过一个或多个光学部件引导至光栅耦合器。在这种实施方式中，可将激发能量投射到集成装置上。这种激发源的对准可由定位激发源和/或光学部件主动地执行。在其它实施方式中，可利用将激发源相对于光栅耦合器而定位的各部件，使激发源对准光栅耦合器。这种激发能量源的定位可经过光纤的被动对准而进行，从而提供激发能量在插芯内部。在这种实施方式中，可将激发源直接地或间接地连接到集成装置。

[0464] A.主动对准

[0465] 在将激发能量输送至样品阱之前和/或在将集成装置用于分析的多个时间，执行一次一个或多个激发源与集成装置的对准。用于一个或多个激发源的对准和/或稳定化的任何合适技术可用于将激发能量耦合到集成装置。在一些实施方式中，在持续时间中没有进一步调整同时将集成装置是用于分析使，可使外部激发源对准到集成装置和然后固定其位置。在其它实施方式中，提供反馈机制用以改进激发源与集成装置的对准。该反馈机制可使用于操作者利用手动对准机构基于反馈信号使激发源对准。在其它情况下，自动对准机构可基于反馈信号自动地调整激发源与集成装置的对准。自动对准可在集成装置的操作进行之前和/或在采集测量之前进行。自动对准也可在集成装置的操作期间进行同时获取测量。在一些情况下，自动对准发生的时间可与传感器不主动地采集测量的时间相对应。重新调整激发源与集成装置的对准可改进激发源的稳定性和/或在一个或多个样品中随时间推移传感器测量的一致性。

[0466] 在多个尺寸中可基于反馈信号主动地控制对准。多个尺寸可包括激发能量光束向光栅耦合器的x-y侧向位置、沿光栅耦合器的方向光束的入射角、光束的聚焦的z方向、和/或垂直于光栅耦合器方向的光束的直交入射角。激发源可经由框架连接到集成装置。这种对准机构可利用一个或多个伺服控制光学元件而执行。主动对准机构可提高在集成装置中的激发源向一个或多个波导的总耦合效率。这种对准机制与其它对准方法相比可降低与一次性使用集成装置相关的其它成本，并且/或者减小其它对准方法所需要的在集成装置上的印迹。此外，主动对准机构可减小操作这种集成装置和/或系统的操作者的培训。

[0467] 执行对准的各部件可取决于激发源和集成装置的构造。在一些实施方式中，集成装置和激发源可构造成进入单独的模块。基础仪器可包括带盖和将集成装置连接到电路从而检测来自在集成装置上的传感器的电信号的插座的暗盒。一个激发源模块可包括一个或多个激发源、用于一个或多个激发源的、插座连接和/或将光引导至集成装置的光学部件。当把激光器是用作激发源时，激发源模块可被称为激光器模块。

[0468] 在一些实施方式中，在自由空间中光学部件将激发源耦合到集成装置。反射镜和/或其它光学部件可将来自激发源的激发能量引导至波导。光学部件可增加激发源的集中的深度。图9-1示出了用于接受集成装置9-102的基础仪器 9-112。基部仪器9-112包括反射镜9-114布置成引导从激发源模块9-110接受的激发能量(用虚线表示)和朝向集成装置9-102的一个区域(例如紧邻光栅耦合器的表面)引导激发能量。激发源模块9-110包括激发源9-106和调整激光9-108。对准机构9-108可调制x、y、z位置，x和y入射角，和激发源9- 206向对准激发源和/或光学部件z定位或集中从而改进激发能量向集成装置的耦合。这种光学部件可包括反射镜、反射器、透镜、棱镜、光栅、和/或可倾斜窗，例如图9-3中的示范性组光学各部件布置。激发源9-106的对准可经过来自集成装置9-102和通过激发源模块9-110经过耦合到集成装置9-102 的插座9-116所接受的反馈(用实心箭头表示)而确定。通过插座9-116接收的电信号可表示激发源9-106的对准。这种电信号可用于主动反馈过程通过发送将从集成装置9-102中所接受的电信号发送t激发源模块9-110并且将表示对准激光9-108和/或激发源9-106的一个或多个参数的调整信号提供至对准机构9-108。当通过激发源模块9-110接收电信号，对准激光9-108可包括调整激发源9-106和/或光学部件的位置。这种对准工艺可自动地和/或手动地进行。

[0469] 在一些实施方式中，反射镜是作为激发源模块的一部分而提供。图9-2示出了包括用于将激发能量(用虚线表示)引导至集成装置9-202的反射镜9-214 的激发源模块9-210的示意图。基础仪器9-212是用于接受集成装置9-202和激发源模块9-210使得反射镜9-214是位于将来自激发源9-206的激发能量引导至集成装置9-202。对准模块9-206可基于通过从用于耦合到9-202的插座9-216的激发源模块9-210所接收的反馈信号(表示为实心箭头)来调制激发源9-206和/或反射镜9-214的一个或多个参数。反馈信号可提供激发能量与集成装置9-202的区域(例如，光栅耦合器)的对准的指示。对准机构9-208可调制x、y、z位置，x和y入射角，及of激发源9-206和/或光学各部件的z 定位或集中以改进激发能量向集成装置的耦合。这种光学部件可包括反射镜、反射器、透镜、棱镜、光栅、和/或可倾斜窗，例如图9-3中的示范性组的光学部件布置。

[0470] 在一些实施方式中，将来自激发源模块的激发能量经过光纤耦合到基础仪器，例如在在图9-4中所示的实例中。光纤将来自激发源模式的激发能量输出连接到在基础仪器

中的输入。在一些实施方式中，光纤是单模式光纤。在基础仪器内部的光学部件将激发能量引导至集成装置。激发能量与集成装置的对准可经过这种光学部件而执行。基于由集成装置所接收的电信号的反馈接收可引导基础仪器内部的一个或多个光学各部件的调整从而改进激发能量与集成装置的对准。

[0471] 将停留在集成装置的顶部上的激发模块的另一个实例示于图9-5至图9- 11中。除了用于在9-501将激发能量输送至在集成装置上的一个或多个光栅耦合器的光学和对准部件外，激发源模块还包含一个或多个激发源在。对准部件被包括在模块9-502中并且位于集成装置9-501的上方。激发源与集成装置的粗对准可通过将钢球轴承置于集成装置上并且形成与激发源模块上、自动地对准钢球轴承的磁化凹槽而进行。如图9-6中所示，存在结合到集成装置表面9-501的三个钢球轴承9-503并且激发源模块具有三个磁化的径向V形凹槽9-504，该凹槽自动地对准三个球轴承以使激发源模块向集成装置的定位稳定化，包括所有三个平移和所有三个旋转自由度。激发源模块9-502可包括铰链销9-505，用于使模块与集成装置倾斜在从而提供对集成装置的接近。图 9-6示出了在向上位置的激发源模块。图9-7示出了在当通过磁化凹槽使钢球轴承对准时向下位置中的相同的激发源模块。在激发源模块的顶部表面上，存在带激发源的电路板9-506，在此实例中激光二极管。将激光二极管的电路板 9-506、校准透镜9-508、和散热器9-507更详细地示于图9-8。印刷电路板可具有用于驱动和支持激光二极管的电路。可存在可聚焦的校准透镜，用以将来自激光二极管的光聚焦。此外，在激光二极管周围存在用于散热的散热器。激发源模块具有用于校准的激光光束的入口9-509，如图9-9中所示。该入口被导热阻隔9-510包围，用于接受激光二极管散热器。此外，将旋转致动器9- 511a、9-511b和9-511c设置在激发源模块上，用于控制x-y位置和输送至集成装置的光束的入射角。旋转致动器可以是产生旋转运动或扭矩的任何合适的致动器，包括步进电机和伺服电机。旋转致动器控制充当沿光路径的可倾斜窗的平面平行板的。每个板的倾斜是通过相应的旋转致动器而控制。当使用点光源时，例如激光二极管，在聚焦透镜之前的在平面平行板光路径调整中的入射角同时将导入平面平行板聚焦透镜调整光束的x-y位置后。在激发源模块内部的光学部件引导和调制来自激光二极管的光，如在图9-10中所示的剖视图中所示。光束的路径是用虚线表示。来自激发源模块进入光束进入顶部表面 which是进入视图的平面，和通过45度棱镜反射to传播至图9-10的平面视图的顶部。具有平面平行板9-512的旋转致动器9-511a是沿光路设置在失真棱镜9-513的前面并具有可调整入射角。该失真棱镜在一个方向中将光束拉伸或收缩以将光束的截面从椭圆形波形调整到大致更圆形的波形。光束拉伸或收缩的量是通过棱镜的入射角而控制。然后，光束被另一个棱镜9-514反射通过聚焦透镜9-515从而将光束聚焦在集成装置上。然后，光束通过两个以上的旋转致动器驱动的可倾斜窗9-516，该窗调整光束在集成装置上的x-y位置并且光束垂直地从图9-10中的视图的视图中传播出。将说明三个旋转致动器在激发源模块内部的定位的另一个视点示于图9-11。

[0472] 沿从激发源到集成装置的激发能量路径的对准可在将集成装置定位在基础仪器内部之后的任何合适的时间执行。在一些实施方式中，激发源和/或光学各部件在激发源模块或者基础仪器中的对准是最初地获得并且不存在随后的重新对准工艺。这种对准步骤可称为初始静态对准。初始静态对准工艺可以是手动的、自动的、或者手动与自动工艺的组合。在一些实施方式中，激发源和/或光学部件的对准可经历在连续主动对准工艺中的多次

重新对准。基于来自集成装置的反馈电信号，连续主动对准工艺可以是自动的。在一些实施方式中，该对准工艺可包括初始手动对准接着是连续主动对准。

[0473] 在对准工艺期间，可对激发能量的光束的各种可能参数进行调整。这种参数可包括x-y-z位置、聚焦、相对于波导的角度、垂直于波导的角度、和/或光束的放大倍数、高宽比、和/或像散程度。将对集成装置的突出激发能量束准直的变化汇总于图9-12。

[0474] B.被动对准

[0475] 一个或多个激发源的定位可通过光纤的被动对准而进行，该光纤将激发能量传送至集成装置。被动对准技术可包括相对于光栅耦合器将光纤牢固地定位从而将激发能量耦合到波导的一系列部件。这些部件是由任何合适的材料(包括塑料和金属)所制成。被动对准部件具有任何合适的尺寸，从而适应某个尺寸的光纤。此外，可将各部件设计用于便于将光纤与集成装置连接和分离。

[0476] 在一些实施方式中，部分的被动对准部件可形成用于光纤的插芯的连接和定位的插座，该光纤传送激发能量并且将插芯相对于集成装置而对准。插座可由任何合适的材料(例如塑料或金属)制成。插座的尺寸可被设计成适合于插芯。

[0477] 被动对准部件可包括机械参考部件，用以实现光纤向集成装置的定位。机械参考部件可提高光纤相对于光栅耦合器在集成装置上定位的精度。机械参考各部件可位于集成装置的表面上。在一些情况下，机械参考各部件设定插芯与集成装置表面的对准。机械参考各部件可设定与集成装置表面的距离，使得光纤插芯不与集成装置的表面接触。此外或可替代地，机械参考各部件可为用户提供指示物，以便鉴定何时实现正确的对准。作为一个例子，机械参考可提供光纤插芯在插座内部的正确对准的视觉指示。在一些实施方式中，夹具可附接到光纤插芯，以实现光纤插芯相对于一个或多个被动对准部件的正确的旋转定位。

[0478] 在图9-12至图9-16中所示出的是可形成用于光纤插芯的插座和/或机械参考的示例性被动对准各部件。光纤插芯具有插芯壁9-1201和单模光纤(SMF) 芯9-1202。在一些实施方式中，光纤插芯可具有0.5mm的直径。如图9-12中所示，示例性插座的平面剖视图可包括具有两个对准壁的部件9-1203，用于形成插座并且当将光纤插芯定位在插座的内部时与光纤插芯接触。这些对准壁形成具有90度角度的拐角。在一些实施方式中，对准壁中的一个可任选地以与垂直于集成装置表面成5度的角度而倾斜。机械参考部件可将光纤插芯定位在插座内部。在一些实施方式中，在集成装置表面上机械参考部件可包括：与由两个对准壁所构成的插座的拐角对准的第一机械参考圆柱体、和与对准壁部件的一侧对准的第二机械参考圆柱体。第一机械参考圆柱体9-1205可被称为“角垫”，第二机械参考圆柱体9-1204可被称为“侧垫”。机械参考圆柱体可通过将金电镀在集成装置表面上而形成。其它机械参考部件可包括位于集成装置表面上的一个或多个z-止动垫片9-1206，用以维持光纤插芯的端部与集成装置表面之间的距离。该z-止动垫片可通过将金电镀在集成装置表面上而形成。在一些实施方式中，模制塑料夹9-1207可附接到光纤插芯，用以提供相对于对准壁部件的旋转对准，从而通过附接到对准壁部件将插芯定位进入两个对准壁的拐角。模制塑料集成装置也可将插芯定位在与集成装置相隔一定距离处，从而当把插芯插入插座时提供z-止动。

[0479] 图9-13示出了被动插座的一个实施方式的沿在图9-12中的线A-A’的截面，其中使光纤插芯相对于集成装置表面9-1208而对准。光纤插芯的端部可以与垂直于光纤芯的方向

成8度的角度而倾斜。这种角度可通过将光纤插芯的抛光而形成。可将一个或多个的z-止动垫片和/或角垫设置在集成装置的表面上。在定位在插座中时，光纤芯可与集成装置中的光栅耦合器9-1209重叠以便将激发能量耦合到波导。

[0480] 将光纤插芯的对准的另一个实施方式示于图9-14中，图中示出了沿在图 9-12中所示线A-A'的截面。在此实施方式中，模制塑料夹9-1207附接到光纤插芯9-1201，用以提供光纤插芯9-1201相对于对准壁部件9-1203的定位使得插芯与对准壁接触，并且被推动进入在两个对准壁之间的90度拐角。附接到光纤插芯的模制塑料夹也可通过如下方法而提供用于光纤插芯的z-止动：具有从光纤插芯的端部延伸出使得当模制塑料夹与集成装置接触时光纤插芯的端部位于与集成装置表面相隔一定距离处的的部分。

[0481] 在另一个实施方式中，在集成装置的金属表面上形成一个阶梯，以便当使光纤插芯定位时提供z-止动。图9-15示出了沿图9-12的线A-A'的这种实施方式的剖视图。当将光纤插芯9-1201定位时，光纤插芯的端部与阶梯9-1210 接触并且将光纤插芯的各部分相对于集成装置表面而定位。

[0482] 图9-16示出了一个实施方式其中一个的对准壁9-1603具有相对于垂直于集成装置表面5度的角度。当定位在这种插座中时，光纤插芯与倾斜的对准壁接触使得光纤芯也在垂直于集成装置表面的角度上。光纤插芯的端部可垂直于光纤芯的方向。在这种实施方式中，光纤插芯的端部可不具有倾斜抛光，因为光纤与集成装置表面的角度是由对准壁的角度而实现。

[0483] 在一些实施方式中，可将光纤插芯定位在模制塑料部件中大致平行于集成装置的表面，并且模制塑料部件可具有用于引导光的一个或多个透镜。来自这种光纤插芯的激发能量可从光纤经过模制塑料部件而传播，从而与集成装置表面上的光栅耦合器耦合。模制塑料部件可由具有折射率的材料制成，用于朝向光栅耦合器引导激发能量。此外，模制塑料部件可形成具有边缘角度，以便朝向光栅耦合器引导激发能量。当定位于模制塑料部件中时，可使光纤插芯对准在模制塑料部件内部，从而利用经过模制塑料部件折射率与一个或多个边缘角度的组合可以朝向在集成装置上的光栅耦合器引导激发能量。图9-17 示出了用于使光纤插芯与500微米的直径匹配的一个示例性模制塑料部件。来自光纤的激发能量传播经过校准表面到达倾斜表面并且从倾斜表面中反射，经过具有某个折射率的模制塑料而传播至光栅耦合器。在集成装置表面处的激发能量的入射角可取决于倾斜表面的角度和材料的折射率。在一些实施方式中，倾斜的表面可以45度减去入射角与折射率的比率而倾斜，从而使激发能量对准到集成装置。

[0484] 图9-18示出了光纤插芯、对准壁部件、和集成装置的一个示例性布置。光纤插芯是位于对准壁部件的内部在集成装置的一个拐角中。该光纤插芯具有0.5mm的直径。对准壁具有0.75mm的厚度。将对准垫定位在插座的内部并且具有200微米的直径。当定位于插座中时，来自光纤的激发能量可在具有某个长度的集成装置的方向上与初始波导耦合对准。在一些实施方式中，使初始波导对准在具有大约9mm长度的集成装置的方向上。

[0485] 图9-19示出了利用光栅耦合器将激发能量从光纤芯向波导的耦合。在一些实施方式中，激发能量光束的直径可扩张到15微米。光栅耦合器特征的曲率半径可以是大约81微米，其中光栅耦合器将激发光束重聚焦。然后，可将光栅耦合器激发能量朝向导条棒和最终波导重聚焦。

[0486] 在一些实施方式中，被动对准可通过投影到耦合器上的光束而进行，当存在光学装置的充分稳定性从而允许正确的对准时激发能量的投影光束可进行。在制造期间，可设定光束的对准，使得当使集成装置正确定位时将光束耦合到在集成装置上的光栅耦合器。可利用要求插入的集成装置与包括激发源的激光器模块准确对准的技术，将集成装置插入。作为一个例子，插入的集成装置的对准可被动地通过运动球和杆的使用而实现。在这种情况下，位于集成装置上的球允许激光器模块对准集成装置，并且在用户将集成装置放置在附近之后进一步使集成装置与激光器模块对准。在一些实施方式中，集成装置的位置精确度是光束直径内。作为一个例子，将球放置在集成装置上可允许将20μm 光束定位在在5μm内的精确度。在一些情况下，光束与光栅耦合器的角度可具有在少数毫弧度内的精确度。此外，可对在集成装置上的各球的间距进行调整从而允许改进的集成装置相对于光模块的手动放置。作为一个例子，具有多于5mm分离的各球的间距可允许在手动放置中的毫弧度精确度。这种被动对准技术可降低该系统的总成本并且减小对会干扰系统操作的主动对准技术的需要。

[0487] C.激发能量监控传感器

[0488] 多种监控传感器可形成于集成衬底内部并且用于监测在集成装置内部不同位置的激发能量的强度和/或功率。由这种监控传感器所产生的电信号可使用于在集成装置的操作期间的反馈过程中。基于监测信号的电信号也可表示经过集成装置传播的激发能量的减小的品质因数，从而产生操作者的误差信号。这可包括激发源已或正在失效的指示。在一些情况下，在激发能量与光栅耦合器的对准期间，监控传感器可提供反馈信号。监控传感器可以是任何合适的传感器，包括光传感器，例如光检测器和光电二极管。

[0489] 可设置监控传感器，用以监测沿波导的激发能量。可在波导的开始处设置传感器，其中激发能量在波导已与与一行的样品阱耦合之后最初在波导的端部并且/或者沿波导长度的任何位置与波导耦合。光栅耦合器可用于改进来自波导的激发能量的耦合以便由传感器进行检测。来自监控传感器的信息可用于控制系统的各部分并且/或者用作于信号处理的输入。

[0490] 在一些实施方式中，监控传感器是位于光栅耦合器的下面，用以接收通过光栅耦合器的激发能量。基于由这种传感器可所检测激发能量的强度的信号可用于将激发能量光束定位和对准至光栅耦合器。在一些情况下，多个监控传感器是位于光栅耦合器的下面。具有多个孔的材料(例如金属)的非透明层可位于光栅耦合器与多个传感器之间。该非透明层中的孔可与各传感器重叠，使得通过孔的激发能量被由传感器检测。通过由传感器检测通过各孔的激发能量通过，可确定激发能量光束在光栅上的位置。图9-20示出了这种布置的一个实例，其中在金属层中的四个孔9-2010是用于让光通过到达四个传感器9- 2008，这些传感器可看所是象限光检测器。当激发能量9-2004耦合到光栅耦合器9-2002并进入锥形波导9-2006时，部分的激发能量可通过在金属层中的孔9-2010而到达一个或多个传感器9-2008。金属层可起在没有孔9-2010的区域中的反射层的作用并且可改进激发能量9-2004向光栅耦合器9-2002和锥形波导9-2006的耦合。来自传感器9-2008的信号可提供用于对准反馈的矢量，具有充分的信息来演绎反馈环中的各调整所需的幅值和标记。在一些情况下，可为对准反馈提供各脉冲的激发能量。当使激发能量的光束定心该四个传感器上时，可实现对准。

[0491] 在一些实施方式中，与各像素相关的一个或多个传感器可用于激发能量的监测和/或对准。可将激发能量的功率或强度设定为低值，例如“低功率”模式，并且可通过调整一个或多个的x-y-z位置和/或在集成装置中相对于波导的角度来执行激发源的定位。提高激发能量的对准可通过激发能量的光束的定位而进行，其中由光检测器所检测的强度信号增加到某个值。在一些情况下，可执行对激发源参数的调整以确定强度信号超过某个值，从而表示操作的充分对准。

[0492] 在一些实施方式中，监测传感器可位于各波导的端部，用以检测沿各波导所传播光的量。光栅与相关的各监测传感器可定位成于使得光栅和监测传感器是位于波导的相反侧。将传感器9-2101a和9-2101b及设置在波导两端的光栅9-2102a和9-2102b的一个实例示于图9-21。在一些情况下，在波导两端的信号可用于进一步的信号处理，以补偿沿波导的激发能量损耗。当利用波导给多个样品阱提供激发能量时，对沿波导长度的总激发能量损耗的补偿可用于将至少某个量的激发能量输送至各样品阱。此外，在波导端部的吸收元件9-2104可用于减少停留在波导中的任何光的散射，如图9-22中所示。

[0493] 此外或可替代地，监测传感器可位于沿波导路径的特定位置。这种监测传感器可以是位于多模干涉分路器的前面、多模干涉分路器的后面、一个或多个样品阱的前面、和/或在一个或多个样品阱的后面。可基于其中激发能量损耗可进行和/或其中激发能量损耗的监测可以是在集成装置的所有操作中的一个因素，对监测传感器的这种位置进行选择。

[0494] 在一些实施方式中，传感器可位于集成装置的像素阵列的任一侧上，用以监测来自一个或多个波导的输入激发能量和输出激发能量。集成装置可具有一个或多个光栅耦合器，用于将输入激发能量耦合进入一个或多个波导。可将输入波导划分成多个波导，其中各划分波导将激发能量输送至一行的样品阱。在一侧上，传感器可监测输入激发能量在光栅耦合器上的位置。在其它侧上的这些传感器可对来自在一行样品阱后面的一个或多个波导的端部的激发能量进行测量。在一些实施方式中，激发源与集成装置的对准可包括利用反映光束的x-y定位的来自输入传感器的信号最初地将激发能量光束定心在栅耦合器上，并且基于来自在各波导端部的输出传感器的信号进一步调整激发能量光束参数，例如聚焦和/或入射角。在一些情况下，可将来自输出传感器的信号可用作校准步骤，可在将集成装置使用于分析之前为各集成装置确定该校准步骤。此外，可利用来自输出传感器的信号将用集成装置所获得的测量值归一化。

[0495] 图9-22和图9-23示出了监控传感器的示例性布置，其中在像素阵列的任一侧上的存在两个传感器阵列。各传感器具有是在x和y方向上的像素间距的两倍的中心-中心间距。传感器的这种布置可适应不同构造的光栅耦合器。两列的组中的一个组监测输入激发能量，其中采用正方形布置的一组的四个传感器被用作象限检测器，如上面参照图9-20所描述。光栅耦合器9-2201可位于在输入列中的四个传感器9-2202的上方，其中在光栅耦合器与传感器之间的一层对激发能量是不透明的。在这种构造中，四个传感器可用于监测激发能量光束在光栅耦合器上的定位。例如，由四个传感器所测量的强度可用于监测激发能量光束的x-y定位和与光栅耦合器的对准。上输出侧上的两列可监测来自单独波导的激发能量。如图9-22中所示，在输出列中的传感器9-2204 连接到单独波导9-2203。光栅耦合器9-2205可用于将来自波导的激发能量耦合到输出传感器。输出传感器可通过测量在一行的样品阱后的各波导端部所耦合的功率来监测被引导入波导的激发能量。图9-22示出了用于在

输入监控传感器上的输入波导的光栅耦合器的示例性布置，被输入波导的部件9-2206 划分成将激发能量输送到样品阱9-2207的波导和在位于输出传感器上的波导端部的光栅耦合器，其中各输出传感器是用于监测波导。图9-23示出了具有在像素阵列的任一侧上的两列监测传感器9-2307的集成装置的示例性布置，用以提供如上所述的激发能量的对准读出。

[0496] D.多个激发源

[0497] 多个激发源可将具有不同能量或波长的光提供至多个光样品阱。多个激发源的每个激发源可提供具有不同的特征波长或能量。可基于来自激发源的光是否激发标志使得标志发出光子，来鉴别一个或多个标志。这样，标志可基于它们的吸收光谱通过在用来自不同激发源的光照射样品后测量样品的响应而加以鉴别。例如，具有标志的样品可用来自第一激发源的光进行照射接着用来自第二激发源的光进行照射。如果标志响应于被来第一激发源的光照射而发光，那么标志可具有与第一激发源的特征波长重叠的吸收光谱。

[0498] 在一些实施方式中，能够将多个激发源用于激发能量。这些多个源可具体化为例如包括多个二极管激光发射器的二极管激光棒。在激光二极管的制造中，通常将多个发射器光刻制作在单衬底上，然后却成用于单独封装的单发射器件。但也能够将衬底切成多个发射器。在一些实施方式中，发射器几乎是相同的，并且可相等地彼此间隔成光刻公差，通常为大约0.1微米。

[0499] 为了将来自多个发射器的光耦合到集成装置，可以将各发射器反映到在集成装置上的单独的光栅耦合器上。图9-24示出了将激发能量耦合到集成装置的两种方法。在图9-24中所示的两个实例中，发射器的阵列是沿在左侧的虚线，并且光栅耦合器的阵列是沿在右侧的虚线。图中示出了四个发射器的阵列和四个光栅耦合器，但任何数量的发射器和耦合器是可能的。

[0500] 在图9-24A的顶部，使用两个透镜，其中左手的透镜至少与发射器的阵列一样达，并且右手的透镜是至少与光栅耦合器的阵列一样大。该实例示出了统一放大倍数的情况，但可采用任何适当的放大倍数，只要各透镜与其相应的阵列相隔一个焦距处，并且只要在各透镜之间的距离是它们的焦距的和值。

[0501] 在图9-24B的下部，利用透镜的阵列将发射器反映到光栅耦合器。透镜的阵列可以具体化为球形或非球形透镜的单片或多片阵列，或者具体化为在图示的平面中的圆柱形或非圆柱形透镜的单片或多片阵列，补充有在直交方向上的单个圆柱形或非圆柱形透镜。该实例说明出了统一放大倍数的情况，但可以采用任何适当的放大倍数，只要把适当的光束扩张或光束收紧透镜插入各透镜阵列之间。

[0502] 可以任何合适的方式将样品阱和波导布置在集成装置中，从而允许来自多个激发源的激发能量与多个样品阱的耦合。多个激发源可将不同特征波长的光提供给多个样品阱。用于接收来自多个激发源的光一个波导可将光输送至一个或多个样品阱。集成装置可包括允许来自多个激发源的光被输送至多个样品阱的其它各部件(例如，功率分路器、波长合束器)。

[0503] 一些实施方式涉及一种集成装置具有用于传播从波导一端所接收的光的多于一个的特征波长的波导。位于波导附近的样品阱可耦合来自波导的一部分光。图9-25A示出了用于耦合来自集成装置中的两个激发源的光的示例性示意图。第一激发源提供具有第一特

征波长λ1的光。第二激发源提供具有第二特征波长λ2的光。集成装置包括两个光栅耦合器：用于耦合来自第一激发源具有λ1的光的第一光栅耦合器、和用于耦合来自的第二激发源具有λ2的光的第二光栅耦合器。集成装置包括两个功率分路器，各自耦合到一个光栅耦合器。耦合到第一光栅耦合器的功率分路器的尺寸和形状被设计成提供用于传播具有λ1的光的多个输出。耦合到第二光栅耦合器的功率分路器的尺寸被设计成和形状提供用于传播具有λ2的光的多个输出。波长合束器接收来自功率分路器的输出作为输入，并且尺寸和形状被设计成具有用于将λ1和λ2两者耦合入波导的输出。这样，位于波导附近的样品阱可接收来自第一和第二激发源的λ1和λ2光两者。

[0504] 一些实施方式涉及一种具有波导的集成装置，该装置是用于传播从波导相反端所接收的多于一个特征波长的光。位近波导附近的样品阱可耦合来自波导的一部分的光。图9-25B示出了用于耦合来自在集成装置中的两个激发源的光的一个示例性示意图。在集成装置中的波导构造成接收来自波导的一端的具有第一特征波长λ1的光、和来自波导另一端的具有第二特征波长λ2 的光。集成装置包括两个光栅耦合器：用于耦合来自具有λ1第一激发源的光的第一光栅耦合器，和用于耦合具有λ2波长来自第二激发源的光的第二光栅耦合器。集成装置包括两个功率分路器，各自耦合到一个光栅耦合器。耦合到第一光栅耦合器功率分路器的尺寸和形状被设计成提供用于传播具有λ1的光的输出并且与波导的第一端耦合。耦合到第二光栅耦合器的功率分路器的尺寸和形状被设计成提供用于传播具有λ2的光的输出并且与波导的第二端耦合。

[0505] 一些实施方式涉及一种集成装置，该装置具有相对于样品阱而定位的两个波导以便将在两个波导的每个波导中所传播的光耦合到样品阱。两个波导被耦合到提供具有不同特征波长的光的不同激发源。图9-25C示出用于耦合来自集成装置中的两个激发源的光的了示例性示意图。第一波导是用于传播具有第一特征波长λ1的光。第二波导是用于传播具有第二特征波长λ2的光。样品阱被定位成将来自第一波导具有λ1波长的光与来自第二波导的具有λ2 的光加以耦合。第一波导可通过光栅耦合器和/或用于传播具有λ1波长的光的功率分路器的组合而接收来自激发源的光。第二波导可通过光栅耦合器和/或用于传播具有λ2波长的光的功率分路器的组合而接收来自激发源的光。

[0506] V.使用集成装置和激发源的示范性测量

[0507] 用于对样品中的分子进行检测、分析和/或探测的测量可利用本申请中所描述的集成装置或者集成装置与激发源的任意组合而实现。该激发源可以是脉冲激发源，或者在一些情况下是连续波源。给特定样品加标签的发光标志可表示样品的存在。可利用激发能量、发光发射波长、和/或由标志所发出的发射能量的寿命，对发光标志进行区分。具有相似发光发射波长的可标志可通过确定各标志的寿命而区分。此外，具有相似寿命的标志可通过用于各标志的发光发射波长而鉴别。通过使用标志，其中通过发出发光的时间和/或光谱性质的组合对标志加以鉴别，可执行标志和相关样品的定量分析和/或鉴别。

[0508] 寿命测量可用于确定存在于样品阱中的标志。可通过执行多个实验对发光标志的寿命加以鉴别，其中将发光标志激发成激发状态然后测量发出光子的时间。给激发源施加脉冲以产生激发能量的脉冲并且在标志处引导激发能量脉冲。对在激发脉冲与随后的来自发光标志的光子发射事件之间的时间进行测量。通过使用多个激发脉冲重复这种实验，可确定在特定时间区间内发出光子的情况的数量。这种结果可给代表在一系列的离散时间区

间或时间元内所发生光子发射事件的数量的直方图增添数据。可对各元的时间元和/或时间区间的数量进行调整，以鉴定特定的组的寿命和/或标志。

[0509] 接下来的是对在一些实施方式中可鉴定发光标志的示范性测量的描述。具体地，仅利用发光寿命测量、共同的光谱和发光寿命测量、和仅发光寿命测量但采用两种不同激发能量来区分发光标志的实例进行描述。实施方式并不局限于下面详细描述的实例。例如，一些实施方式可仅利用光谱测量来鉴定发光标志。示范性测量的进一步的细节可参见于2015年5月20日提交的名称为“用于核酸测序的方法”的美国临时专利申请62/164,482，该专利申请的全部内容以参考的方式并入本文中。

[0510] 可使用任何合适的发光标志。在一些实施方式中，可使用从市场中买到的荧光团。例如但不限于，可使用以下的荧光团：Atto Rho14(“ATRho14”)、Dylight650(“D650”)、SetaTau647(“ST647”)，CF633(“C633”)、CF647(“C647”)、Alexa fluor647(“AF647”)，BO下降Y630/650(“B630”)、CF640R(“C640R”)和 /或Atto647N(“AT647N”)。

[0511] 此外和/或任选地，可以任何合适的方式来修改发光标志以增加样品分析过程的速度和精确度。例如，可将光稳定剂偶联到发光标志。光稳定剂的例子包括但不限于除氧剂或三重态猝灭剂。与发光标志的偶联光稳定剂可增加发出光子的速率并且也可减小其中发光标志不发出光子的“闪烁”效应。在一些实施方式中，当生物学事件以毫秒级进行时，光子发射的速率增加可增加生物事件的检测概率。增加光子事件的速率可随后提高发光信号的信噪比并且增加完成寿命测量的速率，从而导致更快和更准确的样品分析。

[0512] 此外，视需要，可对在集成装置的样品阱中的环境进行调整从而设计这些标记的寿命。这可以通过确认标记寿命受到标记的状态密度的影响而实现，该标记的状态密度可以利用环境进行调整。例如，标记与样品阱的金属底层的距离越远，则寿命越长。因此，为了增加标记的寿命，样品阱的底面(例如凹坑) 的深度可从金属层延伸达某个距离。另外，用于构成样品阱的材料会影响标记的寿命。虽然不同的标记通常具有它们的在相同方向上位移的寿命(例如，更长或者更短)，但就不同的标记而言该效应可不同地缩放。因此，可对在自由空间中不能利用寿命测量加以区分的两个标记进行设计，以便可通过制作样品阱环境从而调整各种标记的寿命而加以区分。

[0513] A.单分子检测和测序

[0514] 根据本申请的一个方面，当单分子暴露于多个单独的光脉冲时，可以基于从分子中所发出一系列光子的一种或多种特性对单分子进行鉴定(例如，与反应样品中其它可能分子加以区分)。在一些实施方式中，用荧光标记物给该分子加标记。在一些实施方式中，荧光标记物是荧光团。在一些实施方式中，可以基于荧光标记物的特性来鉴别或区分荧光标记物。荧光标记(例如，荧光团) 的特性包括但不限于：荧光寿命、吸收光谱、发射光谱、荧光量子产率、和发光强度、及其中两个以上的组合。

[0515] 在检测(例如，测序)的准备中，可对生物样品进行处理。这种处理可以包括生物分子(例如，核酸分子)从生物样品中的分离和/或纯化、及产生生物分子的更多拷贝。在一些实例中，从受试对象的体液或组织中分离并纯化一个或多个核酸分子，并且经过核酸扩增(例如聚合酶链反应(PCR))而扩增。然后，可以鉴定一个或多个核酸分子或其亚单位，例如通过测序。然而，在一些实施方式中，可以不要求扩增的情况下以本申请中所描述的方式来评估核酸样品(例如，测序)。

[0516] 测序可以包括:通过合成出与模板互为互补或类似的另一种生物分子,例如通过合成与模板核酸分子为互补的核酸分子而确定模板生物分子(例如,核酸分子)的单独的亚单位;以及鉴定随时间推移核苷酸的掺入(例如,通过合成的测序)。作为一个替代,测序可以包括生物分子的单独亚单位的直接鉴定。

[0517] 在测序期间,聚合酶可偶联(例如,附接)到靶核酸分子的引发位置。该引发位置可以是与靶核酸分子为互补的引物。作为一个替代,引发位置是在靶核酸分子的双链段内部所提供的缺口或切口。缺口或切口的长度可以是从0到至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30或40个核苷酸。切口可以提供在双链序列的一条链中的断裂,该断裂可以提供用于聚合酶(例如链置换聚合酶)的引发位置。

[0518] 在一些情况下,测序引物可以退火到可以或可以不被固定化到固体载体 (例如样品阱)的靶核酸分子。在一些实施方式中,可将测序引物固定化到固体载体,靶核酸分子的杂交也将靶核酸分子固定化到固体载体。通过酶(例如,聚合酶)的作用能够将核苷酸加入或掺入引物,可以将核苷酸以5’到3’的模板结合方式加入到引物。这种核苷酸向引物的掺入(例如,利用聚合酶的作用)通常可以被称为引物延伸反应。可以将各核苷酸与可以被检测且用于确定掺入引物的各核苷酸和因此新合成核酸分子的序列的可检测标签相联。利用新合成核酸分子的序列互补性,也可以确定靶核酸分子的序列。在一些情况下,将测序引物退火到靶核酸分子和将核苷酸掺入测序引物可以在相似的反应条件下(例如,相同或相似的反应温度)或者在不同的反应条件下(例如,不同的反应温度)发生。此外,一些通过合成进行测序的方法可以包括在一群靶核酸分子(例如,靶核酸的拷贝)存在下和/或利用靶核酸的扩增步骤而获得靶核酸的群体。

[0519] 单链靶核酸模板可以与测序引物、dNTP、聚合酶和核酸合成所必需的其它试剂接触。在一些实施方式中,所有的适当的dNTPs可以同时地与单链靶核酸模板接触(例如,所有的dNTP同时地存在)使得dNTP的掺入可以连续地进行。在其它实施方式中,可以使dNTP顺序地与单链靶核酸模板接触,其中单链靶核酸模板与各适当的dNTP单独地接触,并且具有在单链靶核酸模板与不同dNTP的接触之间的清洗步骤。,对于要被鉴别的单链靶核酸模板的各连续的碱基位置而言可以重复实施使单链靶核酸模板与各dNTP单独地接触接着清洗的这种循环。

[0520] 测序引物退火到单链靶核酸模板并且聚合酶连续地利用单链靶核酸模板将dNTPs(或其它脱氧核糖核苷多磷酸)掺入引物。在将dNTP掺入到引物期间或之后可用适当的激发光激发与各掺入的dNTP相关的唯一发光标志,并且随后可利用任何合适的装置和/或方法对其发射进行检测,包括本文中其它地方所描述的用于检测的装置和方法。对光的特定发射的检测可以归因于特定的掺入的dNTP。然后,可将基于对检测发光标志的采集的序列用于利用序列互补性来确定单链靶核酸模板的序列。

[0521] 虽然本公开提到了dNTP,但本文中所提供的装置、系统和方法也使用用各种类型的核苷酸,例如核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸(例如,具有至少4、 5、6、7、8、9或10个磷酸基的脱氧核糖核苷多磷酸)。这种核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸可以通过使用将到标志附接到核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸的接头而形成各种类型的标签。

[0522] 可以将在核苷的掺入时所发出的信号存储于存储器中并且在确定靶核酸模板序列的后面的时间点进行处理。这可包括对该信号与参考信号进行比较以确定作为时间的函

数的掺入的核苷的特性。替代地或者除外，可以实时地 (即，在核苷掺入时)对核苷掺入时发出的信号进行收集和处理，以便实时地确定靶核酸模板的序列。

[0523] 在多个样品阱是可获得的情况下可完成多个单链靶核酸模板的核酸测序，正如在本文中其它地方所描述的装置。可在各样品阱中为各样品阱提供单链靶核酸模板和测序反应。在引物延伸反应期间可使每个样品与核酸合成所必需的适当的试剂(例如，dNTPs、测序引物、聚合酶、辅因子、适当的缓冲剂等) 接触，并且测序反应可以在各样品阱中进行。在一些实施方式中，使多个样品阱同时地与适当的dNTPs接触。在其它实施方式中，使多个样品阱与各适当的dNTP单独地接触并且各自在与不同的dNTPs接触之间进行清洗。可在各样品阱中对掺入的dNTPs进行检测并且确定各样品阱中的单链靶核酸的序列，如上所述。

[0524] 涉及单分子RNA测序的实施方式可使用能够基于RNA模板合成互补 DNA(cDNA)的任何逆转录酶。在这种实施方式中，逆转录酶可以以类似于聚合酶的方式而发挥作用。亦即可以基于RNA模板合成cDNA通过将dNTPs 插入退火到RNA模板的逆转录引物。然后，cDNA可以参与测序反应并且确定其序列，如上所述。然后，可以利用cDNA的确定序列，利用序列互补性来确定原来RNA模板的序列。逆转录酶的例子包括：莫洛尼氏鼠白血病病毒逆转录酶(M-MLV)、禽类成髓细胞瘤病毒(AMV)逆转录酶、人类免疫缺陷病毒逆转录酶(HIV-1)和端粒酶逆转录酶。

[0525] 序列读取可以用于重构受试对象的基因组的较长区域(例如，通过对准)。读取可以用于重构染色体区域、整个染色体、或整个基因组。序列读取或者基于这种读取随产生较大序列可以用于对受试对象的基因组进行分析，例如用于鉴定突变体或多态性。突变体的例子包括但不限于：单核苷酸多态性(SNPs) 包括串联SNP、小规模多碱基缺失或插入，也被称为插入缺失或者缺失插入多态性(DIPs)、多核苷酸多态性(MNP)、短串联重复(STRs)、缺失(包括微缺失)、插入(包括微插入)、结构变化(包括复制)、倒置、易位、增殖、复杂多位点突变体、拷贝数变异(CNV)。基因组序列可以包括突变体的组合。例如，基因组序列可以包括一个或多个SNP与一个或多个CNV的组合。

[0526] 在一些实施方式中，基于发光寿命对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于发光强度对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于观察发出光子所必需的输送激发波长，对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于发出光子的波长对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于输送激发能量的发光寿命和观察发出的光子所必需的波长对分子进行鉴别或区分在一些实施方式中，基于观察所发出的光子所必需的发光强度和输送激发能量的波长，对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于观察所发出光子所必需的发光寿命、发光强度、和输送激发能量的波长，对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于发出光子的发光寿命和波长两者对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，基于发光强度和发出光子的波长两者对分子进行鉴别或区分。在一些实施方式中，分子是基于所发出光子的发光寿命、发光强度、和波长而鉴别或区分。

[0527] 在某些实施方式中，用不同的发光标记物给在反应混合物或实验中的不同类型的分子加标记。在一些实施方式中，不同的标记具有可以区分的不同发光特性。在一些实施方式中，利用具有不同发光寿命、不同发光强度、所发射光子的不同波长、或者其组合对不同的标记进行区分。具有不同荧光标记物的多种类型分子的存在可允许对复杂反应的不同步骤进行监测，或者允许对复杂反应产物的不同组分进行鉴定。在一些实施方式中，可以确定

其中不同类型分子发生反应或相互作用的顺序。

[0528] 在某些实施方式中，利用具有不同发光标记物的多种类型分子的发光特性来鉴定生物分子(例如核酸或蛋白质)的序列。在一些实施方式中，在生物分子的合成期间当单分子被掺入时，利用具有不同发光标记物的多种类型分子的发光特性来鉴定单分子。在一些实施方式中，当在测序反应期间单核苷酸被掺入时，利用具有不同荧光标记物的多种类型核苷酸的发光特性来鉴定单核苷酸。在一些实施方式中，可以利用在本申请中所描述的方法、组成、和装置来鉴定被掺入由聚合酶所合成的模板依赖性核酸测序反应产物的一系列的核苷酸。

[0529] 在某些实施方式中，模板依赖性核酸测序产品是利用天然存在的核酸聚合酶而实施。在一些实施方式中，聚合酶是天然存在聚合酶的突变体或修改的变体。在一些实施方式中，模板依赖性核酸序列产物将包括与模板核酸链为互补的一个或多个核苷酸段。在一个方面，本申请提供一种通过确定其互补核酸链的序列而确定模板(或靶)核酸链的序列的方法。

[0530] 在另一个方面中，本申请提供通过对多个核酸片段进行测序而对靶核酸进行测序的方法，其中靶核酸包括片段。在某些实施方式中，该方法包括将多个片段序列加以组合从而提供亲体母靶核酸的序列或部分序列。在一些实施方式中，组合的步骤是由计算机硬件和软件所执行。本文中所描述的方法可允许对一组的相关的靶核酸，例如整个染色体或基因组进行测序。

[0531] 术语“基因组”通常是指全部的生物体的遗传信息。可以将基因组编码于 DNA或RNA中。基因组可以包括为蛋白质进行编码的编码区以及非编码区。基因组可以包括在生物体中的所有染色体的序列。例如，人类基因组具有总共 46个染色体。全部的这些序列共同地组成人类基因组。在一些实施方式中，确定整个基因组的序列。然而，在一些实施方式中，用于基因组的一个亚组(例如，一个或数个染色体、或其区域)或用于一个或数个基因(或其片段)的序列信息对于诊断、预后、和/或治疗用途而言是充分的。

[0532] 在一些实施方式中，在单分子测序中所使用的靶核酸分子是单链靶核酸 (例如脱氧核糖核酸(DNA)、DNA衍生物、核糖核酸(RNA)、RNA衍生物)模板，该模板被添加或固定化到含有被固定化或附接到固体载体(例如样品阱的底部)的测序反应(例如，聚合酶例如DNA聚合酶、测序引物)的至少一个其它组分的样品阱。在一些情况下，测序引物可以退火到可以或可以不被固定化到固体载体，例如样品阱(例如，纳米孔)的靶核酸分子。在一些实施方式中，可将测序引物固定化到固体载体，并且靶核酸分子的杂交也将靶核酸分子固定化到固体载体。在一些实施方式中，将聚合酶固定化到固体载体，并且使可溶性引物和靶核酸接触到聚合酶。然而，在一些实施方式中，将包括聚合酶、靶核酸和引物的复合物形成于溶液中，并且将复合物是固定化到固体载体(例如，通过聚合酶、引物、和/或靶核酸的固定化)。

[0533] 在适当的条件下，与退火的引物/靶核酸接触的聚合酶可以将一个或多个核苷酸加大或掺入到引物上，并且可以将核苷酸以5’至3’模板结合方式加入引物中。这种核苷酸掺入到引物上(例如，利用聚合酶的作用)通常可以被称为引物延伸反应。各核苷酸与可检测标签可以是相关的，该可检测标签可以被检测和鉴别(例如，基于其荧光寿命、发射光谱、吸收光谱、和/或其它特性)并且是用于确定掺入引物中的各核苷酸和因此新合成核酸分子的序列。也可以利用新合成核酸分子的序列互补性来确定靶核酸分子的序列。在一些实施

方式中，通过合成进行测序的方法可以包括靶核酸分子的群体(例如，靶核酸的拷贝)的存在、和/或用于获得靶核酸群体的靶核酸的扩增步骤。然而，在一些实施方式中，通过合成进行测序是用于在正在进行评估的各反应中确定单分子的序列(并且不要求核酸扩增来制备用于测序的靶模板)。在一些实施方式中，根据本申请的各方面，并行地执行多个单分子测序反应(例如，在单个整体装置或芯片上)。

[0534] 实施方式能够以高准确度和长读取长度(例如至少约50％、60％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％、99.9％、99.99％、99.999％、或99.9999％的准确度，和/或大于或等于约10个碱基对(bp)、50bp、100bp、200bp、300bp、400bp、500bp、1000bp、10,000bp、20,000bp，30,000bp、40,000bp、50,000bp、或100,000bp的读取长度)对单核酸分子进行测序。

[0535] 靶核酸分子或聚合酶可以直接地或经过接头而附接到样品壁，例如在样品阱的底部。该样品阱(例如，纳米孔)也可以容纳利用引物延伸反应合成核酸所需的任何其它试剂，例如适的缓冲剂、辅因子、酶类(例如，聚合酶)、及脱氧核糖核苷多磷酸，例如脱氧核糖核苷三磷酸，包括脱氧腺苷三磷酸(dATP)、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)、脱氧鸟苷三磷酸(dGTP)、脱氧尿苷三磷酸(dUTP)和脱氧胸苷三磷酸(dTTP)dNTP，这种试剂包括荧光标记，例如荧光团。在一些实施方式中，将各类型的dNTP(例如含腺嘌呤的dNTP(例如，dATP)、含胞嘧啶的dNTP(例如，dCTP)、含鸟嘌呤的dNTP(例如，dGTP)、含尿嘧啶的dNTP(例如，dUTP)和含胸腺嘧啶的dNTP(例如，dTTP))偶联到不同的荧光标记，使得对从标签中发出光的检测可表示被掺入新合成核酸中的dNTP的特征。可以利用任何合适的装置和/或方法，包括在本文中其它部分所描述的用于检测的装置和方法，对从荧光标记中所发出的光进行检测，并且归因于其适当的荧光标记(和，因此相关的dNTP)。荧光标记可在任何位置偶联到dNTP，使得荧光标记的存在不阻止dNTP掺入新合成的核酸链或者聚合酶的活性。在一些实施方式中，将荧光标记偶联到dNTP的末端磷酸(γ-磷酸酯)。

[0536] 在一些实施方式中，测序引物退火到单链靶核酸模板并且聚合酶利用单链靶核酸模板将dNTP(或其它脱氧核糖核苷多磷酸)连续地掺入引物。在将 dNTP掺入引物的期间或之后可以利用合适的激发光来激发与各掺入的dNTP 相关的唯一荧光标记，随后可以利用任何合适的装置和/或方法)，包括在本文中的其它部分所描述的用于检测的装置和方法，对其发射进行检测。对特定光发射的检测(例如，具有特定的发射寿命、强度、和/或其组合)可以归因于特定的掺入的dNTP。然后，可以利用基于对检测荧光标记的收集所获得的序列，并利用序列互补性来确定单链靶核酸模板的序列。

[0537] 作为一个例子，图10-1示意性地示出了单分子核酸测序方法的准备。该实例并非意图以任何方式限制本发明。610是样品阱(例如，纳米孔)，用于容纳包括核酸聚合酶601、被测序的靶核酸602、和引物604的单复合物。在此实例中，样品阱610的底部区域倍图示为靶空间620。在图10-1中，包含聚合酶601的复合物倍限制在靶空间620中。任选地，可通过附接到样品阱的表面而将该复合物固定化。在此实例中，利用包括适用于将接头附接到聚合酶 601的一个或多个生物分子(例如，生物素)的接头603将复合物固定化。

[0538] 样品阱的该空间也容纳反应混合物以及合适的溶剂、缓冲剂、和用于聚合酶复合物合成核酸链所必需的其它添加剂。反应混合物也包含多种类型的荧光标记物核苷酸。各类型的核苷酸是用符号*-A、@-T、$-G、#-C所代表，其中A、T、G和C表示核苷酸碱基，符号*、@、

$和#表示经过接头附接到各核苷酸的唯一荧光标记。在图10-1中，利用电流将#-C核苷酸掺入互补链 602。所掺入的核苷酸位于靶空间620的内部。

[0539] 图10-1也用箭头表示将激发能量传递至靶空间的附近并且朝向检测器发射荧光的概念。箭头是示意性的，而并非意图表示激发能量传递或荧光的具体取向。一些荧光可在载体上发出，这些荧光不被引导至检测器(例如，朝向样品阱的侧壁)并且不可检测。

[0540] 图10-2示意性地示出了随时间推移在单样品阱中的测序过程。阶段A至 D示出了具有聚合酶复合物的样品阱，如图10-1中所示。阶段A示出了在任何核苷酸已倍加入到引物之前初始状态。阶段B示出了荧光标记物核苷酸 (#-C)的掺入事件。阶段C示出了在各掺入事件之间的时段。在此实例中，核苷酸C已被加入到引物中，并且以前附接到发光标记物核苷酸(#-C)的具标记和接头已被切断。阶段D示出了发光标记物核苷酸(*-A)的第二掺入事件。在阶段D之后，该互补链是由引物、C核苷酸、和A核苷酸所组成。

[0541] 阶段A和阶段C两者示出了在各掺入事件之前或之间的时段，该时段在此实例中被图示为延续达大约10毫秒。在阶段A和C中，因为不存在掺入的核苷酸，所以在靶空间中不存在发光标记物核苷酸(在图10-2中未示出)，尽管来自不被掺入的发光标记物核苷酸的背景发光或杂散发光可被检测。阶段B和D示出了不同核苷酸(分别是#-C、和*-A)的掺入时间。在此实例中这些事件也被图示为延续达约10毫秒。

[0542] 被标注为“原始仓数据(Raw bin data)”的行示出了在各阶段期间所产生的数据。在整个示范性实验中，多个光脉冲被传递至靶空间的附近。就各脉冲而言，检测器是用于对由检测器所接收的任何发出光子进行记录，并且基于从激发能量的最后脉冲开始的持续时间将该检测光子分配至时间仓。在此实例中存在3个仓，并且“原始仓数据”记录1(最短的棒)、2(中间的棒)、或3(最长的棒)的值，分别对应于最短的、中间和最长的元。各棒表示对发射光子的检测。

[0543] 因为在阶段A或C中在靶空间中不存在发光标记物核苷酸，所以不存在倍检测的光子。就每个阶段B和D而言，在掺入事件期间检测到多个荧光。发光标记#具有比发光标记*更短的发光寿命。因此，阶段B的数据倍图示为具有与其中仓值为较高的阶段D相比较低的记录平均仓值。

[0544] 被标注为“阱处理的数据”的行显示原始数据，该原始数据已被处理以表示在相对于各脉冲的时间所发出光子的数量(计数)。在此实例中，仅对数据进行处理以确定发光寿命，但也可对用于其它发光特性的数据进行评估，例如被吸收或发出光子的发光强度或波长。示例性的经处理数据近似用于在靶空间中的发光标记物的荧光寿命的指数衰减曲线特性。因为发光标记#具有比发光标记*更短的发光寿命，所以用于阶段B的经处理数据在更长的持续时间中具有较少的计数，同时用于阶段D经处理数据在更长的持续时间中具有相对地较多的计数。

[0545] 图10-2的示范性实验将会把加到互补链中的前两个核苷酸鉴定为CA。就DNA而言，因此紧接在退火到引物的区域后面的靶链的序列将会倍鉴定为 GT。在此实例中，可以单独地基于发光寿命，在多个C、G、T和A中区分核苷酸C和A。在一些实施方式中，被吸收或发出光子的其它特性(例如发光强度或波长)对于区分一个或多个特定的核苷酸会是必需的。

[0546] B.发光特性

[0547] 如本文中所描述，发光分子是吸收一个或多个光子并且随后在一个或多个持续时

间之后可发出一个或多个光子的分子。分子的发光是利用若干参数进行描述，包括但不限于：发光寿命、吸收和/或发射光谱、发光量子产率、和发光强度。

[0548] 从发光发射事件中所发出的光子将以可能的波长的光谱范围内的波长发射光子。通常，发出的光子与激发光子的波长相比具有更长的波长(例如，具有较少的能量或发生红移)。在某些实施方式中，通过测量所发射光子的波长对分子进行鉴定。在某些实施方式中，通过测量多个发射光子的波长而对分子进行鉴定。在某些实施方式中，通过测量发射光谱而对分子进行鉴定。

[0549] 发光寿命是指与激发事件和发射事件相关的持续时间(例如，发射衰减时间)。在一些实施方式中，在指数衰减的方程式中将发光寿命表示为常数。在其中存在用于传递激发能量的一个或多个脉冲事件的一些实施方式中，持续时间是在脉冲与随后发射事件之间的时间。

[0550] 发光量子产率是指在导致发射事件的给定波长处或给定光谱范围内的激发事件中的分数，并且通常小于1。在一些实施方式中，本文中所描述分子的发光量子产率是在0和约0.001之间、在约0.001和约0.01之间、在约0.01 和约0.1之间、在约0.1和约0.5之间、在约0.5和0.9之间、或者在约0.9和 1之间。在一些实施方式中，通过确定或估计发光量子产率而鉴定分子。

[0551] 本文中所使用的单分子发光强度是指每单位时间由通过脉冲激发能量的传递而激发的分子所发出的发射光子的数量。在一些实施方式中，发光强度是指每单位时间由通过脉冲激发能量的传递而激发的分子所发出的发射光子的检测数量，并且是由特定的传感器或传感器组所检测。

[0552] 在一个方面，本申请提供一种确定单个发光分子的发光寿命的方法。该方法包括：将发光分子提供至靶空间中；将激发能量的多个脉冲传递至靶空间的附近；和检测来自发光分子的多个发光。在一些实施方式中，该方法还包括记录在各对的脉冲和发光之间的多个持续时间，并且评估在各对的脉冲和发光之间的多个持续时间的分布。

[0553] C.发光标记物核苷酸

[0554] 在一个方面，本文中所描述的方法和组合物包括一个或多个荧光标记物核苷酸。在某些实施方式中，一个或多个核苷酸包括脱氧核糖核苷。在一些实施方式中，所有核苷酸包括脱氧核糖核苷。在某些实施方式中，一个或多个核苷酸包括核糖核苷。在一些实施方式中，所有核苷酸包括核糖核苷。在一些实施方式中，一个或多个核苷酸包括修改的核糖或核糖类似物(例如，锁定核酸)。在一些实施方式中，一个或多个核苷酸包括天然存在的碱基(例如，胞嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶、尿嘧啶)。在一些实施方式中，一个或多个核苷酸包括胞嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶、或尿嘧啶的衍生物或类似物。

[0555] 在某些实施方式中，方法包括使聚合酶复合物暴露于多个发光标记核苷酸的步骤。在某些实施方式中，组合物或装置包括包含多个发光标记核苷酸的反应混合物。在一些实施方式中，多个核苷酸包括四种类型的核苷酸。在一些实施方式中，四种类型的核苷酸各自包括胞嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、和胸腺嘧啶中的一个。在一些实施方式中，四种类型的核苷酸各自包括胞嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤、和尿嘧啶中的一个。

[0556] 本文中所使用的术语“核酸”通常是指包括一个或多个核酸亚单位的分子。核酸可包括选自腺苷(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)、或其变体的一个或多

个亚单位。在一些实例中，核酸是脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)、或其衍生物。核酸可以是单链或双链。核酸可呈圆形。

[0557] 本文中所使用的术语“核苷酸”通常是指核酸亚单位，该核酸亚单位可以包括A、C、G、T或U或者其变体或类似物。苷酸可以包括可以被掺入生长的核酸链中的任何亚单位。这种亚单位可以是A、C、G、T或U，或者对一个或多个互补的A、C、G、T或U为特异性或者与嘌呤(即，A或G，或者其变体或类似物)或嘧啶(即，C、T或U，或者其变体或类似物)为互补的任何其它亚单位。亚单位可以使单独的核酸碱基或碱基组(例如，AA、TA、AT、 GC、CG、CT、TC、GT、TG、AC、CA、或其尿嘧啶对应物)能够被分解。

[0558] 核苷酸一般包括1个核苷和至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多的磷酸(PO_3)基。核苷酸可以包括核碱基、五碳糖(核糖或者脱氧核糖)、和一个或多个磷酸基。核糖核苷酸是其中糖是核糖的核苷酸。脱氧核糖核苷酸是其中糖是脱氧核糖的核苷酸。核苷酸可以是核苷单磷酸或核苷多磷酸。核苷酸可以是脱氧核糖核苷多磷酸，例如，脱氧核糖核苷三磷酸，其可以是选自脱氧腺苷三磷酸(dATP)、脱氧胞苷三磷酸(dCTP)、脱氧鸟苷三磷酸(dGTP)、脱氧尿苷三磷酸(dUTP)和脱氧胸苷三磷酸(dTTP)dNTPs，这些核苷酸包括可检测标签(例如，荧光团)。

[0559] 一个核苷多磷酸可以具有“n”个磷酸基，其中“n”为大于或等于2、3、4、 5、6、7、8、9、或10的数字。核苷多磷酸的例子包括核苷二磷酸和核苷三磷酸。核苷酸可以是末端磷酸标记的核苷，例如末端磷酸标记的核苷多磷酸。这种标记可以是发光(例如，荧光或化学发光)标记、荧光标记物、着色标记、显色标记、质量标签、静电标记、或电化学标记。标记(或标记)可经过接头而联接到末端磷酸。该接头可以包括例如至少一个或多个羟基、巯基、胺基或卤代烷基，这些基可适用于在天然或修改核苷酸的末端磷酸处形成例如磷酸酯、硫酯、氨基磷酸酯或烷基膦酸酯连接。接头可以是可断裂的，以便将标记与末端磷酸分离，例如借助于聚合酶。美国专利7,041,812中提供了核苷酸和接头的例子，该专利的全部内容以参考的方式并入本文中。

[0560] D.标记

[0561] 在某些实施方式中，掺入的分子是发光分子，例如，没有不同荧光标记物的附接。典型的核苷酸和氨基酸在激发和发射能量的合适范围内部不发光或者不发冷光。在某些实施方式中，掺入的分子包括荧光标记。在某些实施方式中，掺入的分子是荧光标记物核苷酸。在某些实施方式中，掺入的分子是荧光标记物氨基酸或荧光标记物tRNA。在一些实施方式中，荧光标记物核苷酸包括核苷酸和荧光标记物。在一些实施方式中，荧光标记物核苷酸包括核苷酸、荧光标记物、和接头。在一些实施方式中，荧光标记物是荧光团。

[0562] 就核苷酸测序而言，荧光标记物核苷酸的某些组合可以是优选的。在一些实施方式中，至少一个的荧光标记物核苷酸包含菁染料或其类似物。在一些实施方式中，至少一个荧光标记物核苷酸包含罗丹明染料或其类似物。在一些实施方式中，至少一个的荧光标记物核苷酸包含菁染料或其类似物，并且至少一个荧光标记物核苷酸包含罗丹明染料或其类似物。。

[0563] 在某些实施方式中，荧光标记物是选自表FL-1的染料。表FL-1中所列出的染料是非限制性的，并且本申请的荧光标记物可包括表FL-1中未列出的染料。在某些实施方式中，一个或多个荧光标记物核苷酸的荧光标记物是选自表FL-1。在某些实施方式中，四个或更

多的荧光标记物核苷酸的是荧光标记物选自表FL-1。

[0564] 表FL-1.示例性荧光团。

[0565]

荧光团			
5/6-羧基罗丹明 6G	CF532	DyLight 747-B3	Dyomics-781
5-羧基罗丹明 6G	CF543	DyLight 747-B4	Dyomics-782
6-羧基罗丹明 6G	CF546	DyLight 755	Dyomics-800
6-TAMRA	CF555	DyLight 766Q	Dyomics-831
Abberior Star 440SXP	CF568	DyLight 775-B2	eFluor 450
Abberior Star 470SXP	CF594	DyLight 775-B3	Eosin
Abberior Star 488	CF620R	DyLight 775-B4	FITC
Abberior Star 512	CF633	DyLight 780-B1	Fluorescein
Abberior Star 520SXP	CF633-V1	DyLight 780-B2	HiLyte Fluor 405
Abberior Star 580	CF640R	DyLight 780-B3	HiLyte Fluor 488
Abberior Star 600	CF640R-V1	DyLight 800	HiLyte Fluor 532
Abberior Star 635	CF640R-V2	DyLight 830-B2	HiLyte Fluor 555
Abberior Star 635P	CF660C	Dyomics-350	HiLyte Fluor 594
Abberior Star RED	CF660R	Dyomics-350XL	HiLyte Fluor 647
Alexa Fluor 350	CF680	Dyomics-360XL	HiLyte Fluor 680
Alexa Fluor 405	CF680R	Dyomics-370XL	HiLyte Fluor 750
Alexa Fluor 430	CF680R-V1	Dyomics-375XL	IRDye 680LT
Alexa Fluor 480	CF750	Dyomics-380XL	IRDye 750
Alexa Fluor 488	CF770	Dyomics-390XL	IRDye 800CW

[0566]

荧光团			
Alexa Fluor 514	CF790	Dyomics-405	JOE
Alexa Fluor 532	Chromeo 642	Dyomics-415	LightCycler 640R
Alexa Fluor 546	Chromis 425N	Dyomics-430	LightCycler Red 610
Alexa Fluor 555	Chromis 500N	Dyomics-431	LightCycler Red 640
Alexa Fluor 568	Chromis 515N	Dyomics-478	LightCycler Red 670
Alexa Fluor 594	Chromis 530N	Dyomics-480XL	LightCycler Red 705
Alexa Fluor 610-X	Chromis 550A	Dyomics-481XL	Lissamine 罗丹明 B
Alexa Fluor 633	Chromis 550C	Dyomics-485XL	Napthofluorescein
Alexa Fluor 647	Chromis 550Z	Dyomics-490	Oregon Green 488
Alexa Fluor 660	Chromis 560N	Dyomics-495	Oregon Green 514
Alexa Fluor 680	Chromis 570N	Dyomics-505	Pacific Blue
Alexa Fluor 700	Chromis 577N	Dyomics-510XL	Pacific Green
Alexa Fluor 750	Chromis 600N	Dyomics-511XL	Pacific Orange
Alexa Fluor 790	Chromis 630N	Dyomics-520XL	PET
AMCA	Chromis 645A	Dyomics-521XL	PF350
ATTO 390	Chromis 645C	Dyomics-530	PF405
ATTO 425	Chromis 645Z	Dyomics-547	PF415
ATTO 465	Chromis 678A	Dyomics-547P1	PF488
ATTO 488	Chromis 678C	Dyomics-548	PF505
ATTO 495	Chromis 678Z	Dyomics-549	PF532
ATTO 514	Chromis 770A	Dyomics-549P1	PF546
ATTO 520	Chromis 770C	Dyomics-550	PF555P
ATTO 532	Chromis 800A	Dyomics-554	PF568
ATTO 542	Chromis 800C	Dyomics-555	PF594
ATTO 550	Chromis 830A	Dyomics-556	PF610
ATTO 565	Chromis 830C	Dyomics-560	PF633P
ATTO 590	Cy3	Dyomics-590	PF647P
ATTO 610	Cy3.5	Dyomics-591	Quasar 570
ATTO 620	Cy3B	Dyomics-594	Quasar 670
ATTO 633	Cy5	Dyomics-601XL	Quasar 705
ATTO 647	DyLight 350	Dyomics-605	Rhoadmine 123

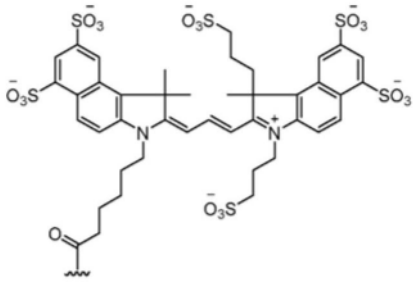
[0567]

荧光团			
ATTO 647N	DyLight 405	Dyomics-610	罗丹明 6G
ATTO 655	DyLight 415-Co1	Dyomics-615	罗丹明 B
ATTO 665	DyLight 425Q	Dyomics-630	罗丹明绿
ATTO 680	DyLight 485-LS	Dyomics-631	罗丹明绿-X
ATTO 700	DyLight 488	Dyomics-632	罗丹明红
ATTO 725	DyLight 504Q	Dyomics-633	ROX
ATTO 740	DyLight 510-LS	Dyomics-634	Seta 375
ATTO Oxa12	DyLight 515-LS	Dyomics-635	Seta 470
ATTO Rho101	DyLight 521-LS	Dyomics-636	Seta 555
ATTO Rho11	DyLight 530-R2	Dyomics-647	Seta 632
ATTO Rho12	DyLight 543Q	Dyomics-647P1	Seta 633
ATTO Rho13	DyLight 550	Dyomics-648	Seta 650
ATTO Rho14	DyLight 554-R0	Dyomics-648P1	Seta 660
ATTO Rho3B	DyLight 554-R1	Dyomics-649	Seta 670
ATTO Rho6G	DyLight 590-R2	Dyomics-649P1	Seta 680
ATTO Thio12	DyLight 594	Dyomics-650	Seta 700
BD Horizon V450	DyLight 610-B1	Dyomics-651	Seta 750
BODIPY 493/501	DyLight 615-B2	Dyomics-652	Seta 780
BODIPY 530/550	DyLight 633	Dyomics-654	Seta APC-780
BODIPY 558/568	DyLight 633-B1	Dyomics-675	Seta PerCP-680
BODIPY 564/570	DyLight 633-B2	Dyomics-676	Seta R-PE-670
BODIPY 576/589	DyLight 650	Dyomics-677	Seta646
BODIPY 581/591	DyLight 655-B1	Dyomics-678	SeTau 380
BODIPY 630/650	DyLight 655-B2	Dyomics-679P1	SeTau 405
BODIPY 650/665	DyLight 655-B3	Dyomics-680	SeTau 425
BODIPY FL	DyLight 655-B4	Dyomics-681	SeTau 647
BODIPY FL-X	DyLight 662Q	Dyomics-682	Square 635
BODIPY R6G	DyLight 675-B1	Dyomics-700	Square 650
BODIPY TMR	DyLight 675-B2	Dyomics-701	Square 660
BODIPY TR	DyLight 675-B3	Dyomics-703	Square 672
C5.5	DyLight 675-B4	Dyomics-704	Square 680

[0568]

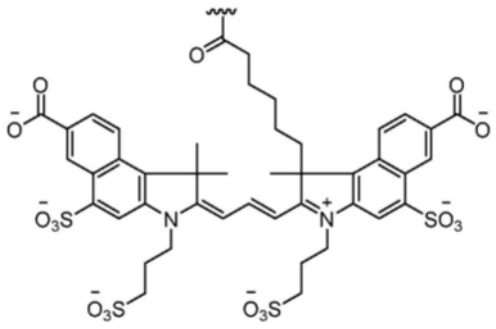
荧光团			
C7	DyLight 679-C5	Dyomics-730	磺基罗丹明 101
CAL Fluor Gold 540	DyLight 680	Dyomics-731	TAMRA
CAL Fluor Green 510	DyLight 683Q	Dyomics-732	TET
CAL Fluor Orange 560	DyLight 690-B1	Dyomics-734	Texas Red
CAL Fluor Red 590	DyLight 690-B2	Dyomics-749	TMR
CAL Fluor Red 610	DyLight 696Q	Dyomics-749P1	TRITC
CAL Fluor Red 615	DyLight 700-B1	Dyomics-750	Yakima 黄
CAL Fluor Red 635	DyLight 730-B1	Dyomics-751	Zenon
Cascade Blue	DyLight 730-B2	Dyomics-752	Zy3
CF350	DyLight 730-B3	Dyomics-754	Zy5
CF405M	DyLight 730-B4	Dyomics-776	Zy5.5
CF405S	DyLight 747	Dyomics-777	Zy7
CF488A	DyLight 747-B1	Dyomics-778	
CF514	DyLight 747-B2	Dyomics-780	

[0569] 在某些实施方式中，发光标记物可以是化学式：



(染料 101)，

[0570]



[0571] (染料 102)，

[0572] 的(染料101)或(染料102)或者其类似物。在一些实施方式中，任选地各磺酸盐或羧酸盐倍独立地质子化。在一些实施方式中，通过在图示的附接点处形成酰胺键，而将上述染料附接到接头或核苷酸。

[0573] 在某些实施方式中，至少一种类型、至少两种类型、至少三种类型、或者至少四种

类型的发光标记物核苷酸包括发光标记物，该发光标记物是选自由6-TAMRA、5/6-羧基罗丹明6G、Alex Fluor546、Alexa Fluor555、Alexa Fluor568、 Alexa Fluor610、Alexa Fluor647、Aberriorstar635、ATTO647N、ATTO Rho14、 Chromis630、Chromis654A、Chromeo642、CF514、CF532、CF543、CF546、 CF546、CF555、CF568、CF633、CF640R、CF660C、CF660R、CF680R、Cy3、 Cy3B、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Dyomics-530、Dyomics-547P1、Dyomics-549P1、 Dyomics-550、Dyomics-554、Dyomics-555、Dyomics-556、Dyomics-560、 Dyomics-650、Dyomics-680、Dylight554-R1、Dylight530-R2、Dylight594、 Dylight635-B2、Dylight650、Dylight655-B4、Dylight675-B2、Dylight675-B4、 Dylight 680、HiLyte Fluor 532、HiLyte Fluor 555、HiLyte Fluor 594、LightCycler 640R、seta555、seta670、seta700、setau647、和setau 665所组成的组群、或者属于化学式(染料101)或(染料102)，如本文中所描述。

[0574] 在一些实施方式中，至少一种类型、至少两种类型、至少三种类型、或至少四种类型的荧光标记物核苷酸包括荧光标记物，该荧光标记物是选自由Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 555、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 610、CF532、CF543、CF555、CF594、Cy3、Dylight 530-R2、Dylight 554- R1、Dylight 590-R2、Dylight 594、和Dylight 610-B1所组成的组群，或者属于化学式(染料101)或(染料102)。

[0575] 在一些实施方式中，第一和第二类型的荧光标记物核苷酸包括荧光标记物，该荧光标记物是选自由Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 555、 CF 532、CF 543、CF 555、Cy3、Dylight 530-R2、和Dylight 554-R1所组成的组群，并且第三和第四类型的荧光标记物核苷酸包括荧光标记，该荧光标记是选自由Alexa Fluor594、Alexa Fluor610、CF594、Dylight590-R2、Dylight 594、和Dylight 610-B1所组成的组群，或者属于化学式(染料101)或(染料102)。

[0576] E.接头

[0577] 发光标记物可直接地附接到分子(例如通过键)，或者可利用接头而附接。在某些实施方式中，接头包括一个或多个磷酸酯。在一些实施方式中，利用包括一个或多个磷酸酯的接头将核苷连接到荧光标记物。在一些实施方式中，利用包括三个或四个磷酸酯接头将核苷连接到发光标记物。在一些实施方式中，利用包括四个或更多的磷酸酯的接头将核苷连接到发光标记物。

[0578] 在某些实施方式中，接头包括脂肪族链。在一些实施方式中接头包括 $-(CH_2)_n-$，其中n为1至20的整数，包含性的。在一些实施方式中，n为1 至10的整数，包含性的。在某些实施方式中，接头包括杂脂肪族链。在一些实施方式中，接头包括聚乙二醇基团。在一些实施方式中，接头包括聚乙二醇基团。在一些实施方式中，接头包括 $-(CH_2CH_2O)_n-$，其中n为从1到20的整数，包含性的。在一些实施方式中，接头包括 $-(CH_2CH_2O)_n-$，其中n为1至 10的整数，包含性的。在某些实施方式中，接头包括 $-(CH_2CH_2O)_4-$。在某些实施方式中，接头包括一个或多个亚芳香基。在一些实施方式中，接头包括一个或多个亚苯基(例如，对位取代的亚苯基)。在某些实施方式中，接头包括手性中心。在一些实施方式中，接头包括脯氨酸或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括脯氨酸六聚体、或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括香豆素或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括萘或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括蒽或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括聚苯基酰胺或其衍生物。在一些实施方式

中，接头包含色满酮或其衍生物。在一些实施方式中，接头包括4-氨基炔丙基-L-苯丙氨酸或其衍生物。在某些实施方式中，接头包括多肽。

[0579] 在一些实施方式中，接头包括寡核苷酸。在一些实施方式中，接头包括两个退火的寡核苷酸。在一些实施方式中，寡核苷酸包括脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、或锁定核糖核苷酸。在某些实施方式中，接头包含光稳定剂。

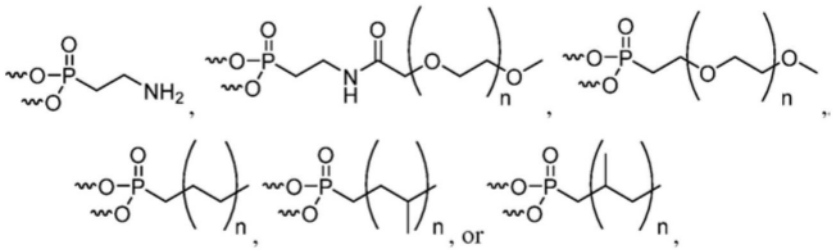
[0580] F.样品阱表面制备

[0581] 在某些实施方式中，一种利用被限制在靶空间中的分子对一个或发光标记物分子进行检测的方法。在一些实施方式中，该靶空间是在样品阱(例如，纳米孔)内部的区域。在某些实施方式中，样品阱包括包含第一材料的底面及由多个金属或金属氧化物层所形成的侧壁。在一些实施方式中，第一材料是透明材料或玻璃。在一些实施方式中，底面是平坦的。在一些实施方式中，底面是弯曲的阱。在一些实施方式中，底面包括由多个金属或金属氧化物层形成的侧壁下方的侧壁的一部分。在一些实施方式中，第一材料是熔融二氧化硅或二氧化硅。在一些实施方式中，所述多个层各自包含金属(例如，Al、Ti)或者金属氧化物(例如，Al_2O_3、TiO_2、TiN)。

[0582] G.钝化

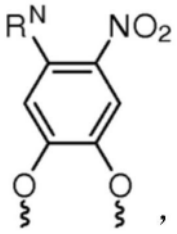
[0583] 在一些实施方式中当使一个或多个分子或复合物被固定化在表面上时，理想的是能够使装置的其它表面钝化以防止在不希望位置的固定化。在一些实施方式中，将分子或复合物固定化于样品阱的底面上并且使样品阱的侧壁钝化。在一些实施方式中，通过以下步骤使侧壁钝化：使金属或金属氧化物阻挡层沉积于侧壁表面上；并且将涂层涂布到阻挡层上。在一些实施方式中，金属氧化物阻挡层包含氧化铝。在一些实施方式中，沉积的步骤包括使金属或金属氧化物阻挡层沉积在侧壁表面和底面上。在一些实施方式中，沉积的步骤还包括将金属或金属氧化物阻挡层从底面蚀刻掉。

[0584] 在一些实施方式中，阻挡层涂层包含膦酸酯基。在一些实施方式中，阻挡层涂层包含带烷基链的膦酸酯基。在一些实施方式中，阻挡层涂层包含聚合的膦酸酯。在一些实施方式中，阻挡层涂层包含聚乙烯基膦酸(PVPA)。在一些实施方式中，阻挡层涂层包括具有取代的烷基链的膦酸酯基。在一些实施方式中，烷基链包括一个或多个酰胺。在一些实施方式中，烷基链包括一个或多个聚乙二醇链。在一些实施方式中，涂层包含化学式的膦酸酯基：

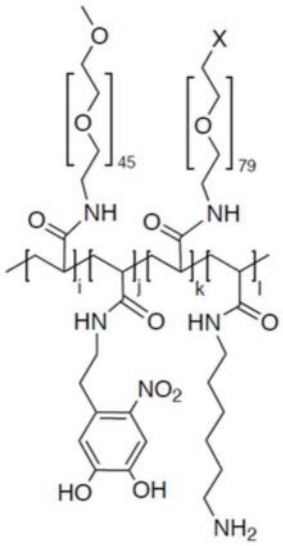
[0585] 

[0586] 其中n为在0和100之间的整数，包含性的，并且 是氢或与表面的附接点。在一些实施方式中n为在3和20之间的整数，包含性的。在一些实施方式中，阻挡层涂层包含不同类型的膦酸酯基的混合物。在一些实施方式中，阻挡层涂层包含包括不同PEG分子量的聚乙二醇链的膦酸酯基的混合物。

[0587] 在某些实施方式中，阻挡层包含硝基多巴基。在某些实施方式中，the阻挡层涂层包括化学式的基团：

[0588] 

[0589] 其中R^N是任选地取代的烷基链并且  是氢或与表面的附接点。在一些实施方式中，R^N包括聚合物。在一些实施方式中，R^N包括聚赖氨酸或聚乙二醇。在一些实施方式中，阻隔层包含聚赖氨酸的共聚物包括赖氨酸单体，其中赖氨酸单体独立地包括PEG、硝基多巴基、膦酸酯基、或伯胺类。在某些实施方式中，阻隔层包含化学式(P)的聚合物：

[0590] 

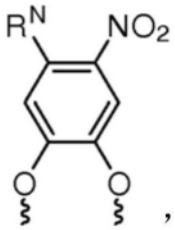
(P)。

[0591] 在一些实施方式中，X是-OMe、生物素基、膦酸酯、或硅烷。在一些实施方式中，i、j、k、和l各自独立地是整数在0和100之间的，包含性的。

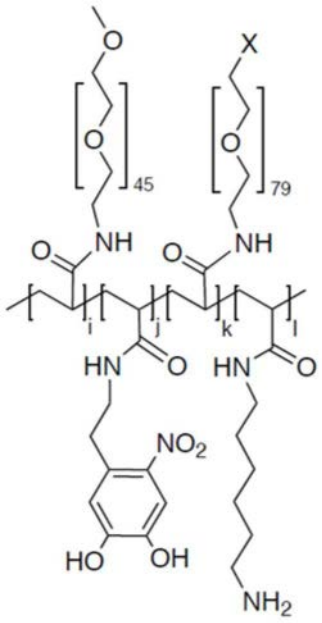
[0592] H.聚合酶固定化

[0593] 在一些实施方式中，当把一个或多个分子或者复合物是固定化在表面上时使表面官能化从而允许一个或多个分子或者复合物的附接。在一些实施方式中，官能化表面是样品阱的底层。在某些实施方式中，官能化表面包含透明的玻璃。在某些实施方式中，官能化表面包含熔融石英或二氧化硅。在一些实施方式中，用硅烷使官能化表面官能化。在一些实施方式中，用离子电荷聚合物使官能化表面官能化。在一些实施方式中，该离子电荷聚合物包括聚赖氨酸。在一些实施方式中，用赖氨酸-聚乙二醇接枝聚合物使官能化表面官能化。在一些实施方式中，用生物素化牛血清白蛋白(BSA)使官能化表面官能化。

[0594] 在某些实施方式中，用包含硝基多巴基的涂层使官能化表面官能化。在某些实施方式中，涂层包括化学式的基：

[0595] 

[0596] 其中R^N是任选地取代的烷基链并且是氢或与表面的附接点。在一些实施方式中，R^N包括聚合物。在一些实施方式中，RN包括聚赖氨酸或聚乙二醇。在一些实施方式中，R^N包括生物素化聚乙二醇。在一些实施方式中，涂层包含聚赖氨酸的共聚物包括赖氨酸单体，其中赖氨酸单体独立地包括PEG、生物素化PEG、硝基多巴基、膦酸酯基、或硅烷类。在某些实施方式中，涂层包含化学式(P)的聚合物：

[0597] 

(P) 。

[0598] 在一些实施方式中，X是-OMe、生物素基、膦酸酯、或硅烷。在一些实施方式中，i、j、k、和l各自独立地是在0和100之间的整数，包含性的。

[0599] 在一些实施方式中，官能化表面是用包含烷基链的硅烷而官能化。在一些实施方式中，官能化表面是用包含任选地取代的烷基链的硅烷而官能化。在一些实施方式中，表面是用包含聚乙二醇链的硅烷而官能化。在一些实施方式中，官能化表面是用包含耦合基团的硅烷而官能化。例如，耦合基可包括化学基团，例如氨基、羧基、羟基、巯基、金属、螯合剂等。可替代地，它们可包括特定的结合元件，例如生物素、抗生物素蛋白、链霉亲和素、中性抗生物素蛋白、凝集素、SNAP-标签™或衬底，因此缔合型或结合肽或蛋白质、多抗体或单抗体片段、核酸或核酸类似物，等。此外或可替代地，耦合基可用于耦合用于与感兴趣分子偶联或结合的另一个基，该基在一些情况下可包括化学官能团和特定的结合元件两者。通过举例，可使耦合基(例如生物素)沉积到衬底上表面，并且在给定的区域中被选择性地激活。然后可将中间结合剂(例如链霉亲和素)联接到第一耦合基。然后，将感兴趣的分子(在此具体实施例中将会是生物素化)联接到链霉亲和素。

[0600] 在一些实施方式中，用包含生物素或其类似物的硅烷使官能化表面是官能化。在

一些实施方式中，用包含聚乙二醇链的硅烷使表面官能化，其中聚乙二醇链包括生物素。在某些实施方式中，用硅烷的混合物使官能化表面是官能化，其中至少一种类型的硅烷包括生物素并且至少一种类型的硅烷不包括生物素。在一些实施方式中，混合物包括比不包含生物素的硅烷少约10倍、约 25倍、约50倍、约100倍、约250倍、约500倍、或约1000倍的生物素化硅烷。

[0601] 图10-3示出了用于从制作的芯片(例如，集成装置)来制备用于启动测序反应的样品阱表面的非限制性示例性工艺。该样品阱被图示具有底面(无阴影矩形)和侧壁(有阴影的竖直矩形)。侧壁可由多层组成(例如，Al、Al_2O_3、Ti、 TiO_2、TiN)。在步骤(a)用Al_2O_3的阻挡层使侧壁沉积。然后涂布该Al_2O_3阻挡层，在步骤(b)用PEG磷酸基，例如用一个或多个PEG-膦酸对表面进行处理。在步骤(c)例如用PEG-硅烷与生物素化-PEG-硅烷的混合物使底面官能化。各椭圆代表单独的生物素基，可提供用于单分子或复合物(例如聚合酶复合物)的附接的部位。在步骤(d)，将聚合酶复合物附接到在底面上的生物素基。该聚合酶可利用结合剂(例如链霉亲和素和生物素标签)附接到聚合酶复合物上。该聚合酶复合物还可包括模板核酸和引物(未图示)。步骤(e)示出了通过使固定化聚合酶复合物暴露于荧光标记物核苷酸而启动测序反应。

[0602] I.聚合酶

[0603] 本文中所使用的术语“聚合酶”一般是指能够催化聚合反应的任何酶(或聚合酶)。聚合酶的例子包括但不限于:核酸聚合酶、转录酶或连接酶。聚合酶可以是聚合化酶。

[0604] 针对单分子核酸延伸(例如，用于核酸测序)的实施方式可使用能够合成与靶核酸分子为互补的核酸的任何聚合酶。在一些实施方式中，聚合酶可以是 DNA聚合酶、RNA聚合酶、逆转录酶、和/或其突变体或改变形式。

[0605] 针对单分子核酸测序的实施方式可使用是能够合成与靶核酸为互补的核酸的任何聚合酶。聚合酶的例子包括但不限于:DNA聚合酶、RNA聚合酶、热稳定聚合酶、野生型聚合酶、改造的聚合酶、大肠杆菌DNA聚合酶I、T7DNA 聚合酶、噬菌体T4DNA聚合酶、φ29(psi29)DNA聚合酶、Taq聚合酶、Tth聚合酶、Tli聚合酶、Pfu聚合酶、Pwo聚合酶、VENT聚合酶、深的VENT聚合酶、EX-Taq聚合酶、LA-Taq聚合酶、Sso聚合酶、Poc聚合酶、Pab聚合酶、Mth聚合酶、ES4聚合酶、Tru聚合酶、Tac聚合酶、Tne聚合酶、Tma聚合酶、Tca聚合酶、Tih聚合酶、Tfi聚合酶、Platinum Taq聚合酶、Tbr聚合酶、Tfl聚合酶、Tth聚合酶、Pfutubo聚合酶、Pyrobest聚合酶、Pwo聚合酶、 KOD聚合酶、Bst聚合酶、Sac聚合酶、Klenow片段、具有3’至5’核酸外切酶活性的聚合酶，及其变体、改性产物和衍生物。在一些实施方式中，聚合酶是单亚单位聚合酶。DNA聚合酶的非限制性例子和它们的特性详细描述于， DNA Replication，第2版，Kornberg和Baker，W.H.Freeman，纽约市， N.Y.(1991年)。

[0606] 基于在靶核酸的核碱基与互补的dNTP之间的碱基配对，聚合酶通过在新合成链的3’羟基端与dNTP的α-磷酸酯之间形成磷酸二酯键而将dNTP掺入新合成核酸链。在其中偶联到dNTP的荧光标记是荧光团的实例中，其存在是通过激发而发信号并且发射的脉冲是在掺入步骤期间或之后进行检测。就偶联到dNTP的端子(γ)磷酸酯的检测标记而言，将dNTP掺入新合成的链导致β和γ磷酸酯及检测标记的释放，该检测标记在样品阱中自由扩散，从而导致从荧光团中所检测发射的下降。

[0607] 在一些实施方式中，聚合酶是具有高延续性的聚合酶。然而，在一些实施方式中，

聚合酶是具有减小的延续性的聚合酶。聚合酶延续性通常是指聚合酶在不释放核酸模板的情况下将dNTP连续地掺入核酸模板的能力。

[0608] 在一些实施方式中，聚合酶是具有低5′-3′核酸外切酶活性的聚合酶和/或 3′-5′核酸外切酶。在一些实施方式中，对聚合酶进行修改(例如，通过氨基酸取代)从而相对于相应的野生型聚合酶而具有减小的5′-3′核酸外切酶活性和/ 或3′-5′活性。DNA聚合酶的其它非限制性例包括9°Nm™DNA聚合酶(New England Biolabs)、和Klenow外切聚合酶的P680G突变体(Tuske等人(2000) JBC275(31)：23759-23768)。在一些实施方式中，具有减小的延续性的聚合酶为含有核苷酸重复的一个或多个伸延的测序模板提供增加的准确度(例如，两个或更多的相同类型的顺序基部)。

[0609] 针对单分子RNA延伸(例如，用于RNA测序)的实施方式可使用是能够基于RNA模板合成出互补DNA(cDNA)的任何逆转录酶。在这种实施方式中，逆转录酶可以以类似于聚合酶的方式而起作用，可以基于RNA模板通过将 dNTP掺入并退火到RNA模板的逆转录引物中而合成cDNA。然后，cDNA可以参与测序反应并且以如上面和本文中其它地方所描述的方式来确定其序列。然后，可以利用cDNA的所确定序列并利用序列互补性来确定原来的RNA模板的序列。逆转录酶的例子包括：莫洛尼氏鼠白血病病逆转录酶(M-MLV)、禽成髓细胞瘤病毒(AMV)逆转录酶、人免疫缺陷病毒逆转录酶(HIV-1)和端粒酶逆转录酶。

[0610] 本领域技术人员可以通过相对于相应的野生型聚合酶的突变或其它修饰而提高或降低不同类型核酸的延续性、核酸外切酶活性、相对亲和性或者核酸聚合酶的其它特性。

[0611] J.寿命测量

[0612] 寿命测量可以提供利用一个激发能量波长来激发样品阱中的标记而执行。对具有不同寿命的标记组合进行选择以便基于寿命测量在各单独标记中进行区分。此外，当被所使用的发源照射时，各标记的组合能够达到激发状态。使用一个激发进行寿命测量的集成装置可包括多个像素，所述多个像素沿各样品阱与相同波导耦合的行定位。像素包括样品阱和传感器。对于各个像素，一个以上的微腔或牛眼光栅可用来将波导耦合至样品阱。

[0613] 脉冲激发源可以是采用上述技术的脉冲激发源中的一个。在一些情况下，脉冲激发源可以是是通过激光二极管的直接调制电抽运而发出脉冲的半导体激光二极管。在峰值后的大约250皮秒处，这些脉冲的功率是小于脉冲峰值功率的20dB。用于各激发脉冲的时间区间是在20-200皮秒的范围内。在各激发脉冲持续时间是在1-50纳秒的范围内。将如何可以执行示范性测量的示意图示于图10-4。因为使用一个激发能量，可在集成装置中形成适于减少激发能量传输至传感器的激发滤光器，诸如上述的波长激发滤光器。

[0614] 用于各像素的传感器具有每个像素至少一个的光敏区。该光敏区可具有5 微米×5微米的尺寸。在当光子到达传感器时的时间区间内对光子进行检测。增加时间仓(time bins)数量可提高在一系列时间仓中所收集光子的记录直方图的分辨率并且改善不同发光标记中的差异。在一些实施方式中，可将聚焦元件与传感器结合，从而改进对由在相关样品阱中的标记所发射光子的收集。这种聚焦元件可包括如图10-5中所示的菲涅耳透镜。当利用传感器是来检测特定的波长时，四个荧光标记物可发出类似于特定波长的荧光。可替代地，四个荧光标记物可在不同的波长处发出荧光。

[0615] 可基于寿命测量而区分的四个荧光标记物的一个示范性组是ATRho14、Cy5、AT647N、和CF633，如图10-6的图表中所示。这四个标记具有不同的的寿命，并且当使用至少

四个时间仓时产生可区分的直方图。图10-7概述了在16个时间元中用于这些标记的各标记的信号曲线。为各标记对该信号曲线进行归一化。这些时间仓在时间区间中变化，从而为每个标记提供唯一信号曲线。图10-8和10-9示出了另一个示例性标记组ATTO Rho14、D650、ST647、和CF633的信号曲线，两者分别是连续的和分立的，这些标记可基于寿命测量进行区分。其它的标记组包括：ATTO Rho14、C647、ST647、CF633；Alexa Fluor647、B630、C640R、CF633；及ATTO Rho14、ATTO647N、AlexaFluor647、CF633。

[0616] K.光谱寿命测量

[0617] 寿命测量与一个或多个荧光标记物的光谱测量相结合。光谱测量可取决于用于单独标记的发射能量的波长，并且利用每个像素至少两个传感器区而俘获。集成装置的一个示例结构包括像素，各像素具有包括两个不同区的传感器，各区是用于检测不同的波长。多波长滤光器诸如图7-7中所示和描述的，可用于选择性地传输不同波长的光至各个传感器区域。例如，一个传感器区域和滤光器组合可用于检测红光，而另一个传感器区域和滤光器组合可用来检测绿光。

[0618] 将两个寿命测量与光谱测量结合可利用激发在样品阱中的标记的一个激发能量波长而执行。将标记的组合选择成具有至少两个不同的发射波长，其中基于寿命和光谱测量对在具有不同寿命的波长处发射的标记进行选择，以便在各单独标记中进行区分。此外，将标记的组合是选择成当被所使用激发源照射时能够达到激发状态。

[0619] 激发源是脉冲激发源，并且可以是采用上述技术的激发源中的一个。在一些情况下，脉冲激发源可以是构造成通过激光二极管的直接调制电抽运而发出脉冲的半导体激光二极管。在峰值后的250皮秒后，这些脉冲的功率是比峰值功率小20dB。各激发脉冲的持续时间是在20-200皮秒的范围内。在各激发脉冲之间时间间隔是在1-50纳秒的范围内。将如何可以执行示范性测量的示意图示于图10-10。因为使用一个激发能量，可使用适于减少激发能量传输至传感器的激发滤光器，诸如上述参照图7-5所述的波长激发滤光器。

[0620] 激发源是脉冲激发源，并且可以是采用上述技术的激发源中的一个。在一些情况下，脉冲激发源可以是构造成通过激光二极管的直接调制电抽运而发出脉冲的半导体激光二极管。在峰值后的250皮秒后，这些脉冲的功率是比峰值功率小20dB。各激发脉冲的持续时间是在20-200皮秒的范围内。在各激发脉冲之间时间间隔是在1-50纳秒的范围内。将如何可以执行示范性测量的示意图示于图10-10。在一些实施方式中，激发源提供具有大约640nm波长的激发能量。在一些实施方式中，激发源提供具有在大约515nm至535nm 范围内的波长的激发能量。

[0621] 各像素的传感器具有每个像素至少两个光敏区。在一些实施方式中，每个像素存在两个光敏区。在其它实施方式中，存在每个像素四个光敏区。各光敏区是用于检测不同的波长或波长的范围。当光子到达传感器时，在时间区间内对光子进行检测。增加时间仓(time bins)的数量可提高光在一系列时间仓中所收集光子的记录直方图的分辨率，并且改进由于它们的单独寿命而在不同荧光标记物中的差异。在一些实施方式中，在传感器的每个区中存在两个时间仓。在其它实施方式中，在传感器的每个区中存在四个时间元。

[0622] 可基于寿命测量而区分的四个荧光标记物的一个示范性组是ATTO Rho14、AS635、Alexa Fluor647、和ATTO 647N。这四个标记中的两个是在一个相似波长和另一个相似的波长处发射。在相似波长处发射的各对标记内，标记对具有不同的寿命并且当使用至少四个

时间仓时产生可区分的直方图。在此实例中，ATTO Rho14和AS635发出相似的荧光波长并且具有不同的寿命。Alexa Fluor647和ATTO647N发出相似的荧光波长，不同于由ATTO Rho14和AS635发出的波长并且具有不同的寿命。图10-11示出了此标记组的作为发射波长的函数的寿命的图表，从而说明如何基于寿命与发射波长的组合对这些标记的各标记进行区分。图10-12示出了ATT Rho14、Alexa Fluor647、和ATT)647N的作为波长的函数的功率的图表。图10-13示出了当存在于具有135nm的直径的样品阱时这些标记的每个标记的随时间推移的荧光信号的图表。图10-14示出了在四个光敏区域中的这些标记的信号曲线，并且各区俘获四个时间仓。这些信号曲线被归一化，并且是用于利用四个时间仓的每个时间仓的由光敏区所俘获光子的相对数量在不同标记中进行区分。用于这种光谱寿命测量的其它组的四个荧光团是ATRho14、D650、ST647、CF633；ATTO Rho14、C647、ST647、CF633；Alexa Fluor647、B630、C640R、CF633；及 ATTO Rho14、ATTO647N、Alexa Fluor647、CF633。图10-15示出了ATRho14、 D650、ST647、和C633的随时间推移强度的信号曲线的图表。图10-16示出了ATRho14的信号曲线。

[0623] L.寿命激发能量测量

[0624] 寿命测量结合使用至少两个激发能量波长可用于在多个标记中进行区分。当使用一个激发波长而不使用另一个激发波长时，一些标记可激发。将具有不同寿命各标记的组合选择用于各激发波长，以便基于寿命测量在各单独的标记中进行区分。在此实施方式中，集成装置可构造成具有各像素，具有带一个区域的传感器，激发源构造成由具有时间交错的电调制脉冲二极管激光器提供至少两个激发能量波长。

[0625] 该激发源是至少两种激发能量的组合。该激发源是脉冲激发源，并且可以是采用上述技术的一个或多个的激发源。在一些情况下，脉冲激发源可以是构造成通过激光二极管的直接调制电抽运而发出脉冲的两个半导体激光二极管。在峰值后的250皮秒处，脉冲的功率比脉冲峰值功率小20dB。用于各激发脉冲的时间区间在20-200皮秒的范围内。在各激发脉冲之间的时间间隔是在1- 50纳秒的范围内。每个脉冲发射一个激发波长，并且通过了解激发波长而唯一地鉴定具有不同寿命的标记的亚组。在一些实施方式中，激发的脉冲在不同的波长中变换。例如，当采用两个激发波长时，随后的脉冲在一个波长和其它波长之间变换。将如何可以执行示范性测量的示意图示于图10-17。可采用用于将多个激发源与具有不同波长的交错脉冲加以组合的任何合适技术。本文中图示并描述了用于将多于一个激发波长的脉冲输送至一排样品阱的一些技术的例子。在一些实施方式中，每一排的样品阱存在一个单波导并且存在两个激发源，将这两个激发源加以组合使得激发能量的脉冲在两个激发波长之间变换。在一些实施方式中，每一排的样品阱存在两个波导，并且各波导是用于承载两个激发波长中的一个波长。在其它实施方式中，每一排的像素存在单个波导并且一个波长耦合到波导一端并且另一个波长耦合到另一端。

[0626] 用于各像素的传感器具有每个像素至少一个光敏区。该光敏区可具有5 微米×5微米的尺寸。在光子到达传感器时的时间区间内对各自进行检测。增加时间仓的数量可提高在一系列时间仓中所收集光子的记录直方图的分辨率，并且改进在不同发光标志中的区别。该传感器具有至少两个时间仓。

[0627] 可基于寿命测量而区分的四个发光标志的一个示范性组是Alexa Fluor546、Cy3B、Alexa Fluor647、和ATTO647N。如图10-18中所示，Alexa Fluor546和Cy3B在一个波长

例如532nm处激发，并且具有不同的寿命。Alexa Fluor647和ATTO647N在另一个波长640nm处激发，并且具有不同的寿命，如图10-19中所示。可在用于ATTO647N和CF633的16个时间仓中区分归一化信号曲线，这两者都是在640nm处激发，示于图10-20。通过在已知的激发波长后检测光子，可基于以前的激发波长和用于基于寿命测量而鉴别一对的各标志来确定这两对标志中的一对。

[0628] VI.制造步骤

[0629] 上述集成装置可以任何合适的方式制造。接下来的是对集成装置的各种部件的制造的描述，该制造布置可以任何方式与本领域中的已知技术相结合以形成合适的集成装置。

[0630] A.样品阱制造工艺

[0631] 可以任何合适的方式制造样品阱(例如，纳米孔)。在一些实施方式中，可利用标准的光刻工艺和蚀刻技术制造样品阱。样品阱可形成于具有金属(例如，Al、TiN)或者适合光刻工艺的任何合适材料的层中。图11-1示出了用于制作集成装置的样品阱的示例性方法。层11-112形成样品阱并且可包含金属例如 Al或TiN。层11-110可充当介电层并且可由任何合适的介电衬底(例如SiO_2或氮化硅)所构成。该方法的一个步骤包括使层11-112直接地沉积在衬底11- 110上。在一些实施方式中，可使其它层沉积在层11-112和层11-110之间。可以任何合适的厚度使层11-112沉积，并且在一些实施方式中，厚度可决定所形成样品阱的高度。层11-112的厚度可以是大约50nm、大约100nm、或大约150nm。然后，使防反射涂层(ARC)11-122沉积在层11-112的顶部上。使蚀刻掩膜11-120(例如，光刻胶蚀刻掩膜)沉积在ARC11-122上。利用常规的光刻技术使孔图案化于蚀刻掩膜11-120和ARC层11-122中。通过蚀刻掩膜11-120而图案化的孔可具有大约50nm、大约100nm、或大约150nm的直径。然后，利用蚀刻例如反应性离子蚀刻技术将孔图案转移到在下面的层 11-112，从而形成样品阱。蚀刻可停止于层11-110的表面，或者蚀刻可形成在层11-112中的孔下方的层11-110中的凹坑。可利用常规技术将蚀刻掩膜 11-120和ARC11-122从层11-112上剥去。样品阱可具有大约50nm、大约 100nm、或大约150nm的直径。

[0632] 可替代地，可利用标准的光刻工艺和剥离技术来制造样品阱。图11-2示出了利用剥离技术形成样品阱的示例性方法。样品阱形成于层11-212中，该层可包含金属(例如，Al、Au、Cr)。层11-212是形成于衬底层11-210的上方，该衬底层可包含任何合适的材料，诸如介电材料(例如，SiO_2)。层11-212的沉积可独立于并且在光刻工艺后进行。在图11-2中所示剥离制造工艺中的第一步骤可包括使防反射涂层(ARC)11-222沉积在衬底11-210上，接着使光刻胶蚀刻掩膜11-220直接地沉积在衬底11-210的顶部上。利用常规的光刻技术使光刻胶图案化，使得抗蚀剂的柱11-230留在后面。该柱可具有可与所形成的样品阱相对应的任何合适的尺寸和形状。该柱可具有大约50nm、大约100nm、或大约150nm的直径。这种技术可包括将在柱周围的抗蚀剂和ARC层从衬底上溶解掉。接下来的步骤可包括使层11-212直接地沉积在抗蚀剂柱的顶部和衬底上，从而形成加盖的柱。在其它实施方式中，在层11-212的沉积之前或之后，可沉积其它层。作为一个非限制性例，可使TiN沉积在由Al所构成的层11-212上，任选地接着是Al_2O_3的沉积。可以任何合适的厚度使层11- 212沉积，并且在一些实施方式中可具有大约50nm、大约100nm、或大约 150nm的厚度。为了形成样品阱，在使用光刻胶的情况下可利用溶剂将加盖的柱剥去或者在使用二氧化硅或氮化硅硬蚀刻掩膜的情况下

通过选择性蚀刻将加盖的柱剥去。该样品阱可具有大约50nm、大约100nm、或大约150nm 的直径。

[0633] 可替代地，可利用标准的光刻工艺和替代的剥离技术制造样品阱。图11- 3示出了形成集成装置的样品阱的一个示例性实施方式。使硬蚀刻掩膜层11- 314沉积在衬底11-310上。硬蚀刻掩膜层11-314可包含Ti或者任何其它合适的材料。衬底11-310可包括介电材料(例如，SiO_2)或者任何其它合适的材料。然后，使一层的ARC11-322沉积到硬蚀刻掩膜层11-314上，接着使光刻胶层11-320沉积。利用常规的光刻技术使光刻胶图案化，从而形成抗蚀剂的柱11-320。将该光刻胶柱图案用作用于蚀刻ARC层11-322和硬蚀刻掩膜层 11-314的蚀刻掩膜。然后，将光刻胶层11-320和ARC11-322剥去，并且使硬蚀刻掩膜柱11-330留在后面。可利用常规技术将剩余的光刻胶和ARC从柱中溶解掉。接下来的步骤可包括使层11-312直接地沉积在柱11-330的顶部上，从而形成加盖的柱。为了形成样品阱，利用过氧化氢蚀刻或者腐蚀层11- 314的其它合适的蚀刻剂，将加盖的柱剥去，“剥去”盖并且形成在层11-312中的样品阱。

[0634] 在一些实施方式中，可以任何合适的方式制作这种样品阱以减弱经过样品阱的等离激元传输。例如，可将样品阱制造在多层堆中。该多层堆可包括但不限于：沉积在衬底上的金属层、吸收层和/或表面层。表面层可以是钝化层。可以任何合适的方式制造多层堆。可采用常规的图案化和蚀刻技术。可使金属层沉积到衬底上。可替代地，可使吸收层沉积到金属层上。可替代地，可使表面钝化层沉积到吸收层/金属层堆上。可使光刻胶和防反射层沉积到多层堆的顶部层上。可以样品阱的尺寸使光刻胶层图案化。可对该多层堆直接地蚀刻以形成样品阱。

[0635] 吸收层可包含任何合适的吸收材料。非限制性例子包括氮化硅、TiN、aSi、 TaN、Ge和/或Cr。所述材料的变体也是可行的，例如Si_3N_4。金属层和表面层可由任何合适的材料制成。例如，可将Al、AlSi、或AlCu使用于金属层。例如，表面层可由Al或Al_2O_3制成。利用上述的工艺制作在多层堆中的样品阱。

[0636] 此外和/或可替代地，在使多层堆沉积之前可使反射层直接地沉积在衬底的顶部上，以便在光刻期间控制光束的集中。可使反射层直接地沉积在衬底的顶部上并且以样品阱的尺寸图案化。任选地，可使一层的防反射涂层接着使一层的光刻胶沉积在图案化反射涂层的顶部上，并且图案化从而使柱ARC和光刻胶的柱留在衬底上的位置。然后，可使多层堆沉积在柱的顶部、反射层、和衬底上。可利用剥离工艺将加盖的柱去除，如上所述，在衬底的柱存在位置形成样品阱。

[0637] 类似地，可利用Ti柱来形成样品阱。第一步骤可包括使一层的Ti沉积在衬底上，接着使一层的防反射涂层和一层的光刻胶沉积。可使Ti层图案化并蚀刻而形成Ti柱。可使多层堆沉积在Ti柱的顶部和衬底上。最后，可将Ti 柱去除从而在相应本存在Ti柱的衬底位置形成样品阱。

[0638] 可采用任何合适的沉积方法。例如，可利用PVD、CVD、溅射、ALD、电子束沉积和/或热蒸发于使一层或多层沉积。可对沉积环境加以控制以防止在沉积之间的各层的氧化。例如，在一层或多层的沉积期间和之间，可将该环境保持在高真空和/或低氧状态。

[0639] B.具有下沉的样品阱层

[0640] 样品阱层可包括下沉，使得样品阱(例如，纳米孔)位于与波导相隔某个距离。可采

用用于形成在样品阱层中的下沉的任何合适技术。一种技术包括用于形成具有形貌的抗蚀剂的灰度光刻，接着是用于将形貌转移到氧化物层的蚀刻。在氧化物层具有下沉形貌后，可形成样品阱和/或其它结构。图11-5示出了形成具有下沉的样品阱层的一个示例性实施方式。波导11-820是形成于包围材料层11-810内部，并且使抗蚀剂11-830图案化在包围材料层11-810的表面上。抗蚀剂11-830的图案可具有任何合适的尺寸或形状。基于抗蚀剂11-830的图案将层11-810的表面蚀刻，以形成期望的下沉形状。利用本文中所描述技术的任意组合使样品阱层11-812沉积在层11-810的蚀刻表面上，从而形成样品阱层11-810并且具有样品阱11-832的部分是位于与波导11-820间隔一定距离处，以提供在波导11-820和样品阱11-832之间的合适的耦合。

[0641] 用于形成具有下沉的样品阱层的另一个技术可包括利用灰度光刻将形貌形成入氧化物层以暴露波导和然后以受控制的厚度使氧化物沉积，接着是样品阱和/或其它结构的形成。图11-6示出了形成具有下沉的样品阱层的一个示例性实施方式。在包围材料层11-910内部形成波导11-920。利用灰度光刻对层11-910的表面进行蚀刻以使波导11-920暴露。以受控制的厚度使层11-910 再形成。可形成各部件，例如表面等离激元结构(未图示)。形成样品阱11-932 的样品阱层11-912形成于层11-910的上方。

[0642] 在一些实施方式中，样品阱的整个阵列是形成于衬底的下沉区中。例如，在样品阱的金属底层与波导之间的距离可以是在其中形成样品阱的区域外部大约600nm处，但可减小到其中样品阱阵列所位于的大约350nm处。因此，在使多个集成装置形成于晶圆上的情况下，各集成装置在晶圆上的位置可通过与正在形成的各单独集成装置相关的晶圆的上表面中的下沉而视觉鉴别。

[0643] C.同心光栅(牛眼)制造工艺

[0644] 可以任何合适的方式制造同心光栅或牛眼。在一些实施方式中，可利用标准的光刻工艺和蚀刻技术制作同心光栅。任何合适的介电材料，例如SiO_2或氮化硅，可用于构成同心光栅。在图11-7中所示的实施方式中，SiO_2层11- 1010是用于制作同心光栅。在制造工艺中的第一步骤可包括使硬蚀刻掩膜11- 1014直接地沉积在SiO_2层11-1010的顶部上。在制造工艺中的下一步骤11- 1001可包括使光刻胶层11-1020直接地沉积在硬蚀刻掩膜上的防反射涂层 (ARC)11-1022上，该硬蚀刻掩膜可包含硅。利用常规的光刻技术在硬蚀刻掩膜中形成牛眼图案，例如在步骤11-1003通过将同心光栅图案化进入光刻胶和在步骤11-1005将抗蚀剂图案蚀刻进入ARC层和硬蚀刻掩膜。然后，在步骤11-1007，利用蚀刻例如反应性离子蚀刻技术将牛眼图案转移到下面的SiO_2层从而形成同心光栅。同心光栅的厚度可以是任何合适的厚度。在图11-7中所示的实施方式，蚀刻深度为大约80nm。在步骤11-1009，利用常规技术剥去抗蚀剂和蚀刻掩膜残留物并且清洗同心光栅的表面。在步骤11-1011，可利用剥离或蚀刻工艺将在层11-1012中的样品阱直接地制造在同心光栅的顶部上。在其它实施方式中，可使其它层沉积在同心光栅和样品阱之间。

[0645] 可替代地，在一些实施方式中，样品阱可位于同心光栅的中心。样品阱的该精确对准可以任何合适的方式而实现。在图11-8中所示的实施方式中，样品阱的定位是利用自对准制造工艺而实现。第一步骤可包括根据上述技术形成同心光栅。然而，在图11-8中，在步骤11-1101使Ti硬蚀刻掩膜11-1114 沉积在SiO_2衬底11-1110的顶部上。在步骤11-1103，利用蚀刻例如反应性离子蚀刻使牛眼图案转移到Ti层。在步骤11-1105，使一层的抗蚀剂11-

1120和一层的防反射涂层(ARC)11-1122沉积在在Ti层中的两个中心缺口的上方从而覆盖缺口和中心Ti柱。然后,在步骤11-1107,利用常规的蚀刻技术将牛眼图案转移到SiO_2衬底从而形成同心光栅。然后,在步骤11-1109利用各向同性湿法蚀刻将Ti层去除,例如,利用过氧化物,但留下中心Ti柱11-1116。然后利用常规的技术将抗蚀剂层剥去。然后,使金属样品阱层沉积在同心光栅和Ti柱的顶部上。最后,在步骤11-1111,利用剥离工艺将金属-加盖的Ti柱去除,使样品阱处于相对于同心光栅精确地定心。

[0646] 可以各种其它方式实现样品阱的精确对准。在图11-9中所示的实施方式中,样品阱的定位是利用替代的自对准制造工艺而获得。第一步骤可包括在步骤11-1201使样品阱层(例如,Al、Ti)11-1212直接地沉积在SiO_2同心光栅衬底11-1210的顶部上。然后,可使硬蚀刻掩膜11-1214沉积在层11-1212的顶部上。在步骤11-1203,利用常规的蚀刻技术将牛眼图案转移到层11-1212。使一层的抗蚀剂11-1220和一层的防反射涂层11-1222沉积在层11-1212中的中心缺口的上方,从而覆盖其中利用步骤11-1205形成样品阱的位置。然后,在步骤11-1207,利用常规的蚀刻技术将牛眼图案转移到SiO_2衬底,从而形成同心光栅。在步骤11-1209,使另一个金属层沉积在层11-1212的底部上,使得金属填充在SiO_2衬底11-1210中的空腔并且覆盖抗蚀剂层11-1214。在图 11-9中所示的实施方式中,将Al用作其它金属层,但也可采用与光刻工艺相容的其它合适的金属。最后,在步骤11-1211,利用剥离工艺将金属加盖的抗蚀剂柱11-1230去除,从而使纳米孔相对于同心光栅精确地定心。

[0647] D.微腔制造工艺

[0648] 可以任何合适的方式制造微腔。在一些实施方式中,可利用标准的光刻工艺和蚀刻技术制造微腔。该微腔可包含氮化硅。在制造工艺中的第一步骤可包括使氮化硅沉积在氧化物膜上。可使氮化硅层图案化并蚀刻而形成微腔结构。在将氮化硅蚀刻之后,使氧化物沉积在氮化硅特征的上方并且抛光成平面,例如利用CMP。可将具有样品阱样品阱层制造在微腔的上方或者靠近微腔。可使微腔从样品阱偏移。图11-10示出了用于偏移微腔结构的两个可能的制造设计。

[0649] E.在波导光栅耦合器下方的反射层

[0650] 可以任何合适的方式形成在光栅耦合器下面的反射器层。反射器层可以是在与波导光栅耦合器相隔受控制距离的金属层,从而改进激发能量进入波导的耦合。示例性制造工艺包括利用光刻和/或蚀刻在光栅耦合器位置在氧化物层中形成凹槽。使反射器材料沉积并且填充沟槽。使抗蚀剂层形成于反射器的上方并且光刻和蚀刻用来去除多余的反射材料。例如经过PECVD使氧化物形成于反射器上,从而形成用于波导制造的平面型表面。

[0651] F.激发滤光器

[0652] 激发滤光器可通过使高照射率和低折射率材料交替层而形成。可采用任何合适的低折射率材料。示范性的低折射率材料包括利用PVD、PECVD、 LPCVD、ALD、和/或蒸发技术而形成的二氧化硅。可使用任何合适的高折射率材料。高折射率材料的例子包括硅、氮化硅、二氧化钛、和五氧化钽。

[0653] G.挡板

[0654] 可在一个像素中在传感器与样品阱之间形成挡板,用以阻挡和/或吸收杂散光,例如来自正在由传感器进行检测的波导的激发光。一个技术是使吸收层沉积在氧化物层的凸起部的上方,其中该凸起部覆盖传感器,接着利用CMP 进行抛光。另一个技术是使吸收薄膜

沉积在氧化物层的上方然后利用光刻和蚀刻技术在传感器上方的吸收层中形成孔。

[0655] H.透镜制造工艺:折射透镜

[0656] 可以任何合适的方式形成折射透镜阵列以改进激发进入样品阱的聚焦效率和来自样品阱的发射光的采集。在一些实施方式中,折射透镜阵列可以是“无缝”阵列,用以使在透镜阵列上的“死区”最小化。在图11-11中所示的实施方式中,折射微透镜阵列被图示为在单独透镜之间没有缝隙。在一些实施方式中,制作“无缝”阵列可包括两个蚀刻步骤。在步骤11-1801,第一次蚀刻可建立微透镜形貌的深度。第二次蚀刻可接在第一次蚀刻之后,用于在步骤11- 1803排除在单独微透镜之间的平面型缝隙,使得一个透镜停止于另一个透镜开始的边缘处。第一次和第二次蚀刻的和值限定焦距。在图11-12中所示的实施方式中,微透镜阵列的俯视图是显示在第一次HF蚀刻(1)之后、在第二次 HF蚀刻(2)之后、在用较高折射率材料氮化硅涂覆微透镜阵列(3)之后,和将高折射率材料抛光和平面化(4)之后。

[0657] 在折射透镜阵列中的各折射透镜可以任何合适的方式制造。将一个示例性折射透镜阵列示于图11-13,其中将纳米孔层11-2007制造在透明间隔件层 11-2001的顶部上,该透明间隔件层11-2001是在介电透镜层11-2003的顶部上,介电透镜层11-2003是在衬底11-2005的顶部上。在一些实施方式中,可利用标准的光刻工艺和蚀刻技术制造折射透镜。任何合适的介电材料,例如 SiO_2或氮化硅,可用于形成折射透镜。在图11-14中所示的实施方式中,利用氮化硅填充SiO_2衬底形貌。制造工艺中的第一步骤11-2101可包括使硬蚀刻掩膜11-2114直接地沉积在SiO_2衬底11-2110的顶部上。可将在用于SiO_2层的相同蚀刻工艺期间不溶解的任何合适的金属用于硬蚀刻掩膜11-2114。例如使用Cr,但其它金属也是可行的。下一步骤可包括将光刻胶层11-2120涂覆在硬蚀刻掩膜11-2114的顶部上。在步骤11-2103,利用常规的光刻技术在硬蚀刻掩膜中形成圆形图案。然后,利用常规的蚀刻技术诸如例如反应性离子蚀刻技术,将圆形图案转移到下面的Cr层。利用任何合适的选择性蚀刻技术对SiO_2层进行蚀刻其可以蚀刻SiO_2但不蚀刻硬蚀刻掩膜。例如,利用使用HF 的各向同性湿法蚀刻形成在SiO_2层中的凹形表面。然后,通过步骤11-2105,利用常规的蚀刻技术去除硬蚀刻掩膜11-2114。任选地,执行使用HF的第二次湿法蚀刻以消除在各透镜之间的缝隙。为了形成折射透镜,在步骤11-2107,用高折射率材料层11-2118例如氮化硅填充SiO_2层中的空腔。最后,例如在步骤11-2109利用常规技术(例如化学机械抛光)使透镜的上表面平坦化。在步骤11-2111,可使间隔件层11-2124沉积在层11-2118的顶部上。例如,可将由ORMOCER™制成的间隔件层旋涂于氮化硅层的顶部上。可替代地,可使一层的SiO_2沉积。可将样品阱直接地制作在折射透镜的顶部上。在其它实施方式中,可使其它层沉积在折射透镜和样品阱之间。

[0658] 可替代地,各折射透镜可包括防反射层,用以进一步提高光学效率。在一些实施方式中,防反射层可覆盖透镜的底部、顶部、或所有侧面。在图11-15 中所示的实施方式中,在步骤11-1801中对SiO_2空腔11-1810进行蚀刻,在步骤11-1803中使防反射层11-1822沉积在蚀刻的空腔上,并且使氮化硅层 11-1818沉积以填充空腔。在步骤11-1807利用CMP将氮化硅层抛光,在步骤11-1809使第二防反射层11-1826沉积在抛光的氮化硅层的顶部上。可使其它层沉积在防反射层的顶部上,例如上述的间隔件层并且在图11-18中被图示为层11-1824。防反射层可具有以下参数:折射率,$nC=sqrt(n_{氧化物}、n_{氮化物})=$ $sqrt(1.46*1.91)=1.67$;折射率的范围从1.67至1.75;和厚度$t=\lambda/(4*nC)=675$ nm/$(1.670*4)=101.1$nm。可

以以任何合适的方式使防反射层沉积。例如，可采用PECVD。可替代地，可采用LPCVD。

[0659] I.透镜制造工艺:菲涅耳透镜

[0660] 衍射光学元件(DOE)可具有任何合适的形状并且可以以任何合适的方式制造，以改进发光在CMOS传感器上的聚焦和发光光子的分选。在一些实施方式中，DOE可包括一部分的菲涅耳透镜。如图11-16至11-20中所示，DOE 被鉴定为从菲涅耳透镜的中心偏移的正方形部。如图11-17中所示，DOE可包括两个单元体层，其中第一层11-2301包含“小的”特征并且第二层11-2303 包含“大的”特征。各单元体层可具有任何合适的间距，并且根据菲涅耳透镜光学设计还可具有变化的间距。如图11-17中的实例中所示，小DOE层具有220 nm的间距并且大DOE层具有440nm的间距。大DOE层可覆盖到小DOE 层上(反之亦然)从而形成多层衍射光学部件。图11-17示出了偏移菲涅耳阵列 11-2405的一个实例，其中大的基准标志包围偏移菲涅耳透镜。此外，偏移菲涅耳阵列可位于传感器的顶部上，用以提供进入传感器的发光的聚焦和光谱分离。

[0661] 可替代地，可将衍射光学元件(DOE)埋在纳米孔的下面，用以改进激发能量进入纳米孔的聚焦和发光从纳米孔中的采集。在一些实施方式中，位于纳米孔下面的嵌入式菲涅耳透镜和位于传感器上方的偏移菲涅耳透镜可具有带可变时段和可变阶梯尺寸的层叠结构。在其它实施方式中，仅位于传感器上方的偏移菲涅耳透镜可具有可变时段和可变阶梯尺寸。这些衍射透镜可利用标准的光刻工艺和蚀刻技术而制造。如图11-18中所示，衍射透镜图案11-2501被鉴定为具有带大阶梯(大图案)和在各较大阶梯上的小阶梯(小图案)的层叠结构，当从左向右看时两种阶梯具有逐渐减小的时段。用于可变时段阶梯式衍射透镜的制造工艺可包括首先蚀刻大的阶梯接着蚀小的阶梯，如图11-19中所示，在第二蚀刻期间这可保护大阶梯的拐角。替代方法是首先在平坦的衬底上蚀刻小的阶梯，接着蚀刻大的阶梯，如图11-23中所示。可将任何合适的介电材料，例如SiO_2或氮化硅、TiO_2或Ta_2O_5可用于形成用于衍射透镜的填充层和层叠层。在图11-19中所示的实施方式中，利用氮化硅制作填充层并且SiO_2是用于制作层叠层。

[0662] 在层叠SiO_2层的造工艺中的第一步骤可包括利用步骤11-2201使硬蚀刻掩膜11-2214直接地沉积在SiO_2层11-2210的顶部上，接着使防反射层11- 2222接着光刻胶层11-2220。任何合适的材料可使用于硬蚀刻掩膜。例如，可将a-Si使用于在图11-19中所示硬蚀刻掩膜，但其它材料也是可行的。下一步骤可包括将ARC和/或光刻胶层涂覆在a-Si硬蚀刻掩膜的顶部上。可利用常规的光刻技术可用于形成可变时段大二元图案。例如，利用常规的蚀刻技术，例如反应性离子蚀刻技术将这些图案转移到在下面的SiO_2层。如图11-19 中所示，通过步骤11-2203对SiO_2层11-2210进行蚀刻。在步骤11-2205，利用常规的技术将SiO_2层11-2210剥去并清洗。

[0663] 大衍射透镜步骤的可蚀刻深度可以是实现期望焦距的任何合适深度。在图11-19中所示的实施方式，进入SiO_2层的此蚀刻深度为大约684nm并且具有大阶梯。然后，利用常规的技术来剥去抗蚀剂和蚀刻掩膜残留物并且洗SiO_2层的表面。下一步骤可包括在上各大阶梯上蚀刻小阶梯。在图11-19中所示实施方式中，各大阶梯包括四个较小的阶梯。

[0664] 然后，通过步骤11-2207使第二Si硬蚀刻掩膜11-2244沉积在图案化SiO_2层11-2310上。然后，使ARC层11-2342沉积在Si层11-2610的顶部上，接着是光刻胶蚀刻掩膜层11-2640。在步骤11-2209将第二可变时段小二元图案转移到光刻胶和/或ARC层，并且通过形成

菲涅耳透镜和SiO_2而对层11-2210 进行蚀刻。

[0665] 在一个替代实施方式中，制造步骤类似于图11-19中所描述的步骤，然而，在每个大阶梯中对两个小阶梯进行蚀刻，从而总共留下四个阶梯。在其它实施方式中，可采用任意数量的阶梯。然后，将小阶梯蚀刻进入SiO_2层11- 2210。小衍射透镜阶梯的厚度可以是任何合适的厚度。

[0666] 利用步骤11-2801形成层叠SiO_2层11-2810之后的制造工艺中的其它阶段可包括在步骤11-2803用任何合适的高折射透镜材料11-2818，例如氮化硅填充空腔，例如使透明层11-2828沉积而形成“嵌入式菲涅耳透镜”，如图11- 20中所示。用于“嵌入式菲涅耳透镜”的层叠结构可具有与用于偏移菲涅耳透镜的层叠结构大致相同的/或更小的尺寸特征。可采用使氮化硅沉积的任何方法，诸如，例如PECVD。任选地，在步骤11-2805，可将氮化硅层均匀地向下抛光，直到SiO_2材料的顶部阶梯暴露。可替代地，将氮化硅层11-2818均匀地抛光，但不使SiO_2材料暴露。在图11-21中所示的实施方式中，在步骤11- 2901形成层叠结构11-2910，并且在步骤11-2903用高折射率材料11-2918填充，在步骤11-2905进行抛光。然后，利用PECVD在使SiO_2的第二层11- 2928沉积在经抛光的氮化硅层11-2918的顶部上，并且在步骤11-2907利用 CMP进行抛光。在一些实施方式中，间隔件层11-2928可具有等于该间隔件层材料中的焦距的厚度。此外，在步骤11-2909，可使其它合适的透明间隔层沉积在氮化硅层的顶部上。然后，可将样品阱层制造在透明间隔层和/或其它层的顶部上。

[0667] 可替代地，在图11-22中所示的实施方式中，用于衍射透镜的层叠层11- 3018是由氮化硅制成。可以任何合适的厚度使氮化硅层11-3018沉积在衬底 11-3010的顶部上，接着对掩膜11-3014、ARC层11-3022和光刻胶层11-3020 进行蚀刻。在图11-22中所示的实施方式中，在步骤11-3001氮化硅层具有大约1um的厚度。制造工艺可类似于上面关于在SiO_2中形成层叠可变时段衍射透镜层所描述的工艺。任选地，在步骤11-3003，可将不同的硬掩膜用于形成氮化硅层叠层。氮化硅层叠层可具有与SiO_2层叠层大致相同和/或更小的尺寸特征。在制作氮化硅层叠层之后，用任何合适的介电材料11-3028涂覆氮化硅层。在图11-22中所示的实施方式中，在步骤11-3005用透明(例如，SiO_2) 层11-3028涂覆氮化硅层。例如，可利用常规的沉积工艺(例如PECVD)使SiO_2层沉积。然后，可将SiO_2层抛光以形成平直的平面型表面。然后，可在SiO_2层和/或其它层的顶部上制造样品阱层。

[0668] 在制造工艺期间衍射光学部件的某些特征会要求某个程度的均匀性和/或精确度，以获得具有期望光学特性的结构。例如，大和小的阶梯的蚀刻深度会要求某种程度的精确度。在一些实施方式中，或要求在靶的50或10％内的蚀刻深度以实现进入焦斑样品阱的期望的功率效率。此外，透镜特征的蚀刻会要求某种程度的均匀性。例如，会要求在5％(或50nm)内的蚀刻均匀性，以实现期望的焦距。

[0669] 利用任何合适的沉积和蚀刻工艺制作任何的上述透镜，以获得改善的光学特性。例如但不限于，可采用PECVD。可以任何合适的方式对沉积参数进行调整以减少自发光、减少发光的透镜吸收、和/或形成高折射率。例如，减小的自发光并且透镜吸收可通过减小Si-Si键的密度而实现，由此在氮化硅的沉积期间可形成硅纳米晶体。在一些实施方式中，可对输入气体和它们的比率进行调整，以减小Si-Si键和硅纳米晶体的密度。例如，可使用SiH_4和N_2并且以任何合适的方式调整它们的比率，以减小Si纳米晶体的密度。在其它实施方式中，可使用SiH_4和NH_3并且以任何合适的方式调整它们的比率，以降低Si-Si键和硅纳米晶体

的密度。例如，NH_3与SiH_4的比率可以是至少10：1。此外，在PECVD期间调整控制等离子体的频率可用于改进光学特性。例如，低频率(例如低于0.5MHz)与高频率(例如超过10MHz)的比率可以是至少 1:1。

[0670] 此外，上述的沉积参数可调整透镜折射率以改善光学特性。在一些实施方式中，就合适的低自发光效果和/或合适的低吸收损失而言，氮化硅透镜的折射率可小于n＝1.92并且与633nm的波长是相关的。上述的经调整性质可彼此相关、成比例、互相关联、相关和/或依赖。例如，n＝1.92的折射率是低发光和低吸收损耗的指示物，这与用于由氮化硅制成的透镜的Si-Si键和硅纳米晶体的低密度是相关的。

[0671] 本申请的各种方面可单独地、组合、或者在前面所描述的实施方式中未具体描述的多种布置中应用，因此其应用并不局限于在前面的描述中所陈述或者在附图中所示的各部件的细节和布置。例如，在一个实施方式中所描述的各方面可以任何方式与在其它实施方式中所描述的方面结合。

[0672] 另外，本发明可具体化为一种方法，已提供了该方法的至少一个实例。作为该方法的部分而执行的步骤可以任何合适的方式排序。因此，可构成其中各步骤是以不同于图示顺序的顺序而执行的实施方式，该实施方式可包括同时地执行一些步骤，即使在说明性实施方式中被图示为连续的步骤。

[0673] 在权利要求中用序数术语例如“第一”、“第二”、“第三”等来修饰权利要求要素本身不暗示一个权利要求要素相对于另一个要素的任何优先级、位次、或顺序，或者其中执行方法的步骤的时间顺序，但仅仅是用作标记以便将具有某个名称的一个权利要求要素与具有相同名称的另一个元件(但用于序数用词的使用)加以区分从而区分个权利要求要素。

[0674] 另外，本文中所使用的用语和术语是为了描述的目的，而不应认为是限制性的。在本文中“包含”、“包括”、或“具有”、“包含”、“包括”及其变体的使用意图包括列在其后的项及其等同物以及其它的项。

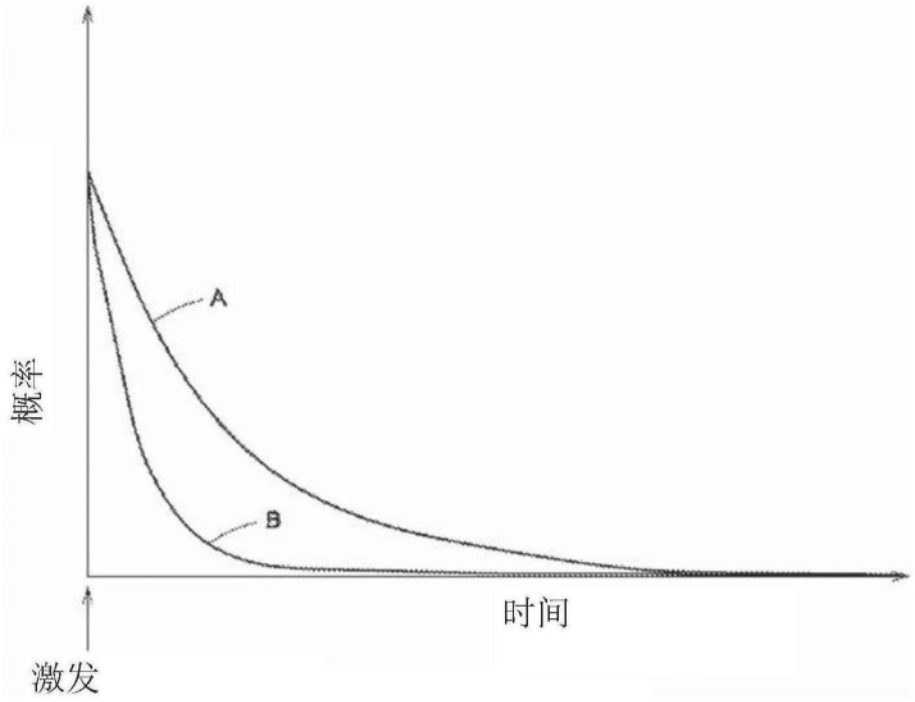


图1-1

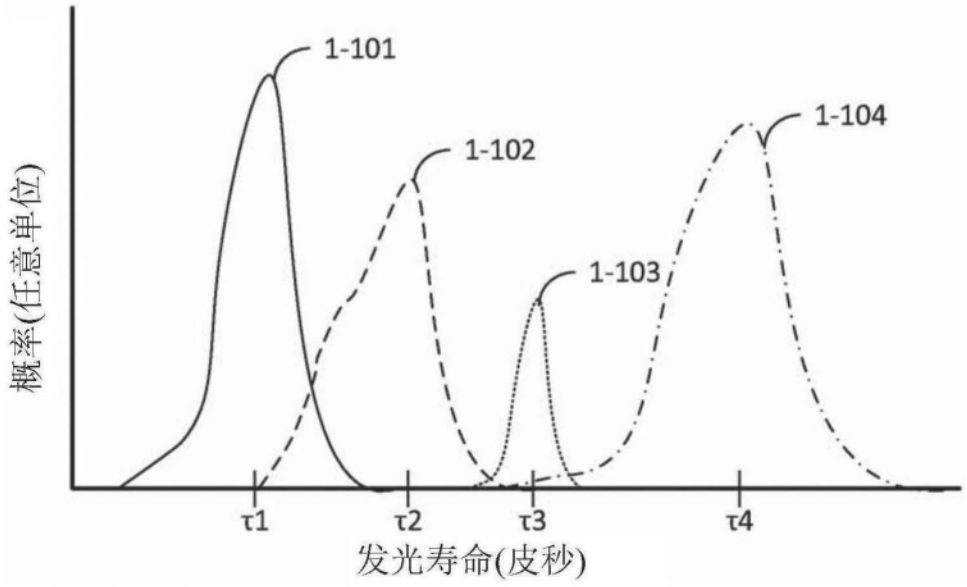


图1-2A

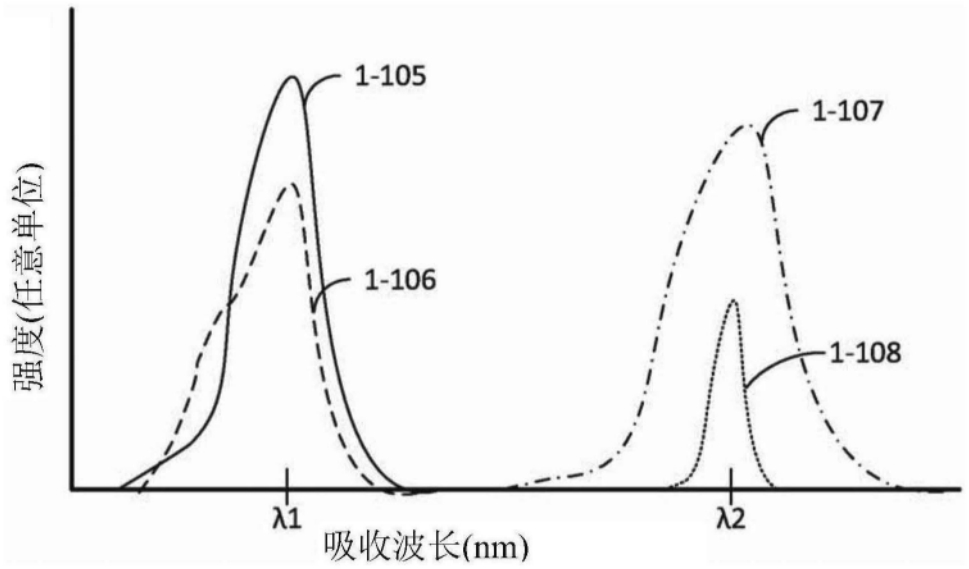

1-105
1-107
1-106
1-108
强度(任意单位)
λ1
λ2
吸收波长(nm)

图1-2B

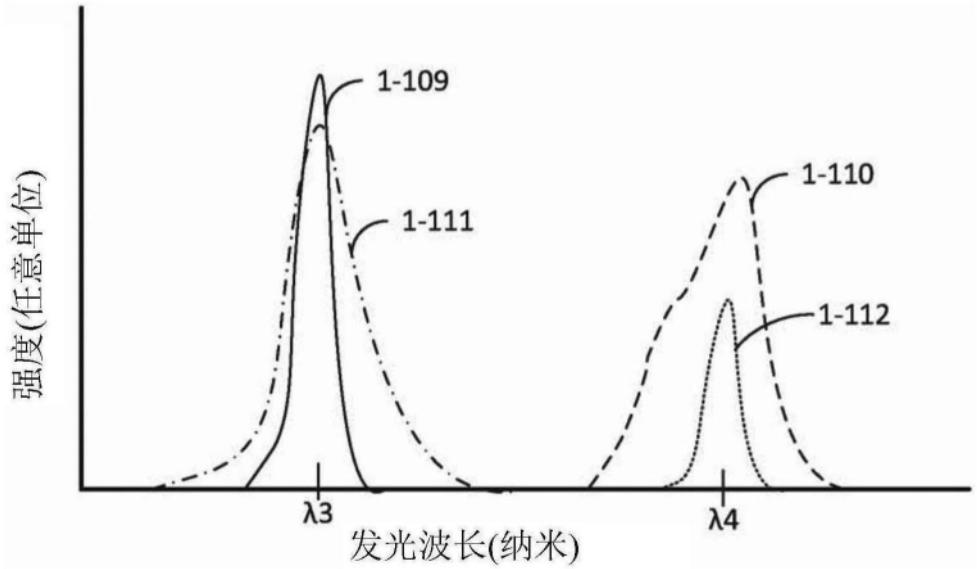

1-109
1-110
1-111
1-112
强度(任意单位)
λ3
λ4
发光波长(纳米)

图1-2C

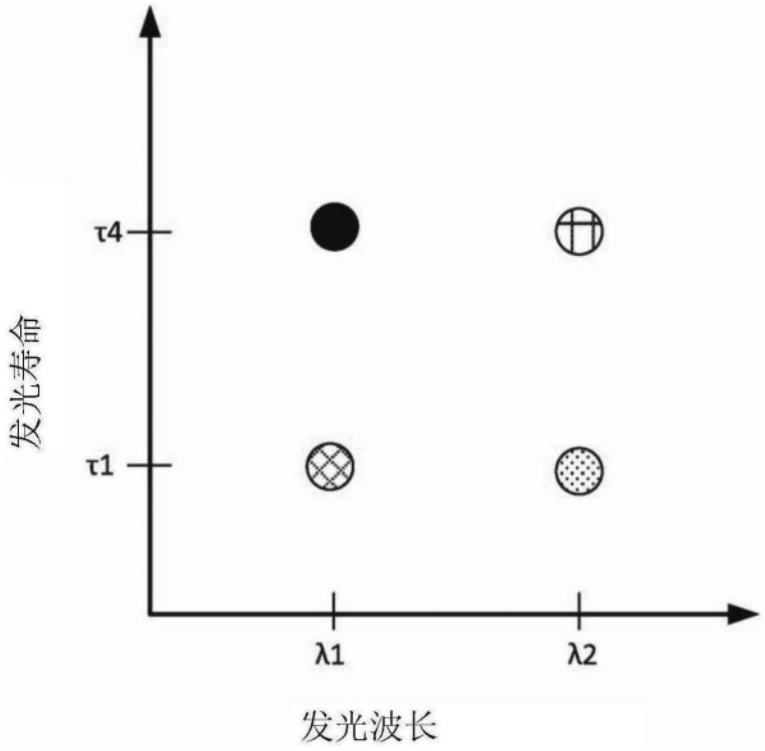


图1-3A

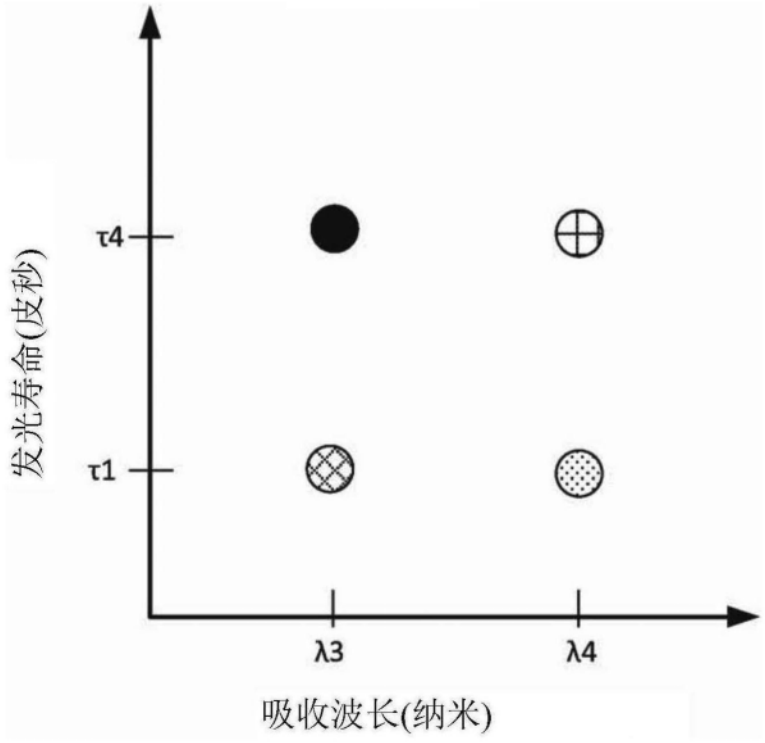


图1-3B

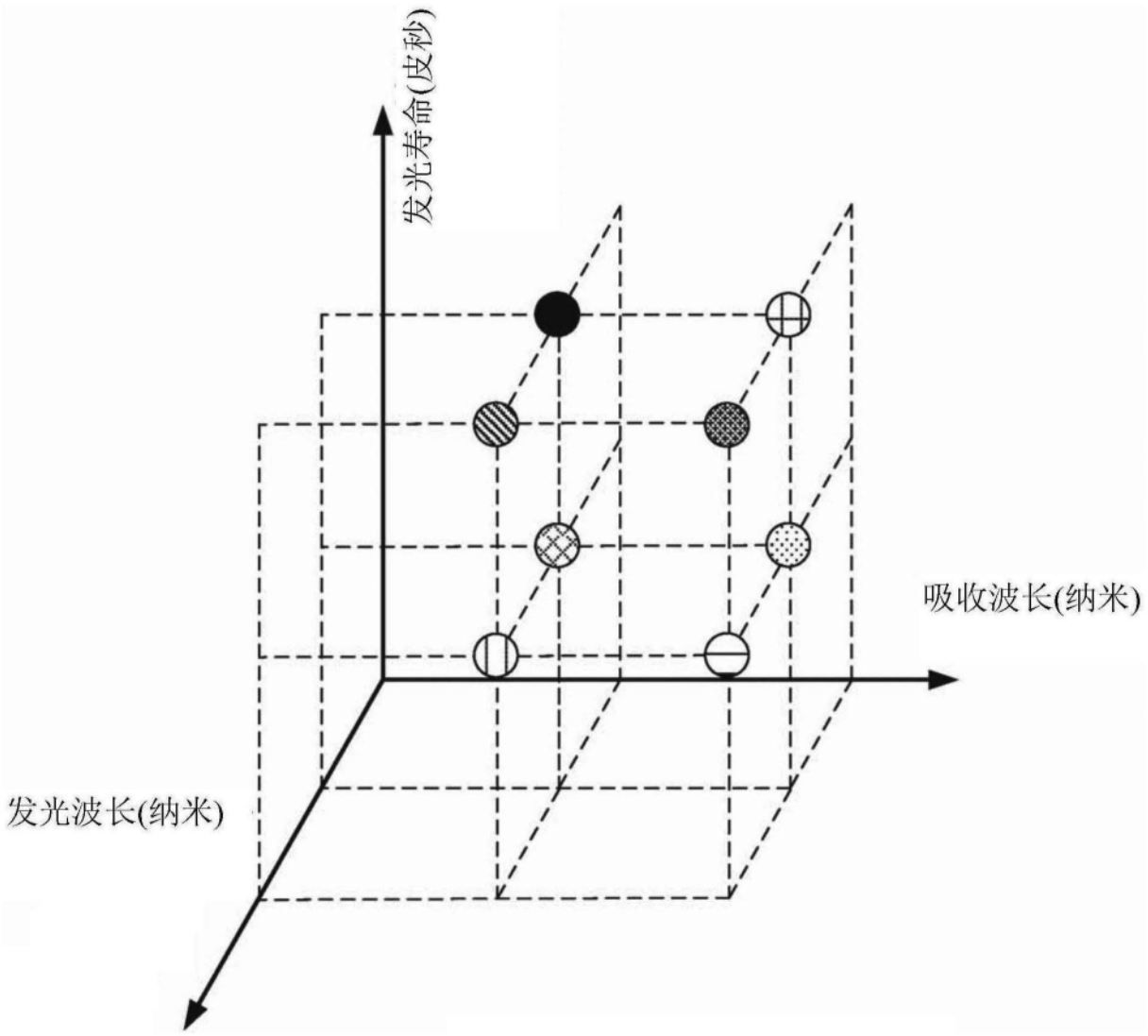


图1-4

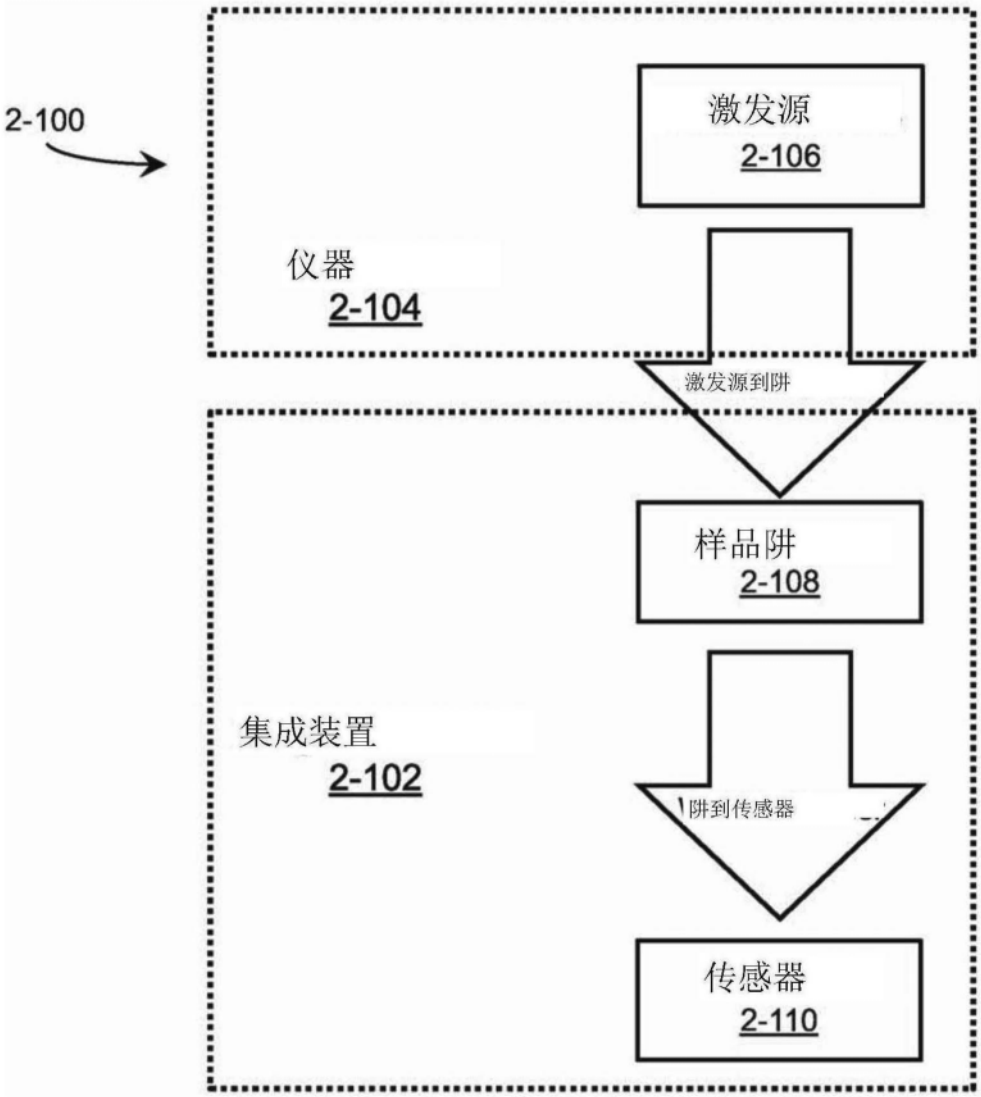


图2-1A

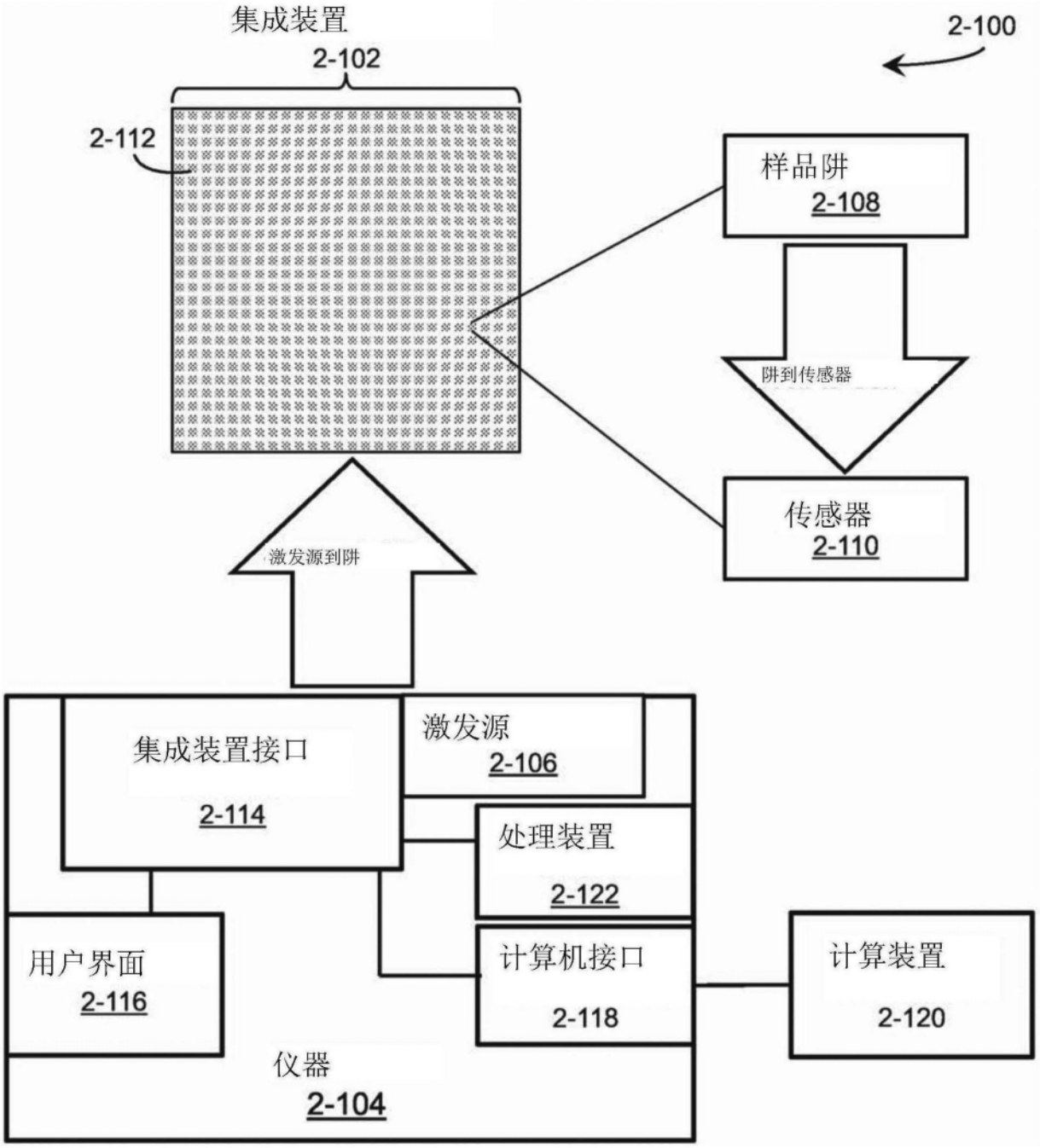

集成装置
2-102
2-100
2-112
样品阱
2-108
阱到传感器
传感器
2-110
激发源到阱
集成装置接口
2-114
激发源
2-106
处理装置
2-122
用户界面
2-116
计算机接口
2-118
计算装置
2-120
仪器
2-104

图2-1B

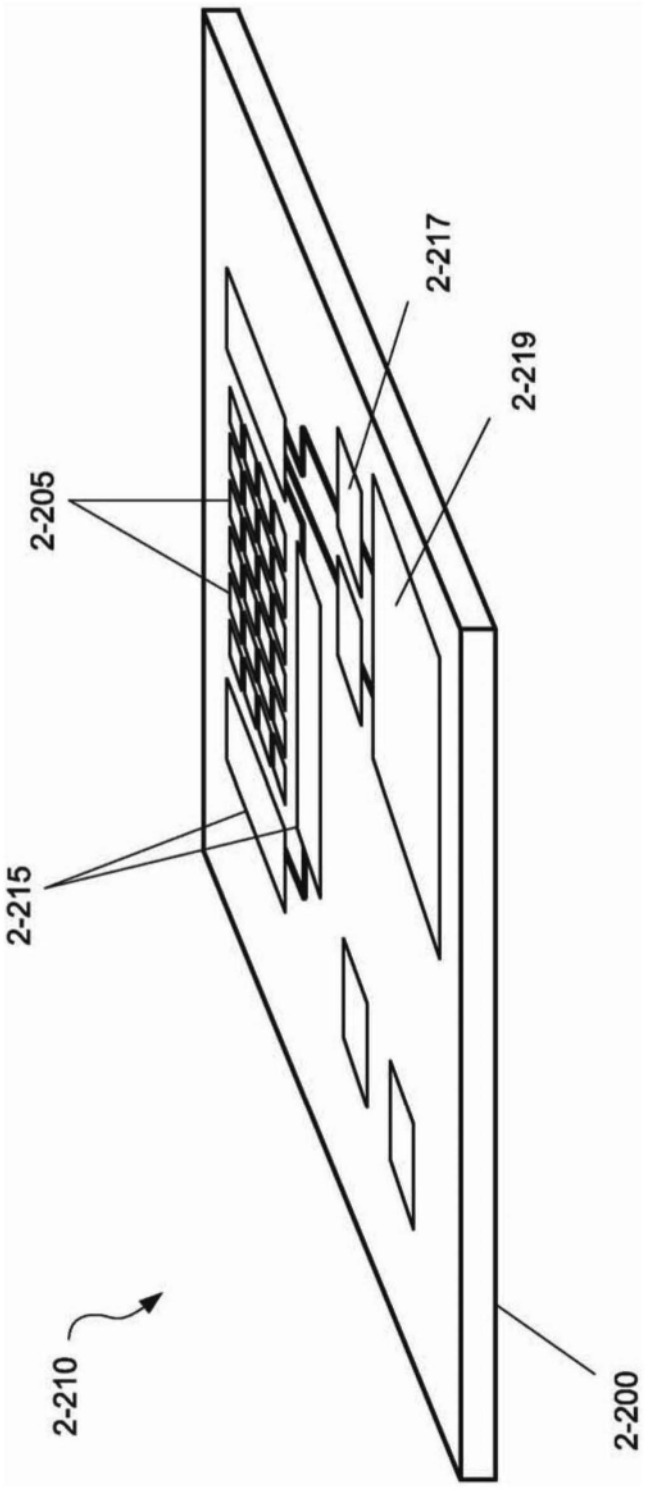


图2-2

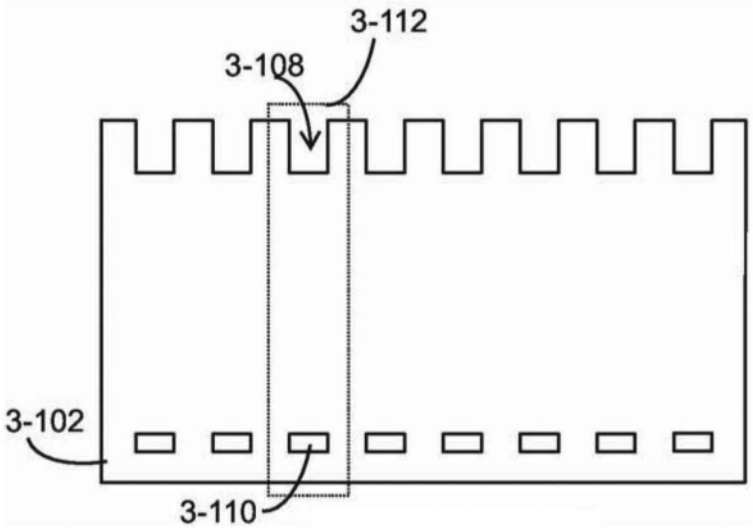


图3-1A

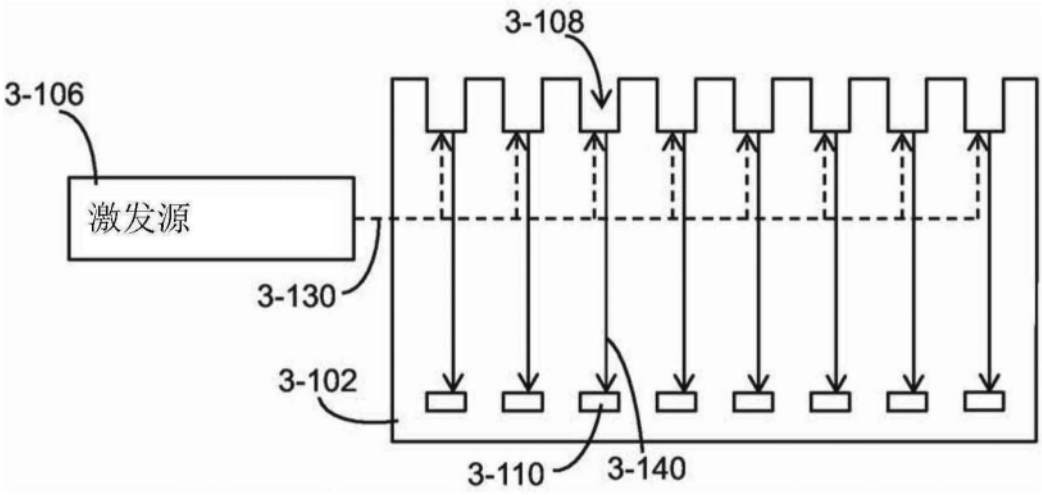


图3-1B

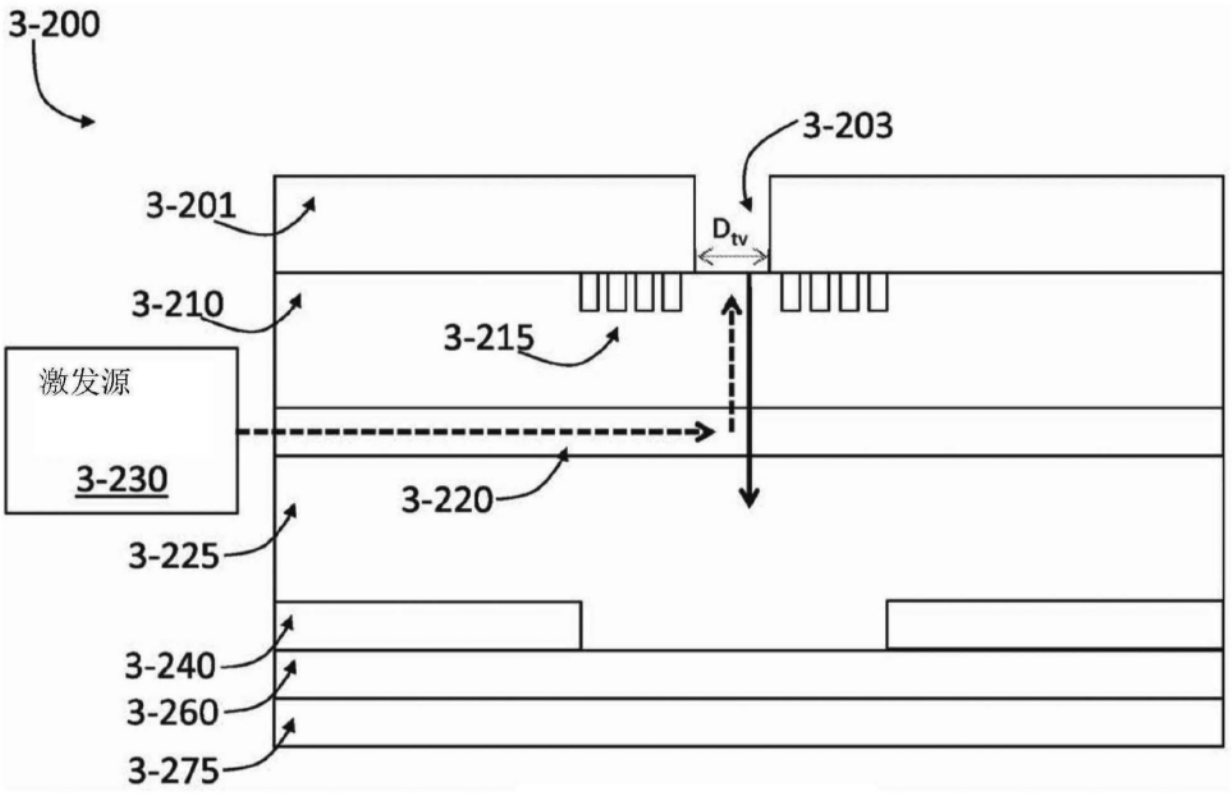

3-200
3-203
3-201
D_{tv}
3-210
3-215
激发源
3-230
3-220
3-225
3-240
3-260
3-275

图3-2

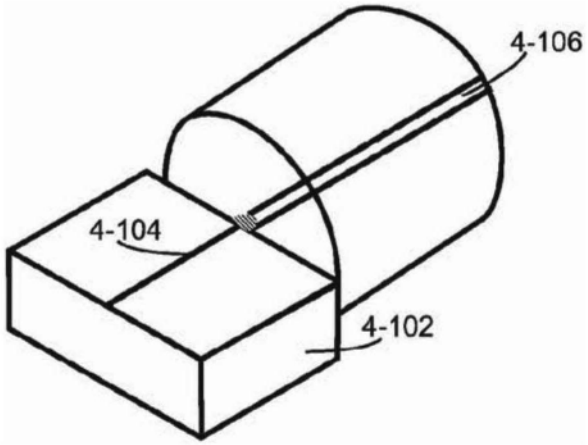

4-106
4-104
4-102

图4-1A

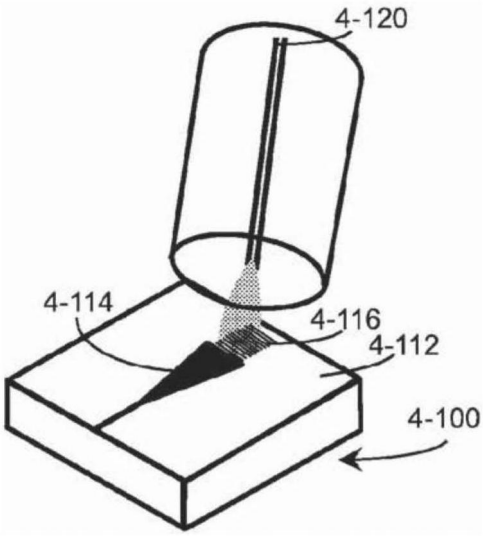

4-120
4-114
4-116
4-112
4-100

图4-1B

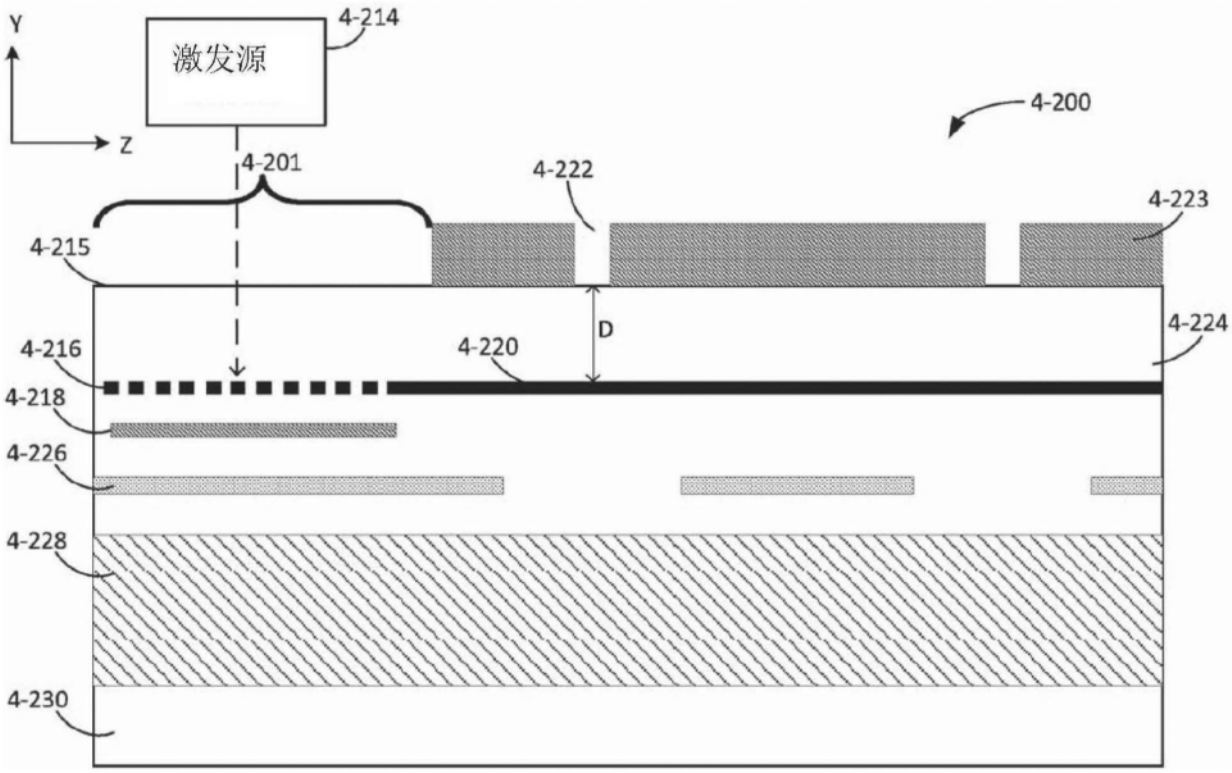

Y
Z
激发源
4-214
4-200
4-201
4-222
4-223
4-215
D
4-224
4-216
4-220
4-218
4-226
4-228
4-230

图4-2

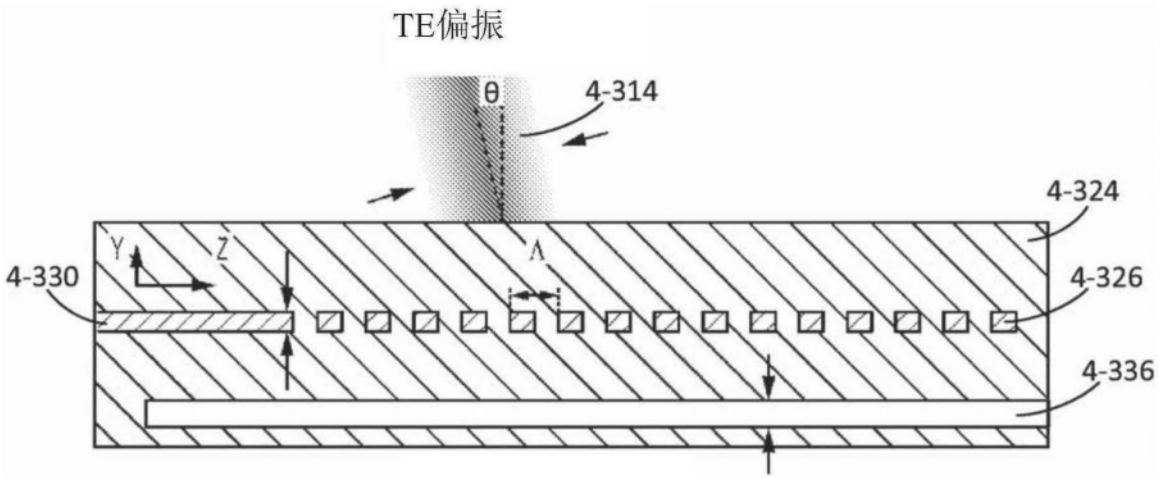


图4-3A

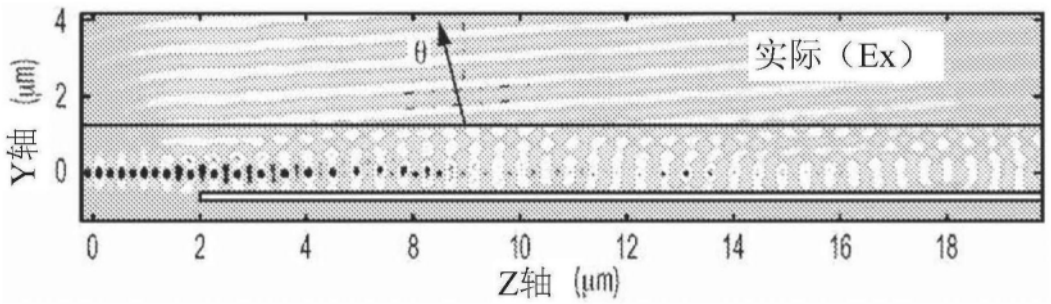


图4-3B

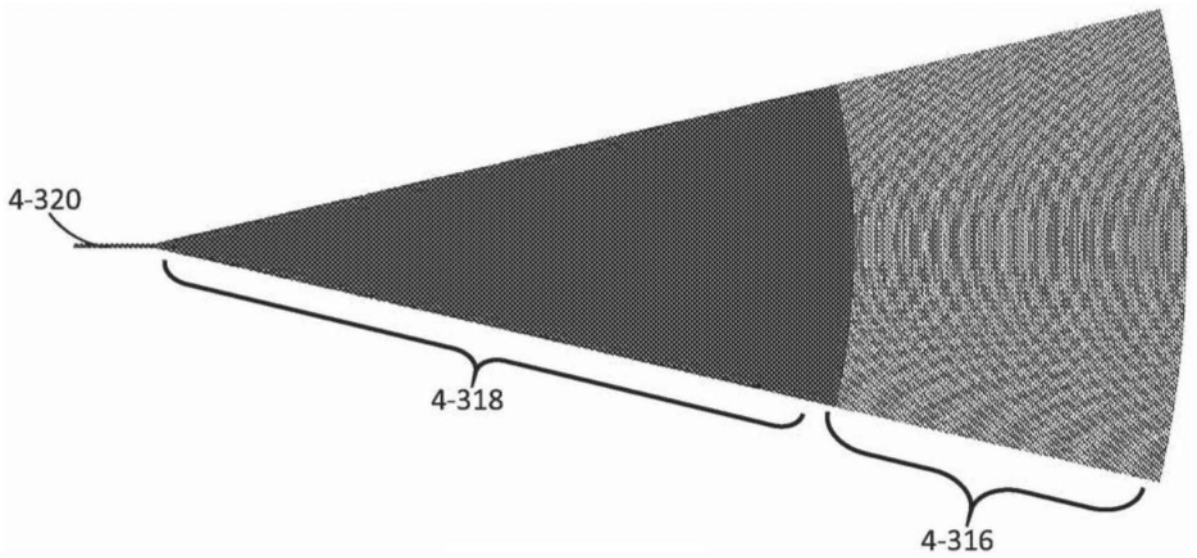


图4-3C

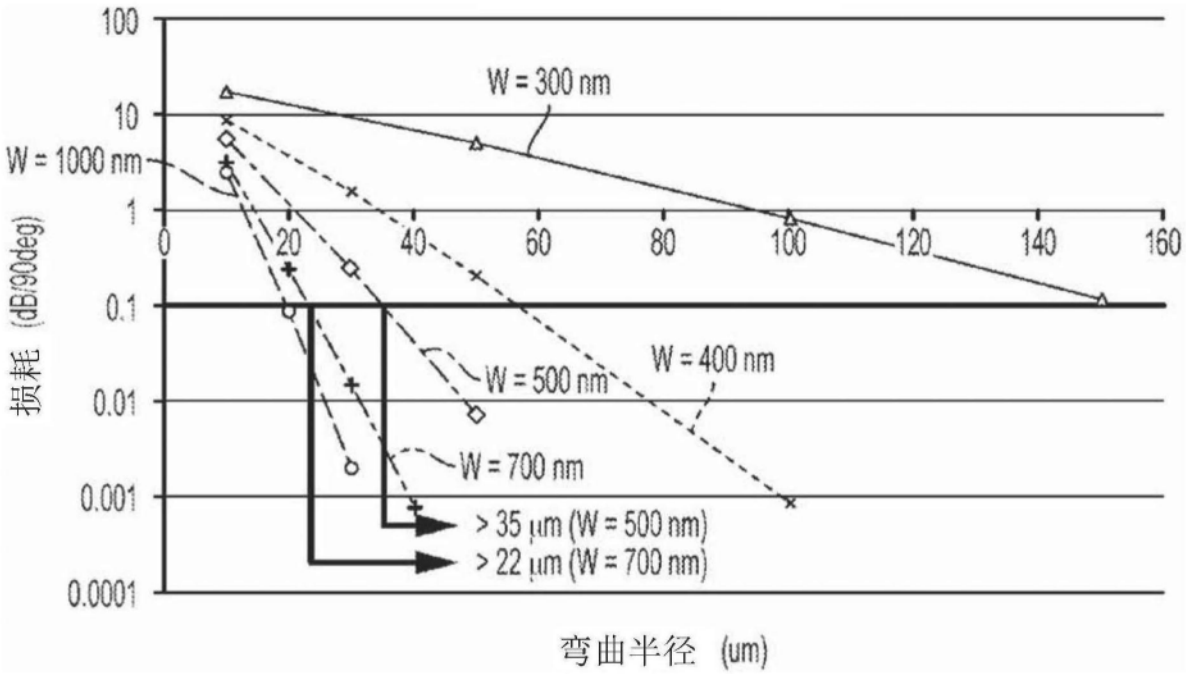

100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0
20
40
60
80
100
120
140
160
W = 300 nm
W = 1000 nm
W = 500 nm
W = 400 nm
W = 700 nm
> 35 μm (W = 500 nm)
> 22 μm (W = 700 nm)
损耗 (dB/90deg)
弯曲半径 (um)

图4-4

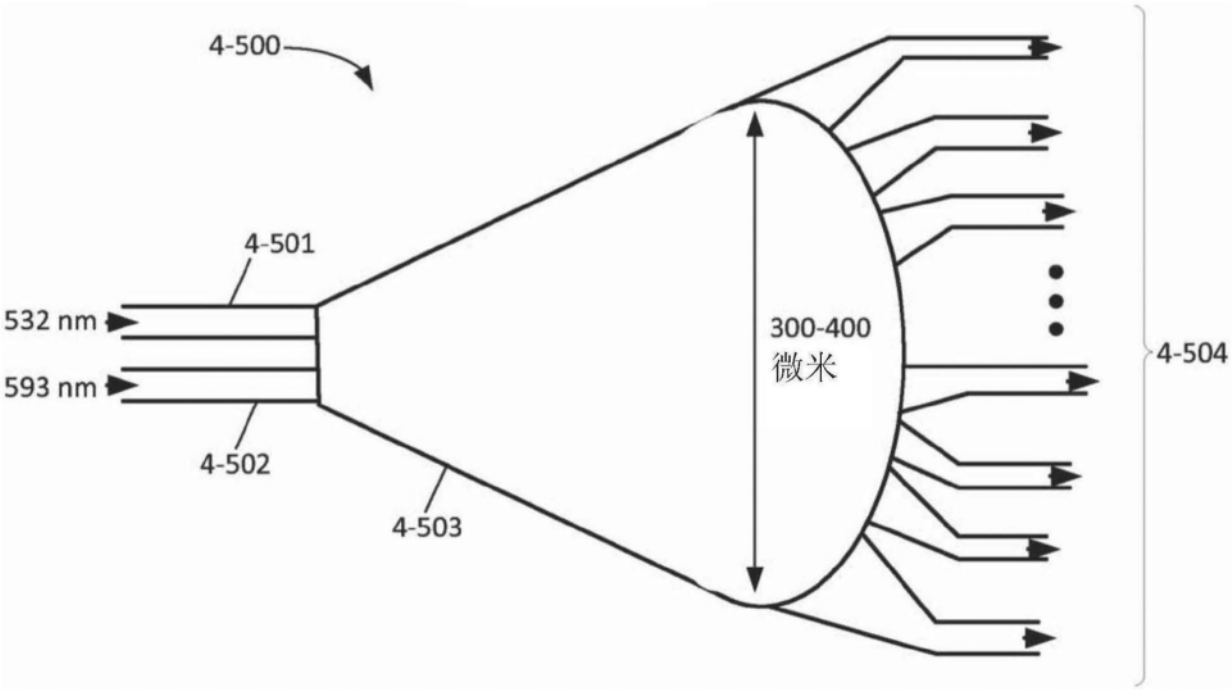

4-500
4-501
532 nm
593 nm
4-502
4-503
300-400
微米
4-504

图4-5

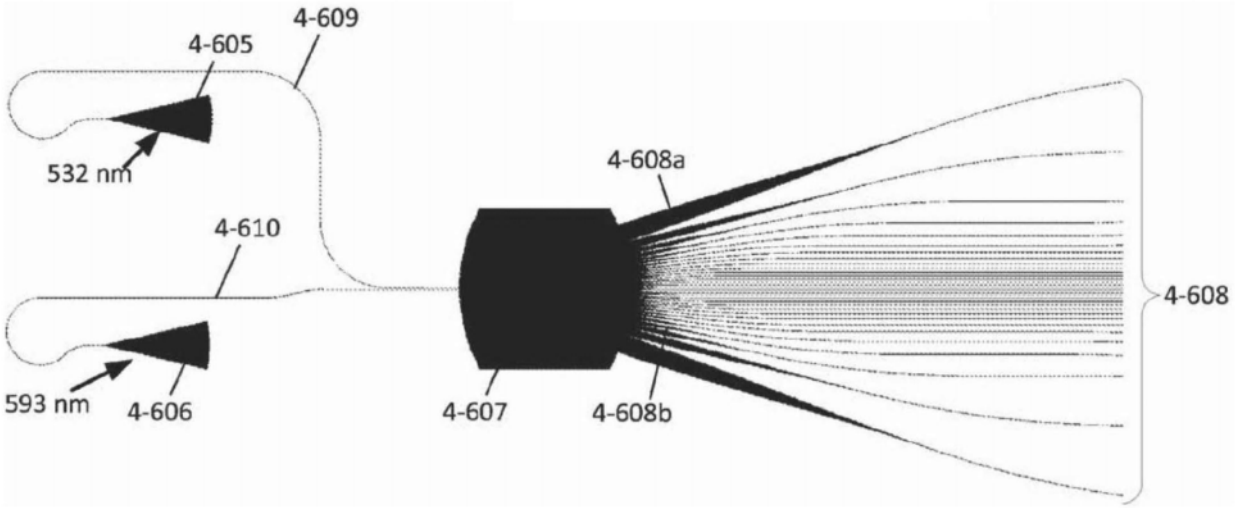

4-609
4-605
532 nm
4-610
593 nm
4-606
4-608a
4-608
4-607
4-608b

图4-6

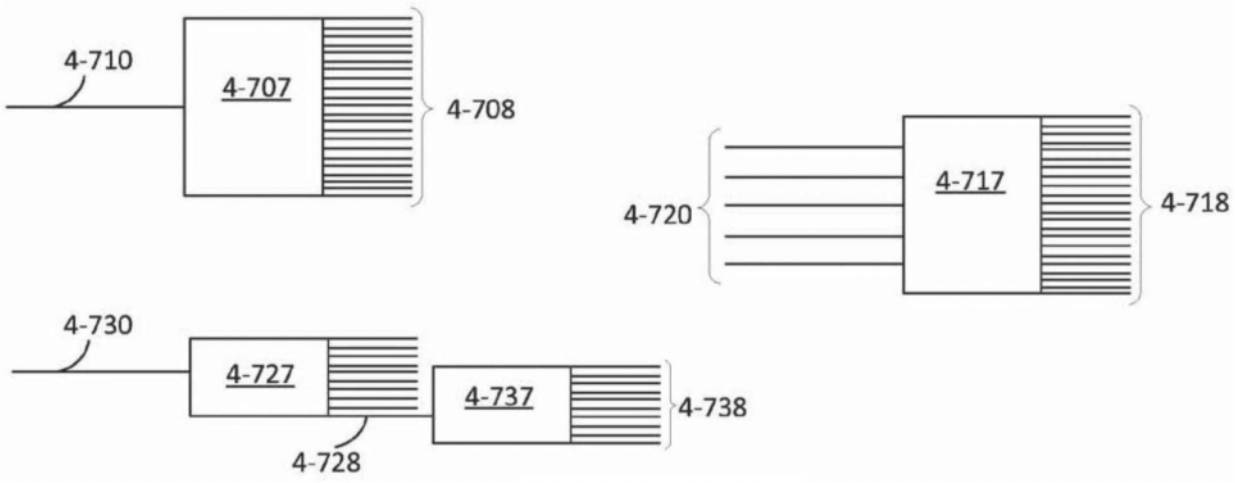

4-710
4-707
4-708
4-720
4-717
4-718
4-730
4-727
4-737
4-738
4-728

图4-7

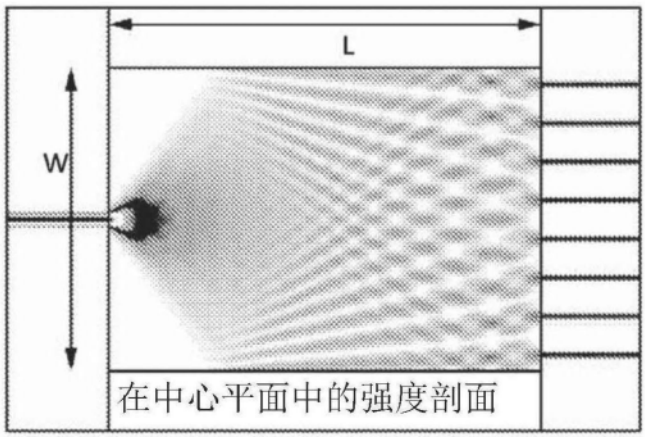


图4-8

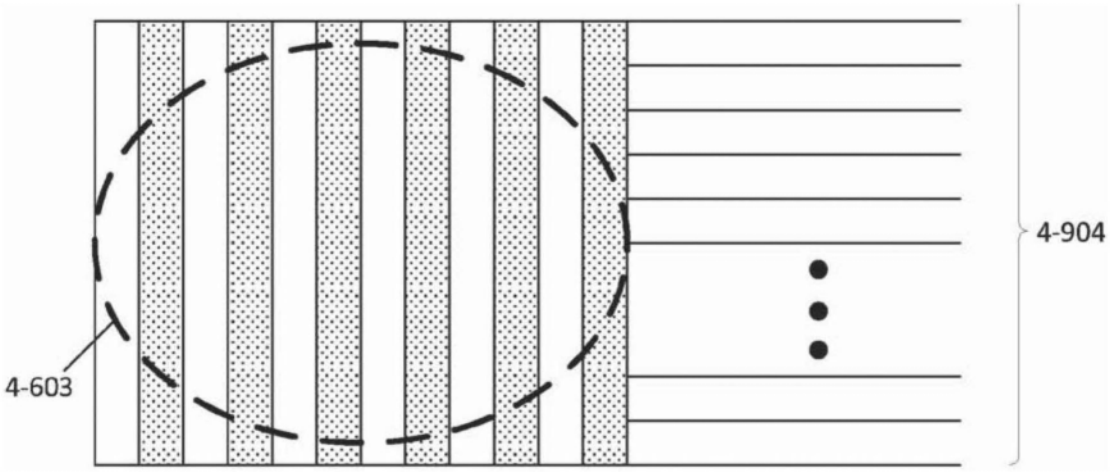


图4-9A

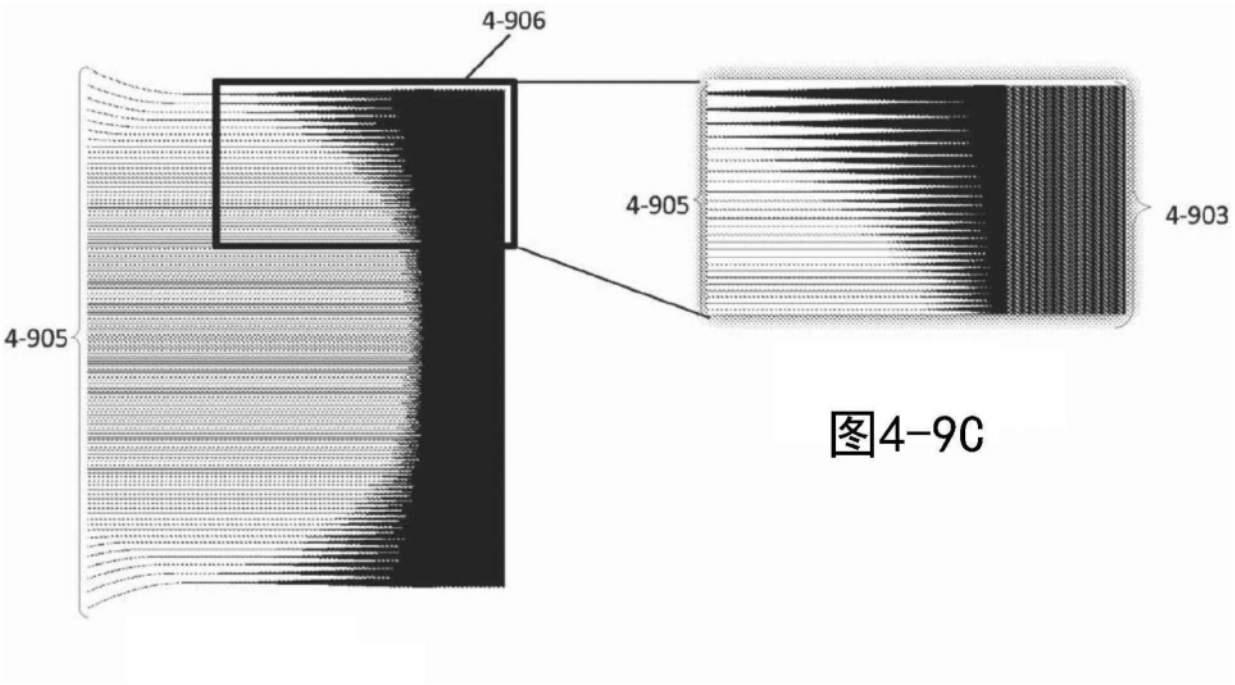


图4-9C

图4-9B

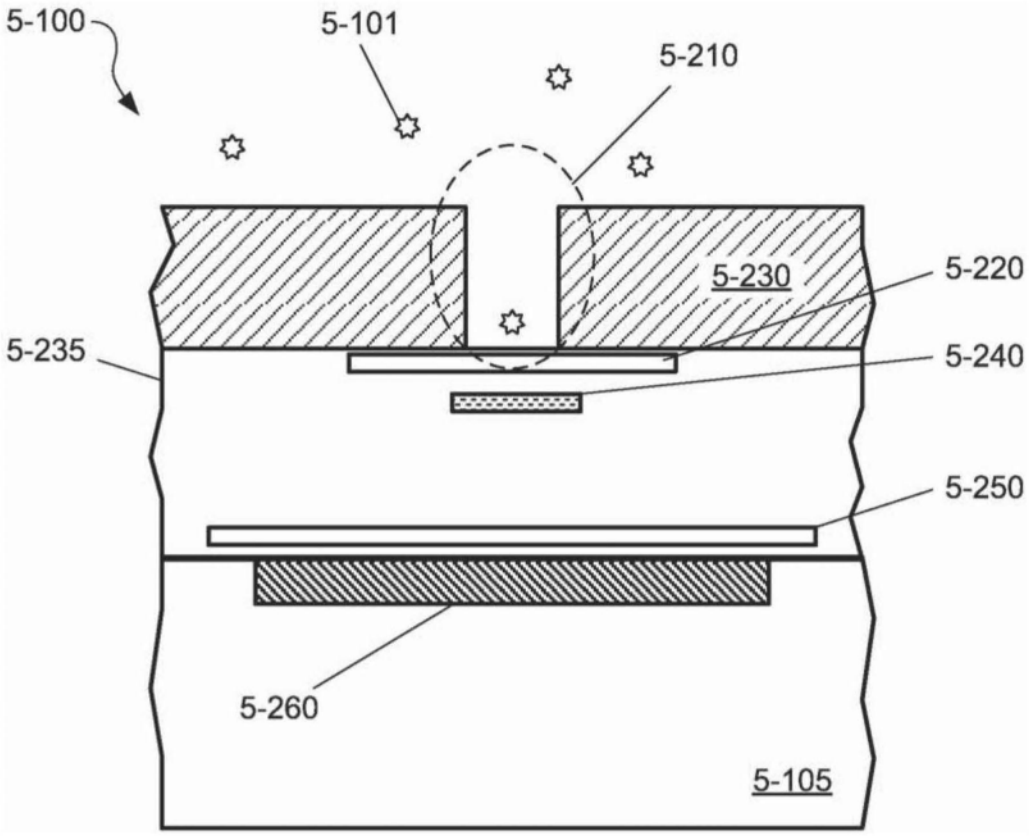


图5-1

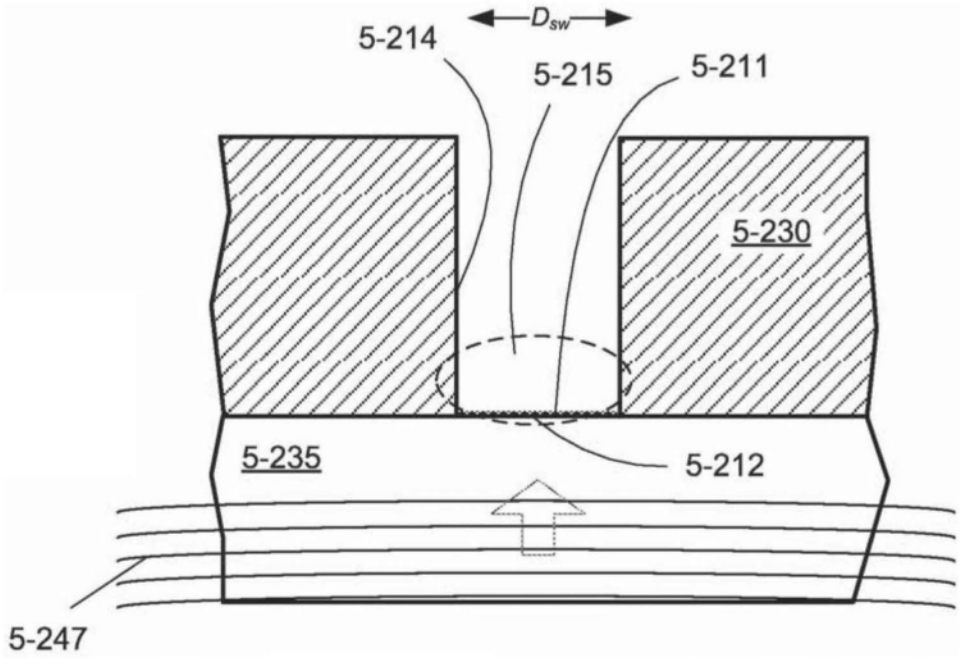


图5-2

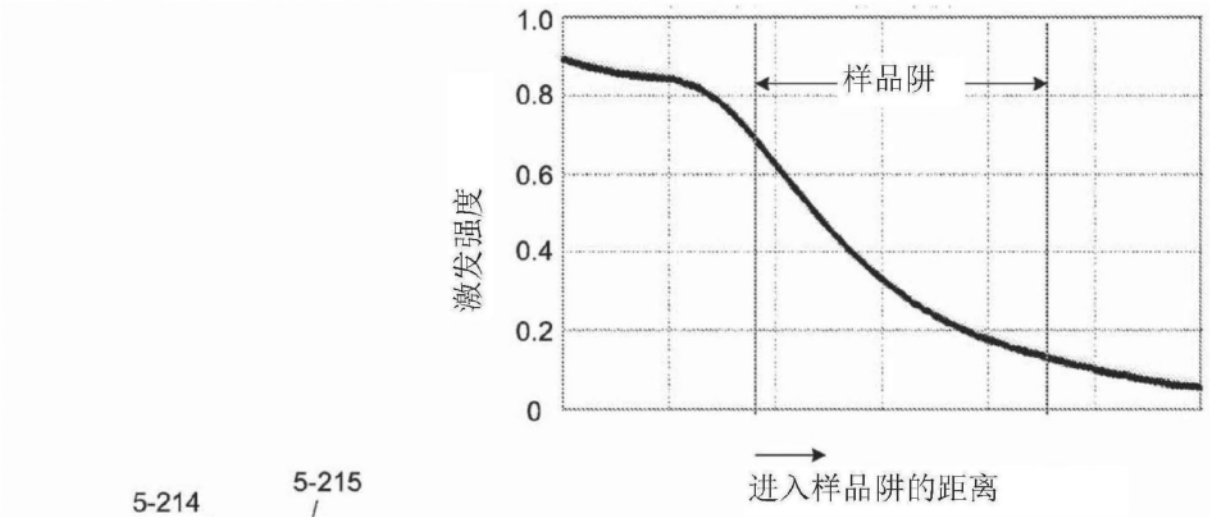

1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
激发强度
样品阱
进入样品阱的距离

图5-3

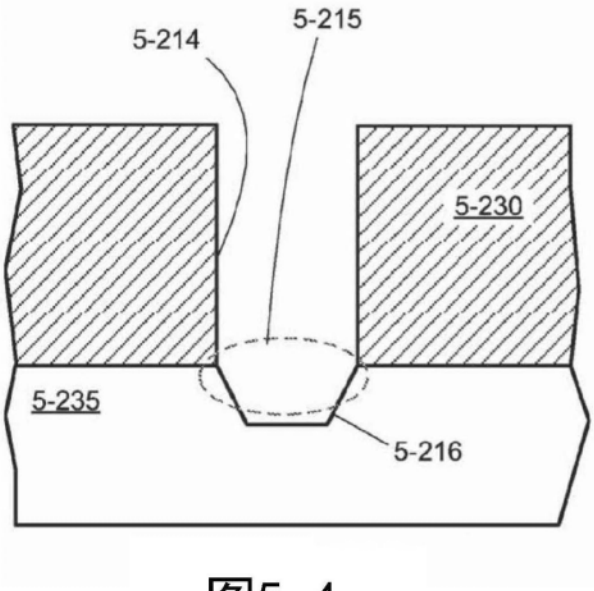

5-214
5-215
5-230
5-235
5-216

图5-4

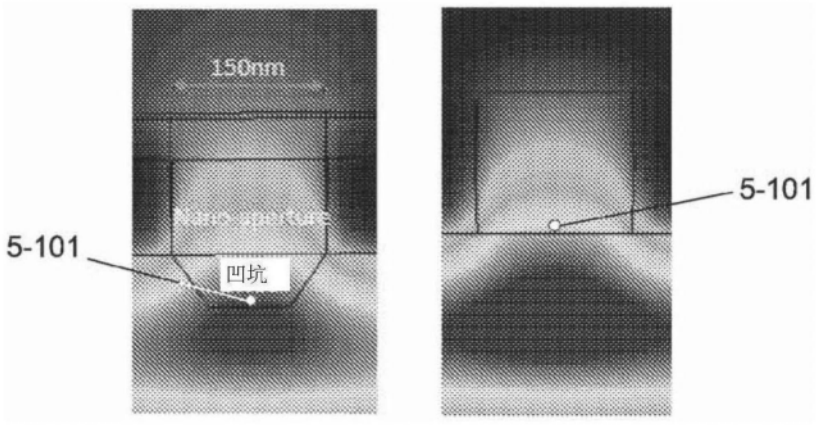

150nm
5-101
凹坑
5-101

图5-5

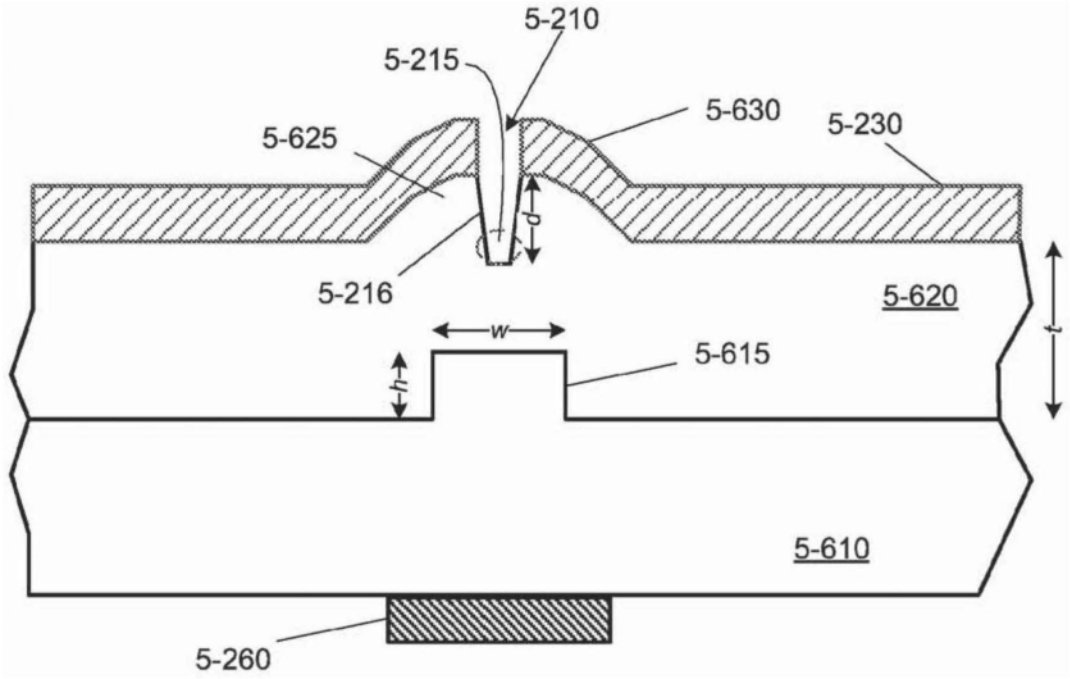

5-210
5-215
5-630
5-230
5-625
d
5-216
5-620
w
5-615
h
t
5-610
5-260

图5-6A

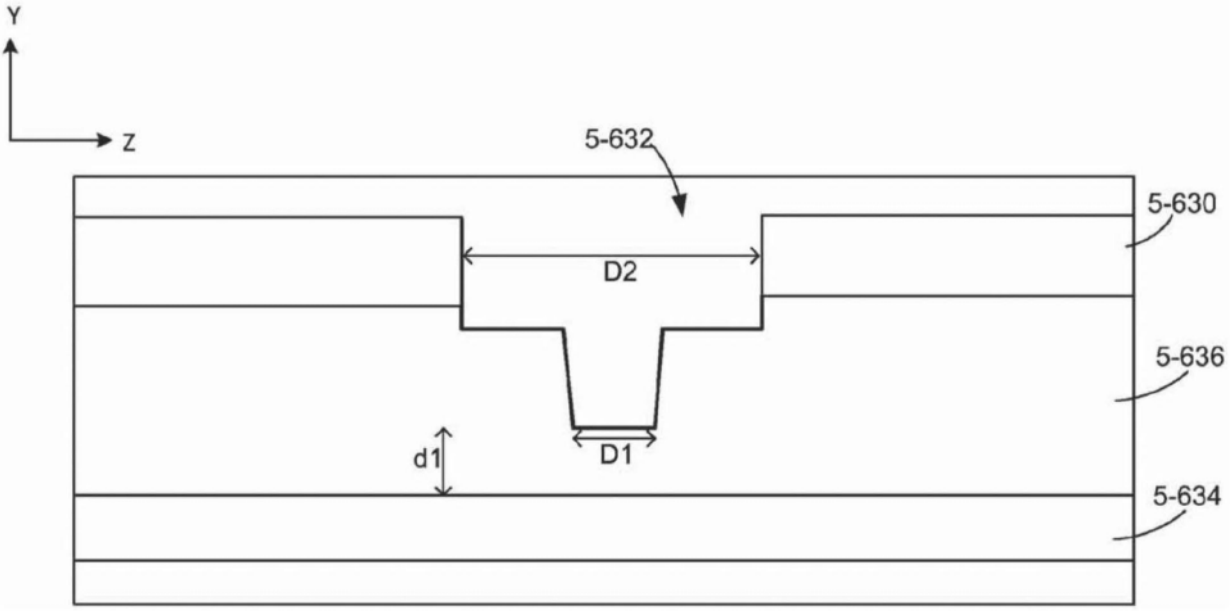

Y
Z
5-632
5-630
D2
5-636
d1
D1
5-634

图5-6B

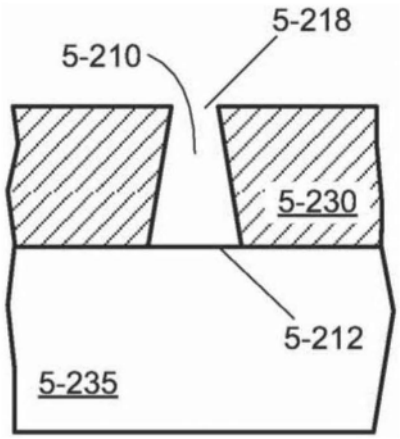


图5-7A

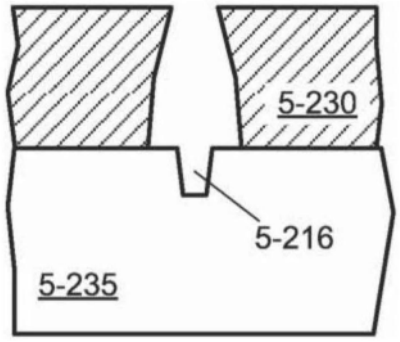


图5-7B

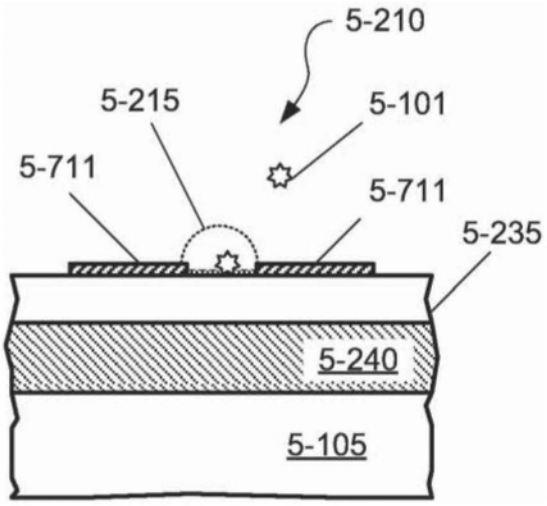


图5-7C

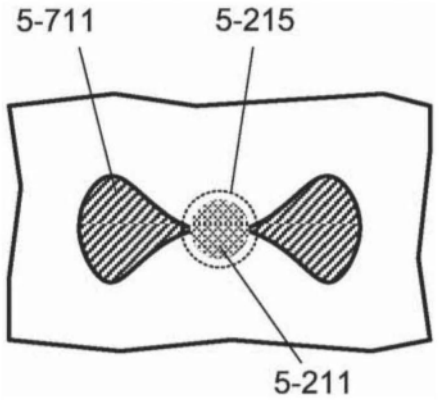


图5-7D

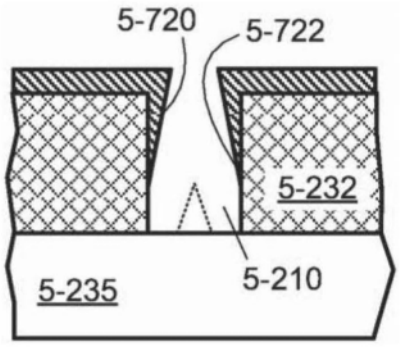


图5-7E

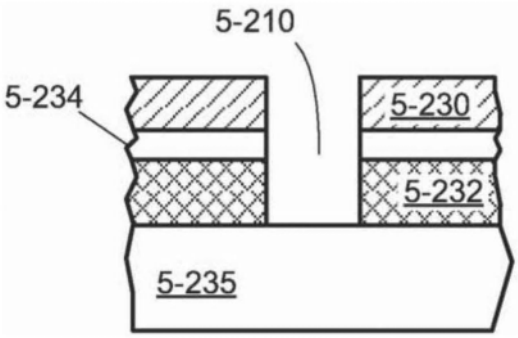


图5-7F

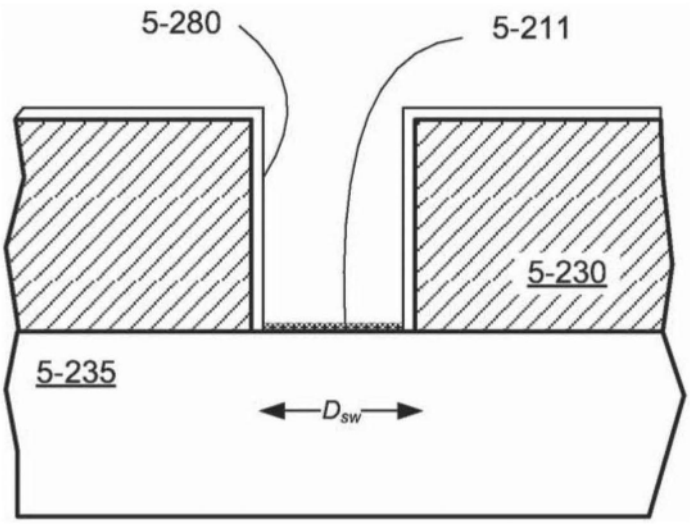


图5-8

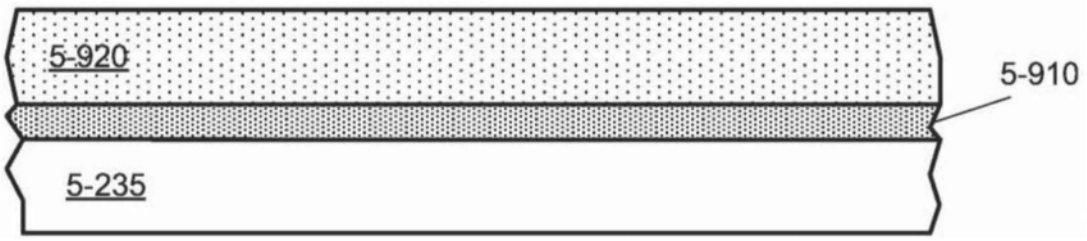


图5-9A

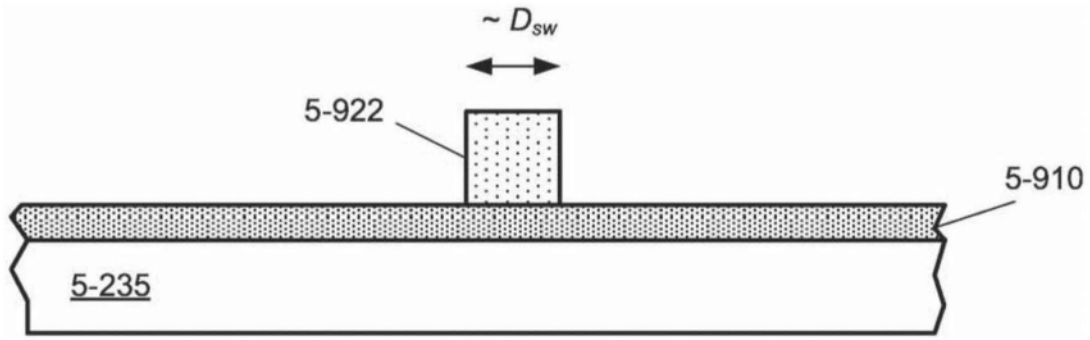


图5-9B

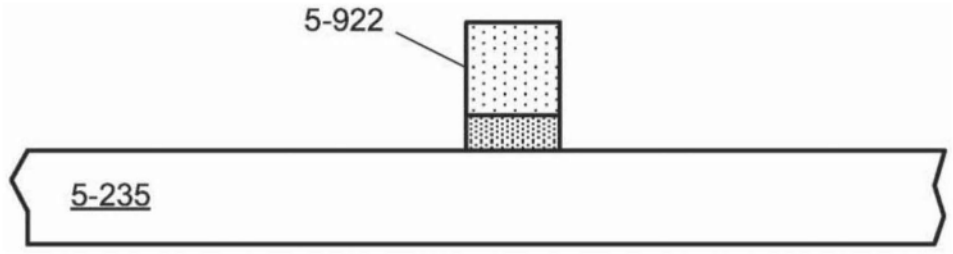


图5-9C

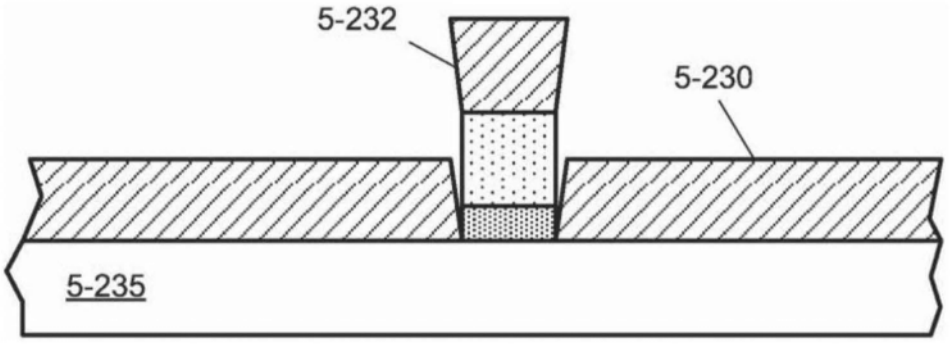


图5-9D

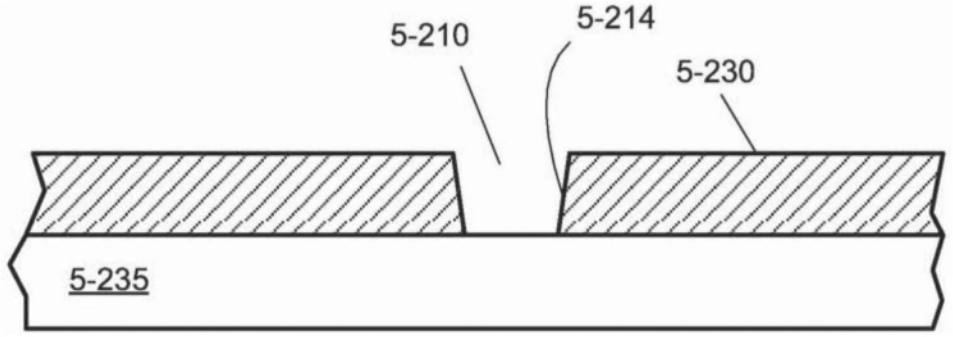


图5-9E

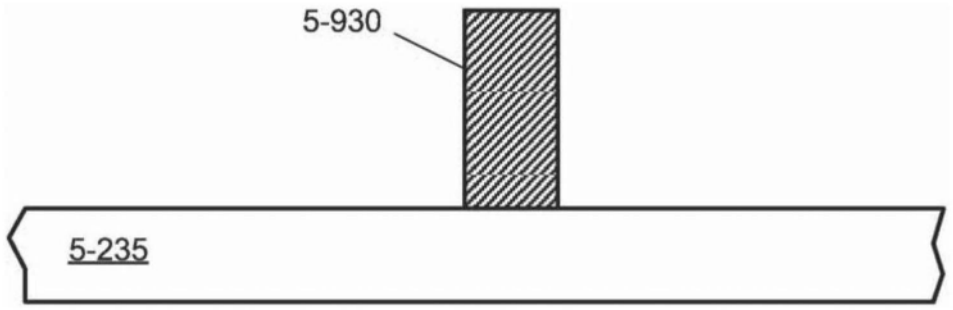


图5-9F

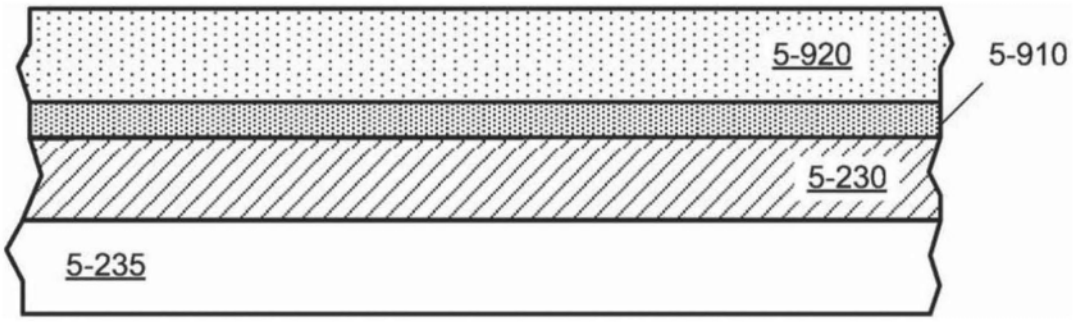


图5-10A

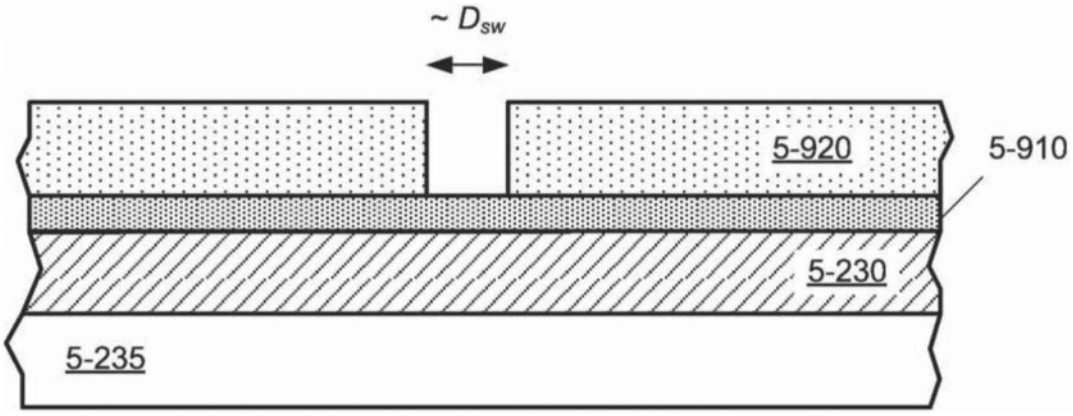


图5-10B

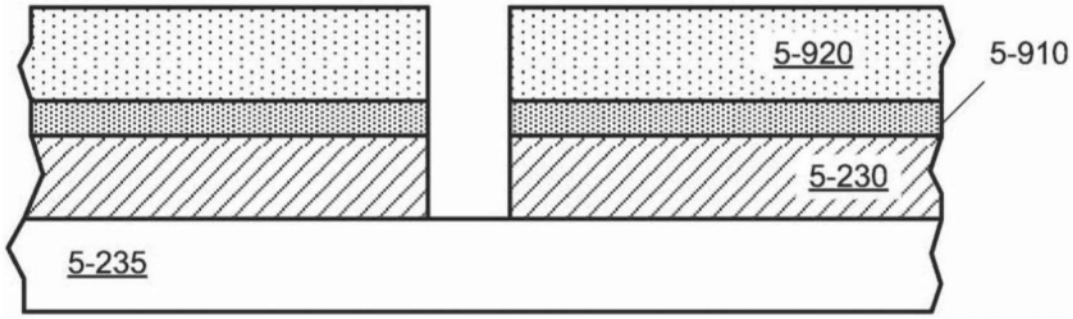


图5-10C

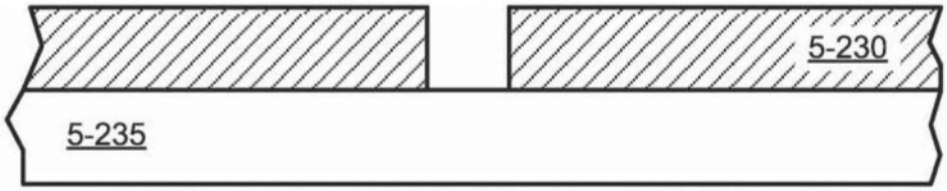


图5-10D

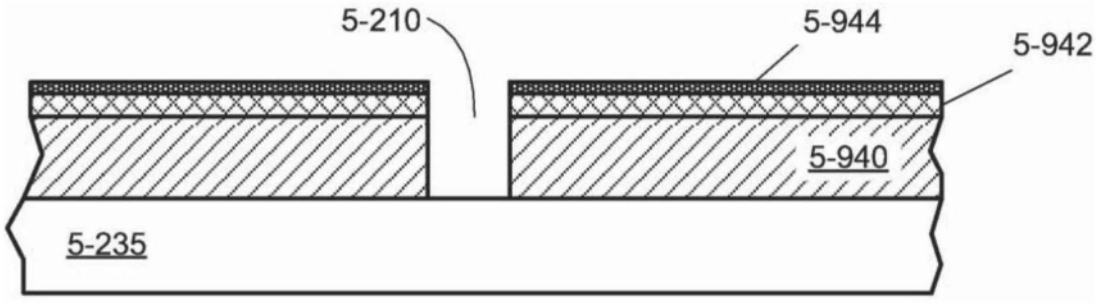


图5-11

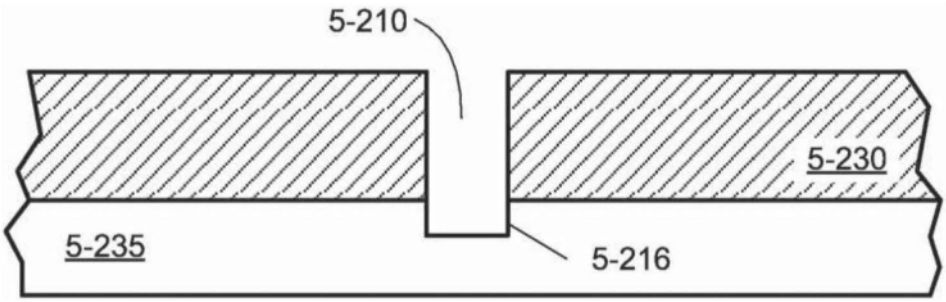


图5-12

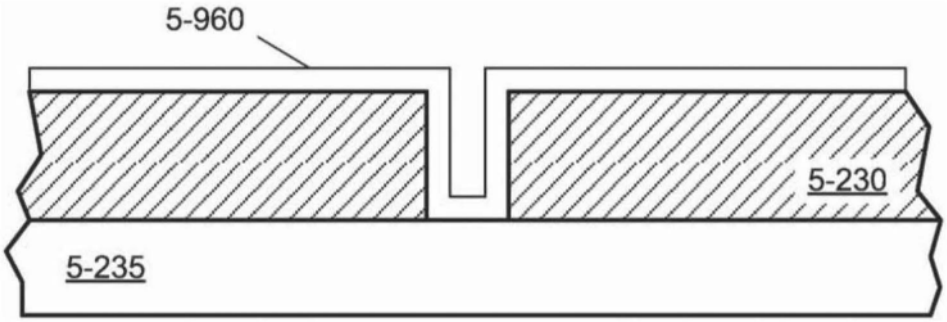


图5-13A

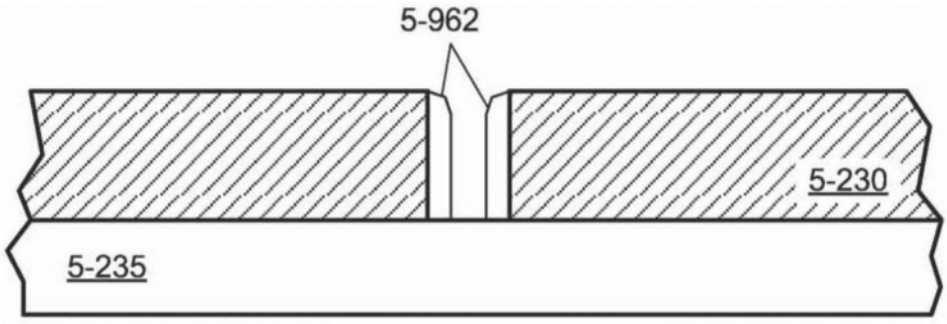


图5-13B

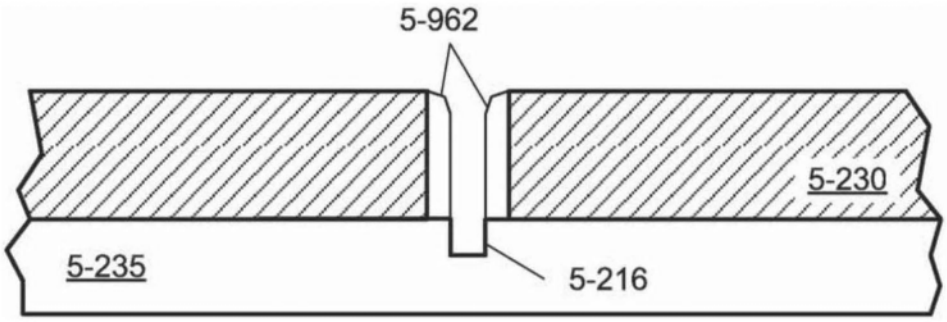


图5-13C

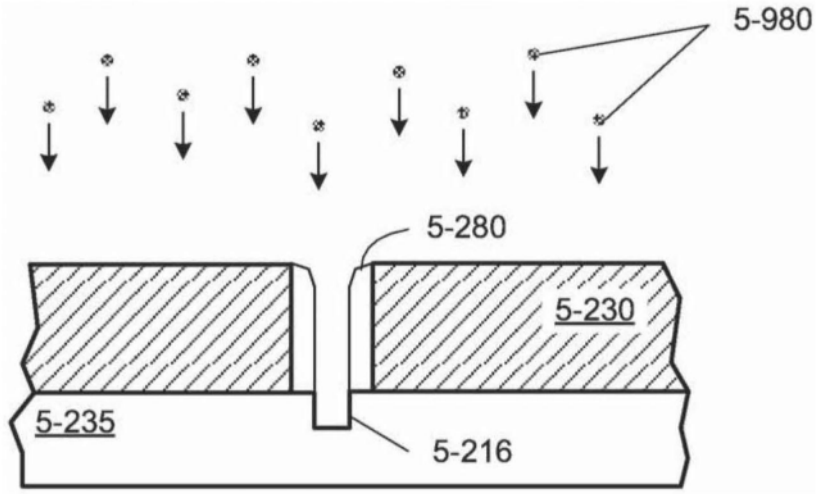


图5-14A

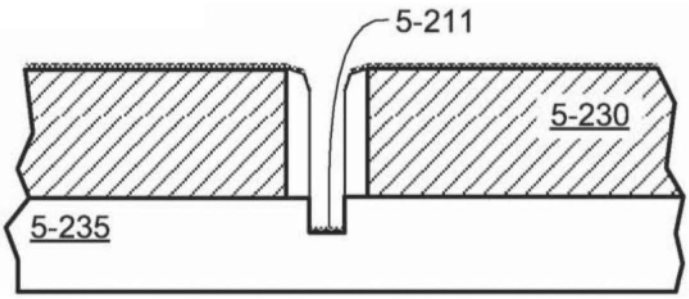


图5-14B

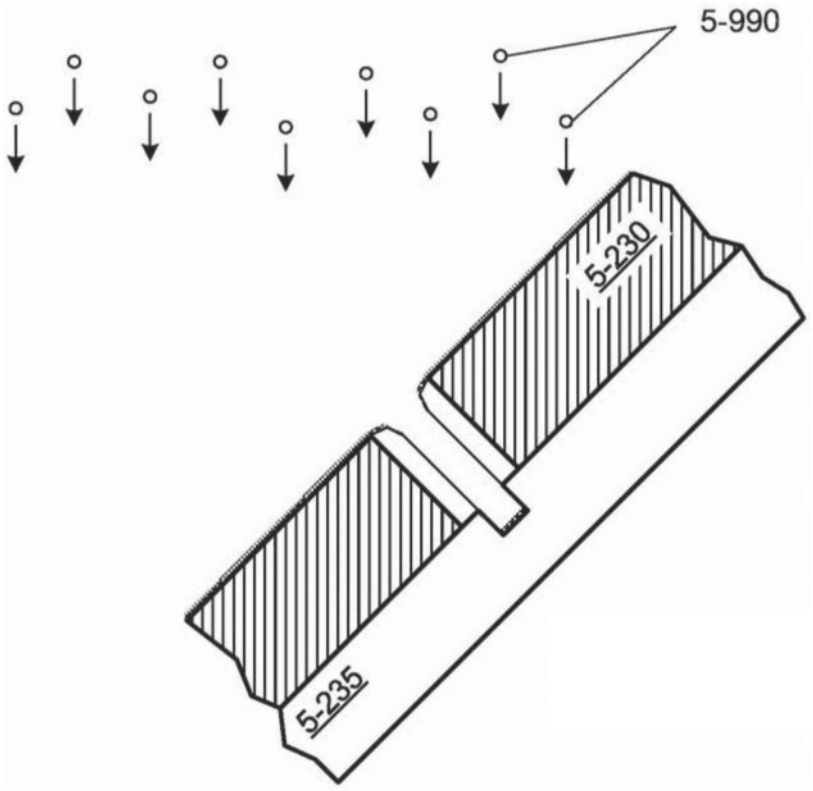


图5-14C

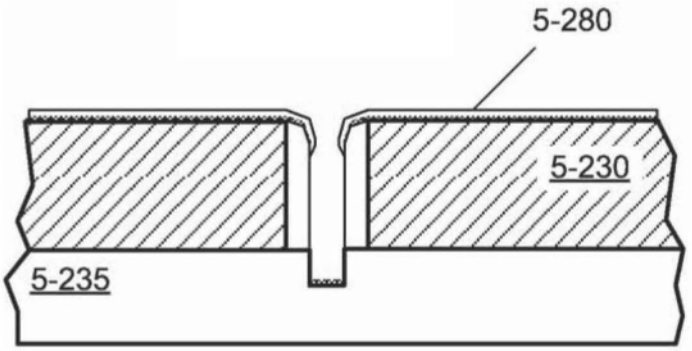


图5-14D

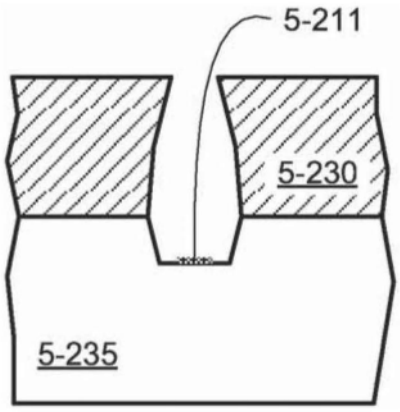


图5-15

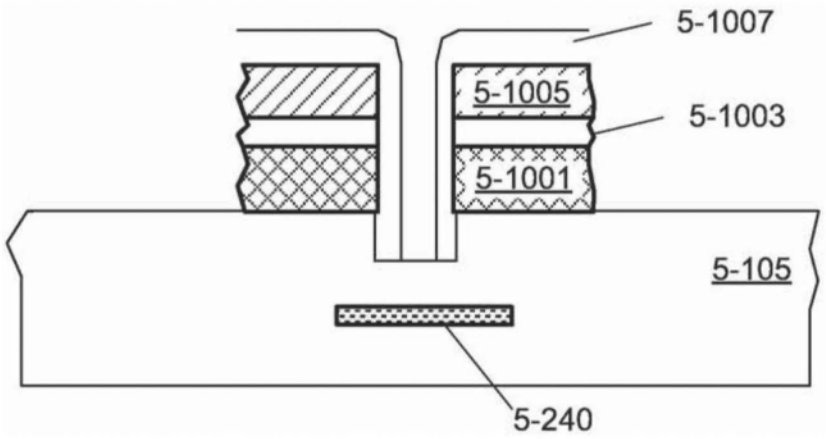


图5-16

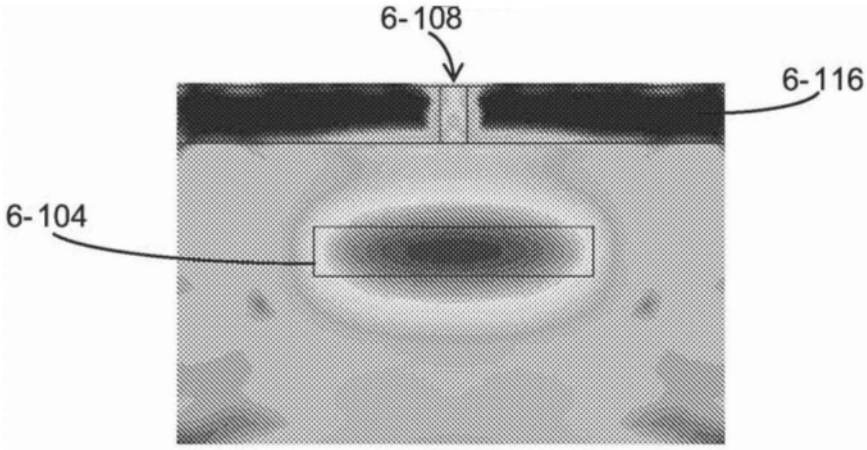


图6-1A

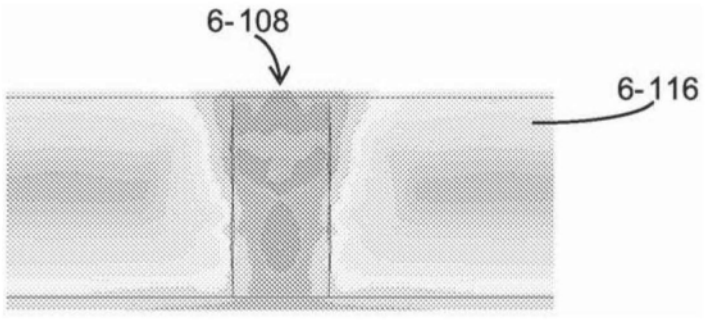


图6-1B

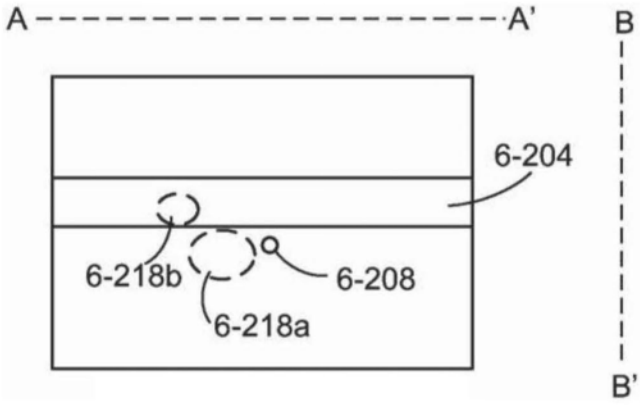


图6-2A

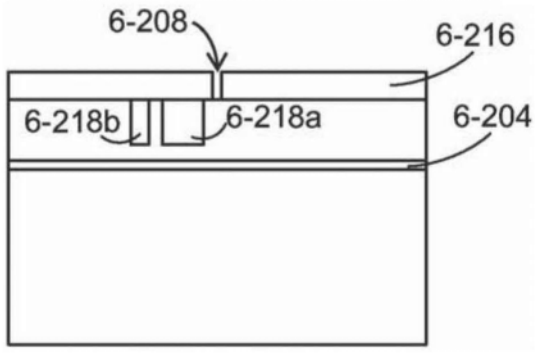


图6-2B

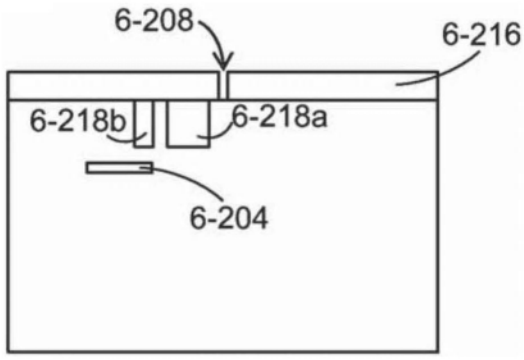


图6-2C

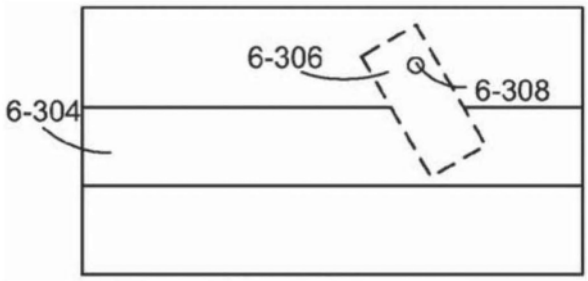


图6-3A

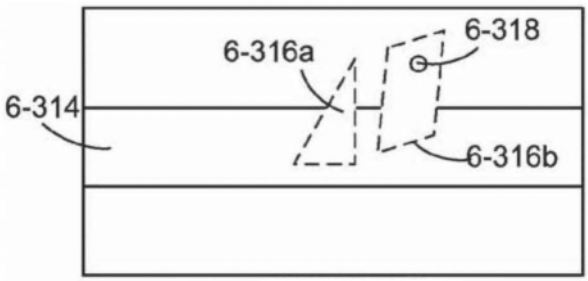


图6-3B

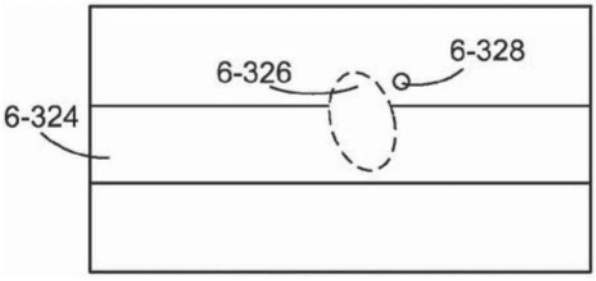


图6-3C

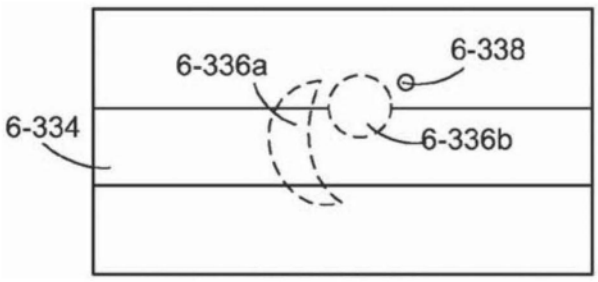

6-336a
6-338
6-334
6-336b

图6-3D

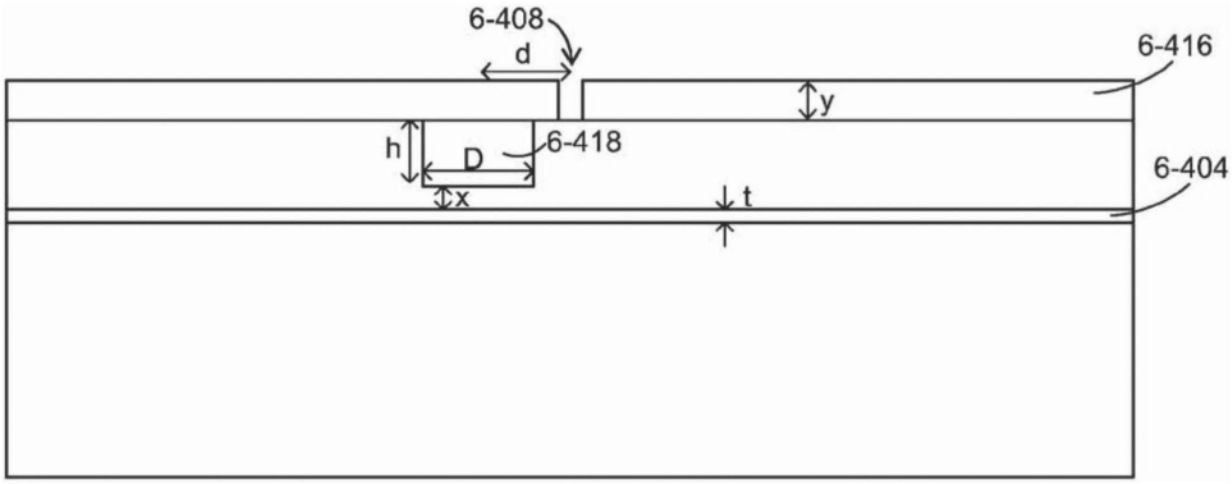

6-408
d
6-416
y
h
D
6-418
6-404
x
t

图6-4

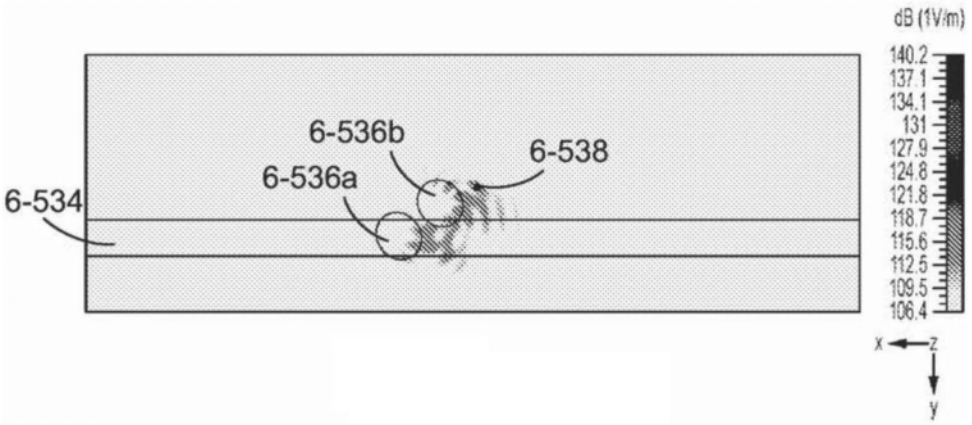

dB (1V/m)
140.2
137.1
134.1
131
127.9
124.8
121.8
118.7
115.6
112.5
109.5
106.4
6-536b
6-538
6-536a
6-534
x
z
y

图6-5

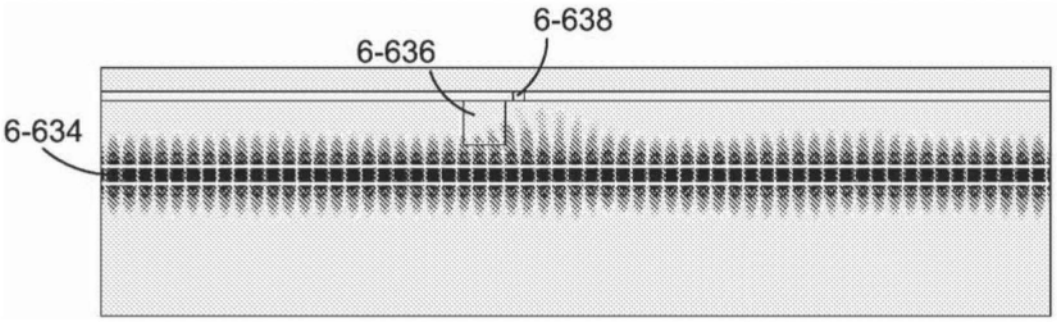


图6-6A

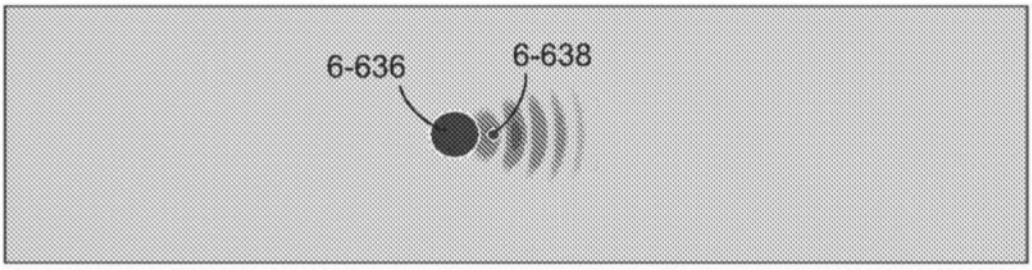


图6-6B

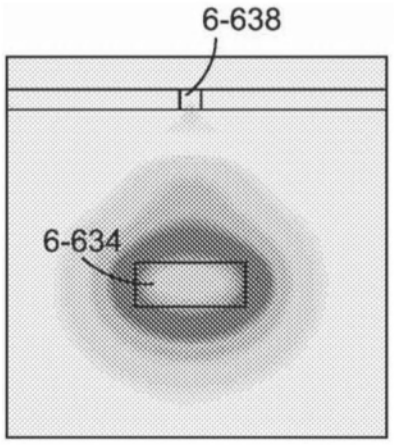


图6-6C

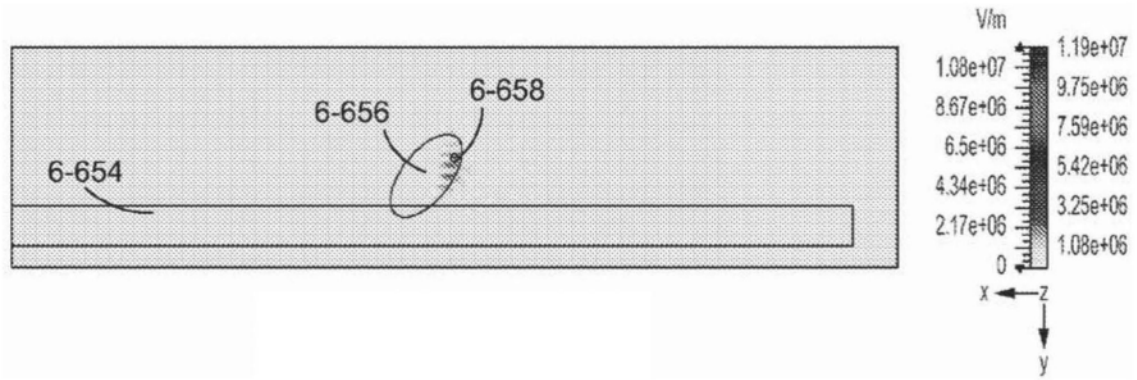


图6-6D

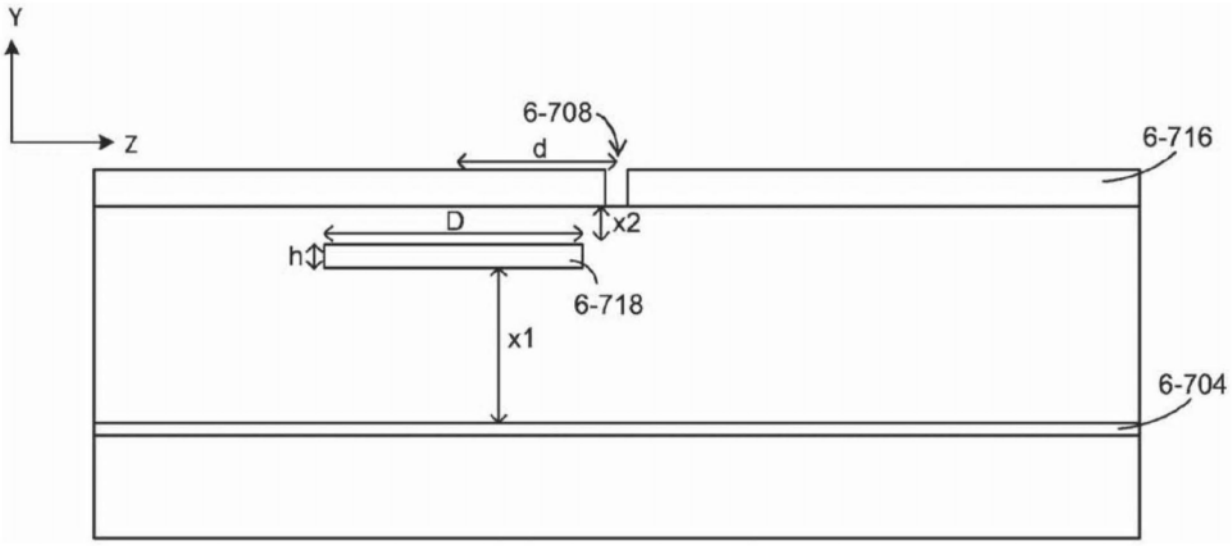


图6-7A

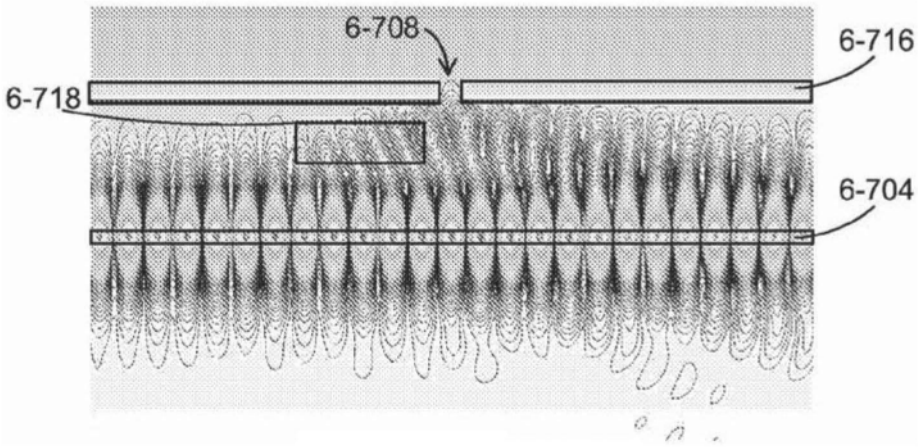


图6-7B

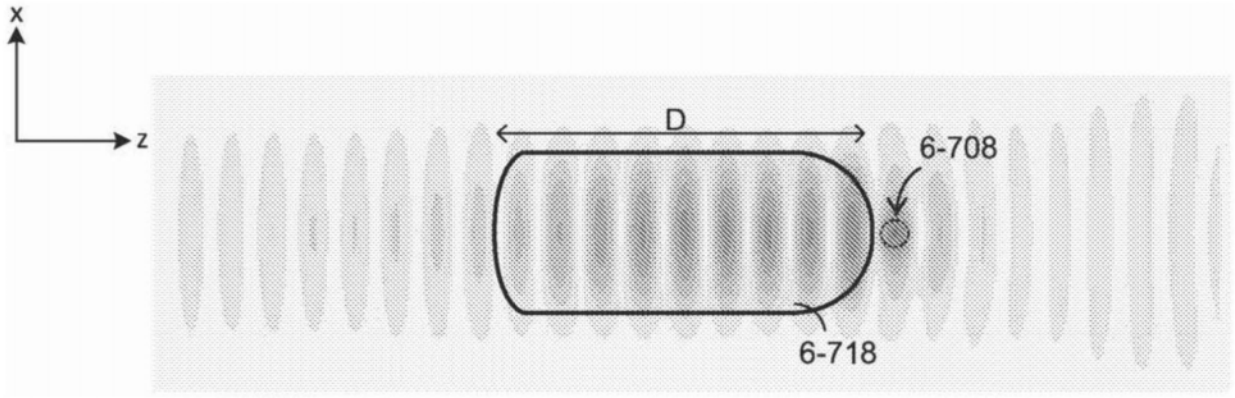


图6-7C

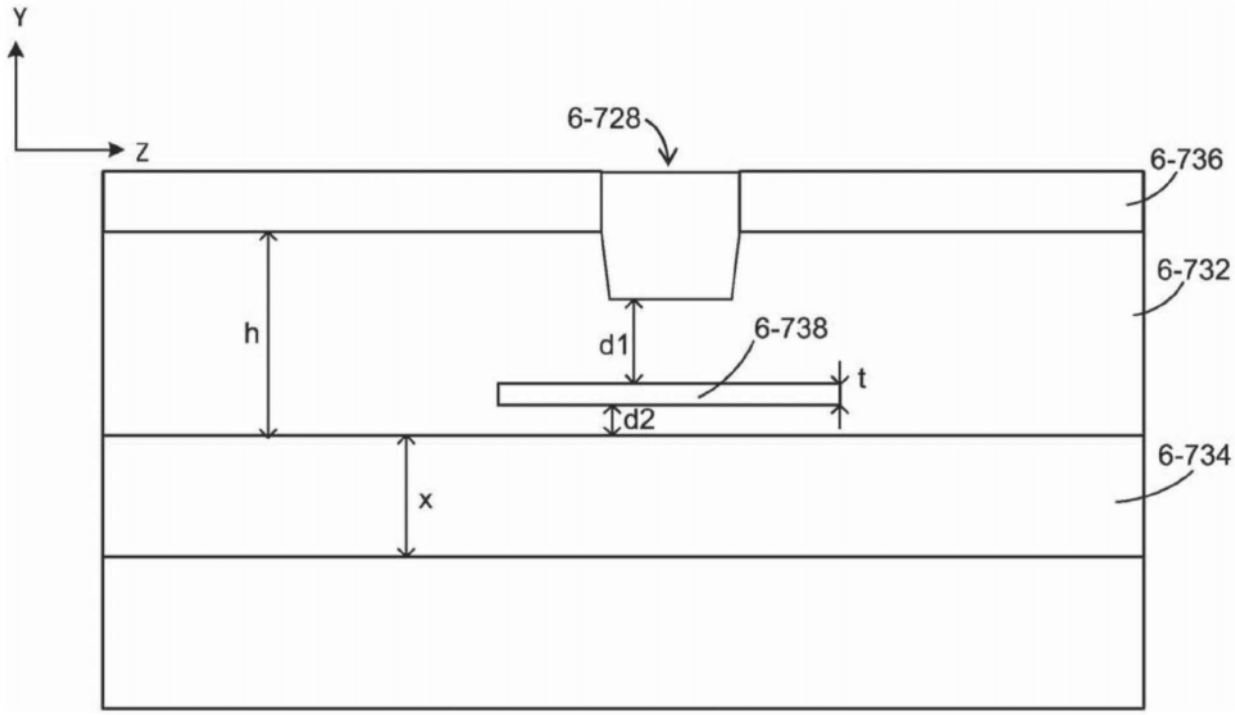


图6-7D

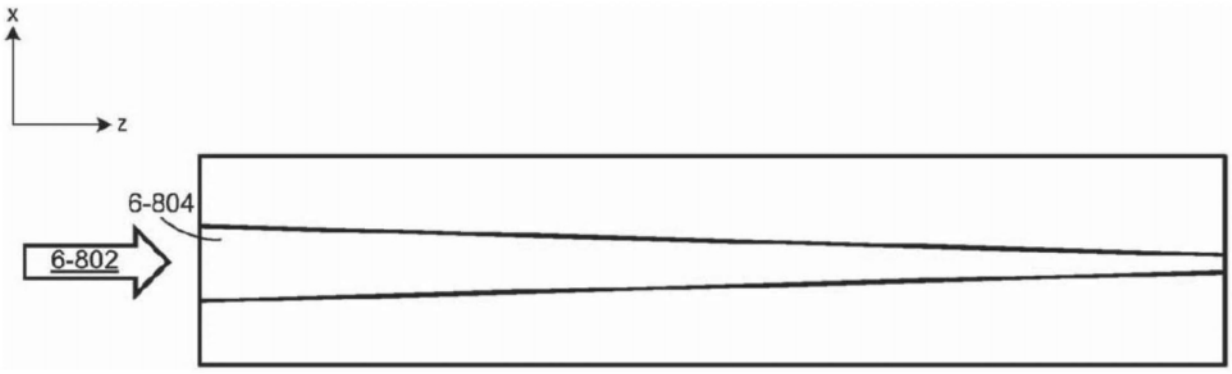


图6-8A

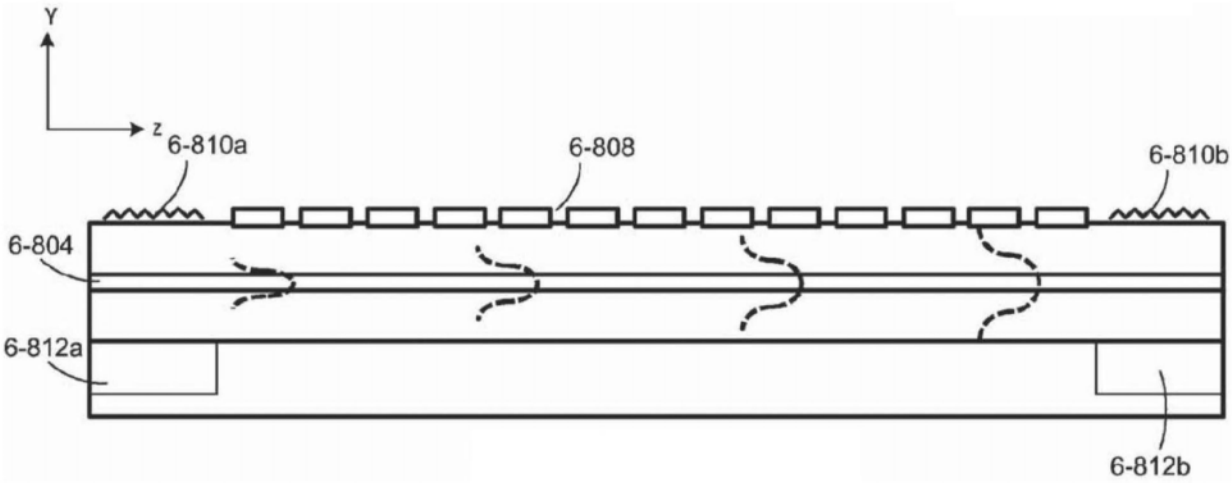


图6-8B

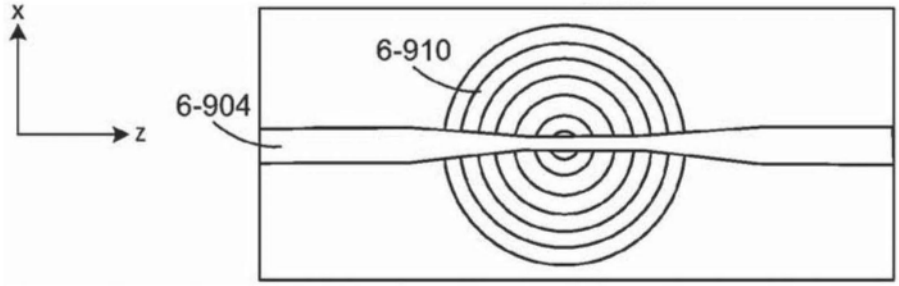


图6-9A

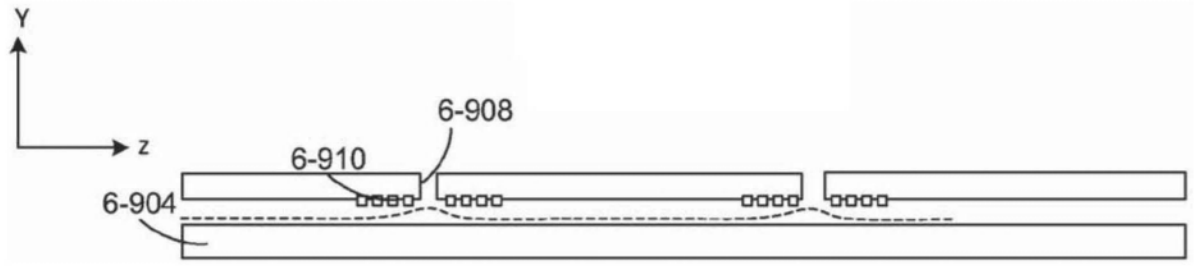


图6-9B

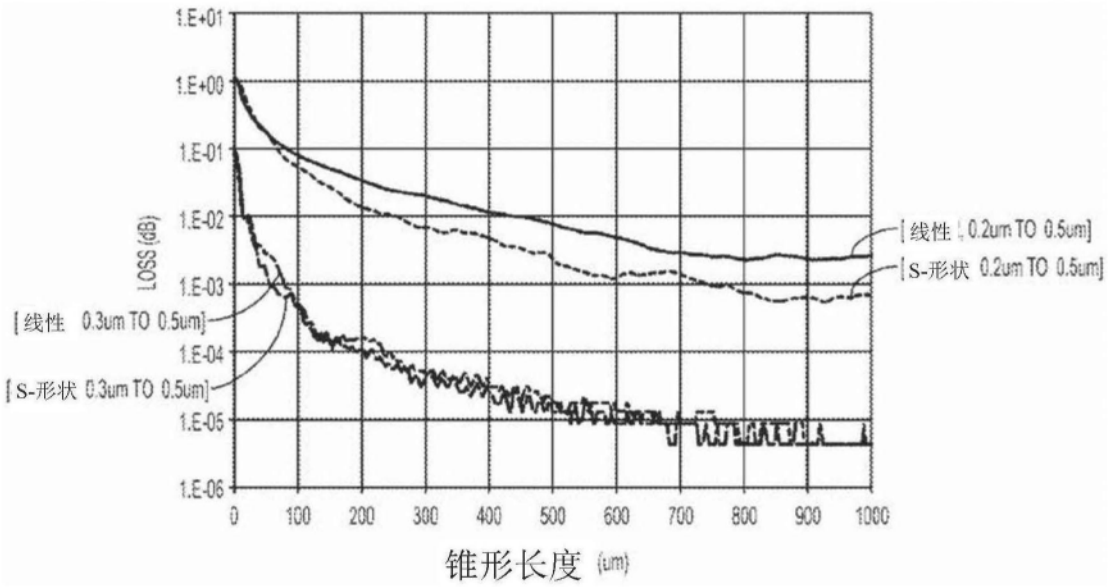


图6-10

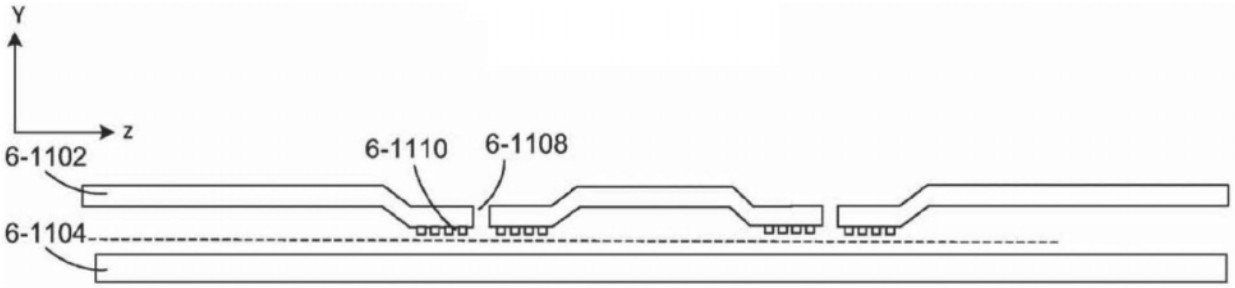


图6-11A

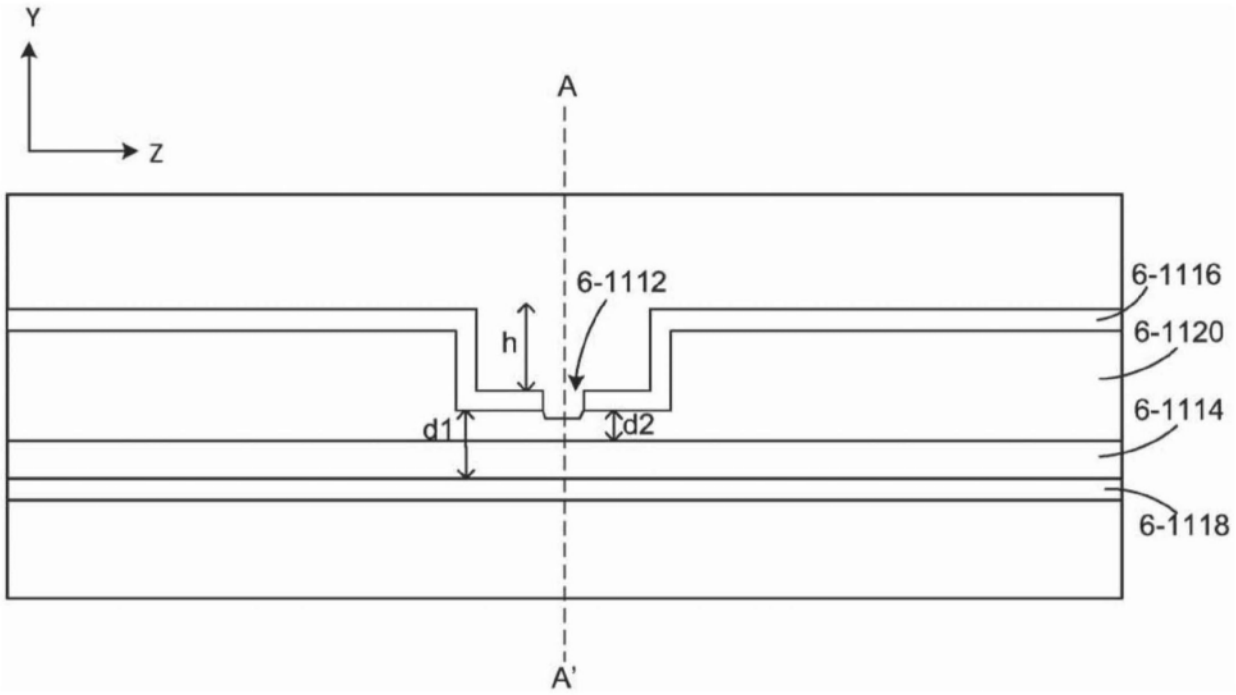

Y
Z
A
6-1112
h
d1
d2
6-1116
6-1120
6-1114
6-1118
A'

图6-11B

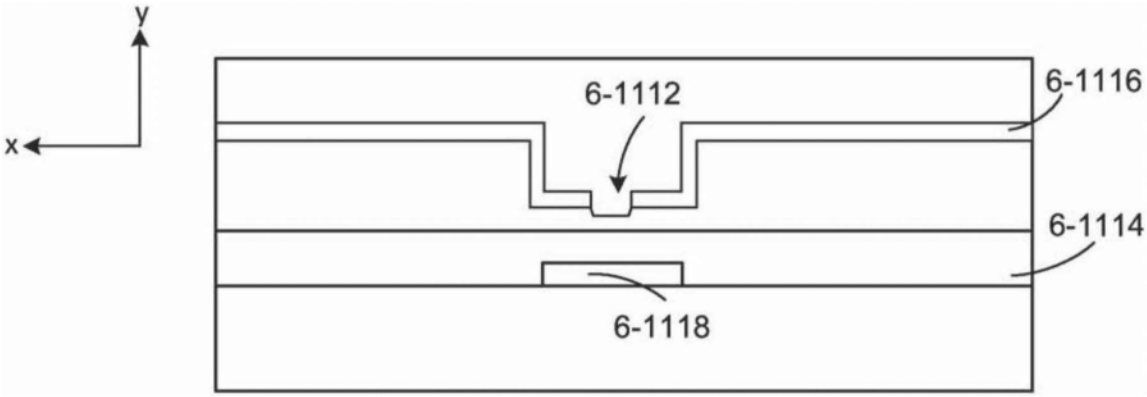

y
x
6-1112
6-1116
6-1114
6-1118

图6-11C

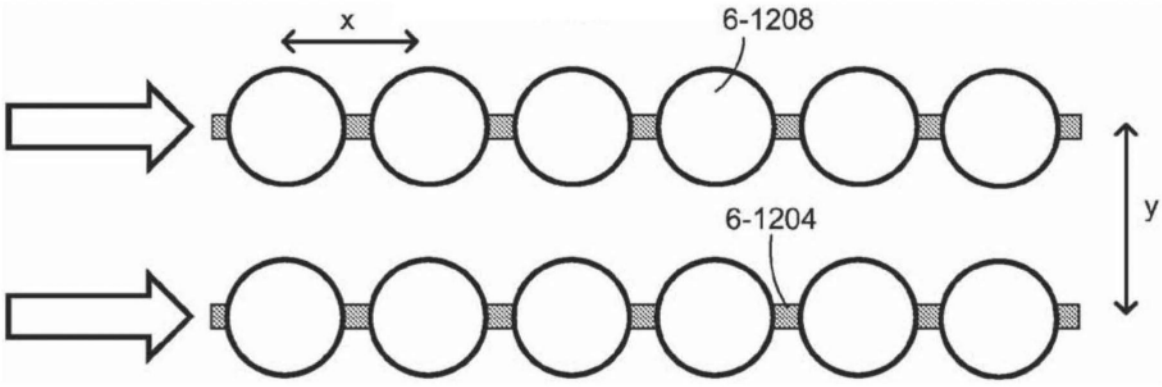


图6-12

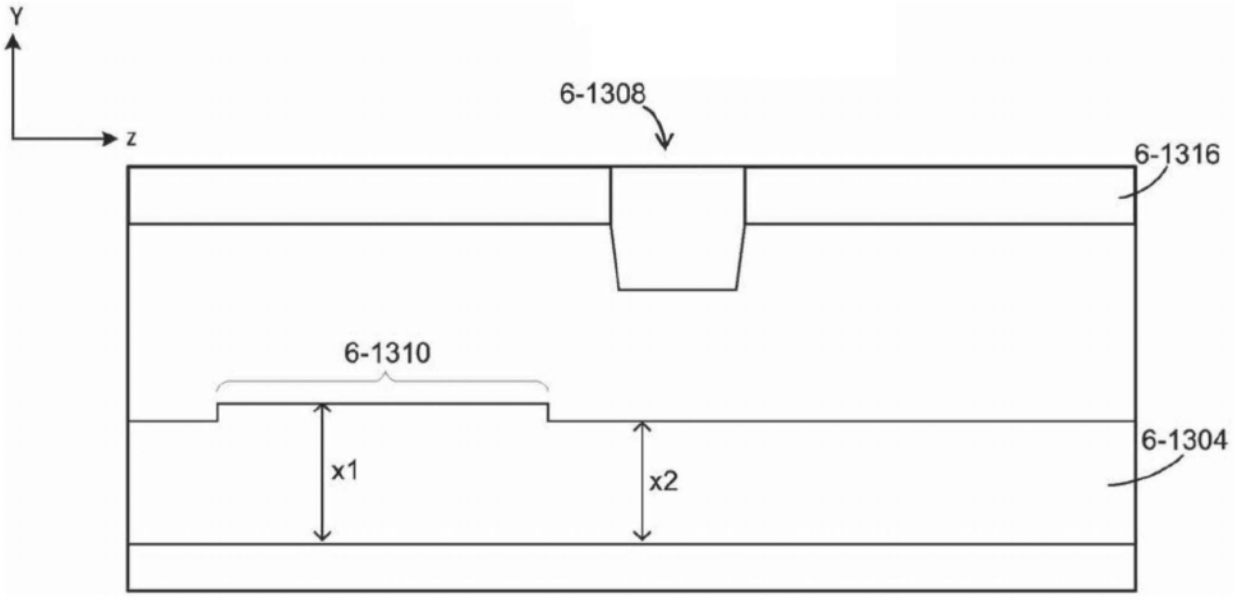


图6-13

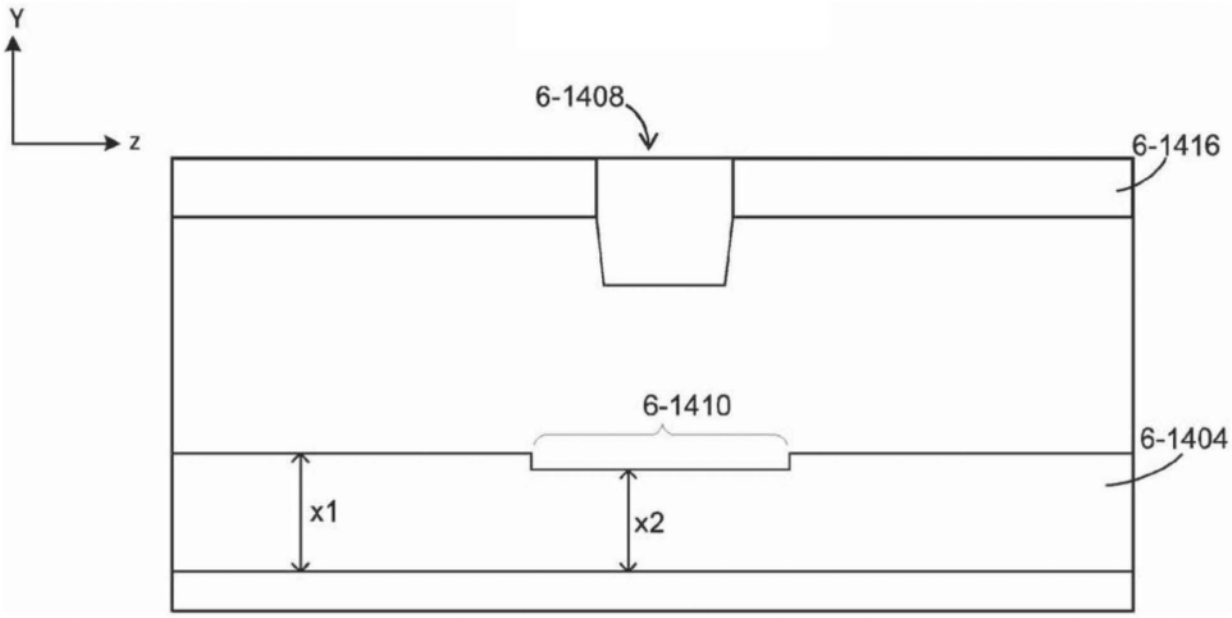


图6-14

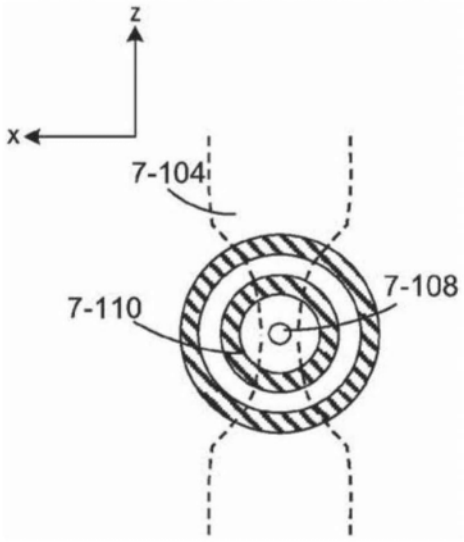


图7-1A

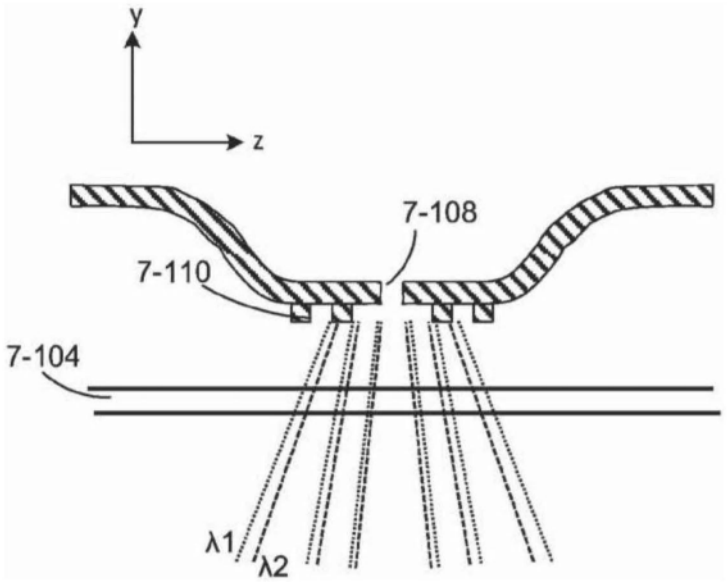


图7-1B

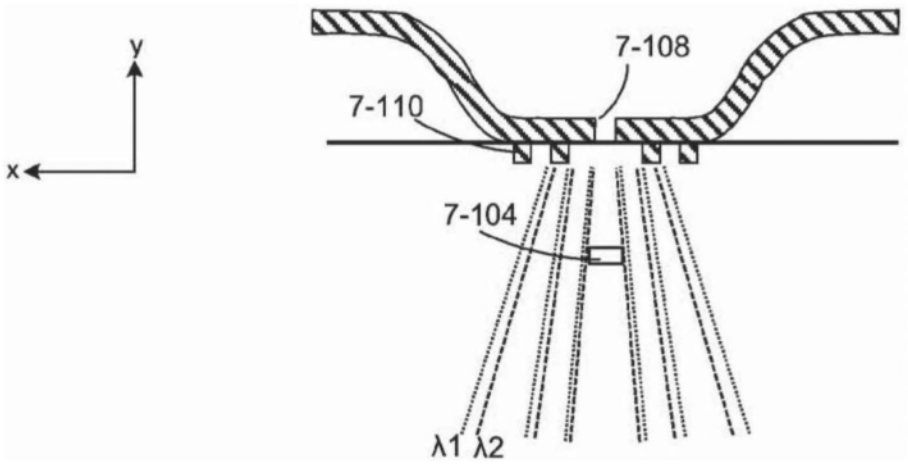


图7-1C

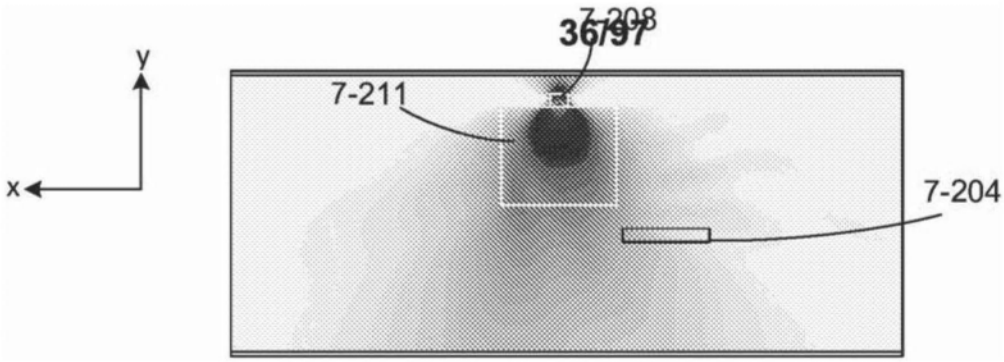


图7-2A

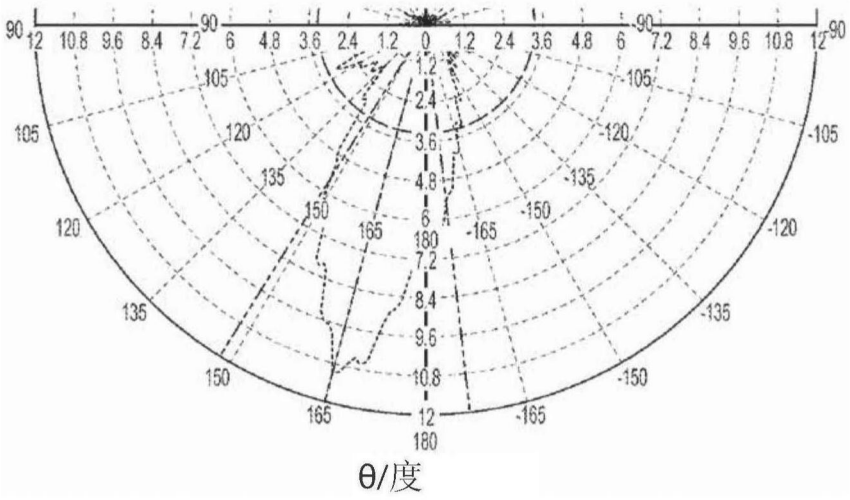


图7-2B

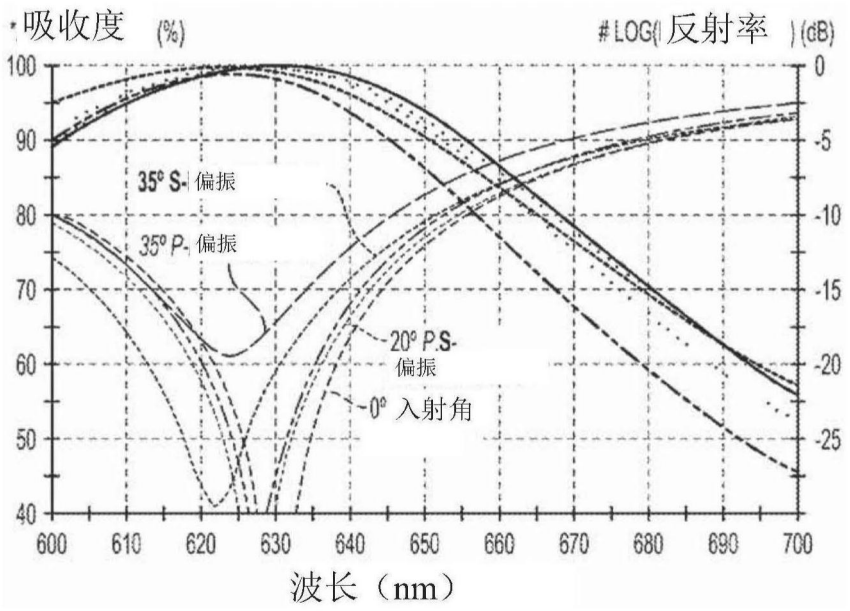


图7-3

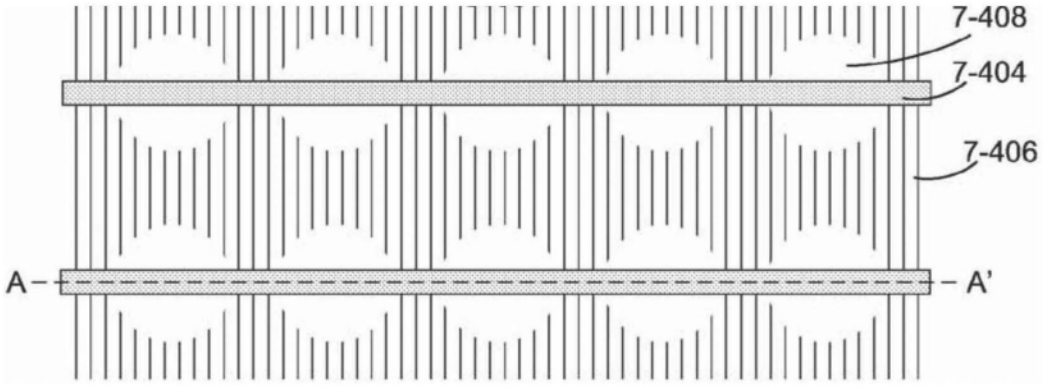


图7-4A

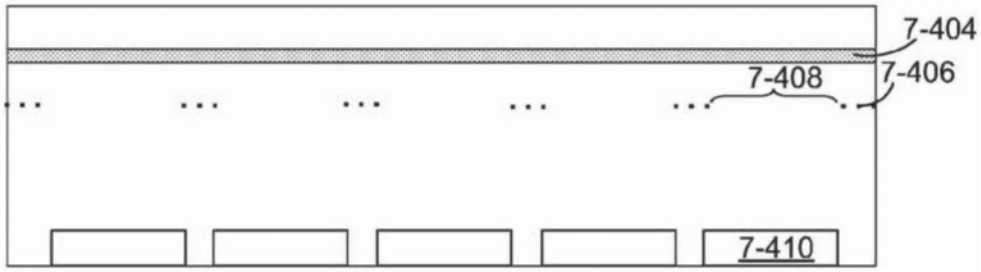


图7-4B

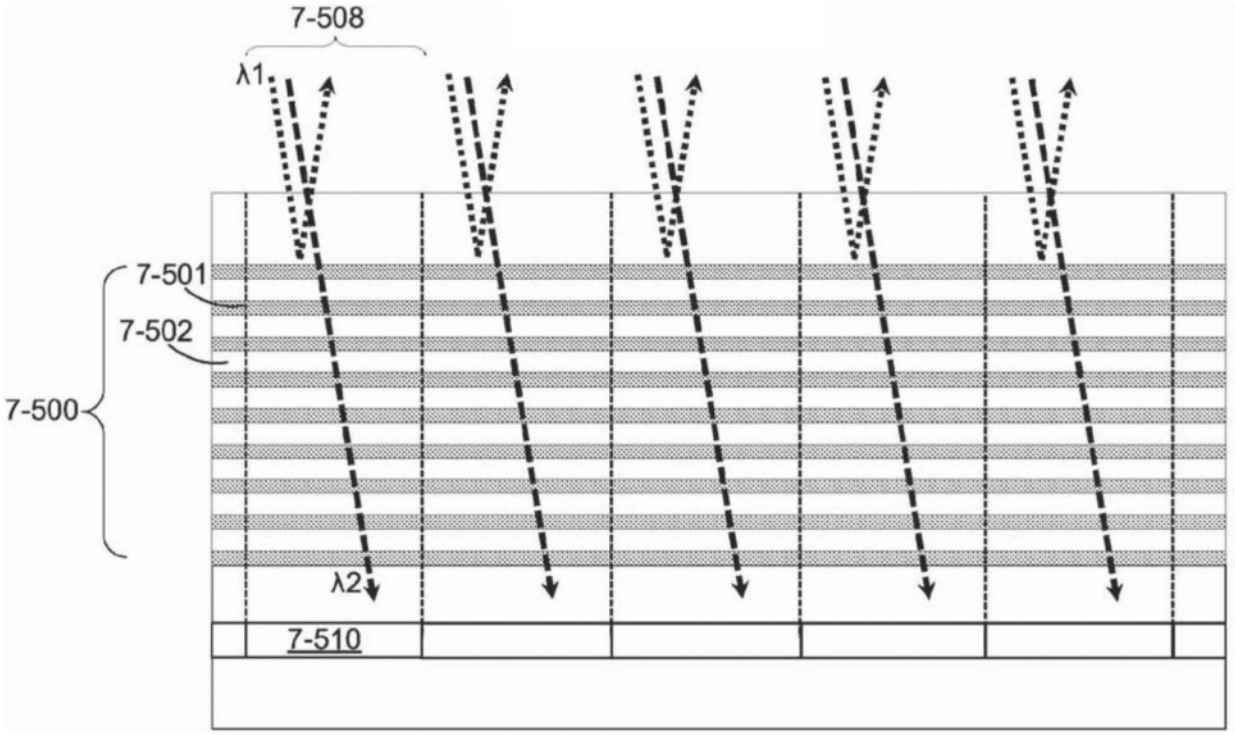


图7-5

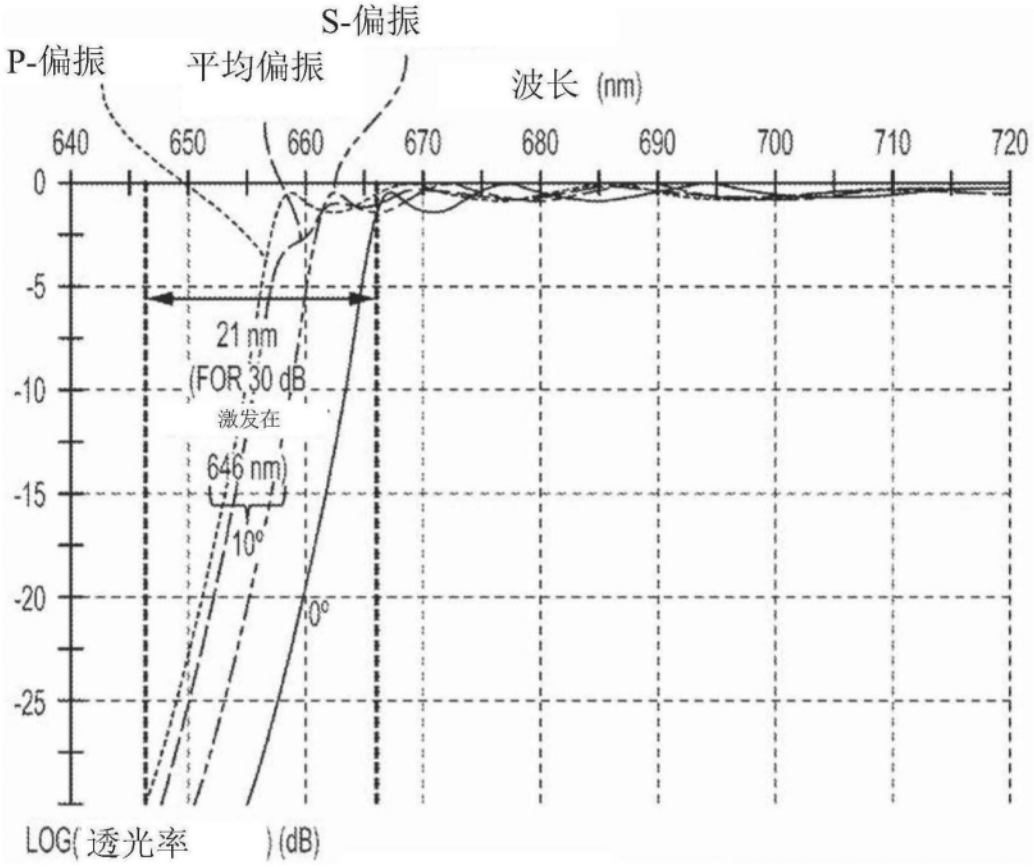

S-偏振
P-偏振
平均偏振
波长 (nm)
640
650
660
670
680
690
700
710
720
0
-5
-10
-15
-20
-25
21 nm
(FOR 30 dB
激发在
646 nm)
10°
0°
LOG(透光率) (dB)

图7-6

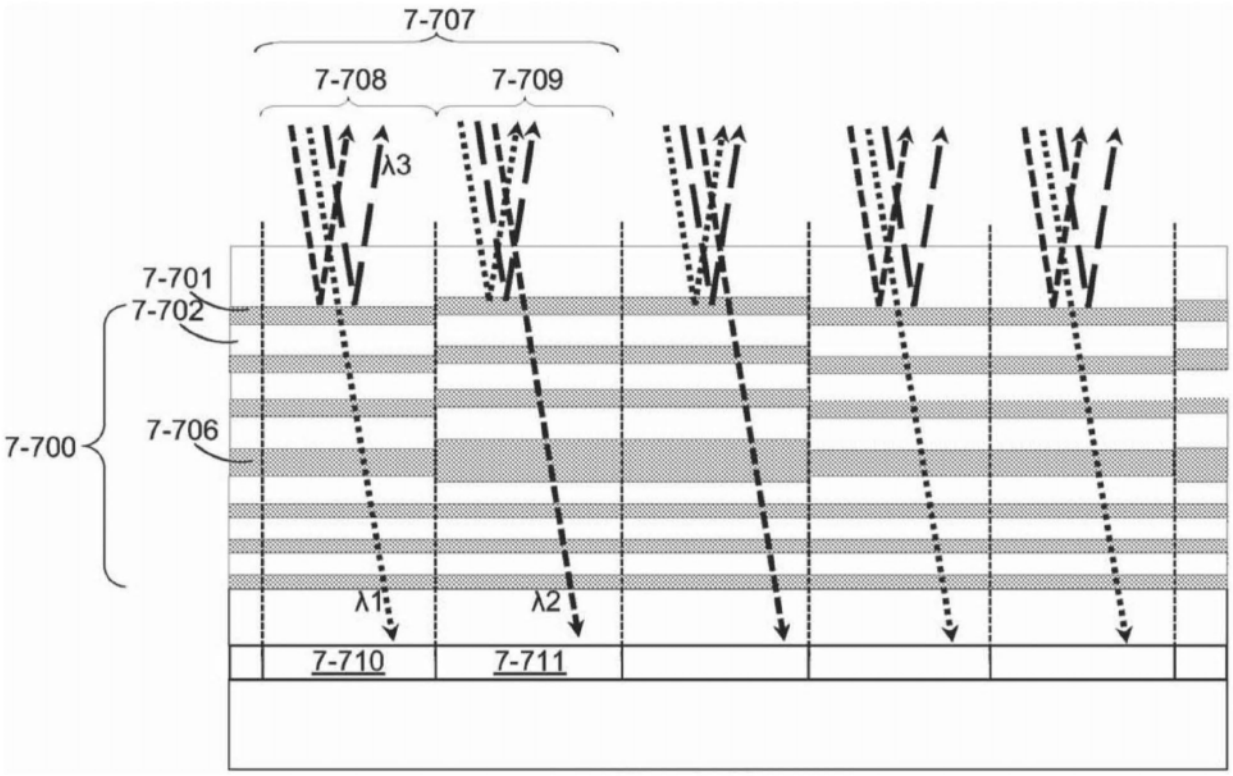


图7-7

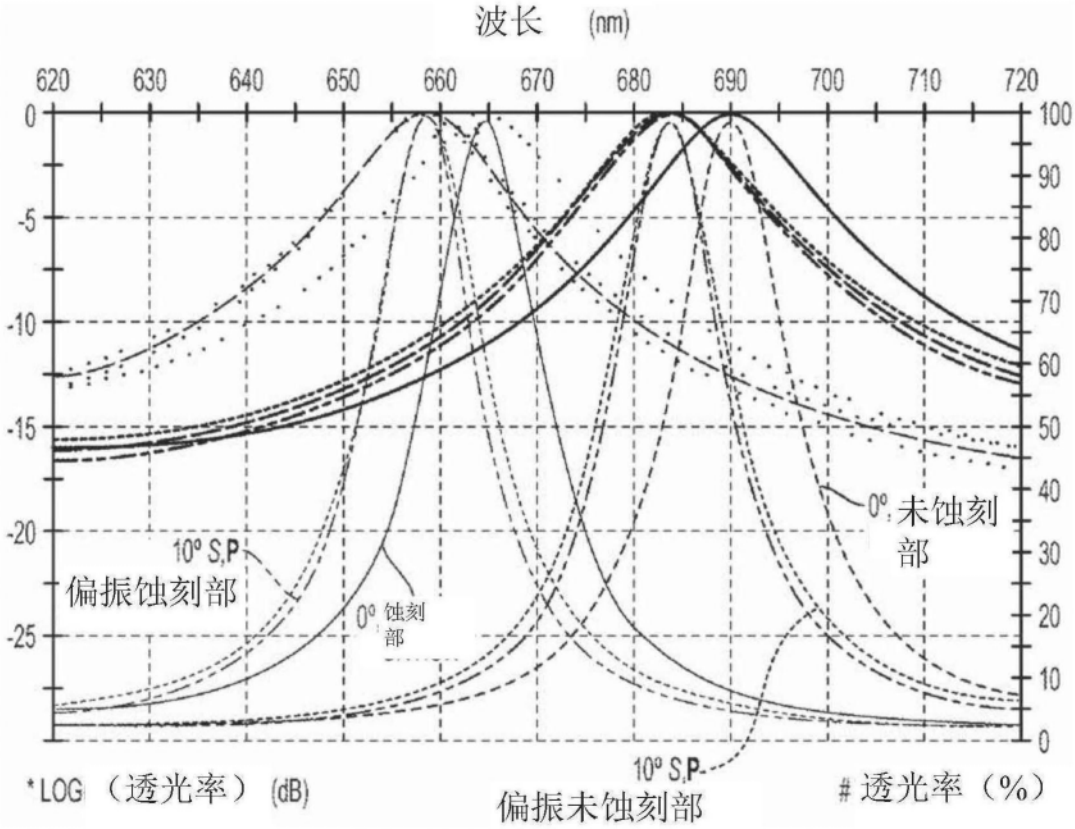

波长 (nm)
620 630 640 650 660 670 680 690 700 710 720
0 -5 -10 -15 -20 -25
100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0
10° S,P
偏振蚀刻部
0° 蚀刻部
0° 未蚀刻部
10° S,P
偏振未蚀刻部
*LOG （透光率） (dB)
透光率（%）

图7-8

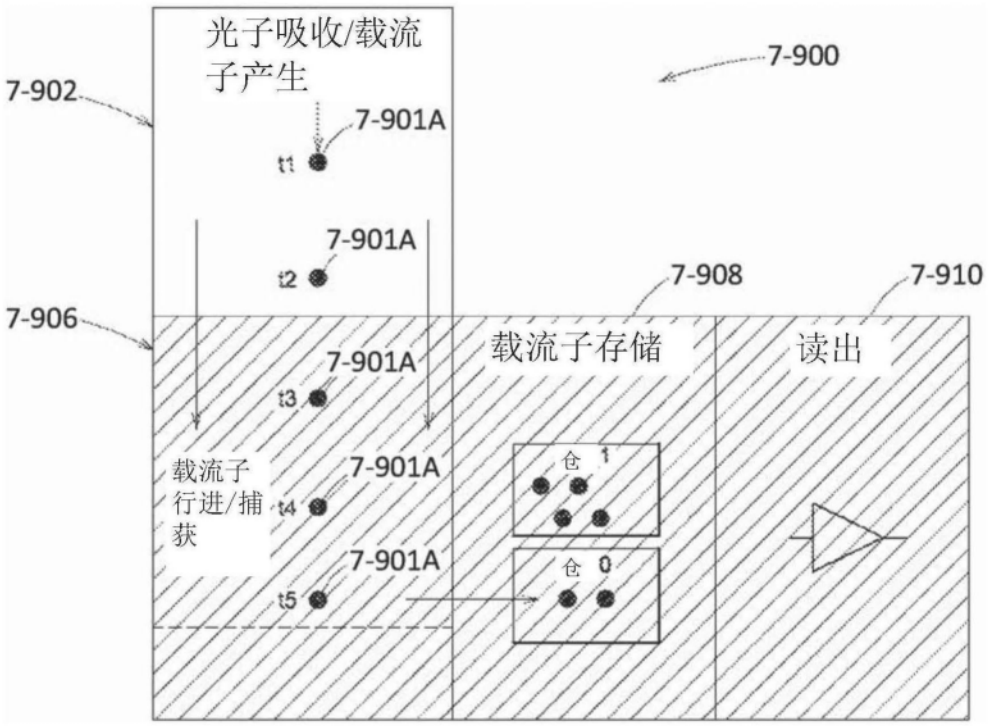

光子吸收/载流子产生
7-900
7-902
7-901A
t1
7-901A
t2
7-908
7-910
7-906
7-901A
t3
载流子存储
读出
载流子行进/捕获
7-901A
t4
仓 1
7-901A
t5
仓 0

图7-9A

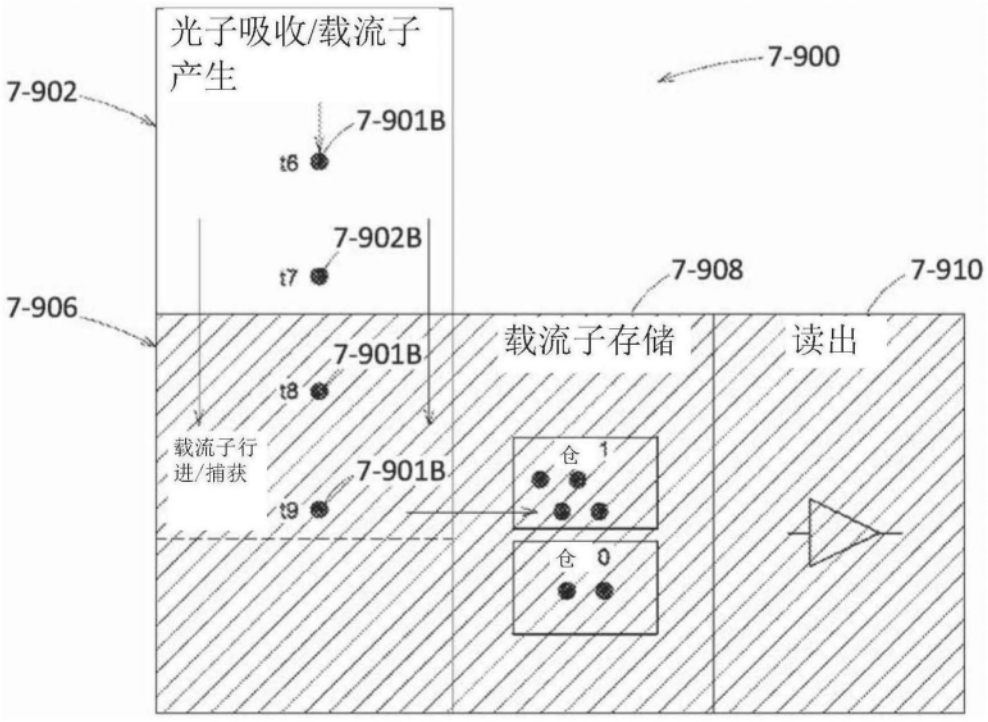

光子吸收/载流子产生
7-900
7-902
7-901B
t6
7-902B
t7
7-908
7-910
7-906
载流子存储
读出
7-901B
t8
载流子行进/捕获
7-901B
t9
仓 1
仓 0

图7-9B

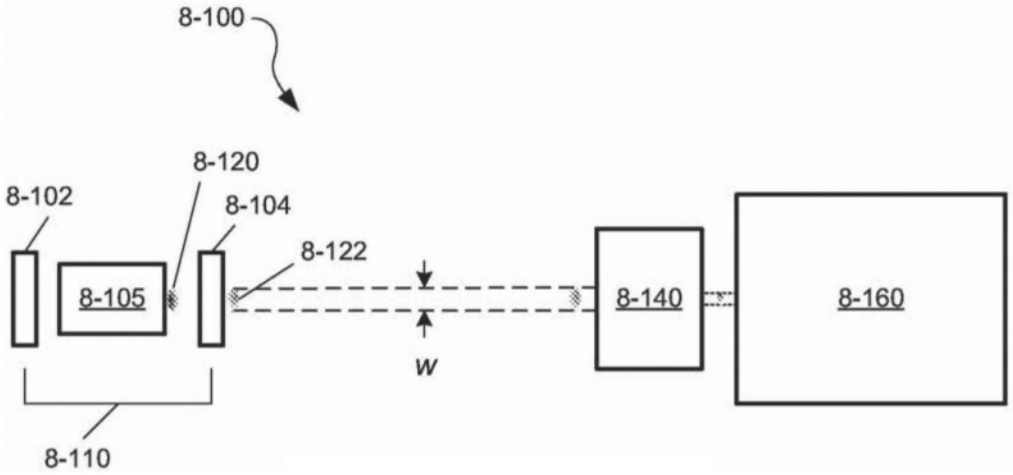

8-100
8-120
8-102
8-104
8-122
8-105
8-140
8-160
w
8-110

图8-0A

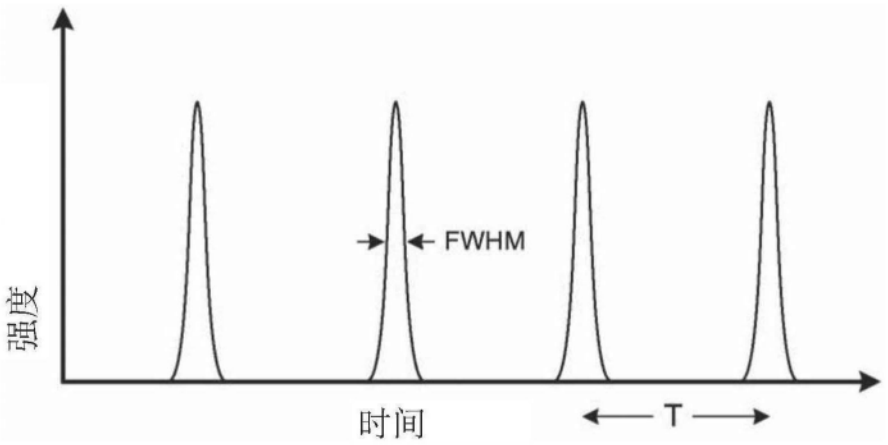

强度
FWHM
时间
T

图8-0B

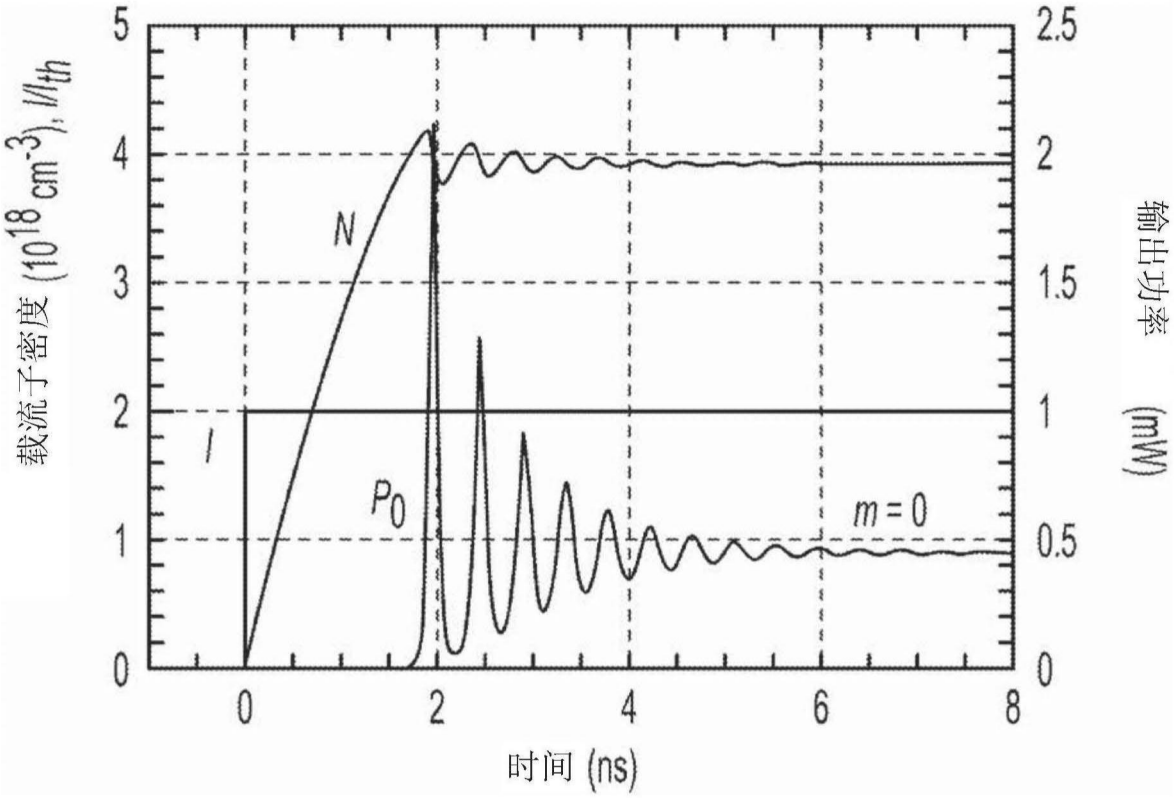

载流子密度 (10^{18} cm^{-3}), I/Ith
输出功率 (mW)
N
I
P0
m = 0
时间 (ns)
0
1
2
3
4
5
0
0.5
1
1.5
2
2.5
0
2
4
6
8

图8-1

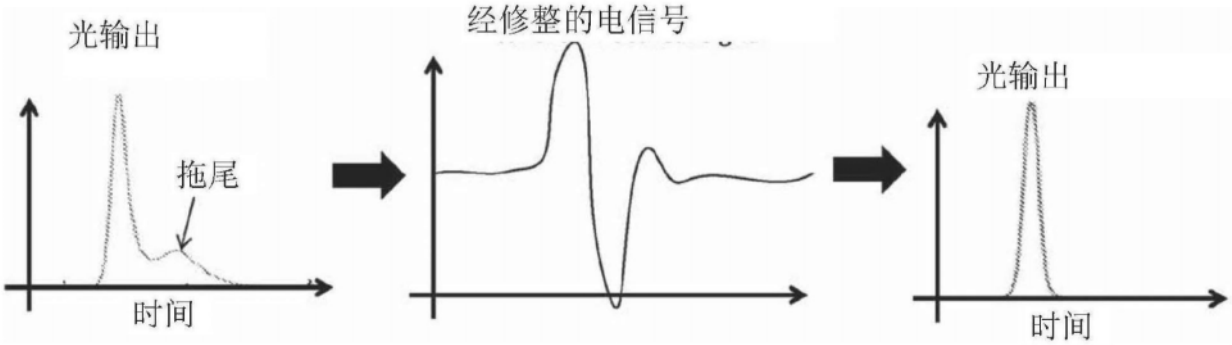

光输出
拖尾
时间
经修整的电信号
光输出
时间

图8-2

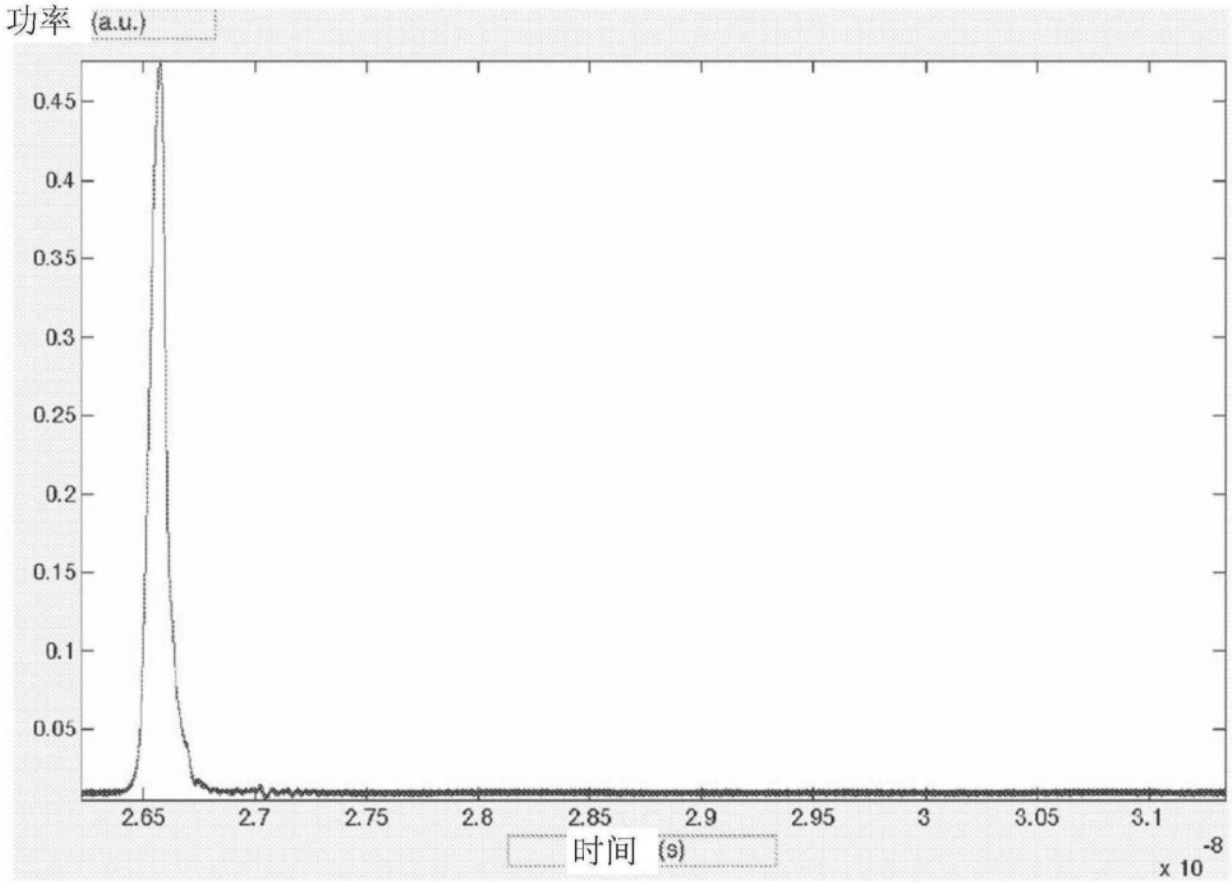

功率 (a.u.)
0.45
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
2.65
2.7
2.75
2.8
2.85
2.9
2.95
3
3.05
3.1
时间 (s)
x 10^-8

图8-3

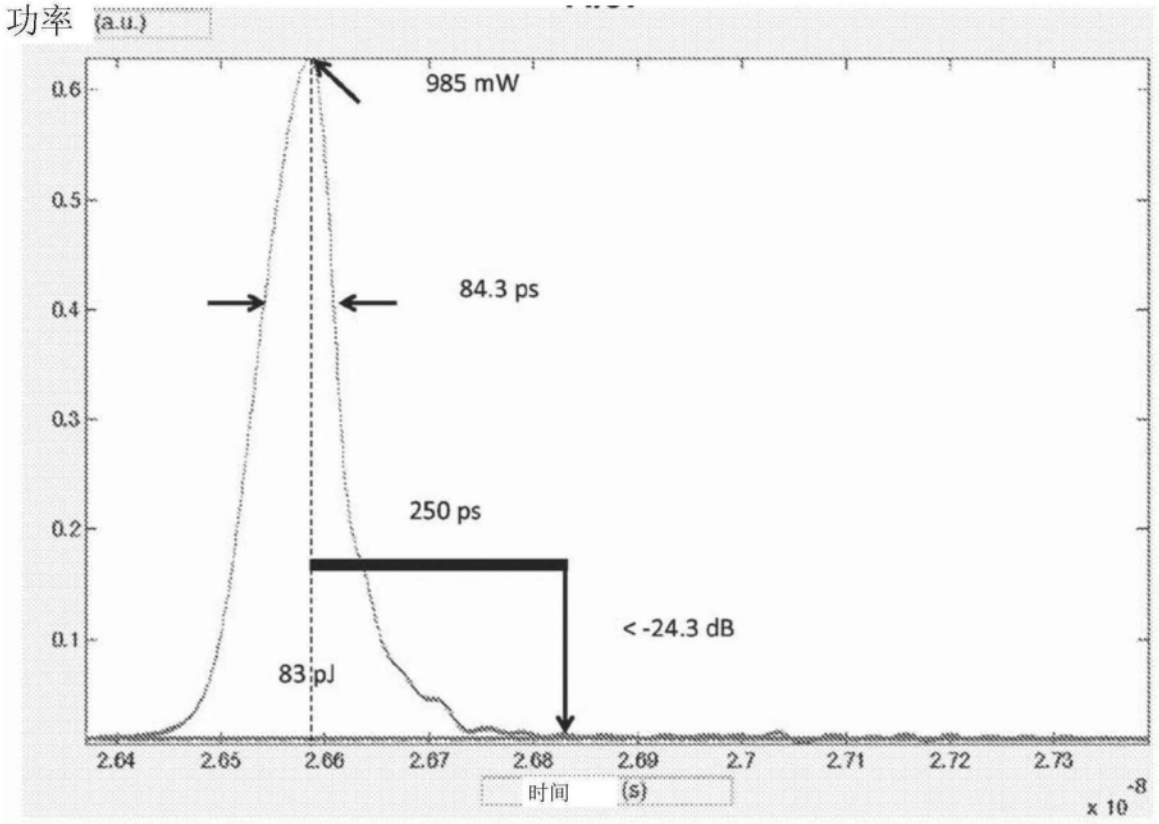

功率 (a.u.)
985 mW
84.3 ps
250 ps
< -24.3 dB
83 pJ
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
2.64
2.65
2.66
2.67
2.68
2.69
2.7
2.71
2.72
2.73
时间 (s)
x 10 -8

图8-4

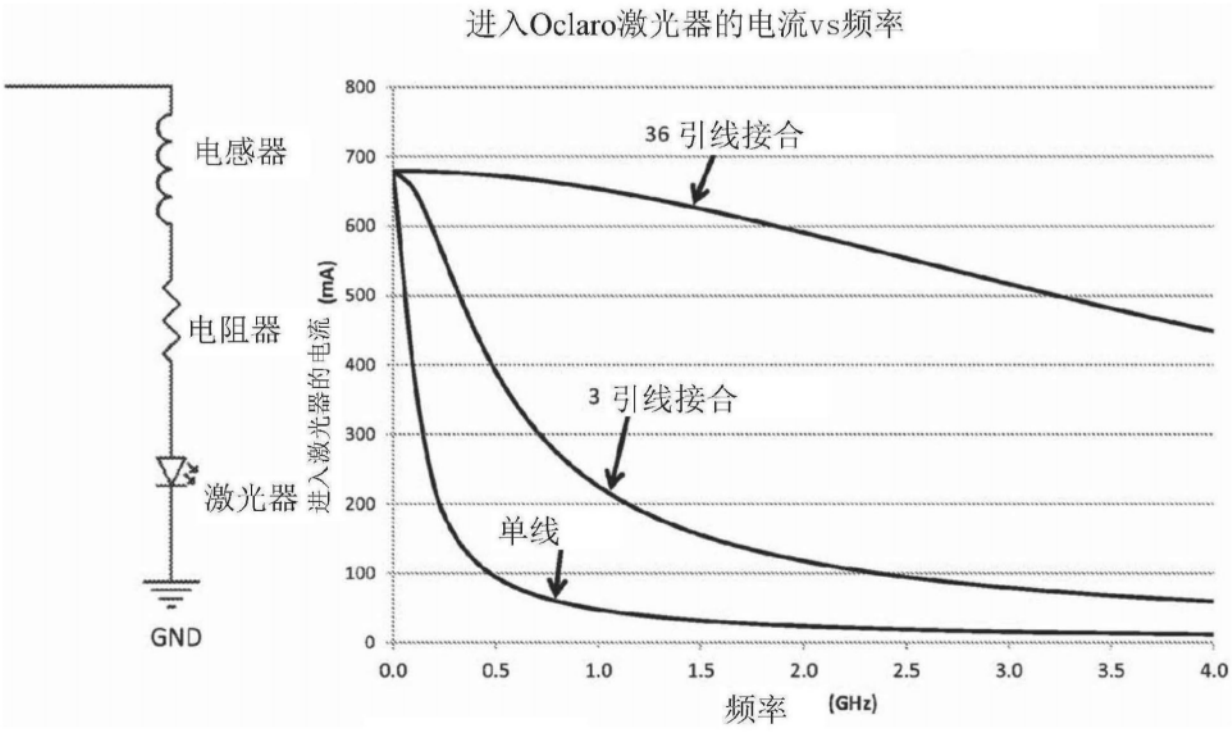

进入Oclaro激光器的电流vs频率
电感器
电阻器
激光器
GND
进入激光器的电流 (mA)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
36 引线接合
3 引线接合
单线
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
频率 (GHz)

图8-5

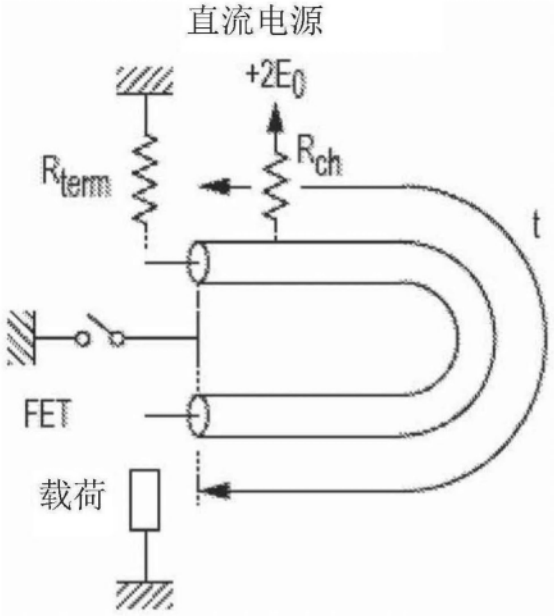

直流电源
+2E0
Rterm
Rch
t
FET
载荷

图8-6A

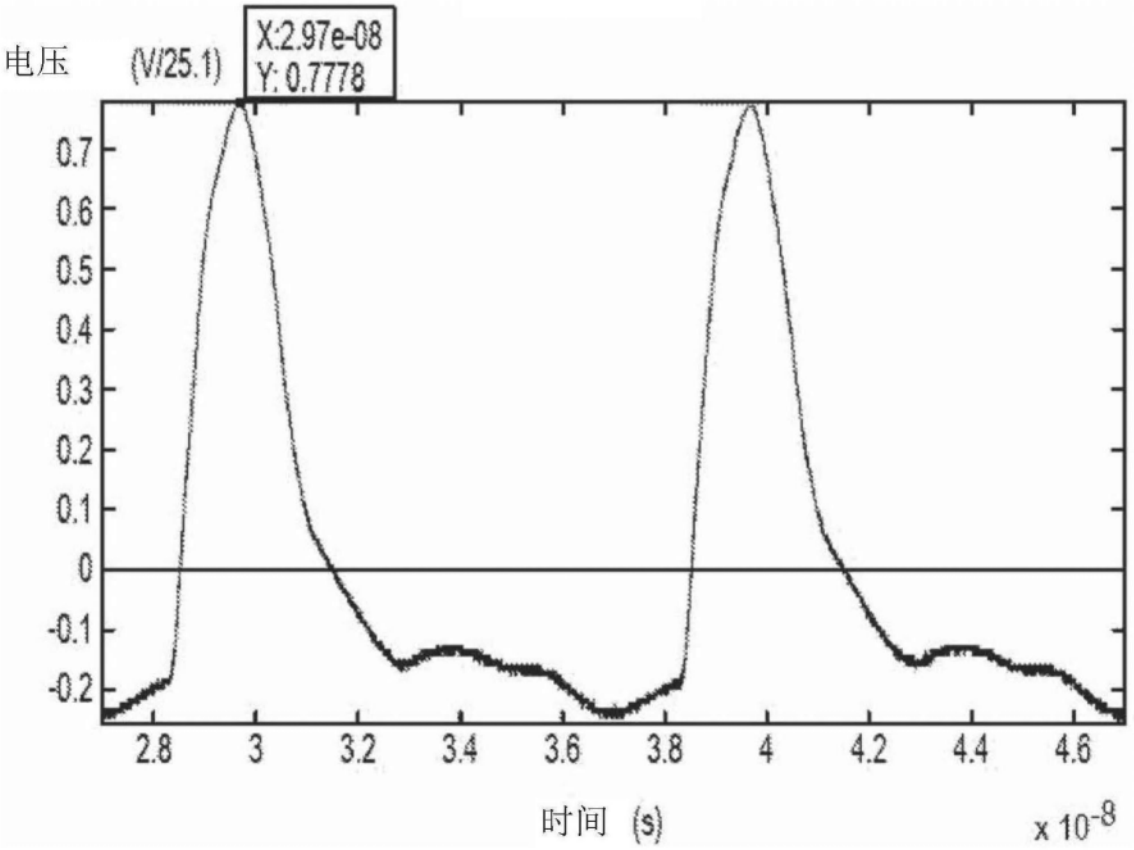

电压
(V/25.1)
X:2.97e-08
Y: 0.7778
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
-0.1
-0.2
2.8
3
3.2
3.4
3.6
3.8
4
4.2
4.4
4.6
时间 (s)
x 10-8

图8-6B

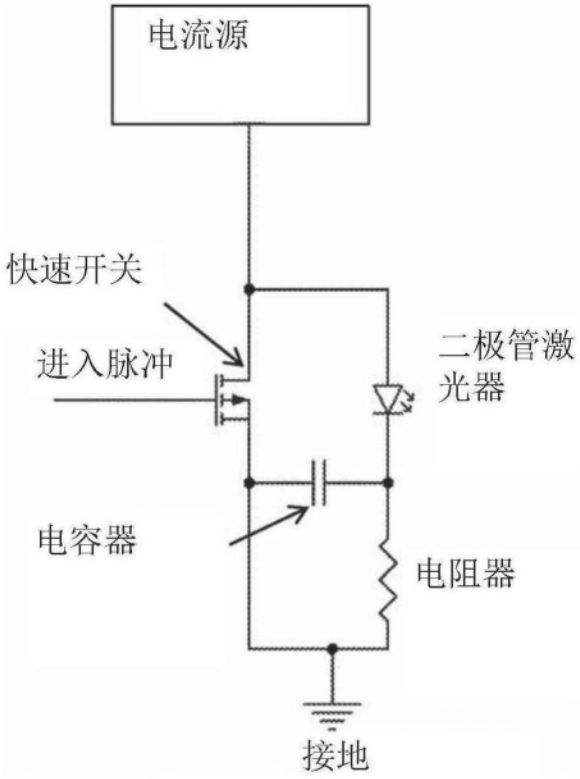


图8-7

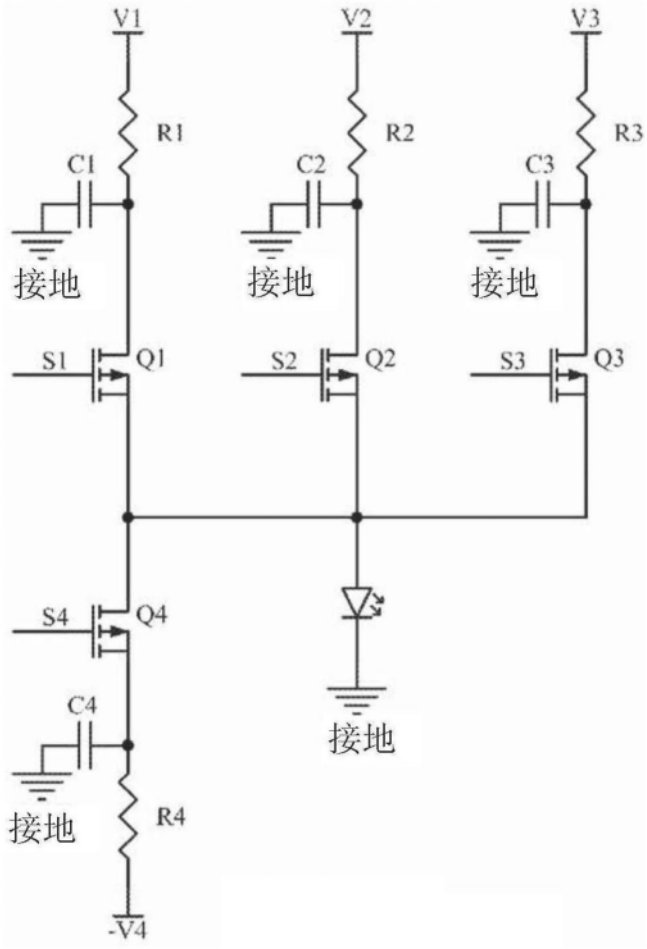

V1
V2
V3
R1
R2
R3
C1
C2
C3
接地
接地
接地
S1
Q1
S2
Q2
S3
Q3
S4
Q4
C4
接地
接地
R4
-V4

图8-8

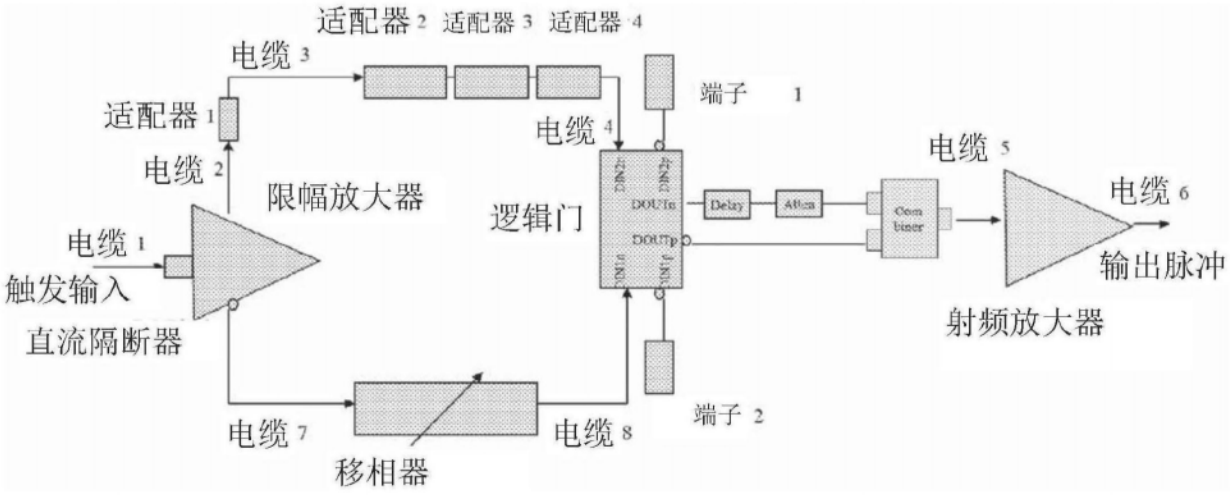

适配器 2
适配器 3
适配器 4
电缆 3
适配器 1
电缆 2
限幅放大器
电缆 1
触发输入
直流隔断器
电缆 4
端子 1
逻辑门
Delay
Atten
Com biner
电缆 5
电缆 6
输出脉冲
射频放大器
电缆 7
移相器
电缆 8
端子 2

图8-9A

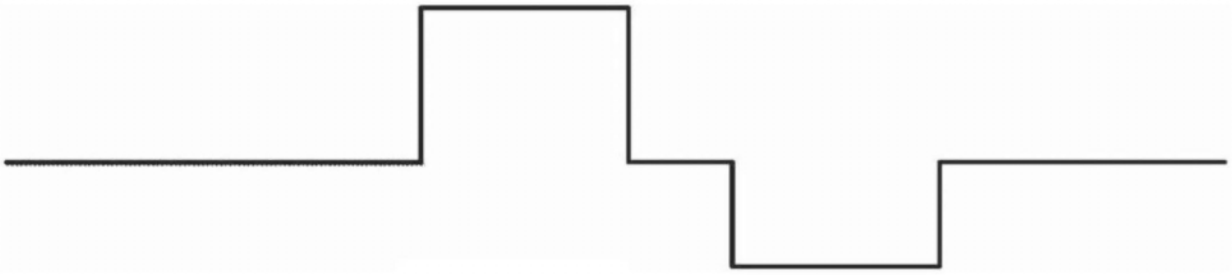


图8-9B

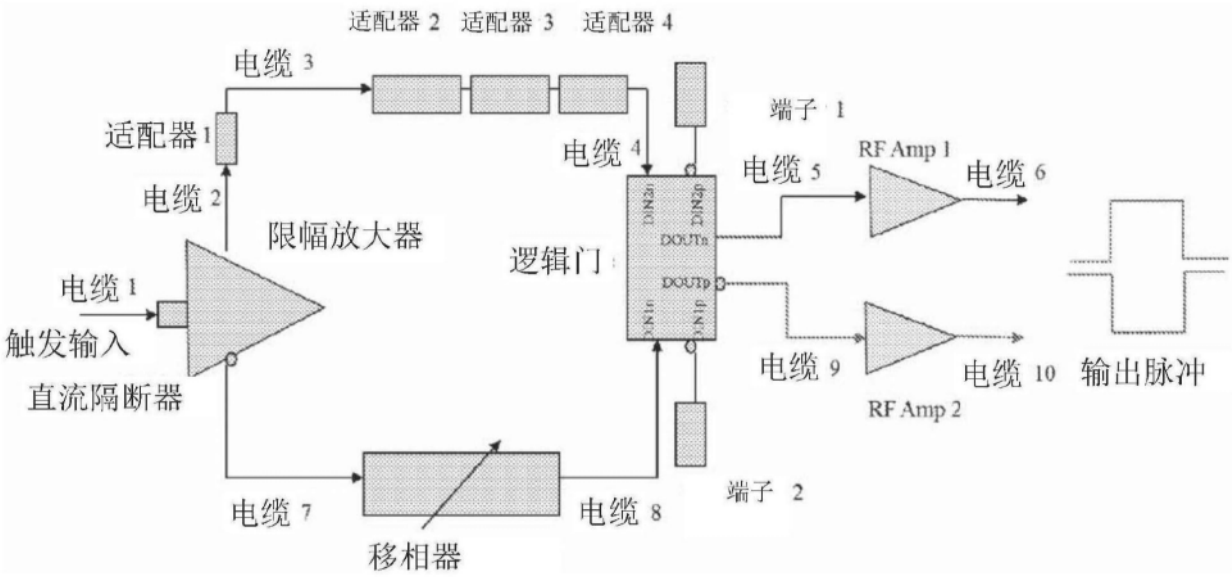


图8-10A

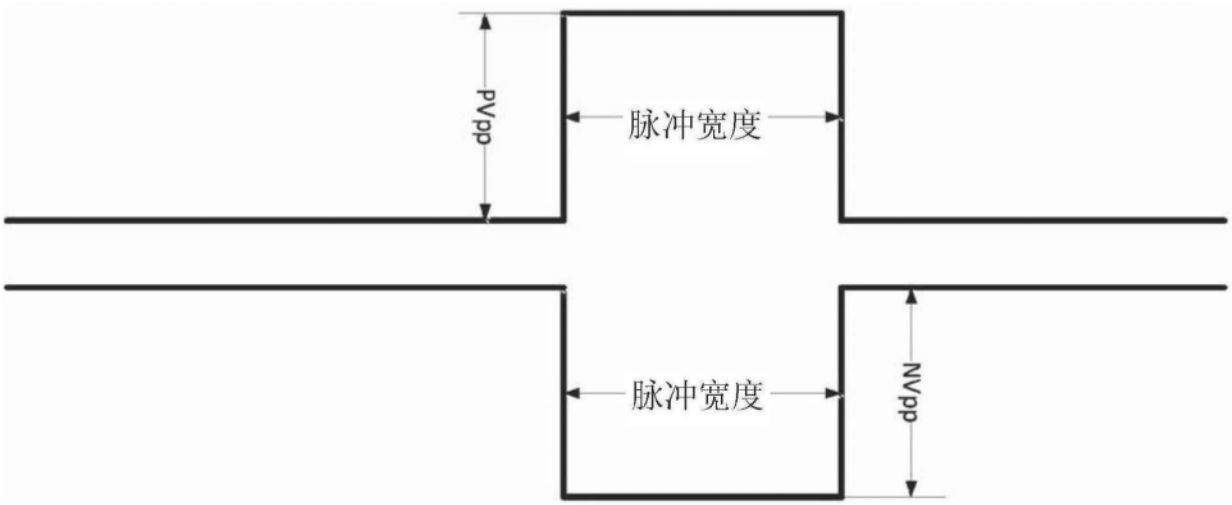


图8-10B

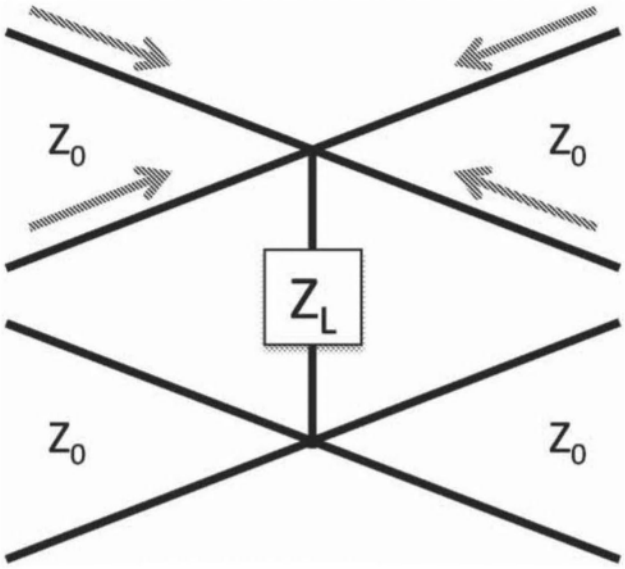

Z_0
Z_0
Z_L
Z_0
Z_0

图8-11A

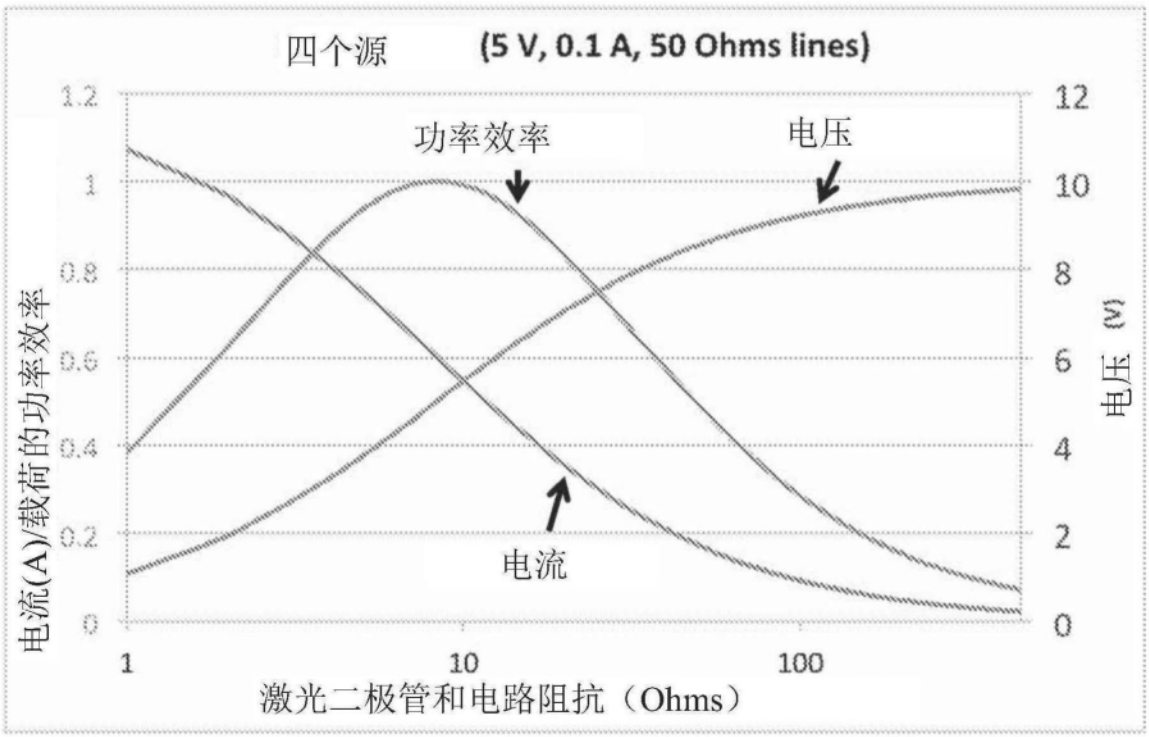

四个源 (5 V, 0.1 A, 50 Ohms lines)
功率效率
电压
电流
电流(A)/载荷的功率效率
电压 (V)
激光二极管和电路阻抗（Ohms）
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
12
10
8
6
4
2
0
1
10
100

图8-11B

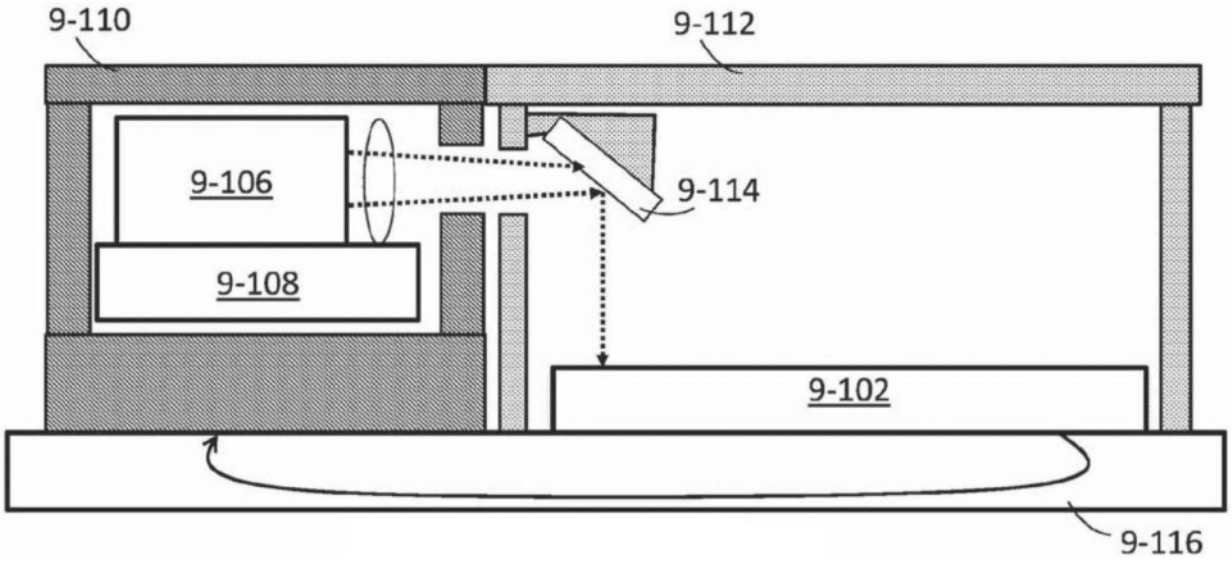

9-110
9-112
9-106
9-114
9-108
9-102
9-116

图9-1

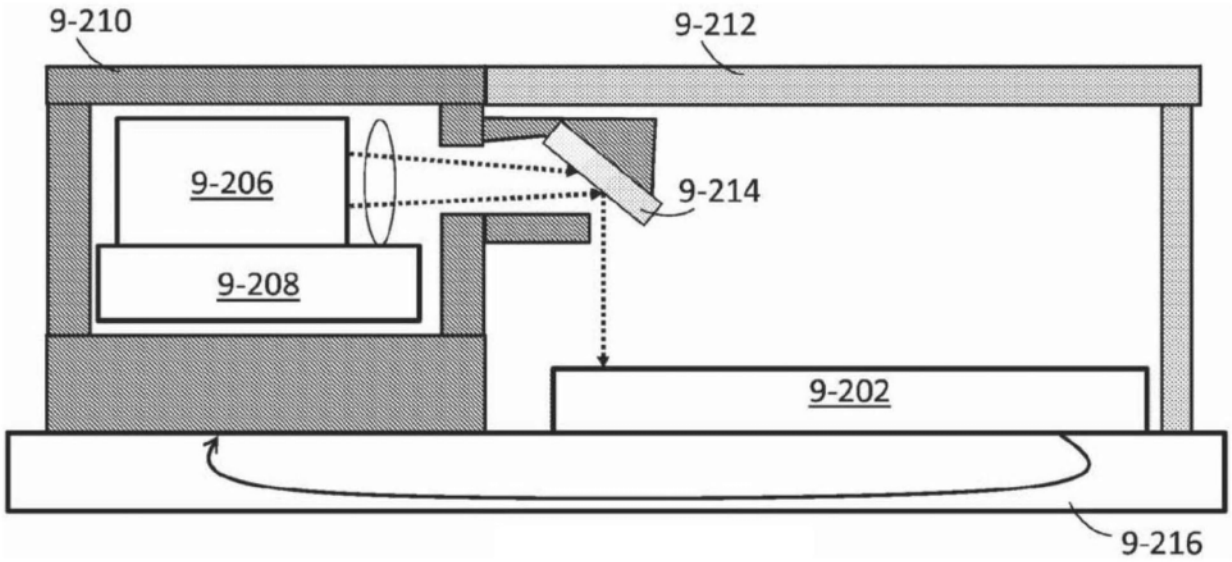

9-210
9-212
9-206
9-214
9-208
9-202
9-216

图9-2

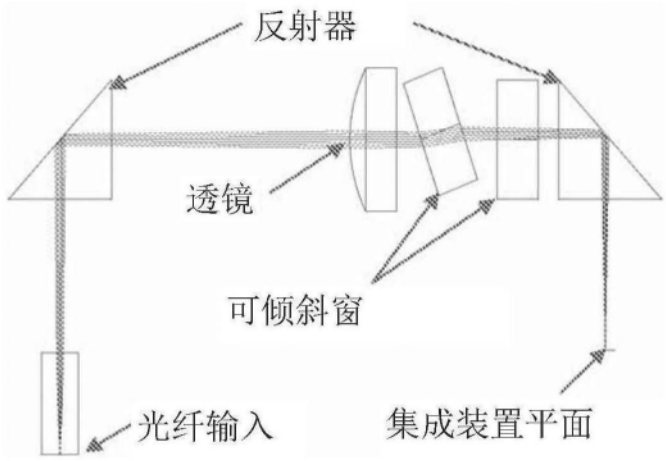


图9-3

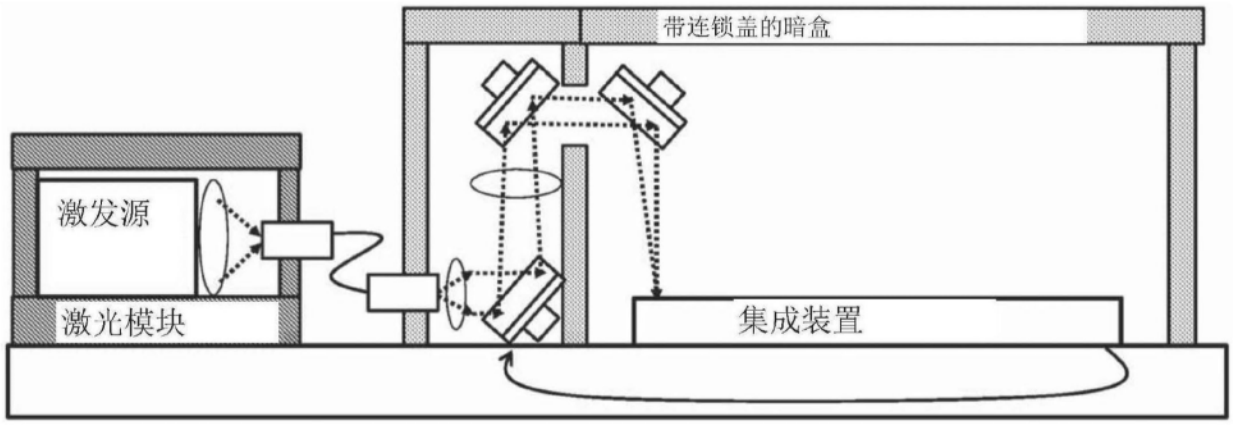


图9-4

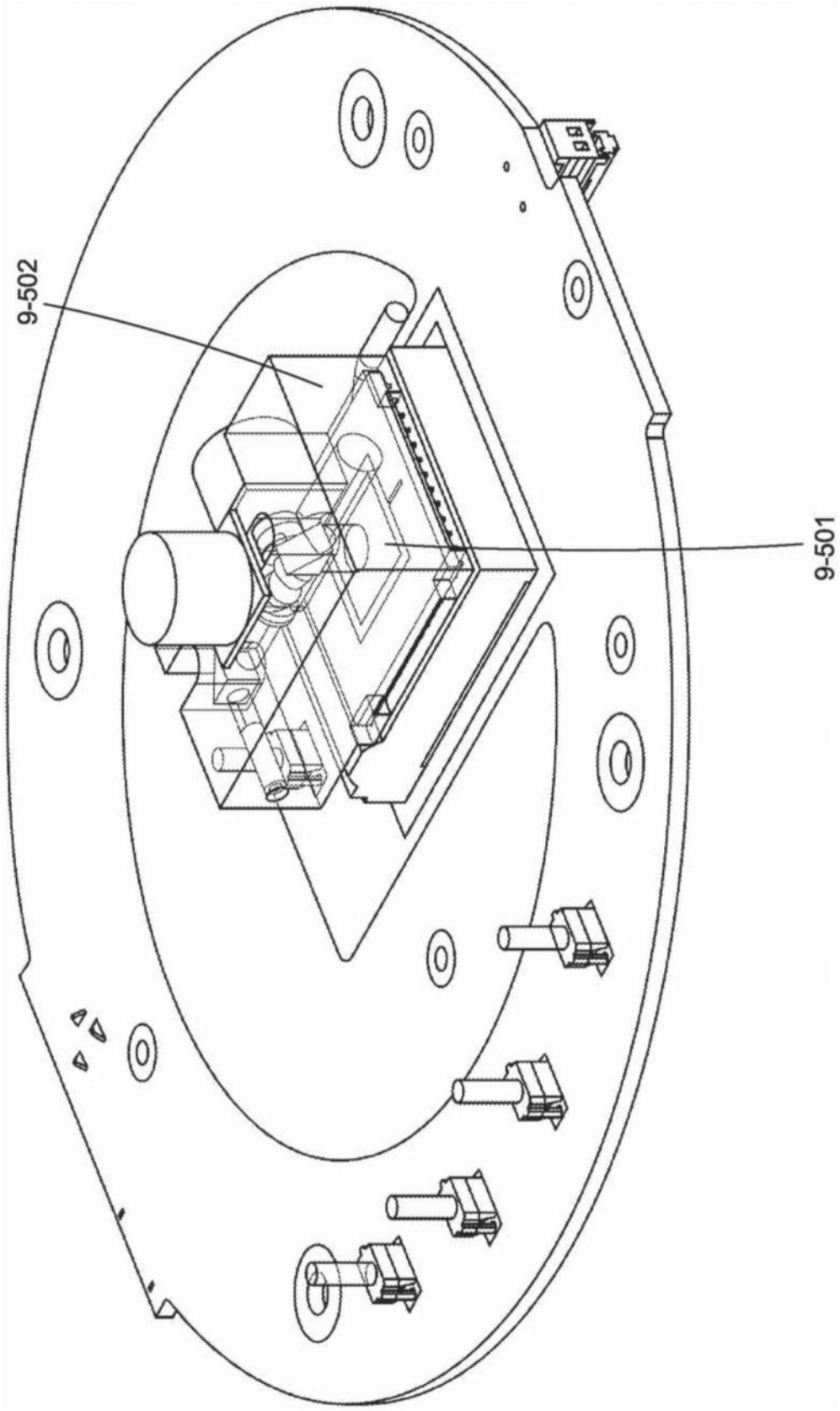


图9-5

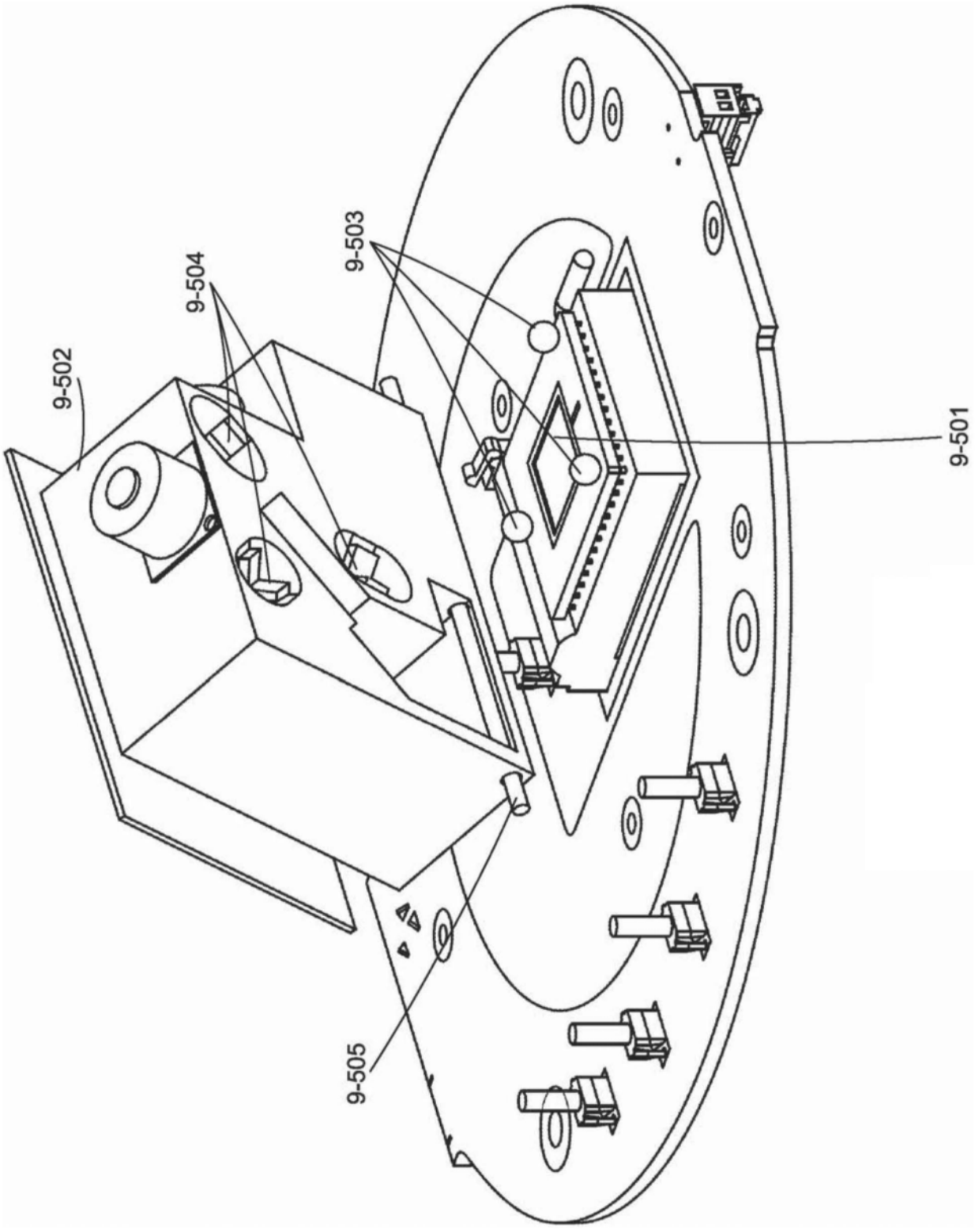


图9-6

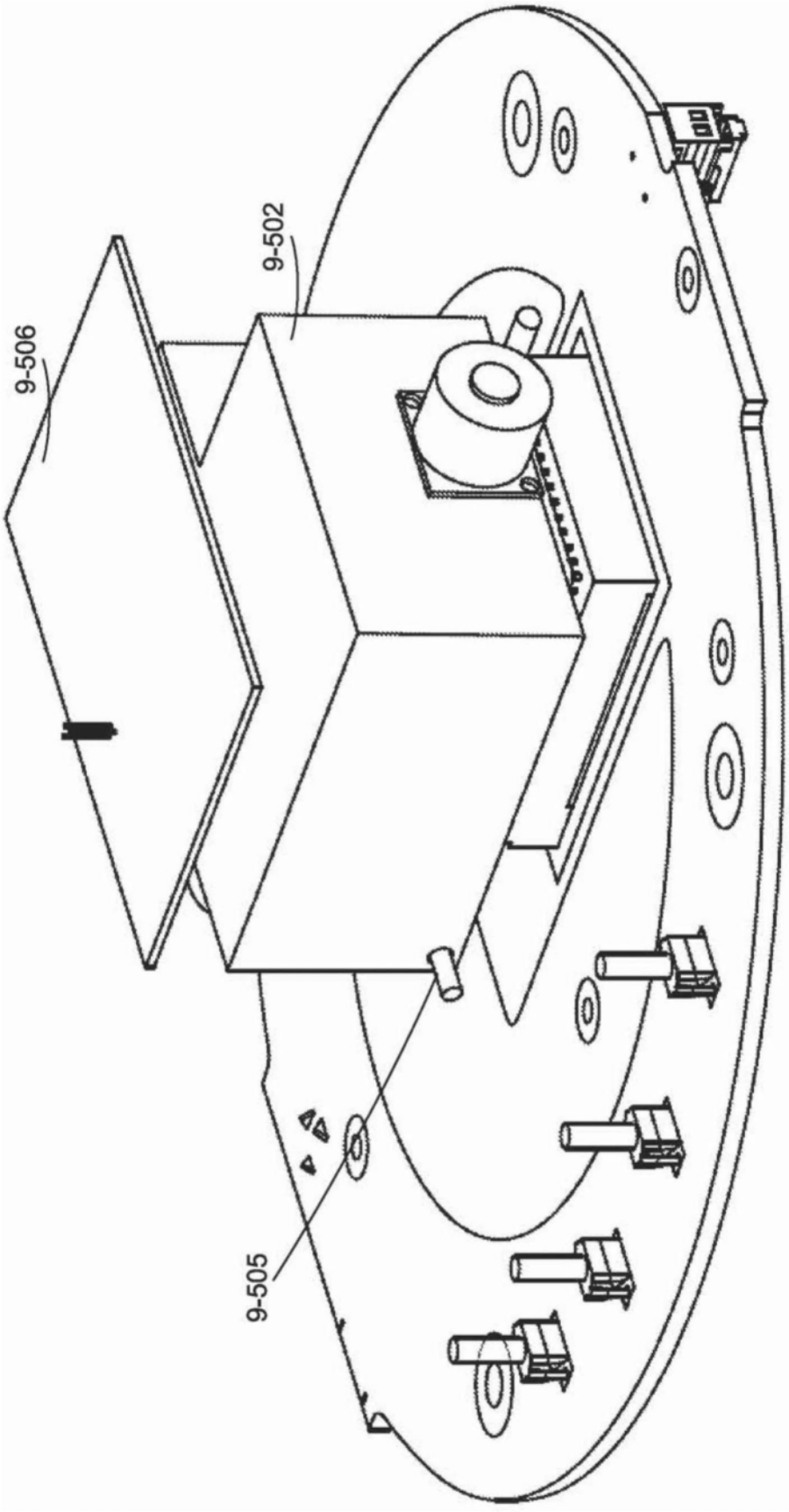


图9-7

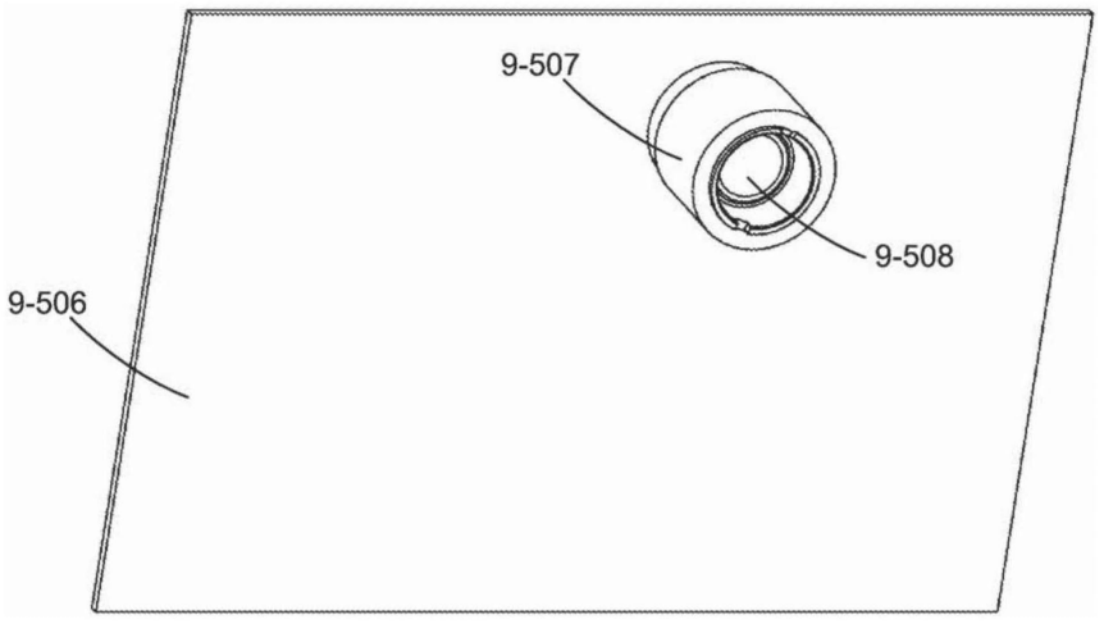


图9-8

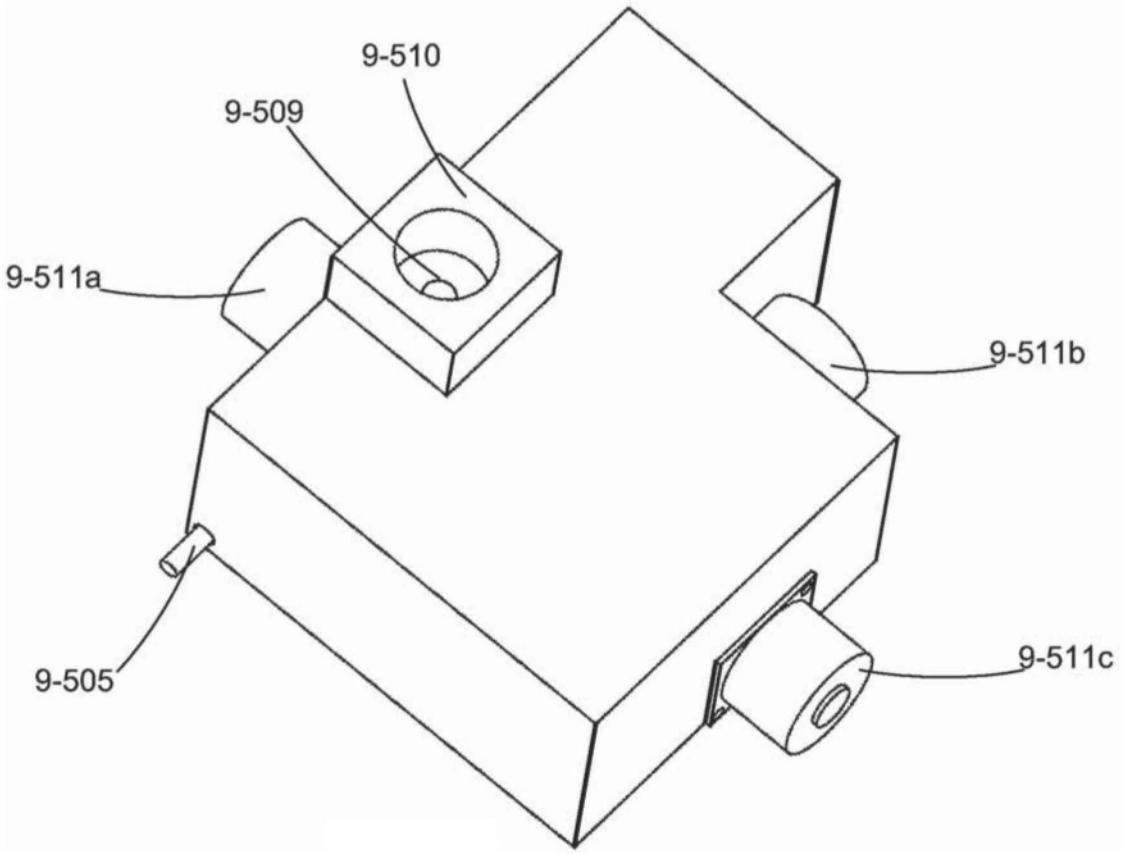


图9-9

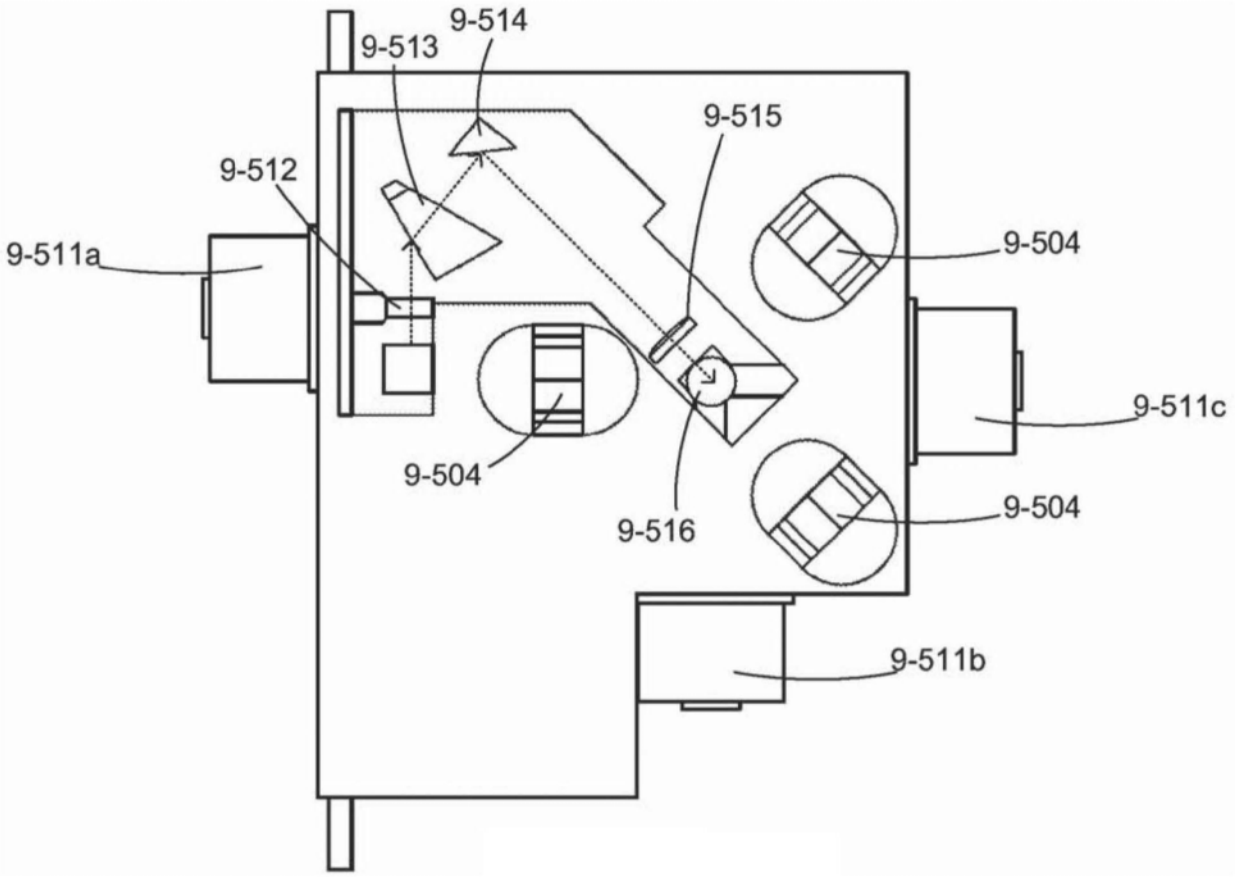


图9-10

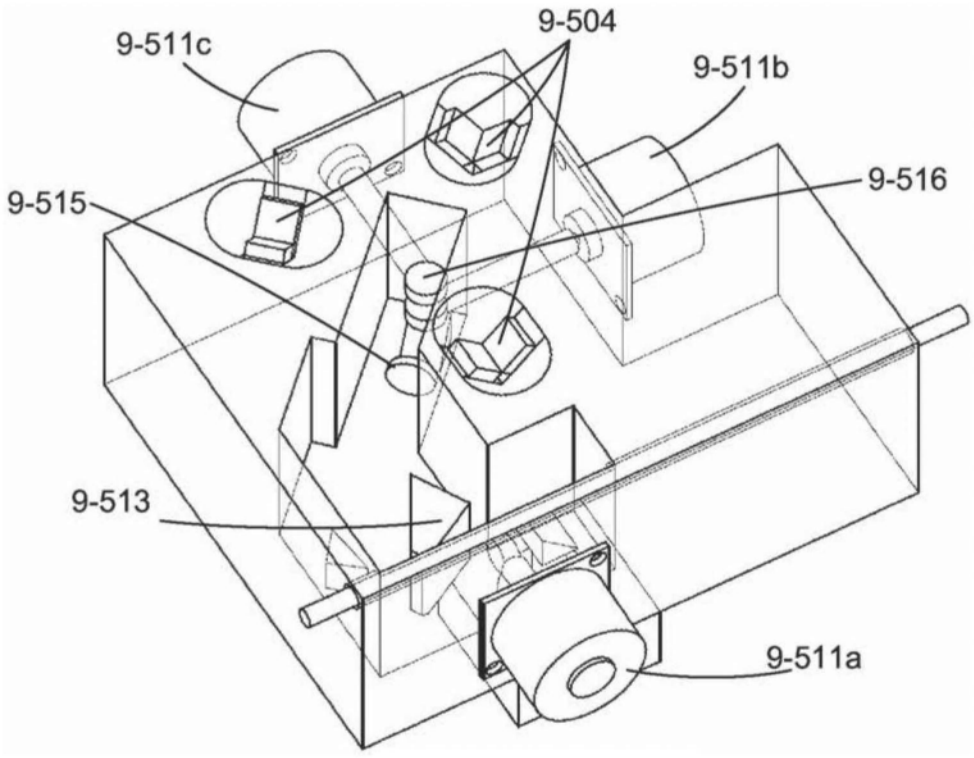


图9-11

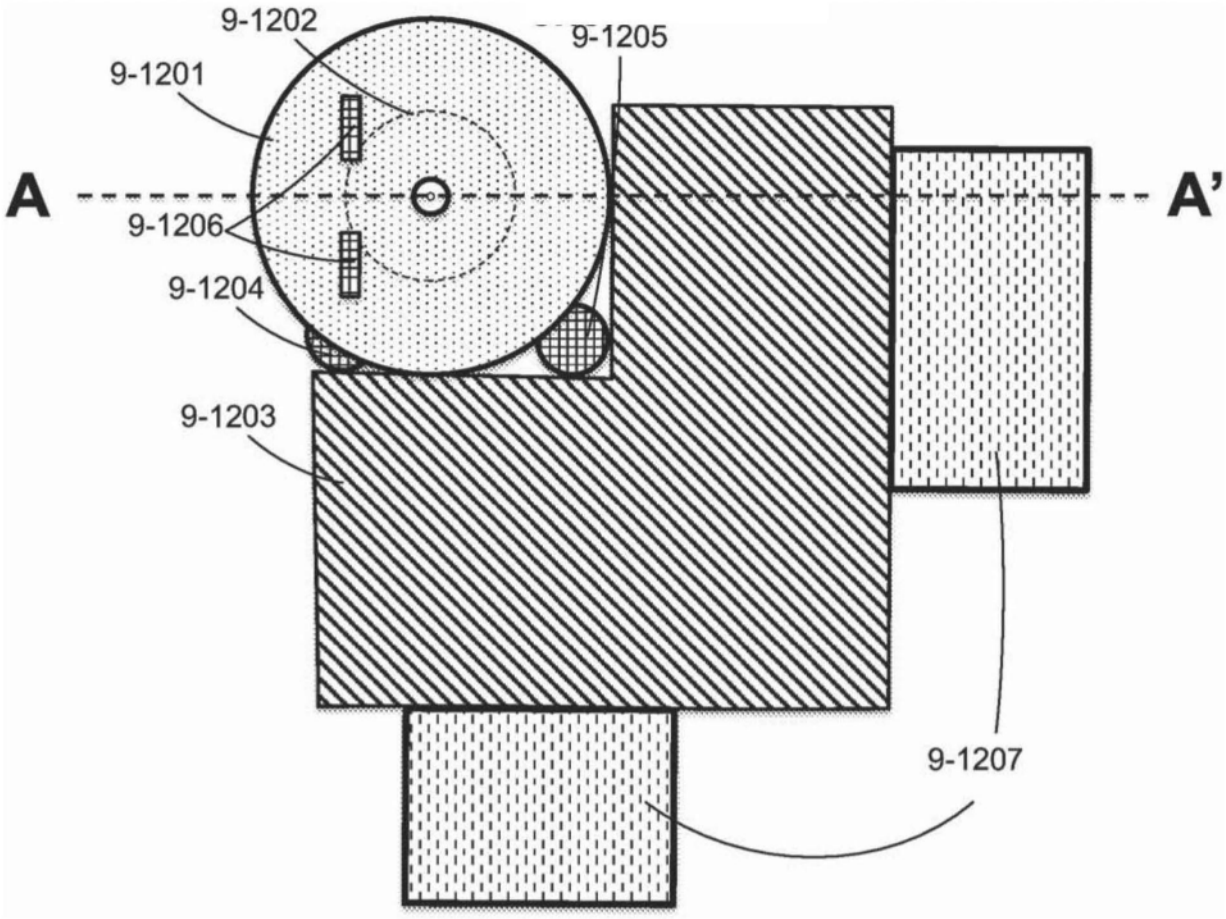

9-1202
9-1205
9-1201
A
A'
9-1206
9-1204
9-1203
9-1207

图9-12

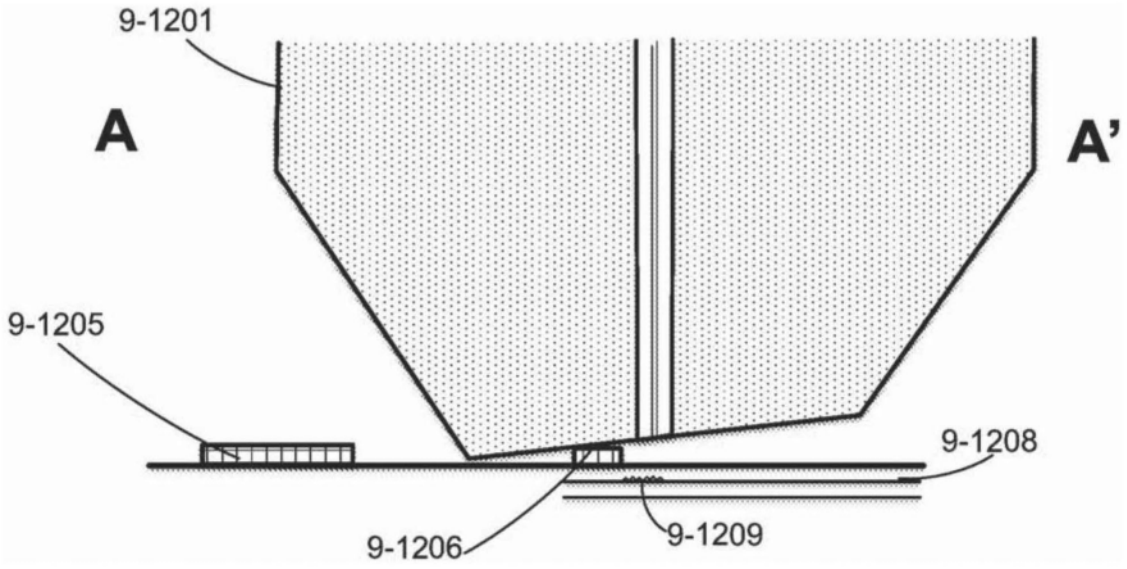

9-1201
A
A'
9-1205
9-1208
9-1206
9-1209

图9-13

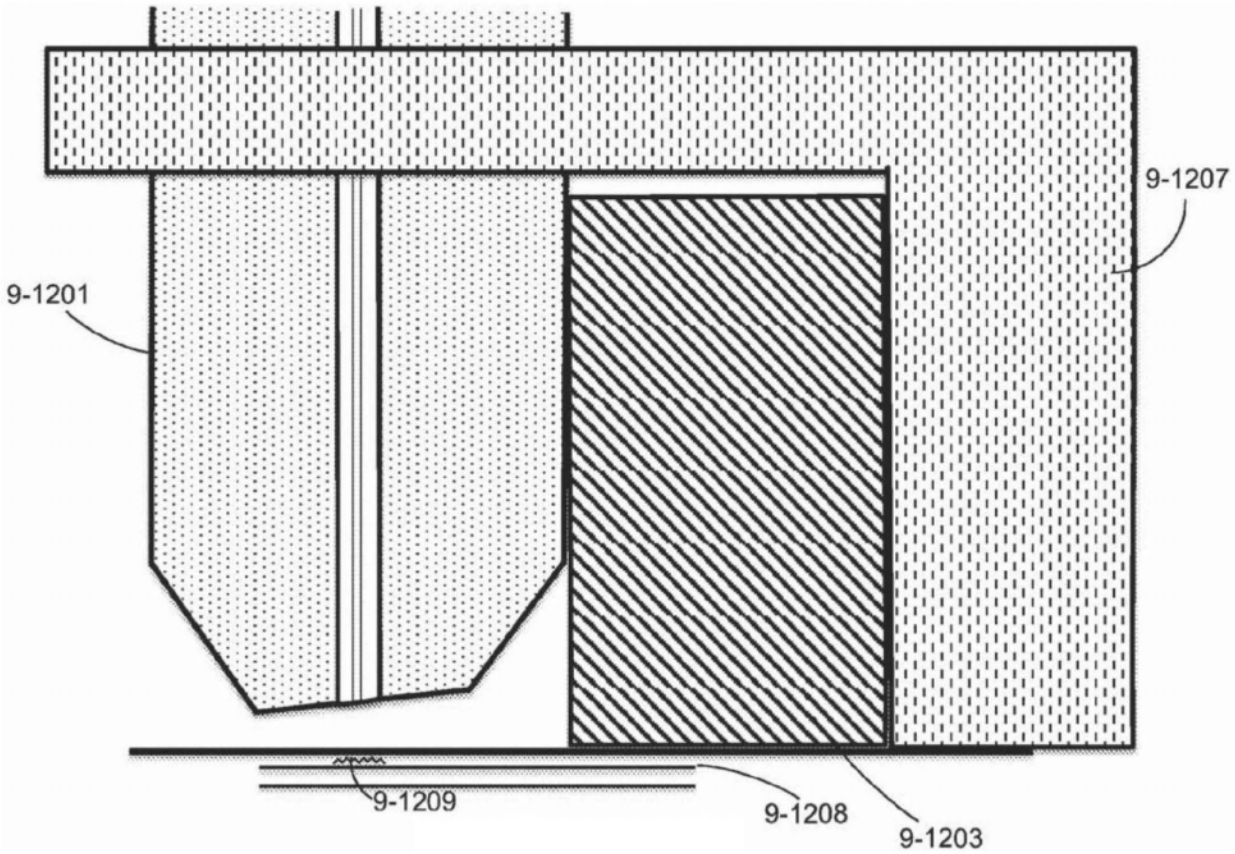


图9-14

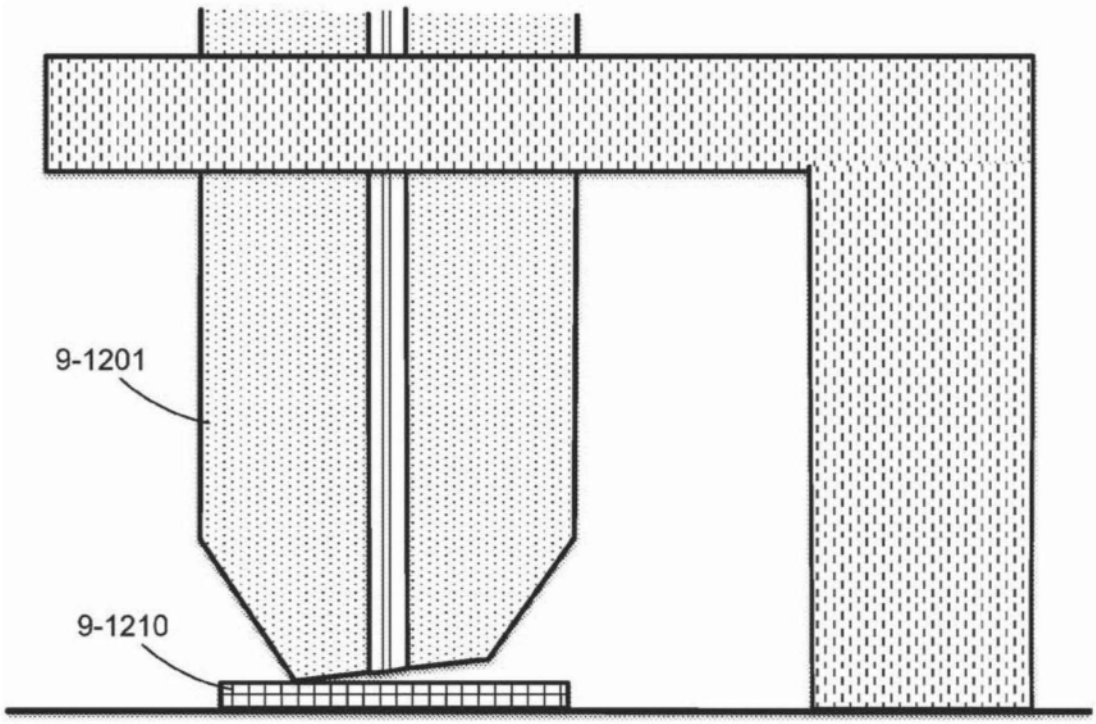


图9-15

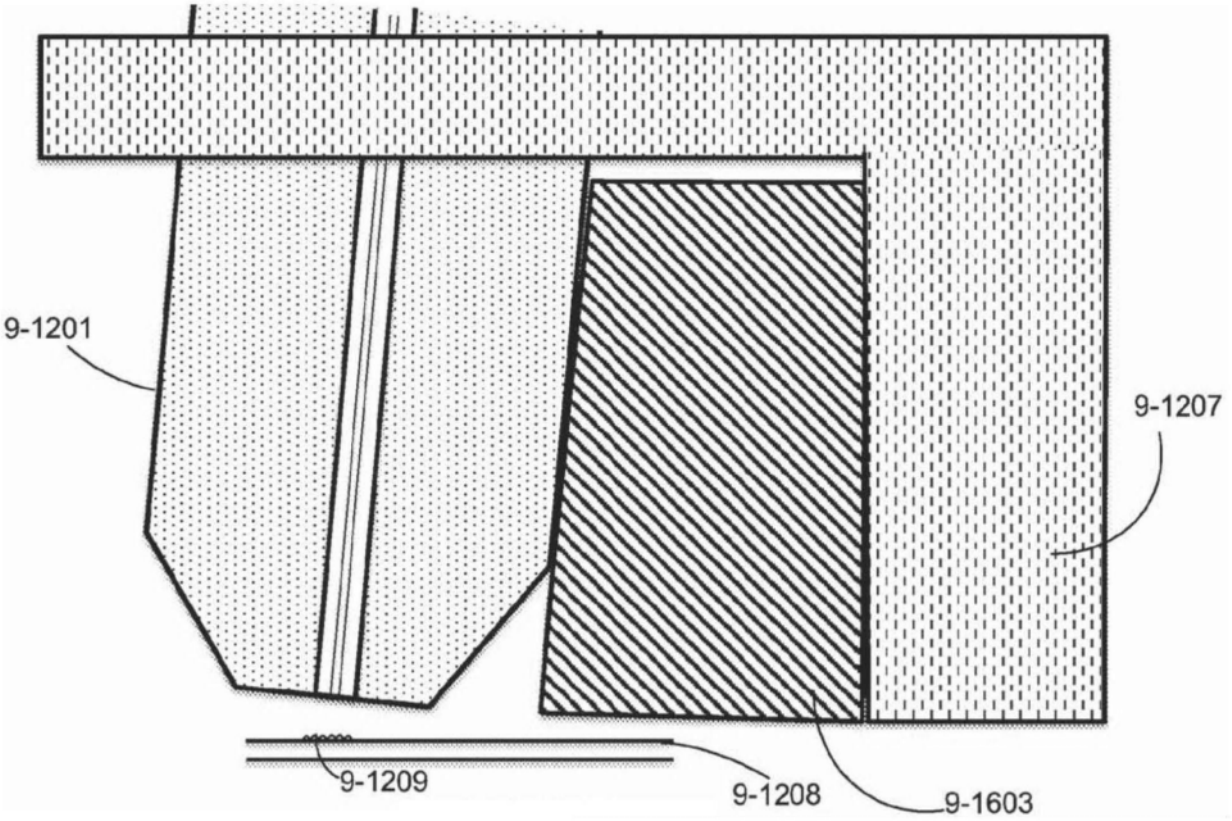


图9-16

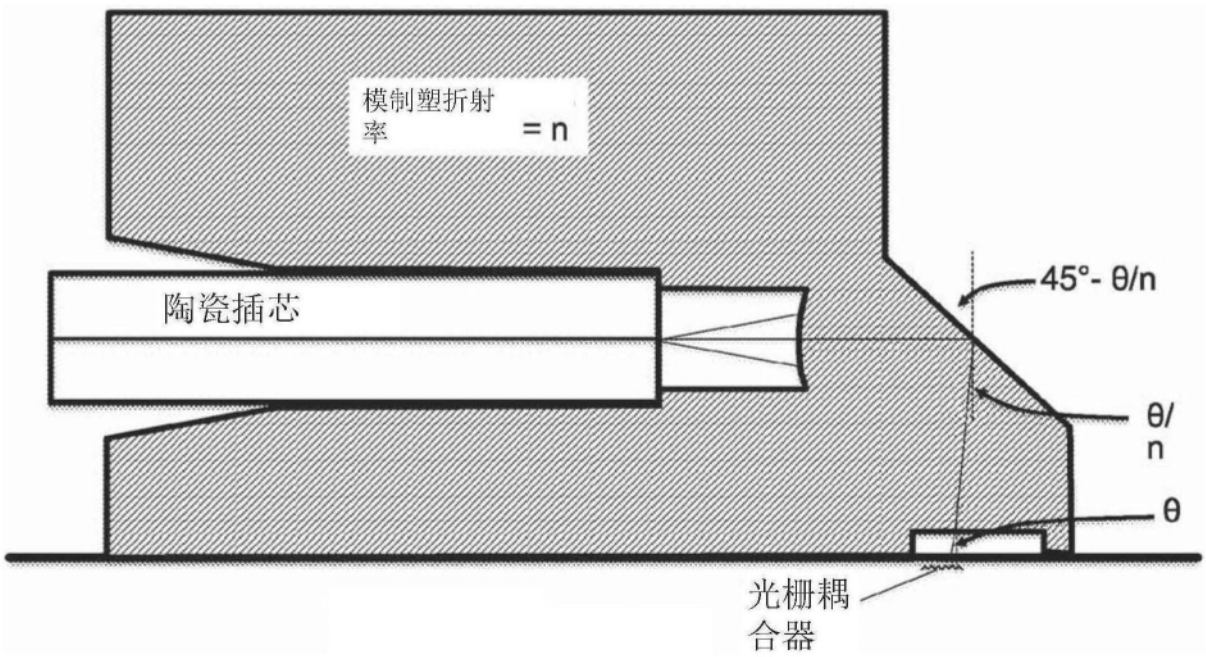


图9-17

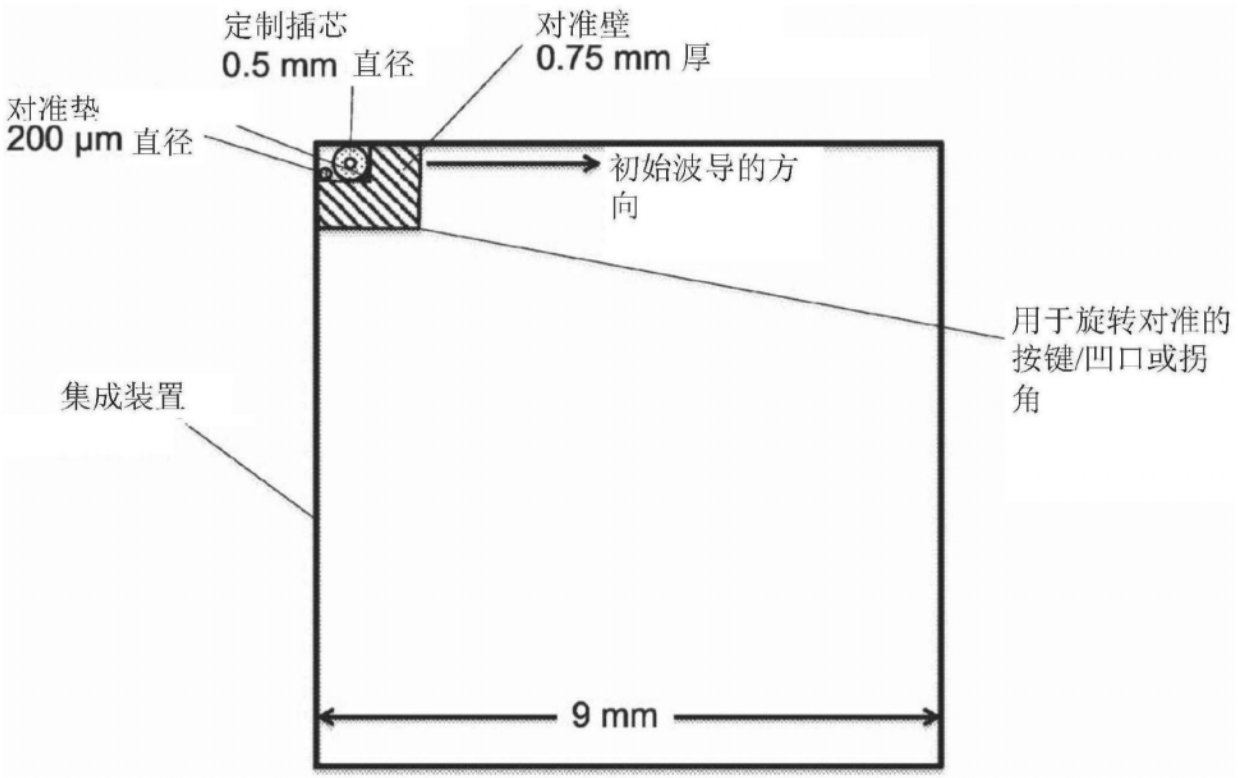

定制插芯
0.5 mm 直径
对准壁
0.75 mm 厚
对准垫
200 μm 直径
初始波导的方向
用于旋转对准的按键/凹口或拐角
集成装置
9 mm

图9-18

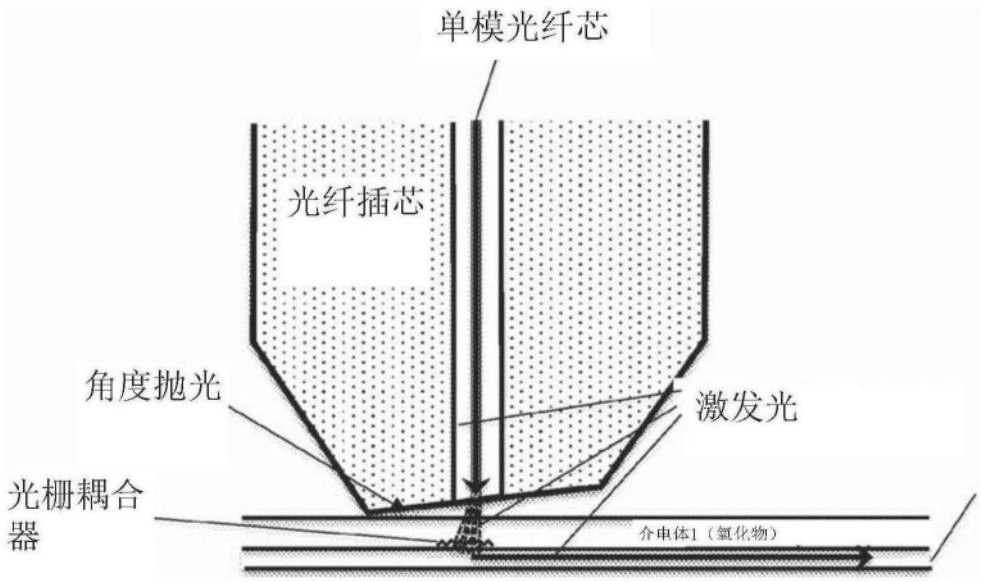

单模光纤芯
光纤插芯
角度抛光
激发光
光栅耦合器
介电体1（氧化物）

图9-19

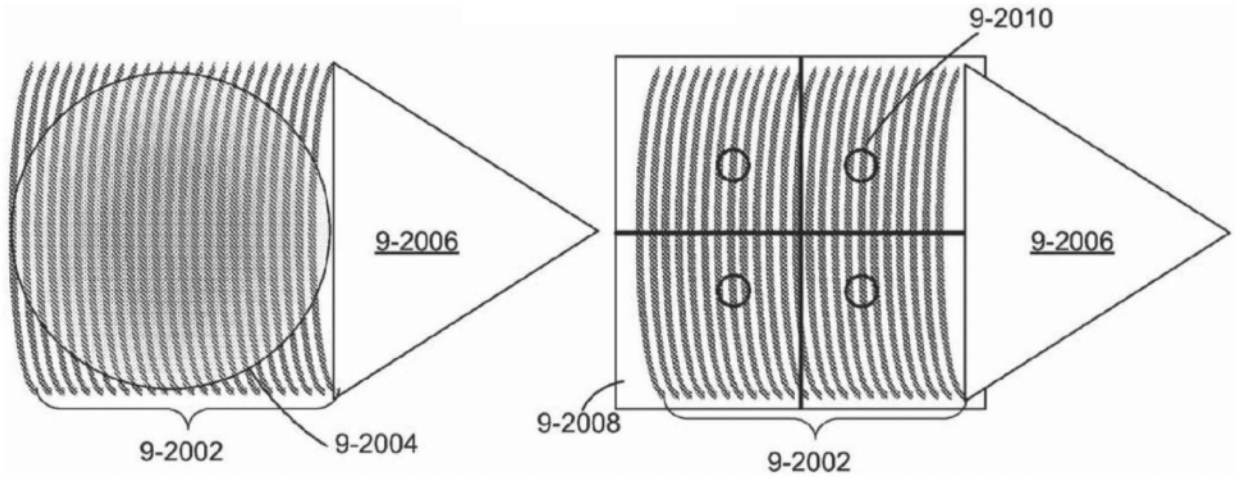

9-2010
9-2006
9-2006
9-2002
9-2004
9-2008
9-2002

图9-20

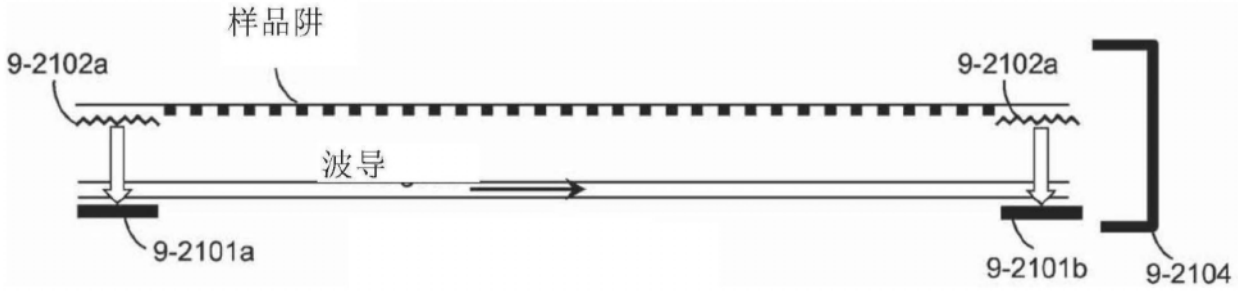

样品阱
9-2102a
9-2102a
波导
9-2101a
9-2101b
9-2104

图9-21

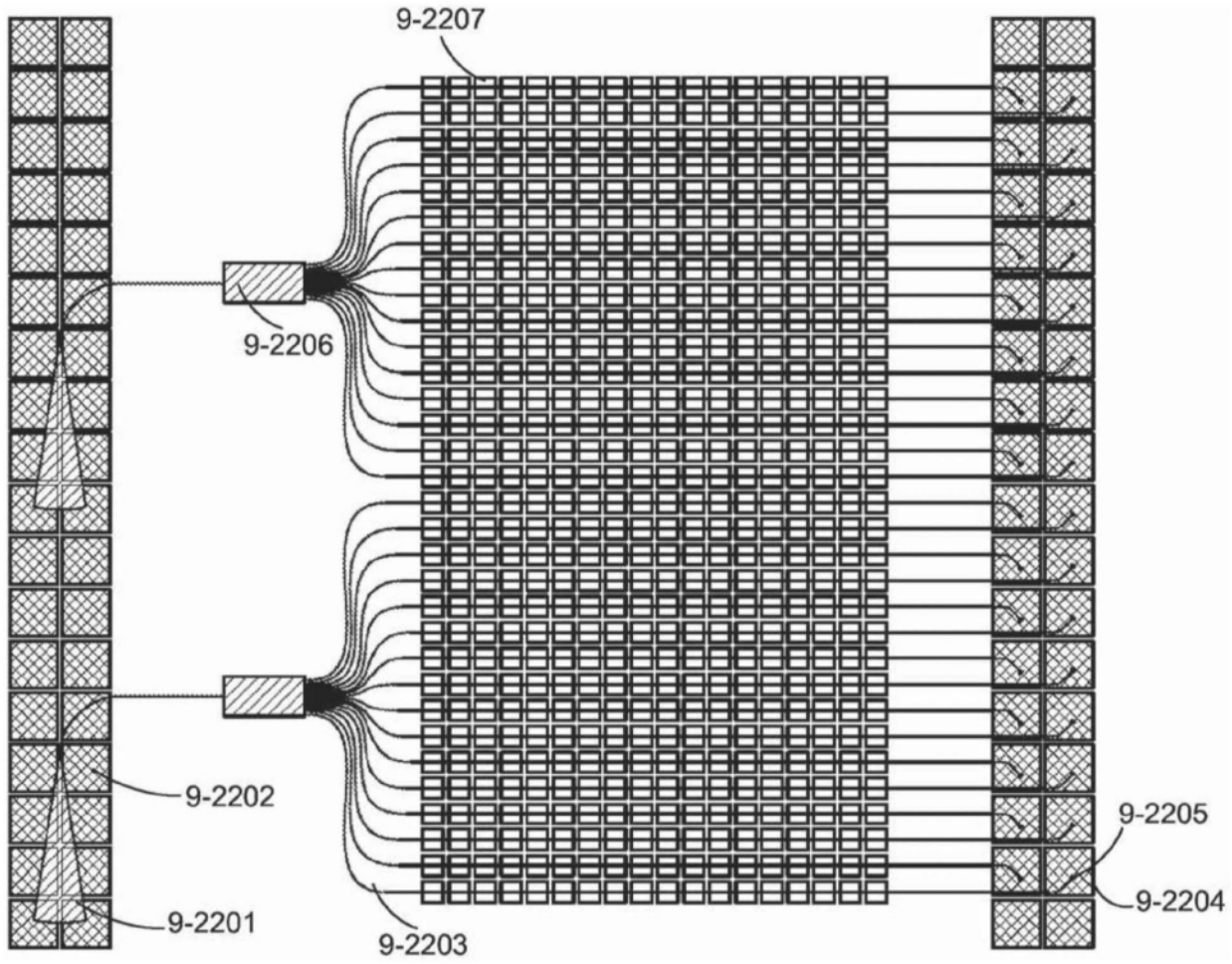


图9-22

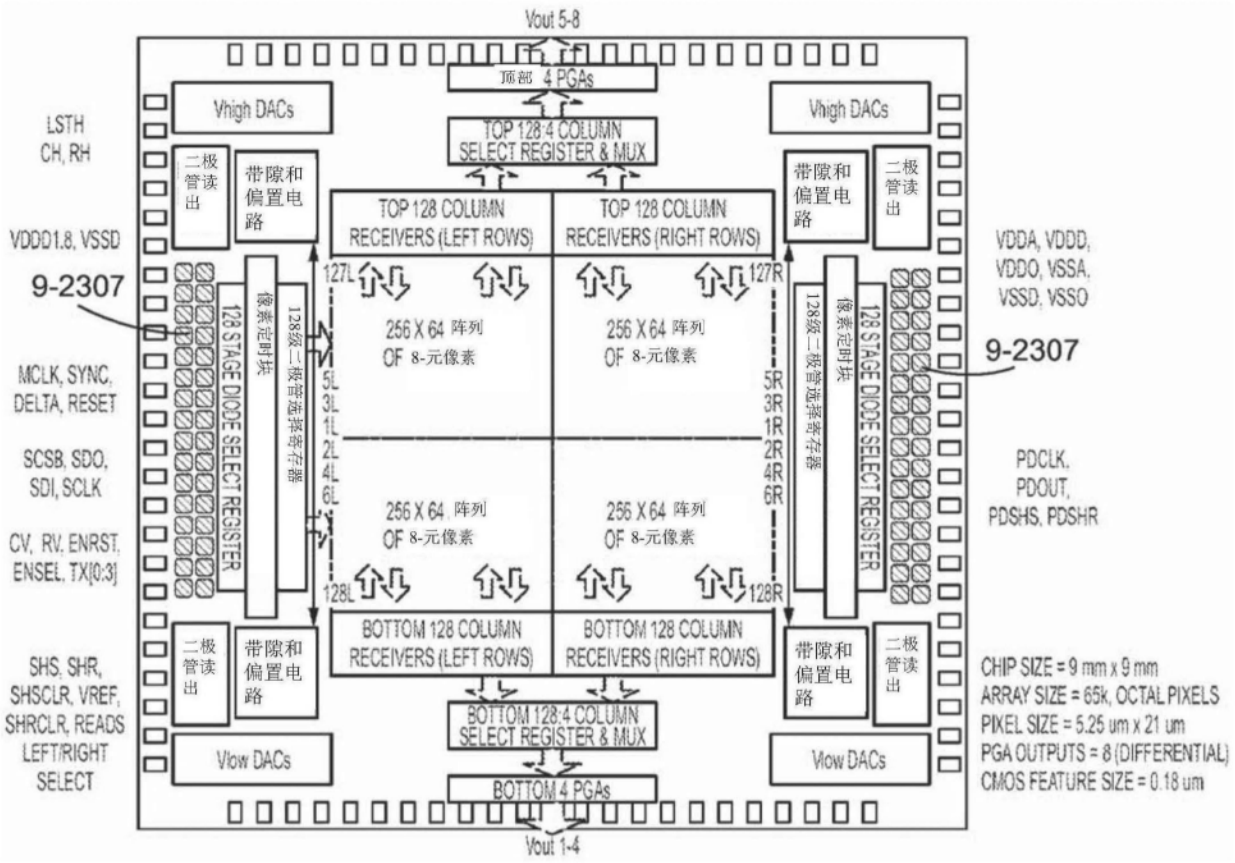

Vout 5-8
顶部 4 PGAs
Vhigh DACs
TOP 128:4 COLUMN SELECT REGISTER & MUX
LSTH
CH, RH
二极管读出
带隙和偏置电路
TOP 128 COLUMN RECEIVERS (LEFT ROWS)
TOP 128 COLUMN RECEIVERS (RIGHT ROWS)
VDDD1.8, VSSD
9-2307
127L
127R
256 X 64 阵列
OF 8-元像素
像素定时块
128级二极管选择寄存器
128 STAGE DIODE SELECT REGISTER
MCLK, SYNC, DELTA, RESET
SCSB, SDO, SDI, SCLK
CV, RV, ENRST, ENSEL, TX[0:3]
5L 3L 1L 2L 4L 6L
5R 3R 1R 2R 4R 6R
128L
128R
VDDA, VDDD, VDDO, VSSA, VSSD, VSSO
PDCLK, PDOUT, PDSHS, PDSHR
BOTTOM 128 COLUMN RECEIVERS (LEFT ROWS)
BOTTOM 128 COLUMN RECEIVERS (RIGHT ROWS)
SHS, SHR, SHSCLR, VREF, SHRCLR, READS LEFT/RIGHT SELECT
BOTTOM 128:4 COLUMN SELECT REGISTER & MUX
Vlow DACs
BOTTOM 4 PGAs
Vout 1-4
CHIP SIZE = 9 mm x 9 mm
ARRAY SIZE = 65k, OCTAL PIXELS
PIXEL SIZE = 5.25 um x 21 um
PGA OUTPUTS = 8 (DIFFERENTIAL)
CMOS FEATURE SIZE = 0.18 um

图9-23

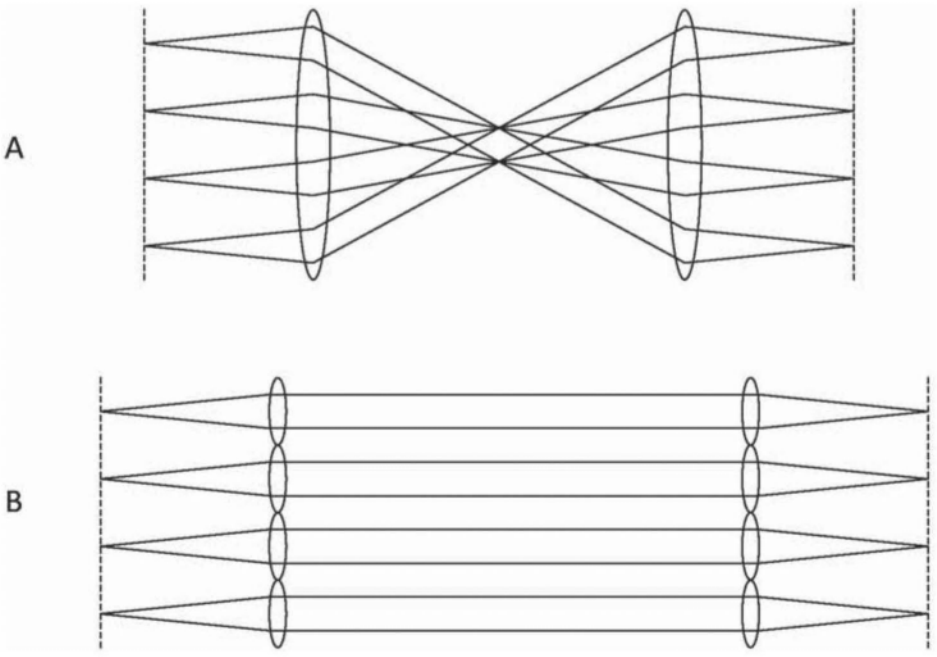

A
B

图9-24

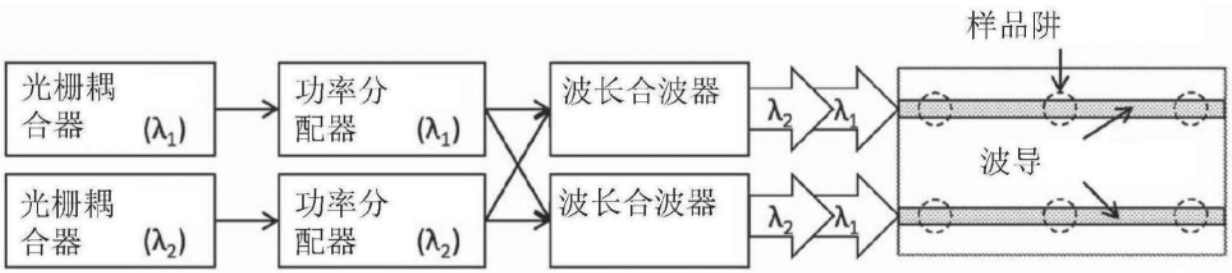


图9-25A

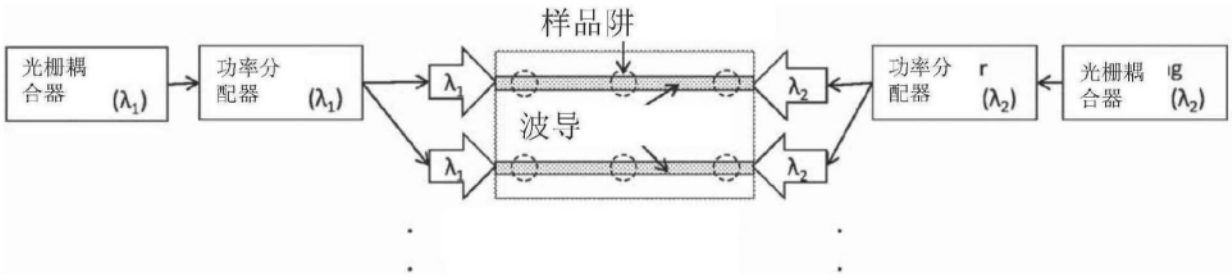


图9-25B

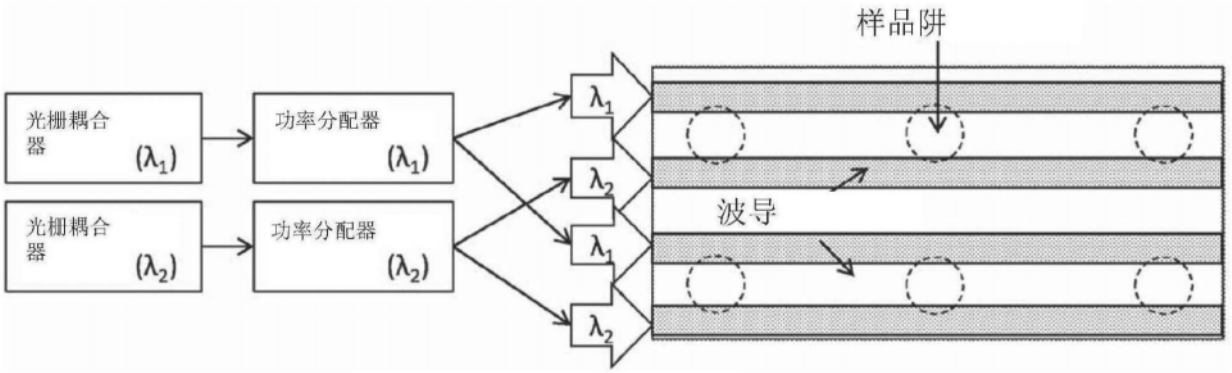


图9-25C

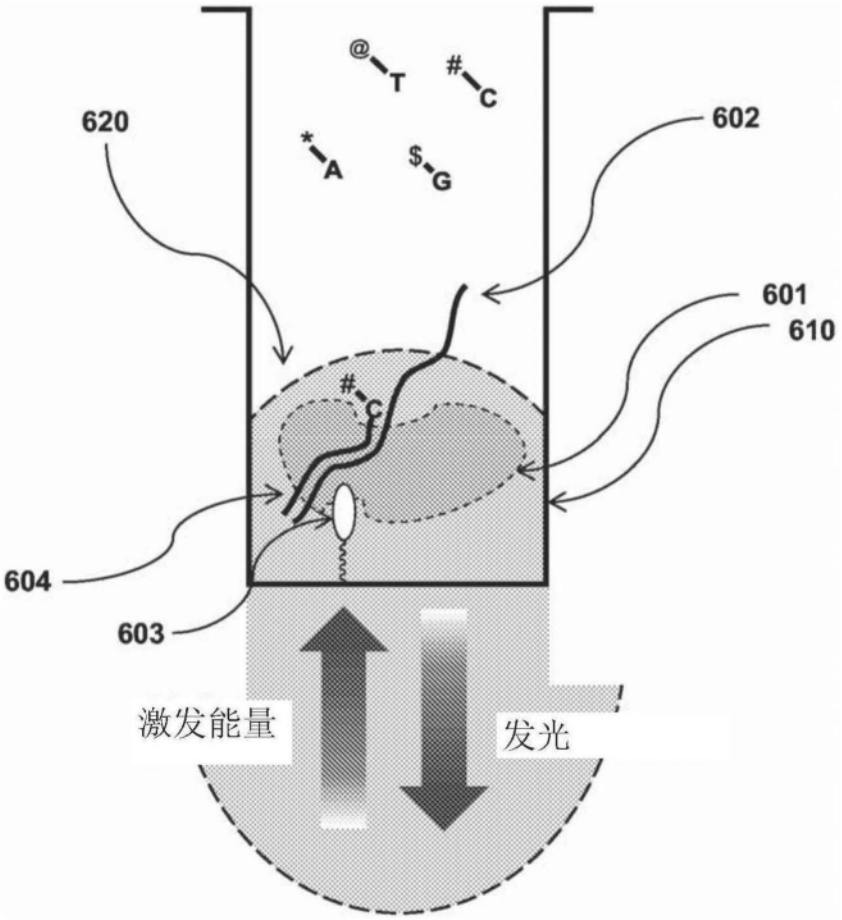


图10-1

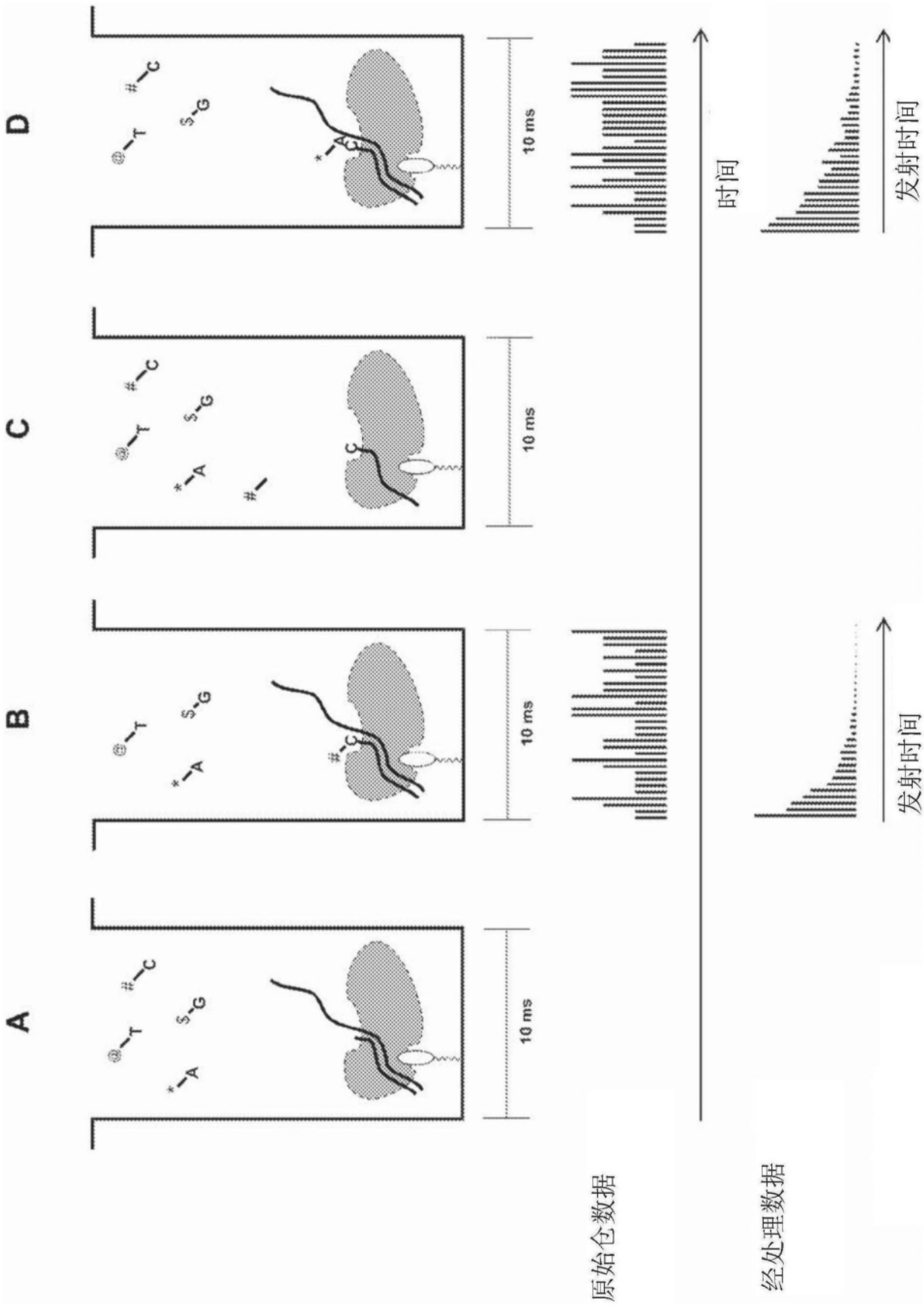


图10-2

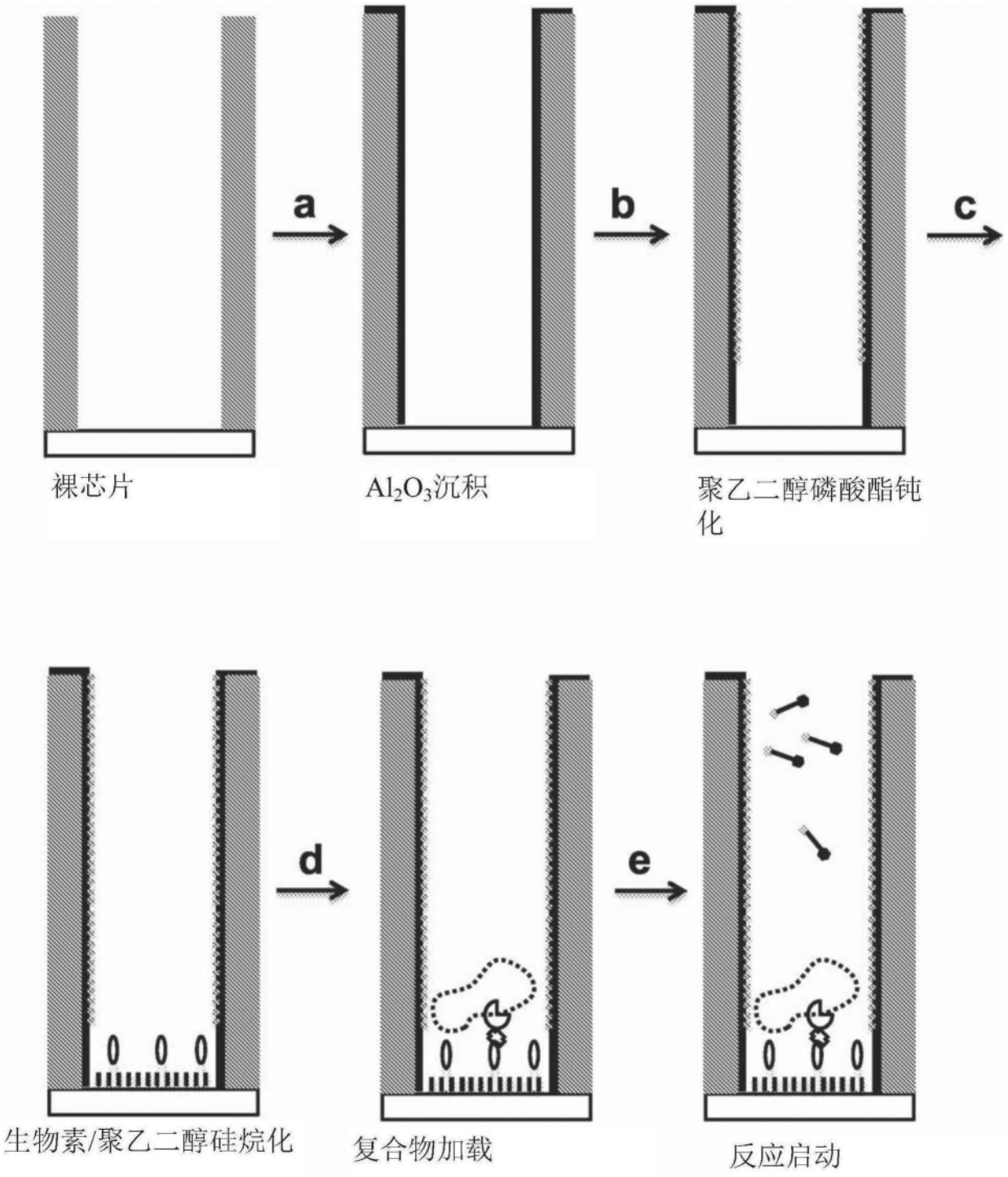


图10-3

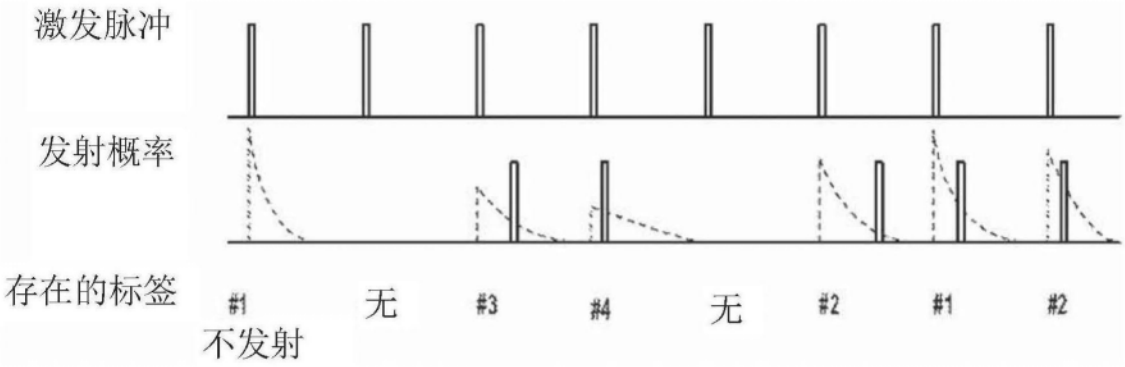


图10-4

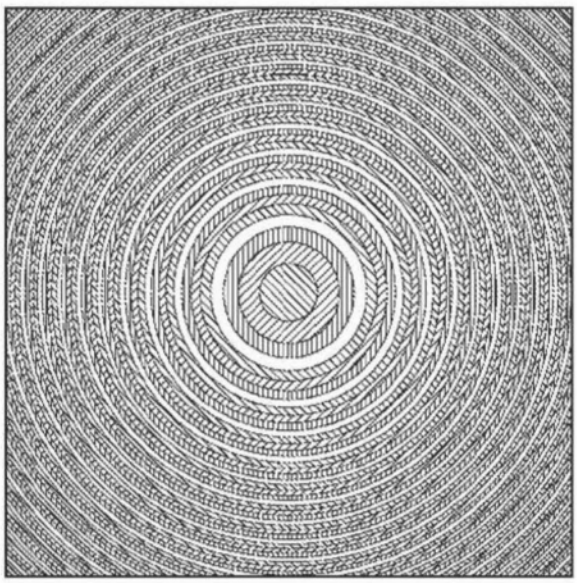


图10-5

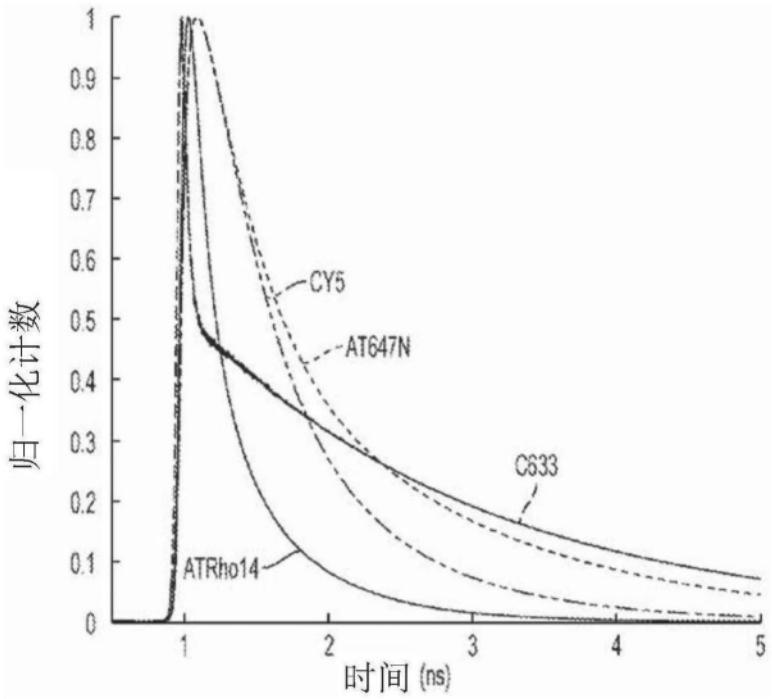

归一化计数
时间 (ns)
CY5
AT647N
C633
ATRho14
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1
1
2
3
4
5

图10-6

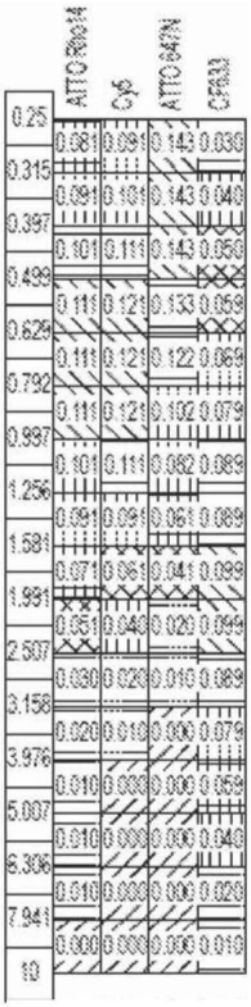

ATTO 488
Cy5
ATTO 647N
CF633
0.25
0.315
0.397
0.499
0.629
0.792
0.997
1.256
1.581
1.991
2.507
3.158
3.976
5.007
6.306
7.941
10

图10-7

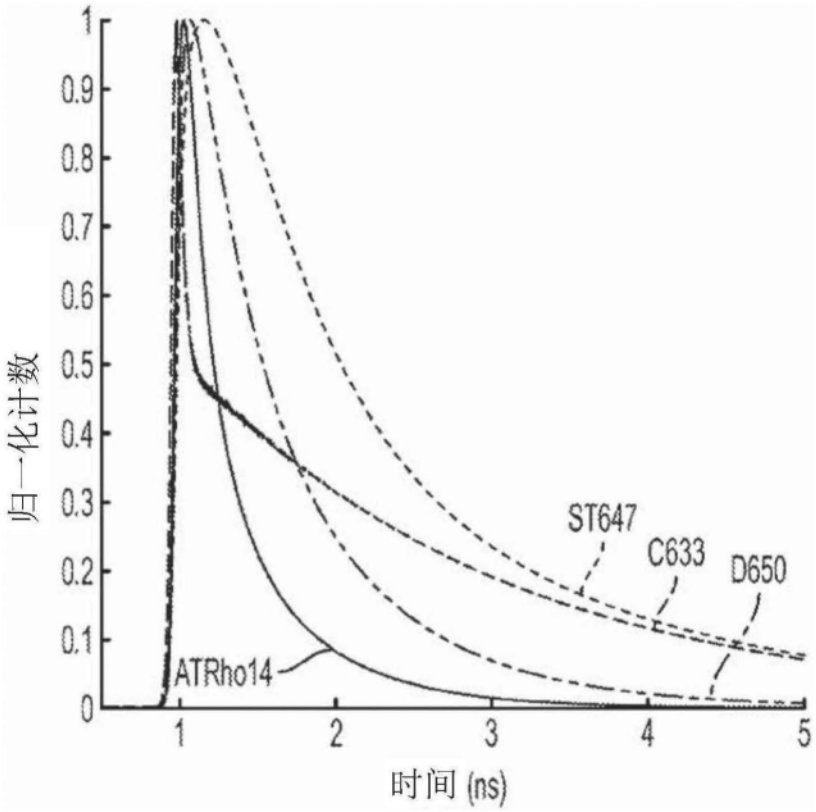

归一化计数
时间 (ns)
ST647
C633
D650
ATRho14
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1
1
2
3
4
5

图10-8

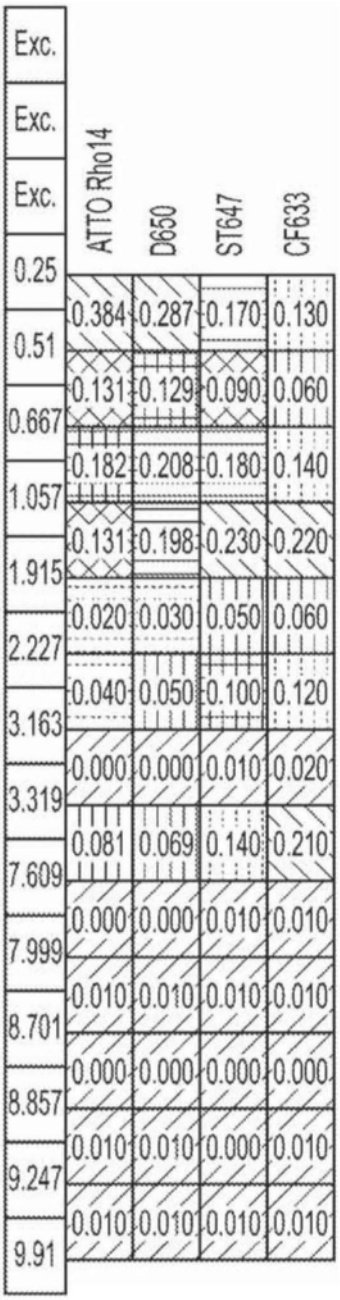

Exc.
Exc.
Exc.
0.25
0.51
0.667
1.057
1.915
2.227
3.163
3.319
7.609
7.999
8.701
8.857
9.247
9.91
ATTO Rho14
D650
ST647
CF633
0.384 0.287 0.170 0.130
0.131 0.129 0.090 0.060
0.182 0.208 0.180 0.140
0.131 0.198 0.230 0.220
0.020 0.030 0.050 0.060
0.040 0.050 0.100 0.120
0.000 0.000 0.010 0.020
0.081 0.069 0.140 0.210
0.000 0.000 0.010 0.010
0.010 0.010 0.010 0.010
0.000 0.000 0.000 0.000
0.010 0.010 0.000 0.010
0.010 0.010 0.010 0.010

图10-9

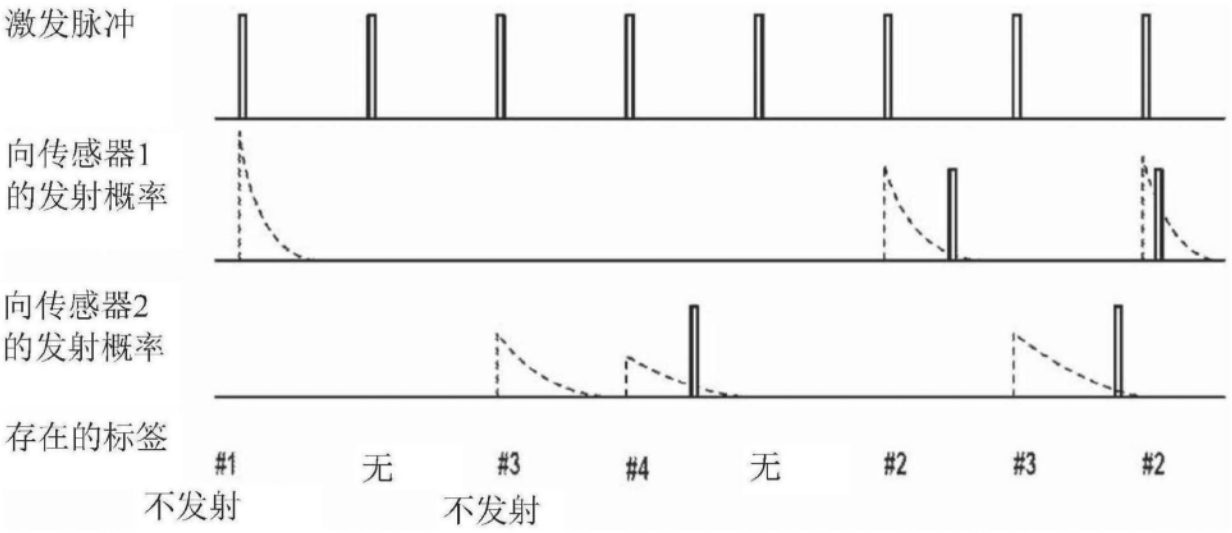

激发脉冲
向传感器1
的发射概率
向传感器2
的发射概率
存在的标签
#1
无
#3
#4
无
#2
#3
#2
不发射
不发射

图10-10

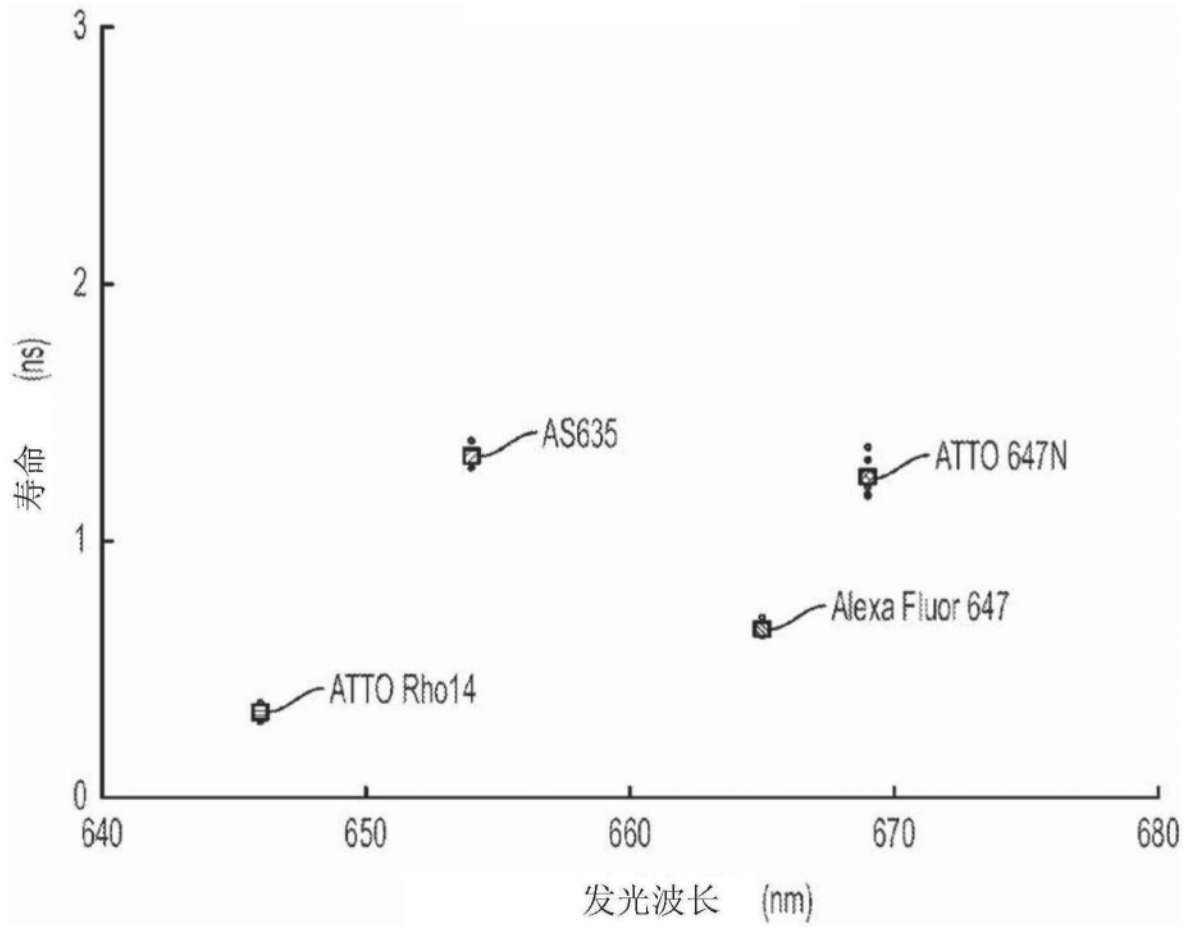

3
2
1
0
寿命 (ns)
AS635
ATTO 647N
Alexa Fluor 647
ATTO Rho14
640
650
660
670
680
发光波长 (nm)

图10-11

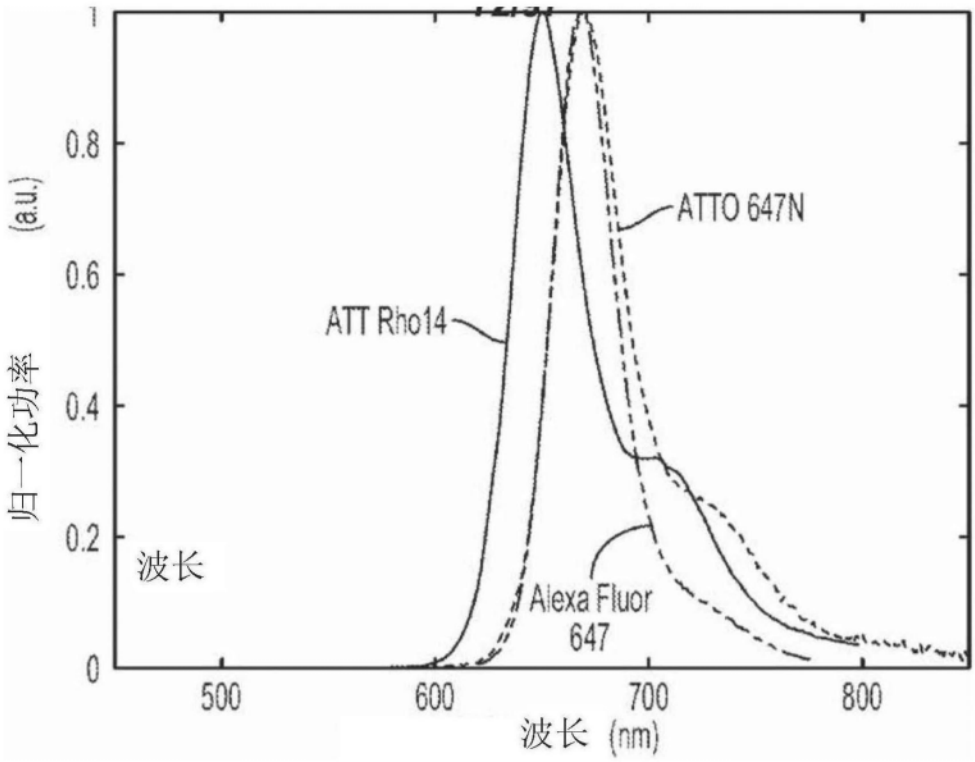

归一化功率 (a.u.)
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
500
600
700
800
波长 (nm)
ATT Rho14
ATTO 647N
Alexa Fluor 647
波长

图10-12

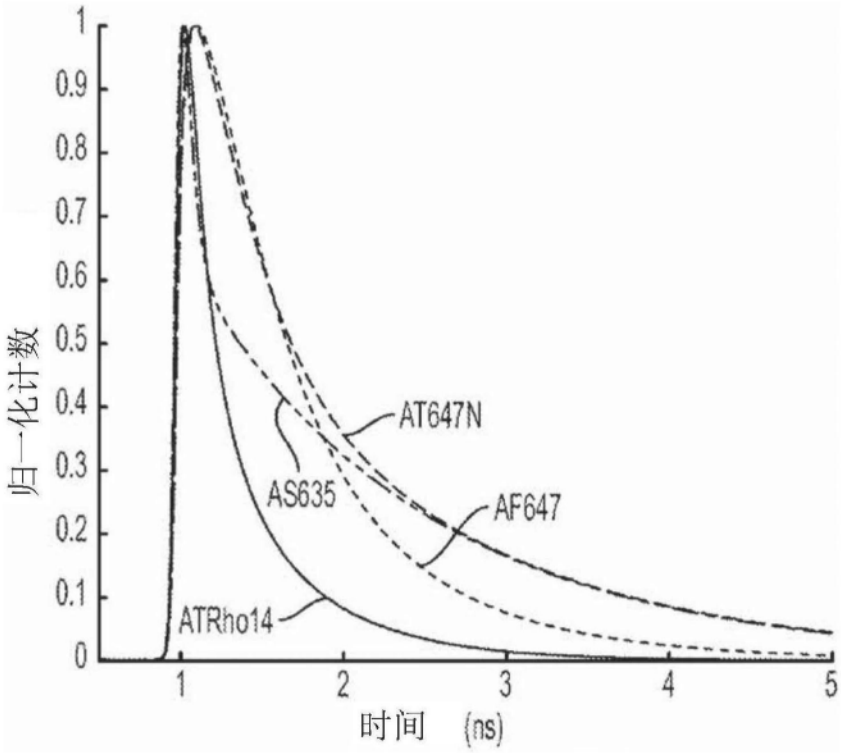

归一化计数
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
1
2
3
4
5
时间 (ns)
AT647N
AS635
AF647
ATRho14

图10-13

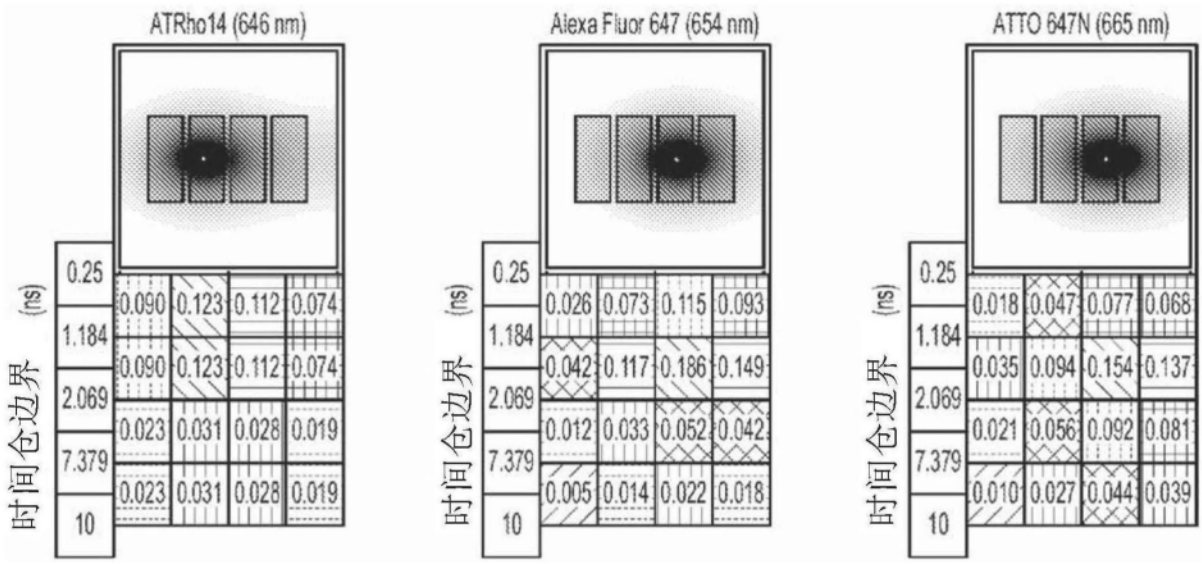

ATRho14 (646 nm)
Alexa Fluor 647 (654 nm)
ATTO 647N (665 nm)
时间仓边界 (ns)
0.25
1.184
2.069
7.379
10
0.090 0.123 0.112 0.074
0.090 0.123 0.112 0.074
0.023 0.031 0.028 0.019
0.023 0.031 0.028 0.019
0.026 0.073 0.115 0.093
0.042 0.117 0.186 0.149
0.012 0.033 0.052 0.042
0.005 0.014 0.022 0.018
0.018 0.047 0.077 0.068
0.035 0.094 0.154 0.137
0.021 0.056 0.092 0.081
0.010 0.027 0.044 0.039

图10-14

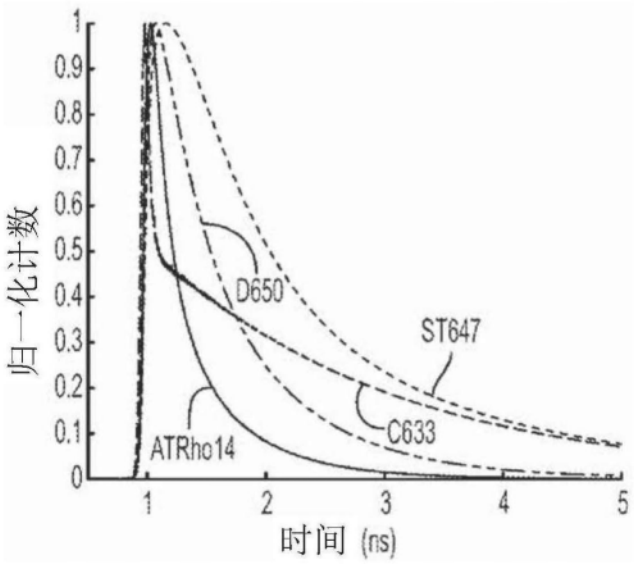

归一化计数
时间 (ns)
D650
ST647
C633
ATRho14
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1
1
2
3
4
5

图10-15

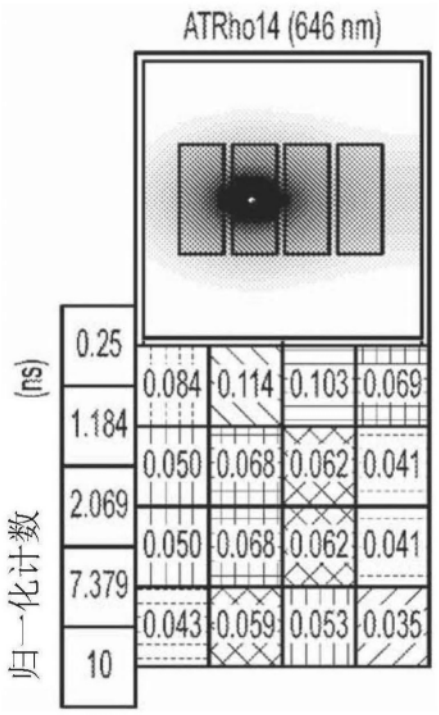

ATRho14 (646 nm)
归一化计数 (ns)
0.25
1.184
2.069
7.379
10
0.084 0.114 0.103 0.069
0.050 0.068 0.062 0.041
0.050 0.068 0.062 0.041
0.043 0.059 0.053 0.035

图10-16

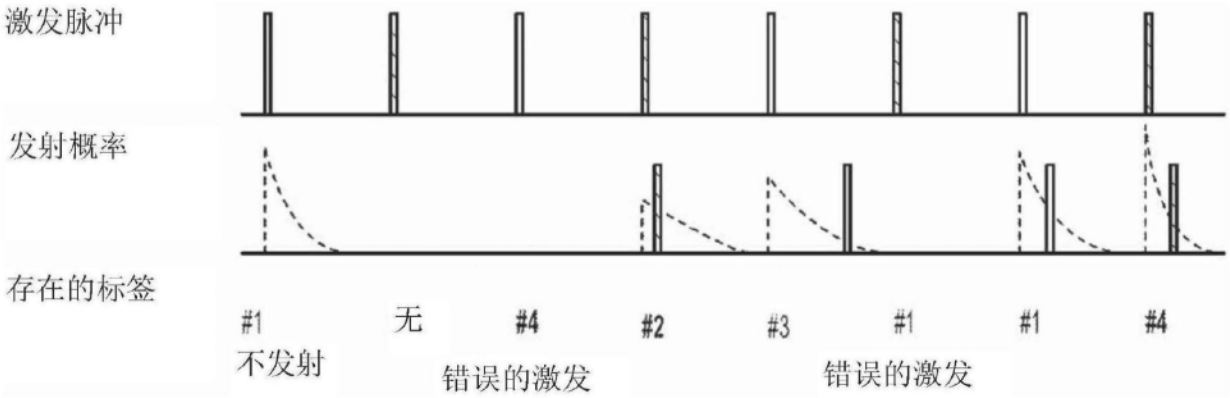

激发脉冲
发射概率
存在的标签
#1
不发射
无
#4
#2
错误的激发
#3
#1
#1
#4
错误的激发

图10-17

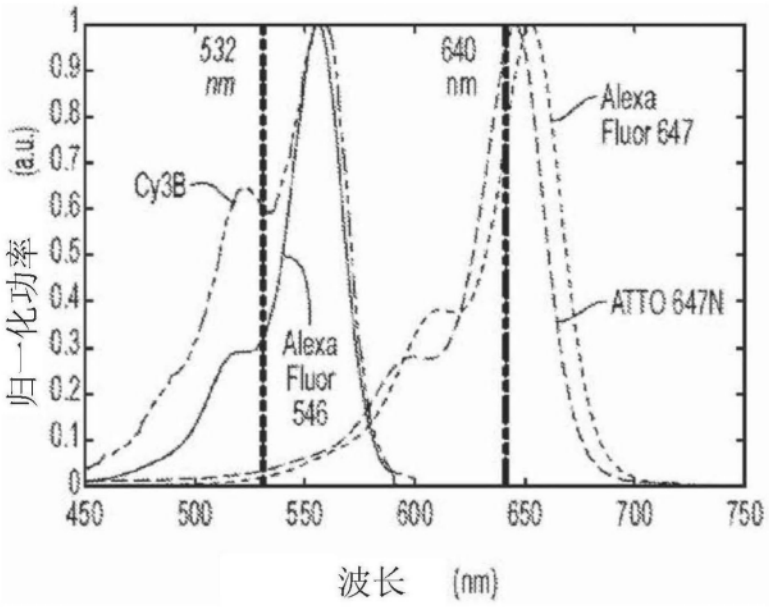

532
nm
640
nm
Alexa
Fluor 647
Cy3B
ATTO 647N
Alexa
Fluor
546
归一化功率 (a.u.)
波长 (nm)

图10-18

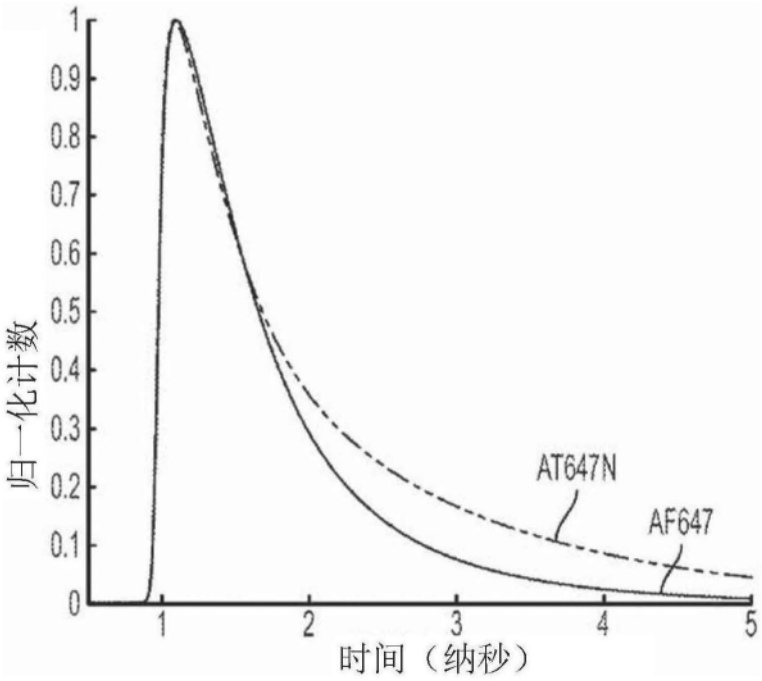

AT647N
AF647
归一化计数
时间（纳秒）

图10-19

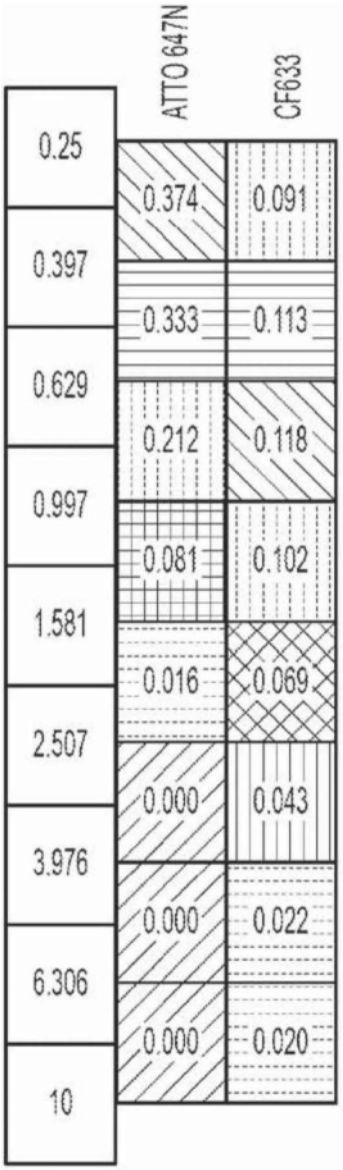

ATTO 647N
CF633
0.25
0.374
0.091
0.397
0.333
0.113
0.629
0.212
0.118
0.997
0.081
0.102
1.581
0.016
0.069
2.507
0.000
0.043
3.976
0.000
0.022
6.306
0.000
0.020
10

图10-20

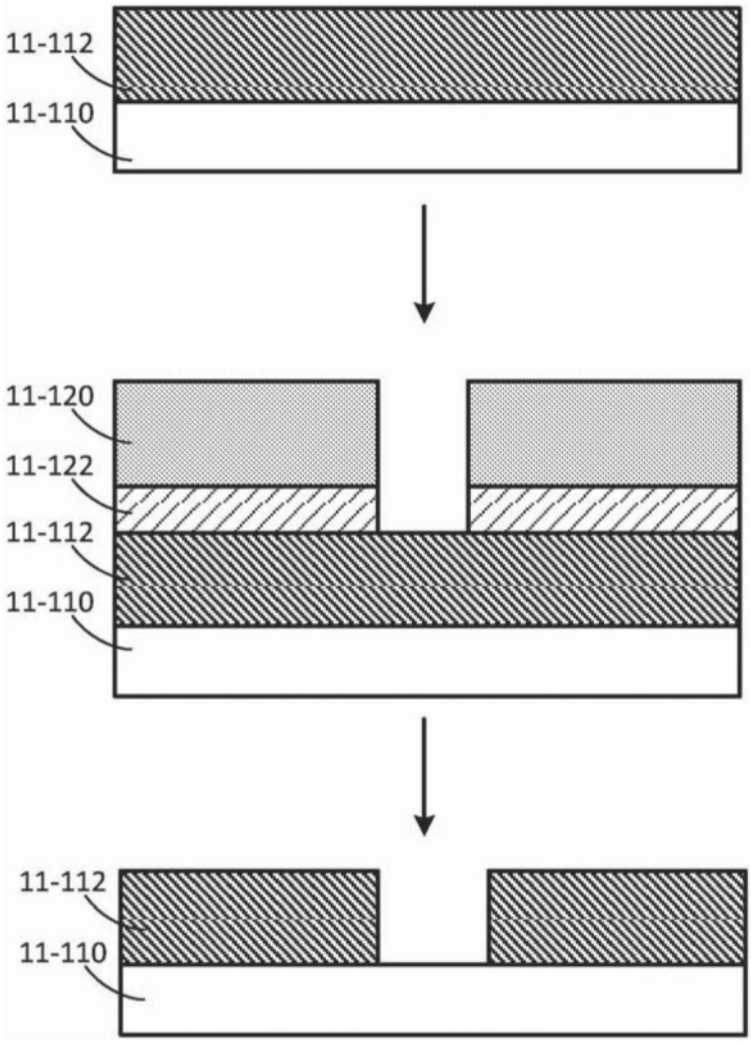


图11-1

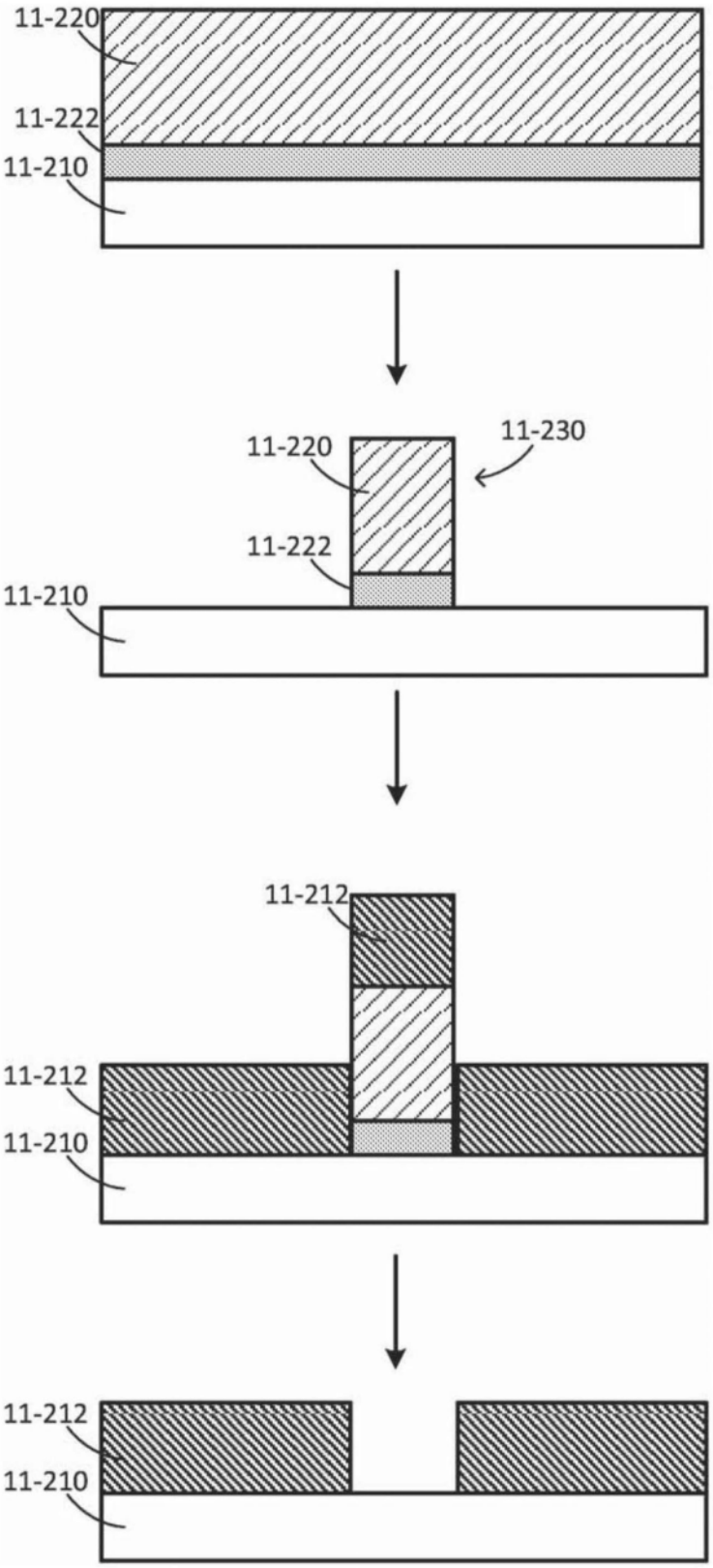

11-220
11-222
11-210
11-220
11-230
11-222
11-210
11-212
11-212
11-210
11-212
11-210

图11-2

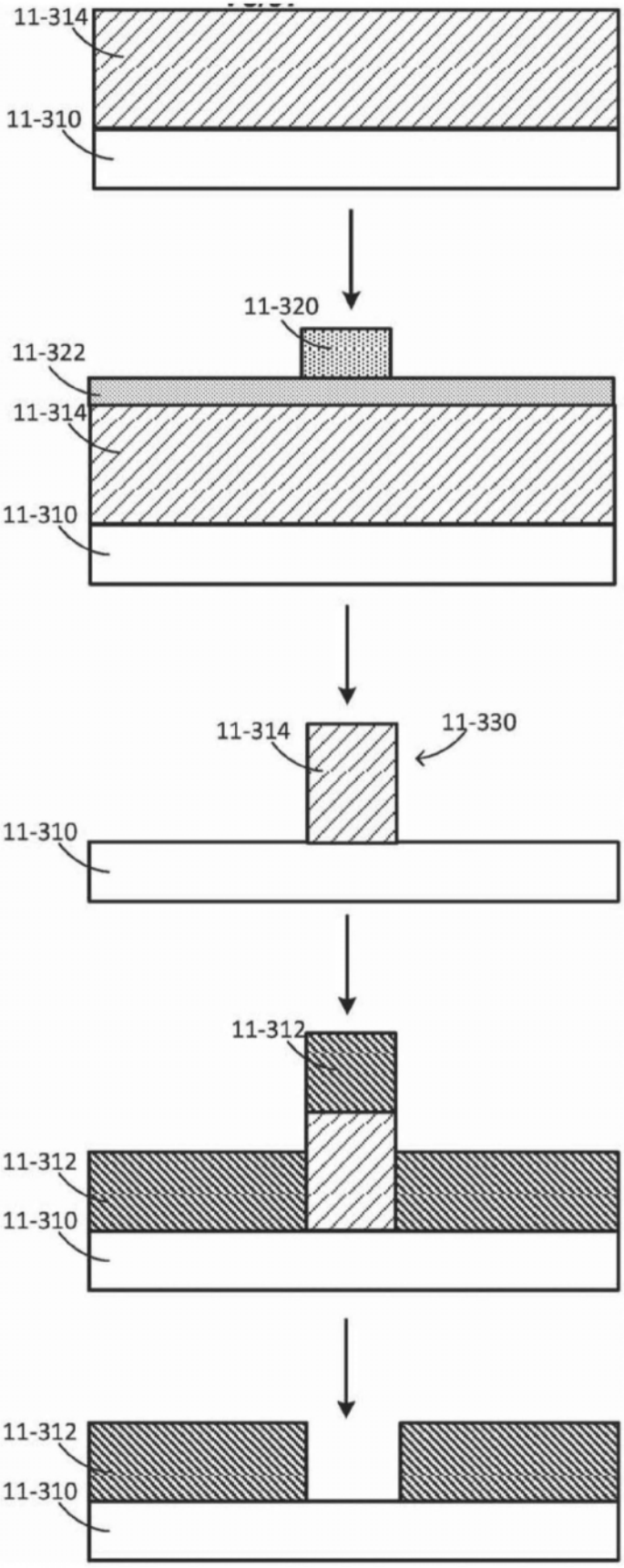

11-314
11-310
11-320
11-322
11-314
11-310
11-314
11-330
11-310
11-312
11-312
11-310
11-312
11-310

图11-3

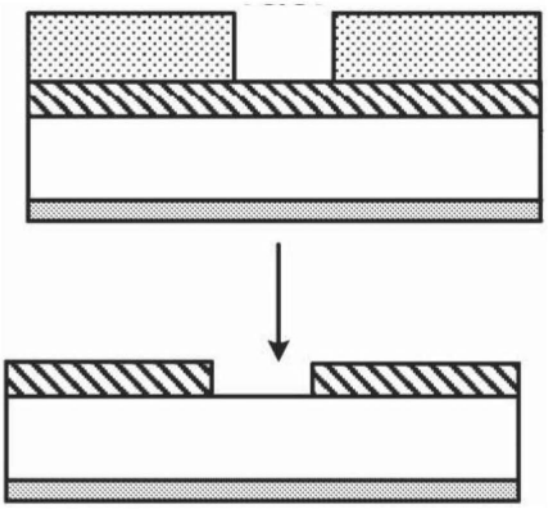


图11-4A

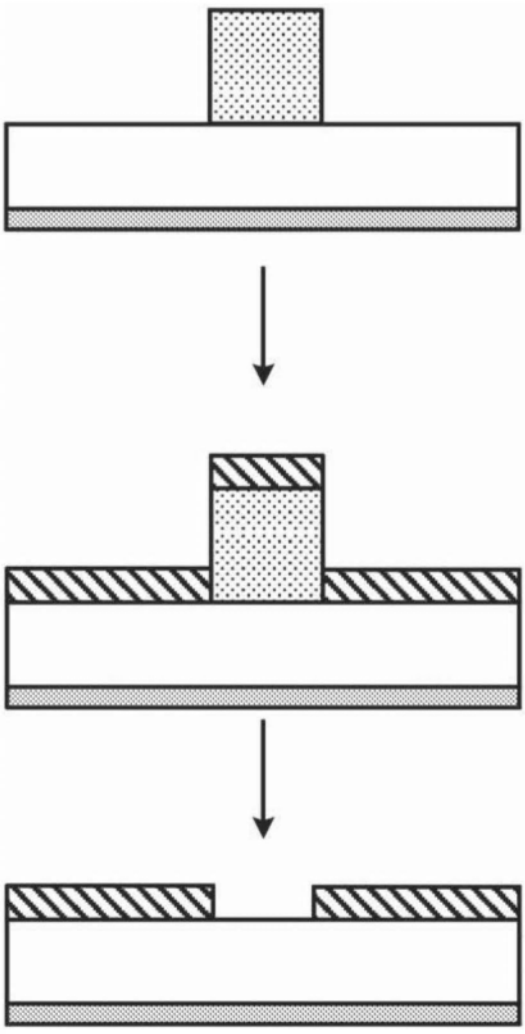


图11-4B

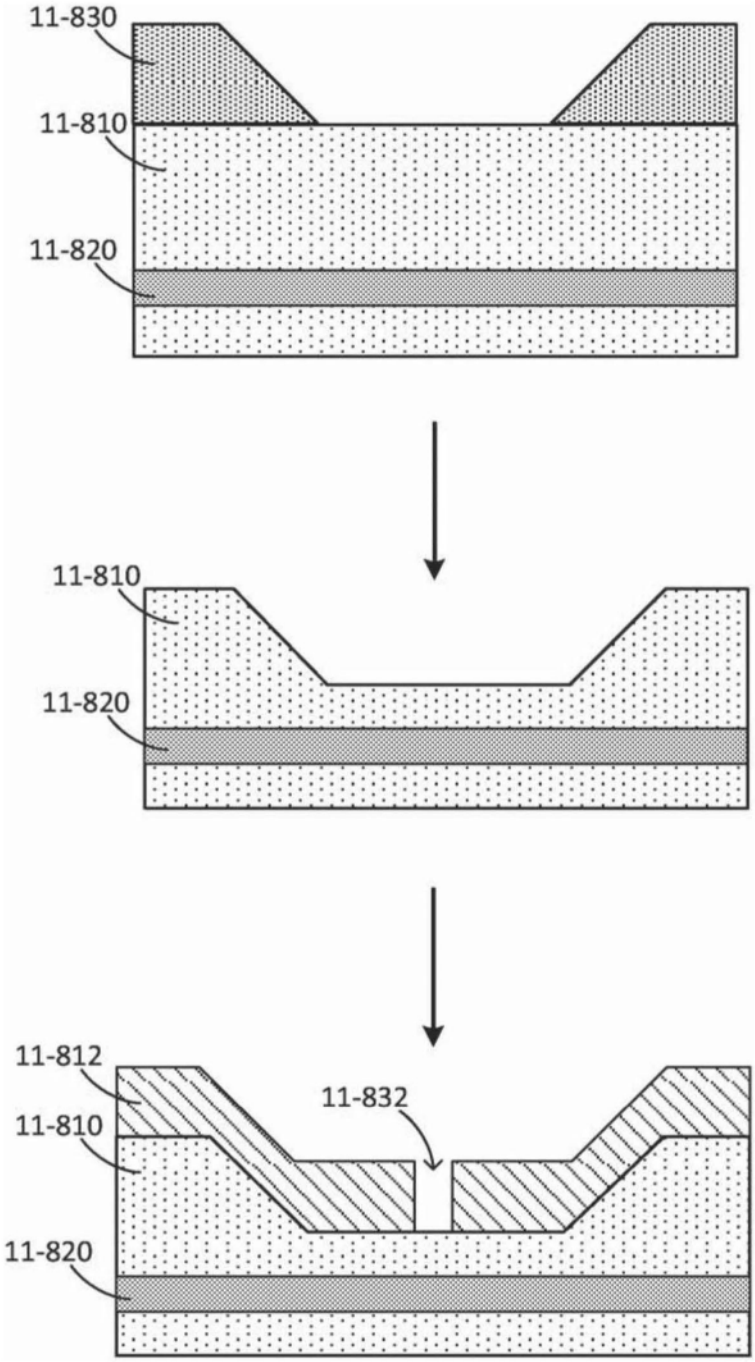


图11-5

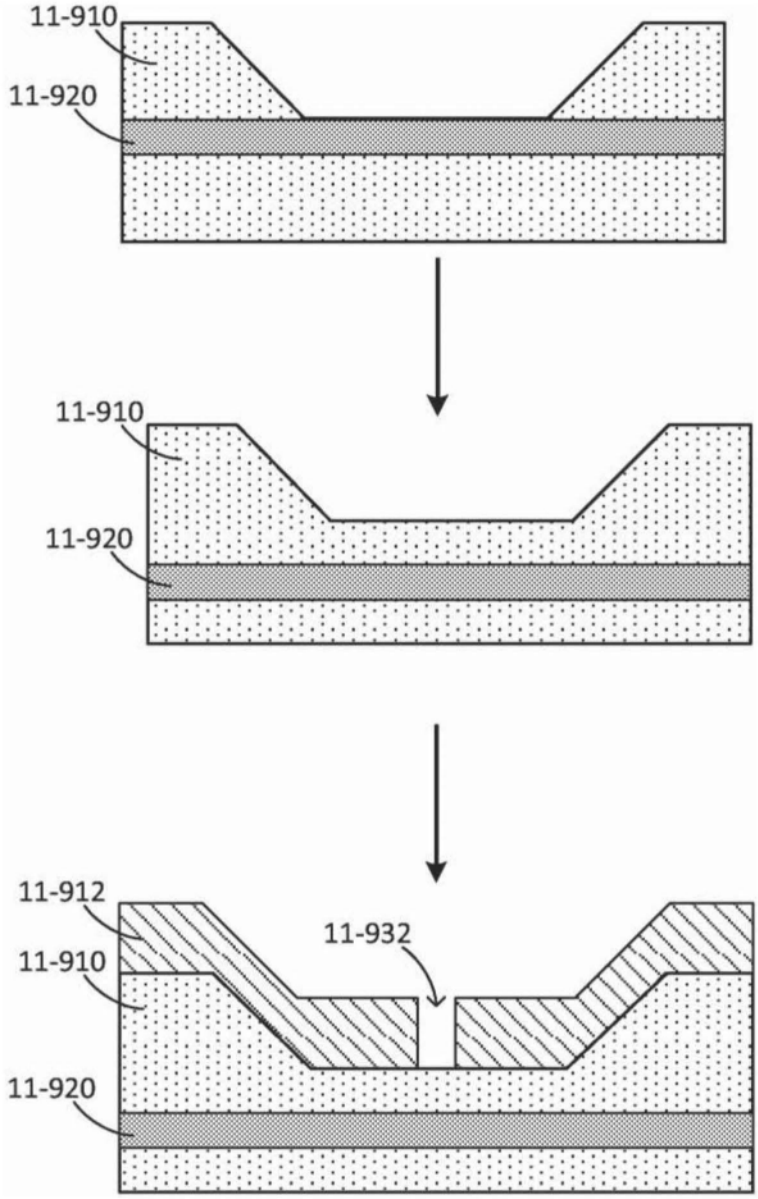


图11-6

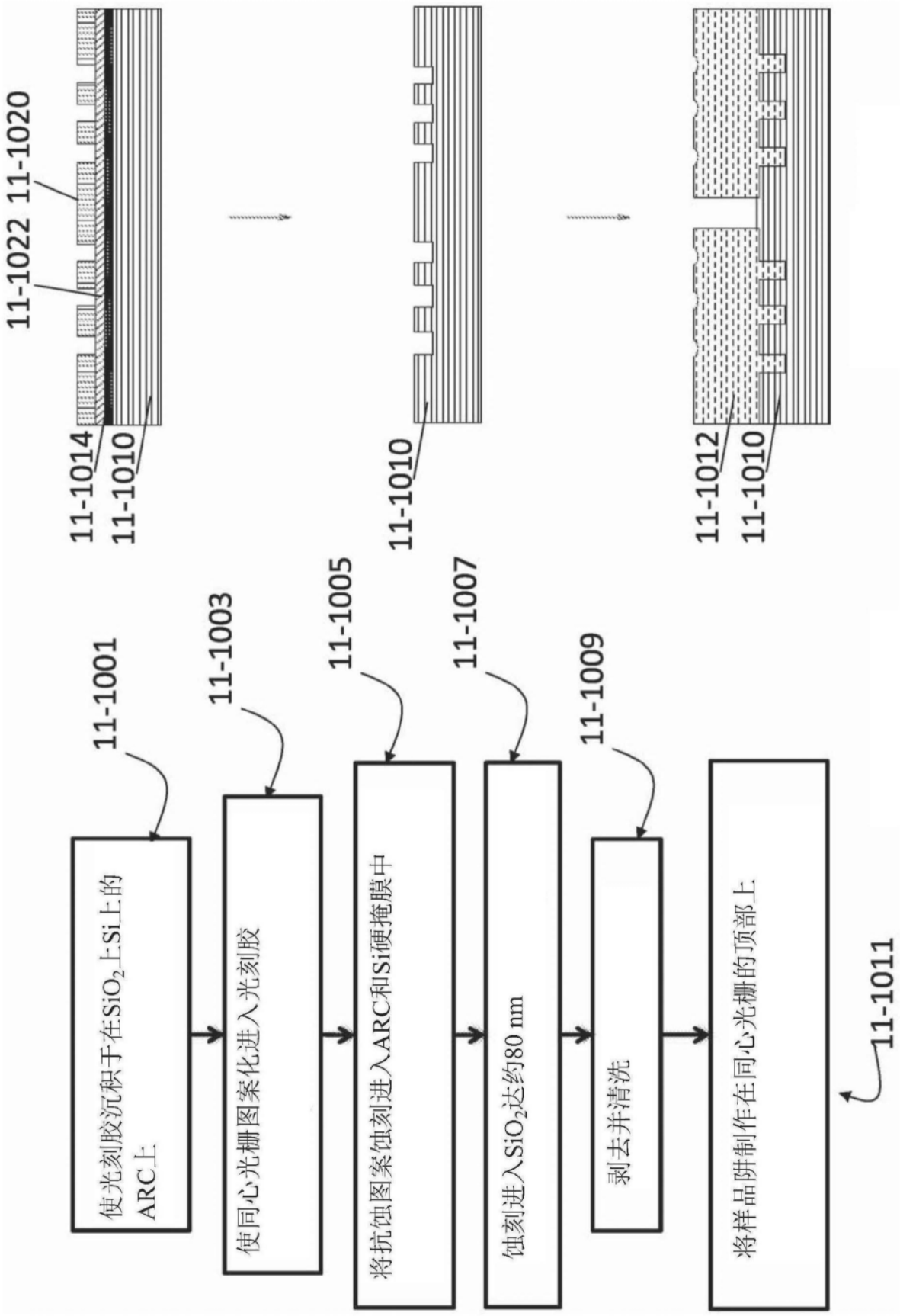

11-1022
11-1020
11-1014
11-1010
11-1010
11-1012
11-1010
11-1001
使光刻胶沉积于在SiO_2上Si上的ARC上
11-1003
使同心光栅图案化进入光刻胶
11-1005
将抗蚀图案蚀刻进入ARC和Si硬掩膜中
11-1007
蚀刻进入SiO_2达约80 nm
11-1009
剥去并清洗
将样品阱制作在同心光栅的顶部上
11-1011

图11-7

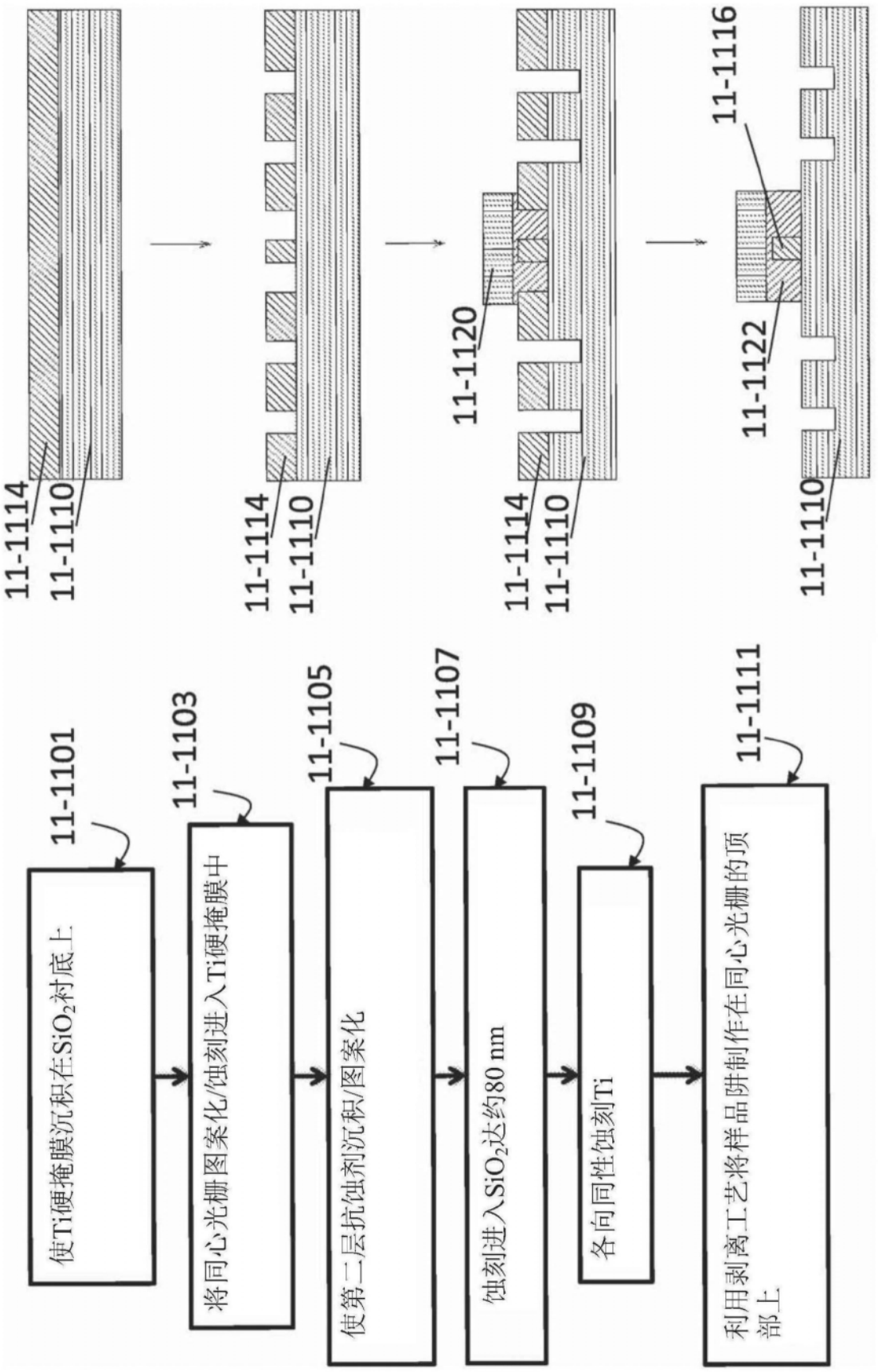

11-1114
11-1110
11-1114
11-1110
11-1120
11-1114
11-1110
11-1116
11-1122
11-1110
11-1101
使Ti硬掩膜沉积在SiO2衬底上
11-1103
将同心光栅图案化/蚀刻进入Ti硬掩膜中
11-1105
使第二层抗蚀剂沉积/图案化
11-1107
蚀刻进入SiO2达约80 nm
11-1109
各向同性蚀刻Ti
11-1111
利用剥离工艺将样品阱制作在同心光栅的顶部上

图11-8

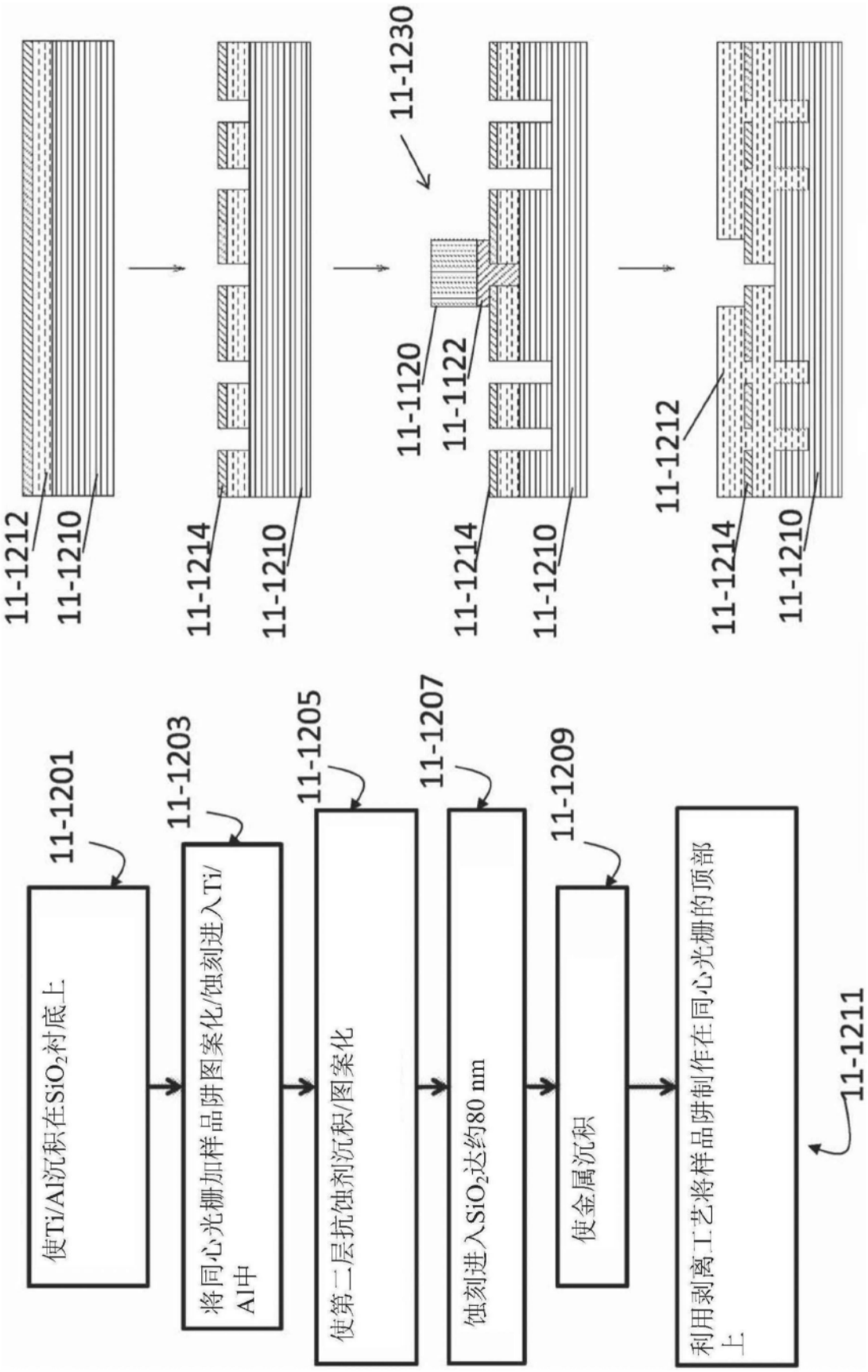

11-1212
11-1210
11-1214
11-1210
11-1230
11-1120
11-1122
11-1214
11-1210
11-1212
11-1214
11-1210
11-1201
使Ti/Al沉积在SiO2衬底上
11-1203
将同心光栅加样品阱图案化/蚀刻进入Ti/Al中
11-1205
使第二层抗蚀剂沉积/图案化
11-1207
蚀刻进入SiO2达约80 nm
11-1209
使金属沉积
11-1211
利用剥离工艺将样品阱制作在同心光栅的顶部上

图11-9

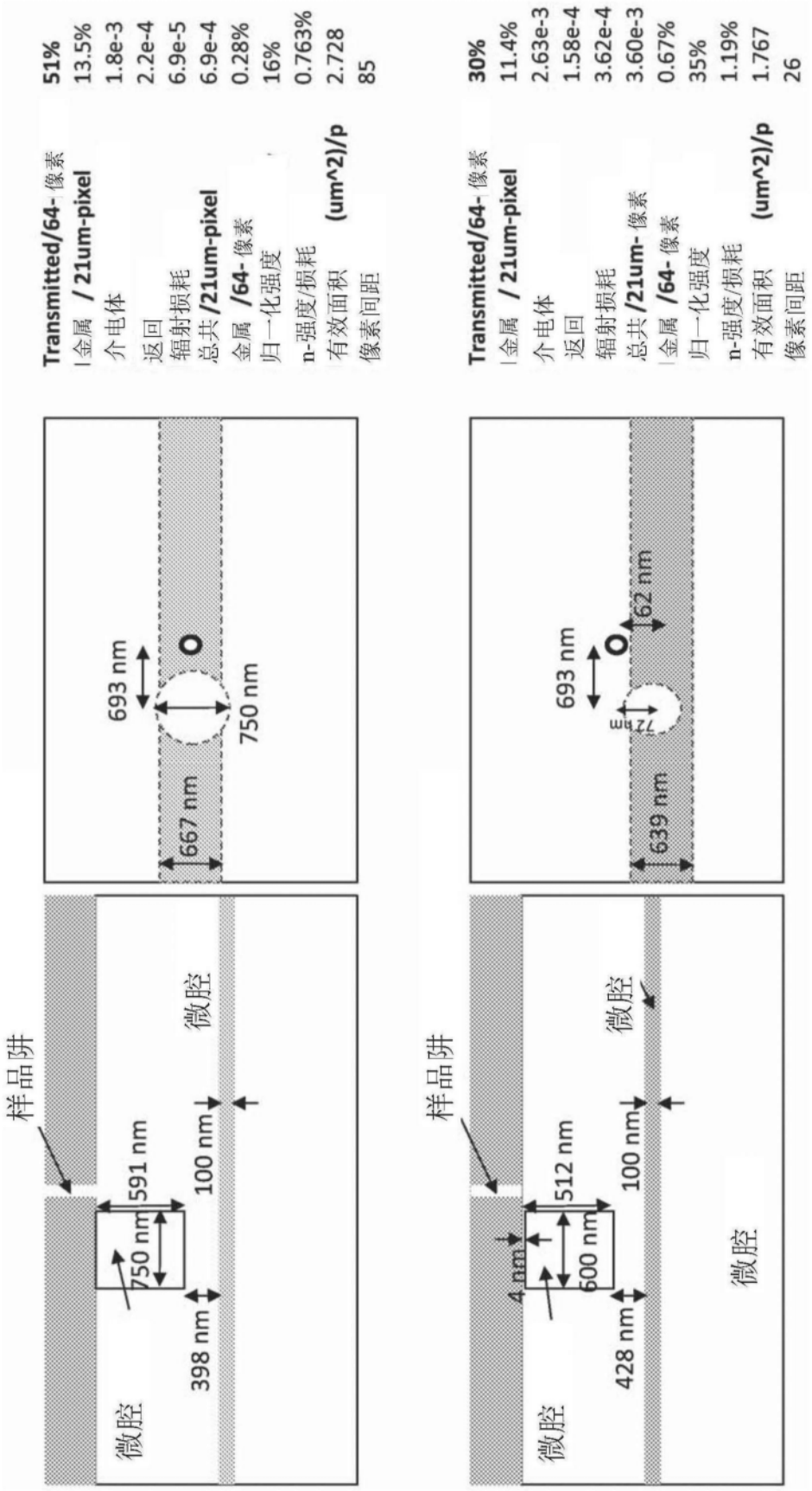

Transmitted/64-像素 51%
金属 / 21um-pixel 13.5%
介电体 1.8e-3
返回 2.2e-4
辐射损耗 6.9e-5
总共/21um-pixel 6.9e-4
金属 /64-像素 0.28%
归一化强度 16%
n-强度/损耗 0.763%
有效面积 (um^2)/p 2.728
像素间距 85
693 nm
667 nm
750 nm
样品弭
微腔
591 nm
750 nm
100 nm
398 nm
微腔
Transmitted/64-像素 30%
金属 / 21um-pixel 11.4%
介电体 2.63e-3
返回 1.58e-4
辐射损耗 3.62e-4
总共/21um-像素 3.60e-3
金属 /64-像素 0.67%
归一化强度 35%
n-强度/损耗 1.19%
有效面积 (um^2)/p 1.767
像素间距 26
693 nm
62 nm
639 nm
样品弭
微腔
512 nm
600 nm
100 nm
428 nm
微腔

图11-10

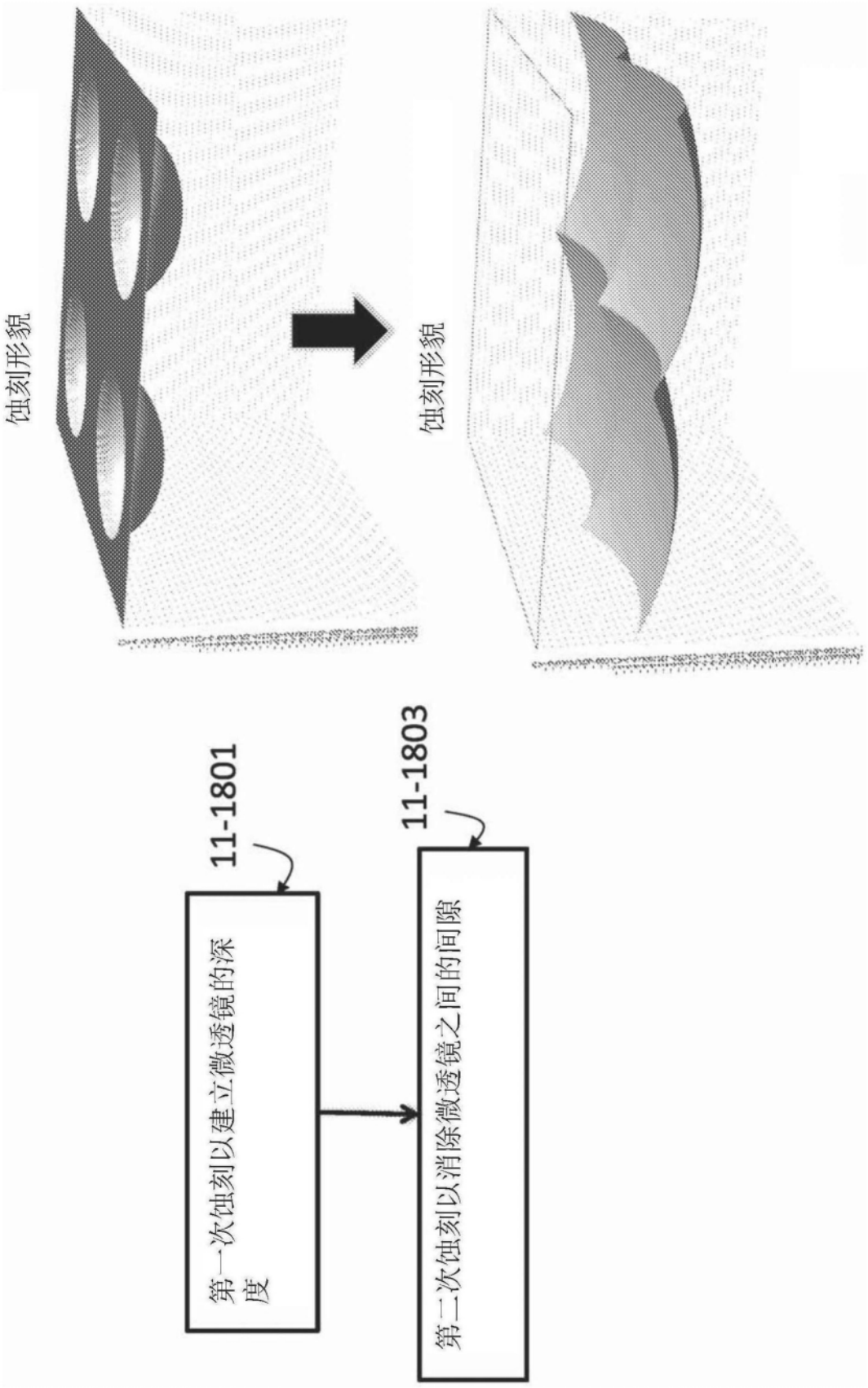

蚀刻形貌
蚀刻形貌
11-1801
第一次蚀刻以建立微透镜的深度
11-1803
第二次蚀刻以消除微透镜之间的间隙

图11-11

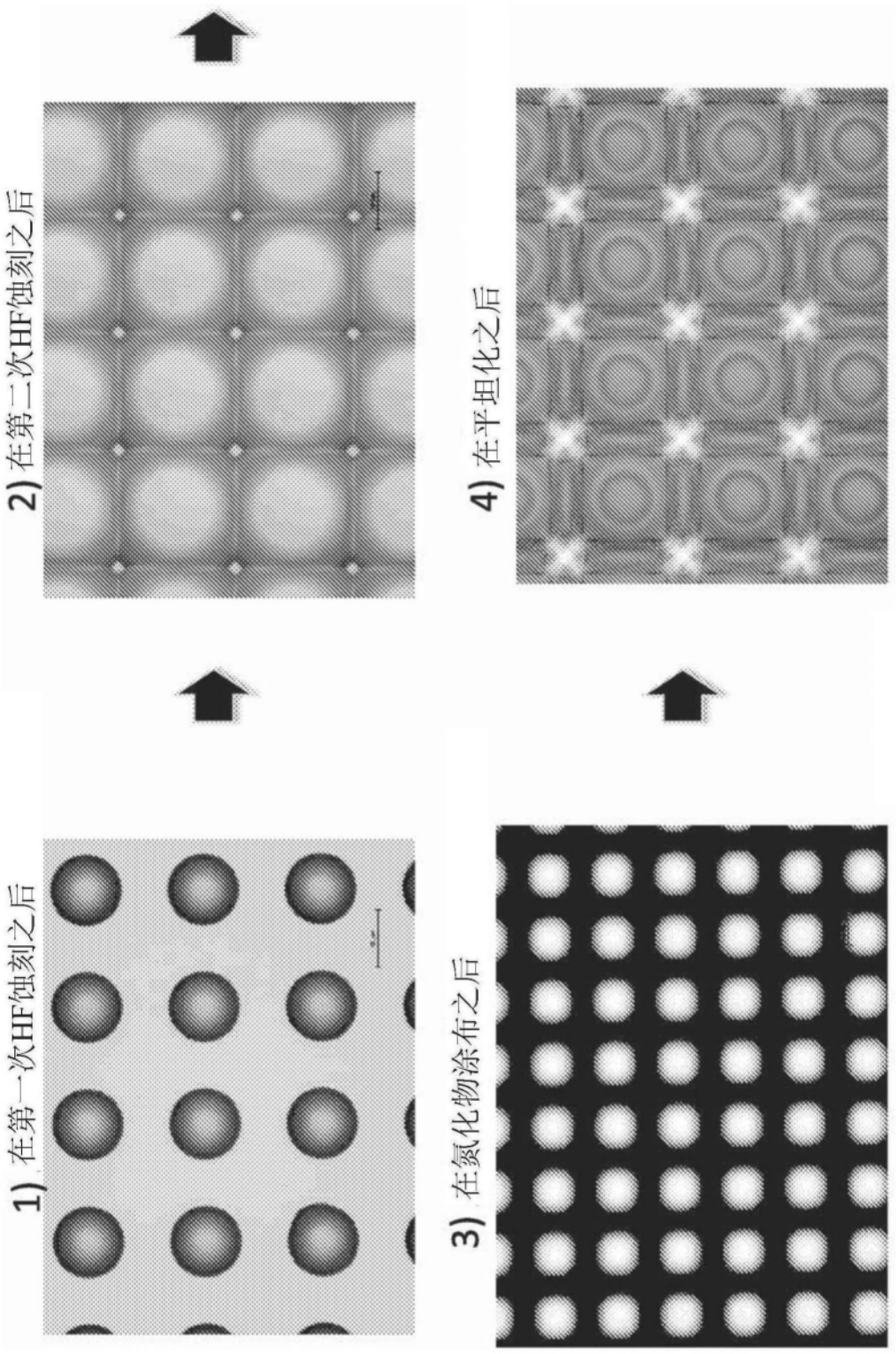


图11-12

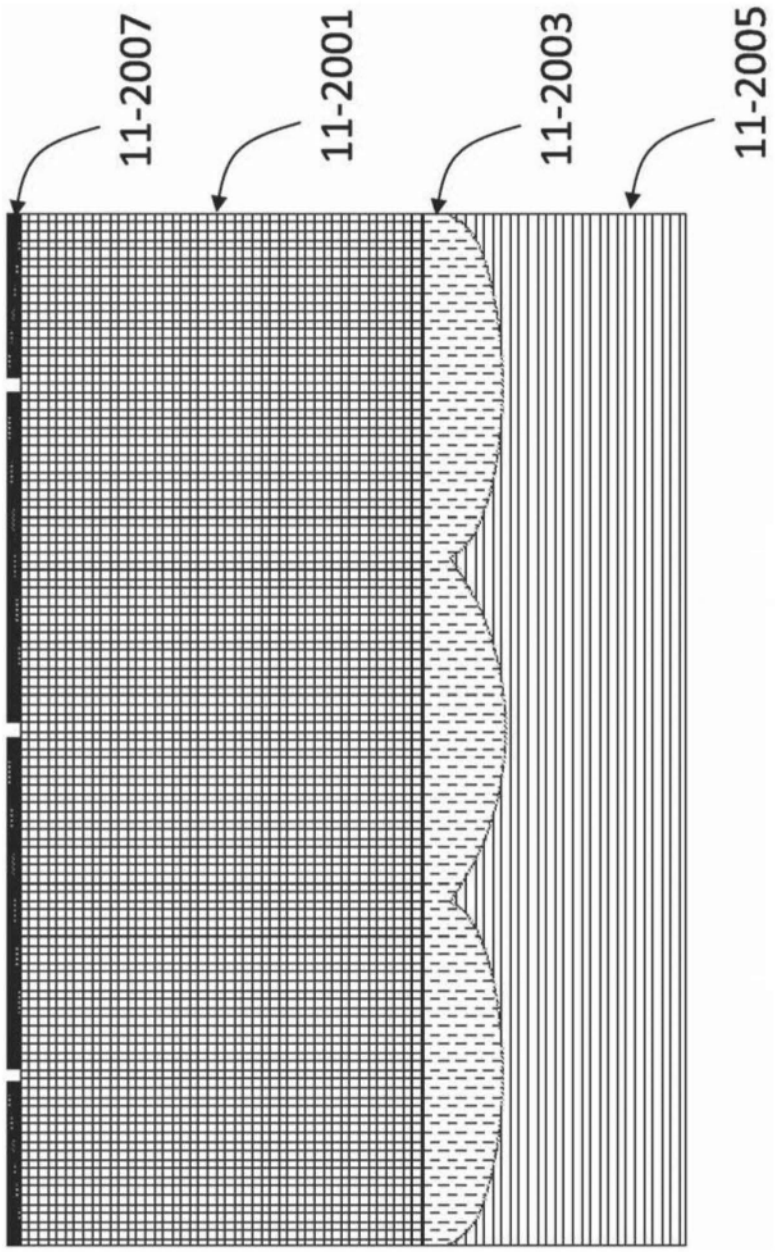


图11-13

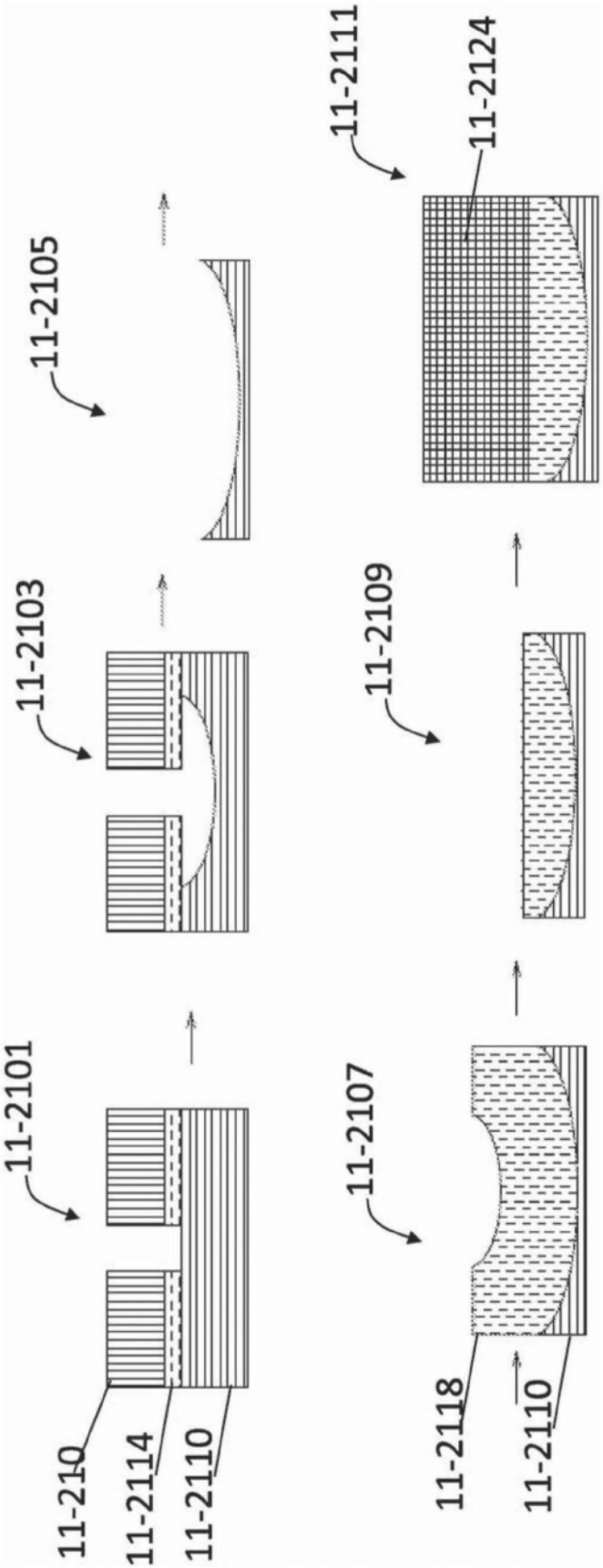

11-2111
11-2124
11-2105
11-2103
11-2109
11-2101
11-2107
11-210
11-2114
11-2110
11-2118
11-2110

图11-14

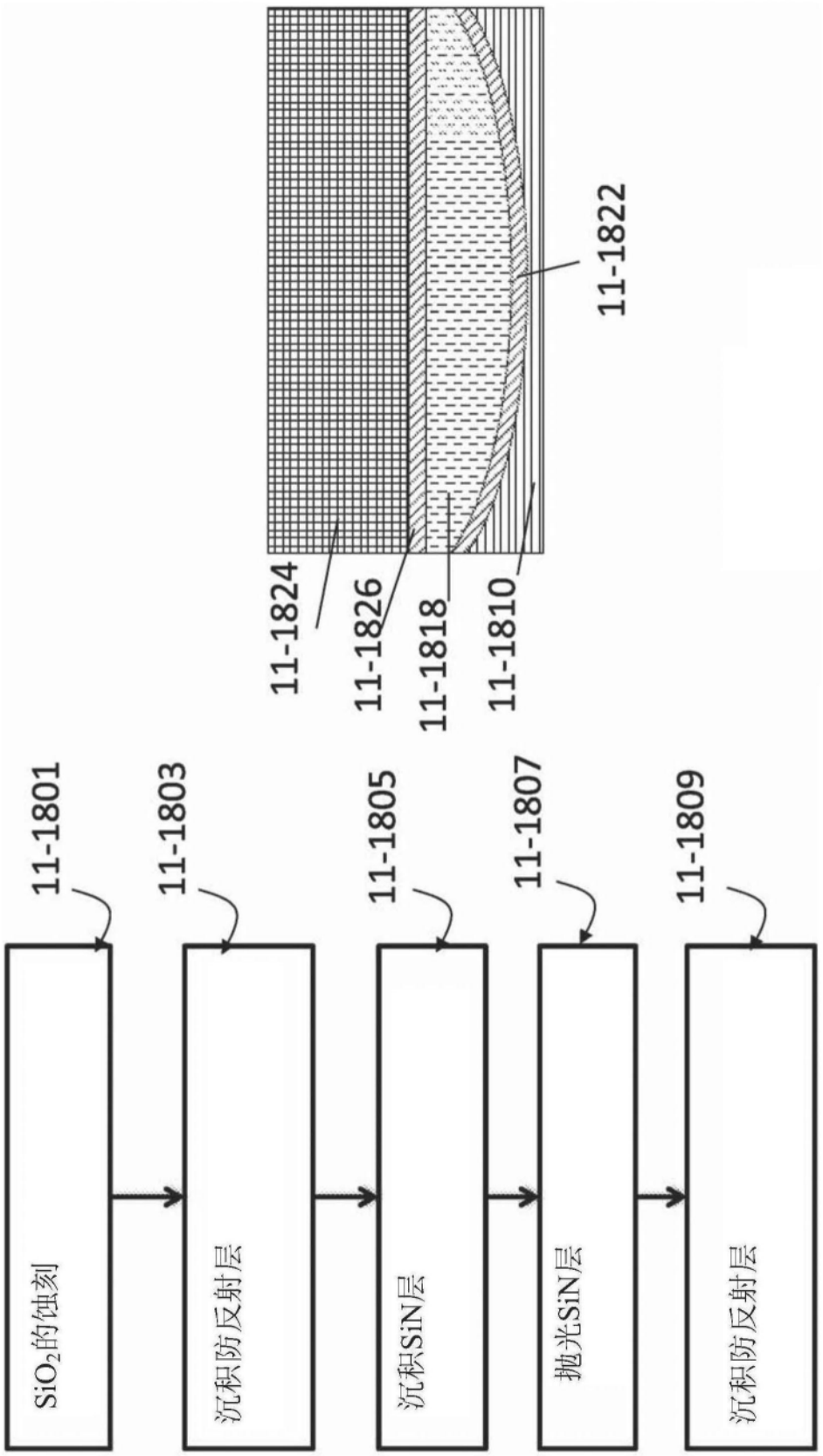

11-1822
11-1824
11-1826
11-1818
11-1810
11-1801
11-1803
11-1805
11-1807
11-1809
SiO_2的蚀刻
沉积防反射层
沉积SiN层
抛光SiN层
沉积防反射层

图11-15

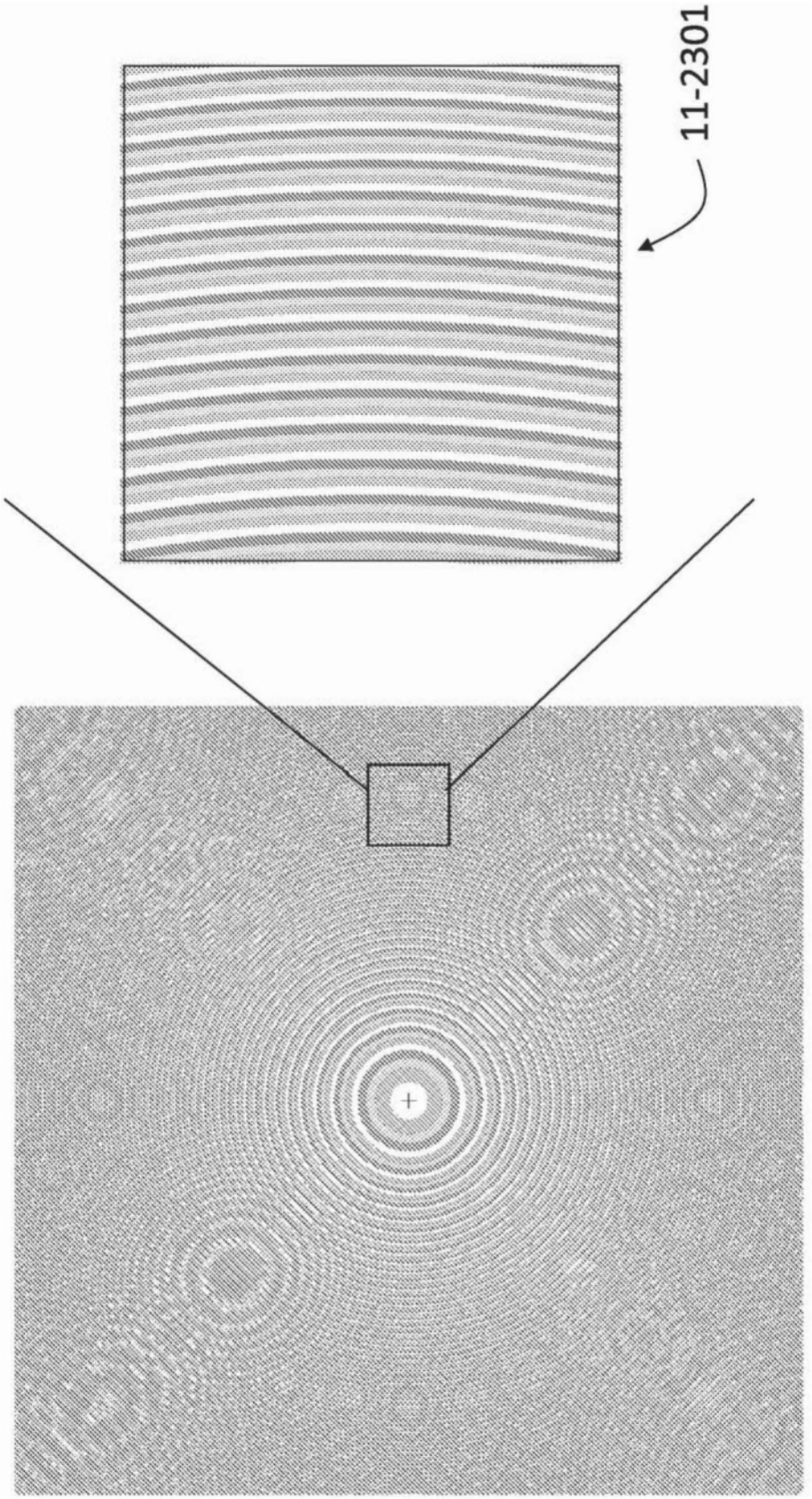


图11-16

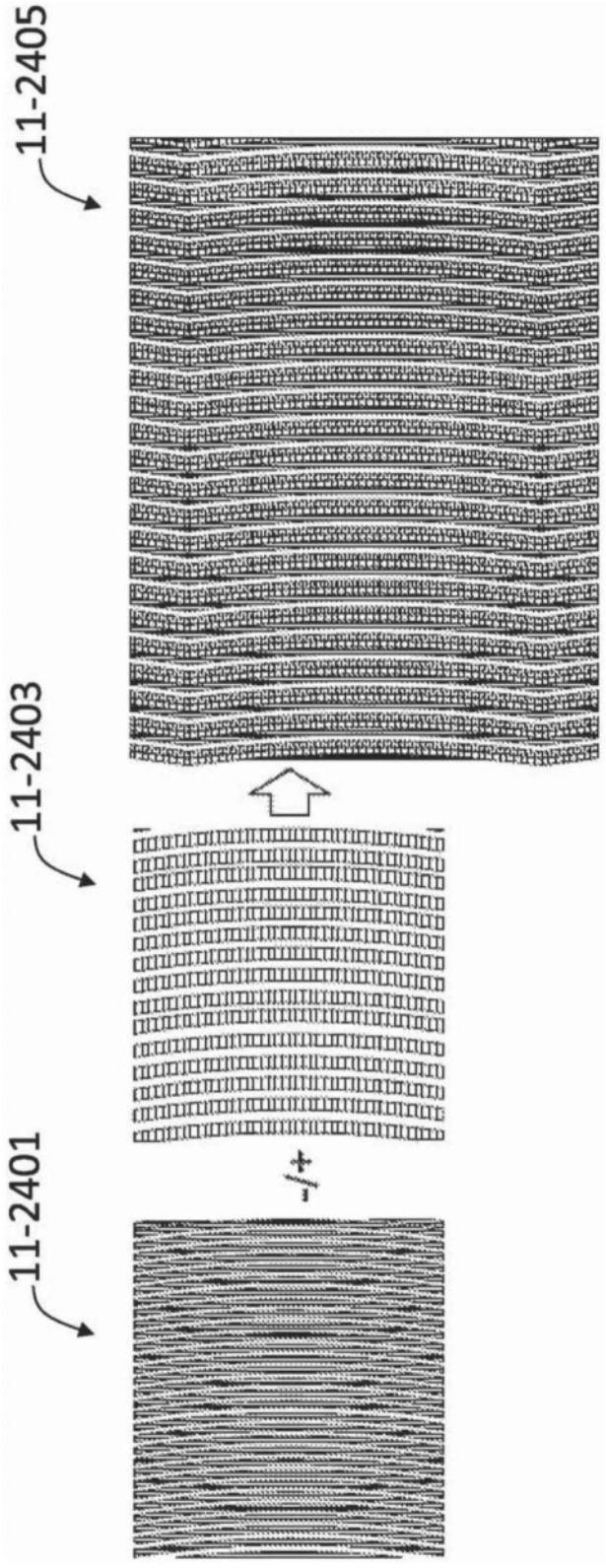


图11-17

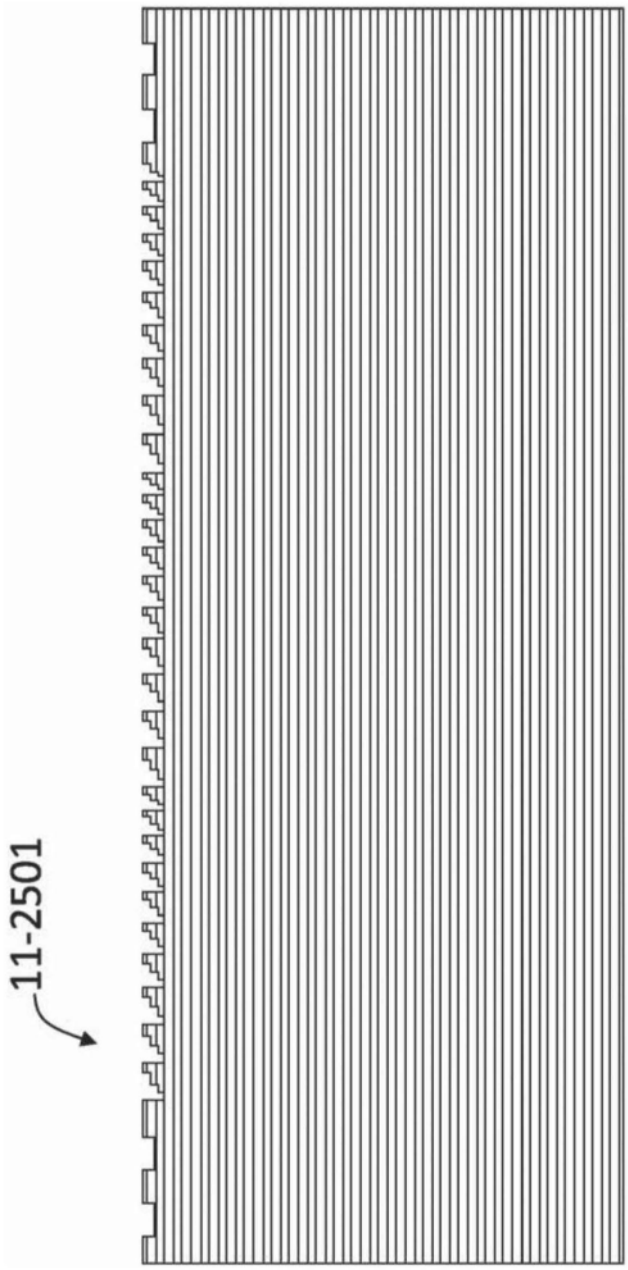


图11-18

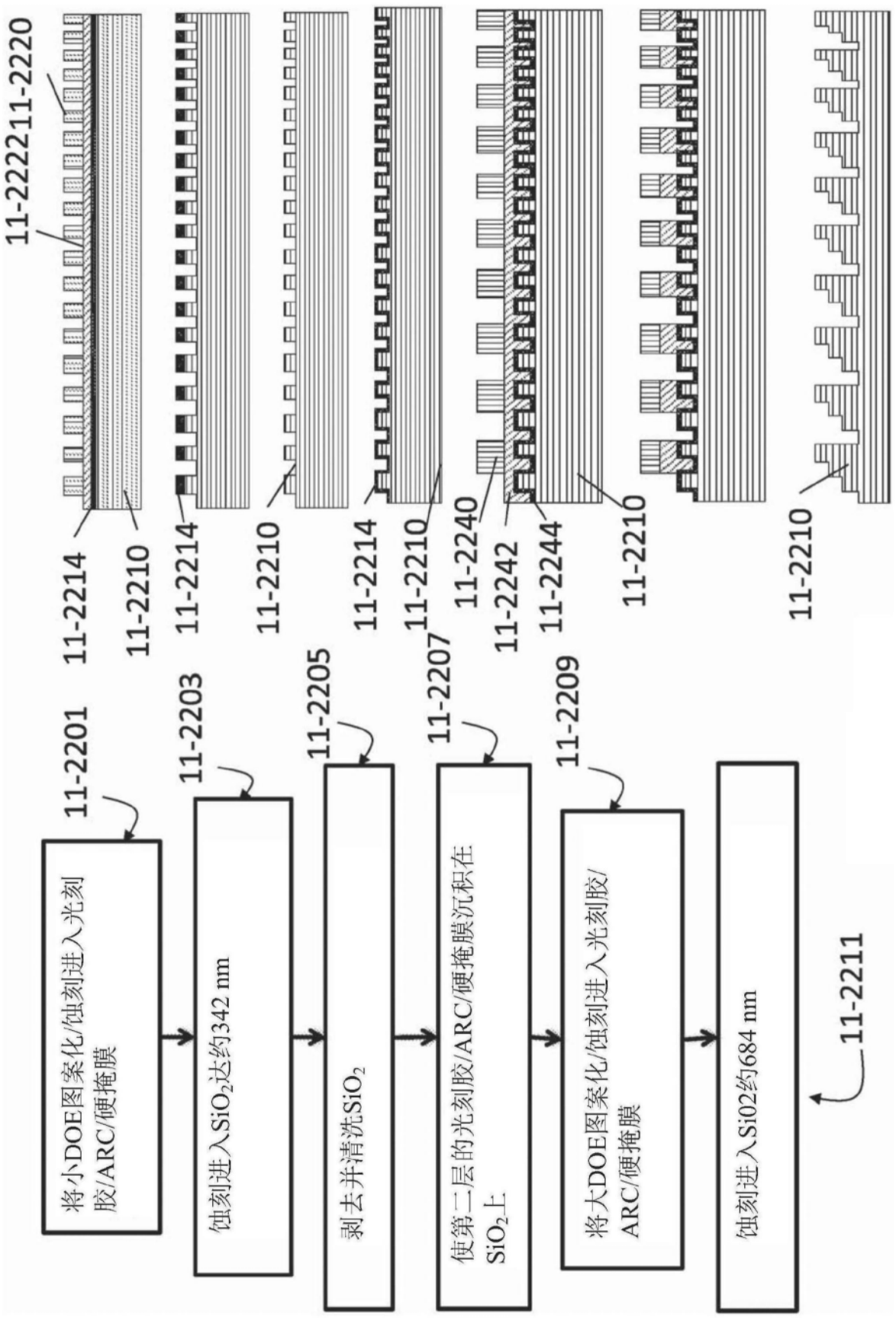

11-222211-2220
11-2214
11-2210
11-2214
11-2210
11-2214
11-2210
11-2240
11-2242
11-2244
11-2210
11-2210
11-2201
11-2203
11-2205
11-2207
11-2209
将小DOE图案化/蚀刻进入光刻胶/ARC/硬掩膜
蚀刻进入SiO_2达约342 nm
剥去并清洗SiO_2
使第二层的光刻胶/ARC/硬掩膜沉积在SiO_2上
将大DOE图案化/蚀刻进入光刻胶/ARC/硬掩膜
蚀刻进入Si02约684 nm
11-2211

图11-19

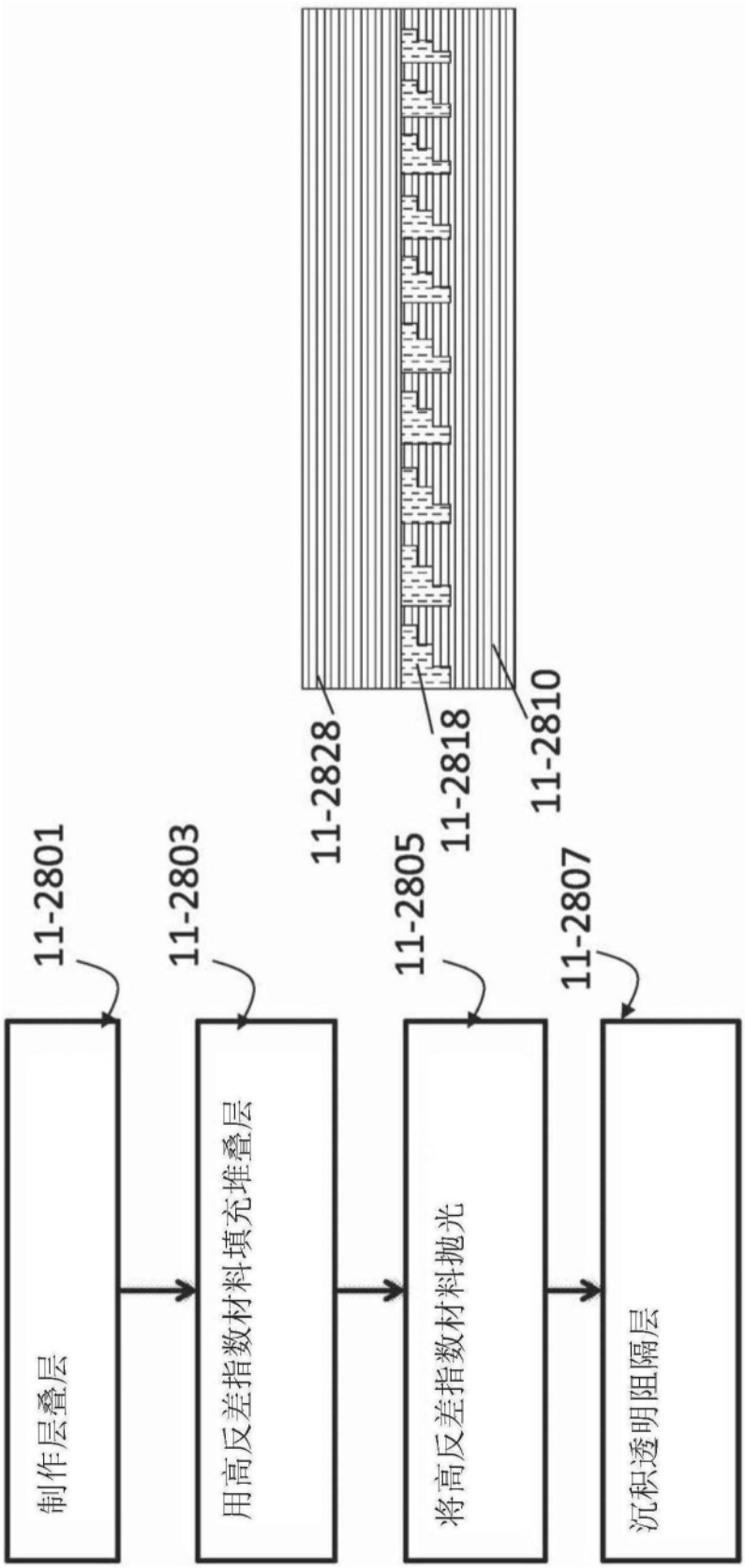

11-2801
制作层叠层
11-2803
用高反差指数材料填充堆叠层
11-2805
将高反差指数材料抛光
11-2807
沉积透明阻隔层
11-2828
11-2818
11-2810

图11-20

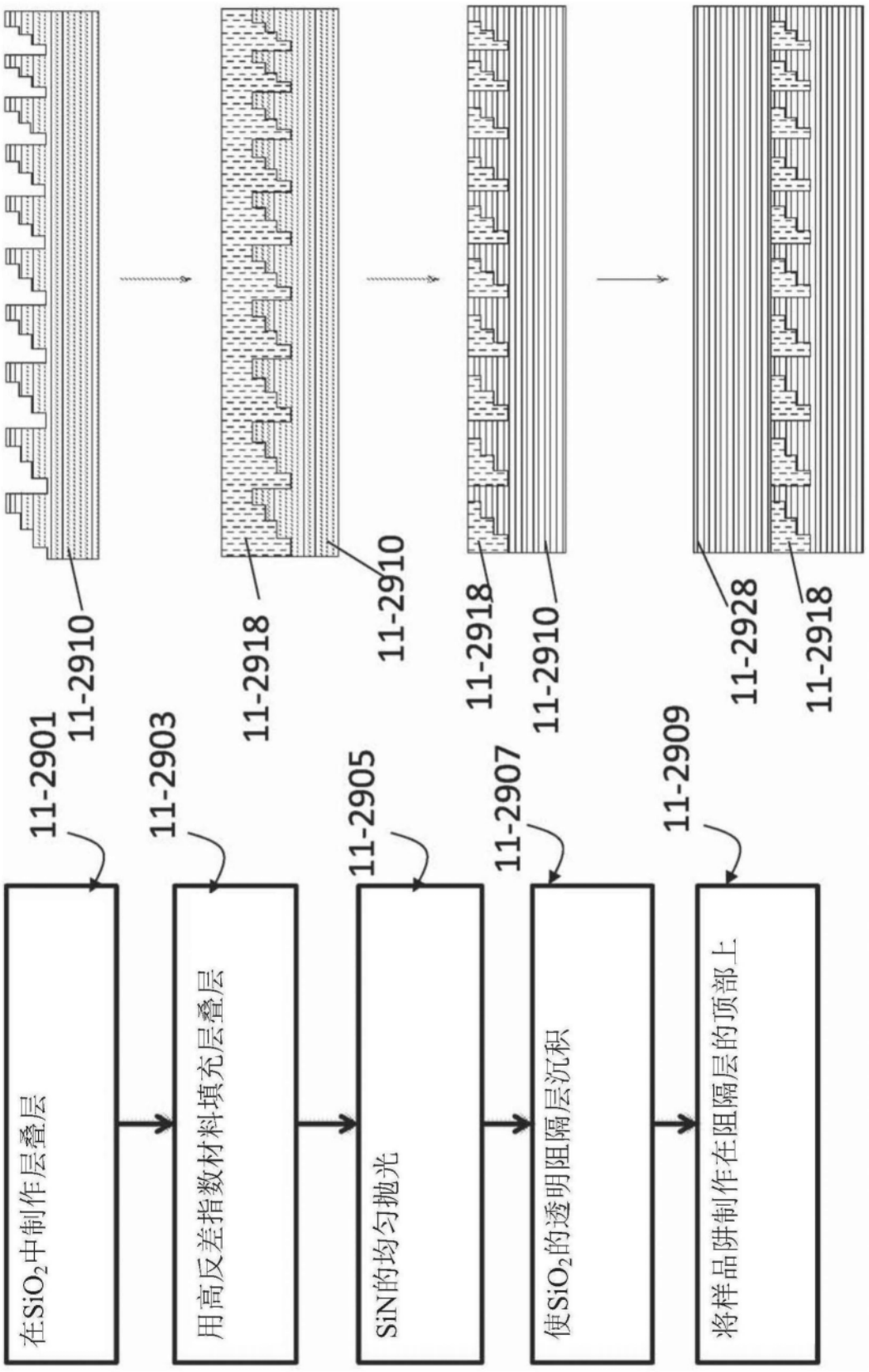

在SiO2中制作层叠层
用高反差指数材料填充层叠层
SiN的均匀抛光
使SiO2的透明阻隔层沉积
将样品饼制作在阻隔层的顶部上
11-2901
11-2903
11-2905
11-2907
11-2909
11-2910
11-2918
11-2910
11-2918
11-2910
11-2928
11-2918

图11-21

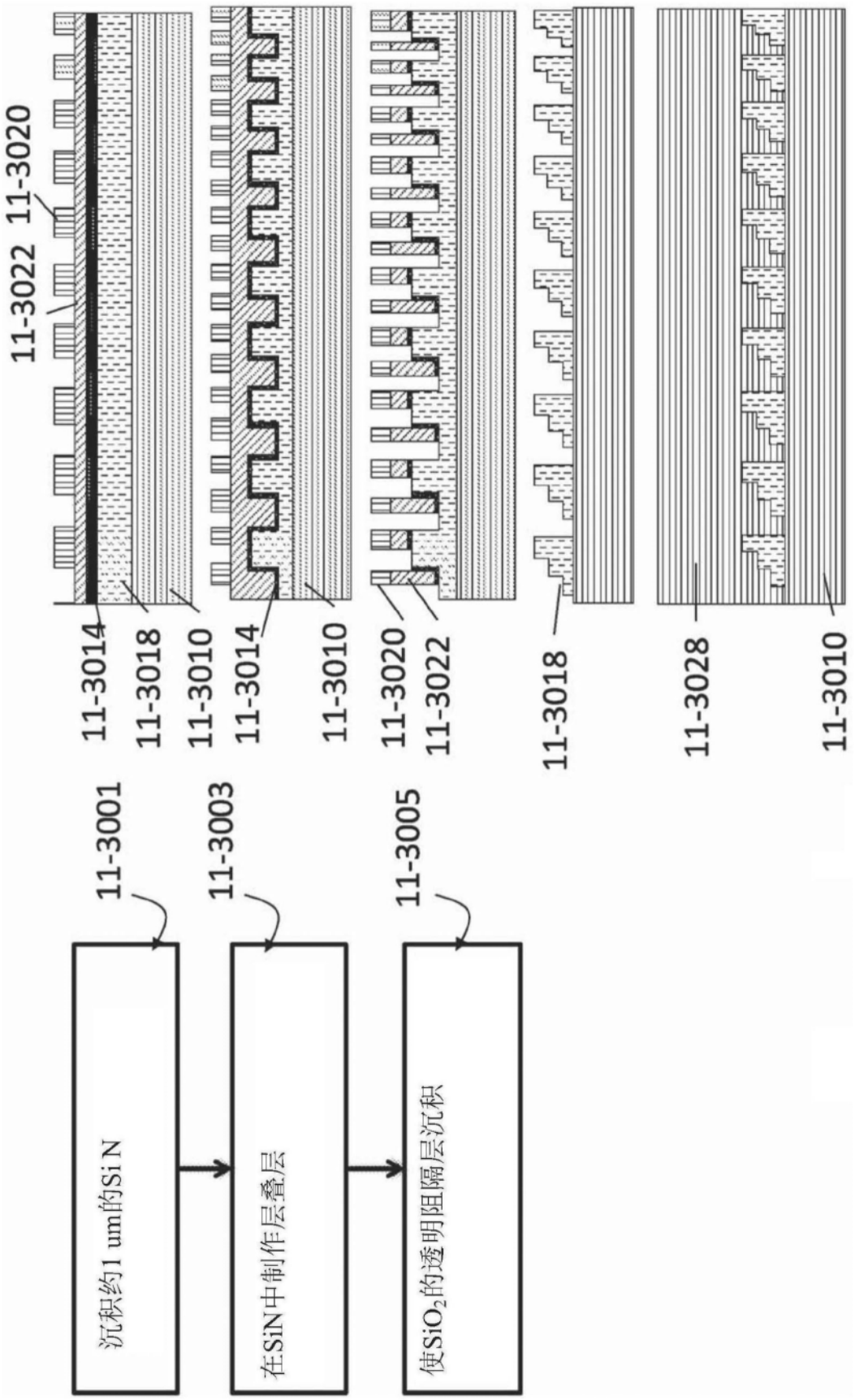

11-3022
11-3020
11-3014
11-3018
11-3010
11-3014
11-3010
11-3020
11-3022
11-3018
11-3028
11-3010
11-3001
11-3003
11-3005
沉积约1 um的Si N
在SiN中制作层叠层
使SiO2的透明阻隔层沉积

图11-22