(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-136063
(P2017-136063A)
(43)公開日　平成29年8月10日(2017.8.10)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12M 1/00	***(2006.01)***	C12M	1/00	ZNAA	4B029
G01N 33/53	***(2006.01)***	G01N	33/53	M	4B063
G01N 37/00	***(2006.01)***	G01N	37/00	102	
C12Q 1/68	*(2006.01)*	C12Q	1/68	A	
C12N 15/09	*(2006.01)*	C12N	15/00	A	

審査請求 有　請求項の数 9　ＯＬ　外国語出願　（全 201 頁）

(21)出願番号　特願2017-17569(P2017-17569)
(22)出願日　平成29年2月2日(2017.2.2)
(62)分割の表示　特願2014-250922(P2014-250922)の分割
原出願日　平成21年6月25日(2009.6.25)
(31)優先権主張番号　0811657.6
(32)優先日　平成20年6月25日(2008.6.25)
(33)優先権主張国　英国(GB)
(31)優先権主張番号　0811656.8
(32)優先日　平成20年6月25日(2008.6.25)
(33)優先権主張国　英国(GB)

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＶＩＳＵＡＬ　ＢＡＳＩＣ

(71)出願人　502221282
ライフ　テクノロジーズ　コーポレーション
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９２００８，　カールズバッド，　ニュートン　ドライブ　５８２３
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司
(72)発明者　ロスバーグ，ジョナサン，エム．
アメリカ合衆国　コネティカット州　０６４３７、ギルフォード、ムース　ヒル　ロード　１７０１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】大規模なＦＥＴアレイを用いて分析物を測定するための方法および装置

(57)【要約】　（修正有）
【課題】分析物測定のための非常に大規模なＦＥＴアレイに関連する装置の提供。
【解決手段】半導体基板に形成された、化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイ（ここで、ｃｈｅｍＦＥＴアレイが、反応チャンバーの重ねられたアレイを有し；各反応チャンバーが、少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴと接触しているか、または容量的にそれにカップリングされており；ｃｈｅｍＦＥＴが各々、ゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を持つフローティングゲートを有するため、アレイのｃｈｅｍＦＥＴが、アレイ全体で認識可能な変動を引き起こさない出力レベルを有する）と、試薬の流体を受け取り、反応チャンバーのアレイをそれに曝露するように構成および配置されたフローセル部材とを含む、装置。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに前記複数の反応チャンバーの各々は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または、容量的にそれにカップリングしており、およびここに、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合しており、
１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
前記反応チャンバー中の認識可能なｐＨ変化が無い、前記少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおける電気的パラメータの変化によって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。
【請求項２】
複数の鋳型核酸を反応チャンバー中に配置し、ここに、前記複数の鋳型核酸は単一のビーズに付着しており、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、ポリメラーゼに結合しており、および前記反応チャンバー中は化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているかまたは容量的にそれにカップリングしており、
１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
前記ｃｈｅｍＦＥＴにおける第一および第二の電気パルスの検出によって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することことを含む、核酸を配列決定する方法。
【請求項３】
複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに前記複数の反応チャンバーの各々は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または、容量的にそれにカップリングしており、およびここに、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合しており、
１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
放出された無機ピロホスフェートおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出することによって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。
放出された無機ピロホスフェートを非酵素的に検出することによって前記既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出すること
【請求項４】
前記検出工程が前記反応チャンバー中の認識可能なｐＨ変化の不存在下で起こる請求項３記載の方法。
【請求項５】
複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに前記複数の反応チャンバーの各々は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または、容量的にそれにカップリングしており、およびここに、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合しており、
１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
放出された無機ピロホスフェートおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出することによって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項６】
放出された無機ピロホスフェートがt_0において検出され、取り込まれていないヌクレオチド三リン酸が異なる時間、時間t_1において検出され、さらに、時間差t_1-t_0から、取り込まれた既知のヌクレオチド三リン酸の数を決定することを含む、請求項５記載の方法。
【請求項７】
鋳型核酸を配列決定プライマーおよびポリメラーゼと、鋳型／プライマーハイブリッドを形成するために前記鋳型核酸を前記配列決定プライマーに結合させ、および前記ポリメラーゼを前記鋳型／プライマーハイブリッドに結合させるのに十分な時間および条件で接触させ、
ヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
放出された無機ピロホスフェートおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出することによって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。
【請求項８】
さらに、時間t_0において放出された無機ピロホスフェートを検出し、時間t_1において取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出し、時間差t_1-t_0から、取り込まれていない既知のヌクレオチド三リン酸の数を決定することを含む、請求項７記載の方法。
【請求項９】
鋳型核酸を配列決定プライマーおよびポリメラーゼと、鋳型／プライマーハイブリッドを形成するために前記鋳型核酸を前記配列決定プライマーに結合させ、および前記ポリメラーゼを前記鋳型／プライマーハイブリッドに結合させるのに十分な時間および条件で接触させ、
低イオン強度環境において、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、
ｃｈｅｍＦＥＴでの１以上の対応するイオンパルスの検出により、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取り込みを検出することことを含む、核酸を配列決定する方法。
【請求項１０】
前記低イオン強度環境が１ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む、請求項９記載の方法。
【請求項１１】
前記低イオン強度環境が０．５ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む、請求項９記載の方法。
【請求項１２】
前記低イオン強度環境が１００μＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む、請求項９記載の方法。
【請求項１３】
ｃｈｅｍＦＥＴと接触しているかまたは容量的にそれにカップリングされた溶液中でヌクレオチド三リン酸、鋳型／プライマーハイブリッドおよびポリメラーゼを合わせ、前記ｃｈｅｍＦＥＴにおける電気パルスを検出することを含み、ここに、第一および第二のパルスの検出が、ヌクレオチド三リン酸の取り込みを示し、およびここに、第二のパルスではなく、第一のパルスの検出はヌクレオチド三リン酸の取り込みの欠如を示すことを特徴とする、ヌクレオチド三リン酸の新しく合成された核酸への取り込みを決定する方法。
【請求項１４】
ｃｈｅｍＦＥＴと接触しているかまたは容量的にそれにカップリングされた溶液中でヌクレオチド三リン酸、鋳型／プライマーハイブリッドおよびポリメラーゼを合わせ、
前記ｃｈｅｍＦＥＴの不動態化層における結合事象とは独立した前記ｃｈｅｍＦＥＴにおいて電気パルス／ピークを検出することを含み、

ここに、第一および第二のパルスの検出が、ヌクレオチド三リン酸の取り込みを示し、およびここに、第二のパルスではなく、第一のパルスの検出はヌクレオチド三リン酸の取り込みの欠如を示すことを特徴とする、ヌクレオチド三リン酸の新しく合成された核酸への取り込みを決定する方法。

【請求項１５】

ｃｈｅｍＦＥＴと接触しているかまたは容量的にそれにカップリングされた溶液中でヌクレオチド三リン酸、鋳型／プライマーハイブリッドおよびポリメラーゼを合わせ、

前記ｃｈｅｍＦＥＴの前記不動態化層における結合事象から独立した前記ｃｈｅｍＦＥＴにおいて電気パルス／ピークを検出することを含み、

ここに、第一および第二のパルスの検出は、少なくとも１つのヌクレオチド三リン酸の取り込みを示す、

ヌクレオチド三リン酸の新しく合成された核酸への取り込みを決定する方法。

【請求項１６】

前記第一のパルスが時間t_0で起こり、および前記第二のパルスが時間t_1で起こり、およびt_1-t_0は取り込まれたヌクレオチド三リン酸の数を示す、請求項１３、１４または１５記載の方法。

【請求項１７】

前記ヌクレオチド三リン酸が既知である請求項１３、１４または１５記載の方法。

【請求項１８】

前記ヌクレオチド三リン酸が複数の同一のヌクレオチド三リン酸であり、前記鋳型／プライマーハイブリッドが複数の鋳型／プライマーハイブリッドであり、および前記ポリメラーゼが複数のポリメラーゼである、請求項１３、１４または１５記載の方法。

【請求項１９】

複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、前記複数の反応チャンバーの各々はｃｈｅｍＦＥＴのアレイ中の化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または容量的にそれにカップリングしており、反応チャンバー当たり少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを残し、およびここに、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、ポリメラーゼに結合しており、

１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、

高さh_0を有する時間t_0において第一のパルス、および高さh_1を有する時間t_1において第二のパルスを前記少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて検出することにより、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出し、ここに、h_0およびh_1は、各々、ベースラインを超える少なくとも約５ｍＶであって、t_1-t_0は１０～５０ミリ秒であることを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項２０】

複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合しており、およびここに、前記複数の反応チャンバーの各々は、各反応チャンバーのための少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴのアレイ中の化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しおり、または容量的にそれにカップリングしており、

１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、

前記アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二の電圧パルスを検出することによって前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出し、

ここに前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイは少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含むことを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項２１】

複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一の

ビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合し、およびここに、前記複数の反応チャンバーの各々は、各反応チャンバーのための少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むアレイ中の化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または容量的にそれにカップリングしており、

複数の既知の同一のヌクレオチド三リン酸を各反応チャンバーに導入することによって新しい核酸ストランドの合成を開始し、

１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、

前記アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二のパルスを検出することによって前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項２２】

各反応チャンバーが、複数の既知の三リン酸を各反応チャンバーに導入することに先立ってアデノシン三リン酸を含む、請求項２１記載の方法。

【請求項２３】

（ａ）複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、ポリメラーゼに結合しており、および各反応チャンバーは少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または容量的にそれにカップリングしており、

（ｂ）複数の既知の同一のヌクレオチド三リン酸を各反応チャンバーに導入し、

（ｃ）もし前記鋳型核酸における対応するヌクレオチドに相補的であれば、１以上のヌクレオチド三リン酸の前記配列決定プライマーの３’末端において順次の取込みを検出し、

（ｄ）前記反応チャンバーからの取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を洗浄し、

（ｅ）異なる複数の既知のヌクレオチド三リン酸を用いて前記同一反応チャンバーにおいて工程（ｂ）～（ｄ）を反復することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項２４】

１以上のヌクレオチド三リン酸の前記順次の取込みが前記ｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二のパルスによって検出される、請求項第２３記載の方法。

【請求項２５】

（ｅ）が、各々異なる複数の既知のヌクレオチド三リン酸を各反応チャンバーに別々に導入することによって工程（ｂ）～（ｄ）を反復することを含む、請求項２３または２４記載の方法。

【請求項２６】

複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、ポリメラーゼに結合しており、およびここに、前記複数の反応チャンバーの各々は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しており、または容量的にそれにカップリングしており、

二価カチオンを各反応チャンバーに導入することによって、新しい核酸ストランドの合成を開始し、

１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、

前記アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二の電気パルスを検出することによって前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項２７】

前記二価カチオンがMg^{2+}またはMn^{2+}である請求項２６記載の方法。
【請求項２８】
前記二価カチオンが１ｍＭ未満の濃度におけるものである請求項２６または２７記載の方法。
【請求項２９】
前記二価カチオンが１００μＭ未満の濃度におけるものである請求項２６または２７記載の方法。
【請求項３０】
前記二価カチオンが約５０μＭの濃度におけるものである請求項２６または２７記載の方法。
【請求項３１】
複数の同一の鋳型核酸を反応チャンバー中に配置し、ここに、前記反応チャンバーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているかまたは容量的にそれにカップリングしており、およびここに、前記鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし、ポリメラーゼに結合しており、
１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、前記配列決定プライマーの３’末端に取り込み、
前記ｃｈｅｍＦＥＴにおける電気パルスによって、前記１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出し、
ここに１０～１０００ヌクレオチド三リン酸の取込みが検出されることを含む、核酸を配列決定する方法。
【請求項３２】
２５０～７５０のヌクレオチド三リン酸の取込みが検出される、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項３３】
前記反応チャンバーが複数のパッキングビーズを含む、請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項３４】
前記検出工程が複数のパッキングビーズの存在下で起こる、請求項７、９、１３、１４または１５記載の方法。
【請求項３５】
前記反応チャンバーが可溶性非核酸ポリマーを含む、請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項３６】
前記可溶性非核酸ポリマーがポリエチレングリコールである請求項３５記載の方法。
【請求項３７】
前記検出工程が可溶性非核酸ポリマーの存在下で起こる、請求項７、８、１３、１４または１５記載の方法。
【請求項３８】
前記可溶性非核酸ポリマーがポリエチレングリコールである請求項３７記載の方法。
【請求項３９】
前記単一ビーズがポリエチレングリコールに付着している、請求項２、２０、２１、２３または２６記載の方法。
【請求項４０】
前記ポリエチレングリコールがビオチニル化ポリエチレングリコールである請求項３９記載の方法。
【請求項４１】
前記方法が約７～９のｐＨで行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４２】

前記方法が約８．５～９．５のｐＨで行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４３】
前記方法が約９のｐＨで行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４４】
前記合成および／または検出工程が弱い緩衝液中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４５】
前記弱い緩衝液が、緩衝剤としてのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、ホウ酸、ホウ酸塩緩衝液、モルホリン、酢酸塩、クエン酸、炭酸またはリン酸を含む請求項４４記載の方法。
【請求項４６】
前記合成および／または検出工程が１ｍＭ未満のＴｒｉｓ－ＨＣｌまたはホウ酸塩緩衝液中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４７】
前記合成および／または検出工程が、約１ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．９ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．８ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．７ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．６ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．５ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．４ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、約０．３ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液、または約０．２ｍＭのＴｒｉｓ－Ｈｃｌまたはホウ酸塩緩衝液中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４８】
前記合成および／または検出工程が約０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌまたはホウ酸塩緩衝液中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項４９】
前記検出工程が検出可能なｐＨ変化の不存在下で起こる、請求項２、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５０】
前記ｃｈｅｍＦＥＴが比較的ｐＨ非感受性である、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５１】
前記合成および／または検出工程が約０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌまたはホウ酸塩緩衝液中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５２】
前記合成および／または検出工程が低イオン強度環境で行われる、請求項１、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５３】
前記合成および／または検出工程が、１ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む低イオン強度環境で行われる、請求項１、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５４】
前記合成および／または検出工程が、１ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む低イオン強度環境で行われる、請求項０．５、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。
【請求項５５】

前記合成および／または検出工程が、１００μＭ未満のＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$を含む低イオン強度環境で行われる、請求項１、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項５６】

前記合成および／または検出工程が、１ｍＭ未満のＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$を含む低イオン強度環境で行われる、請求項０.５、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項５７】

前記合成および／または検出工程が約１００μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、約７５μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、約５０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、約４０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、約３０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、約２０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$、または約１０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$またはＭｎＣｌ$_2$を含む低イオン強度環境において行われる、請求項１、２、３、５、７、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項５８】

前記合成および／または検出工程が約０．５ｍＭ　ＴＲＩＳおよび約５０μＭ　ＭｇＣｌ$_2$中で行われる、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項５９】

前記ヌクレオチド三リン酸がブロックされていない、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６０】

前記ヌクレオチド三リン酸がデオキシヌクレオチド三リン酸（ｄＮＴＰ）である、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６１】

前記ｃｈｅｍＦＥＴが窒化ケイ素不動態化層を含む、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６２】

前記ｃｈｅｍＦＥＴが無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）受容体に付着した不動態化層を含む、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６３】

各反応チャンバーが単一のｃｈｅｍＦＥＴと接触している請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６４】

前記反応チャンバーが約１ピコリットル（ｐＬ）と等しいかまたはそれ未満の容量を有する、請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６５】

反応チャンバーが１～１０μＭの中心間間隔によって分離されている、請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６６】

反応チャンバーが約９μｍ、約５μｍ、約２μｍの中心間間隔によって分離されている、請求項１、２、３、５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６７】

前記ヌクレオチド三リン酸がMg^{2+}またはMn^{2+}中に予め浸漬されている、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６８】

前記ポリメラーゼがMg^{2+}またはMn^{2+}に予め浸漬されている、請求項１、２、３

、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項６９】

前記方法が単一の捕獲ビーズを含む反応チャンバー中で行われ、ここに、単一捕獲ビーズの直径に対する反応チャンバー幅の比率が少なくとも０．７、少なくとも０．８、少なくとも０．９である、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７０】

前記ポリメラーゼが溶液中で遊離している、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７１】

前記ポリメラーゼがビーズに固定化されている、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７２】

前記ポリメラーゼが捕獲ビーズに固定化されている、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７３】

無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）が、ヌクレオチド取込みの検出に先立って有意に加水分解されていない、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７４】

無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）が第一の電気パルスを検出するに先立って有意に加水分解されていない、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７５】

前記鋳型核酸が捕獲ビーズに付着されている、請求項１、２、３、５、７、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７６】

前記ｃｈｅｍＦＥＴが核酸に結合していない不動態化層を含む、請求項１、２、３、５、９、１３、１４、１５、１９、２０、２１、２３、２６または３１記載の方法。

【請求項７７】

少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触した、または容量的にそれにカップリングされた反応チャンバー中の鋳型核酸にハイブリダイズした配列決定プライマーの３’末端への１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項７８】

標的核酸を断片化して複数の断片化された核酸を生じさせ、

前記複数の断片化された核酸の各々を個々のビーズに付着させて、単一の断片化された核酸に各々が付着された複数のビーズを生じさせ、

各ビーズ上の前記断片化された核酸を増幅し、その結果、各ビーズ上の複数の同一の断片化された核酸がもたらされ、

断片化された核酸に付着された複数のビーズを反応チャンバーのアレイに送達し、各反応チャンバーは化学的に電気化学的な非光学的センサーと検知関係にあり、ここに、唯１つのビーズが各反応チャンバー中に位置しており、

前記複数の反応チャンバー中で配列決定反応を同時に行うことを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項７９】

前記センサーがｃｈｅｍＦＥＴである請求項７８記載の方法。

【請求項８０】

標的核酸を断片化して複数の断片化された核酸を生じさせ、前記複数の断片化された核酸の１以上を個々に増幅し、ｃｈｅｍＦＥＴアレイを用いて前記個々に増幅された断片化された核酸を配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項８１】

前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイが少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含む請求項７８記載の方法。

【請求項８２】

前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイが少なくとも５００のｃｈｅｍＦＥＴを含む請求項７８記載の方法。

【請求項８３】

前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイが少なくとも１００,０００のｃｈｅｍＦＥＴを含む請求項７８記載の方法。

【請求項８４】

前記複数の断片化された核酸が、油中水型エマルジョン増幅方法を用いて個々に増幅される請求項７８記載の方法。

【請求項８５】

標的核酸を断片化して複数の断片化された核酸を生じさせ、

前記複数の断片化された核酸の１以上を個々に増幅し、

ｃｈｅｍＦＥＴアレイを用い、約１～１０μｍの中心間距離を有する複数の反応チャンバー中で前記個々に増幅された断片化された核酸を配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項８６】

前記中心間距離が約９μｍ、約５μｍ、または約２μｍである請求項８５記載の方法。

【請求項８７】

少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含むアレイ中のｃｈｅｍＦＥＴと接触しているか、または容量的にそれにカップリングされた反応チャンバー中で複数の同一の鋳型核酸を配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法。

【請求項８８】

化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触した、または容量的にそれにカップリングされた反応チャンバー中で核酸の３’末端へのヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含み、ここに、取込みは、前記反応チャンバー中での取り込まれていないヌクレオチド三リン酸の前記核酸速度よりも大きい速度で起こることを特徴とする、ヌクレオチド三リン酸の核酸への取込みを検出する方法。

【請求項８９】

前記ｃｈｅｍＦＥＴがｃｈｅｍＦＥＴアレイ中に存在する請求項８８記載の方法、。

【請求項９０】

ゲノムまたはその部分からの断片化された核酸を、反応チャンバーの二次元アレイを含む配列決定装置に送達し、ここに、前記反応チャンバーの各々は少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされており；

前記反応チャンバーの前記ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを介して前記反応チャンバーの少なくとも１つにおける配列決定反応を検出することを含む、ゲノムまたはその部分を配列決定する方法。

【請求項９１】

ゲノムまたはその部分からの核酸を、反応チャンバーの二次元アレイに送達し、ここに、前記反応チャンバーの各々は容量的にｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされており；

第一のｄＮＴＰを前記反応チャンバーの各々に実質的に同一の時間に送達し；

前記ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルから前記ゲノムまたはその部分の配列を決定することを含む、ゲノムまたはその部分を配列決定する方法。

【請求項９２】

送達が、前記第一のｄＮＴＰを実質的に同一時間に前記反応チャンバーの各々に送達す

ることを含む請求項９１記載の方法。
【請求項９３】
疾患を有する複数の対象からの核酸を、反応チャンバーの二次元アレイを含む配列決定装置に送達し、ここに、前記反応チャンバーの各々はｃｈｅｍＦＥＴに容量的にカップリングしており；
前記ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルから前記核酸の配列を決定し；前記複数の対象からの前記ＤＮＡの間の共通の配列を同定することを含む、疾患に関連する配列を同定する方法。
【請求項９４】
前記疾患が癌、免疫抑制疾患、神経学的疾患、またはウイルス感染である請求項９３記載の方法。
【請求項９５】
活性剤に対して陽性応答を呈した複数の対象からの、および活性剤に対して陰性応答を有する複数の対象からのＤＮＡを、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む配列決定装置を用いて配列決定し；
陽性応答を呈した前記複数の対象における、あるいは前記他の複数の対象に存在しない陰性応答を呈した前記対象からの共通のＤＮＡ配列を同定することを含む、特定の活性剤に対する陽性応答に関連する配列を同定する方法。
【請求項９６】
前記配列決定装置が、各々がｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む複数の装置を含む請求項９５記載の方法。
【請求項９７】
前記対象がヒトである請求項９３または９５記載の方法。
【請求項９８】
前記ＤＮＡが血液、唾液、ＣＳＦ、皮膚、毛髪、組織、尿、糞、および粘膜からなる群から選択される体液または組織から得られる請求項９３または９５記載の方法。
【請求項９９】
少なくとも10^6、10^7または10^8の塩基対が配列決定装置当たり１時間当たりに配列決定される請求項９５または９６記載の方法。
【請求項１００】
配列決定情報がパーソナルコンピューター、パーソナルデジタルアシスタント、携帯電話、ビデオゲームシステム、またはテレビに提供される請求項９３または９５記載の方法。
【請求項１０１】
前記配列決定がロボティックスを介して行われる請求項９３または９５記載の方法。
【請求項１０２】
個々のモノマーの延長しているポリマーへの取込みの反応時間を測定して、生物学的ポリマーの配列を決定することを含む、生物学的ポリマーを配列決定する方法。
【請求項１０３】
前記生物学的ポリマーが核酸鋳型であって、前記モノマーがヌクレオチドである請求項１０２記載の方法。
【請求項１０４】
前記生物学的ポリマーが、２００～７００の塩基対を有する核酸鋳型である請求項１０２記載の方法
【請求項１０５】
前記測定がイオンパルスの検出を含む請求項１０２記載の方法。
【請求項１０６】
前記ポリマーが核酸鋳型であって、前記核酸鋳型が前記配列の決定に先立って増幅される請求項１０２記載の方法。
【請求項１０７】

前記測定が電気的変化の検出を含む請求項１０２記載の方法。
【請求項１０８】
前記個々のモノマーが所定のものである請求項１０２記載の方法
【請求項１０９】
前記測定がＰＰｉの放出の検出を含む請求項１０２記載の方法
【請求項１１０】
前記配列決定が時間当たり少なくとも10^6、10^7、または10^8塩基の速度で行われる請求項１０２記載の方法。
【請求項１１１】
少なくとも１００の配列決定反応を同時に行い；標識の使用なくして、および光学的検出の使用無くして配列を決定することを含む、核酸配列を決定する方法。
【請求項１１２】
前記核酸配列が哺乳動物ゲノムである請求項１１１記載の方法。
【請求項１１３】
前記核酸配列がヒトゲノムである請求項１１１記載の方法。
【請求項１１４】
前記決定工程が、１以上の第一のモノマーが伸長している配列に取り込まれるのに要する時間の量を測定することを含む請求項１１１記載の方法。
【請求項１１５】
前記配列決定が約１、５、１０、１５、２０または２４時間内に完了する請求項１１１記載の方法。
【請求項１１６】
配列決定に必要な出発物質が３μｇ未満の核酸である請求項１１１記載の方法。
【請求項１１７】
前記核酸配列が、配列決定に先立って増幅され、所望により、１以上のビーズに結合される請求項１１１記載の方法。
【請求項１１８】
前記配列決定がイオンパルスを検出することを含む請求項１１１記載の方法。
【請求項１１９】
前記配列決定がＰＰｉの放出を検出することを含む請求項１１１記載の方法。
【請求項１２０】
５００μＭ、４００μＭ、または３００μＭまでのイオン強度を有する反応混合物中で配列決定反応を行うことを含むｃｈｅｍＦＥＴを用いて核酸鋳型を配列決定する方法。
【請求項１２１】
反応混合物が、１００μＭ以下のMg^{2+}またはMn^{2+}の濃度を有する請求項１２０記載の方法。
【請求項１２２】
前記配列決定反応が、ｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされたポリマー材料、感光性材料またはSiO_2のようなガラス中に形成されたウェルで起こる請求項１２０記載の方法。
【請求項１２３】
含む、生物学的ポリマーを配列決定する方法。
【請求項１２４】
さらに、前記反応チャンバー中でイオンパルスを検出することを含む請求項１２３記載の方法。
【請求項１２５】
前記方向づけが、前記反応チャンバーの下にある基板に対して平行な流動に前記流体を送達することを含む請求項１２３記載の方法。
【請求項１２６】
前記方向づけが、前記流体を前記反応チャンバーの各々を通って拡散させる請求項１２３記載の方法

【請求項１２７】
前記方向づけが、実質的に、第一の反応チャンバーおよび第二の反応チャンバーの流体の混合無くして起こる請求項１２３記載の方法。
【請求項１２８】
層流流体流動系を含むイオンパルスの検出のための装置。
【請求項１２９】
前記装置が、複数の核酸鋳型を配列決定するために用いられる請求項１２８記載の装置。
【請求項１３０】
前記装置が、アレイ上に沈積された複数の核酸鋳型を配列決定するのに用いられる請求項１２８記載の装置。
【請求項１３１】
前記装置が、複数の核酸鋳型を配列決定するために用いられる請求項１２８記載の装置。
【請求項１３２】
フォトリソグラフィーを用い、トランジスタのアレイの頂部上のガラス材料中にウェルを生じさせることを含む、配列決定デバイスの製造方法。
【請求項１３３】
その内多数のＦＥＴがフローティングゲートを含むか、またはフローティングゲートにカップリングされた、複数の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）を含む半導体チップを製造し；
形成性ガスアニールをダイシング工程に先立って前記半導体に適用し；
前記半導体をダイシングし；
形成性ガスアニールを前記ダイシング工程後に前記半導体に適用することを含み；
前記アニーリングが、前記フローティングゲート中のトラップされた電荷を、その存在が、前記ＦＥＴの閾値電圧を、アレイ性能に有意に影響しない公称量を超えて変化しないようなレベルまで低下させるのに十分なように選択されることを特徴とする、
各々がフローティングゲートを有する、またはフローティングゲートにカップリングされたＦＥＴのアレイを製造する方法。
【請求項１３４】
前記半導体チップが少なくとも１００，０００のＦＥＴを含む請求項１３３記載の方法。
【請求項１３５】
前記多数のＦＥＴが化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）である請求項１３３記載の方法。
【請求項１３６】
さらに、誘電性材料層を前記半導体チップ上に蒸着させることを含む請求項１３３記載の方法。
【請求項１３７】
さらに、反応チャンバーのアレイを前記誘電性材料中に形成することを含む請求項１３３記載の方法。
【請求項１３８】
前記誘電性材料がポリマー材料、ガラス、感光性材料またはエッチング可能な薄いフィルム材料である請求項１３６記載の方法。
【請求項１３９】
ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを製造し；
前記アレイ上に誘電性材料を蒸着し；
前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に、前記誘導性材料における反応チャンバーのアレイを形成し；
ダイシング工程前に形成性ガスアニールを前記アレイに適用し；

前記アレイをダイシングし；
前記ダイシング工程後に形成性ガスアニールを適用することを含む、配列決定装置を製造する方法。
【請求項１４０】
生物からの３μｇまでのＤＮＡを前記化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）のアレイまで送達し、前記ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルに基づいて前記ゲノムの配列を決定することを含む、生物の全ゲノムを配列決定する方法。
【請求項１４１】
核酸鋳型を含む反応混合物に第一のｄＮＴＰモノマーを適用し；
酵素を適用して、使用されていないｄＮＴＰを分解し；
実質的に全ての酵素を除去することを含む、核酸鋳型を配列決定する方法。
【請求項１４２】
前記酵素がさらにＰＰｉを分解する請求項１４１記載の方法。
【請求項１４３】
前記工程の全てがミクロ流体チャンバー中で起こる請求項１４１記載の方法。
【請求項１４４】
前記除去工程が、さらに、いずれの分解したｄＮＴＰも除去する請求項１４１記載の方法。
【請求項１４５】
前記工程の全てが層流中で起こる請求項１４１記載の方法。
【請求項１４６】
前記酵素の全ての除去が、機械的ポンプを用いることなく起こる請求項１４１記載の方法。
【請求項１４７】
第１の試料からの核酸に第一のプライマーをアニールし；
第二の試料からの核酸に第二のプライマーをアニールし；
前記第一および第二のプライマーと共に前記第一および第二の核酸をｃｈｅｍＦＥＴのアレイに適用し；
前記第一および第二の試料からの核酸配列を決定することを含む、複数の試料からの配列を決定する方法。
【請求項１４８】
前記第一の試料が第一の生物からのものであって、前記第二の試料が第二の生物からのものである請求項１４７記載の方法。
【請求項１４９】
前記決定行動が、（ａ）取り込まれたヌクレオチド三リン酸の数を示す、第一のパルスおよび第二のパルスの間の時間の差を決定し、（ｂ）配列決定反応から放出されたＰＰｉのレベルを決定し；または（ｃ）配列決定反応の結果としてのｐＨ変化を決定することを含む、請求項１４７記載の方法。
【請求項１５０】
各々がその表面上に、またはその表面に隣接して配置されたＰＰｉ受容体を有する複数のｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含む化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイを含み、ここに、前記アレイが少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含む装置。
【請求項１５１】
前記アレイ中の隣接するｃｈｅｍＦＥＴセンサーが約１０μｍ未満の中心間距離によって分離される請求項１５０記載の装置。
【請求項１５２】
前記中心間距離が約９μｍ、約５μｍ、約２μｍ未満である請求項１５１記載の装置。
【請求項１５３】
反応チャンバーの重ねられたアレイを有する化学的に感受性の電界効果トランジスタ（

ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイを含み、ここに、各反応チャンバーは少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴと接触しており、または容量的にそれにカップリングされている、装置。
【請求項１５４】
前記反応チャンバーの少なくとも９０％がビーズを含む請求項１５３記載の装置。
【請求項１５５】
前記反応チャンバーの少なくとも９５％がビーズを含む請求項１５４記載の装置。
【請求項１５６】
さらに、各反応チャンバーの開いた部分上を横方向に流動した流体を受け取り、前記反応チャンバーのアレイを前記流体に暴露するように構成および配置されたフローセル部材を含む請求項１５３～１５５いずれか一項に記載の装置。
【請求項１５７】
前記流動が実質的に層流である請求項１５６記載の装置。
【請求項１５８】
各反応チャンバーが、開いた表面エリアにおいて１００、７０、５０、または３０μｍ^{2}以下である請求項１５６記載の装置。
【請求項１５９】
前記ｃｈｅｍＦＥＴが１以上の半導体チップにおける１以上のアレイに一体化され、前記反応チャンバーのアレイが前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイの少なくとも１つ上に配置され、それと共に一体アセンブリを形成する請求項１５８記載の装置。
【請求項１６０】
前記反応チャンバーアレイが少なくとも１００、１,０００、１０，０００、１００，０００、または１，０００，０００の反応チャンバーを含む請求項１５８記載のシステム。
【請求項１６１】
前記システムが、１、５、１０、１５、２０または２５時間までのうちに全ヒトゲノムを配列決定するように構成された請求項１５８記載のシステム。
【請求項１６２】
その中で配列決定反応が起こり得る少なくとも１００チャンバーのアレイを含む、光学的検出なくして標識されていないポリマーを配列決定するのに適合した配列決定装置。
【請求項１６３】
前記チャンバーがｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされた請求項１６２記載の装置。
【請求項１６４】
前記チャンバーがミクロ流体ウェルを含む請求項１６２記載の装置。
【請求項１６５】
前記装置が時間当たり少なくとも10^6、10^7、または10^8の塩基対を配列決定するのに適合した請求項１６２記載の装置。
【請求項１６６】
層流流体流動系を含むイオンパルスの検出のための装置。
【請求項１６７】
前記装置が、複数の核酸鋳型を配列決定するのに用いられる請求項１６６記載の装置。
【請求項１６８】
前記装置が、アレイ上に沈積された複数の核酸鋳型を配列決定するために用いられる請求項１６６記載の装置。
【請求項１６９】
前記装置が、複数の核酸鋳型を配列決定するのに用いられる請求項１６６記載の装置。
【請求項１７０】
ＰＰｉまたはｄＮＴＰまたは双方とのイオン相互作用に関連するイオンパルスを決定するためのロジックを含む、ポリマー配列決定のためのコンピュータ装置。
【請求項１７１】
前記ロジックが前記イオンパルスの特徴をポリマー配列決定情報に変換する請求項１７

０記載のコンピュータ装置。
【請求項１７２】
イオンパルス間の時間に基づいて前記核酸鋳型の配列を決定するためのロジックを含むコンピュータ装置。
【請求項１７３】
さらに、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイ上の前記イオンパルスの空間的位置を決定するためのロジックを含む請求項１７２記載のコンピュータ装置。
【請求項１７４】
配列決定反応で利用すべき特定のｄＮＴＰで要する時間の持続に基づいて、核酸鋳型の配列を決定するためのロジックを含むコンピュータ装置。
【請求項１７５】
前記配列決定が実質的にリアルタイムで行われる請求項１７０～１７４いずれか一項に記載のコンピュータ装置。
【請求項１７６】
前記ロジックが１以上のｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを受け取る請求項１７０～１７４いずれか一項に記載のコンピュータ装置。
【請求項１７７】
チップ上で行われるべき反応のタイプ、またはチップ上で行われた反応の数を同定するレシーバーに情報を送達するための１以上のピンをその上に含む生物学的反応を実行するために構成されたエレクトロニクスチップ。
【請求項１７８】
行うべき前記反応のタイプが短ヌクレオチド多形検出、短タンデムリピート検出、または配列決定である請求項１７７記載のチップ。
【請求項１７９】
行うべき前記反応の数が１００、１，０００、１０，０００、１００，０００または１，０００，０００である請求項１７７記載のチップ。
【請求項１８０】
チップを受け取るために適合したチップ受け取りモジュール；
および前記エレクトロニクスチップからの情報を検出するためのレシーバーを含み、ここに、前記情報が、前記生物学的反応のいずれが、前記チップ上で、または前記チップの１以上のパラメータで行われるべきかが選択されるかを決定することを特徴とする、チップ上の１を超える生物学的反応を行うのに適合したシステム。
【請求項１８１】
さらに、前記選択された生物学的反応を行うための１以上の試薬を含む請求項１８０記載のシステム。
【請求項１８２】
反応チャンバーの空間的位置、前記空間的位置に加えられたモノマーのタイプ、複数の前記モノマーを含む試薬と延長ポリマーとの完全な反応に要する時間についての情報をリレーするように構成された少なくとも１つの集積回路を含むポリマー鋳型を配列決定するための装置。
【請求項１８３】
その各々が１以上のｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされた少なくとも１００ミクロ流体ウェルのアレイ。
【請求項１８４】
前記ウェルが誘電性材料中に形成された請求項１８３記載のアレイ。
【請求項１８５】
前記誘電性材料がガラス、SiO_2、ポリマー材料、感光性材料、イオンエッチング可能な薄いフィルム材料または反応的にイオンエッチング可能な薄いフィルム材料である請求項１８４記載のアレイ。
【請求項１８６】

ウェルのアレイを含み、ここに、各ウェルは前記ウェルにおける活性を検知するためのセンサーに会合し、各ウェルは水平方向の幅および垂直方向の深さを有し、ここに、前記幅は、前記深さと同一であるか、または前記深さより小さいことを特徴とする、核酸配列決定装置。

【請求項１８７】

各センサーが１以上の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）を含む請求項１８６記載の装置。

【請求項１８８】

化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）のアレイを含み、ここに、前記ｃｈｅｍＦＥＴの各々は、１０平方ミクロンまでである前記アレイの面積を占有することを特徴とする装置。

【請求項１８９】

少なくとも２つの電界効果トランジスタを含み、ここに、前記トランジスタの少なくとも１つは、ＰＰｉ受容体にカップリングされたｃｈｅｍＦＥＴであることを特徴とする装置。

【請求項１９０】

誘電性材料に一体化された半導体ウェハー層を含む配列決定デバイス。

【請求項１９１】

前記誘電性材料がガラス、SiO_2、ポリマー材料、感光性、イオンエッチング可能な薄いフィムルの材料または反応的にイオンエッチング可能な薄いフィルムの材料である請求項１９０記載のデバイス。

【請求項１９２】

誘電性材料がガラスであり、ここに、前記ガラスは前記半導体ウェハーと一体化されている請求項１９０記載の配列決定デバイス。

【請求項１９３】

さらに、ポリマー層を含む請求項１９２記載の配列決定デバイス。

【請求項１９４】

前記ポリマー層が射出成形可能な材料である請求項１９３記載の配列決定デバイス。

【請求項１９５】

前記ポリマー層がポリカーボネートである請求項１９０記載の配列決定デバイス。

【請求項１９６】

前記ガラスがSiO_2である請求項１９０記載の配列決定デバイス。

【請求項１９７】

前記ガラス層が非結晶性である請求項１９０記載の配列決定デバイス。

【請求項１９８】

フォトリソグラフィーを用い、トランジスタのアレイの頂部上のガラス材料中にウェルを生じさせることを含む、配列決定デバイスの製造方法。

【請求項１９９】

その存在が当該デバイスにおけるアレイ中のトランジスタの閾値電圧を公称量を超えて変化しない点までプロセス誘導のトラップされた電荷を制限するように製造され、かつ組み立てられた、少なくとも１つの誘電性層およびフローティングゲートを有する半導体デバイス。

【請求項２００】

前記フローティングゲートおよび誘電性層がゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を有する請求項１９９記載の半導体デバイス。

【請求項２０１】

前記フローティングゲートが$45\mu m^2$よりも大きな表面積を有する請求項１９９記載の半導体デバイス。

【請求項２０２】

その内多数のＦＥＴがフローティングゲートを含むか、またはフローティングゲートに

カップリングされた、複数の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）を含む半導体チップを製造し；
形成性ガスアニールをダイシング工程に先立って前記半導体に適用し；
前記半導体をダイシングし；
形成性ガスアニールを前記ダイシング工程後に前記半導体に適用することを含み；
前記アニーリングが、前記フローティングゲート中のトラップされた電荷を、その存在が、前記ＦＥＴの閾値電圧を、アレイ性能に有意に影響しない公称量を超えて変化しないようなレベルまで低下させるのに十分なように選択されることを特徴とする、
各々がフローティングゲートを有する、またはフローティングゲートにカップリングされたＦＥＴのアレイを製造する方法。

【請求項２０３】
前記半導体チップが少なくとも１００，０００ＦＥＴを含む請求項２０２記載の方法。

【請求項２０４】
前記複数のＦＥＴが化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）である請求項２０２期些細の方法。

【請求項２０５】
さらに、誘電性材料層を前記半導体チップ上に蒸着させることを含む請求項２０２記載の方法。

【請求項２０６】
さらに、前記誘電性材料中に反応チャンバーのアレイを形成することを含む請求項２０２記載の方法。

【請求項２０７】
前記誘電性材料がポリマー材料、ガラス、感光性材料またはエッチング可能な薄いフィルム材料である請求項２０６記載の方法。

【請求項２０８】
ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを製造し；
前記アレイ上に誘電性材料を蒸着し；
前記ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に、前記誘導性材料における反応チャンバーのアレイを形成し；
ダイシング工程前に形成性ガスアニールを前記アレイに適用し；
前記アレイをダイシングし；
前記ダイシング工程後に形成性ガスアニールを適用することを含む、配列決定装置を製造する方法。

【請求項２０９】
流体がミクロ流体反応チャンバーの全てに同時または実質的に同時に到達するように、流体を、少なくとも１００Ｋ、５００Ｋ、または１Ｍミクロ流体反応チャンバーのアレイまで流動するように方向づけるための１以上の開口を含む部材を含む流体アセンブリ。

【請求項２１０】
前記流体アセンブリが流体層流のために構成された請求項２０９記載の流体アセンブリ。

【請求項２１１】
前記流体流動が、前記反応チャンバーを支持する基板に対して平行である請求項２０９記載の流体アセンブリ。

【請求項２１２】
前記アセンブリが１０００、５００、２００、１００、５０、２０、または１０までのレイノルズ数を有する請求項２０９記載の流体アセンブリ。

【請求項２１３】
前記部材が、流体を前記センサーアレイから離れるよう方向づけるための第二の開口を含む請求項２０９記載の流体アセンブリ。

【請求項２１４】

前記部材が、前記流体を、前記ミクロ反応チャンバーの各々まで実質的に同一時間内に送達するように構成された請求項２０９記載の流体アセンブリ。
【請求項２１５】
前記反応チャンバーの各々が容量的にｃｈｅｍＦＥＴにカップリングされた請求項２０９記載の流体アセンブリ。
【請求項２１６】
さらに、前記流体を移動させるための非移動圧力供給を含む請求項２０９記載の流体アセンブリ。
【請求項２１７】
その各々が入口ポートおよび出口ポートを有する蓋にカップリングされたウェルのアレイ、および前記入口および出口ポートからの流体を送達し、および除去するための流体送達システムを含むアセンブリ。
【請求項２１８】
さらに、前記流体を移動させるための非移動圧力供給を含む請求項２１７記載のアセンブリ。
【請求項２１９】
オプティックスまたは標識の使用無くしてゲノムからの３μｇまでのＤＮＡを用いて完全なヒトゲノムを配列決定するのに適合したデバイス。
【請求項２２０】
前記デバイスがｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む請求項２１９記載のデバイス。
【請求項２２１】
前記デバイスがミクロ流体反応チャンバーのアレイを含む請求項２１９記載のデバイス。
【請求項２２２】
前記デバイスが誘電性材料にカップリングされた半導体材料を含み、前記デバイスは前記半導体材料中に形成されたｃｈｅｍＦＥＴのアレイ、および前記誘電性材料中に形成された反応チャンバーの対応するアレイを含む請求項２１９記載のデバイス。
【請求項２２３】
ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む半導体製品と一体的に組み立てられたミクロ流体反応チャンバーのアレイを含む装置。
【請求項２２４】
前記アレイが少なくとも１００，０００チャンバーを含む請求項２２３記載の装置。
【請求項２２５】
前記半導体材料がｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む請求項２２３記載の装置。
【請求項２２６】
さらに、前記ガラス反応チャンバーの頂部にカップリングされたポリマー層を含む請求項２２３記載の装置。
【請求項２２７】
各チャンバーが水平方向の幅またはスパンおよび垂直方向深さを有し、かつ１：１以下の縦横比を有する請求項２２３記載の装置。
【請求項２２８】
前記ガラス反応チャンバー間の前記ピッチが１０ミクロンまでである請求項２２３記載の装置。
【請求項２２９】
請求項２２３記載の装置、および１以上の増幅試薬を含むキット。
【請求項２３０】
ｃｈｅｍＦＥＴに重ねられた誘電性層を含み、前記誘電性層は前記ｃｈｅｍＦＥＴの上に横方向に中心がある窪みを有することを特徴とする配列決定装置。
【請求項２３１】
さらに、前記誘電性層に重ねられたポリマー材料層を含む請求項２３０記載の配列決定

装置。
【請求項２３２】
前記誘電性層が二酸化ケイ素で形成された請求項２３０記載の配列決定装置。
【請求項２３３】
コンパクトな計算デバイス上に生物の完全なゲノムを表示するためのコンピュータ実行可能なロジック。
【請求項２３４】
ｃｈｅｍＦＥＴアレイからのデータをコンパクトな計算デバイスで送るのに適合したコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２３５】
ｃｈｅｍＦＥＴのアレイからのイオンパルスを処理して、注目するポリマーの前記配列を決定するためのコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２３６】
前記配列が実質的にリアルタイムに表示される請求項２３５記載のコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２３７】
さらに、ファイルの管理、ファイルの記憶、および可視化のためのロジックを含む請求項２３５記載のコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２３８】
さらに、前記イオンパルスをヌクレオチド配列に変換するためのロジックを含む請求項２３５記載のコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２３９】
さらに、コンパクトな計算デバイスに前記ヌクレオチド配列を送達するためのロジックを含む請求項２３８記載のコンピュータ実行可能ロジック。
【請求項２４０】
複数の少なくとも１００の反応チャンバーであって、ここに、複数の反応チャンバーの各々は少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触するか、または容量的にそれにカップリングされている反応チャンバー、および
前記ｃｈｅｍＦＥＴ中で検知されるｐＨ変化を決定するのに適合されたリーダーを含む装置。
【請求項２４１】
複数の反応チャンバーであって、ここに、複数の反応チャンバーの各々は少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または容量的にそれにカップリングしている反応チャンバー、および
拡散制限条件下で、１以上の試薬を前記複数の反応チャンバーに送達するための流体送達モジュールを含むシステム。
【請求項２４２】
前記流体送達モジュールが、流体を、前記ｃｈｅｍＦＥＴの不動態化層の表面に対して平行に送達する請求項２４１記載のシステム。
【請求項２４３】
複数の反応チャンバーであって、ここに、複数の反応チャンバーの各々は少なくとも１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）と接触しているか、または容量的にそれにカップリングしている反応チャンバー、および
時間t_0における第一のパルスおよび時間t_1における第二のパルスの間の時間の差を決定するのに適合したリーダーであって、ここに、前記差は、前記反応チャンバー中での反応において取り込まれたヌクレオチド三リン酸の数を示すリーダーを含むシステム。
【請求項２４４】
第１の試料からの核酸に第一のプライマーをアニールし；
第二の試料からの核酸に第二のプライマーをアニールし；
前記第一および第二のプライマーと共に前記第一および第二の核酸をｃｈｅｍＦＥＴの

アレイに適用し；
前記第一および第二の試料からの核酸配列を決定することを含む、複数の試料からの配列を決定する方法。
【請求項２４５】
前記第一の試料が第一の生物からのものであって、前記第二の試料が第二の生物からのものである請求項２４４記載の方法。
【請求項２４６】
前記決定行動が、（ａ）取り込まれたヌクレオチド三リン酸の数を示す、第一のパルスおよび第二のパルスの間の時間の差を決定し、（ｂ）配列決定反応から放出されたＰＰｉのレベルを決定し；または（ｃ）配列決定反応の結果としてのｐＨ変化を決定することを含む、請求項２４５記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、その双方の全内容をここに引用して援用する、共に２００８年６月２５日に出願された特許出願ＧＢ　０８１１６５７．６およびＧＢ　０８１１６５６．８に対する優先権を主張する。
技術分野
本開示は、一般に、エレクトロニクスセンサーを介する１以上の分析物の検出および測定に関する発明的方法および装置に向けられる。
【背景技術】
【０００２】
エレクトロニクスデバイスおよび構成要素は、特に、種々の化学的および生物学的反応の検出および測定、および種々の化合物の同定、検出および測定のための、化学および生物学（より一般的には「ライフサイエンス」）において膨大な適用を見出してきた。１つのそのようなエレクトロニクスデバイスは、しばしば、ＩＳＦＥＴ（またはｐＨＦＥＴ）として関連文献で示されたイオン－感受性の電界効果トランジスタと言われる。ＩＳＦＥＴは、慣用的には、（通常は「ｐＨ」として示される）溶液の水素イオン濃度の測定を容易とするために、主として、アカデミックおよび研究団体で開発されてきた。
【０００３】
より具体的には、ＩＳＦＥＴはＭＯＳＦＥＴ（金属酸化物半導体電界効果トランジスタ）のそれと同様に作動するインピーダンス変換デバイスであって、溶液中のイオン活動を選択的に測定するように特に構成されている（例えば、溶液中の水素イオンは「分析物」である）。ＩＳＦＥＴの操作の詳細な理論は「Ｔｈｉｒｔｙ　ｙｅａｒｓ　ｏｆ　ＩＳＦＥＴＯＬＯＧＹ：ｗｈａｔ　ｈａｐｐｅｎｅｄ　ｉｎ　ｔｈｅ　ｐａｓｔ　３０　ｙｅａｒｓ　ａｎｄ　ｗｈａｔ　ｍａｙ　ｈａｐｐｅｎ　ｉｎ　ｔｈｅ　ｎｅｘｔ　３０　ｙｅａｒｓ」，Ｐ．Ｂｅｒｇｖｅｌｄ，　Ｓｅｎｓ．Ａｃｔｕａｔｏｒｓ，８８（２００３），ｐｐ．１－２０に与えられており、この刊行物はここに引用して援用する（以下、「Ｂｅｒｇｖｅｌｄ」という）。
【０００４】
図１は、慣用的なＣＭＯＳ（補充的金属酸化物半導体）プロセスを用いて製造されたＰ－型（ｐ－チャネル）ＩＳＦＥＴ　５０の断面を示す。しかしながら、周辺に二極構造を持つＰＭＯＳ　ＦＥＴアレイを含むプロセスのような、ｂｉＣＭＯＳ（すなわち、二極およびＣＭＯＳ）加工を用いてもよい。ＣＭＯＳを例にとると、Ｐ－型ＩＳＦＥＴの製造はｐ－型シリコン基板５２に基づき、そこでは、トランジスタ「本体」を形成するｎ－型ウェル５４が形成される。ＩＳＦＥＴのソース５６およびドレイン５８を構成する、高度にドープされたｐ－型（ｐ＋）領域ＳおよびＤが、ｎ－型ウェル５４内に構成される。ｎ－型ウェルに対する導電体（または「バルク」）結合６２を設けるために、高度にドープされたｎ－型（ｎ＋）領域Ｂもまたｎ－型ウェル内に形成されている。酸化物層６５がソー

ス、ドレインおよび本体結合領域上方に設けられており、それを通って、開口されて、これらの領域に対する（導電体を介する）電気的結合を提供し；例えば、金属接触６６は導電体として働いてドレイン５８に対する電気的結合を供し、金属接触６８は導電体として働いて、高度な導電体結合６２を介して、ソース５６およびｎ－型ウェル５４に対する通常の結合を供する。多結晶シリコンゲート６４が、ソース５６およびドレイン５８の間でｎ－型ウェル５４の領域６０の上方の位置の酸化物層の上方に形成される。それは多結晶シリコンゲート６４およびトランジスタ本体（すなわち、ｎ－型ウェル）の間に配置されているので、酸化物層６５は、しばしば、「ゲート酸化物」と言われる。

【０００５】

ＭＯＳＦＥＴと同様に、ＩＳＦＥＴの操作は、ソースおよびドレインの間の、多結晶シリコンゲート６４、ゲート酸化物６５およびｎ－型ウェル５４の領域６０によって構成されるＭＯＳ（金属酸化物－半導体）キャパシタンスによって引き起こされる電荷濃度の変調に基づく。負の電圧がゲートおよびソース領域を横切って印加されると（V_{GS}＜０ボルト）、電子のこのエリアを枯渇させることによって「ｐ－チャネル」６３が領域６０およびゲート酸化物６５の界面に作り出される。このｐ－チャネル６３はソースおよびドレインの間に延び、ゲートソースのポテンシャルV_{GS}が、ソースからホールをチャネルに引き付けるのに十分負である場合、ｐ－チャネルを通って電流が導かれる。チャネル６３が電流を流し始めるゲートソースポテンシャルは、トランジスタの閾値電圧V_{TH}と言われる（V_{GS}が閾値電圧V_{TH}よりも大きな絶対値を有すると、トランジスタは導電する）。ソースは、チャネル６３を通って流れる電荷キャリア（ｐ－チャネルのためのホール）のソースであるゆえに、ソースはそのように命名され；同様に、ドレインは、電荷キャリアがチャネル６３を去る場所である。

【０００６】

図１のＩＳＦＥＴ５０において、ｎ－型ウェル５４（トランジスタ本体）は、本体結合６２を介して、ソース５６および本体結合６２の双方に対して結合された金属接触６８によって見られるように、ソース５６と同一のポテンシャルにおいて強制的にバイアスされる（すなわち、V_{SB}＝０ボルト）。この結合は、ｐ＋ソース領域およびｎ－型ウェルの順方向バイアシングを妨げ、それにより、チャネル６３が形成されてもよい領域６０のエリアへの電荷キャリアの封じ込めを促進する。ソース５６および本体／ｎ－型ウェル５４の間のいずれのポテンシャルの差（非－ゼロソース－対－本体電圧V_{SB}）も、非線形関係に従って、ＩＳＦＥＴの閾値電圧V_{TH}に影響し、これは、通常「本体効果」と言われ、これは、多くの適用において望ましくない。

【０００７】

また、図１に示されるように、ＩＳＦＥＴ５０の多結晶シリコンゲート６４が、ゲート酸化物６５上方に配置された１以上のさらなる酸化物層７５内に配置された多数の金属層にカップリングされて、「フローティングゲート」構造７０を形成する。フローティングゲート構造はＩＳＦＥＴに関連する他の導電体から電気的に隔離されているゆえに、それはそのように命名され；すなわち、それはゲート酸化物６５および不動態化層７２の間にサンドイッチされる。ＩＳＦＥＴ５０においては、不動態化層７２は、デバイスのイオン－感度を生起させるイオン－感受性膜を構成し；すなわち、特に、フローティングゲート構造７０上方の感受性エリア７８において、不動態化層７２と接触した「分析物溶液」７４（すなわち、注目する（イオンを含めた）分析物を含有する、または注目する分析物の存在について試験される溶液）中のイオンのような－分析物の存在は、ソース５６およびドレイン５８の間のｐ－チャネル６３を通って流れる電流を変調するようにＩＳＦＥＴの電気的特徴を改変する。不動態化層７２は、特定のイオンに対する感受性を促進するために種々の異なる材料のいずれか１つを含んでもよく；例えば、窒化ケイ素またはオキシ窒化ケイ素ならびにシリコン、アルミニウムまたは酸化タンタルのような金属酸化物を含む不動態化層は、一般に、分析物溶液７４中の水素イオン濃度（ｐＨ）に対する感受性を供し、他方、バリノマイシンを含有するポリ塩化ビニルを含む不動態化層は、分析物溶液７４中のカリウムイオン濃度に対する感受性を提供する。不動態化層に適し、かつ例えば、

ナトリウム、銀、鉄、臭素、ヨウ素、カルシウム、およびニトレートのような他のイオンに対して感受性の材料は知られている。

【０００８】

イオン感受性に関しては「表面ポテンシャル」と通常は言われる電気ポテンシャル差が、（例えば、通常、感受性エリア７８に近接する分析物溶液７４中のイオンによる酸化物表面基の解離を含む）化学反応による、感受性エリア７８におけるイオン濃度の関数として、不動態化層７２および分析物溶液７４の固体／液体界面に生起する。この表面ポテンシャルは、今度は、ＩＳＦＥＴの閾値電圧V_{TH}に影響し；かくして、感受性エリア７８に近接する分析物溶液７４中のイオン濃度の変化に応じて変動するのはＩＳＦＥＴの閾値電圧V_{TH}である。

【０００９】

図２は図１に示されたｐ－チャネルＩＳＦＥＴ５０の電気回路表示を示す。再度、図１を参照し、分析物溶液７４中の参照電極７６（慣用的Ａｇ／ＡｇＣｌ電極）は、分析物溶液７４それ自体のバルクの電気ポテンシャルを決定し、図２に示されるように慣用的ＭＯＳＦＥＴのゲートターミナルに類似している。ＩＳＦＥＴの直線状または、不飽和操作の領域においてドレイン電流I_Dは以下のように与えられ：

【数１】

$$I_D = \beta\left(V_{GS} - V_{TH} - \tfrac{1}{2}V_{DS}\right)V_{DS}, \qquad (1)$$

ここに、V_{DS}はドレインおよびソースの間の電圧であり、βは以下によって与えられるトランスコンダクタンスパラメータ（アンペア／ボルト^{2}の単位）であり：

【数２】

$$\beta = \mu C_{ox}\left(\frac{W}{L}\right), \qquad (2)$$

ここに、μはキャリア移動度を表わし、C_{ox}は単位面積当たりのゲート酸化物のキャパシタンスであり、および比率Ｗ／Ｌはチャネル６３の長さに対する幅の比率である。

もし参照電極７６が電気的参照またはアース（V_G＝０ボルト）を供し、かつドレイン電流I_Dおよびドレイン－対－ソース電圧V_{DS}が一定に保たれれば、ＩＳＦＥＴのソース電圧V_Sの変動は、方程式（１）に従って閾値電圧V_{TH}の変動を直接的に追跡し；これは方程式（１）を以下のように再度アレンジすることによって観察されるであろう：

【数３】

$$V_S = -V_{TH} - \left(\frac{I_D}{\beta V_{DS}} + \frac{V_{DS}}{2}\right). \qquad (3)$$

【００１０】

ＩＳＦＥＴの閾値電圧V_{TH}は、方程式（３）に従って、先に議論したようにイオン濃度に対して感受性であるので、ソース電圧V_Sは、ＩＳＦＥＴの感受性エリア７８に近接した分析物溶液７４中のイオン濃度に直接的に関連するシグナルを提供する。より具体的には、閾値電圧V_{TH}は以下によって与えられ：

【数４】

$$V_{TH} = V_{FB} - \frac{Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F, \qquad (4)$$

ここに、V_{FB}はフラットバンド電圧であり、Q_Bはシリコン中の枯渇電荷であり、Φ_Fはフェルミーポテンシャルである。フラットバンド電圧は、今度は、仕事関数および電荷蓄積のような材料の特性に関する。ＩＳＦＥＴの場合には、図１および２を参照し、フラ

ットバンド電圧は、１）（トランジスタゲートＧとして作用する）参照電極７６、および分析物溶液７４；および２）（今度は、フローティグゲート構造７０の多結晶シリコンゲート６４およびゲート酸化物６５の間の界面を模倣する）感受性エリア７８における、分析物溶液７４および不動態化層７２の間の界面を反映する項を含有する。フラットバンド電圧V_{FB}は、かくして以下によって与えられ：

【数５】

$$V_{FB} = E_{ref} - \Psi_0 + \chi_{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ss} + Q_{ox}}{C_{ox}}, \qquad (5)$$

ここに、E_{ref}は真空に対する参照電極ポテンシャルであり、Ψ_0は、分析物溶液／不動態化層界面における化学反応（例えば、不動態化層における表面基の解離）から由来する表面ポテンシャルであって、χ_{sol}は分析物溶液７４の表面二極ポテンシャルである。方程式（５）中の第４の項は、シリコンの仕事関数に関し（ｑは電子電荷である）、および最後の項はシリコン表面における、およびゲート酸化物中の電荷密度に関する。分析物溶液７４中のイオン濃度に感受性である方程式（５）中の唯一の項はΨ_0であり、と言うのは分析物溶液７４中のイオン濃度は、分析物溶液／不動態化層界面における化学反応（表面基の解離）を制御するからである。かくして、方程式（５）を方程式（４）に代入し、閾値電圧V_{TH}を、分析物溶液７４中のイオン濃度に対して感受性とするのは表面ポテンシャルΨ_0であると容易に観察できるであろう。

【００１１】

分析物溶液／不動態化層界面における化学反応に関して、不動態化層７２で使用される所与の材料の表面は、プロトンを分析物溶液７４に供給し、または分析物溶液７４から受け取ることができる化学基を含むことができ、分析物溶液７４との界面での不動態化層７２の表面に、負に荷電した、正に荷電した、および中性の部位を、いずれかの所与の時間に残す。分析物溶液／不動態化層の界面におけるこのプロトン供与／受取プロセスに対するモデルは、関連する文献において、「部位－解離モデル」または「部位－結合モデル」と言われ、その様なプロセスの根底にある概念は、一般的に、適用されて、種々の材料（例えば、金属酸化物、金属窒化物、金属オキシ窒化物）を含む不動態化層の表面活性を特徴付けることができる。

【００１２】

説明の目的で金属酸化物の例を用い、いずれの金属酸化物の表面も、分析物にプロトンを供与し、または分析物からプロトンを受け取ることができるヒドロキシル基を含有して、各々、負または正に荷電した部位を表面に残すことができる。これらの部位における平衡反応は以下によって記載することができ；

【数６】

$$AOH \rightleftarrows AO^- + H_s^+ \qquad (6)$$

$$AOH_2^+ \rightleftarrows AOH + H_s^+ \qquad (7)$$

ここに、Ａは例示的な金属を示し、Ｈｓ＋は分析物溶液７４中のプロトンを表わし、方程式（６）は表面基によるプロトン供与を記載し、および方程式（７）は表面基によるプロトン受取を記載する。方程式（６）および（７）に与えられる反応もまた存在し、以下の平衡反応と共に、金属窒化物を含む不動態化層の分析において考慮をする必要があることは認識されるべきである：

【数７】

$$ANH_3^+ \in \quad ANH_2 + H^+, \qquad (7b)$$

ここに、方程式（７ｂ）は、もう１つのプロトン受取平衡反応を記載する。しかしながら、本議論の目的では、再度、方程式（６）および（７）に与えられたプロトン供与および受取反応のみを最初に考慮して、関連する概念を説明する。

【００１３】

各平衡反応についての各順方向および逆方向反応速度定数に基づき、（方程式（６）の反応についての）固有の解離定数K_aおよび（方程式（７）の反応についての）K_bを計算することができ、これは平衡反応を記載する。これらの固有の解離定数は、今度は、以下に従って、不動態化層７２の（クーロン／単位面積の単位の）表面電荷密度σ_0を決定するのに用いることができ：

【数８】

$$\sigma_0 = -qB, \qquad (8)$$

ここに、項Ｂは、不動態化層表面の単位面積N_S当たりのプロトンドナー／アクセプター部位の合計数に依存する、単位面積当たりの、負に荷電した表面基の数から、正に荷電した表面基の数を引いたものに、各プロトン供与および受取平衡反応の固有の解離定数K_aおよびK_b、および表面プロトン活性（またはpH_S）に関連する因子を掛けたものを示す。

表面電荷密度に対する表面プロトン活性（pH_S）における小さな変化の影響は以下によって与えられ；

【数９】

$$\frac{\partial \sigma_0}{\partial pH_S} = -q\frac{\partial B}{\partial pH_S} = -q\beta_{int}, \qquad (9)$$

ここに、β_{int}は、表面の「固有の緩衝能力」という。N_S、K_aおよびK_bの値は材料依存性であるので、表面の固有の緩衝能力β_{int}も同様に材料依存性であることを理解されたい。

【００１４】

分析物溶液７４中のイオン種は有限なサイズを有し、イオン半径よりもいずれにせよより近い不動態化層表面に到着することができないという事実の結果、分析物溶液／不動態化層界面に隣接した「二重層キャパシタンス」と言われる現象をもたらす。Ｂｅｒｇｖｅｌｄに記載された二重層キャパシタンスについてのＧｏｕｙ－Ｃｈａｐｍａｎ－Ｓｔｅｒｎモデルにおいては、表面電荷密度σ_0は、不動態化層７２の表面からいくつかの位置における分析物溶液７４での同等であるが反対である電荷の密度によってバランスされている。これらの２つの平行な反対電荷は、いわゆる（単位面積当たりの）「二重層キャパシタンス」C_{dl}を形成し、キャパシタンスC_{dl}を横切ってのポテンシャルの差は、以下に従って、表面ポテンシャルΨ_0、

【数１０】

$$\sigma_0 = C_{dl}\Psi_0 = -\sigma_{dl} \qquad (10)$$

と定義され、ここに、σ_{dl}は、二重層キャパシタンスの分析物溶液側の電荷密度である。この電荷密度σ_{dl}は、今度は、バルク分析物溶液７４中の全てのイオン種または他の分析物種（すなわち、丁度プロトンというのではない）の濃度の関数であり；特に、表面電荷密度はバルク分解物溶液において、水素イオンによってのみならず、他のイオン種（例えば、Na^+、K^+）によってバランスさせることができる。

【００１５】

相対的に低いイオン強度（例えば、＜１モル／リットル）の領域では、デバイ理論を用いて、以下に従って二重層キャパシタンスC_{dl}を記載することができ：

【数１１】

$$C_{dl} = \frac{k\varepsilon_0}{\lambda} \qquad (11)$$

ここに、ｋは誘電定数ε／ε$_0$であり（比較的より低いイオン強度については、水の誘電定数を用いることができる）、およびλはデバイスクリーニング長である（すなわち、有意な電荷分離が起こり得る距離）。デバイ長λは、今度は、分析物溶液中のイオン種の強度の平方根に逆比例し、室温の水中でのそれは以下によって与えられる：

【数１２】

$$\lambda = \frac{0.3\ \mathrm{nm}}{\sqrt{\mathrm{I}}}. \qquad (12)$$

バルク分析物のイオン強度Ｉは存在する全てのイオン種の濃度の関数であり、以下によって与えられ：

【数１３】

$$I = \frac{1}{2}\sum_s z_s^2 c_s, \qquad (13)$$

ここに、ｚ$_s$はイオン種ｓの電荷の数であって、ｃ$_s$はイオン種ｓのモル濃度である。従って、方程式（１０）～（１３）から、より大きなデバイスクリーニング長（すなわち、より小さなイオン強度）についてより大きい表面ポテンシャルが観察できるであろう。

【００１６】

分析物溶液／不動態化層界面において、およびバルク溶液中に存在するｐＨ値の間の関係は、パラメータとして表面ポテンシャルΨ$_0$でのボルツマン統計学によって関連文献中では表現されている：

【数１４】

$$(pH_s - pH_B) = \frac{q\Psi_0}{kT}. \qquad (14)$$

方程式（９）（１０）および（１４）から、特に、分析物溶液のバルクｐＨの変化に対する表面ポテンシャルΨ$_0$の感受性（すなわち、「ｐＨ感受性」）は以下によって与えられ：

【数１５】

$$\frac{\Delta\Psi_0}{\Delta pH} = -2.3\frac{kT}{q}\alpha, \qquad (15)$$

ここに、パラメータαは、ゼロおよび１の間で変化し、方程式（９）に関連して先に議論したように二重層キャパシタンスＣ$_{dl}$および表面β$_{int}$の固有の緩衝能力に依存する無次元感度因子である。一般に、高い固有の緩衝能力β$_{int}$を持つ不動態化層材料は、表面ポテンシャルΨ$_0$を、プロトン以外のイオン種の分析物溶液７４中の濃度に対して余り感受性でない様にする（例えば、αは大きなβ$_{int}$によって最大化される）。方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。方程式（４）および（５）から、前記したように、ＩＳＦＥＴ閾値電圧Ｖ$_{TH}$の変化は表面ポテンシャルΨ$_0$の変化を直

接的に追跡し；従って、方程式（１５）によって与えられるＩＳＦＥＴのｐＨ感度もまた示すことができ、本明細書中においては、便宜のためにΔV_{TH}と言うことができる。ｐＨ－感度についての窒化ケイ素またはオキシ窒化ケイ素不動態化層７２を使用する例示的な慣用的ＩＳＦＥＴにおいては、ほぼ３０ｍＶ／ｐＨ～６０ｍＶ／ｐＨの範囲にわたってのｐＨ感度ΔV_{TH}（すなわち、分析物溶液７４のｐＨの変化を伴う閾値電圧の変化）が実験的に観察されてきた。

【００１７】

ＩＳＦＥＴ　ｐＨ感度と関連するもう１つの注目に値する測定基準は、そこでは、正味の表面電荷密度σ_0および、従って、ゼロボルトの表面ポテンシャルΨ_0がない分析物溶液７４のバルクｐＨに関する。このｐＨは「ゼロ電荷の点」と言われ、pH_{pzc}として示される。再度、方程式（８）および（９）を参照すると、固有の緩衝能力β_{int}と同様に、pH_{pzc}は材料依存性パラメータである。前記より、分析物溶液７４のいずれかの所与のバルクpH_Bにおける表面ポテンシャルは以下に従って計算することができるのは認識できる：

【数１６】

$$\Psi_0(pH_B) = (pH_B - pH_{pzc})\frac{\Delta\Psi_0}{\Delta pH}. \qquad (16)$$

以下の表１は、種々の金属酸化物および金属窒化物およびゼロ電荷のそれらの対応する点（pH_{pzc}）、ｐＨ感度（ΔV_{TH}）および９のｐＨにおける理論的最大表面ポテンシャルをリストする：

【表１】

表１

金属	酸化物／窒化物	pH_{pzc}	ΔV_{TH} (mV/pH)	ｐＨ＝９における理論的Ψ０（ｍＶ）
Al	Al_2O_3	9.2	54.5 (35 °C)	-11
Zr	ZrO_2	5.1	50	150
Ti	TiO_2	5.5	57.4 – 62.3 (32 °C, pH 3-11)	201
Ta	Ta_2O_5	2.9, 2.8	62.87 (35 °C)	384
Si	Si_3N_4	4.6 , 6-7	56.94 (25 °C)	251
Si	SiO_2	2.1	43	297
Mo	MoO_3	1.8 – 2.1	48-59	396
W	WO_2	0.3, 0.43, 0.5	50	435

【００１８】

慣用的なＣＭＯＳ処理技術に基づくｐＨ測定についてのＩＳＦＥＴを製造する先行する研究努力は、典型的には、１～１４のｐＨ範囲にわたって高いシグナル直線性を達成することを狙ってきた。ほぼ５０ｍＶ／ｐＨの例示的な閾値感度を用い、かつ前記した方程式（３）を考慮し、これは、ソース電圧V_Sに対してほぼ７００ｍＶの直線状操作範囲を必要とする。図１に関して先に議論したように、ＩＳＦＥＴ（ならびにＭＯＳＦＥＴ）の閾値電圧V_{TH}は、ソースおよび本体（ｎ－型ウェル５４）の間のいずれかの電圧V_{SB}によって影響される。より具体的には、閾値電圧V_{TH}は非ゼロのソース－対－本体電圧V_{SB}の非線形関数である。従って、図１に示すように、ソースおよび本体電圧ポテンシャルの間の差による危うい直線性を回避するためには（すなわち、「本体効果」を緩和するには）、ソース５６およびＩＳＦＥＴ５０の本体結合６２は、しばしば、金属接触６８を介して共通のポテンシャルにカップリングされる。この本体－ソースのカップリングもま

た図２に示されるＩＳＦＥＴ５０の電気回路表示に示される。

【００１９】

これまでの議論は、主として、方程式（６）および（７）に与えられる平衡反応に基づいてのＩＳＦＥＴ応答の定常状態分析に関し、分析物溶液７４のイオン強度の実質的に瞬間的変化（例えば、プロトンまたは他のイオン種濃度の段階的変化）に対する慣用的なＩＳＦＥＴの一過的または動的応答はいくつかの研究的努力において探索されてきた。ＩＳＦＥＴの一過的または動的応答の１つの例示的な処理は、「ＩＳＦＥＴ ｒｅｓｐｏｎｓｅｓ ｏｎ ａ ｓｔｅｐｗｉｓｅ ｃｈａｎｇｅ ｉｎ ｅｌｅｃｔｒｏｌｙｔｅ ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｉｏｎ ａｔ ｃｏｎｓｔａｎｔ ｐＨ」、Ｊ.Ｃ. ｖａｎ Ｋｅｒｋｏｆ, Ｊ.Ｃ.Ｔ.Ｅｉｊｋｅｌ ａｎｄ Ｐ. Ｂｅｒｇｖｅｌｄ, Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄＡｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ,１８－１９（１９９４）、ｐｐ.５６－５９に見出され、これは、ここに引用して援用される。

【００２０】

ＩＳＦＥＴ一過性応答では、分析物溶液中の１以上のイオン種の濃度の段階的変化は、今度は、二重層キャパシタンスC_{dl}の分析物溶液側の電荷密度σ_{dl}を実質的に瞬間的に変化させる。電荷密度σ_{dl}の瞬間的変化は不動態化層７２の表面おいて反応キネティックスよりも速いゆえに、表面電荷密度σ_0は最初は一定のままであり、イオン濃度の変化の結果、有効的に、二重層キャパシタンスC_{dl}の突然の変化をもたらす。方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。方程式（１０）から、一定の表面電荷密度σ_0におけるキャパシタンスC_{dl}のそのような突然の変化の結果、表面ポテンシャルΨ_0の対応する突然の変化がもたらされることが認識され得る。図２Ａはこの現象を説明し、そこでは、頂部グラフに示されるような、分析物溶液中のイオン濃度の実質的に瞬間的または段階的増加の結果、図２Ａの底部グラフに示されるような、表面ポテンシャルΨ_0の対応する変化をもたらす。いくらかの時間の後、不動態化層表面基が刺激体に対して反応するにつれ（すなわち、表面電荷密度が調整されるにつれ）、図２Ａの底部グラフに示されるＩＳＦＥＴ応答「パルス」７９の崩壊によって説明されるように、系はいくらかの平衡点に戻る。これまでの現象は、関連文献において（および、以後、本開示において）「イオン－ステップ」応答という。

【００２１】

図２Ａの底部グラフに示されるように、イオン－ステップ応答７９の振幅$\Delta\Psi_0$は以下によって特徴付けることができ：

【数１７】

$$\Delta\Psi_0 = \Psi_1 - \Psi_2 = \frac{\sigma_0}{C_{dl,1}} - \frac{\sigma_0}{C_{dl,2}} = \Psi_1\left(1 - \frac{C_{dl,1}}{C_{dl,2}}\right), \qquad (17)$$

ここに、Ψ_1は分析物溶液中の初期イオン濃度における平衡表面ポテンシャルであり、$C_{dl,1}$は初期イオン濃度における単位面積当たりの二重層キャパシタンスであり、Ψ_2はイオン－ステップ刺激体に対応する表面ポテンシャルであり、および$C_{dl,2}$はイオン－ステップ刺激体に基づく単位面積当たりの二重層キャパシタンスである。応答７９に関連する時間崩壊プロフィール８１は、少なくとも部分的には、（例えば、金属酸化物については方程式（６）および（７）によって、および金属窒化物については方程式（７ｂ）によって与えられるように）分析物溶液／不動態化層界面における平衡反応のキネティックスによって決定される。この点に関する１つの指令的処理は、「Ｍｏｄｅｌｉｎｇ ｔｈｅ ｓｈｏｒｔ－ｔｉｍｅ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｏｆ ＩＳＦＥＴ ｓｅｎｓｏｒｓ」, Ｐ.Ｗｏｉａｓ ｅｔ ａｌ., Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ, ２４－２５ （１９９５）２１１－２１７（以後、「Ｗｏｉａｓ」という）によって提供されており、その刊行物をここに引用して援用する。

【００２２】

Ｗｏｉａｓ刊行物においては、窒化ケイ素不動態化層を有する例示的なＩＳＦＥＴが考えられている。方程式（６）、（７）、および（７ａ）によって与えられる平衡反応に基づくカップリングされた非－線形微分方程式の系は、ｐＨの段階（実質的に瞬間的な）変化に対するＩＳＦＥＴの動的応答を記載するように処方されており；より具体的には、これらの方程式は、関連するプロトン受取およびプロトン供用反応についての順方向および逆方向速度定数、および分析物のｐＨのどのような変化が反応速度定数の１以上に影響するかに基づき、平衡反応に関与する種々の表面種の経時的な濃度の変化を記載する。そのいくつかは多数の指数関数および関連する時定数を含む例示的な解は、時間の関数としての表面イオン種の各々の濃度について提供されている。Ｗｏｉａｓによって提供される１つの例においては、方程式（６）によって与えられるプロトン供用反応は、ｐＨの比較的小さな段階変化についての窒化ケイ素不動態化層表面の一過的応答を支配し、それにより、以下に従って、応答７９の時間崩壊プロフィール８１についての単一－指数的近似を容易とすると仮定されており：

【数１８】

$$\Psi_0(t) = \Delta\Psi_0 e^{-t/\tau}, \qquad (18)$$

ここに、該指数関数は、時間の関数としての表面電荷密度の変化を実質的に表わす。方程式（１６）においては、時定数τは、以下に従って、バルクｐＨの関数であるとともに、不動態化層の材料パラメータであり：

【数１９】

$$\tau = \tau_0 \times 10^{pH/2}, \qquad (19)$$

ここに、τ_0は、材料パラメータのみに依存する理論的最小応答時間を示す。窒化ケイ素については、Ｗｏｉａｓは、６０マイクロ秒～２００マイクロ秒のオーダーのτ_0についての例示的な値を提供する。説明的例を提供する目的では、τ_0＝６０マイクロ秒および９のバルクｐＨを用い、方程式（１９）によって与えられる時定数τは１．９秒である。不動態化材料の他のタイプについての例示的な値は、関連文献において見出すことができ、および／または経験的に決定することができる。

【００２３】

図１のＩＳＦＥＴ設計に基づいてＩＳＦＥＴの二次元アレイを製造する従前の努力の結果、アレイ（すなわち、１６画素×１６画素アレイ）における２５６のＩＳＦＥＴセンサーエレメント（または「画素」）の最大がもたらされた。ＩＳＦＥＴアレイ製造における例示的研究は、刊行物「Ａ ｌａｒｇｅ ｔｒａｎｓｉｓｔｏｒ－ｂａｓｅｄ ｓｅｎｓｏｒ ａｒｒａｙ ｃｈｉｐ ｆｏｒ ｄｉｒｅｃｔ ｅｘｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ ｉｍａｇｉｎｇ」，Ｍ．Ｊ．Ｍｉｌｇｒｅｗ，Ｍ．Ｏ．Ｒｉｅｈｌｅ，ａｎｄ Ｄ．Ｒ．Ｓ．Ｃｕｍｍｉｎｇ，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ，Ｂ：Ｃｈｅｍｉｃａｌ，１１１－１１２，（２００５），ｐｐ．３４７－３５３，および「Ｔｈｅ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ｓｃａｌａｂｌｅ ｓｅｎｓｏｒ ａｒｒａｙｓ ｕｓｉｎｇ ｓｔａｎｄａｒｄ ＣＭＯＳ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」，Ｍ．Ｊ．Ｍｉｌｇｒｅｗ，Ｐ．Ａ．Ｈａｍｍｏｎｄ，ａｎｄ Ｄ．Ｒ．Ｓ．Ｃｕｍｍｉｎｇ，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ，Ｂ：Ｃｈｅｍｉｃａｌ，１０３，（２００４），ｐｐ．３７－４２に報告されており、その刊行物はここに引用して援用され、以下、「Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．」と集合的に言う。ＩＳＦＥＴアレイの実現に関連する他の研究努力は、刊行物「Ａ ｖｅｒｙ ｌａｒｇｅ ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ｐＨ－ＩＳＦＥＴ ｓｅｎｓｏｒ ａｒｒａｙ ｃｈｉｐ ｃｏｍｐａｔｉｂｌｅ ｗｉｔｈ ｓｔａｎｄａｒｄ ＣＭＯＳ ｐｒｏｃｅｓｓｅｓ」，Ｔ．Ｃ．Ｗ．Ｙｅｏｗ，Ｍ．Ｒ．Ｈａｓｋａｒｄ，Ｄ．Ｅ．Ｍｕｌｃａｈｙ，Ｈ．Ｉ．Ｓｅｏ ａｎｄ Ｄ．Ｈ．Ｋｗｏｎ，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ：４３４－４４０お

よび「Ｆａｂｒｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｔｗｏ－ｄｉｍｅｎｓｉｏｎａｌ ｐＨ ｉｍａｇｅ ｓｅｎｓｏｒ ｕｓｉｎｇ ａ ｃｈａｒｇｅ ｔｒａｎｓｆｅｒ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ」，Ｈｉｚａｗａ，Ｔ．，Ｓａｗａｄａ，Ｋ．，Ｔａｋａｏ，Ｈ．，Ｉｓｈｉｄａ，Ｍ．，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ，Ｂ：Ｃｈｅｍｉｃａｌ １１７（２），２００６，ｐｐ．５０９－５１５に報告されており、その刊行物もまたここに引用して援用する。

【００２４】

図３は、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．の設計に従った二次元ＩＳＦＥＴアレイの１つの列85_jを示す。列85_jは、１６の画素80_1～80_{16}を含み、図７に関連して以下にさらに議論するように、完全な二次元アレイは、隣り合わせに配置された１６のそのような列85_j（ｊ＝１、２、３、・・・１６）を含む。図３に示されるように、所与の列85_jは、該列の全ての画素によって共有される電流ソース$I_{SOURCEj}$、および該列の全ての画素によってやはり共有される（電流シンクI_{SINKj}を含めた）ＩＳＦＥＴバイアス／読出回路82_jを含む。各ＩＳＦＥＴ画素80_1～80_{16}は、（図１および２に示すような）電気的にカップリングされたソースおよび本体を有するｐ－チャネルＩＳＦＥＴ５０と、１６の行選択シグナル（$RSEL_1$～$RSEL_{16}$、およびそれらの相補体）のうちの１つに対して応答性である２つのスイッチＳ１およびＳ２を含む。図７に関連して以下に議論するように、行選択シグナルおよびその相補体は同時に生じて、該列85_jの所与の画素を「可能とし（enable）」または選択し、そのようなシグナル対は、いくつかの配列において生じて、一度に該列の異なる画素を連続的に可能とする。

【００２５】

図３に示すように、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．の設計における各画素８０のスイッチＳ２は、対応する行選択シグナルの受領に際して、電流ソース$I_{SOURCEj}$をＩＳＦＥＴ５０のソースにカップリングさせる慣用的なｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴとして実施される。各画素８０のスイッチＳ１は、伝達ゲート、すなわち、対応する行選択シグナルおよびその相補体の受領に際して、ＩＳＦＥＴ５０のソースをバイアス／読出回路82_jにカップリングさせる、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴを含めたＣＭＯＳ対として実施される。画素80_1のスイッチ$S1_1$の例は図４に示され、そこでは、伝達ゲートのｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴは$S1_{1P}$として示され、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴは$S1_{1N}$として示される。Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．の設計において、伝達ゲートは、可能とされた画素については、電力供給レンジV_{DD}～V_{SS}内のいずれのＩＳＦＥＴソース電圧もバイアス／読出回路82_jに適用でき、シグナルV_{Sj}として該列によって出力されるように、各画素のスイッチＳ１について使用される。これまでのことより、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．のＩＳＦＥＴセンサーアレイ設計における各画素８０は４つのトランジスタ、すなわち、ｐ－チャネルＩＳＦＥＴ、スイッチＳ１についてのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ、およびスイッチＳ２についてのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴを含めたＣＭＯＳ－対伝達ゲートを含むことが認識されるべきである。

【００２６】

図３にやはり示されるように、バイアス／読出回路82_jは、ケルビンブリッジの形態のソース－ドレインフォロウア配置を使用して、一定のドレイン－ソース電圧V_{DSj}を維持し、ソース電圧V_{Sj}の測定を、列85_jにおける可能とされた画素のＩＳＦＥＴについての一定ドレイン電流$I_{SOURCEj}$から単離する。この目的で、バイアス／読出回路82_jは、２つの操作増幅器Ａ１およびＡ２、電流シンクI_{SINKj}、およびレジスタR_{SDj}を含む。レジスタR_{SDj}を通って流れる電流I_{SINKj}のため該レジスタを横切って発生した電圧は、操作増幅器によって強制されて、一定ドレイン－ソース電圧V_{DSj}として可能とされた画素のＩＳＦＥＴのドレインおよびソースを横切って出現する。かくして、方程式（３）を再度参照し、一定V_{DSj}および一定$I_{SOURCEj}$のため、可能とされた画素のＩＳＦＥＴのソース電圧V_{Sj}は、ＩＳＦＥＴ閾値電圧V_{TH}に対応するシグナルおよび、よって、ＩＳＦＥＴ感受性エリアに近接するｐＨの測定を

供する（図１参照）。伝達ゲートＳ１によって供されるソース電圧V_{Sj}についての広い動的レンジは、１～１４のｐＨ値の十分な範囲を測定できることを確実とし、および各ＩＳＦＥＴのソース－本体連結は、十分なｐＨ測定レンジにわたってＩＳＦＥＴ閾値電圧の十分な直線性を確実とする。

【００２７】

図３に示されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の列設計においては、適切に機能させるための列バイアス／読出回路８２$_j$のケルビンブリッジ構成については、図１に示されるようにｐ－チャネルＩＳＦＥＴ５０は各画素で使用されなければならず；より具体的には、ケルビンブリッジ構成に基づく代替実施は、ｎ－チャネルＩＳＦＥＴを用いて可能ではないことは認められるべきである。再度、図１を参照し、慣用的なＣＭＯＳプロセスに基づくｎ－チャネルＩＳＦＥＴについては、ｎ－タイプのウェル５４は必要ではなく、ドレインおよびソースについての高度にドープされたｎ－タイプの領域は、（トランジスタ本体を構成するであろう）ｐ－タイプのシリコン基板５２に直接的に形成されるであろう。ｎ－チャネルＩＦＥＴデバイスについては、トランジスタ本体は、典型的には、電気的アースにカップリングされる。Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計におけるＩＳＦＥＴのソースおよび本体は電気的に一緒にカップリングされて、本体効果による非線形性能を緩和させる要件を仮定すれば、この結果、やはり電気的アース（すなわち、$V_S = V_B = 0$ボルト）に連結され、それにより、可能とされた画素からのいずれの有用な出力シグナルも排除するｎ－チャネルＩＳＦＥＴのソースをもたらすであろう。従って、図３に示されるＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の列設計は、適切な操作のためにｐ－チャネルＩＳＦＥＴを必要とする。

【００２８】

図３に示されるＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の列設計において、各画素におけるスイッチＳ１およびＳ２を実行するのに必要な２つのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴは図１に示されるｎ－タイプのウェル５４では形成できず、そこでは、画素についてのｐ－チャネルＩＳＦＥＴが形成され；むしろ、ＩＳＦＥＴについてのｎ－タイプのウェル５４の制約を超えて、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴがｐ－タイプのシリコン基板５２に直接的に形成されるのも認められるべきである。図５は図１と同様なダイアグラムであり、図３に示される列８５ｊの１つの画素８０に対応するｐ－タイプのシリコン基板５２の一部のより広い断面を示し、そこでは、ＩＳＦＥＴ５０のドレイン５８、ソース５６および本体結合６２を含むｎ－タイプのウェル５４が、スイッチＳ２に対応する第１のｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴ、および図４に示される伝達ゲート$S1_1$の２つのトランジスタのうちの１つを構成する第２のｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴ　$S1_{1N}$のそばに示される。

【００２９】

さらに、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計において、各画素において伝達ゲートＳ１を実施するのに必要なｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ（例えば、図４中の$S1_{1P}$参照）は、画素についてのｐ－チャネルＩＳＦＥＴ５０が形成される同一のｎ－タイプのウェルに形成することができない。特に、ｐ－チャネルＩＳＦＥＴの本体およびソースは電気的に一緒にカップリングされるゆえに、ｐ－チャネルＩＳＦＥＴ５０と同一のｎ－ウェル中でのｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ　$S1_{1P}$の実施は、伝達ゲートの予測できない操作に至り、あるいは操作を全く排除する。従って、２つの別々のｎ－タイプのウェルが、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計において各画素を実施するのに必要とされる。図６は図５と同様なダイアグラムであり、１つの画素８０に対応するｐ－タイプのシリコン基板５２のもう１つの一部の断面を示し、そこでは、ＩＳＦＥＴ５０に対応するｎ－タイプのウェル５４が、図４に示される伝達ゲート$S1_1$の２つのトランジスタのうちの１つを構成するｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ　$S1_{1P}$が形成される第２のｎ－タイプのウェル５５のそばに示される。図５および６中の図面はスケール通りではなく、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計における特定の画素の現実のレイアウトを正確に表わさないかもしれず；むしろこれらの図面は性質が概念的であり、主として、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計において、多数のｎ－ウェル、および該ｎ－ウェルの外側で製造される別々のｎ－チャネ

ルＭＯＳＦＥＴの要件を説明するために提供されることは認められるべきである。

【００３０】

Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．のアレイ設計は、０．３５マイクロメートル（μｍ）の慣用的なＣＭＯＳ製造プロセスを用いて実施された。このプロセスにおいては、種々の設計の規則が、特徴の間の最小分離距離を指令する。例えば、０．３５μｍのＣＭＯＳ設計規則に従い、図６を参照し、隣接するｎ－ウェルの間の距離「ａ」は少なくとも３マイクロメートルでなければならない。距離「ａ／２」もまた、図６において、ｎ－ウェル５４の左側、およびｎ－ウェル５５の右側に示されて、各々、左側および右側に、他の列中の隣接する画素から図６に示される画素８０を分離するのに必要な最小距離を示す。加えて、典型的な０．３５μｍのＣＭＯＳ設計規則に従うと、ｎ－タイプのウェル５４の断面中の幅を表わす図６に示される距離「ｂ」、およびｎ－タイプのウェル５５の断面中の幅を表わす距離「ｃ」は、各々、ほぼ３μｍ～４μｍのオーダーである（ｎ－タイプのウェル内では、１．２μｍの許容がｎ－ウェルのエッジおよびソースおよびドレインの各々の間でなされ、ソースおよびドレインそれ自体は０．７μｍのオーダーの幅を有する）。従って、断面中の画素８０の幅を表わす図６に示される合計距離「ｄ」は、ほぼ１２μｍ～１４μｍのオーダーである。１つの実施において、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．は、各々が、１２．８μｍ×１２．８μｍの寸法を有する、幾何学的に四角の画素を含む図３に示される列／画素設計に基づくアレイを報告する。

【００３１】

まとめると、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．のＩＳＦＥＴ画素設計は、１～１４のｐＨ範囲にわたる正確な水素イオン濃度測定を確実とすることをねらっている。測定の直線性を保証するために、各画素のＩＳＦＥＴのソースおよび本体は電気的に一緒にカップリングされている。ｐＨ測定の十分な範囲を保証するために、伝達ゲートＳ１が各画素で使用されて、可能とされた画素のソース電圧を伝達する。かくして、Ｍｉｌｇｒｅｗのアレイの各画素は、４つのトランジスタ（ｐ－チャネルＩＳＦＥＴ、ｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ、および２つのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴ）および２つの別々のｎ－ウェルを必要とする（図６）。０．３５マイクロメートルの慣用的ＣＭＯＳ製造プロセスおよび対応する設計規則に基づき、そのようなアレイの画素は、認識可能に１０μｍよりも大きな、すなわち、ほぼ１２μｍ～１４μｍのオーダーの最小サイズを有する。

【００３２】

図７は、伴う行および列デコーダ回路および測定読出回路と共に、Ｍｉｌｇｒｅｗ ｅｔ ａｌ．の設計に従った完全な二次元画素アレイ９５を示す。アレイ９５は、各々の列が、図３に関連して先に議論された１６の画素（すなわち、１６画素×１６画素アレイ）を有する、画素の１６の列85_1～85_{16}を含む。行デコーダ９２は相補的行選択シグナルの１６の対を供し、ここに、行選択シグナルの各対は、各列85_1～85_{16}において１つの画素を同時に可能として、ＩＳＦＥＴの可能とされた行の各ソース電圧V_{S1}～V_{S16}に基づく、アレイ９５からの列出力シグナルの組を提供する。行デコーダ９２は、慣用的な４－対－１６デコーダとして実施される（すなわち、2^4出力のうち１つを選択するための４－ビット二元入力ROW_1～ROW_4）。アレイの可能とされた行についての列出力シグナルV_{S1}～V_{S16}の組は、１６の伝達ゲートＳ１～Ｓ１６を含むスイッチングロジック９６に適用される（各出力シグナルについて１つの伝達ゲート）。前記したように、スイッチングロジック９６の各伝達ゲートは、ｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴを用いて実施されて、出力シグナルV_{S1}～V_{S16}の各々についての十分な動的レンジを確実とする。列デコーダ９４は、行デコーダ９２と同様に、慣用的な４－対－１６デコーダとして実施され、４－ビット二元入力COL_1～COL_4を介して制御されて、スイッチングロジック９６からのシグナル出力シグナルV_Sを供するように、いずれかの所与の時間において、スイッチングロジック９６の伝達ゲートＳ１～Ｓ１６のうち１つを可能とする。この出力シグナルV_Sは、デジタルコンバータ（ＡＤＣ）９８に対する１０－ビットアナログに適用して、アレイの所与の画素に対応する出力シグナルV_Sのデジタル表示D_1～D_{10}を供する。

【００３３】
より先に述べたように、前記で議論したのと同様な個々のＩＳＦＥＴおよびＩＳＦＥＴのアレイが、種々の化学的および生物学的適用において検知デバイスとして使用されてきた。特に、ＩＳＦＥＴが、ＤＮＡのような核酸を含む種々のプロセスのモニタリングにおいてpHセンサーとして使用されてきた。種々のライフ－サイエンス関連適用においてＩＳＦＥＴを使用するいくつかの例が、その各々をここに引用して援用する、以下の刊行物に与えられている。Ｍａｓｓｉｍｏ Ｂａｒｂａｒｏ，Ａｎｎａｌｉｓａ Ｂｏｎｆｉｇｌｉｏ，Ｌｕｉｇｉ Ｒａｆｆｏ，Ａｎｄｒｅａ Ａｌｅｓｓａｎｄｒｉｎｉ，Ｐａｏｌｏ Ｆａｃｃｉ ａｎｄ Ｉｍｒｉｃｈ Ｂａｒｋ，「Ｆｕｌｌｙ ｅｌｅｃｔｒｏｎｉｃ ＤＮＡ ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｂｙ ａ ｓｔａｎｄａｒｄ ＣＭＯＳ ｂｉｏｃｈｉｐ」，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ：Ｃｈｅｍｉｃａｌ，Ｖｏｌｕｍｅ １１８，Ｉｓｓｕｅｓ １－２，２００６，ｐｐ．４１－４６；Ｔｏｓｈｉｎａｒｉ Ｓａｋｕｒａｉ ａｎｄ Ｙｕｚｕｒｕ Ｈｕｓｉｍｉ，「Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ＤＮＡ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ ｂｙ ａ ｍｉｃｒｏ ＩＳＦＥＴ ｐＨ ｓｅｎｓｏｒ」，Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．，６４（１７），１９９２，ｐｐ １９９６-１９９７；Ｓ．Ｐｕｒｕｓｈｏｔｈａｍａｎ，Ｃ．Ｔｏｕｍａｚｏｕ，Ｊ．Ｇｅｏｒｇｉｏｕ，「Ｔｏｗａｒｄｓ ｆａｓｔ ｓｏｌｉｄ ｓｔａｔｅ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ」，Ｃｉｒｃｕｉｔｓ ａｎｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，ｖｏｌ．４，２００２，ｐｐ．ＩＶ－１６９ ｔｏ ＩＶ－１７２；Ｓ．Ｐｕｒｕｓｈｏｔｈａｍａｎ，Ｃ．Ｔｏｕｍａｚｏｕ，Ｃ．Ｐ．Ｏｕ，「Ｐｒｏｔｏｎｓ ａｎｄ ｓｉｎｇｌｅ ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ｐｏｌｙｍｏｒｐｈｉｓｍ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ：Ａ ｓｉｍｐｌｅ ｕｓｅ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｉｏｎ Ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ Ｆｉｅｌｄ Ｅｆｆｅｃｔ Ｔｒａｎｓｉｓｔｏｒ」，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ：Ｃｈｅｍｉｃａｌ，Ｖｏｌ．１１４，ｎｏ．２，２００６，ｐｐ．９６４－９６８；Ａ．Ｌ．Ｓｉｍｏｎｉａｎ，Ａ．Ｗ．Ｆｌｏｕｎｄｅｒｓ，Ｊ．Ｒ．Ｗｉｌｄ，「ＦＥＴ－Ｂａｓｅｄ Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒｓ ｆｏｒ Ｔｈｅ Ｄｉｒｅｃｔ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｏｒｇａｎｏｐｈｏｓｐｈａｔｅ Ｎｅｕｒｏｔｏｘｉｎｓ」，Ｅｌｅｃｔｒｏａｎａｌｙｓｉｓ，Ｖｏｌ．１６，Ｎｏ．２２，２００４，ｐｐ．１８９６－１９０６；Ｃ．Ｔｏｕｍａｚｏｕ，Ｓ．Ｐｕｒｕｓｈｏｔｈａｍａｎ，「Ｓｅｎｓｉｎｇ Ａｐｐａｒａｔｕｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄ」，Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ ２００４－０１３４７９８，２００４年7月１５日発行；およびＴ．Ｗ．Ｋｏｏ，Ｓ．Ｃｈａｎ，Ｘ．Ｓｕ，Ｚ．Ｊｉｎｇｗｕ，Ｍ．Ｙａｍａｋａｗａ，Ｖ．Ｍ．Ｄｕｂｉｎ，「Ｓｅｎｓｏｒ Ａｒｒａｙｓ ａｎｄ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」，Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ ２００６－０１９９１９３，２００６年9月7日発行。

【００３４】
一般に、自動ＤＮＡシーケンサを利用する迅速かつ感受性の核酸配列決定方法の開発は、生物学の理解をかなり進歩させた。用語「配列決定」とは、分岐していない生体ポリマーの一次構造（または一次配列）の決定をいい、その結果、配列決定された分子の原子－レベルの構造の多くを簡単にまとめる「配列」として知られた記号的直線状描写をもたらす。「ＤＮＡ配列決定」は、特に、所与のＤＮＡ断片のヌクレオチドの順序を決定するプロセスをいう。ウイルス、細菌、真菌、動物および植物の全ゲノムの分析は今日可能であるが、そのような分析は、一般に、そのような大きなゲノムを配列決定するのに必要なコストおよび時間のため制限されている。さらに、本慣用的配列決定方法は、それらの精度、配列決定できる個々の鋳型の長さ、および配列決定の速度の点で制限される。

【００３５】
試料の調製および配列決定技術の改良にもかかわらず、ＩＳＦＥＴを含み得る今日のそれを含めた本慣用的配列決定戦略のいずれも、個々のヒトゲノムの非常に多数の分析で必要なレベルまでスループットを増加させるのに必要なコスト低下を提供していない。多く

のヒトゲノムを配列決定する能力は、例えば、（例えば、癌のような）病気および老化の根底となる遺伝子ベースの分析を容易とする。いくつかの最近の努力は、配列決定のためにゲノムを調製する、および同時に非常に多数の鋳型を配列決定する能力の双方においてかなりの収穫を成した。しかしながら、これらおよび他の努力は、これらの系によって検出可能な鋳型を調製するのに必要な反応容量の比較的大きなサイズ、ならびに特殊なヌクレオチドアナログ、およびヌクレオチド配列を「読み出す」ための複雑な酵素的または蛍光方法に対する必要性によって依然として制限されている。

【発明の概要】

【００３６】

我々は、ＩＳＦＥＴの大きなアレイを特に構成し、それを使用して、ＤＮＡ合成を含めた化学的プロセスの変化のモニタリングに基づいてＤＮＡ配列決定技術を促進することができるのを認識し、認めた。より一般的には、出願人らは、化学的に感受性のＦＥＴ（すなわち、ｃｈｅｍＦＥＴ）の大きなアレイを使用して、価値ある情報をそのような分析物測定に基づいて得ることができる、化学的および／または生物学的プロセス（例えば、生物学的または化学的反応、細胞または組織の培養、またはモニタリング、神経活性、核酸配列決定等）の宿主において、種々の分析物（例えば、水素イオン、他のイオン、非イオン性分子または化合物等）の静的および／または動的濃度／レベルを検出し、測定することができるのを認識し、認めた。

【００３７】

従って、本開示の種々の実施形態は、一般に、１以上の分析物を測定するための大規模なＦＥＴアレイに関する発明的方法および装置に向けられる。本明細書中に開示される種々の実施形態において、ＦＥＴアレイは、化学センサーとして作用する多数のｃｈｅｍＦＥＴを含む。先に議論したＩＳＦＥＴは、イオン検出のために構成されたｃｈｅｍＦＥＴ、および本明細書中に開示される種々の実施形態で使用することができるＩＳＦＥＴの特別なタイプである。本開示によって考えられるｃｈｅｍＦＥＴの他のタイプは、酵素を使用して分析物を検出する酵素ＦＥＴ（ＥｎＦＥＴ）を含む。しかしながら、本開示はＩＳＦＥＴおよびＥｎＦＥＴに限定されず、より一般的には、化学的感度のいくつかのタイプについて構成されるいずれのＦＥＴにも関することを認識されたい。本明細書中で用いるように、化学的感度は、広く、限定されるものではないが、有機、無機、天然に生じる、天然に生じない、および合成の、イオン、小分子のような化学的および生物学的化合物、核酸、蛋白質、ペプチド、多糖等のようなポリマーを含めた、注目するいずれの分子に対する感度も含む。

【００３８】

なお他の実施形態によると、本開示は、一般に、化学的または生物学的試料の分析における前記した大規模なｃｈｅｍＦＥＴアレイの使用に関する発明的方法および装置に向けられる。これらの試料は、分析物（例えば、イオンまたは他の成分）の存在、分析物に関する濃度または他の測定の高速の高密度決定を容易とするために、典型的には液体であり（または液体に溶解させ）および小さな容量のものである。

【００３９】

例えば、いくつかの実施形態は、「非常に大規模な」二次元のｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイ（例えば、２５６を超えるセンサー）に向けられ、ここに、そのようなアレイのセンサーを構成する１以上のｃｈｅｍＦＥＴ－含有エレメントまたは「画素」は、アレイの画素に近接して起こる、１以上の独立した生物学的または化学的反応または事象をモニターするように構成される。いくつかの例示的な実施において、アレイは、アレイの個々のセンサーまたはセンサーのグループ上に１以上の反応チャンバー、または「ウェル」または「マイクロウェル」を形成する１以上のミクロ流体構造、および分析物試料（すなわち、分析物溶液）をウェルに送達し、それらを、測定の間にウェルから除去する装置にカップリングされていてよい。例えマイクロウェルが使用されない場合であっても、センサーアレイは、１以上の分析物の画素への送達のための、および測定の間における分析物の除去のための１以上のミクロ流体構造にカップリングされていてよい。従って、以下により

詳細に議論されるように、保護するのが望まれる本開示の発明的態様は、分析物および、適切には、例えば、分析物の検出および測定で有用な他の試薬をウェルまたは画素へ、およびウェルまたは画素から流動させるのに使用することができる種々のミクロ流体構造、ウェルのアレイの製造方法、アレイ化されたウェルをアレイ化された画素とカップリングさせるための方法および構造、および例えば、装置をＤＮＡ配列決定または関連分析に用いる場合に、ウェルにＤＮＡ担持ビーズを負荷（loading）することを含めた、ウェルに分析すべき試料を負荷するための方法および装置を含む。

【００４０】

ミクロ流体に関しては、ユニークな参照電極およびフローセルへのそれらのカップリングも示される。

【００４１】

本発明の種々の態様において、特に注目する分析物は核酸合成の副産物である。そのような副産物は配列決定×合成方法の読出としてモニターすることができる。１つの特に重要な副産物は、（本明細書中においては、ｄＮＴＰとも言われる）デオキシヌクレオチド三リン酸の、（配列決定プライマーのような）核酸の３’末端への負荷（または取込み）に際して放出される無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）である。ＰＰｉは水の存在下で（所望により、かつピロホスファターゼの存在下においてはかなりより迅速に）、オルトホスフェート（Ｐｉ）および遊離水素イオン（H^+）に加水分解され得る。その結果、ヌクレオチドの取込み、またかくして、配列決定×合成反応を、ＰＰｉ、Ｐｉおよび／またはH^+を検出することによってモニターすることができる。慣用的にはＰＰｉはｃｈｅｍＦＥＴによって検出されたり測定されたりしなかった。光学的ベースの配列決定×合成方法は、アデノシン三リン酸（ＡＴＰ）へのそのスルフリラーゼ媒介変換、次いで、光の同時放出を伴う、従前に生じたＡＴＰの存在下でのルシフェリンのオキシルシフェリンへのルシフェラーゼ－媒介変換を介して、ＰＰｉを検出してきた。そのような検出は、本明細書中においては、ＰＰｉの「酵素的」検出という。本発明は、非酵素的方法を用いてＰＰｉを検出する方法を提供する。本明細書中で用いる場合、ＰＰｉの非酵素的検出は、第一の場合においてＰＰｉを生じさせ、または放出するのに必要ないずれかの酵素（例えば、ポリメラーゼ）以外の酵素を必要としないＰＰｉの検出である。ＰＰｉの非酵素的検出の一例は、ＰＰｉのＡＴＰへの変換を必要としない検出方法である。

【００４２】

Ｈ＋は、標準ｐＨメーターを用い、あるいはいくつかの場合においては、ＩＳＦＥＴを用いてｐＨ変化を測定することによって検出されてきた。重要な事には、ＩＳＦＥＴを用いてヌクレオチド取込を検出する全てではないが多くの先行する試みはｐＨ変化のみに焦点を当てており、放出されたＰＰｉの検出または測定には焦点を当てていなかった。

【００４３】

本発明では、ＰＰｉ（またはＰｉ）特異的受容体、取り込まれていないｄＮＴＰ、またはそのいくつかの組合せの不存在下または存在下でＨ＋（またはｐＨの変化）、ＰＰｉ（またはＰｉ）を検出することによって、核酸配列決定反応をモニタリングし、かくして、核酸のヌクレオチド配列を決定するための方法が考えられ、かくして、それを提供する。従って、いくつかの態様はｐＨモニタリングを狙っており、他方、他の態様は、ＦＥＴ表面と接触した溶液中のイオン種の変化から得られるそのような表面におけるイオンパルスをモニタリングし（および検出する）ことを狙っている。

【００４４】

かくして、本発明の種々の態様は、ヌクレオチドの核酸への取込みのインジケーターとして放出されたＰＰｉを直接的に検出するための方法および装置を提供する。本発明は、本明細書中に記載されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの使用を介してそれを行う。いくつかの実施形態において、核酸合成反応は、ｃｈｅｍＦＥＴと接触している溶液中で行われ、放出されたＰＰｉはｃｈｅｍＦＥＴ表面によって検出され（または検知される）。重要な事には、ＰＰｉを直接的に検出する本発明のｃｈｅｍＦＥＴの能力を仮定すれば、そのような合成および／または配列決定反応を行うことができ、いくつかの例においては、実質的に

ｐＨ感受性である環境（すなわち、ｐＨの変化が、例えば、環境の強力な緩衝能力のため検出されない環境）において好ましくは行われる。

【００４５】

他の実施形態において、注目する分析物は水素イオンであって、本開示による大規模なＩＳＦＥＴアレイは、具体的にはH^+濃度の変化（すなわち、ｐＨの変化）を測定するように構成される。

【００４６】

他の実施形態において、他の生物学的または化学的反応をモニターすることができ、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは、具体的には、水素イオンおよび／または注目する特定の生物学的または化学的プロセスの出現および／または進行に関連する重要な情報を提供する１以上の他の分析物を測定するように構成することができる。

【００４７】

種々の態様において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは慣用的なＣＭＯＳ（またはｂｉＣＭＯＳまたは他の適当な）加工技術を用いて製造することができ、特に、（対応する画素出力シグナルを得るために画素の全てをスキャニングする）全アレイからのデータの迅速な獲得を容易とするように構成される。

【００４８】

分析物の検出および測定に関しては、以下により詳細に議論される種々の実施形態において、本開示に従ったｃｈｅｍＦＥＴアレイによって測定された１以上の分析物は、生物学的または化学的プロセスに関する関連情報（例えば、核酸の相互に対するハイブリダイゼーション、抗原－抗体結合、受容体－リガンド結合、酵素－阻害剤結合、酵素－基板結合等のような結合事象）を供する種々の生物学的または化学的物質のいずれかを含むことができるのを認めるべきである。いくつかの態様において、分析物の存在または不存在を単に決定することに加えて、１以上の分析物の絶対的または相対的ならびに静的および/または動的レベルおよび/または濃度を測定する能力は、生物学的および化学的プロセスに関連する価値ある情報を提供する。他の態様において、注目する分析物または複数分析物の存在または不存在の単なる決定は、十分であり得る価値ある情報を提供することができる。

【００４９】

本開示の種々の発明的実施形態によるｃｈｅｍＦＥＴアレイは、種々の分析物のいずれかの１以上に対する感度のために構成することができる。１つの実施形態において、アレイの１以上のｃｈｅｍＦＥＴは、１以上の分析物に対する感度のために特に構成することができ、他の実施形態においては、所与のアレイの異なるｃｈｅｍＦＥＴは異なる分析物に対する感度のために構成することができる。例えば、１つの実施形態において、アレイの１以上のセンサー（画素）は、第１の分析物に対して感受性であるように構成された第１のタイプのｃｈｅｍＦＥＴを含むことができ、およびアレイの１以上の他のセンサーは、第１の分析物とは異なる第２の分析物に対して感受性であるように構成されたｃｈｅｍＦＥＴの第２のタイプを含むことができる。１つの実施形態において、第１および第２の分析物は相互に関連していてもよい。例として、第１および第２の分析物は、同一の生物学的または化学的反応／プロセスの副産物であってよく、従って、それらは同時に検出して、反応の出現（またはその欠如）を確認することができる。そのような冗長性は、好ましくは、いくつかの分析物検出方法にある。もちろん、ｃｈｅｍＦＥＴの２を超える異なるタイプを、いずれかの所与のアレイで使用して、分析物の異なるタイプを検出し、および/または測定し、および所望により、結合事象のような生物学的または化学的プロセスをモニターすることができるのは認識すべきである。一般に、所与のセンサーアレイは「均一」であり、従って、同一分析物（例えば、ｐＨまたは他のイオン濃度）を検出するおよび/または測定する実質的に同様または同一のタイプのｃｈｅｍＦＥＴよりなることができ、あるいはセンサーアレイは「不均一」であり、異なる分析物を検出し、および/または測定するための異なるタイプのchemFETを含むのは、本明細書中で議論したセンサーアレイの実施形態にいずれにおいても認識されるべきである。もう１つの実施形態におい

て、アレイ中のセンサーは、検出されたおよび／または測定されたそのタイプ（またはクラス）の種がセンサーの間で異なってもよいが、分析物の単一タイプ（またはクラス）を検出しおよび／または測定するように構成することができる。例として、アレイ中の全てのセンサーは、核酸を検出し、および/または測定するように構成することができるが、各センサーは異なる核酸を検出し、および/または測定する。

【００５０】

なお他の態様において、出願人等は、図１～７との関連において先に議論したＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．のＩＳＦＥＴアレイ設計、ならびに他の慣用的なＩＳＦＥＴアレイ設計を特異的に改良して、画素のサイズを有意に低下させ、それにより、所与の半導体ダイサイズに対するｃｈｅｍＦＥＴアレイの画素の数を増加させた（すなわち、画素密度を増加させた）。種々の実施形態において、画素の密度のこの増加は、同時に、モニターされた生物学的および化学的プロセスに対応する出力シグナルのシグナル-対-ノイズ比率（ＳＮＲ）、およびそのような出力シグナルをアレイから読むことができるスピードを増加させつつ達成される。特に、出願人らは、ｃｈｅｍＦＥＴ直線性についての要件を緩和し、１以上の限定された測定出力シグナル範囲（例えば、１～１４よりはむしろほぼ７～９以下のｐＨ範囲に対応する出力シグナル、ならびにｐＨに必ずしも有意に関連しない出力シグナル）に焦点を当てることによって、個々の画素の複雑性およびサイズを有意に低下させ、それにより、非常に大規模な密なｃｈｅｍＦＥＴアレイの実現を促進することができるのを認識し、認めた。また、出願人らは、ｃｈｅｍＦＥＴアレイにおける画素選択に対する別のより複雑でないアプローチ（例えば、その複雑性はアレイのサイズと共に倍率変更する、図７に示された、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計で使用される行および列デコーダーアプローチに対する代替法）、ならびにＩＳＦＥＴ応答モデリングおよびそのようなモデリングに基づくデータ外挿を含む種々のデータ処理技術は、有意に大きくかつ密なアレイからのデータの迅速な獲得を促進することも認識し、認めた。

【００５１】

ｃｈｅｍＦＥＴアレイ製造に関しては、出願人らは、さらに、慣用的ＣＭＯＳ製造プロセスで使用される種々の技術、ならびに種々のポスト製造処理工程（ウエハーの取扱い、洗浄、ダイシング、パッケージング等）は、いくつかの例においては得られたｃｈｅｍＦＥＴアレイの性能に悪影響し得るのを認識し、認めた。例えば、再度、図１を参照し、１つの潜在的問題点は、フローティングゲート構造７０に関連する金属のエッチングの間にゲート酸化物６５において誘導できるトラップされた電荷、およびどのようにしてそのようにトラップされた電荷がｃｈｅｍＦＥＴ閾値電圧V_{TH}に影響し得るかに関する。もう１つの潜在的問題点は、アルミニウム金属ベースのＣＭＯＳ製造で通常使用される低温材料蒸着プロセスに由来する、ｃｈｅｍＦＥＴ不動態化層の密度/多孔度に関する（例えば、図１におけるＩＳＦＥＴ不動態化層７２参照）。そのような低温プロセスは、一般に、慣用的なＣＭＯＳデバイスのための適切な不動態化層を供するが、その結果、分析物溶液と接触したｃｈｅｍＦＥＴについては潜在的に問題であり得る幾分低密度かつ多孔性の不動態化層をもたらしかねず；特に、低密度多孔性不動態化層は、経時的に、溶液中の分析物または他の物質を吸収しかねず、かつそれに飽和しかねず、これは、今度は、ｃｈｅｍＦＥＴ閾値電圧V_{TH}において望ましくない時間変化ドリフトを引き起こしかねない。この現象は、今度は、注目する１以上の特定の分析物の正確な測定を妨げるであろう。これまでの事を考慮すると、本明細書中で開示された他の発明的実施形態は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイの製造および製造後処理／取扱の種々の態様から生起し得るｃｈｅｍＦＥＴの性能に対する潜在的に有害な効果を緩和する方法および装置に関する。

【００５２】

従って、本発明の１つの実施形態は、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含み、１０μm^2以下のアレイの表面の面積を占有する。

【００５３】

もう１つの実施形態は、エレクトロニクスセンサーの少なくとも５１２の行および少な

くとも５１２の列を含めたエレクトロニクスセンサーの二次元アレイを含むセンサーアレイに向けられ、各センサーは、二次元アレイの表面に近接する分析物の存在および／または濃度を表す少なくとも１つの出力シグナルを供するように構成された１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。

【００５４】

もう１つの実施形態は、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。ＣＭＯＳ－製造センサーのアレイは、２５６を超えるセンサーを含み、および該アレイの全てのｃｈｅｍＦＥＴからのｃｈｅｍＦＥＴ出力シグナルのコレクションはデータのフレームを構成する。該装置は、さらに、該アレイにカップリングされ、かつ少なくとも１つのアレイ出力シグナルを生じさせて、秒当たり少なくとも１つのフレームのフレーム速度にて該アレイからのデータの多数のフレームを提供するように構成された制御回路を含む。１つの態様において、フレーム速度は秒当たり少なくとも１０のフレームであってよい。もう１つの態様において、フレーム速度は秒当たり少なくとも２０のフレームであってよい。なお他の態様において、フレーム速度は秒当たり少なくとも３０、４０、５０、７０フレーム、または１００フレームまででであってよい。

【００５５】

もう１つの実施形態は、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。ｃｈｅｍＦＥＴはフローティングゲート構造、および第１の半導体タイプを有し、かつ第２の半導体タイプを有する領域に製造されたソースおよびドレインを含み、ここに、第２の半導体タイプを有する領域をソースまたはドレインいずれかに電気的に結合させる導電体はない。

【００５６】

もう１つの実施形態は、エレクトロニクスセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは、１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含めた３つの電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）よりなる。

【００５７】

もう１つの実施形態は、エレクトロニクスセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは３以下の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）を含み、ここに、３以下のＦＥＴは１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。

【００５８】

もう１つの実施形態はエレクトロニクスセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは、１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含めた複数の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）、および該複数のＦＥＴに電気的に結合した複数の導電体を含み、ここに、該複数のＦＥＴは、該複数の導電体が、アレイの各センサーおよび相互結合する多数のセンサーによって占められるエリアを移動する４以下の導電体を含むように構成される。

【００５９】

もう１つの実施形態はＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含めた複数の電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）を含み、ここに、各センサーにおけるＦＥＴの全ては同一のチャネルタイプのものであって、アレイ基板の単一半導体領域で実施される。

【００６０】

もう１つの実施形態は、複数の行および複数の列に配置された複数のエレクトロニクスセンサーを含むセンサーアレイに向けられる。各センサーは、アレイの表面に近接する分析物の存在および／または濃度を表す少なくとも１つ、ある場合には、少なくとも２つの出力シグナルを供するように構成された１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。複数の列の各列については、アレイは、さらに、列における各ｃｈｅｍＦＥＴに対する一定のドレイン電流および一定のドレイン-対-ソース電圧を供す

るように構成された列回路を含み、該列回路は、２つの操作増幅器および各ｃｈｅｍＦＥＴを持つケルビンブリッジ構成に配置されたダイオード－連結ＦＥＴを含んで、一定のドレイン－対－ソース電圧を供す。

【００６１】

もう１つの実施形態は、複数の行および複数の列に配置された複数のエレクトロニクスセンサーを含むセンサーアレイに向けられる。各センサーは、アレイの表面に近接した溶液中のイオンの濃度を表す少なくとも１つの出力シグナル、ある例においては、少なくとも２つの出力シグナルを供するように構成された１つの化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。アレイは、さらに、複数の行の各行を可能とするための少なくとも１つの行選択シフトレジスタ、および複数の列の各列からのｃｈｅｍＦＥＴ出力シグナルを獲得するための少なくとも１つの列選択シフトレジスタを含む。

【００６２】

もう１つの実施形態は、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを含む装置に向けられ、各センサーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。ｃｈｅｍＦＥＴはフローティングゲート構造、および第１の半導体タイプを有し、かつ第２の半導体タイプを有する領域に製造されたソースおよびドレインを含み、ここに、第２の半導体タイプを有する領域をソースまたはドレインいずれかに電気的に結合させる導電体はない。アレイは、ＣＭＯＳ－製造センサーの少なくとも５１２の行および少なくとも５１２の列の２次元アレイを含む。各センサーは、ｃｈｅｍＦＥＴを含めた３つの電界効果トランジスタ（ＦＥＴ）よりなり、各センサーは３つのＦＥＴに電気的に結合した複数の導電体を含む。３つのＦＥＴは、複数の導電体が、各センサーによって占有されるエリアを移動し、およびアレイの多数のセンサーを相互に連結する４以下の導電体を含むように配置される。各センサー中のＦＥＴの全ては同一のチャネルタイプのものであって、アレイ基板の単一の半導体領域で実施される。アレイの全てのｃｈｅｍＦＥＴからのｃｈｅｍＦＥＴ出力シグナルのコレクションは、データのフレームを構成する。該装置は、さらに、アレイにカップリングされ、かつ少なくとも１つのアレイ出力シグナルを生じさせて、秒当たり少なくとも２０フレームのフレーム速度にてアレイからのデータの多数のフレームを供するように構成された制御回路を含む。

【００６３】

もう１つの実施形態は、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイを製造する方法に向けられ、各センサーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。該方法は：ａ）アレイを含めた半導体ウェハーをダイシングして、該アレイを含めた少なくとも１つのダイシングされた部分を形成し；およびｂ）該少なくとも１つのダイシングされた部分で気体アニール形成を行うことを含む。Ａ）アレイを含めた半導体ウェハーをダイシングして、アレイを含めた少なくとも１つのダイシングされた部分を形成し；次いでＢ）該少なくとも１つのダイシングされた部分に形成性ガスアニールの形成を行う。

【００６４】

もう１つの実施形態は、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを製造する方法に向けられる。該方法は：ａ）アレイを含めた半導体ウェハーをダイシングして、該アレイを含めた少なくとも１つのダイシングされた部分を形成し；およびｂ）該少なくとも１つのダイシングされた部分で気体アニール形成を行うことを含む。ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを製造し；誘電性材料を該アレイ上に蒸着させ；形成性ガスアニールを、ダイシング工程前に該アレイに適用し；該アレイをダイシングし；次いで、該ダイシング工程後に形成性ガスアニールを適用する。該方法は、さらに、１以上の蒸着工程の間に半導体ウェハーを試験することを含むことができる。

【００６５】

もう１つの実施形態は、ＣＭＯＳ－製造センサーのアレイを加工する方法に向けられる。各センサーは、プラズマ増強化学気相蒸着（ＰＥＣＶＤ）を介して蒸着された窒化ケイ素および／またはオキシ窒化ケイ素の化学的に感受性の不動態化層を有する化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む。該方法は、不動態化層の多孔度を

低下させ、および／または密度を増大させるように、化学的に感受性の不動態化層上に少なくとも１つのさらなる不動態化材料を蒸着することを含む。

【００６６】

本発明の他の態様は、限定されるものではないが、合成方法による配列決定に一体化されるものを含めた核酸合成反応をモニターする方法に関する。かくして、本発明の種々の態様は、核酸合成反応をモニターする方法、核酸へのヌクレオチドの取込を決定し、またはモニターする方法、ヌクレオチド取込の存在または不存在を決定する方法、取り込まれたヌクレオチドの数を決定する方法を提供する。

【００６７】

１つのそのような態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し（例えば、入れるまたは位置させ）、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、ここに、該鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし（それにより、鋳型／プライマーハイブリッドを形成し）、およびポリメラーゼに結合され、（本明細書中においては上位概念的にｄＮＴＰともいう）１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し（または配列決定プライマーを延長（extending）させ）、次いで、該少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴの電圧および／または電流の変化によって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。ｃｈｅｍＦＥＴの、（およびかくして複数のｃｈｅｍＦＥＴ）のアレイは少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１００、少なくとも２００、少なくとも３００、少なくとも４００、少なくとも５００、少なくとも１０００、少なくとも10^4、少なくとも10^5、少なくとも10^6、少なくとも10^7、またはそれ以上のｃｈｅｍＦＥＴ(当該用語は本明細書中においては相互交換可能に用いられるので、またはｃｈｅｍＦＥＴセンサー、または複数センサー)を含むことができる。同様に、複数の反応チャンバーは、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１００、少なくとも２００、少なくとも３００、少なくとも４００、少なくとも５００、少なくとも１０００、少なくとも10^4、少なくとも10^5、少なくとも10^6、少なくとも10^7、またはそれ以上の反応チャンバーであってよい。

【００６８】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、該複数の反応チャンバーはｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、ここに、少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴは各反応チャンバーと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズされ（それにより、鋳型／プライマーハイブリッドを形成し）、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって、新しい核酸ストランドを合成し（または配列決定プライマーを延長し）、次いで、少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおける電圧および／または電流の変化によって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、該ｃｈｅｍＦＥＴアレイはこれまでのアレイのいずれかである。

【００６９】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置させ、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズされ、（それにより、鋳型／プライマーハイブリッドを形成させ）、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって（配列決定プライマーを延長させることによって）新しい核酸ストランドを合成し、次いで、アレイ内の

少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおける電圧および／または電流の変化によって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、隣接する反応チャンバー間の中心間距離（または「ピッチ」）は１～１０μｍである。

【００７０】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、該鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズし（それにより鋳型／プライマーハイブリッドを形成し）、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって（配列決定プライマーを延長することにより）新しい核酸ストランドを合成し、次いで、配列決定反応の副産物の生成によって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、（ａ）該ｃｈｅｍＦＥＴアレイは２５６を超えるセンサーを含み、あるいは（ｂ）隣接する反応チャンバー間の中心間距離は１～１０μｍである。重要な実施形態において、配列決定反応副産物はＰＰｉである。

【００７１】

なおもう１つの態様において、本発明は、標的核酸を断片化して（あるいは、例えば、豊富化されたエクソン単離との関係では単離して）、複数の断片化された（または単離された）核酸を生成させ、該複数の断片化された（または単離された）核酸の各々を個々のビーズに付着させて、各々が単一の断片化された（または単離された）核酸に付着された複数のビーズを生成させ、各ビーズ上で断片化された（または単離された）核酸の数を増幅させ、増幅された断片化された（単離された）核酸に付着された複数のビーズを、アレイ中の各センサーについての別々の反応チャンバーを有するｃｈｅｍＦＥＴアレイに送達し、ここに、唯１つのビーズが各反応チャンバーに位置しており、次いで、複数の反応チャンバーにおいて同時配列決定反応を行うことを含み、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７２】

本明細書中においてより詳細に記載されるように、配列決定すべき核酸は、次いで、引き続いて断片化される（すなわち、より短い核酸に変換される）より長い核酸から由来することができるか、あるいはそれらは本明細書中で考えられる反応にとって適した長さで単離することができ、かくして、短くする（または断片化する）必要はないであろうことは理解されるべきである。従って、標的核酸を断片化するプロセスというあらゆる態様および本明細書中で議論する限定については、該方法は、断片化の不存在下において標的核酸を単離することによって行うこともできるのは理解されるべきである。

【００７３】

なおもう１つの実施形態において、本発明は、標的核酸を断片化して、複数の断片化された核酸を生成させ、ビーズの存在下で各断片化された核酸を別々に増幅し、断片化された核酸の増幅されたコピーをビーズに結合させ、それにより、各々が複数の同一の断片化された核酸に付着された複数のビーズを生じさせ、各々が複数の同一の断片化された核酸に付着された複数のビーズを、アレイ中の各ｃｈｅｍＦＥＴセンサーについての別々の反応チャンバーを有するｃｈｅｍＦＥＴアレイに送達し、ここに、唯１つのビーズが各反応チャンバー中に位置し、次いで、複数の反応チャンバーにおいて同時配列決定反応を行うことを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７４】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズされ（それにより、鋳型／プライマーハイブリッドを形成し）、およびポリメラーゼに結合されており、１以上の既知のヌクレオチド三リン

酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって（配列決定プライマーを延長することにより）新しい核酸ストランドを合成し、次いで、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みのインジケーターとして配列決定副産物レベルの変化を検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７５】

レベルの変化は、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みに先立ってのレベルに対するレベルの増加または減少であってよい。レベルの変化は、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーにおける電圧および／または電流の変化、またはｐＨの変化として読むことができるが、それに限定されるものではない。

【００７６】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みのインジケーターとしてＰＰｉの放出を直接的に検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７７】

もう１つの態様において、本発明は、鋳型核酸を断片化して、複数の断片化された核酸を生成し、該複数の断片化された核酸の各々からの１つのストランドを、個々に、ビーズに付着させて、各々が、それに付着した一本鎖の断片化された核酸を有する複数のビーズを生成させて、それに付着された一本鎖の断片化された核酸を有する複数のビーズを、エリア中の各センサー用の別々の反応チャンバーを有するｃｈｅｍＦＥＴアレイに送達し、ここに、唯１つのビーズが各反応チャンバー中に位置し、次いで、複数のチャンバー中で同時配列決定反応を行うことを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７８】

１つの態様において、本発明は、反応チャンバーおよびｃｈｅｍＦＥＴのそのようなアセンブリの少なくとも３（および数百万まで）を含むアレイ中にて、ｃｈｅｍＦＥＴと接触した反応チャンバー中の複数の同一鋳型核酸を配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００７９】

もう１つの態様において、本発明は、少なくとも３つもｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイのｃｈｅｍＦＥＴと接触した反応チャンバー中の鋳型核酸にハイブリダイズした配列決定プライマーの３’末端への、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８０】

１つの態様において、本発明は、標的核酸を断片化して、複数の断片化された核酸を生成し、複数の断片化された核酸の１以上を個々に増幅し、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴアレイを用いて個々に増幅された断片化された核酸を配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。１つの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含む。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは少なくとも５００のｃｈｅｍＦＥＴ、または少なくとも１００，０００のｃｈｅｍＦＥＴを含む。いくつかの実施形態において、複数の断片化された核酸は、油中水型エマルジョン増幅方法を用いて個々に増幅される。

【００８１】

もう１つの実施形態において、本発明は、標的核酸を断片化して、複数の断片化された核酸を生成させ、複数の断片化された核酸の各々を個々のビーズに付着させて、各々が、単一の断片化された核酸に付着した複数のビーズを生成させ、各ビーズ上の複数の同一の断片化された核酸をもたらす各ビーズ上の断片化された核酸を増幅し、断片化された核酸に付着された複数のビーズを、アレイ中の各センサー用の別々の反応チャンバーを有する

ｃｈｅｍＦＥＴに送達し、ここに、唯１つのビーズが各反応チャンバーに位置しており、次いで、複数の反応チャンバー中で配列決定反応を同時に行うことを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８２】

もう１つの態様において、本発明は、標的核酸を断片化して、複数の断片化された核酸を生成させ、該複数の断片化された核酸の内１以上を個々に増幅させ、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴアレイを用いて、約１～１０μｍの中心間距離を有する複数の反応チャンバーにおいて増幅された断片化された核酸を個々に配列決定することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。種々の実施形態において、中心間距離は約９μｍ、約５μｍ、または約２μｍである。

【００８３】

もう１つの態様において、本発明は複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、該複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、検出可能なｐＨ変化の不存在下において、アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおける電圧の変化により１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８４】

もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を反応チャンバー中に配置し、ここに、複数の鋳型核酸は単一のビーズに付着され、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズされており、およびポリメラーゼに結合しており、および反応チャンバーはｃｈｅｍＦＥＴと接触しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴにおける第一および第二の電圧パルスの検出により１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８５】

なおもう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズされており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことにより新しい核酸ストランドを合成し、次いで、放出された無機ピロホスフェートを非酵素的に検出することにより１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。１つの実施形態において、検出工程は検出可能なｐＨ変化の不存在下において行われる。

【００８６】

さらにもう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、放出された無機ピロホスフェートおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出することによって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８７】

１つの実施形態において、放出された無機ピロホスフェートはt_0において検出され、および取り込まれていないヌクレオチド三リン酸は時間t_1において検出される。関連する実施形態において、t_1-t_0の時間差は取り込まれた既知のヌクレオチド三リン酸の数を示す。

【００８８】

もう１つの態様において、本発明は、鋳型核酸を配列決定プライマーおよびポリメラーゼと、鋳型核酸が、鋳型／プライマーハイブリットを形成するために配列決定プライマーに結合するのを可能とし、かつポリメラーゼが鋳型／プライマーハイブリットに結合するのを可能とするのに十分な時間および条件で接触させ、ヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、放出された無機ピロホスフェートおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を検出することによって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００８９】

１つの実施形態において、放出された無機ピロホスフェートはt_0において検出され、および取り込まれていないヌクレオチド三リン酸は時間t_1において検出される。関連する実施形態において、t_1およびt_0の間の時間差（すなわち、t_1-t_0）は、取り込まれた既知のヌクレオチド三リン酸の数を示す。

【００９０】

更にもう１つの態様において、本発明は、鋳型核酸を配列決定プライマーおよびポリメラーゼと、鋳型核酸が、鋳型／プライマーハイブリッドを形成するために配列決定プライマーに結合するのを可能とし、かつポリメラーゼが鋳型／プライマーハイブリッドに結合するのを可能とするのに十分な時間および条件で接触させ、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次に、低イオン強度環境において配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し（または配列決定プライマーを延長し）、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴにおける１以上の電圧パルスの検出によって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００９１】

実施形態に依存して、低イオン強度環境は１ｍＭ未満の$MgCl_2$、０．５ｍＭ未満の$MgCl_2$、１００μＭ未満の$MgCl_2$、または５０μＭ未満の$MgCl_2$を含むこともできる。他の実施形態において、低イオン強度環境は１ｍＭ未満の$MnCl_2$、０．５ｍＭ未満の$MnCl_2$、１００μＭ未満の$MnCl_2$、または５０μＭ未満の$MnCl_2$を含むこともできる。更に他の実施形態において、塩はもう１つのMg^{2+}またはMn^{2+}含有塩であってよく、あるいはそれはCa^{2+}またはCo^{2+}含有塩であってよく、またはそれは１以上のそのような塩の組合せであってよい。

【００９２】

もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴと接触した溶液中で、ヌクレオチド三リン酸、鋳型／プライマーハイブリッド、およびポリメラーゼを合わせ、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴにおいて電圧パルスを検出することを含む、新しく合成された核酸への（または配列決定プライマーのようなプライマー上への）ヌクレオチド三リン酸の取込みを決定する方法を提供し、ここに、第一および第二の電圧パルスの検出はヌクレオチド三リン酸の取込みを示し、およびここに、第二の電圧パルスではなく第一の電圧パルスの検出はヌクレオチド三リン酸の取込みの欠如を示す。

【００９３】

１つの実施形態において、電圧パルスは、ｃｈｅｍＦＥＴの不動態化層における結合事象から独立したｃｈｅｍＦＥＴにおいて検出される。

【００９４】

もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴと接触した溶液中で、ヌクレオチド三リン酸、鋳型／プライマーハイブリッド、およびポリメラーゼを合わせ、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴの不動態化層における結合事象とは独立してｃｈｅｍＦＥＴにおける電圧パ

ルスを検出することを含む、ヌクレオチド三リン酸の新しく合成された核酸への（または配列決定プライマーのようなプライマーの上への）取込みを決定する方法を提供し、ここに、第一および第二の電圧パルスの検出は少なくとも１つのヌクレオチド三リン酸の取込みを示す。

【００９５】

これまでのいくつかの態様の種々の実施形態において、第一の電圧パルスは時間t_0で起こり、第二の電圧パルスは時間t_1で起こり、t_1-t_0は取り込まれたヌクレオチド三リン酸の数を示す。種々の実施形態において、取り込まれたヌクレオチド三リン酸は既知である。種々の実施形態において、ヌクレオチド三リン酸は複数の同一のヌクレオチド三リン酸であり、鋳型／プライマーハイブリッドは複数の同一の鋳型／プライマーハイブリッドであって、ポリメラーゼは複数の同一のポリメラーゼである。別法として、ポリメラーゼは、同一でなく、むしろ２、３、またはそれを超えるタイプのポリメラーゼよりなることができる複数のポリメラーゼであってよい。いくつかの例において、２つのポリメラーゼの混合物を、適当な加工性を有する一方のもの、および取込みの適当な速度を有する他方のものと共に用いることができる。異なるポリメラーゼの比率は変化させることができ、本発明はこの点において限定されるものではない。同様に、鋳型／プライマーハイブリッドは、相互に同一でなくてもよい複数の鋳型／プライマーハイブリッドでよく、但し、単一の反応チャンバー中の、または単一のビーズに付着されたいずれかの鋳型／プライマーハイブリッドは相互に同一であるものとする。

【００９６】

更にもう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置させ（例えば、入れるかまたは位置させ）、ここに、複数の反応チャンバーは各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し（または配列決定プライマーを延長し）、次いで、少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて、高さh_0を有する時間t_0における第一の電圧パルスおよび高さh_1を有する時間t_1における第二のパルスを検出することによって、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、h_0およびh_1は、各々、ベースラインを少なくとも約５ｍＶ超えておりおよびt_1-t_0は少なくとも１ミリ秒である。いくつかの実施形態において、t_1-t_0は少なくとも５ミリ秒、少なくとも１０ミリ秒、少なくとも２０ミリ秒、少なくとも３０ミリ秒、少なくとも４０ミリ秒、または少なくとも５０ミリ秒である。

【００９７】

もう１つの態様において、本発明は、複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、およびここに、複数の反応チャンバーは各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し（または配列決定プライマーを延長し）、次いで、第一および第二の電圧パルスをアレイ内で少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて検出することによって、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴを含む。

【００９８】

もう１つの態様において、本発明は、複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、および

ポリメラーゼに結合しており、およびここに、複数の反応チャンバーは、各反応チャンバー用の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴを含む化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイと接触しており、複数の既知の同一のヌクレオチド三リン酸を各反応チャンバーに導入することによって新しい核酸ストランドの合成（または配列決定プライマーの延長）を開始し、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二の電圧パルスを検出することによって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【００９９】

１つの実施形態において、各反応チャンバーは、複数の既知の三リン酸を各反応チャンバーに導入するに先立ってアデノシン三リン酸を含む。

【０１００】

もう１つの態様において、本発明は、（ａ）複数のビーズを複数の反応チャンバーに配置し、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、および各反応チャンバーは少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴと接触しており、（ｂ）複数の既知の同一のヌクレオチド三リン酸を核反応チャンバーに導入し、（ｃ）もし鋳型核酸中の対応するヌクレオチドに対して相補的であれば、１以上のヌクレオチド三リン酸の配列決定プライマーの３’末端における順次の取込みを検出し、（ｄ）反応チャンバーからの取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を洗浄し、次いで、（ｅ）異なる複数の既知のヌクレオチド三リン酸を用いて同一反応チャンバーにおいて工程（ｂ）～（ｄ）を反復することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【０１０１】

１つの実施形態において、１以上のヌクレオチド三リン酸の順次の取込みが、ｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二の電圧パルスによって検出される。いくつかの実施形態において、工程（ｅ）は、各異なる複数の既知のヌクレオチド三リン酸を各反応チャンバーに別々に導入することによって工程（ｂ）～（ｄ）を反復することを含む。

【０１０２】

もう１つの態様において、本発明は、複数のビーズを複数の反応チャンバー中に配置し、ここに、各反応チャンバーは単一のビーズを含み、各ビーズは複数の同一の鋳型核酸に付着しており、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、およびここに、複数の反応チャンバーの各々はｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴと接触しており、二価カチオンを各反応チャンバーに導入することによって新しい核酸ストランドの合成を開始し、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込むことによって新しい核酸ストランドを合成し、次いで、アレイ内の少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴにおいて第一および第二の電圧パルスを検出することによって１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供する。

【０１０３】

１つの実施形態において、二価カチオンはMg^{2+}である。もう１つの実施形態において、二価カチオンはMn^{2+}である。なお更なる実施形態において、二価カチオンはMg^{2+}およびMn^{2+}の混合物である。実施形態に依存して、二価カチオンは１ｍＭ未満、または１００μｍ未満または５０μｍの濃度におけるものである。

【０１０４】

なおもう１つの態様において、本発明は、複数の同一の鋳型核酸を反応チャンバー中に配置し、ここに、反応チャンバーはｃｈｅｍＦＥＴと接触しており、およびここに、鋳型核酸の各々は配列決定プライマーにハイブリダイズしており、およびポリメラーゼに結合しており、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込み、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴにおいて電圧パルスによって１以上の既知のヌク

レオチド三リン酸の取り込みを検出することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、ここに、１０～１０００ヌクレオチド三リン酸の取込みが検出される。

【０１０５】

種々の実施形態は、本発明の種々のこれまでの態様に含まれ得るが、これらは便宜および簡略化のために以下において一旦引用される。

【０１０６】

本発明の種々のこれまでの態様および実施形態は鋳型への配列決定プライマーのハイブリダイゼーション（または結合）を引用するが、本発明では、それ自体に（すなわち、分子内に）ハイブリダイズし、それにより、ヌクレオチド三リン酸が取り込まれ得る遊離３’末端を生起する配列決定プライマーおよび／または鋳型核酸の使用も考えられることを理解されたい。自己起点鋳型と本明細書中で呼ばれるそのような鋳型はこれまでの方法のいずれにおいても用いることができる。

【０１０７】

同様に、本発明では、ＤＮＡニッカーゼのようなニッキング酵素が作用することができるそれらの遊離末端において特定の配列を有するように作成された二本鎖鋳型の使用が同等に考えられる。このようにして、ポリメラーゼはヌクレオチド三リン酸をニックされた部位において取り込む。これらの例において、別々の配列決定プライマーに対する要件はない。

【０１０８】

いくつかの実施形態において、少なくとも１０、少なくとも２０、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも６０、少なくとも７０、少なくとも８０、少なくとも９０、または少なくとも１００のヌクレオチド三リン酸の取込みが検出される。他の実施形態において、１００～１０００ヌクレオチド三リン酸の取込みが検出される。なお他のいくつかの実施形態において、２５０～７５０ヌクレオチド三リン酸の取込みが検出される。

【０１０９】

いくつかの実施形態において、反応チャンバーは複数のパッキングビーズを含む。いくつかの実施形態において、検出工程は複数のパッキングビーズの存在下で起こる。

【０１１０】

いくつかの実施形態において、反応チャンバーは可溶性非核酸ポリマーを含む。いくつかの実施形態において、検出工程は可溶性非核酸ポリマーの存在下で起こる。いくつかの実施形態において、可溶性非核酸ポリマーはポリエチレングリコール、またはＰＥＡ、またはデキストラン、またはアクリルアミド、またはセルロース（例えば、エチルセルロース）である。いくつかの実施形態において、ポリエチレングリコースのような非核酸ポリマーは単一のビーズに付着されている。いくつかの実施形態において、いくつかの例では、ＦＥＴ表面である反応チャンバーの底部を除いて、非核酸ポリマーは反応チャンバーの１以上の（または全ての）側に付着している。いくつかの実施形態において、非核酸ポリマーは、限定されるものではないが、ビオチニル化ポリエチレングリコールのようにビオチニル化されている。

【０１１１】

いくつかの実施形態において、該方法は約７～９、または約８．５～９．５、または約９のｐＨで行われる。

【０１１２】

いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は弱い緩衝液中で行われる。いくつかの実施形態において、弱い緩衝液は、緩衝剤としての、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ホウ酸またはボレート緩衝液、アセテート、モルホリン、クエン酸、カルボン酸、またはリン酸を含む。

【０１１３】

いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約１ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ中で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は１ｍＭ

未満のＴｒｉｓ－ＨＣｌ中で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約０．９ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．８ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．７ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．６ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．４ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、約０．３ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、または約０．２ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ中で行われる。

【０１１４】

いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約１ｍＭボレート緩衝液中で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約１ｍＭ未満のボレート緩衝液中で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約０．９ｍＭボレート緩衝液、約０．８ｍＭボレート緩衝液、約０．７ｍＭボレート緩衝液、約０．６ｍＭボレート緩衝液、約０．５ｍＭボレート緩衝液、約０．４ｍＭボレート緩衝液、約０．３ｍＭボレート緩衝液、または約０．２ｍＭボレート緩衝液中で行われる。

【０１１５】

いくつかの実施形態において、検出工程は検出可能なｐＨ変化の不存在下で行われる。いくつかの実施形態において、検出工程は一定のｐＨの環境で行われる。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは比較的ｐＨ非感受性である。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ中で行われる。

【０１１６】

いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は低イオン強度環境で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は、１ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$、０．５ｍＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$、１００μＭ未満の$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む低イオン強度環境で行われる。いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は、約１００μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、約７５μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、５０μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、約４０μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、約３０μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、約２０μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$、約１０μｍ　$MgCl_2$または$MnCl_2$を含む低イオン強度環境で行う。本発明では、同様に、他の二価カチオンの量が考えられ、従って、それは$MgCl_2$、または$MnCl_2$のみに限定されないのは理解されるべきである。同様に、本発明では、２以上の二価カチオン（および／またはそれらの対応する塩）の使用が考えられることが理解されるべきであり、但し、合計イオン濃度は前記したレベルにおけるものであるものとする。

【０１１７】

いくつかの実施形態において、合成および／または検出工程は約０．５ｍＭ　ＴＲＩＳおよび約５０μＭ　$MgCl_2$または$MnCl_2$中で行われる。

【０１１８】

種々の実施形態において、ヌクレオチド三リン酸はブロックされていない。本明細書中で用いる場合、ブロックされていないヌクレオチド三リン酸は、（その３’末端において）核酸に取り込むことができる未修飾末端を持つヌクレオチド三リン酸であり、一旦それが取り込まれると、取り込むべき以下のヌクレオチド三リン酸に付着させることができる。ブロックされたｄＮＴＰは、対照的に、核酸に加えることができないか、あるいは核酸へのそれらの取込みはいずれかの更なるヌクレオチドの取込みを妨げる。種々の実施形態において、ヌクレオチド三リン酸はデオキシヌクレオチド三リン酸（ｄＮＴＰ）である。

【０１１９】

種々の実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは窒化ケイ素不動態化層を含む。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは、無機ピロフォスフェート（ＰＰｉ）受容体に付着された不動態化層を含む。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは、核酸に結合していない不動態化層を含む。

【０１２０】

いくつかの実施形態において、各反応チャンバーは単一のｃｈｅｍＦＥＴと接触してい

る。
【０１２１】
いくつかの実施形態において、反応チャンバーは、０．５ｐＬ未満、０．１ｐＬ未満、０．０５ｐＬ未満、０．０１ｐＬ未満、０．００５ｐＬ未満を含めた、約１ピコリットル（ｐＬ）と等しい、またはそれ未満の容量を有する。いくつかの実施形態において、反応チャンバーは１～１０μｍの中心間間隔によって分離されている。いくつかの実施形態において、反応チャンバーは、約９μｍ、約５ミクロン、または約２ミクロンの中心間間隔によって分離されている。反応チャンバーは、例えば、それらのベースまたは底部において四角形の断面を有することができる。その例は８μｍ×８μｍの断面、４μｍ×４μｍの断面、または１．５μｍ×１．５μｍの断面を含む。別法として、それらは、例えば、それらのベースまたは底部において三角形の断面を有することができる。その例は８μｍ×１２μｍの断面、４μｍ×６μｍの断面、または１．５μｍ×２．２５μｍの断面を含む。
【０１２２】
いくつかの実施形態において、ヌクレオチド三リン酸は（例えば、$MgCl_2$の存在下で）Mg^{2+}に、または（例えば、$MnCl_2$の存在下で）Mn^{2+}に予め浸漬させる。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは（例えば、$MgCl_2$の存在下で）Mg^{2+}または（例えば、$MnCl_2$の存在下で）Mn^{2+}に予め浸漬させる。
【０１２３】
いくつかの実施形態において、該方法は単一の捕獲ビーズを含む反応チャンバーにおいて行われ、ここに、単一の捕獲ビーズ直径に対する反応チャンバー幅の比率は少なくとも０．７、少なくとも０．８、または少なくとも０．９である。
【０１２４】
いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは溶液中で遊離している。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼはビーズに固定化されている。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは捕獲ビーズに固定化されている。いくつかの実施形態において、鋳型核酸は捕獲ビーズに付着されている。
【０１２５】
いくつかの実施形態において、ヌクレオチド取込みを検出するに先立って、無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）は有意に加水分解されていない。いくつかの実施形態において、第１の電圧パルスを検出するに先立って、無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）は有意に加水分解されていない。
【０１２６】
１つの態様において、本発明は、各々がその表面に配置されたＰＰｉ受容体を有する複数のｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイを含む装置を提供し、ここに、該アレイは少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含む。
【０１２７】
１つの態様において、本発明は、各々がその表面に配置されたＰＰｉ受容体を有する複数のｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含むｃｈｅｍＦＥＴアレイを含む装置を提供し、ここに、該アレイ中の隣接するｃｈｅｍＦＥＴセンサーは、約１０μｍ未満の中心間距離だけ分離されている（例えば、．１８μｍ　ＣＭＯＳ製造を用い、ピッチは約２．８μｍとすることができる）。
【０１２８】
もう１つの態様において、本発明は、その表面にＰＰｉ選択的受容体が配置された化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）を含む装置を提供する。ＰＰｉ受容体はｃｈｅｍＦＥＴ表面に固定化することができる。
【０１２９】
なおもう１つの態様において、本発明は、各々がその表面に配置されたＰＰｉ受容体を有する複数のｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含む化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイを含む装置を提供し、ここに、該複数はアレイ中のｃｈｅｍＦＥＴ

センサーのサブ組である。関連する実施形態において、アレイは少なくとも３つのｃｈｅｍＦＥＴセンサーを含む。該サブ組はアレイ中のセンサーの１０％、２５％、３３％、５０％、７５％以上を表すことができる。ＰＰｉ選択的受容体は各ｃｈｅｍＦＥＴの表面に固定化することができる。

【０１３０】

いつくかの実施形態において、隣接する反応チャンバーの間の中心間距離は約１～９μｍ、または約２～９μｍ、約１μｍ、約２μｍ、約３μｍ、約４μｍ、約５μｍ、約６μｍ、約７μｍ、約８μｍ、または約９μｍである。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは２５６を超えるセンサー（および、所望により、２５６を超える対応する反応チャンバー（またはウエル））、３００を超えるセンサー（および、所望により、３００を超える対応する反応チャンバー）、４００を超えるセンサー（および、所望により４００を超える対応する反応チャンバー）、５００を超えるセンサー（および、所望により５００を超える対応する反応チャンバー）、６００を超えるセンサー（および、所望により６００を超える対応する反応チャンバー）、７００を超えるセンサー（および、所望により７００を超える対応する反応チャンバー）、８００を超えるセンサー（および、所望により８００を超える対応する反応チャンバー）、９００を超えるセンサー（および、所望により９００を超える対応する反応チャンバー）、10^3を超えるセンサー（および、所望により10^3を超える対応する反応チャンバー）、10^4を超えるセンサー（および、所望により10^4を超える対応する反応チャンバー）、10^5を超えるセンサー（および、所望により10^5を超える対応する反応チャンバー）、または10^6を超えるセンサー（および、所望により10^6を超える対応する反応チャンバー）を含む。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイはセンサーの少なくとも５１２の行および少なくとも５１２の列を含む。

【０１３１】

いくつかの実施形態において、配列決定副産物はＰＰｉである。いくつかの実施形態において、ＰＰｉは直接的に測定される。関連する実施形態において、ＰＰｉは、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーの表面に固定化されたＰＰｉ選択的受容体へのその結合によって検出される。もう１つの実施形態において、ＰＰｉは、ＰＰｉ選択的受容体の不存在下で検出される。他の実施形態において、ＰＰｉはｐＨ非依存性または非感受性環境で検出される。

【０１３２】

いくつかの実施形態において、配列決定反応の副産物は水素イオンである。いくつかの実施形態において、配列決定反応副産物はＰｉである。なお他の実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは、本明細書中に記載したように、他のパラメーターと所望により組合せて、副産物のいずれかの組合せの変化を検出する。

【０１３３】

いくつかの実施形態において、ＰＰｉ選択的受容体は、図１１Ｂに示された化合物１、化合物２、化合物３、化合物４、化合物５、化合物６、化合物７、化合物８、化合物９または化合物１０である。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは、その各々がその表面に固定化されたＰＰｉ選択的受容体を含めて配置されたｃｈｅｍＦＥＴのアレイに存在する。いくつかの実施形態において、同一のＰＰｉ選択的受容体はアレイの各ｃｈｅｍＦＥＴに配置されている。いくつかの実施形態において、アレイは２５６を超えるセンサーを含む。いくつかの実施形態において、アレイはセンサーの少なくとも５１２の行および少なくとも５１２の列を含む。いくつかの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは反応チャンバーの底部に位置する。

【０１３４】

もう１つの態様において、本発明は、その表面に配置された生物学的アレイまたは化学的アレイを有するｃｈｅｍＦＥＴアレイを含む装置を提供する。

【０１３５】

生物学的アレイは核酸アレイ、限定されるものではないが、酵素アレイ、抗体アレイおよび抗体断片アレイを含めた蛋白質アレイ、細胞アレイなどであってよい。化学的アレイ

は有機小分子アレイ、または無機分子アレイであってよいが、それに限定されるものではない。ｃｈｅｍＦＥＴアレイは少なくとも５、少なくとも１０、少なくとも10^2、少なくとも10^3、少なくとも10^4、少なくとも10^5、少なくとも10^6、またはそれ以上のセンサーを含んでもよい。生物学的または化学的アレイは、複数の「セル」、または空間的に定義された領域に配置してもよく、およびこれらの領域の各々は、いくつかの実施形態においては、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ中の異なるセンサー上に位置させる。

【０１３６】

なおもう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に配置された核酸アレイを試料と接触させ、次いで、該試料からの核酸の、核酸アレイ上の１以上の領域への結合を検出することを含む、核酸を検出する方法を提供する。

【０１３７】

もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に配置された蛋白質アレイを試料と接触させ、次いで、該試料からの蛋白質の、蛋白質アレイ上の１以上の領域への結合を検出することを含む、蛋白質を検出する方法を提供する。

【０１３８】

尚もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に配置された蛋白質アレイを試料と接触させ、次いで、該試料からの核酸の、蛋白質アレイ上の１以上の領域への結合を検出することを含む、核酸を検出する方法を提供する。

【０１３９】

もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に配置された抗体アレイを試料と接触させ、次いで、該試料からの抗原の、抗体アレイ上の１以上の領域への結合を検出することを含む、抗原を検出する方法を提供する。

【０１４０】

もう１つの態様において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上に配置された酵素アレイを試料と接触させ、次いで、該試料からの物質の、酵素アレイ上の１以上の領域への結合を検出することを含む、酵素基質または阻害剤を検出する方法を提供する。

【０１４１】

これまでの概念、および以下により詳細に議論する更なる概念（但し、その様な概念は相互に矛盾しないものとする）の全ての組合せは、本明細書中で開示された発明的主題の一部であると考えられるのは認められるべきである。特に、本開示の最後に現れる特許請求される主題全ての組合せは、本明細書中で開示される発明的主題の一部であると考えられる。また、引用により一体化されるいずれかの開示において、やはり現れるであろう、本明細書中で明示的に使用される用語は、本明細書中に開示された特定の概念と最も合致する意味に従うべきであると認識されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【０１４２】

図面において、文献のように、同様の参照符号は概して異なる図面を通じて同一の部分を指す。また、図面は必ずしもスケール通りではなく、その代わり、本明細書中で議論される種々の概念を一般的に説明するに際して強調される。

【図１】図１は、慣用的なＣＭＯＳプロセスを用いて製造されたｐ－タイプ（ｐ－チャネル）イオン－感受性電界効果トランジスタ（ＩＳＦＥＴ）の断面を示す。

【０１４３】

【図２】図２は、図１に示されたｐ－チャネルＩＳＦＥＴの電気回路の表示を示す。

【０１４４】

【図２Ａ】図２Ａは、分析物のイオン濃度の段階的変化に対する例示的なＩＳＦＥＴ一過性応答を示す。

【０１４５】

【図３】図３は、図１に示されたＩＳＦＥＴに基づく二次元ＩＳＦＥＴアレイの１つの列を示す。

【０１４６】

【図４】図４は、図３に示されたアレイ列の各画素で使用されるｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴを含めた伝達ゲートを示す。
【０１４７】
【図５】図５は、図１と同様なダイアグラムであり、図３に示されたアレイ列の１つの画素に対応する基板の一部のより広い断面を示し、そこでは、ＩＳＦＥＴは、やはり画素に含まれる２つのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴのそばに示される。
【０１４８】
【図６】図６は、図５と同様なダイアグラムであり、図３に示されるアレイ列の１つの画素に対応する基板のもう１つの部分の断面を示し、そこでは、ＩＳＦＥＴは、図４に示される伝達ゲートのｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴのそばに示される。
【０１４９】
【図７】図７は、伴われる行および列デコーダ回路および測定読出回路と共に、図３の列設計に基づく完全な二次元ＩＳＦＥＴ画素アレイの例を示す。
【０１５０】
【図８】図８は、一般に、本開示の１つの発明的実施態様に従う、大規模なｃｈｅｍＦＥＴアレイを含む核酸プロセッシング系を示す。
【図８Ａ】図８Ａは、本発明の１つの実施形態に従った、例示的な核酸配列決定／合成反応についての、時間の関数としての、ｃｈｅｍＦＥＴの分析物／不動態化層界面に近接するイオン化された種の濃度のプロットを示すグラフである。
【図８Ｂ】図８Ｂは、本発明の１つの実施形態に従った、図８Ａにプロフィールを示したものと同様な、例示的核酸配列決定／合成反応についての、時間の関数としての、ｃｈｅｍＦＥＴ出力電圧の多数のプロットを示すグラフである。
【０１５１】
【図９】図９は、本開示の１つの発明的実施態様に従う、図８に示されたのと同様なｃｈｅｍＦＥＴアレイの１つの列を示す。
【０１５２】
【図９Ａ】図９Ａは、図９に示されたアレイ列で使用される例示的な増幅器についての回路ダイアグラムを示す。
【０１５３】
【図９Ｂ】図９Ｂは、本開示の１つの発明的実施態様に従う、増幅器バイアスｖｓ．バンド幅のグラフである。
【０１５４】
【図１０】図１０は、本開示の１つの発明的実施態様に従う、図９に示されるｃｈｅｍＦＥＴアレイの列の画素についてのチップレイアウト設計の頂面図を示す。
【０１５５】
【図１０－１】図１０－１は、本開示のもう１つの発明的実施態様に従う、図９に示されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの４つの隣接する画素のクラスターについてのチップレイアウト設計の頂面図を示す。
【０１５６】
【図１１Ａ】図１１Ａは、本開示の１つの発明的実施態様に従う、画素製造の層×層図を示す、線ＩＩ－－ＩＩおよびＩＩＩ－－ＩＩＩの間の、図１０の右半分のさらなるエレメントを含めた、図１０に示された画素の線Ｉ－－Ｉに沿った複合断面図を示す。
【０１５７】
【図１１Ａ－１】図１１Ａ－１は、本開示のもう１つの発明的実施態様に従う、画素製造の層×層図を示す、線ＩＩ－－ＩＩの間の、画素のさらなるエレメントを含めた、図１０－１に示された画素の１つの線Ｉ－－Ｉに沿った、多数の隣接する画素の複合断面図を示す。
【０１５８】
【図１１Ｂ－１】図１１Ｂ（１）～（３）は、１０のＰＰｉ受容体（化合物１～１０）の化学構造を供する。

【図１１Ｂ－２】図１１Ｂ（１）～（３）は、１０のＰＰｉ受容体（化合物１～１０）の化学構造を供する。
【図１１Ｂ－３】図１１Ｂ（１）～（３）は、１０のＰＰｉ受容体（化合物１～１０）の化学構造を供する。
【０１５９】
【図１１Ｃ－１－１】図１１Ｃ（１）は、図１１Ｂ（３）からの化合物７についての合成プロトコルの模式図である。
【図１１Ｃ－１－２】図１１Ｃ（１）は、図１１Ｂ（３）からの化合物７についての合成プロトコルの模式図である。
【０１６０】
【図１１Ｃ－２】図１１Ｃ（２）は、図１１Ｂ（３）からの化合物８についての合成プロトコルの模式図である。
【０１６１】
【図１１Ｃ－３】図１１Ｃ（３）は、図１１Ｂ（３）からの化合物９についての合成プロトコルの模式図である。
【０１６２】
【図１１Ｄ－１】図１１Ｄ（１）および（２）は、（限定されるものではないがＰＰｉ受容体のような）分子認識化合物に結合させるために不動態化層に適用することができる種々の化学を示す模式図である。
【図１１Ｄ－２】図１１Ｄ（１）および（２）は、（限定されるものではないがＰＰｉ受容体のような）分子認識化合物に結合させるために不動態化層に適用することができる種々の化学を示す模式図である。
【０１６３】
【図１１Ｅ】図１１Ｅは、図１１Ｂ（３）からの化合物７の、金属酸化物表面への付着の模式図である。
【０１６４】
【図１２】図１２Ａ～１２Ｌは、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１１Ａに示される製造層の各々の頂面図を供する。
【０１６５】
【図１２－１】図１２－１Ａ～１２－１Ｌは、本開示のもう１つの発明的実施態様に従った、図１１Ａ－１に示された製造層の各々の頂面図を供する。
【０１６６】
【図１３】図１３は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図９～１２に示された列および画素設計に基づく、図８に示されたのと同様なｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイの例示的なＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。
【０１６７】
【図１４】図１４は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１３に示されたアレイの行選択シフトレジスタを示す。
【０１６８】
【図１５】図１５は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１３に示されたアレイの２つの列選択シフトレジスタの内の１つを示す。
【０１６９】
【図１６】図１６は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１３に示されたアレイの２つの出力ドライバの１つを示す。
【０１７０】
【図１７】図１７は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、アレイコントローラにカップリングされた図１３のｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイのブロックダイアグラムを示す。
【０１７１】
【図１８】図１８は、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１７のアレイコントロ

ーラによって供される種々のシグナルについての例示的なタイミングダイアグラムを示す。

【０１７２】

【図１８Ａ】図１８Ａは、本開示の１つの発明的実施態様に従った、図１７のアレイコントローラによって供された種々のシグナルについてのもう１つの例示的なタイミングダイアグラムを示す。

【０１７３】

【図１８Ｂ】図１８Ｂは、本開示の１つの発明的実施態様に従った、高獲得率で獲得されたアレイデータの処理および修正のための例示的な方法を示すフローチャートを示す。

【０１７４】

【図１８Ｃ】図１８Ｃおよび１８Ｄは、本開示の１つの実施態様に従った、所与のアレイ出力シグナルにおける画素間変換を示す例示的な画素電圧を示す。

【図１８Ｄ】図１８Ｃおよび１８Ｄは、本開示の１つの実施態様に従った、所与のアレイ出力シグナルにおける画素間変換を示す例示的な画素電圧を示す。

【０１７５】

【図１９】図１９～２０は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイの代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。

【図２０】図１９～２０は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイの代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。

【０１７６】

【図２０Ａ】図２０Ａは、本開示のもう１つの発明的実施態様に従った、図２０に示されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの画素についてのチップレイアウト設計の頂面図を示す。

【０１７７】

【図２１】図２１～２３は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイのさらなる代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。

【図２２】図２１～２３は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイのさらなる代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。

【図２３】図２１～２３は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイのさらなる代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。

【０１７８】

【図２４】図２４は、本開示のもう１つの発明的実施態様に従った、ｎ－チャネルｃｈｅｍＦＥＴおよび伴ったｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴで実施された図９の画素設計を示す。

【０１７９】

【図２５】図２５～２７は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴアレイについての代替画素設計および関連列回路を示す。

【図２６】図２５～２７は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴアレイについての代替画素設計および関連列回路を示す。

【図２７】図２５～２７は、本開示の他の発明的実施態様に従った、ｃｈｅｍＦＥＴアレイについての代替画素設計および関連列回路を示す。

【０１８０】

【図２８Ａ】図２８Ａおよび２８Ｂは、アレイ構造の三次元可視化を助けるための、丸いウェルおよび三角形ウェルを示す、ここに使用されるマイクロウェルアレイの部分の等尺説明図である。

【図２８Ｂ】図２８Ａおよび２８Ｂは、アレイ構造の三次元可視化を助けるための、丸いウェルおよび三角形ウェルを示す、ここに使用されるマイクロウェルアレイの部分の等尺説明図である。

【０１８１】

【図２９】図２９は、ＣＭＯＳ　ダイ上の個々のＩＳＦＥＴセンサーのアレイを示す、チップのレイアウトの１つのコーナー（すなわち、より低い左側コーナー）の頂面図のダイアグラム描写である。

【０１８２】
【図３０】図３０は、図２９に示されたダイの一部に対応する、前記センサーアレイのウェル当たり１センサー実施態様のための（典型的には、クロム）マスクの一部についてのレイアウトの例の説明図である。
【０１８３】
【図３１】図３１は、ウェル当たり４センサー実施態様のためのマスクについての対応するレイアウトである。
【０１８４】
【図３２】図３２は、図３３Ａに示されたように、基板上のセンサーの活性アレイを囲むレジストのカラーまたは壁（または、地質学的意味でのその用語を用いる盆地）を形成するために、アレイを囲うエリアをマスクするのに用いる第２のマスクの説明図である。
【０１８５】
【図３３】図３３は、得られた盆地の説明図である。
【０１８６】
【図３３Ａ】図３３Ａは、マイクロウェルアレイを作成するための３－層ＰＣＭプロセスの説明図である。
【０１８７】
【図３３Ｂ】図３３Ｂは、底部にエッチングされた「バンプ」特徴を伴うマイクロウェルのダイアグラム断面である。
【０１８８】
【図３３Ｂ－１】図３３Ｂ－１は、ＩＳＦＥＴ上の二酸化ケイ素の層中に形成されたマイクロウェルと共に、本明細書中で教示されるアレイアーキテクチャの一部を断面で示す走査型電子顕微鏡からの像である。
【０１８９】
【図３３Ｂ－２】図３３Ｂ－２は、断面でのマイクロウェルのダイアグラム説明図であり、該マイクロウェルは本明細書中に教示されたように製造され、勾配がついた側を有し、およびウェル底部のそれよりも大きな対応して適切な直径のビーズが、どのようにしてウェル側壁との干渉によってウェル底部から間隔を設けることができるのを示す。
【０１９０】
【図３３Ｂ－３】図３３Ｂ－３は、示される異なる直径のビーズを伴うそのようなマイクロウェルのもう１つのダイアグラム説明図であり、ＤＮＡを運ぶビーズのような核酸を運ぶビーズ下方のパッキングビーズの任意の使用を示す。
【０１９１】
【図３４】図３４～３７は、センサーアレイとの流体界面を取り込んだ適当な実験装置の第１の例を図式的に示し、図３５は断面線３５－３５’に沿って図３４の装置を通っての断面を供し、および図３６は図３５の一部を拡大し、ならびに図３７は、流体の流動をより見えるようにするために構造の一部をさらに拡大する。
【図３５】図３４～３７は、センサーアレイとの流体界面を取り込んだ適当な実験装置の第１の例を図式的に示し、図３５は断面線３５－３５’に沿って図３４の装置を通っての断面を供し、および図３６は図３５の一部を拡大し、ならびに図３７は、流体の流動をより見えるようにするために構造の一部をさらに拡大する。
【図３６】図３４～３７は、センサーアレイとの流体界面を取り込んだ適当な実験装置の第１の例を図式的に示し、図３５は断面線３５－３５’に沿って図３４の装置を通っての断面を供し、および図３６は図３５の一部を拡大し、ならびに図３７は、流体の流動をより見えるようにするために構造の一部をさらに拡大する。
【図３７】図３４～３７は、センサーアレイとの流体界面を取り込んだ適当な実験装置の第１の例を図式的に示し、図３５は断面線３５－３５’に沿って図３４の装置を通っての断面を供し、および図３６は図３５の一部を拡大し、ならびに図３７は、流体の流動をより見えるようにするために構造の一部をさらに拡大する。
【０１９２】

【図３８】図３８は、ある構成の例示的なフローセルの形成を開始するエッチングされたフォトレジスト層を伴う基板のダイアグラム説明図である。
【０１９３】
【図３９】図３９～４１は、図３８に一致するフローセルの第１の構成を製造するのに適したマスクのダイアグラムである。
【図４０】図３９～４１は、図３８に一致するフローセルの第１の構成を製造するのに適したマスクのダイアグラムである。
【図４１】図３９～４１は、図３８に一致するフローセルの第１の構成を製造するのに適したマスクのダイアグラムである。
【０１９４】
【図４２】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４２Ｂ】図４２Ｂ～４２Ｆは、流体の流動を統一するためのフローセル構造の例のダイアグラム説明図である。
【図４２Ｃ】図４２Ｂ～４２Ｆは、流体の流動を統一するためのフローセル構造の例のダイアグラム説明図である。
【図４２Ｄ】図４２Ｂ～４２Ｆは、流体の流動を統一するためのフローセル構造の例のダイアグラム説明図である。
【０１９５】
【図４２Ａ】図４２Ａは、本明細書中に示された配置で用いられるフローセルへの層流を促進するために用いるための、非－三角形流動チャンバーのアンティチャンバー（ディフューザーセクション）の可能な断面構成の説明図である。
【０１９６】
【図４２Ｅ】図４２Ｂ～４２Ｆは、流体の流動を統一するためのフローセル構造の例のダイアグラム説明図である。
【図４２Ｆ】図４２Ｂ～４２Ｆは、流体の流動を統一するためのフローセル構造の例のダイアグラム説明図である。
【０１９７】
【図４２Ｆ－１】図４２Ｆ１は、流体がチップの１つのコーナーで導入され、対角コーナーで存在するフローセルについてのシーリングバッフル配置の例のダイアグラム説明図であり、該バッフル配置はアレイを横切っての所望の流体流動を促進する。
【０１９８】
【図４２Ｆ－２】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－３】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－４】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－５】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつ

バッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－６】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－７】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【図４２Ｆ－８】図４２Ｆ２～４２Ｆ８は、射出成形によって製造することができ、かつバッフルを組み込んで、流体流動を促進することができる例示的フローセル部材、ならびに、参照電極として働くための金属化表面の説明の組を含み、センサーアレイの上のセンサーアレイパッケージに装着されて、その上に流動チャンバーを形成する該部材の説明図を含む。
【０１９９】
【図４２Ｇ】図４２Ｇおよび４２Ｈは、流体流動がチップアセンブリの中央に導入されたフローセルの代替実施態様のダイアグラム説明図である。
【図４２Ｈ】図４２Ｇおよび４２Ｈは、流体流動がチップアセンブリの中央に導入されたフローセルの代替実施態様のダイアグラム説明図である。
【０２００】
【図４２Ｉ】図４２Ｉおよび４２Ｊは、チップアセンブリ上に装着された、図４２Ｇおよび４２Ｈに示されるフローセル実施態様のタイプの断面説明図である；
【図４２Ｊ】図４２Ｉおよび４２Ｊは、チップアセンブリ上に装着された、図４２Ｇおよび４２Ｈに示されるフローセル実施態様のタイプの断面説明図である；
【０２０１】
【図４２Ｋ】図４２Ｋおよび４２Ｌは、流体がチップアセンブリのコーナーにおいて導入されるフローセルのダイアグラム説明図である。
【図４２Ｌ】図４２Ｋおよび４２Ｌは、流体がチップアセンブリのコーナーにおいて導入されるフローセルのダイアグラム説明図である。
【０２０２】
【図４２Ｍ】図４２Ｍは、図４２Ｋおよび４２Ｌに描かれたもののような装置における、チップアセンブリ上のアレイの１つのコーナーから対向コーナーへの流体流動のダイアグラム説明図である。
【図４３】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４４】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４５】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。

【図４６】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４７】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４８】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図４９】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図５０】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図５１】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図５２】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図５３】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【図５４】（図４２Ａ～４２Ｌを含まない）図４２～５４、および５７～５８は、装置の例および拡大の部分的に等尺の断面図の対であり、プラスチックおよびＰＤＭＳのような材料を用いて、フローセルおよび流動チャンバーへ参照電極を導入し、およびフローセルおよび流動チャンバーを形成する方法を示す。
【０２０３】
【図５５】図５５および５６は、本明細書中で教示されるように用いる、チップ上に装着するための流体装置を製造するための２－層ガラス（またはプラスチック）配置の模式的断面図である。
【図５６】図５５および５６は、本明細書中で教示されるように用いる、チップ上に装着するための流体装置を製造するための２－層ガラス（またはプラスチック）配置の模式的断面図である。
【０２０４】
【図５７】図５７および５８は、流体アセンブリの模式的実施態様である。
【図５８】図５７および５８は、流体アセンブリの模式的実施態様である。
【０２０５】
【図５９Ａ】図５９Ａ～５９Ｃは、フローセルを形成するための２－ピース射出成形部品の２つの例についての該ピースの説明図である。
【図５９Ｂ】図５９Ａ～５９Ｃは、フローセルを形成するための２－ピース射出成形部品

の２つの例についての該ピースの説明図である。
【図５９Ｃ】図５９Ａ～５９Ｃは、フローセルを形成するための２－ピース射出成形部品の２つの例についての該ピースの説明図である。
【０２０６】
【図６０】図６０は、図５９Ａ～５９Ｃのフローセル、または他のフローセルのようなフローセルの下流ポートへ、電極としてのステンレス鋼毛細管を導入するための、断面図での、模式的説明図である。
【０２０７】
【図６１】図６１は、無機ピロホスフェート（ＰＰｉ）の同時放出を伴った、ｄＮＴＰの、合成された核酸ストランドへの取込みを示す模式図である。
【０２０８】
【図６１Ａ】図６１ＡおよびＢはビーズ沈着に続いてのマイクロウェルアレイのデータ捕獲イメージである。白色スポットはビーズである。図６１Ａは光学顕微鏡イメージであって、図６１ＢはマイクロウェルアレイのＣｈｅｍＦＥＴセンサーを用いて捕獲したイメージである。
【図６１Ｂ】図６１ＡおよびＢはビーズ沈着に続いてのマイクロウェルアレイのデータ捕獲イメージである。白色スポットはビーズである。図６１Ａは光学顕微鏡イメージであって、図６１ＢはマイクロウェルアレイのＣｈｅｍＦＥＴセンサーを用いて捕獲したイメージである。
【０２０９】
【図６２】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６３】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６４】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６５】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６６】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６７】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６８】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図６９】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【図７０】図６２～７０は、本発明のミクロ流体アレイへのビーズの負荷を示す。
【０２１０】
【図７１】図７１は例示的な配列決定プロセスを示す。
【０２１１】
【図７２Ａ】図７２Ａ～Ｃは、ポリメラーゼアッセイ（Ａ）の模式図、および種々のポリメラーゼについての延長データを提供する。
【図７２Ｂ】図７２Ａ～Ｃは、ポリメラーゼアッセイ（Ａ）の模式図、および種々のポリメラーゼについての延長データを提供する。
【図７２Ｃ】図７２Ａ～Ｃは、ポリメラーゼアッセイ（Ａ）の模式図、および種々のポリメラーゼについての延長データを提供する。
【０２１２】
【図７３】図７３は、低イオン強度におけるポリメラーゼ親和性に関するデータを提供する。
【０２１３】
【図７４Ａ】図７４Ａ～Ｃは、時間の関数としてのポリメラーゼ活性に関するデータを提供する。
【図７４Ｂ】図７４Ａ～Ｃは、時間の関数としてのポリメラーゼ活性に関するデータを提供する。
【図７４Ｃ】図７４Ａ～Ｃは、時間の関数としてのポリメラーゼ活性に関するデータを提供する。
【０２１４】
【図７５Ａ】図７５Ａ～Ｂはプライマー延長をアッセイするのに用いるウェルおよびセン

サー系（Ａ）およびそのような延長アッセイの結果（Ｂ）を示す。
【図７５Ｂ】図７５Ａ～Ｂはプライマー延長をアッセイするのに用いるウェルおよびセンサー系（Ａ）およびそのような延長アッセイの結果（Ｂ）を示す。
【発明を実施するための形態】
【０２１５】
以下に示すのは、分析物の検出および／または測定のための大規模なｃｈｅｍＦＥＴアレイに関する本発明の方法および装置に関する種々の概念、およびその実施形態のより詳細な記載である。開示された概念は実施のいずれかの特定の様式に限定されないので、上記で導入され、および以下でより詳細に議論される種々の概念は、多数の方法のいずれかで実施できるのは認められるべきである。具体的な実施および適用の例は、主として、説明目的で供される。
【０２１６】
本開示に従った種々の発明的実施形態は、少なくとも部分的には、マイクロエレクトロニクスのパワーをミクロ流体系の生体適合性と組み合わせる半導体ベースの／ミクロ流体ハイブリッド系に向けられる。以下のいくつかの例において、ハイブリッド系のマイクロエレクトロニクス部分は、説明の目的で、ＣＭＯＳ技術で実施される。しかしながら、他の半導体ベースの技術を利用して、本明細書中で議論される系のマイクロエレクトロニクス部分の種々の態様を実施できるので、該開示はこの点について限定的であることを意図しないことは認められるべきである。
【０２１７】
本明細書中に開示される１つの実施形態は、化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）の大きなセンサーアレイ（例えば、二次元アレイ）に向けられ、ここに、個々のｃｈｅｍＦＥＴセンサーエレメントまたはアレイの「画素」は、操作されていない試料中におけるあるいはアレイに近接して起こる化学的および／または生物学的プロセス（化学反応、細胞培養、神経活性、核酸配列決定プロセスなど）の結果としての、分析物の存在（または不存在）、分析物のレベル（または量）および／または分析物の濃度を検出するように構成されている。以下により詳細に議論する種々の実施形態において考えられるｃｈｅｍＦＥＴの例は、限定されるものではないが、イオン感受性電界効果トランジスタ（ＩＳＦＥＴ）および酵素感受性電界効果トランジスタ（ＥＮＦＥＴ）を含む。１つの例示的な実施において、１以上のミクロ流体構造はｃｈｅｍＦＥＴセンサーアレイ上方で製造されて、当てはまるように、注目する分析物を生産し、または消費することができる生物学的または化学的反応の含有および／または封じ込めを提供する。例えば、１つの実施においては、その上に所与のウェルが設けられた１以上のセンサーが、該所与のウェル中の分析物の存在、レベル、および／または濃度を検出し、測定するように、ミクロ流体構造は、アレイの１以上のセンサーの上方に配置された１以上の「ウェル」（例えば、小さな反応チャンバーまたは「反応ウェル」）として構成することができる。
【０２１８】
もう１つの例示的実施において、本発明は、反応チャンバーの少なくとも１つの二次元アレイを含む高スループット配列決定のための系を含み、ここに、各反応チャンバーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（「ｃｈｅｍＦＥＴ」）にカップリングされており、各反応チャンバーは容量が１０μｍ^3（すなわち、１ｐＬ）以下である。好ましくは、各反応チャンバーは容量が．３４ｐＬ以下、より好ましくは．０９６ｐＬ以下、．０１２ｐＬさえである。反応チャンバーは、所望により、頂部における断面面積が２^2、３^2、４^2、５^2、６^2、７^2、８^2、９^{2}または１０^{2}平方ミクロンとすることができる。好ましくは、アレイは少なくとも１００、１，０００、１０，０００、１００，０００または１，０００，０００の反応チャンバーを有する。反応チャンバーは、ｃｈｅｍＦＥＴに容量的にカップリングさせることができ、好ましくは、ｃｈｅｍＦＥＴに容量的にカップリングさせる。
【０２１９】
いくつかの実施形態において、そのようなｃｈｅｍＦＥＴアレイ／マイクロ流体ハイブ

リッド構造を用いて、核酸を含有する注目する溶液／材料を分析することができる。例えば、そのような構造を使用して、核酸の配列決定をモニターすることができる。核酸の配列決定を行って、核酸の部分的または完全なヌクレオチド配列を決定し、核酸における単一ヌクレオチド多形の存在、いくつかの例においては、性質を検出し、いずれの治療方法が、対象の遺伝子メーキャップによって決定できるように、特定の疾患を有する対象を処置するのに最も有効であるかを決定し、２以上の状態の核酸発現プロフィールを決定し、比較し、（例えば、病気のおよび正常な組織の発現プロフィールの比較、あるいは未処理組織、および薬物、酵素、放射線または化学的処置で処理された組織の発現プロフィールの比較）、試料をハプロタイプ分析し（例えば、ヒト対象に存在する２つの対立遺伝子の各々についての遺伝子または遺伝子における変異の比較）、試料を核型分析し（例えば、肉眼での染色体または他のゲノムの異常を検出するための、胚のような細胞または組織の染色体メーキャップの分析）、および遺伝子型分析する（例えば、例えばキャリアの状態および／または種－族関係を決定するために１以上の遺伝子座の分析）ことができる。

【０２２０】

本明細書中に記載された系を利用して、全ゲノムまたはそのいずれかの部分の核酸を配列決定することができる。配列決定することができるゲノムは哺乳動物ゲノム、好ましくはヒトゲノムを含む。かくして、１つの例示的な実施形態において、本発明は：ゲノムまたはその部分からの断片化された核酸を、反応チャンバーの少なくとも１つの二次元アレイを含む高スループット配列決定のための系に送達し、ここに、各反応チャンバーは化学的に感受性の電界効果トランジスタ（「ｃｈｅｍＦＥＴ」）にカップリングされており、および各反応チャンバーは容量が１ｐＬ以下であり、次いで、反応チャンバーのｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを介して反応チャンバーの少なくとも１つにおいて配列決定反応を検出することを含む、ゲノムまたはその部分を配列決定する方法を含む。

【０２２１】

別法の例示的実施形態において、該方法は：ゲノムまたはその部分からの断片化された核酸を、反応チャンバーの二次元アレイを含む配列決定装置に送達し、ここに、反応チャンバーの各々は、関連するｃｈｅｍＦＥＴとの検知関係において配置され；次いで、関連するｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを介して反応チャンバーの少なくとも１つにおける配列決定反応を検出することを含む。

【０２２２】

好ましくは、配列決定反応は、第一のデオキシリボヌクレオチド三リン酸（「ｄＮＴＰ」）を、反応チャンバーの各々に送達することによって行われる。好ましくは、送達工程は、第一のｄＮＴＰを実質的に同時に反応チャンバーの各々に送達することを含む。一旦、第一のｄＮＴＰが反応チャンバーに送達されれば、酵素は、典型的には、反応チャンバーに送達されて、いずれの使用されていないｄＮＴＰも分解し、続いて、洗浄して、反応チャンバーからの酵素の実質的に全てを除去する。好ましくは、該酵素はＰＰｉも分解する。洗浄はいずれの分解されたｄＮＴＰまたは分解されたＰＰｉも除去することもできる。

【０２２３】

配列決定すべき核酸は、天然に生じるまたは天然に生じない核酸とすることができ、好ましくは、天然に生じる核酸である。核酸は、限定されるものではないが、デオキシリボ核酸（「ＤＮＡ」）（例えば、メッセンジャーＤＮＡ、相補的ＤＮＡ、または核ＤＮＡ）、リボ核酸（「ＲＮＡ」）（例えば、ミクロＲＮＡ、トランスファーＲＮＡ、メッセンジャーＲＮＡ、または小干渉性ＲＮＡ）、またはペプチドを含めたいくつかの源のいずれから得ることもできる。該源がＤＮＡである場合、該ＤＮＡは、限定されるものではないが、血液、唾液、脳脊髄液（「ＣＳＦ」）、皮膚、毛髪、尿、糞、および粘膜を含めた、ＤＮＡを含有するいずれの体液または組織からも得ることができる。配列決定すべき核酸の出発量は、最小の試料の要件を決定する。単一のストランドにおける４５０塩基の平均を持ち、塩基当り３２５ｇ／モルの平均分子量を持つ以下のビーズのサイズを考慮し、我々は以下の：

【表２】

ビーズサイズ（ｕｍ）	ＤＮＡのフェムトグラムを有する。
0.2	0.124
0.3	0.279
0.7	1.52
1.05	3.42
2.8	24.3
5.9	108

【０２２４】

アレイで用いるのが考えられるビーズおよびマイクロウェルの数が与えられれば、かくして、試験すべき対象から採取された試料は３μｇのオーダーであることのみが必要であるのは明らかであろう。

【０２２５】

好ましくは、前記した方法を用い、少なくとも10^6の塩基対が１時間当たりに配列決定され、より好ましくは、少なくとも10^7塩基対が１時間当たりに配列決定され、なおより好ましくは、少なくとも10^8の塩基対が１時間当たりに配列決定され、なおより好ましくは、少なくとも10^9の塩基対が１時間当たりに配列決定され、最も好ましくは少なくとも10^{10}の塩基対が１時間当たりに配列決定される。かくして、該方法を用いて、約２４時間以内に、より好ましくは約２０時間以内に、なおより好ましくは約１５時間以内に、なおより好ましくは約１０時間以内に、なおより好ましくは約５時間以内に、最も好ましくは、約１時間以内に全ヒトゲノムを配列決定することができる。

【０２２６】

本明細書中に記載された系を利用して、約３μｇ以下のＤＮＡから生物の全ゲノムを配列決定することができる。１つの実施形態において、本発明は、生物からの約３μｇ以下のＤＮＡを化学的に感受性の電界効果トランジスタのアレイに送達し、次いで、ゲノムの配列を決定することを含む、生物の全ゲノムを配列決定する方法を含む。もう１つの実施形態において、本発明は、オプティックスまたは標識を使用することなく約１ｎｇ以下のＤＮＡから完全なヒトゲノムを配列決定するのに適合したデバイスを含む。典型的には、該デバイスはｃｈｅｍＦＥＴアレイおよび／またはミクロ流体反応チャンバーのアレイおよび／または誘電性材料にカップリングされた半導体材料を含む。

【０２２７】

前記した配列決定は、５００μｍ、４００μｍ、または３００μｍまでのイオン強度を有する反応混合物中で行うことができる。溶液のイオン強度Ｉは、溶液に存在する全てのイオンの濃度の関数である。

【数２０】

$$I_c = \frac{1}{2}\sum_{B=1}^{n} c_B z_B^2$$

ここに、c_BはイオンＢのモル濃度（モルdm^{-3}）であり、z_Bはそのイオンの電荷数であって、合計は溶液中の全てのイオンにわたって取られる。Mg^{+2}またはMn^{2+}濃度は１０００μＭ、５００μＭ、２００μＭ、１００μＭ、５０μＭ、１０μＭ、５μＭまたは１μＭであってさえよい。

【０２２８】

前記した方法は、配列決定反応がロボティックスを介して行われるように自動化してもよい、加えて、反応チャンバーのｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを介して得られた配列決定情報は、ユーザーが配列決定反応の進行を遠隔的にモニターできるように、パーソナルコンピュータ、パーソナルデジタルアシスタント、携帯電話、ビデオゲームシステム、またはテレビに供することができる。このプロセスは、例えば、図７１に示される。

【０２２９】

また、本明細書中に記載された系を用いて、病気の同定および治療を助けることもできる。例えば、該系は、特定の病気に関連した配列を同定するために、または特定の有効成分に対する陽性の応答に関連する配列を同定するために用いることができる。

【０２３０】

１つの実施形態において、本発明は、疾患を有する複数の対象からの核酸を、反応チャンバーの二次元アレイを含む配列決定装置に送達し、ここに、反応チャンバーの各々がｃｈｅｍＦＥＴに容量的にカップリングされており；該ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルから核酸の配列を決定し；次いで、複数の対象からのＤＮＡ間の共通の配列を同定することを含む、疾患に関連する配列を同定する方法を含む。好ましくは、対象は哺乳動物、より好ましくはヒトである。好ましくは、疾患は癌、免疫抑制疾患、神経学的疾患、またはウイルス感染である。

【０２３１】

もう１つの実施形態において、本発明は、１以上の配列決定装置を用い、活性剤に対して、陽性応答を呈した複数の対象からの、および陰性応答を有する複数の対象からのＤＮＡを配列決定し、ここに、各配列決定装置はｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含み；次いで、陽性応答を呈した複数の対象における、あるいは他の複数の対象には存在しない陰性応答を呈した対象からの共通のＤＮＡ配列を決定することを含む、特定の活性剤に対する陽性応答に関連する配列を同定する方法を含む。好ましくは、対象は哺乳動物、より好ましくはヒトである。

【０２３２】

しかしながら、本明細書中に開示された概念のいくつかの説明的例は核酸プロセッシングに対して焦点を当てているが、本発明では、これらの概念のより広い適用が考えられ、これらの例に限定される意図はないことは認められるべきである。

【０２３３】

図８は、一般に、本開示の１つの発明的実施形態に従った、大規模なｃｈｅｍＦＥＴアレイを含む核酸プロセッシング系１０００を説明する。核酸プロセッシング系の例は核酸配列決定系である。以下の議論においては、アレイのｃｈｅｍＦＥＴセンサーは、限定されるものではないが、水素イオン濃度および／または核酸プロセッシングに関与する他のイオン種の濃度を含めた、静的および／または動的イオン濃度に対する感度について構成されたＩＳＦＥＴとしての説明目的で記載される。しかしながら、本開示はこの点について限定されず、および説明的例としてＩＳＦＥＴが使用される本明細書中で議論した実施形態のいずれにおいても、以下でさらに詳細に議論するように、ｃｈｅｍＦＥＴの他のタ

イプを代替実施形態で同様に使用できることは認められるべきである。同様に、本発明の種々の態様および実施形態はセンサーとしてＩＳＦＥＴを使用できるが、水素イオンではない１以上のイオン性種を検出できるのは認められるべきである。

【０２３４】

系１０００は、ＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００およびミクロ流体フローセル２００を含む半導体／ミクロ流体ハイブリッド構造３００を含む。１つの態様において、フローセル２００は、ＩＳＦＥＴアレイ１００の対応するセンサー上方に配置された（図８には示されない）多数のウェルを含むことができる。もう１つの態様において、フローセル２００は、多数の配列決定試薬２７２（例えば、本明細書中においては上位概念的にはｄＮＴＰという塩基、ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰ、ｄＴＴＰ、限定されるものではないが、Mg^{2+}のような二価カチオン、洗浄溶液等）のフローセルに対する制御されかつ順序立てた許可（または導入）を介してフローセルに配置された１以上の同一の鋳型核酸の配列決定を容易とするように構成される。

【０２３５】

図８に示されるように、配列決定試薬のフローセル２００への許可は、コンピュータ２６０によって制御される１以上のバルブ２７０および１以上のポンプ２７４を介して達成することができる。多数の技術を用いて、種々のプロセッシング材料（例えば、溶液、試料、反応試薬、洗浄溶液等）をそのようなフローセルのウェルに対して許可する（すなわち、導入する）ことができる。図８に示されるように、塩基を含めた試薬は、それらがそこからウェルに拡散するフローセルへ（例えば、コンピュータ制御バルブ２７０およびポンプ２７４を介して）許可され得、あるいは試薬はインクジェットのような他の手段によってフローセルに加えることができる。なおもう１つの例において、フローセル２００はいずれのウェルも含有できず、試薬の拡散特性を探索して、ＩＳＦＥＴアレイ１００の各センサーの間のクロストークを制限することができる。

【０２３６】

本明細書中でより詳細に議論するように、本発明に従って提供される配列決定方法の種々の実施形態は、鋳型核酸の多数の同一コピーがそれらの表面に付着されたビーズを用いる。そのようなビーズは、一般に、本明細書中においては、核酸が「負荷された」という。好ましくは、各反応ウェルは単一のビーズのみを含む。それらの内には数十、数百、数千以上があり得る核酸が負荷されたビーズは、まず、フローセルに入り、次いで、個々のビーズが個々のウェルに入る。ビーズは受動的にまたはその他の方法でウェルに入ることができる。例えば、ビーズは、いずれかの適用された外力なくして重力を通じてウェルに入ることができる。ビーズは、限定されるものではないが、磁力または遠心力を含めた適用された外力を通じてウェルに入ることができる。いくつかの実施形態において、もし外力が適用されたならば、それは、ウェルの高さ／深さに対して横方向よりもむしろ、ウェルの高さ／深さに対して平行である方向に適用され、目的はできる限り多くのビーズを「捕獲する」ことである。好ましくは、ウェル（またはウェルアレイ）は攪拌されないというのは、例えば、ウェルの高さ／深さに対して垂直である適用された外力を通じて起こり得るからである。さらに、一旦ウェルがそのように負荷されたならば、それらは、ウェルからビーズを除去し得るいずれの他の力にも付されない。

【０２３７】

さらに、本明細書中で議論されるように、核酸負荷ビーズに加えて、各ウェルは、本明細書中においては「パッキングビーズ」といわれる複数のより小さいビーズを含むこともできる。パッキングビーズは、ウェルに存在する分析物、試薬、反応パラメータ等と相互作用または干渉しないいずれかの不活性な材料で構成され得る。パッキングビーズはｃｈｅｍＦＥＴ表面および核酸負荷ビーズの間に位置させることができ、その場合、それらは核酸負荷ビーズ前にウェルに導入してもよい。別法として、それらは、全て、核酸負荷ビーズの周りに位置させてもよく、その場合、それらは、核酸負荷ビーズの前に、その間におよび／または後にウェルに加えてもよい。なお他の実施形態において、パッキングビーズの大部分は核酸負荷ビーズの頂部に位置させてもよく、その場合、それらは核酸負荷ビ

ーズ後にウェルに加えてもよい。

【０２３８】

パッキングビーズは１以上の種々の機能を発揮することができる。例えば、パッキングビーズは、特に、もしそれらのいくらかの分率が核酸負荷ビーズの頂部に位置するならば、ウェルからの核酸負荷ビーズの除去を最小化し、または一緒に妨げるように作用することができる。パッキングビーズは、限定されるものではないが、ＰＰｉおよび取り込まれていないヌクレオチドを含めた、ウェルにおける溶液中の１以上の成分の拡散速度を減少させるように働くことができる。いくつかの実施形態において、パッキングビーズは、常磁性ビーズである。パッキングビーズは、Ｂａｎｇｓ　Ｌａｂｒａｔｏｒｉｅｓのような源から商業的に入手可能である。

【０２３９】

拡散は、反応チャンバーに増粘剤を含めることによってインパクトすることができる。そのような剤の一例は、核酸でないポリマー（すなわち、非核酸ポリマーである）。該ポリマーは天然に生じるものであっても、または天然に生ないものであってもよく、ＰＰｉ、取り込まれていないヌクレオチド、および／または他の反応副産物または試薬の反応チャンバー底部に向けての拡散を減速させる以外は、それはいずれの性質であってもよく、但し、それはヌクレオチドの取込みおよび検出に干渉しないものとする。適当なポリマーの一例はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）である。他の例はＰＥＡ、デキストラン、アクリルアミド、セルロース（例えば、メチルセルロース）等を含む。該ポリマーは溶液中で遊離していてもよく、またそれは反応チャンバーの１以上の側に、捕獲ビーズに、および／または存在し得るいずれかのパッキングビーズに（共有結合により、または非共有結合により）固定化されていてもよい。非共有結合付着はビオチン－アビジン相互作用を介して達成することができる。

【０２４０】

なお他の配列決定実施形態において、捕獲ビーズを使用する代わりに、ウェルを例えば、プライマー核酸の対を含めた１以上の核酸でコーティングすることができ、およびプライマーヌクレオチド配列に相補的なアダプターヌクレオチド配列を有する鋳型核酸をウェルに導入することができる。分析物または鋳型核酸を固定化することにおいて有用なこれらおよび他の剤をセンサーアレイ１００に、チップパッキングの一部としての個々のダイに、またはウェルに、試料の処理直前に供することができる。ゾルゲルに関連する他の方法を用いて、ＩＳＦＥＴアレイ１００の表面近くに核酸のような剤を固定化することができる。

【０２４１】

本明細書中でより詳細に議論するように、本発明において考えられる配列決定方法のいくつかの態様において鋳型核酸をウェルへの設置に先立って、またはその後に増幅してもよい。種々の方法が核酸を増幅するのに存在する。かくして、１つの態様において、一旦鋳型核酸がフローセル２００のウェルに負荷されたならば、増幅をウェルにおいて実行し、得られた増幅された産物を変性し、および配列決定×合成し、または次いで実施してもよい。増幅方法は、限定されるものではないが、ブリッジ増幅、ローリングサークル増幅、あるいは等温または非－等温増幅技術を用いる他の戦略を含む。

【０２４２】

まとめると、図８の系におけるフローセル２００は、種々の様式で構成して、ＩＳＦＥＴアレイ１００に近接して１以上の分析物（または１以上の反応溶液）を供することができる。例えば、鋳型核酸を適当に近接させて、センサーアレイ１００の１以上の画素に、あるいはセンサーアレイ上方に位置した支持体材料（例えば、１以上の「ビーズ」）上に直接的に付着させ、または適用してもよい。プロセッシング試薬（例えば、ポリメラーゼのような酵素）を、直接センサー上に、あるいはセンサーに近接した１以上の固体支持体上に置くこともできる。該デバイスは、少なくとも１つのセンサー－検出可能生成物（例えば、イオン濃度の変化）の検出および／または測定を含む多数のバイオセンサー適用のためにウェルまたはビーズ無くして用いることができるのは理解されるべきである。

【０２４３】
図８の系１０００においては、１つの実施形態によると、ＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００はイオン種、特に、イオン種のレベル／量および／または濃度の変化をモニターする。重要な実施形態において、種は、核酸合成または配列決定反応から得られたものである。１つの特に重要なイオン種は、ヌクレオチド取込の結果として放出されるＰＰｉである。一旦合成または配列決定反応が完了したならば、もう１つの重要な種は反応チャンバーに加えられた、および反応チャンバーに残る過剰のヌクレオチドである。そのようなヌクレオチドは、本明細書中においては、「取り込まれていないヌクレオチド」という。
【０２４４】
本明細書中においてより詳細に議論されるように、本発明の種々の実施形態は、ＩＳＦＥＴの静的および／または動的応答を含むモニタリング／測定技術に関することができる。核酸合成または配列決定反応の間におけるヌクレオチド取込の検出に関連する１つの実施形態において、検出／測定技術は、特に、図２Ａに関連して先に議論したように、核酸合成または配列決定反応に関連する種々のイオン種の濃度変化を検出するために、ＩＳＦＥＴの一過的または動的応答（イオン－段階的応答、または「イオンパルス」出力）に依拠している。核酸合成または配列決定反応の特定の例を供して、ＩＳＦＥＴの一過的または動的応答を説明するが、他の実施形態によると、以下に議論されるＩＳＦＥＴの一過的または動的応答は、核酸合成または配列決定反応の具体的例を超えた化学的および／または生物学的活性の他のタイプをモニターし／検知するために開発することができるのは認められるべきである。
【０２４５】
１つの例示的実施において、従前の研究努力によって考えられた分析物溶液中の段階的または実質的に瞬間的なｐＨ変化を超えて、本発明のいくつかの実施形態に従ったＩＳＦＥＴの動的応答に依拠する検出／測定技術は、少なくとも部分的には、（例えば、ＩＳＦＥＴ上の反応ウェルの底部における）分析物／ＩＳＦＥＴの不動態化層界面に近接する種々のイオン性種の異なる拡散に基づく。特に、出願人らは、もし分析物／不動態化層界面に近接したイオン強度の変化によって構成される与えられた刺激が、注目する各種の適当な拡散のため、不動態化層の能力よりも有意に速い速度で起こって、濃度変化の刺激に応答してその表面電荷密度を調整するならば（例えば、不動態化層表面に関連する特徴的な応答時定数τよりも速い）、イオン強度の段階的または実質的に瞬時の変化は、ＩＳＦＥＴからのイオンパルス出力を観察するのに必ずしも必要とされないのを認識し、認めた。この原理は、ＤＮＡ配列決定の例に対してのみならず、同様に、化学物質の他のタイプおよび化学反応検知に適用可能である。
【０２４６】
本開示の目的では、十分に速いタイムスケールで起こる分析物溶液中のイオン強度のいずれかの有意な変化によって構成された刺激に対するＩＳＦＥＴのパルス応答を「イオンパルス」といい、ここに、該パルスの振幅は方程式（１７）によって記載されて、ここに、パルスの幅および形状（経時的なパルスの上昇および崩壊）は、イオン種に関連する拡散パラメーターに関し、（方程式（１８）に関連して先に議論したように、１以上の特徴的な時定数τに反映されたように）分析物／不動態化層界面において、イオン強度の変化および平衡反応キネティックスを生起させる。(18)).本明細書中で議論された種々の実施形態において、分析物／不動態化層表面に近接するイオン種の濃度変化による１以上のパルスが、もしそのような濃度変化が、濃度変化の刺激に応答してその表面電荷密度を調整する不動態化層の能力よりも速い速度で起こるならば、ＩＳＦＥＴ出力シグナルで観察できる（例えば、イオン強度の変化は時間ｔ＜＜τ以内に起こる）。再度、これまでから、イオン強度の段階的または瞬時の変化（例えば、ＩＳＦＥＴ不動態化層表面に対して鉛直な方向の高い流速）は、ＩＳＦＥＴからのイオンパルス出力を観察するのに必要とされないのは認識されるべきである。
【０２４７】
より具体的には、（相対的により低いイオン強度、例えば、＜１モル／リットルの領域

におけるデバイ理論の適用性を仮定して）方程式（１０）および（１１）を再度参照し、ＩＳＦＥＴがイオン強度の変化の後に同一表面ポテンシャルに再度平衡化することを考慮されたい。これは、もしデバイスクリーニング長さがλ’に変化すれば、表面電荷密度は対向量だけ変化して、表面ポテンシャル定数を保つことを示唆する、すなわち：
【数２１】

$$\sigma' = \frac{\sigma\lambda}{\lambda'}. \qquad (20)$$

方程式（１８）に関連して先に議論したように、表面電荷密度σは、時定数τでの時間の指数関数として近似して記載することができる。従って、もし、分析物溶液中の時間変化イオン強度Ｉ（ｔ）のため時間－変化デバイスクリーニング長さλ（ｔ）があれば（方程式（１２）および（１３）参照）、表面電荷密度は微分方程式：
【数２２】

$$\frac{d\sigma}{dt} = -\frac{\left[\sigma - \frac{\sigma(0)\lambda(0)}{\lambda(t)}\right]}{\tau}. \qquad (21)$$

に従い、表面電荷密度は、連続して、デバイスクリーニング長さが時間と共に変化するにつれて初期表面ポテンシャルを与える値まで戻ろうとするのが観察できる。

方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。時間の関数としての表面ポテンシャルは、以下の
【数２３】

$$\Psi_0(t) = \frac{-\lambda(t)\sigma(t)}{k\varepsilon_0}. \qquad (22)$$

のように、方程式（１０）および（１１）から、デバイスクリーニング長さの項において表わすことができる。
σ（ｔ）を含む新しい変数ｇ（ｔ）を導入し、かつ方程式（１２）を参照し、方程式（２２）は、以下の
【数２４】

$$\Psi_0(t) = \frac{g(t)}{\sqrt{I(t)}}, \qquad (23)$$

のように、時間変化イオン強度Ｉ（ｔ）の項において書き換えることができ、それから以下の
【数２５】

$$\frac{dg}{dt} = -\frac{\left[g - \frac{g(0)\sqrt{I(t)}}{\sqrt{I(0)}}\right]}{\tau}. \qquad (24)$$

が得られる：
方程式（２３）および（２４）は、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおけるイオンパルスの発生

および総じてのプロフィールが、共に、分析物／不動態化層界面の表面キネティックスに関連する時定数τ、および時間Ｉ（ｔ）の関数としてのイオン強度に依存し、これは、反応ウェルにおける各イオン種の濃度によって与えられ、というのは、それらは反応および拡散のため経時的に変化するからであることを示す。前記したように、これまでのことから、出願人らは、Ｉ（ｔ）が、（時定数τによって特徴付けられるように）再度平衡化する表面電荷密度の能力よりも速い速度で変化する限り、イオンパルス出力が観察できることを認識し、認めており、ここに、パルスの開始のプロフィールは主としてＩ（ｔ）によって決定され、パルスの崩壊プロフィールは主として時定数τによって決定される。再度、これまでの分析は、一般に分析物溶液に存在する実質的にいずれのイオン種にも適用され、従って、ＩＳＦＥＴの一過的または動的応答を開発して、種々の化学的／または生物学的活性をモニターすることができる。

【０２４８】

核酸合成または配列決定反応の具体的例に関しては、１つの実施形態において、アレイ１００の例示的ＩＳＦＥＴを使用して、合成または配列決定試薬の、ＩＳＦＥＴに関連する、かつ従前に負荷された鋳型を含有する対応する反応ウェルへの添加に応答する、１以上のパルスを含む出力シグナルを供することができる。図８Ａおよび８Ｂを参照し、この実施形態に従った例示的方法において、既知のヌクレオチド（すなわち、ｄＮＴＰ、ここに、ＮはＡ、Ｃ、ＧまたはＴの１つをいう）が（以下にさらに議論する）適当な拡散パラメータにて反応ウェルに導入され、合成または配列決定反応を開始させ、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおいて検出された、（もし多数のパルスが発生するならば）イオンパルスの数、および順次のパルスの間の時間間隔はヌクレオチド取込みについて価値ある情報を提供する。

【０２４９】

より具体的には、ヌクレオチド取込みを検出するための１つの実施形態に従った方法において、もし反応ウェルに導入された１以上のヌクレオチドがそれらの導入に際して取り込まれれば、ＰＰｉが発生する。図８Ａは、１つの例示的実施における核酸合成または配列決定反応の間における、ＩＳＦＥＴ分析物／不動態化層界面に近接する分析物における時間の関数としての種々のイオン種の（μＭで表わした）濃度を示すグラフである。図８Ａに示された特別な例において、プロット４１は時間の関数としてのＰＰｉの濃度を示し、およびプロット４３は（秒で表わした）時間の関数としてのｄＮＴＰ濃度を示す。ＰＰｉの最初の濃度増加に実質的に対応する時間ｔ＝０秒および注目する種に対する特定の拡散パラメータにて、ほぼ１５秒＜ｔ＜１７．５秒において、ＰＰｉの濃度は突然減少し、ｄＮＴＰの濃度の対応する増加があることが観察することができる。本論議の目的では、反応ウェルへの許可に際しての所与のヌクレオチドタイプｄＮＴＰの各取込みは、「取込み事象」という。図８Ａの例においては、以下でさらに議論するように、多数の取込み事象が期間０＜ｔ＜１７．５の間に起こり、そこでは、ＰＰｉ濃度は上昇する。

【０２５０】

図８Ｂは、図８Ａにてプロフィールを示したものと同様な例示的核酸配列決定／合成反応についての時間の関数としてのＩＳＦＥＴ出力電圧の多数のプロットを示すグラフである。前記表１および方程式（３）、（４）、（５）および（１６）を参照し、二酸化ケイ素または窒化ケイ素いずれかの不動態化層および、例えば、ほぼ８～９の分析物ｐＨに基づき、ほぼ－２００ｍＶのオーダーの「ベースライン」ＩＳＦＥＴ出力電圧が、図８Ｂに示されるように予測されるはずであることを認識し得る。関連するイオン種の適当な拡散パラメータを仮定すれば、ＩＳＦＥＴの分析物／不動態化層界面に近接するＰＰｉの初期の発生は、１以上の取込み事象のため、十分に速いイオン強度変化刺激Ｉ（ｔ）を構成し、それにより、前記方程式（２３）に従った表面ポテンシャルΨ_0の変化、および前記方程式（３）、（４）および（５）によって与えられるＩＳＦＥＴ出力シグナルの対応する変化を引き起こし、その結果、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおいてイオンパルスをもたらす。別の言い方をすれば、１以上の取込み事象によるＰＰｉ発生の持続に拘わらず、十分に速い刺激を構成する初期のＰＰｉ発生に続き、分析物／不動態化層界面はいくらかの定常

状態平衡に戻り、それにより、初期刺激に対する一過性の応答を完成させ、ＩＳＦＥＴシグナルにおいてパルスを生起させ、その例は図８Ｂに示される。一般に、図８Ｂから、１つの例示的実施において、与えられたイオンパルスについての崩壊プロフィールに対する時定数τは、ほぼ２～２．５秒のオーダーとなり得ることが観察できる。しかしながら、（例えば、方程式（１９）に関連して先に議論したように）本発明の種々の実施形態はこの説明的例に限定されず、というのは、時定数τは、少なくとも部分的に、所与の不動態化層の材料依存性特性、ならびに分析物溶液のバルクｐＨに依存し得るからであることは認識されるべきである。

【０２５１】

図８Ｂにおいては、時間の関数としてのＩＳＦＥＴ出力シグナルに対する多数の異なるプロットが示され、脚注は、示された出力シグナルを生起させる取込み事象の数を示すために注意書きN_{poly}＝ｘ（Ｘ＝０，１，２，７）を使用する。…１以上の取込み事象（$N_{poly}\neq 0$）に対応する出力シグナルのプロットの全ては、その各ピークがいくらかの時間間隔によって分離される２つのパルスを含む。例えば、時間間隔４７によって分離されたパルス４５および４９を含めた出力シグナルのプロットは、図８Ａに示された濃度変化に対応し、脚注注意書きN_{poly}＝７で標識され、これは、本例示的実施における時間間隔４７が７つの取込み事象を表すことを示す。

【０２５２】

より具体的には、ヌクレオチド取込みを検出するための例示的方法において、もしＰＰｉが１以上の取込み事象に従って発生すれば、いくつかの点取込み中断において、プロット４３により図８Ａに示されるように、ＰＰｉはもはや発生せず、および取り込まれていないヌクレオチド（ｄＮＴＰ）の濃度は増大する。もし、拡散パラメータが、ｄＮＴＰの増大した濃度が、ＰＰｉによるイオンパルスの完了の後に（すなわち、分析物／不動態化層界面が最初のＰＰｉ刺激に続いて定常状態に到達した後に）起こるようなものであれば、取り込まれていないヌクレオチドのこの増大した濃度が、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおける第二のイオンパルスを発生する第二のイオン刺激を構成し；再度、７つの取込み事象に対応する図８Ａに示された濃度変化の説明的例を用い、その各ピークが時間間隔４７によって分離される、取込み事象が一旦終了すれば、図８Ｂ中のプロットN_{poly}＝７は、初期ＰＰｉ発生に対応する第一のイオンパルス４５、およびｄＮＴＰの増大した濃度に対応する第二のパルス４９を含む。

【０２５３】

より一般的には、出願人らは、いくらかの時間間隔によって分離された多数のパルスを含めた図８Ｂ中のＩＳＦＥＴ出力シグナルのいずれかについて、ＰＰｉ発生による第一のイオンパルスおよび取り込まれていないヌクレオチドの増大した濃度による第二のイオンパルスの間の時間の間隔は、少なくとも部分的には、取込み事象の数に関連することを認識し、認めた。更に以下に議論するように、この時間間隔は、少なくとも部分的には、限定されるものではないが、反応ウェルの寸法、ウェル内のパッキング密度、ヌクレオチド配列決定または合成反応のキネティックス、関連する種の拡散係数、ヌクレオチド濃度、およびＤＮＡの初期の量を含めた他のパラメータに関連することができる。図８Ｂにおける脚注N_{poly}＝７に関連する出力シグナルに加えて、さらなる説明の目的で、多数の他のパルスが図８Ｂにおいて標識されており；特に、パルス５３はN_{poly}＝３と標識された出力シグナルにおいて２つのパルスの秒を構成し（すなわち、パルス４５およびパルス５３の間の時間間隔は３つの取込み事象に対応し）、およびパルス５５はN_{poly}＝５と標識された出力シグナルにおいて２つのパルスの秒を構成する（すなわち、パルス４５およびパルス５５の間の時間間隔は５つの取込み事象に対応する）。

【０２５４】

ヌクレオチド取込みを検出するためのこれまでの方法のもう１つの態様において、もし所与のヌクレオチドｄＮＴＰのウェルへの導入に際してヌクレオチドが取り込まれなければ、ＰＰｉは発生せず、ウェルに関連するＩＳＦＥＴに対する第一および唯一のイオン刺激は、それがウェルに対して許容されているので、ｄＮＴＰの濃度の上昇である。その結

果、単一のイオンパルスのみが発生し、再度、ｄＮＴＰに対する適当な拡散パラメータを仮定する。この状況が、出力シグナルにおいて単一パルス５１のみを含む、図８Ｂ中のＮ$_{poly}$＝０として標識された出力シグナルによって示される。

【０２５５】

従って、前記した方法は、以下のように、核酸合成または配列決定反応の有意な特徴付けを供する：

１）もし単一のイオンパルスのみがＩＳＦＥＴ出力シグナルに存在するならば、反応ウェルに導入されたヌクレオチドの取込みは無い（すなわち、ｄＮＴＰ刺激のみ）；

２）もし２つの連続したイオンパルスがＩＳＦＥＴ出力シグナルに存在するならば、反応ウェルに導入されたヌクレオチドの取込みがある、（すなわちＰＰｉ刺激、続いてのｄＮＴＰ刺激）；および

３）２つの連続的イオンパルスの間の時間間隔は、取込み事象の数の関数である。

【０２５６】

ヌクレオチド取込み検出について直ぐ上で議論した種々の概念に従った方法の種々の例示的実施において、ＩＳＦＥＴ出力シグナルに１または２のパルスが存在するか否かを単に決定するのは、ヌクレオチド取込みに対して有用な情報を提供することは認識されるべきである。よって、本発明に従った全ての方法が、もし存在すれば、多数のパルスの間の時間間隔をやはり分析するのに必要であるというのではない。しかしながら、再度、いくつかの例においては、１以上のイオンパルスを生起させる各種に関連する種々の拡散パラメータを考慮し、この時間間隔は取込み事象の数に関連するさらなる有用な情報を提供し、事実、いくらかの例示的実施はＩＳＦＥＴ出力シグナルに存在するパルスの数のみならず、パルスの間のタイミングを分析する。

【０２５７】

先に議論したヌクレオチド取込み検出のための方法に関し、かつ方程式（１７）を再度参照し、出願人らは、核酸合成または配列決定反応の種々のパラメータが改善され、および／または最適化されて、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおける所与のイオンパルスに関連するシグナル対ノイズ比（ＳＮＲ）を増加させることができる（例えば、イオンパルスの振幅$\Delta\Psi_0$を増大させることができる）ことを認識し、認めてきた。

【０２５８】

まず、方程式（１７）から、より高い初期平衡表面ポテンシャルΨ_1（すなわち、所与のヌクレオチドｄＮＰＴの反応ウェルへの導入前の洗浄緩衝液の存在下における定常状態表面ポテンシャル）は、一般に、イオンパルスについてのより高い振幅$\Delta\Psi_0$をもたらすことが認められる。１つの態様において、方程式（１６）を再度参照し、出願人らは、より高いΨ_1は、ＩＳＦＥＴの不動態化層のｐＨ$_{pzc}$（すなわち、不動態化層表面においてゼロ電荷密度をもたらすバルク分析物ｐＨ）とは有意に異なるｐＨを有する洗浄緩衝液の選択によって促進されることを認めた。よって、種々の実施において、洗浄緩衝液は、不動態化層で使用される材料のタイプに基づいて適切に選択することができる。

【０２５９】

方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。方程式（１５）から、出願人らは、ＩＳＦＥＴの比較的高いｐＨ感度（$\Delta\Psi_0$／ΔｐＨ）はより高いΨ_1に寄与することもでき；このようにして、方程式（１５）に関連して先に議論したように、大きな固有の緩衝能力β_{int}を持つ不動態化層材料が望ましく、これは、方程式（１５）に与えられた無次元感度因子αは大きなβ_{int}によって増加するからであることも認めた。また、しかしながら、この点に関しては、ｐＨに対する高い感度は先に記載した特異的実施形態に従ったヌクレオチド取込み検出方法において必ずしも要件ではなく、これは、該方法は、主として、ＰＰｉおよびｄＮＴＰ濃度変化の検出を前提としており、水素イオン濃度それ自体の測定を前提とするものではないからであることも認められるべきである。この状況は、（例えば、ＭＯＳＦＥＴ本体効果を考慮して）より限定されたｐＨ測定範囲および低下した直線性の要件の考慮に基づき、本明細書中で議論された種々のＩＳＦＥ

Ｔアレイ最適化技術の前記した方法への適用性を強調する。もちろん、事実、本明細書中で議論された本発明の他の実施形態に従った方法は、反応インジケーターとしての水素イオン濃度および濃度変化に依拠することができる。いずれの場合においても、前記したように、出願人らは、有意に制限されたｐＨ範囲にわたってさえ、ＩＳＦＥＴの比較的高いｐＨ感度は、いくつかの例においては、イオンパルスについての増大した振幅$\Delta\Psi_0$および、よって、ＩＳＦＥＴ出力シグナルの増大したＳＮＲを促進することができるのを認めた。

【０２６０】

加えて、出願人らは、方程式（１７）から、（ｄＮＴＰの導入に先立って洗浄緩衝液から生じる）分析物溶液中の初期イオン強度による初期二重層キャパシタンス$C_{dl,1}$の低下または最小化、および／または濃度変化刺激（すなわち、ＰＰｉの発生またはｄＮＴＰの増加）から生じる引き続いての二重層キャパシタンス$C_{dl,2}$の増加または最大化もまたイオンパルスに対するより高い振幅$\Delta\Psi_0$をもたらすことを認めた。従って、種々の実施において、低イオン強度緩衝液を適切に選択して、イオンパルスに対する増大した振幅$\Delta\Psi_0$および、よって、ＩＳＦＥＴ出力シグナルの増大したＳＮＲを促進することができる。

【０２６１】

時間分解能に関して、先に示唆したように、パルス形状、ならびにいずれかの２つのパルスの間の時間間隔のいくつかの態様は、時間、および注目する種々のイオン種がＩＳＦＥＴの分析物／不動態化層界面に近接して発生する速度の関数である。これらの点における重要なパラメータの例は、限定されるものではないが、分析物溶液の種々の構成要素（例えば、種々の試薬）が反応ウェルに受け入れられる流速、種々の種の各濃度および／または集合的濃度、ウェルに存在する鋳型材料の量、ウェルで起こり得る核酸配列決定または合成反応のキネティックス、および反応ウェルにおける種の拡散に影響する種々の因子（例えば、種々の種の拡散係数、反応ウェルの幾何学／寸法、パッキングビーズの存在およびサイズ、密度に影響する分析物溶液に対する添加剤）を含む。一般に、ＩＳＦＥＴ出力シグナルにおける１以上のイオンパルスの時間分解能に関連するパラメータは以下により詳細に議論する。

【０２６２】

前記したように、いくつかの実施形態においては、ｐＨの変化は、新しく合成された核酸ストランドに取り込まれたヌクレオチドの数に比例するので、ＩＳＦＥＴを使用して、定常状態ｐＨ値を測定することができる。以下でより詳細に議論される他の実施形態において、ＦＥＴセンサーアレイは、特に、注目する化学反応についての関連情報を供することができる他の分析物に対する感度に対して構成することができる。そのような修飾または構成の例は、本明細書中においてより詳細に議論するように、注目する分析物に結合するための分析物－特異的受容体の使用である。

【０２６３】

（やはりコンピュータ２６０操作下にある）アレイコントローラ２５０を介して、ＩＳＦＥＴアレイは、分析物の検出および／または測定に関連するデータ（例えば、アレイの各ＩＳＦＥＴの出力シグナル）を獲得するように制御することができ、収集されたデータはコンピュータ２６０によって処理されて、鋳型核酸の（配列決定を含めた）プロセッシングに関する有意義な情報を得ることができる。

【０２６４】

図８に示された系１０００のＩＳＦＥＴアレイ１００に関しては、１つの実施形態において、１以上の分析物および／または反応をモニターし／測定するのに必要な全てのセンサーおよびエレクトロニクスを含む、標準ＣＭＯＳプロセス（例えば、０．３５マイクロメートルプロセス、０．１８マイクロメートルプロセス）を用いて設計され、製造された集積回路としてアレイ１００は実施される。再度、図１を参照し、ＩＳＦＥＴアレイ１００に関連して使用されるべき１以上の参照電極７６を（例えば、フローセルの「使用されない」ウェルに配置された）フローセル２００に入れることができ、そうでなければ、参

照（例えば、配列決定試薬１７２の１以上）に暴露して、それに対してアレイ１００の各ＩＳＦＥＴに近接する分析物濃度の変化が比較されるベースラインを確立することができる。参照電極７６はアレイ１００、アレイコントローラ２５０、または直接的にコンピュータ２６０に電気的にカップリングさせて、アレイ１００から得られた電圧シグナルに基づいて分析物測定を容易とすることができ；いくつかの実施においては、参照電極は電気的アースまたは他の所定のポテンシャルにカップリングさせることができるか、あるいは参照電極電圧をアースに関して測定して、以下にさらに議論するように、ＩＳＦＥＴ出力シグナル測定のための電気的参照を確立することができる。

【０２６５】

ＩＳＦＥＴアレイ１００は、限定されるものではないが、２～２５６のようにできるだけ少ない画素（例えば、二次元実施における１６×１６画素）を含めた一次元または二次元アレイとして、または５４メガのようにできるだけ多い画素（例えば、二次元実施において７４００×７４００画素）として、任意の特定のサイズに限定されない。あるいは本明細書中に開示された概念に従った種々の化学的／生物学的分析目的で、より大きなものさえ製造し、使用することができる。図８に示された例示的系の１つの実施形態において、アレイの個々のＩＳＦＥＴセンサーは、ＰＰｉ、取り組まれていないヌクレオチド、水素イオン等に対する感度のために構成することができ；しかしながら、ＩＳＦＥＴセンサーアレイの個々のセンサーは、種々の適用（例えば、ナトリウム、銀、鉄、臭素、ヨウ素、カルシウム、および硝酸塩のような他のイオンに対して感受性の材料は知られている）のためのイオン濃度の他のタイプに対する感度について特に構成することができるので、本開示はこの点において限定されないことも認められるべきである。

【０２６６】

より一般的には、本開示の種々の実施形態に従ったｃｈｅｍＦＥＴアレイは、種々の分析物のいずれか１以上に対する感度について構成することができる。１つの実施形態において、アレイの１以上のｃｈｅｍＦＥＴは、１以上の分析物および／または１以上の結合事象に対する感度について特に構成することができ、他の実施形態においては、所与のアレイの異なるｃｈｅｍＦＥＴを、異なる分析物に対する感度について構成することができる。例えば、１つの実施形態において、アレイの１以上のセンサー（画素）は、第１の分析物に対して感受性であるように構成された第１のタイプのｃｈｅｍＦＥＴを含むことができ、およびアレイの１以上の他のセンサーは、第１の分析物とは異なる第２の分析物に対して感受性であるように構成されたｃｈｅｍＦＥＴの第２のタイプを含むことができる。１つの例示的な実施において、第１および第２の双方の分析物は、例えば、合成方法による配列決定におけるヌクレオチド取込のような特定の反応を示すことができる。もちろん、ｃｈｅｍＦＥＴの２を超える異なるタイプをいずれかの所与のアレイで使用して、分析物および／または他の反応の異なるタイプを検出し、および／または測定することができることも認められるべきである。一般に、本明細書中で議論されたセンサーアレイの実施形態のいずれにおいても、所与のセンサーアレイは「均一」であってよく、実質的に同様なまたは同一のタイプのｃｈｅｍＦＥＴを含んで、分析物の同一タイプ（例えば、ｐＨまたは他のイオン濃度）を検出し、および／または測定することができ、あるいはセンサーアレイは「不均一」であってよく、異なるタイプのｃｈｅｍＦＥＴを含んで、異なる分析物を検出し、および／または測定することができる。議論を簡単にするために、再度、ＩＳＦＥＴの例をセンサーアレイの種々の実施形態において以下に議論するが、本開示はこの点において限定されず、分析物感度についての数個の他のオプションを（例えば、図１１Ａに関して）以下にさらに詳細に議論する。

【０２６７】

種々の分析物のいずれか１以上に対する感度について構成されたｃｈｅｍＦＥＴアレイはエレクトロニクスチップに配置することができ、各チップは１以上の異なる生物学的反応を行うように構成することができる。ピンが、アレイの特徴、および／またはいずれの種類の生物学的反応が特定のチップで行われるべきかに関して、情報を系に運ぶような方法で暗号化されたピンによってアレイ出力を読む前記系の部分に、エレクトロニクスチッ

プを結合させることができる。
【０２６８】
１つの実施形態において、本発明は、チップおよび／またはチップで行うべき反応のタイプの特徴を同定する回路に情報を送達するための１以上のピンを含む、生物学的反応をそこで行うために構成されたエレクトロニクスチップを含む。そのようなｔは限定されるものではないが、短ヌクレオチド多形検出、短タンデムリピート検出、または配列決定を含むことができる。
【０２６９】
もう１つの実施形態において、本発明は：チップを受領するのに適合させたチップ受領モジュール；およびエレクトロニクスチップからの情報を検出するためのレシーバーを含む、１を超える生物学的反応をチップ上で実行するのに適合させた系を含み、ここに、情報はチップで行うべき生物学的反応を決定する。典型的には、該系は、さらに、選択された生物学的反応を行うための１以上の試薬を含む。
【０２７０】
もう１つの実施形態において、本発明は：反応チャンバーの空間的位置、空間的位置に加えられたモノマーのタイプ、複数のモノマーを含む試薬と延長ポリマーとの完全な反応に要する時間についての情報をリレーするように構成された少なくとも１つの集積回路を含む、ポリマー鋳型を配列決定する装置を含む。
【０２７１】
０．３５マイクロメートルＣＭＯＳプロセッシング技術（またはより小さな特徴サイズが可能なＣＭＯＳプロセッシング技術）に基づく例示的な実施において、ＩＳＦＥＴアレイ１００の各画素は、ＩＳＦＥＴおよび伴う可能化／選択成分を含むことができ、ほぼ１０マイクロメートル×１０マイクロメートル（すなわち、１００マイクロメートル^2）以下のアレイの表面に面積を占有することができ；別の言い方をすれば、１０マイクロメートル以下のオーダーのピッチ（画素間隔の画素－対－中心の中心）を有するアレイを実現することができる。０．３５マイクロメートルＣＭＯＳプロセッシング技術を用いる１０マイクロメートル以下のオーダーのアレイピッチは、ＩＳＦＥＴアレイを製造する従前の試みに対するサイズ低下の点での有意な改良を構成し、その結果、少なくとも１２マイクロメートル以上のオーダーの画素サイズがもたらされた。
【０２７２】
より具体的には、本明細書中で開示された発明的概念に基づいて以下にさらに議論するいくつかの実施形態において、ほぼ9マイクロメートルのアレイピッチは、関連行および列選択およびバイアス／読み出しエレクトロニクスと共に、２５６，０００を超える画素を含めたＩＳＦＥＴアレイ（例えば、５１２×５１２アレイ）が、7ミリメートル×7ミリメートル半導体ダイ上に製造されることを可能とし、および４００万を超える画素含めた同様なセンサーアレイ（例えば、４メガを超える画素を生じる２０４８×２０４８アレイ）が、２１ミリメートル×２１ミリメートルダイ上で製造されるのを可能とする。他の例において、ほぼ5マイクロメートルのアレイピッチは、ほぼ１．５５メガ－画素を含めたＩＳＦＥＴアレイ（例えば、１３４８×１１５２アレイ）および関連エレクトロニクスが、9ミリメートル×9ミリメートルダイ上で製造され、および１４メガを超える画素を含めたＩＳＦＥＴセンサーアレイおよび関連エレクトロニクスが２２ミリメートル×２０ミリメートルダイ上で製造されるのを可能とする。なお他の実施において、０．３５マイクロメートル未満の特徴サイズが可能である（例えば、０．１８マイクロメートルＣＭＯＳプロセッシング技術）ＣＭＯＳ製造プロセスを用い、5マイクロメートルよりもかなり小さなピッチを持つＩＳＦＥＴセンサーアレイを製造することができ（例えば、２．６マイクロメートルのアレイピッチ、または8または9マイクロメートル^{2}未満の画素面積）、有意に密なＩＳＦＥＴアレイを提供する。もちろん、（例えば、ほぼ２０、５０、１００マイクロメートル以上のオーダーの）１０マイクロメートルを超える画素サイズを、やはり本開示に従って、ｃｈｅｍＦＥＴアレイの種々の実施形態で実施することができるのは認められるべきである。

【０２７３】
当業者によって理解されるように、配列決定反応をミニチュア化する能力は、（ヒトゲノムのような）大きなゲノムの配列決定に関与する時間、コストおよび労力を低下させる。

【０２７４】
図８に示される系の他の態様において、１以上のアレイコントローラ２５０を使用して、ＩＳＦＥＴアレイ１００を操作することができる（例えば、分析物測定を表す出力シグナルを得るためのアレイの各画素の選択／可能化）。種々の実施において、１以上のアレイコントローラを構成する１以上の構成要素を、ＩＣチップの異なる部分におけるのを除いてアレイと同一の集積回路（ＩＣ）チップ、またはオフ－チップ上で、アレイそれ自体の画素エレメントと共に実施することができる。アレイ制御に関しては、ＩＳＦＥＴ出力シグナルのアナログ－デジタル変換はセンサーアレイ領域の外側に位置することを除いて、ＩＳＦＥＴアレイと同一の集積回路チップ上で実施される回路によって行うことができる（センサーアレイ領域の外側にアナログ－デジタル変換回路を位置させるのは、より小さなピッチおよび、よって、より大きな数のセンサー、ならびに低下したノイズを可能とする）。以下にさらに議論される種々の例示的な実施において、アナログ－デジタル変換は、必要とされるシグナルの動的レンジに依存して、４－ビット、８－ビット、１２－ビット、１６－ビットまたは他のビット分解能であり得る。

【０２７５】
本明細書中で用いるように、アレイはセンサーまたはウェルのようなエレメントの平面上配置である。該アレイは一次元または二次元であってよい。一次元アレイは、第１の次元においてエレメントの１つの列（または行）、および第２の次元において複数の列（または行）を有するアレイである。一次元アレイの例は１×５アレイである。二次元アレイは、第１および第２の次元双方において複数の列（または行）を有するアレイである。第１および第２の次元における列（または行）の数は同一であっても同一でなくてもよい。二次元アレイの例は５×１０アレイである。

【０２７６】
１以上の分析物を測定するための例示的系１０００におけるｃｈｅｍＦＥＴ（例えば、ＩＳＦＥＴ）アレイ１００の役割の一般的概観を提供してきたが、以下に、種々の適用で使用することができる本開示の種々の発明的実施形態に従った例示的ｃｈｅｍＦＥＴアレイのより詳細な記載を掲げる。再度、説明の目的で、本開示に従ったｃｈｅｍＦＥＴアレイを、ＩＳＦＥＴアレイの特定の例を用いて以下に議論するが、ｃｈｅｍＦＥＴの他のタイプを代替実施形態で使用してもよい。また、再度、説明の目的で、核酸配列決定適用の関連においてｃｈｅｍＦＥＴアレイを議論するが、本発明はそれに限定されるものではなく、むしろ、本明細書中に記載されたｃｈｅｍＦＥＴアレイについての種々の適用が考えられる。

【０２７７】
先に述べたように、本明細書中で開示された種々の発明的実施形態は、図１～７に関連して先に議論されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．のＩＳＦＥＴアレイ設計、ならびに他の従前のＩＳＦＥＴアレイ設計を具体的に改良して、画素のサイズおよびアレイのピッチを有意に低下させ、それにより、所与の半導体ダイのサイズについてのＩＳＦＥＴアレイの画素の数を増加させる（すなわち、画素密度を増加させる）。いくつかの実施において、画素密度の増加は、同時に、１以上の分析物に関する各測定に対応する出力シグナルのシグナル－対－ノイズ比率（ＳＮＲ）、およびそのような出力シグナルをアレイから読むことができるスピードを増加させつつ達成される。特に、出願人らは、ＩＳＦＥＴ直線性に対する要件を緩和し、より制限されたシグナル出力／測定レンジ（例えば、１～１４よりむしろ、ほぼ７～９以下のｐＨ範囲に対応するシグナル出力、ならびに試料中のｐＨ変化に有意に必ずしも関連しない出力シグナル）に焦点を当てることによって、個々の画素の複雑性およびサイズを有意に低下させることができ、それにより、非常に大規模な密なＩＳＦＥＴアレイの実現を促進させることができることを認識し、認めてきた。

【０２７８】
この目的で、図９は本開示の１つの発明的実施形態に従ったＩＳＦＥＴアレイ１００の１つの列102_jを示し、ここに、ＩＳＦＥＴ画素設計は認識可能に単純化されて、小さな画素サイズを容易とする。列102_jはｎの画素を含み、その最初および最後を画素105_1および105_nとして図９に示す。図１３に関連してさらに以下で議論するように、図９に示された列設計に基づく完全な二次元ＩＳＦＥＴアレイ１００は、一般に並んで配置される画素の連続的列を伴うｍのそのような列102_j（ｊ＝１、２、３、・・・ｍ）を含む。もちろん、ＩＳＦＥＴは、ハニカムパターンにおけるように、行－列グリッド以外にアレイ化してもよい。

【０２７９】
図９に示された実施形態の１つの態様において、列102_jの各画素105_1～105_nは、３つの構成要素のみ、すなわち、（Ｑ１とも標識される）ＩＳＦＥＴ１５０、および２つのＭＯＳＦＥＴスイッチＱ２およびＱ３を含む。ＭＯＳＦＥＴスイッチＱ２およびＱ３は、共に、ｎの行選択シグナル（

【数２６】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_1}$$

から

【数２７】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_n}$$

ロジック低活性）の内の１つに対して反応性であって、列102_jの所与の画素を可能とし、またはそれを選択する。列の全ての画素に適用される例として画素105_1を用い、トランジスタスイッチＱ３は、ライン118_1を介する対応する行選択シグナルの受領に際して、ライン112_1を介して制御可能な電流ソース106_jをＩＳＦＥＴ１５０のソースにカップリングさせる。トランジスタスイッチＱ２は、対応する行選択シグナルの受領に際して、ライン114_1を介して、ＩＳＦＥＴ１５０のソースを列バイアス／読出回路110_jにカップリングさせる。ＩＳＦＥＴ１５０のドレインは、ライン116_1を介して、バイアス／読み出し回路110_jに直接的にカップリングされる。かくして、画素当たり４つのシグナルラインのみ、すなわち、ライン112_1、114_1、116_1および118_1が、画素105_1の３つの構成要素を操作するのに必要とされる。ｍの列のアレイにおいて、所与の行選択シグナルが（例えば、各列における同一位置において）各列の１つの画素に同時に適用される。

【０２８０】
図９において説明されるように、１つの実施形態に従った列102_jについての設計は、図３に示されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の列設計に関連して先に議論したものと同様な一般的原理に基づく。特に、各画素のＩＳＦＥＴは、可能とされると、一定のドレイン電流I_{Dj}および一定のドレイン－対－ソース電圧V_{DSj}とで構成されて、前記方程式（３）に従って、可能とされた画素からの出力シグナルV_{Sj}を得る。この目的で、列102_jは、列の全ての画素によって共有されて、可能とされた画素のＩＳＦＥＴに一定のドレイン電流I_{Dj}を供する、アナログ回路陽性供給電圧ＶＤＤＡにカップリングされ、かつバイアス電圧ＶＢ１に応答性である、制御可能な電流ソース106_jを含む。１つの態様において、電流ソース106_jは、２つの長－チャネルの長さおよび高い出力インピーダンスＭＯＳＦＥＴを含めた電流ミラーとして実施される。また、該列は、やはり該列の全ての画素によって供給されて、可能とされた画素のＩＳＦＥＴへ一定のドレイン－対－ソース電圧を供給するバイアス／読出回路110_jも含む。バイアス／読出回路110_jはケルビンブリッジ構成に基づき、バッファ増幅器として構成され、かつアナログ回路陽性供給電圧ＶＤＤＡおよびアナログ供給電圧アースＶＳＳＡにカップリングされた、２つの操作増幅器１０７Ａ（Ａ１）および１０７Ｂ（Ａ２）を含む。バイアス／読出回路は、アナログアースＶＳＳＡにカップリングされ、かつバイアス電圧ＶＢ２に対して応

答性である、（電流ソース１０６ｊと同様な）制御可能な電流シンク１０８$_{j}$、およびダイオード－連結ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ６も含む。バイアス電圧ＶＢ１およびＶＢ２はタンデムに設定／制御されて、相補的なソースおよびシンク電流を供する。電流シンク１０８$_{j}$によって引かれた電流の結果としてのダイオード－結合ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ６を横切って発生した電圧は操作増幅器によって強制されて、一定のドレイン－ソース電圧V_{DSj}として、可能とされた画素のＩＳＦＥＴのドレインおよびソースを横切って出現する。

【０２８１】

図３に説明されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計において示されたレジスタR_{Sj}よりはむしろ、図９のバイアス／読出回路１１０$_{j}$においてダイオード－連結ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ６を使用することによって、かなりの利点がＣＭＯＳ製造プロセスにおいて提供され；具体的には、マッチングレジスタは、一般に±２０％のオーダーの誤差許容でもって製造することができ、他方、ＣＭＯＳ製造プロセスにおけるＭＯＳＦＥＴマッチングは±１％以上のオーダーである。一定のＩＳＦＥＴドレイン－対－ソース電圧V_{DSj}を供することを担う構成要素を列から列へマッチさせることができる程度は、列から列への測定精度（例えば、食い違い）に有意に影響する。かくして、レジスタよりはむしろＭＯＳＦＥＴ　Ｑ６を使用することは、列から列への測定食い違いを認識可能に緩和する。さらに、レジスタおよびＩＳＦＥＴの熱的ドリフト特徴は認識可能に異なり得るが、ＭＯＳＦＥＴおよびＩＳＦＥＴの熱的ドリフト特徴は、もし実質的に同一でなければ、実質的に同様であり；よって、ＭＯＳＦＥ　Ｑ６におけるいずれの熱的ドリフトも、ＩＳＦＥＴ　Ｑ１からのいずれの熱的ドリフトも実質的にキャンセルし、その結果、アレイ温度の変化に伴ってより大きな測定安定性がもたらされる。

【０２８２】

図９において、列バイアス／読出回路１１０ｊは、列からの出力シグナルV_{COLj}を供するための試料／ホールドおよびバッファ回路も含む。特に、画素105_{1}～105_{n}のうちの１つを各画素においてトランジスタＱ２およびＱ３を介して可能とし、または選択した後に、増幅器１０７Ａ（Ａ１）の出力、すなわち、緩衝化V_{Sj}は、列試料およびホールドシグナルＣＯＬ　ＳＨに対して応答性であるスイッチ（例えば、伝達ゲート）の操作を介して、列試料およびホールドキャパシタC_{sh}に貯蔵される。試料およびホールドキャパシタのための適当なキャパシタンスの例は、限定されるものではないが、ほぼ５００ｆＦ～２ｐＦの範囲を含む。サンプリングされた電圧は列出力バッファ増幅器１１１ｊ（ＢＵＦ）を介して緩衝化され、列出力シグナルV_{COLj}として供される。図９にやはり示されるように、参照電圧ＶＲＥＦは、制御シグナルＣＡＬに対して応答性のスイッチを介して、バッファ増幅器１１１ｊに適応して、バッファ増幅器１１１ｊによる列間の非均一性の特徴付けを容易とし、かくして、読出後データ修正を可能とする。

【０２８３】

図９Ａは、バイアス／読出回路１１０ｊの増幅器１０７Ａの１つについての例示的な回路ダイアグラムを示し（増幅器１０７Ｂは同一に実施され）、および図９Ｂは、増幅器１０７Ａおよび１０７Ｂについての増幅器バイアスｖｓ．バンド幅のグラフである。図９Ａに示されるように、増幅器１０７Ａは９つのＭＯＳＦＥＴ（Ｍ１～Ｍ９）に基づいて多数の電流ミラーの配置を使用し、単位利得バッファとして構成され、そこでは、増幅器の入力および出力は、各々、ＩＮ＋およびＶＯＵＴとして一般性について標識される。（対応するバイアス電流を表す）バイアス電圧ＶＢ４は増幅器のトランスインピーダンスを制御し、バンド幅の対照（すなわち、増大した電流を伴う増大したバンド幅）として働く。図９を再度参照し、試料およびホールドキャパシタC_{sh}のため、増幅器１０７Ａの出力は、試料およびホールドスイッチが閉じられると、フィルタを実質的に駆動する。従って、認識可能に高いデータ速度を達成するには、バイアス電圧ＶＢ４を調整して、より高いバイアス電流および増大した増幅器バンド幅を供することができる。図９Ｂから、いくつかの例示的実施においては、少なくとも４０ＭＨｚおよび有意にそれよりも大きな増幅器バンド幅が実現することができるのが観察できる。いくつかの実施において、１００ＭＨｚと高い増幅器バンド幅は適切であって、高いデータ獲得率および（例えば、１０～２０マ

イクロ秒のオーダーの）比較的より低い画素試料または「滞留」時間を容易とすることができる。

【０２８４】

図９に示された実施形態のもう１つの態様において、図３に示されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の画素設計とは異なり、画素１０５$_1$～１０５$_n$は、いずれかの伝達ゲート、またはｎ－チャネルおよびｐ－チャネル双方のＦＥＴ構成要素を必要とする他のデバイスを含まず；特に、この実施形態の画素１０５$_1$～１０５$_n$は同一タイプのＦＥＴデバイスのみを含む（すなわち、ｎ－チャネルのみまたはｐ－チャネルのみ）。説明の目的で、図９に示された画素１０５$_1$および１０５$_n$は、ｐ－チャネル構成要素のみ、すなわち、２つのｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３およびｐ－チャネルＩＳＦＥＴ　１５０を含むものとして示される。ＩＳＦＥＴのソースをバイアス／読出回路１１０$_j$にカップリングさせるために伝達ゲートを使用しないことによって、ＩＳＦＥＴ出力シグナル（すなわち、ＩＳＦＥＴソース電圧Ｖ$_S$）についてのいくらかの動的レンジを犠牲にすることができる。しかしながら、出願人らは、潜在的にいくらかの出力シグナル動的レンジに先行し（それにより、ｐＨまたは他のイオン種の濃度変化のような所与の静的および／または動的化学的特性についての測定範囲を潜在的に制限する）ことによって、各画素における異なるタイプのＦＥＴデバイス（ｎ－チャネルおよびｐ－チャネル双方）の要件を排除することができ、画素構成要素のカウントを低下させることができるのを認識し、認めてきた。図１０～１２に関連してさらに以下で議論するように、これは、画素サイズの低下を有意に促進する。かくして、１つの態様において、低下した動的レンジおよびより小さな画素サイズの間で有益なトレードオフがある。

【０２８５】

図９に示された実施形態のなおもう１つの態様において、Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の画素設計とは異なり、各画素１０５$_1$～１０５$_n$のＩＳＦＥＴ　１５０はそのソースにつながれたその本体結合を有しない（すなわち、本体結合およびＩＳＦＥＴのソースが操作の間に強制的に同一の電気ポテンシャルとなるような、それらをカップリングさせる導電体は無い）。むしろ、アレイの全てのＩＳＦＥＴの本体結合は相互に結ばれ、本体バイアス電圧Ｖ$_{BODY}$につながれる。図９において明示的には示されてないが、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３についての本体結合は、同様に、それらの各ソースにつながれていないが、むしろ本体バイアス電圧Ｖ$_{BODY}$につながれている。全てのｐ－チャネル構成要素を有する画素に基づく１つの例示的実施において、本体バイアス電圧Ｖ$_{BODY}$は、図１７との関係で以下にさらに議論するように、アレイ（例えば、ＶＤＤＡ）に利用可能な最高の電圧ポテンシャルにカップリングされている。

【０２８６】

各ＩＳＦＥＴのそのソースへの本体結合を試みないことによって、いくらかの非－ゼロのソース－対－本体電圧Ｖ$_{SB}$の可能性は、図１に関連して先に議論したように、「本体効果」を生起させることができ、これは非線形関係に従ってＩＳＦＥＴの閾値電圧Ｖ$_{TH}$に影響する（かくして、方程式（３）、（４）および（５）によると、分析物活性の検出および／または測定に影響しかねず、分析物／不動態化層界面において表面ポテンシャルの変化を生起させる）。しかしながら、出願人らは、低下したＩＳＦＥＴ出力シグナル動的レンジに焦点を当てることによって、非－ゼロのソース－対－本体電圧からＩＳＦＥＴにおいて生じるであろういずれの本体効果も相対的に最小であろうことを認識し、認めてきた。かくして、低下した動的レンジにわたって得られるであろういずれの測定非直線性も、（例えば、図１７に関連して以下でさらに議論するように、アレイキャリブレーションおよびデータプロセッシング技術を介して）有意でないとして無視するか、あるいは考慮し、補償することができる。また、出願人は、その本体結合に対する各ＩＳＦＥＴソースを試みないことによって、画素を構成するＦＥＴの全ては共通の本体結合を共有することができ、それにより、図１０～１２に関連して以下でさらに議論するように、画素サイズの低下をさらに容易とすることができる。従って、もう１つの態様において、低下した直線性およびより小さな画素サイズの間に有益なトレードオフがある。

【０２８７】
図１０は、本開示の１つの発明的実施形態に従った、図９に示された画素１０５$_1$についてのチップレイアウト設計の頂面図を示す。図１１Ａは、画素製造の層×層図を示す、線ＩＩ－－ＩＩおよびＩＩＩ－－ＩＩＩの間の図１０の右半分におけるさらなるエレメントを含めた、図１０に示された画素の線Ｉ－－Iに沿った複合断面図を示し、および図１２Ａ～１２Ｌは図１１Ａに示された製造層の各々の頂面図を供する（図１２Ａ～１２Ｌの各像はもう１つの頂部に重ねられて、図１０に示された画素チップレイアウト設計を生じる）。１つの例示的な実施において、図１０～１２に示された画素設計は、標準４－金属、２－ポリ、０．３５マイクロメートルＣＭＯＳプロセスを用いて実現して、ほぼ９マイクロメートルの図１０に示された寸法「e」、およびほぼ７マイクロメートルのＩＳＦＥＴ感受性エリアに対応する寸法「ｆ」を有する幾何学的に四角形の画素を供することができる。

【０２８８】
図１０の頂面図において、（図１０においてＱ１と標識された）ＩＳＦET１５０は、一般に、画素説明の右側中心部分を占有し、およびＩＳＦＥＴのゲート、ソースおよびドレインの各位置はＱ１$_G$、Ｑ１$_S$およびＱ１$_D$として示される。ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３は、一般に、画素説明の左側中心部分を占有し；ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２のゲートおよびソースはＱ２$_G$およびＱ２$_S$として示され、およびＭＯＳＦＥＴ　Ｑ３のゲートおよびソースはＱ３$_G$およびＱ３$_S$として示される。図１０に示されるレイアウトの１つの態様において、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３は、Ｑ２／３$_D$として示されたドレインを共有する。もう１つの態様において、一般に、ＩＳＦＥＴは、そのチャネルが画素の第１の軸に沿って（例えば、線Ｉ－－Ｉと平行に）存在するように形成され、他方、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３は、それらのチャネルが第１の軸に対して垂直な第２の軸に沿って存在するのは、図１０の頂面図から観察できる。また、図１０は、画素を操作するのに必要な４つのライン、すなわち、Ｑ３のソースにカップリングされたライン１１２$_1$、Ｑ２のソースにカップリングされたライン１１４$_1$、ＩＳＦＥＴのドレインにカップリングされたライン１１６$_1$、およびＱ２およびＱ３のゲートにカップリングされた行選択ライン１１８$_1$を示す。図９を参照し、所与の列における全ての画素は（例えば、図１０中の画素を垂直方向に横切って走る）ライン１１２、１１４および１１６を共有し、所与の行における全ての画素は（例えば、図１０中の画素を水平方向に横切って走る）ライン１１８を共有することは認めることができる；かくして、図９の画素設計および図１０に示されたレイアウトに基づき、４つの金属線のみが各画素を移動するのに必要である。

【０２８９】
ここで、図１１Ａの断面図を参照し、ｎ－ウェル１５４中の（図１０中の線Ｉ－－Iに沿って存在する）高度にドープされたｐ－タイプの領域１５６および１５８は、ＩＳＦＥＴ多結晶シリコンゲート１６４およびゲート酸化物１６５下方にＩＳＦＥＴ　ｐ－チャネルが形成されるｎ－ウェルの領域１６０がその間に存在する、ＩＳＦＥＴのソース（Ｓ）およびドレイン（Ｄ）を構成する。図１０および１１に示された発明的実施形態の１つの態様に従い、画素１０５$_1$のFET構成要素の全ては、ｐ－タイプの半導体基板１５２に形成された単一のｎ－タイプウェル１５４においてｐ－チャネルＦＥＴとして製造される。Ｍｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計とは異なり、１）画素における伝達ゲートについて要件はなく；および２）ＩＳＦＥＴソースはｎ－ウェルの本体結合に結び付けられていないゆえに、これは可能である。より具体的には、高度にドープされたｎ－タイプ領域１６２はｎ－ウェル１５４に対する本体結合（Ｂ）を供し、図１０に示されるように、本体結合Ｂは、画素１０５$_1$の周辺の周りの金属導電体３２２にカップリングされている。しかしながら、本体結合はＩＳＦＥＴのソース領域１５６に直接的に電気的にカップリングされておらず（すなわち、本体連結およびソースを、それらが強制的に操作の間に同一電気ポテンシャルにあるようにそれらをカップリングする導電体はない）、また、画素中のいずれかの構成要素のゲート、ソースまたはドレインに直接的に電気的にカップリングした本体結合はない。かくして、画素の他のｐ－チャネルＦＥＴ構成要素、すなわち、Ｑ２お

よびＱ３は同一のｎ－ウェル１５４において製造することができる。

【０２９０】

図１１Ａの複合断面図において、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３の共有されたドレイン（Ｄ）に対応する、高度にドープされたｐ－タイプの領域１５９も目に見える（図１０において線Ｉ－－Ｉに沿って存在する）。説明の目的で、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ３の多結晶シリコンゲート１６６もまた図１１Ａ中に見えるが、このゲートは、図１０中の線Ｉ－－Ｉに沿って存在せず、むしろ、線Ｉ－－Ｉに沿った断面の「面の背後に」存在する。しかしながら、簡単のために、図１０に示されたＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３の各ソース、ならびにＱ２のゲートは図１１Ａでは見えない。というのは、それらは共有されたドレインと同一の軸に沿って（すなわち、図の面に対して垂直に）存在するからである（もし図１１Ａに示されるならば、これらのエレメントは図１１Ａの複合断面図を不当に複雑とするであろう）。

【０２９１】

図１１Ａに示された基板、ゲート酸化物、および多結晶シリコン層の上方に、多数のさらなる層が設けられて、それを通って導電性通路が形成される交互の金属層および酸化物層を含めた、種々の画素構成要素に対する電気的結合を確立する。４－金属ＣＭＯＳプロセスの例に従い、これらの層は図１１Ａにおいて「接触」、「金属１」、「通路１」、「金属２」、「通路２」、「金属３」、「通路３」、および「金属４」として標識される。（より多いまたはより少ない金属層を使用してもよいことに留意されたい）。特に、ＩＳＦＥＴ電気的連結の理解を容易とするために、図１１Ａの複合断面図は、線ＩＩ－－ＩＩおよびＩＩＩ－－ＩＩＩの間の、図１０の頂面図の右側に、画素製造のさらなるエレメントを示す。ＩＳＦＥＴ電気的結合に関しては、最も頂部の金属層３０４は、その上方に、分析物－感受性不動態化層１７２が配置された、ＩＳＦＥＴ感受性エリア１７８に対応する。ＩＳＦＥＴ多結晶シリコンゲート１６４、および介在導電体３０６、３０８、３１２、３１６、３２０、３２６および３３８と共に、最も頂部の金属層３０４は、図１に示された慣用的ＩＳＦＥＴ設計と関連して先に議論されたのと同様な方法で、ＩＳＦＥＴ「フローティングゲート」構造１７０を形成する。ＩＳＦＥＴドレインに対する電気的結合は、ライン１１６１にカップリングされた導電体３４０、３２８、３１８、３１４および３１０によって供される。ＩＳＦＥＴソースは、導電体３３４および３３６および（図１０中の線Ｉ－Ｉに沿って存在する）導電体３２４を介してＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３の共有されたドレインにカップリングされている。ｎ－ウェル１５４に対する本体結合１６２は、導電体３３０および３３２を介して、「金属１」層上の画素の周辺の周りの金属導電体３２２に電気的にカップリングされている。

【０２９２】

先に示したように、図１２Ａ～１２Ｌは、図１１Ａに示された製造層の各々の頂面図を供する（図１２Ａ～１２Ｌの各像はもう１つのものの頂部に重ねられて、図１０に示された画素チップレイアウト設計を作り出す）。図１２において、各層の文字を入れた頂面図、および図１１Ａの断面図の間の対応は以下の通りである；Ａ）ｎ－タイプのウェル１５４；Ｂ）インプラント；Ｃ）拡散；Ｄ）多結晶シリコンゲート１６４（ＩＳFET）および１６６（ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３）；Ｅ）接触；Ｆ）金属１；Ｇ）通路１；Ｈ）金属２；Ｉ）通路２；Ｊ）金属３；Ｋ）通路３；Ｌ）金属４（ＩＳＦＥＴゲートに接触する頂部電極）。図１２Ａ～１２Ｌに示された種々の参照数字は、図１１Ａの複合断面図に存在する同一の特徴に対応する。

【０２９３】

出願人らは、少なくともいくつかの適用においては、画素キャパシタンスは分析物測定のいくつかのタイプについてサイレントパラメータであってよいことを認識し、認めてきた。従って、画素レイアウトおよび設計に関連するもう１つの実施形態において、種々の通路および金属層は、寄生キャパシタンスについてのポテンシャルを少なくとも部分的に緩和して、画素操作の間に生起するように再度構成することができる。例えば、１つのそのような実施形態において、シグナルライン112_1、114_1、116_1および１１８

$_1$、およびフローティングゲート構造１７０を構成する最も頂部の金属層３０４の間により大きな垂直方向の距離があるように画素は設計される。

【０２９４】

直前に記載した実施形態において、再度図１１Ａを参照し、最も頂部の金属層３０４は金属４層中に形成され（また、図１２Ｌ参照）、シグナルライン１１２$_1$、１１４$_1$、および１１６$_1$は金属３層中に形成される（また、図１２Ｊ参照）のは容易に観察できるであろう。また、図１１Ａの図においては見えないが、シグナルライン１１８$_1$は金属２層中に形成されるのは図１２Ｈから観察できる。これらのシグナルの１以上はアレイ操作の間に時々アースすることができるので、寄生キャパシタンスは、これらのシグナルラインのいずれかの１以上、および金属層３０４の間で生起することができる。これらのシグナルラインおよび金属層３０４の間の距離を増加させることによって、それらの寄生キャパシタンスは低下させることができる。

【０２９５】

この目的で、もう１つの実施形態においては、いくつかの通路および金属層は、シグナルライン１１２$_1$、１１４$_1$、１１６$_1$および１１８$_1$が金属１および金属２層において実施され、金属３層が、フローティングゲート構造１７０の金属２層構成要素、および最も頂部の金属層３０４の間のジャンパーとしてのみ用いられ、それにより、シグナルラインおよび金属層３０４の間のより大きな距離を確実とするように再構成される。図１０－１は、図９に示されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの４つの隣接する画素のクラスターについてのそのようなチップレイアウト設計の正面図を示し、１つの特定の画素１０５$_1$が同定され、標識されている。図１１Ａ－１は、画素製造の層×層図を示す、線ＩＩ－－ＩＩの間の更なるエレメントを含めた図１０－１に示された画素１０５$_1$の線Ｉ－－Ｉに沿った、隣接する画素の複合断面図を示し、図１２－１Ａ～図１２－１Ｌは、図１１Ａ－１に示された製造層の各々の頂面図を供する（図１２－１Ａ～１２－１Ｌの各像はもう１つのものの頂部に重ねられて、図１０－１に示された画素チップレイアウト設計を作り出す）。

【０２９６】

図１０－１においては、画素頂面図レイアウトは、一般に、図１０に示されたものと同様であることが観察できる。例えば、頂面図においては、ＩＳＦＥＴ　１５０は、一般に、各画素の右側中心部分を占有し、およびＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３は、一般に、画素説明の左側中心部分を占有する。図１０に含まれた構成要素標識の多くは明瞭性のために図１０－１から省略されているが、ＩＳＦＥＴ多結晶シリコンゲート１６４は、向きのために画素１０５$_1$に示される。図１０－１は、画素を操作するのに必要な４つのライン（１１２$_1$、１１４$_1$、１１６$_1$および１１８$_1$）も示す。図１０および図１０－１の間の１つの注目される差は、本体領域１６２に対する電気的結合を提供する（金属１層上に位置する）金属導電体３２２に関し；すなわち、図１０においては、導電体３２２は画素の周辺を囲い、他方、図１０－１においては、導電体３２２は画素の周辺を完全には囲わないが、不連続７２７を含む。これらの不連続７２７は、ライン１１８$_1$が、金属１層上で製造され、画素を通って、行の隣接する画素に結合するのも可能とする。

【０２９７】

ここで、図１１Ａ－１の断面図を参照し、３つの隣接する画素が断面に示され、中央画素は議論の目的で図１０－１中の画素１０５$_1$に対応する。図１１Ａの実施形態におけるように、画素１０５１のＦＥＴ構成要素の全ては、単一のｎ－タイプのウェル１５４においてｐ－チャネルＦＥＴとして製造される。加えて、図１１Ａにおけるように、図１１Ａ－１の複合断面図においては、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３の共有されたドレイン（Ｄ）に対応して、高度にドープされたｐ－タイプの領域１５９も目に見える（図１０－１中の線Ｉ－－Ｉに沿って存在する）。説明の目的で、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ３の多結晶シリコンゲート１６６もまた図１１Ａ－１において見えるが、このゲートは図１０－１中の線Ｉ－Ｉに沿って存在せず、むしろ線Ｉ－－Ｉに沿った断面の「面の背後に」存在する。しかしながら、簡単のために、図１０－１に示されたＭＯＳＦＥＴ　Ｑ２およびＱ３の各ソース、ならびにＱ２のゲートは図１１Ａ－１においては見えない。というのは、それらは共有

されたドレインと同一の軸に沿って（すなわち、図面の面に垂直に）存在するからである。さらに、ＩＳＦＥＴフローティングゲート電気的結合の理解を容易とするために、図１１Ａ－１の複合断面図は、図１０－１の線ＩＩ－－ＩＩの間の画素製造のさらなるエレメントを示す。

【０２９８】

より具体的には、図１１－Ａの実施形態におけるように、最も頂部の金属層３０４は、その上方に、分析物－感受性不動態化層１７２が配置されたＩＳＦＥＦ感受性エリア１７８に対応する。ＩＳＦＥＴ多結晶シリコンゲート１６４および介入導電体３０６、３０８、３１２、３１６、３２０、３２６および３３８と共に、最も頂部の金属層３０４は、ＩＳＦＥＴフローティングゲート構造１７０を形成する。しかしながら、図１１Ａの実施形態とは異なり、ＩＳＦＥＴドレインへの電気的結合は、金属３層よりはむしろ金属２層に形成されたライン116_1にカップリングされた導電体３４０、３２８、および３１８によって供される。加えて、ライン112_1および114_1もまた、金属３層よりはむしろ金属２層に形成されたものとして図１１Ａ－１に示される。これらのライン、ならびにライン118_1の構成は、図１２－１Ａ～１２－１Ｌの各像からさらに認識でき（ここに、各層の文字を付した頂面図、および図１１Ａ-1の断面図の間の対応は図１２Ａ－１２Ｌとの関係で記載されたものと同一である）；特に、金属導電体３２２と共にライン118_1は金属１層において形成されるのは図１２－１Ｆにおいて観察することができ、およびライン112_1、114_1および116_1は金属２層に形成され、フローティングゲート構造１７０のジャンパー３０８のみを図１２－１Ｊに示される金属３層に残すのが観察できる。

【０２９９】

従って、シグナルライン112_1、114_1、116_1および118_1を金属１および金属２層に統合し、それにより、これらのシグナルライン、および金属４層におけるフローティングゲート構造１７０の最も頂部の層３０４の間の距離を増加させることによって、ＩＳＦＥＴにおける寄生キャパシタンスを少なくとも部分的に緩和することができる。（例えば、シグナルラインおよびフローティングゲート構造の最も頂部の層の間の１以上の介入金属層を含めた）この一般的概念は、より大きな数の金属層を含む他の製造プロセスで実施することができるのは認められるべきである。例えば、画素シグナルラインおよび最も頂部の金属層の間の距離は、最も頂部の金属層に対するジャンパーのみがさらなる金属層において形成されたさらなる金属層（合計４を超える金属層）を加えることによって増加させることができる。特に、６－金属－層製造プロセスを使用することができ、そこでは、シグナルラインが金属１および金属２層を用いて製造され、フローティングゲート構造の最も頂部の金属層が金属６層で形成され、および最も頂部の金属層へのジャンパーが、（金属層の間の関連通路と共に）、各々、金属３、金属４および金属５層に形成される。６－金属－層製造プロセスに基づくもう１つの例示的な実施において、図１０、１１Ａ、および１２Ａ～１２Ｌで示された一般的画素構成を使用することができ（金属２および金属３層上のシグナルライン）、そこでは、最も頂部の金属層は金属６層に形成され、およびジャンパーは、各々、金属４および金属５層に形成させる。

【０３００】

低下したキャパシタンスに関連するなおもう１つの態様において、最も頂部の金属層３０４（および、かくして、ＩＳＦＥＴ感受性エリア１７８）の寸法「ｆ」を低下させて、隣接する画素の間の交差－キャパシタンスを低下させることができる。図１１Ａ-1で観察でき（および、ＩＳＦＥＴアレイ上方でのウェル製造に向けられた他の実施形態に関連して以下でさらに議論されるように）、ウェル７２５は、ウェルの頂部における寸法「g」が画素ピッチ「e」よりも小さいが、ウェルの底部における寸法「ｆ」よりはなお大きいように、テーパーが付された形状を有するように製造することができる。そのようなテーパリングに基づき、最も頂部の金属層３０４もまた、寸法「ｇ」よりはむしろ寸法「ｆ」にて設計して、隣接する画素の頂部金属層の間のさらなる空間を供することができる。いくつかの説明的非限定的実施において、９マイクロメートルのオーダーの寸法「e」を有

する画素については、寸法「ｆ」は（先に議論したように７マイクロメートルとは反対に）６マイクロメートルのオーダーとすることができる。５マイクロメートルのオーダーの寸法「e」を有する画素では、寸法「ｆ」は３．５マイクロメートルのオーダーとすることができる。

【０３０１】

かくして、各々、図１０、１１Ａ、および１２Ａ～１２Ｌ、および図１０－１、１１Ａ－１、および１２－１Ａ～１２－１Ｌで示された画素チップレイアウト設計は、種々の実施形態に従って、同一タイプのＦＥＴデバイスを画素の全ての構成要素のために使用でき、および全ての構成要素は単一のウェルにおいて実施できることを示す。これは、画素で必要な面積を劇的に低下させ、それにより、所与の面積における増大した画素密度を容易とする。

【０３０２】

１つの例示的な実施において、ＩＳＦＥＴのためのゲート酸化物１６５は、ほぼ７５オングストロームのオーダーの厚みを有し、４．５ｆＦ／μｍ^{2}の単位面積C_{ox}当たりのゲート酸化物キャパシタンスを生起させるように製造することができる。加えて、多結晶シリコンゲート１６４は、１．２μｍのチャネル幅Wおよび０．３５～０．６μｍのチャネル長さL（すなわち、ほぼ２～３．５の範囲のW／Ｌ）に対応する寸法にて製造でき、領域１６０のドーピングは、p－チャネルについてのキャリア移動度が１９０ｃｍ^2／Ｖキｓすなわち１．９Ｅ１０μｍ^2/Ｖキｓとなるように選択することができる。方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。前記方程式（２）から、ほぼ１７０～３００μＡ／Ｖ^{2}のオーダーのＩＳＦＥＴトランスコンダクタンスパラメーターβがもたらされる。この例示的実施の他の態様において、アナログ供給電圧ＶＤＤＡは３．３ボルトであって、ＶＢ１およびＶＢ２は、５μＡのオーダーの一定ＩＳＦＥＴドレイン電流I_{Dj}を供するようにバイアスがかけられる（いくつかの実施において、ＶＢ１およびＶＢ２はほぼ１μＡ～２０μＡのドレイン電流を供するように調整することができる）。加えて、ＭＯＳＦＥＴ　Ｑ６（図９中のバイアス／読出回路１１０ｊ参照）は、Ｑ６を横切った電圧が、５μＡのI_{Dj}を仮定すると、８００ｍＶとなるような（すなわち、V_{DSj}＝８００ｍＶ）、チャネルの長さに対する幅の比率を有するようなサイズとされる（例えば、ほぼ５０のＷ／Ｌ）。方程式（１５）から、２９８ケルビン度の温度Ｔにおいては、５９．２ｍＶ／ｐＨの理論的最大ｐＨ感度はα＝１で達成できるのは認識されるであろう。前記方程式（３）から、これらの例示的パラメータに基づき、これは、ほぼ０～２ボルトの範囲にわたってＩＳＦＥＴ閾値電圧変化についてほぼ０．５～２．５ボルトの範囲にわたって画素出力電圧V_{Sj}を供する。

【０３０３】

図１１Ａに示された分析物－感受性不動態化層１７２に関しては、例示的ＣＭＯＳ実施において、不動態化層は、水素を含めた種々のイオン種の濃度に対して有意に感受性とすることができ、窒化ケイ素（Si_3N_4）および/またはオキシ窒化ケイ素（Si_2N_2O）を含むことができる。慣用的なＣＭＯＳプロセスにおいて、不動態化層はこれらの材料の１以上の連続的動着によって形成することができ、これを使用して、一般的に、デバイスを処理し、またはコーティングして汚染に対して保護し、電気的安定性を増加させる。窒化ケイ素およびオキシ窒化ケイ素の材料の特性は、これらの材料を含む不動態化層がスクラッチ保護を供し、デバイス金属化を腐食させ、および／またはデバイス操作を不安定としかねない、水およびナトリウムの拡散に対する有利なバリアとして働くようなものである。窒化ケイ素および／またはオキシ窒化ケイ素を含めた不動態化層は、不動態化層がそれらが接触する分析物溶液からのプロトンを供与し、または受け取ることができる表面基を含有し、それにより、図１および２Ａとの関係で先に議論したように、表面ポテンシャルおよびデバイス閾値電圧V_{TH}を改変する点で、ＩＳＦＥＴデバイスにおいてイオン－感受性も提供する。

【０３０４】

（ほぼ６５０度摂氏の融点を有する）金属としてのアルミニウムを含むＣＭＯＳプロセスでは、窒化ケイ素および／またはオキシ窒化ケイ素不動態化層は、一般には、２５０～３５０度摂氏のグロー放電が窒化ケイ素またはオキシ窒化ケイ素を形成する構成ガスをイオン化し、ウエハー表面で反応する活性種を作り出して、各材料の積層体を形成する、プラズマ－増強化学的気相蒸着法（ＰＥＣＶＤ）を介して形成される。１つの例示的プロセスにおいて、ほぼ１．０～１．５μｍのオーダーの厚みを有する不動態化層は、（０．２～０．４μｍのオーダーの）オキシ窒化ケイ素の薄層の初期蒸着、続いて、（０．５μｍのオーダーの）オキシ窒化ケイ素のわずかにより厚い蒸着、および（０．５μｍのオーダーの）窒化ケイ素の最終蒸着によって形成することができる。ＰＥＣＶＤプロセスに関与する低い蒸着温度のため、アルミニウム金属化は有害に影響されない。

【０３０５】

しかしながら、出願人らは、低温ＰＥＣＶＤプロセスが慣用的ＣＭＯＳデバイスに対して適切な不動態化を提供するが、低温プロセスの結果、一般には低密度かつ幾分多孔性の不動態化層をもたらし、これは、いくつかの場合において、ＩＳＦＥＴ閾値電圧安定性に悪影響しかねないことを認識し、認めてきた。特に、ＩＳＦＥＴデバイス操作の間に、低密度多孔性不動態化層は、経時的に、溶液からのイオンを吸収でき、該イオンで飽和でき、これは、今度は、ＩＳＦＥＴ閾値電圧V_{TH}において望ましくない時間－変化ドリフトを引き起こしかねず、正確な測定を挑戦的なものとする。

【０３０６】

これまでのことを考慮すると、１つの実施形態において、アルミニウムの代わりにタングステン金属を用いるＣＭＯＳプロセスを使用して、本発明の開示に従い、ＩＳＦＥＴアレイを製造することができる。（３４００度摂氏を超える）タングステンの高い融解温度は、窒化ケイ素またはオキシ窒化ケイ素不動態化層のための、より高い温度の低圧化学的気相蒸着（ＬＰＣＶＤ）プロセス（例えば、ほぼ７００～８００度摂氏）の使用を可能とする。ＬＰＣＶＤプロセスは、典型的には、不動態化層についての有意により密なかつ多孔性の低いフィルムをもたらし、それにより、ISFET閾値電圧のドリフトに導く、分析物溶液からのイオン吸収の潜在的な悪影響を緩和する。

【０３０７】

アルミニウムベースのＣＭＯＳプロセスを使用して、本開示に従ってＩＳＦＥＴアレイを製造するなおもう１つの実施形態において、図１１Ａに示された不動態化層１７２は、慣用的なＣＭＯＳプロセスで典型的に使用されたものを超えたさらなる蒸着および／または材料を含むことができる。例えば、不動態化層１７２は、先に議論した窒化ケイ素および／またはオキシ窒化ケイ素の初期低温プラズマ－援助蒸着（ＰＥＣＶＤ）を含むことができ；本議論の目的では、これらの慣用的蒸着は、不動態化層１７２の最初の部分１７２Ａとして図１１Ａに示される。１つの実施形態において、最初の部分１７２Ａに続いて、１以上のさらなる不動態化材料を配置して、少なくとも第２の部分１７２Ｂを形成して、密度を増大させ、総じての不動態化層１７２の多孔度（およびそれによる吸収）を低下させる。１つのさらなる部分１７２Ｂが、主として、図１１Ａでの説明の目的で、該開示はこの点において限定されない、というのは、総じての不動態化層１７２は２以上の構成部分を含むことができるからであり、そこでは、各部分は同一または異なる材料の１以上の層／蒸着を含むことができ、および各部分は同様にまたは異なって構成することができるのは認められるべきである。

【０３０８】

不動態化層１７２の第２の部分１７２Ｂ（または他のさらなる部分）に適した材料の例は、限定されるものではないが、窒化ケイ素、オキシ窒化ケイ素、酸化アルミニウム（Al_2O_3）、酸化タンタル（Ta_3O_5）、酸化スズ（SnO_2）および二酸化ケイ素（SiO_2）を含む。１つの態様において、第２の部分１７２Ｂ（または他のさらなる部分）は、限定されるものではないが、ＲＦスパッタリング、ＤＣマグネトロンスパッタリング、熱または電子線蒸着、およびイオン－援助蒸着を含めた、種々の比較的低温のプロセスを介して蒸着することができる、もう１つの態様において、プレースパッタリングエッ

チングプロセスを、第２の部分１７２Ｂの蒸着に先立って使用し、第１の部分１７２Ａに存在するいずれの天然酸化物も除去することができる（別法として、上昇した温度の水素雰囲気のような還元性雰囲気を使用して、第１の部分１７２Ａに存在する天然酸化物を除去することができる）。なおもう１つの態様において、第２の部分１７２Ｂの厚みはほぼ０．０４μｍ～０．０６μｍ（４００～６００オングストローム）のオーダーとすることができ、第１の部分の厚みは、先に議論したように、１．０～１．５μｍのオーダーとすることができる。いくつかの例示的な実施において、第１の部分１７２Ａは、１．０～１．５μｍの組合せ厚みを有するオキシ窒化ケイ素および窒化ケイ素の多数の層を含むことができ、第２の部分１７２Ｂは、ほぼ４００～６００オングストロームの厚みを有する酸化アルミニウムまたは酸化タンタルいずれかの単一の層を含むことができる。再度、これまでの例示的厚みは、主として、説明目的で供されるものであり、開示はこれらの点において制限されないことが認められるべきである。

【０３０９】

本発明に従い、水素イオン感受性不動態化層は、限定されるものではないが、ＰＰｉおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸を含めた他の分析物に対しての感受性であることが判明した。例として、窒化ケイ素不動態化層は、ＰＰｉおよびヌクレオチド三リン酸の濃度の変化を検出することができる。同一のｃｈｅｍＦＥＴを用いてこれらの分析物の濃度変化を測定する能力は、単一アレイを用いて核酸を配列決定し、それにより、配列決定方法を単純化する能力を大いに促進する。

【０３１０】

かくして、本明細書に記載されたｃｈｅｍＦＥＴアレイを用いて、種々の分析物を検出し、および／または測定することができ、そうすることによって、種々の反応および／または相互作用をモニターすることができるのは理解されるべきである。また、（ｐＨ変化の形態である）水素イオン検出に関するここでの議論は、便宜および簡潔性のためのものであり、および（他のイオンを含めた）他の分析物の静的または動的レベル/濃度を、これらの記載における水素に代えて置き換えることができるのも理解されるべきである。特に、分析物に存在する種々のイオン種のいずれか１以上の十分に速い濃度変化は、図２Ａに関連して先に議論したように、ｃｈｅｍＦＥＴの一過的または動的応答を介して検出することができる。また、分析物／不動態化層界面についての部位－解離（または部位－結合）モデルに関連して先に議論したように、分析物／不動態化層界面における平衡反応に関連する種々のパラメータ（例えば、順方向および逆方向平衡反応についての速度定数、不動態化層表面の単位面積当たりのプロトンドナー／アクセプター部位の合計数、固有の緩衝能力、ゼロ電荷の点におけるｐＨ）は、材料依存性特性であって、かくして、不動態化層で使用される材料の選択によって影響されるのは認められるべきである。

【０３１１】

本明細書中に記載されたＩＳＦＥＴを含めたｃｈｅｍＦＥＴは、接触した場合に電場の変化をそれ自体が誘導することができるいずれの分析物も検出することができるか、あるいはそうでなければ、ｃｈｅｍＦＥＴ表面によって検知され、または検出される。分析物は、センサーによって検出されるためには荷電されている必要はない。例えば、実施形態に依存して、分析物は正に荷電され（すなわち、カチオン）、負に荷電され（すなわち、アニオン）、両性イオンであり、（すなわち、２つの等しいおよび反対の電荷を有することができるが、総じて中性である）、および極性であるが中性であってもよい。このリストは限定的な事を意図しない。というのは他の分析物クラスならびに各クラス内の種は、本明細書中に提供された開示に基づいて当業者によって容易に考えられるからである。

【０３１２】

本発明の最も広い意味において、不動態化層はコーティングされていてもいなくてもよく、分析物は不動態化層と直接的に相互作用してもしなくてもよい。例として、不動態化層は窒化ケイ素を含むものでよく、分析物は水素イオン以外の何かであってもよい。具体的な例として、不動態化層は窒化ケイ素を含んでも良く、分析物はＰＰｉであってよい。これらの例において、（すなわち、直接的にまたは間接的にのいずれかで不動態化層に付

着されたＰＰｉ受容体の不存在下において）ＰＰｉは直接的に検出される。

【０３１３】

もし検出されるべき分析物が水素（または別法として水酸化物）であれば、いずれかのイオン種の変化が不動態化層で検出できるように、弱い緩衝液を用いるのが好ましい。もし検出されるべき分析物が水素（または水酸化物）以外の何かであるが、反応または検出工程の間に溶液中のｐＨ変化のいくらかの可能性があれば、ｐＨの変化が分析物の検出に干渉しない場合、強い緩衝液を用いるのが好ましい。緩衝液は、ｐＨの種々の程度の変化に対して抵抗するイオン性分子（またはイオン性分子を含む溶液）である。いくつかの緩衝液は、溶液中に加えられた、または溶液中で生じた酸または塩基を中和することができ、その結果、溶液中の有効なｐＨ変化はない。いずれの緩衝液も適当であるが、それが所望の範囲においてｐＫａを有することを条件とするのは理解されるべきである。いくつかの実施形態においては、適当な緩衝液は、６～９、より好ましくは６．５～８．５のｐＨ範囲当たりで機能するものである。他の実施形態において、適当な緩衝液は、８．５～９．５を含めた、７～１０のｐＨ範囲当たりで機能するものである。

【０３１４】

緩衝液の強度は相対的項である。というのは、それが注目する溶液に加えられた、または溶液中で生じた酸または塩基の性質、強度および濃度に依存するからである。弱い緩衝液は約少なくとも＋／－０．００５、約少なくとも＋／－０．０１、約少なくとも＋／－０．０１５、約少なくとも＋／－０．０２、約少なくとも＋／－０．０３、約少なくとも＋／－０．０４、約少なくとも＋／－０．０５、約少なくとも＋／－０．１０、約少なくとも＋／－０．１５、約少なくとも＋／－０．２０、約少なくとも＋／－０．２５、約少なくとも＋／－０．３０、約少なくとも＋／－０．３５。約少なくとも＋／－０．４５、約少なくとも＋／－０．５０以上のｐＨ変化の検出を可能とする緩衝液である（従って、そうでなければ制御することができない）。いくつかの実施形態において、ｐＨ変化は（例えば、ヌクレオチド取込み当たり）約０．００５のオーダーであり、好ましくは、ｐＨの増加である。強い緩衝液は、約少なくとも＋／－０．００５、約少なくとも＋/-０．０１、約少なくとも＋／－０．０１５、約少なくとも＋／－０.０２、約少なくとも＋／－０．０３、約少なくとも＋／－０．０４、約少なくとも＋／－０．０５、約少なくとも＋／－０．１０、約少なくとも＋／－０．１５、約少なくとも＋／－０．２０、約少なくとも＋／－０．２５、約少なくとも＋／－０．３０、約少なくとも＋／－０．３５、約少なくとも＋／－０．４５、約少なくとも＋／－０．５０以上のｐＨ変化を制御する緩衝液である。緩衝液の強度は、緩衝液種それ自体の濃度を変化させることによって変化させることができる。かくして、低濃度の緩衝液は低強度緩衝液であり得る。例は、１ｍＭ未満の（例えば、５０～１００μＭ）緩衝液種を有するものを含む。ｐＨの変化が読出である、本明細書中に記載された配列決定反応に適した弱い緩衝液の非限定的例は、０．１ｍＭＴｒｉｓまたはＴｒｉｃｉｎｅである。適当な弱い緩衝液の例は実施例に供されており、また当該分野で公知でもある。より高い濃度の緩衝液はより強い緩衝液であり得る。その例は、１～２５ｍＭ緩衝液種を有するものを含む。ＰＰｉおよび／またはヌクレオチド三リン酸が直接的に読まれる、本明細書中に記載された配列決定反応に適した強い緩衝液の非限定的例は１、５または２５ｍＭ（またはそれ以上の）ＴｒｉｓまたはＴｒｉｃｉｎｅである。当業者であれば、本発明に含まれる反応および検出方法で用いられる最適な緩衝液を決定することができるであろう。

【０３１５】

いくつかの実施形態において、不動態化層および／または複数層および／またはその上にコーティングされた分子は、アレイ読出の分析物特異性を指令する。

【０３１６】

（ｐＨの形態の）水素イオン、および本発明によって決定される他の分析物の検出は、窒化ケイ素（Si_3N_4）、オキシ窒化ケイ素（Si_2N_2O）、酸化ケイ素（SiO_2）、酸化アルミニウム（Al_2O_3）、五酸化タンタル（Ta_2O_5）、酸化スズまたは酸化第二スズ（SnO_2）等で作成された不動態化層を用いて行うことができる。

【０３１７】
不動態化層は、限定されるものではないが、カルシウム、カリウム、ナトリウム、ヨウ素、マグネシウム、塩化物、リチウム、鉛、銀、カドミウム、ニトレート、フォスフェート、二水素フォスフェートなどを含めた他のイオン種を直接的に検出することもできる。
【０３１８】
いくつかの実施形態において、不動態化層は注目する分析物に対する受容体でコーティングされる。好ましくは、受容体は注目する分析物、またはいくつかの例においては、分析物が属する剤のクラスに選択的に結合する。本明細書中で用いるように、分析物に選択的に結合する受容体は、その分析物に優先的に結合する分子である（すなわち、その分析物に対するその結合親和性は、いずれかの他の分析物に対するその結合親和性よりも大きい）。注目する分析物に対するその結合親和性は、いずれかの他の分析物に対するその結合親和性よりも２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、１０倍、１５倍、２０倍、２５倍、３０倍、４０倍、５０倍、１００倍またはそれ以上であり得る。その相対的結合親和性に加えて、受容体は、注目する分析物に有効に結合するのに十分高い絶対結合親和性も有しなければならない（すなわち、それは十分な感度を有しなければならない）。ピコモル～マイクロモル範囲に結合親和性を有する受容体も適当である。好ましくは、そのような相互作用は可逆的である。
【０３１９】
受容体はいずれの性質のものであってもよい（例えば、化学物質、核酸、ペプチド、脂質、その組合せ等）。そのような実施形態において、分析物もまたいずれの性質のものであってもよいが、それに選択的に、いくつかの例においては、特異的に結合する受容体が存在するものとする。しかしながら、本発明はさらに、受容体の不存在下での分析物の検出が考えられるのは理解されるべきである。この例は、ＰＰｉまたはＰｉ受容体の不存在下における不動態化層によるＰＰｉおよびＰｉの検出である。
【０３２０】
１つの態様において、本発明では、イオノフォアである受容体が考えられる。本明細書中で用いるように、イオノフォアは、アニオンまたはカチオンを問わず、イオン種に選択的に結合する分子である。本発明の関係では、イオノフォアは受容体であって、それが結合するイオンは分析物である。本発明のイオノフォアは微生物に由来する当該分野で認められたキャリアイオノフォア（すなわち、特定のイオンに結合する小さな脂質－可溶性分子）を含む。種々のイオノフォアがＣａｌｂｉｏｃｈｅｍのような源から商業的に入手可能である。
【０３２１】
いくつかのイオンの検出は、不動態化層それ自体の使用を通じて、または不動態化層上にコーティングされた受容体の使用を通じて達成することができる。例えば、カリウムは、ポリシロキサン、バリノマイシンまたはサリノマイシンを用いて選択的に検出することができ；ナトリウムはモネンシン、ナイスタチン、またはSQI-Prを用いて選択的に検出することができ；カルシウムはイオノマイシン、カルシマイシン（Ａ２３１８７）、またはＣＡ１００１（ＥＴＨ　１００１）を用いて選択的に検出することができる。
【０３２２】
１を超えるイオンに結合することができる受容体もまたいくつかの例で用いることができる。例えば、ボベリシンを用いてカルシウムおよび／またはバリウムイオンを検出することができ、ニゲリシンを用いてカリウム、水素および／または鉛イオンを検出することができ、グラミシジンを用いて水素、ナトリウムおよび/またはカリウムイオンを検出することができる。当業者であれば、これらの化合物を、単一のイオン特異性が要求されない、あるいは化合物が結合する他のイオンが存在したり生じたりしないような（または不可能な）適用で用いることができる。同様に、特定の属の多数の種に結合する受容体もまた、該属内のただ１つの種が存在し、あるいは当該方法が種の間の区別を必要としないものを含めた、いくつかの実施形態でやはり有用であり得る。
【０３２３】

もう１つの例として、ニューロトキシンに対する受容体は、Ｓｉｍｏｎｉａｎ Ｅｌｅｃｔｒｏａｎａｌｙｓｉｓ ２００４，１６：１８９６－１９０６に記載されている。

【０３２４】

限定されるものではないが、核酸配列決定適用を含めた他の実施形態において、ＰＰｉに選択的に結合する受容体を用いることができる。ＰＰｉ受容体の例は図１１Ｂ（１）～（３）に示された化合物（化合物１～１０）を含む。化合物１はＡｎｇｅｗ，Ｃｈｅｍ Ｉｎｔ（Ｅｄ ２００４）４３：４７７７－４７８０およびＵＳ ２００５／０１１９４９７ Ａ１に記載されており、ｐ－ナフチル－ビス［（ビス）２－ピリジルメチル］アミノ）メチル］フェノールという。化合物２はＪ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ ２００３ １２５：７７５２－７７５３およびＵＳ ２００５／０１１９４９７ Ａ１に記載されており、ｐ－(ｐ－ニトロフェニルアゾ)－ビス[(ビス（２－ピリジルメチル－１）アミノ)メチル]フェノール（またはその二核Ｚｎ錯体）という。化合物１および２についての合成スキームはＵＳ ２００５／０１１９４９７ Ａ１に供されている。化合物３はＬｅｅ ｅｔ ａｌ．Ｏｒｇａｎｉｃ Ｌｅｔｔｅｒｓ ２００７ ９（２）：２４３－２４６，およびＳｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ １９９５ ２９：３２４－３２７に記載されている。化合物４は、Ａｎｇｅｗ，Ｃｈｅｍ Ｉｎｔ（Ｅｄ ２００２）４１（２０）：３８１１－３８１４に記載されている。化合物７、８および９についての例示的合成は図１１Ｃ（１）～（３）に示されている。化合物５はＷＯ２００７/００２２０４に記載されており、ビス－Zn^{2+}－ジピコリルアミン（Zn^{2+}－ＤＰＡ）とそこではいわれる。化合物６は、ＰＰｉに結合した１１Ｂ（３）に示されている。（ＭｃＤｏｎｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．２００６ ２９７１－２９７３)化合物７の金属酸化物表面への結合は図１１Ｅに示されている。

【０３２５】

受容体は、共有結合により、または非-共有結合により、不動態化層に結合させることができる。受容体の不動態化層への共有結合は直接的または（例えば、リンカーを通じて）間接的であってよい。図１１Ｄ（１）および（２）は、不動態化層へ受容体を共有結合により結合させるためのシラノール化学の使用を説明する。受容体は、例えば、脂肪族第一級アミン（底部左側パネル）またはアリールイソチオシアネート（底部右側パネル）を用いて不動態化層に固定化することができる。これらおよび他の実施形態において、それ自体が窒化ケイ素、酸化アルミニウム、酸化ケイ素、五酸化タンタルなどよりなることができる不動態化層を、その反応性表面基を介してシラネーション層に結合させる。ＦＥＴ表面への共有結合についてのシラノール化学に関するより詳細については、少なくとも以下の刊行物を参照することができる：窒化ケイ素については、Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ １９９５ ２９：３２４－３２７，Ｊｐｎ Ｊ Ａｐｐｌ Ｐｈｙｓ １９９９ ３８：３９１２－３９１７およびＬａｎｇｍｕｉｒ ２００５ ２１：３９５－４０２参照；酸化ケイ素については、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ １９９５ ４：２５３２－２５４４およびＡｍ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ Ｌａｂ ２００２ ２０（７）：１６－１８参照；および酸化アルミニウムについては、Ｃｏｌｌｏｉｄｓ ａｎｄ Ｓｕｒｆａｃｅｓ １９９２ ６３：１－９，Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ ２００３ ８９：４０－４７，およびＢｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ １９９７ ８：４２４－４３３参照。次いで、受容体をシラネーション層反応性基にコンジュゲートさせる。この後者の結合は、図１１Ｄ（１）および（２）に説明されるように、二官能性リンカーの使用を通じて直接的にまたは間接的に起こり得る。

【０３２６】

二官能性リンカーは、それに２つの物質が結合し得る少なくとも２つの反応性基を有する化合物である。いくつかの例において、反応性基はリンカーの反対末端に位置させる。いくつかの実施形態において、二官能性リンカーは、図１１Ｄ（１）および（２）に示されたもののような普遍的二官能性リンカーである。普遍的リンカーは、種々の物質に連結させるのに用いることができるリンカーである。図１１Ｄ（１）および（２）に示された化学は説明的であって限定的ではないことが理解されるべきである。

【０３２７】
二官能性リンカーは、コンジュゲートさせるべき分子の性質に依存して、ホモ－二官能性リンカーまたはヘテロ－二官能性リンカーであってよい。ホモ－二官能性リンカーは２つの同一性反応基を有する。ヘテロ－二官能性リンカーは２つの異なる反応性基を有する。商業的に入手可能なリンカーの種々のタイプは以下の基の１以上と反応性である：第一級アミン、第二級アミン、スルフヒドリル、カルボキシル、カルボニルおよび炭水化物。アミン－特異的リンカーの例はビス（スルフォスクシンイミジル）スベレート、ビス[2－（スクシンイミドオキシカルボニルオキシ）エチル]スルホン、ジスクシンイミジルスベレート、ジスクシンイミジルタルタレート、ジメチルアジピメートキ２ＨＣｌ、ジメチルピメリミデートキ２ＨＣｌ、ジメチルスベリミデートキ２ＨＣｌ、およびエチレングリコビス-[スクシンイミジル-[スクシネート]]である。スルフヒドリル基と反応性であるリンカーはビスマレイミドヘキサン、1，４-ジ－[３’-(２’－ピリジルジチオ)－プロピオンアミド]ブタン、１－[ｐ－アジドサリチルアミド]－4－[ヨードアセタミド]ブタン、およびＮ－［４－（ｐ－アジドサリチルアミド）ブチル］－３’－［２’－ピリジルジチオ］プロピオンアミドを含む。炭水化物と優先的に反応性のリンカーはアジドベンゾイルヒドラジンを含む。カルボキシル基と優先的に反応性のリンカーは４－［ｐ－アジドサリチルアミド］ブチルアミンを含む。

【０３２８】
アミンおよびスルフヒドリルと反応するヘテロ二感応性リンカーはＮ－スクシンイミジル－３－［2－ピリジルジチオ］プロピオネート、スクシンイミジル［4－ヨードアセチル］アミノベンゾエート、スクシンイミジル4－［Ｎ－マレイミドメチル］シクロヘキサン－１－カルボキシレート、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシスクシンアミドエステル、スルホスクシンイミジル6－［3－［2－ピリジルジチオ］プロピオンアミド］ヘキサノエート、およびスルホスクシンイミジル4－［Ｎ－マレイミドメチル］シクロヘキサン－１－カルボキシレートを含む。カルボキシルおよびアミン基と反応するヘテロ二感応性リンカーは１－エチル－３－［３－ジメチルアミノプロピル］－カルボジイミド塩酸塩を含む。炭水化物およびスルフヒドリルと反応するヘテロ二感応性リンカーは、４－［Ｎ－マレイミドメチル］－シクロヘキサン－１－カルボキシルヒドラジド・２ＨＣl、４－（４－Ｎ－マレイミドフェニル）－酪酸ヒドラジド・２ＨＣｌ、および３－［２－ピリジルジチオ］プロイオニルヒドラジドを含む。

【０３２９】
別法として受容体は不動態化層上に非共有結合的にコーティングすることができる。不動態化層上への受容体の非－共有結合蒸着はポリマーマトリックスの使用を含むことができる。ポリマーは天然に生じるものであっても、または天然に生じないものであってもよく、限定されるものでないが、核酸（例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡ、ＬＮＡ等、あるいはそのミミック、誘導体、または組合せ）、アミノ酸（例えば、ペプチド、蛋白質（天然または非天然）等、またはそのミミック、誘導体、または組合せ）、脂質、多糖、および感応性化ブロックコポリマーを含めたいずれのタイプのものであってもよい。受容体はポリマーマトリックス上に吸着されおよび／またはポリマーマトリックス内に捕獲されていてもよい。ポリマーの性質は、用いられるべき受容体、および／または検出されるべき分析物の性質に依存するであろう。

【０３３０】
別法として、受容体はポリマーに共有結合によりコンジュゲートされ、または架橋されていてもよい（例えば、それは感応性化ポリマー上に「グラフト化」されていてもよい）。

【０３３１】
適当なペプチドポリマーの例はポリ－リシン（例えば、ポリ－Ｌ－リシン）である。他のポリマーの例は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキサイド、ポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル

、ポリビニルハライド、ポリビニルピロリドン、ポリグリコリド、ポリシロキサン、ポリウレタン、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロースを含むブロックコポリマー、アクリル酸およびメタクリル酸エステルのポリマー、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシブチルメチルセルロース、酢酸セルロース、プロピオン酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、カルボキシルエチルセルロース、三酢酸セルロース、硫酸セルロースナトリウム塩ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（エチルメタクリレート）、ポリ（ブチルメタクリレート）、ポリ（イソブチルメタクリレート）、ポリ（ヘキシルメタクリレート）、ポリ（イソデシルメタクリレート）、ポリ（ラウリルメタクリレート）、ポリ（フェニルメタクリレート）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリ（イソプロピルアクリレート）、ポリ（イソブチルアクリレート）、ポリ（オクタデシルアクリレート）、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（エチレンオキサイド）、ポリ（エチレンテレフタレート）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ酢酸ビニル、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ポリヒアルロン酸、カゼイン、ゼラチン、グルチン、ポリアンヒドリド、ポリアクリル酸、アルジネート、キトサン、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（エチルメタクリレート）、ポリ（ブチルメタクリレート）、ポリ（イソブチルメタクリレート）、ポリ（ヘキシルメタクリレート）、ポリ（イソデシルメタクリレート）、ポリ（ラウリルメタクリレート）、ポリ（フェニルメタクリレート）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリ（イソプロピルアクリレート）、ポリ（イソブチルアクリレート）、およびポリ（オクタデシルアクリレート）、ポリ（ラクチド－グリコリド）、コポリオキサレート、ポリカプロラクトン、ポリエステルアミド、ポリオルトエステル、ポリヒドロキシ酪酸、ポリアンヒドリド、ポリ（スチレン－ｂ－イソブチレン－ｂ－スチレン）（ＳＩＢＳ）ブロックコポリマー、エチレンビニルアセテート、ポリ（メタアクリル酸）、乳酸およびグリコール酸のポリマー、ポリアンヒドリド、ポリ（オルト）エステル、ポリウレタン、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、およびポリ（ラクチド－コカプロラクトン）、アルジネート、およびデキストランおよびセルロースを含めた他の多糖コラーゲン、アルブミン、および他の親水性蛋白質ゼインおよび他のプロルアミンおよび疎水性蛋白質のような天然ポリマー、そのコポリマーおよび混合物、ならびに化学基、例えば、アルキル、アルキレンの置換および／または付加、ヒドロキシル化、酸化、および当業者によってルーチン的に成される他の修飾を含めたその化学的誘導体を含む。

【０３３２】

ＩＳＦＥＴ閾値電圧の安定性および／または予測性に関するもう１つの論点は、アレイ製造の間における、またはアレイ製造に続いての種々の加工活動（例えば、プラズマ金属エッチング、ウエハー洗浄、ダイシング、パッケージング、取扱等のようなラインのバックエンド処理）の結果としての、ＣＭＯＳ－製造デバイスの金属層に（特に）蓄積しかねないトラップされた電荷を含む。特に図１１Ａを参照し、トラップされた電荷はいくつかの例においては、ＩＳＦＥＴフローティングゲート構造１７０を構成する種々の導電体３０４、３０６、３０８、３１２，３１６、３２０、３２６、３３８、および１６４の１以上に蓄積しかねない。この現象は、関連文献においては、「アンテナ効果」とも言われる。

【０３３３】

トラップされた電荷が蓄積する１つの機会は、最も頂部の金属層３０４のプラズマエッチングを含む。出願人らは、フローティングゲート構造の１以上の導電体、またはＦＥＴの他の部分に電荷が蓄積する他の機会は、その間にウェハーを通ってのダイシング鋸切断の研磨剤プロセスが静電気を生じるウェハーダイシングおよび／または、いくつかの例においてはウエハーを取り扱い／輸送する自動機械が、フローティングゲート構造の導電体への静電気放電（ＥＳＤ）の源となり得る。ダイ－対－パッケージワイヤー結合のような種々の処理後ウェハーは取扱／パッケージング工程を含む。もし電気的経路を供して、そのような電荷蓄積を減らすためのシリコン基板（または他の半導体基板）への結合がなけ

れば、ゲート酸化物１６５に対して望ましくない変化または損傷（例えば、酸化物への電荷の噴射、または下にある基板への低レベルの酸化物分解）を引き起こす点まで電荷は形成され得る。ゲート酸化物中の、またはゲート酸化物－半導体界面におけるトラップされた電荷は、今度は閾値電圧における変動のような、ＩＳＦＥＴ操作および性能における望ましくないおよび／または予測できないムラを引き起こしかねない。

【０３３４】

これまでのことを考慮すると、本開示の他の発明的実施形態はトラップされた電荷を低下させ、またはアンテナ効果を緩和することによって、ＩＳＦＥＴ性能を改良する方法および装置に向けられる。１つの実施形態において、センサーアレイが製造された後にトラップされた電荷は低下させることができ、他方、他の実施形態において、製造プロセスそれ自体を修飾していくつかの慣用的なプロセス工程によって誘導され得るであろう、トラップされた電荷を低化させることができる。なお、他の実施形態において、「製造の間」および「製造後」の双方の技術を組み合わせて、トラップされた電荷を低下させ、それにより、ＩＳＦＥＴ性能を改良することができる。

【０３３５】

トラップされた電荷を低下させるための製造プロセスそれ自体に対する改変に関しては、１つの実施形態において、図１１Ａに示されたゲート酸化物１６５の厚みは、基板に対する蓄積された電荷の滲出を容易とするように特に選択することができ；特により薄いゲート酸化物は、十分な量の形成された電荷が、ゲート酸化物を通って、トラップされるようになることなく、下方の基板まで通過することを可能とすることができる。この概念に基づくもう１つの実施形態において、画素は、さらなる「犠牲」デバイス、すなわち、ＩＳＦＥＴのゲート酸化物１６５よりも薄いゲート酸化物を有するもう１つのトランジスタを含むように設計することができる。次いで、ＩＳＦＥＴのフローティングゲート構造を、それが「電荷滲出トランジスタ」として働くように犠牲デバイスのゲートにカップリングさせることができる。勿論、そのような犠牲デバイスを含めたいくらかのトレードオフは、画素のサイズおよび複雑性の増加を含むのは認められるべきである。

【０３３６】

もう１つの実施形態において、図１１Ａに示されたＩＳＦＥＴフローティングゲート構造１７０の最も頂部の金属層３０４は、プラズマエッチングに先立って誘電体でキャップして、トラップされた電荷を軽減することができる。先に議論したように、フローティングゲート構造に蓄積した電荷は、いくつかの場合において、金属エッチングで用いられるプラズマからカップリングすることができる。典型的には、フォトレジストをエッチングすべき金属上に適用し、次いで、下に存在する金属のための所望の幾何学に基づいてパターニングする。１つの例示的な実施において、キャッピング誘電層（例えば、酸化物）をフォトレジストの適用に先立ってエッチングすべき金属上に蒸着させ、プラズマエッチングプロセスからの電荷に対する金属表面にさらなるバリアを供することができる。１つの態様において、キャッピング誘導層は背後に残り、不動態化層１７２の一部を形成することができる。

【０３３７】

なお、もう１つの実施形態において、最も頂部の金属層３０４のための金属エッチングプロセスを、プラズマエッチングよりはむしろ湿式化学またはイオン－ビームミリングを含むように修飾することができる。例えば、下に存在する誘電体に対して選択性の水性化学を用いて、金属層３０４をエッチングすることができよう（例えば、ここに引用して援用する、アルミニウムに関するＴｒａｎｓｅｎｅについてのウェブサイト参照）。もう１つの代替アプローチは金属層３０４のためのプラズマエッチングよりはむしろイオン－ミリングを使用する。イオン－ミリングは、通常、慣用的プラズマまたは湿式化学を用いて容易に除去することができる材料をエッチングするのに用いられる。イオン－ミリングプロセスは、電荷形成が金属層において起こらないように、プラズマがそうであるように、振動電場を使用しない。なお、もう１つの金属エッチング代替法は、エッチング速度を低下させるためのプラズマ条件を最適化することを含む（すなわち、より低いパワー密度）

。

【０３３８】

なお、もう１つの実施形態において、アーキテクチャー変化を金属層に対して行って、フローティングゲートの定義の間に完全な電気的単離を容易とすることができる。１つの態様において、大面積ＩＳＦＥＴフローティングゲートがその最終規定の間に何かに結合しないような金属スタック－アップの設計は、トランジスタのフローティングゲートに対する電気的結合を実現するための「ジャンパー」として働く引き続いての金属層を必要とするであろう。この「ジャンパー」結合スキームは大きなフローティングゲートからトランジスタへの電荷のフローを妨げる。この方法は以下のように実施することができる（Ｍ＝金属層）：ｉ）Ｐｏｌｙゲート電極に接触するＭ１；ｉｉ）Ｍ１に接触するＭ２；ｉｉｉ）Ｍ３はフローティングゲートを規定し、別々に、単離されたアイランドでＭ２に結合し；ｉｖ）単離されたアイランド上でエッチングされるべき非常に小さなエリアおよびフローティングゲートＭ３への結合を有するＭ４ジャンパーは、トランジスタ活性エリアの直ぐ上のＰｏｌｙゲートに結合されたＭ１／Ｍ２／Ｍ３スタックに Ｍ３フローティングゲートを結合させ；およびｖ）Ｍ３～Ｍ４層間誘電体はフローティングゲート上のみで除去して、裸のＭ３フローティングゲートを露出させる。直前に概説した方法において、工程ｖ）は成される必要がない。と言うのは、先に議論したいくつかの実施形態に従ったＩＳＦＥＴアーキテクチャーは、Ｍ４不動態化をＭ４フローティングゲート上の所定の場所に残すからである。１つの態様において、除去は、それにもかかわらず、他の方法でＩＳＦＥＴ性能（すなわち、感度）を改良することができる。いずれの場合においても最終の感受性不動化層は、薄いスパッタリング蒸着されたイオン－感受性金属酸化物層であってよい。先に議論した上層のジャンパードアーキテクチャーは、標準ＣＭＯＳ製造フローで実施して、最初の３つの金属層のいずれかがフローティングゲートとして用いられるのを可能とするのは認められるべきである（すなわち、Ｍ１、Ｍ２またはＭ３）。

【０３３９】

トラップされた電荷を低下させるための製造後プロセスに関しては１つの実施形態において、「ガスアニール形成」を製造後プロセスとして使用して、トラップされた電荷の潜在的に有害な効果を緩和することができる。ガスアニールの形成においては、ＣＭＯＳ製造ＩＳＦＥＴデバイスを水素および窒素ガス混合物中で加熱する。混合物中の水素ガスはゲート酸化物１６５へ拡散し、トラップされた電荷のある形態を中和する。１つの態様において、ガスアニール形成はトラップされた電荷に由来し得る全てのゲート酸化物の損傷を必ずしも除去する必要はなく、むしろいくつかの場合においては、いくらかのトラップされた電荷の部分的中和は、ＩＳＦＥＴ性能を有意に改良するのに十分である。本開示に従った例示的アニーリングプロセスにおいて、ＩＳＦＥＴを１０～１５％水素を含む水素／窒素混合物中でほぼ４００～４２５度摂氏でほぼ３０～６０分間加熱することができる。１つの特別な実施において、１０％水素を含む水素／窒素混合物における４２５度摂氏での３０分間のアニーリングは、ＩＳＦＥＴ性能を改良するにおいて特に有効であると観察される。アルミニウムＣＭＯＳプロセスでは、アニーリングの温度は４５０度摂氏、またはそれ未満に保ってアルミニウム冶金の損傷を回避すべきである。本開示に従ったアニーリングプロセスのもう１つの態様において、ガスアニーリング形成は、製造されたＩＳＦＥＴアレイのウエハーがダイシングされた後に行って、ダイシングプロセスそれ自体、および／または他のプレ－ダイシング処理工程（例えば、金属のプラズマエッチング）によって誘導されたトラップされた電荷による損傷が効果的に軽減できるのを確実とする。なお、もう１つの態様において、ガスアニーリング形成は、ダイ－対－パッケージワイヤーボンディング後に行って、同様に、トラップされた電荷による損傷を軽減することができる。アセンブリプロセスにおいてこの時点で、ダイシングされたアレイチップは、典型的には、加熱され、化学的抵抗性のセラミックパッケージ、および低許容ワイヤーボンディング手法ならびに耐熱性ダイ－対－パッケージ接着剤を使用してアニーリング手法に耐えることができる。かくして、１つの例示的な実施において、本発明は：共通の半導体基板において複数のＦＥＴを製造し、その複数の内の各々はフローティングゲートにカップ

リングされており；ダイシング工程に先立ってガスアニーリング形成を半導体に適用し；半導体をダイシングし；次いで、ダイシング工程後にガスアニーリング形成を半導体に適用することを含む、各々がゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を有するフローティングゲートを有するか、またはカップリングされた、ＦＥＴのアレイを製造する方法を含む。好ましくは、半導体基板は少なくとも１００，０００のＦＥＴを含む。好ましくは、複数のＦＥＴはｃｈｅｍＦＥＴである。該方法は、さらに、不動態化層を半導体上に蒸着させ、高分子ガラスイオン－反応的にエッチング可能であるか、または感光性材料層を不動態化層上に蒸着し、次いで、高分子ガラスのイオン－反応的にエッチング可能であるかまたは感光性材料をエッチングして、ガラス層において反応チャンバーのアレイを形成することを含むことができる。

【０３４０】

本開示の実施形態に従った、トラップされた電荷の潜在的に有害な効果を緩和するなお他のプロセスにおいて、種々のウェハー製造後の取扱い／パッキング工程のいずれかの間に、種々の「静電気放電（ＥＳＤ）－感受性プロトコル」を採用することができる。例えば、１つの例示的なプロセスにおいて、静電防止ダイシングテープを使用して、（例えば、ダイシングプロセスの間）ウェハー基板を所定の場所に保つことができる。また、高－抵抗率（例えば、１０ＭΩ）脱イオン水は、本開示の１つの実施形態に従って、慣用的にダイシング鋸の冷却の関係で使用されれば、この目的で抵抗率がより低く／より導電性の水を使用して、水を介しての電荷伝達を容易とすることができ；例えば、脱イオン水を二酸化炭素でより低い抵抗率まで処理し、ダイシングプロセスから生起する電荷の伝達を改良することができる。さらに、種々のウェハーダイシング／取扱／パッケージング工程の間に、導電性およびアースされたダイ－噴出ツールを用いて、再度、これらの工程のいずれかの間に発生した電荷のための効果的な導電経路を供し、それにより、アレイの各ＩＳＦＥＴのフローティングゲート構造の１以上の導電体上に電荷が蓄積する機会を低下させることができる。

【０３４１】

トラップされた電荷を低下させるための製造後プロセスを含むさらにもう１つの実施形態において、ＩＳＦＥＴのゲート酸化物領域にＵＶ放射線を照射することができる。図１１Ａを再度参照し、本実施形態に基づく、１つの例示的な実施形態において、ＩＳＦＥＴフローティングゲート構造に近接したアレイの各画素の頂部金属層３０４におけるＩＳＦＥＴアレイの製造の間に、任意の穴またはウインドウ３０２を含める。このウインドウは、生じた場合、ＵＶ放射線をＩＳＦＥＴゲート領域に侵入させることを意図し、特に、画素105_1の種々の層は、図１１および１２Ａ～Ｌに示すようにウインドウ３０２に進入するＵＶ放射線が、多結晶シリコンゲート１６４およびゲート酸化物１６５に近接するエリアに実質的に邪魔されない方法で作用させることができるように構成される。

【０３４２】

トラップされた電荷を低下させるＵＶ照射プロセスを容易とするために出願人らは、窒化ケイ素およびオキシ窒化ケイ素以外の材料が、図１１Ａに示される不動態化層１７２で一般に使用される必要があるのを認識し、認めてきたが、というのは窒化ケイ素およびオキシ窒化ケイ素はＵＶ放射線を有意に吸収するからである。これまでを考慮し、これらの材料はその例が、限定されるものではないが、フォスオシリケート（ｐｈｏｓｏｓｉｌｉｃａｔｅ）ガラス（ＰＳＧ）およびホウ素をドープしたフォスオシリケートガラス（ＢＰＳＧ）を含む、ＵＶ放射線に対して、認識可能に透明な他のもので置換される必要がある。しかしながら、ＰＳＧおよびＢＰＳＧは水素およびヒドロキシイオンに対して不浸透性ではなく；従って、ｐＨ感度のために設計されたＩＳＦＥＴの不動態化層で使用されるためには、ＰＳＧおよびＢＰＳＧは、酸化アルミニウム（Al_2O_3）のような、ＵＶ放射線に対してやはり有意に透明であるイオン－不浸透性材料と共に用いて、不動態化層を形成することができる。例えば、再度図１１Ａを参照し、ＰＳＧまたはＢＰＳＧは、不動態化層１７２の最初の部分１７２Ａにおける窒化ケイ素またはオキシ窒化ケイ素に対する代替物として使用することができ、酸化アルミニウムの薄い層（例えば、４００～６００オ

ングストローム）を不動態化層１７２の第二の部分１７２Ｂで使用することができる（例えば、酸化アルミニウムはポスト－ＣＭＯＳリフトオフリソグラフィープロセスを用いて蒸着することができる）。

【０３４３】

ＵＶ照射を含む実施形態のもう１つの態様において、センサーアレイの各ＩＳＦＥＴはＵＶ照射プロセスの間に適切にバイアスされて、トラップされた電荷の低下を容易にすることができる。特に、ＩＳＦＥＴ導電性チャネルが形成されるバルクシリコン領域１６０に作用する、ＵＶ照射からの高エネルギーフォトンは電子－ホール対を生じさせ、これは、ＩＳＦＥＴ導電性チャネルを通じて電流が流れるにつれ、ゲート酸化物中のトラップされた電荷の中和を容易とする。この目的で、図１７に関連して、以下でさらに議論するアレイコントローラはＵＶ照射プロセスの間にアレイのＩＳＦＥＴをバイアスするための適当なシグナルを生じる。特に、図９を再度参照し、シグナル

【数２８】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_1}$$

から

【数２９】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_n}$$

の各々は、同時にセンサーアレイの全ての行を可能とし／選択し（すなわち、スイッチを入れ）、それにより、アレイのＩＳＦＥＴの全てを各列における各制御可能な電流ソース１０６$_j$にカップリングさせるように生成させる。同時に選択された各列の全ての画素に関し、所与の列の電流ソース１０６$_j$からの電流は、列の全ての画素によって共有される。列増幅器１０７Ａおよび１０７Ｂは、バイアス電圧ＶＢ４を除去することによって、無能とされ、同時に、所与の列における各ＩＳＦＥＴのドレインに結合された増幅器１０７Ｂの出力は、対照シグナル「ＵＶ」に応答性のスイッチを介してアースされる。また、アレイの全てのＩＳＦＥＴについての共通の本体電圧V_{BODY}は、電気的アースにカップリングされる（すなわち、V_{BODY}＝０ボルト）（先に議論したように、アレイの通常の操作の間に、本体バイアス電圧V_{BODY}はアレイに対して利用可能な最高の電圧ポテンシャル、例えば、ＶＤＤＡにカップリングされる）。１つの例示的な手法において、制御可能な電流ソース１０６$_j$の全てについてのバイアス電圧ＶＢ１は、各画素のＩＳＦＥＴがほぼ１μＡの電流を伝達するように設定される。ＩＳＦＥＴアレイがかくしてバイアスされた状態で、次いで、アレイにＵＶ放射線の十分な線量を（例えば、アレイからほぼ１インチの距離においてほぼ２０ミリワット／ｃｍ^{2}の放射線を生じるＥＰＲＯＭイレーザーから、ほぼ１時間）照射する。照射の後、アレイを放置し、イオン濃度のような化学的特性の測定で用いる前に、数時間にわたって安定化することができる。

【０３４４】

トラップされた電荷を低下させるための前記した技術の少なくとも１つを利用し、我々は、ゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を有するＦＥＴフローティングゲートを製造することができた。かくして、いくつかの実施形態において、本発明の態様は、ベースライン閾値電圧および、好ましくは、ゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を有する約４μｍ^2～約５０μｍ^{2}の表面積を有するフローティングゲートを含む。好ましくは、ＦＥＴはｃｈｅｍＦＥＴである。トラップされた電荷は、アレイを横切って、ＦＥＴからＦＥＴへの認識可能な変動を引き起こさないレベルまで維持すべきである。というのは、それはデバイスの動的レンジ、測定の一致を制限し、そうでなければ性能に悪影響するからである。

【０３４５】

図１３は、本開示の１つの実施形態に従った、図９～１２との関係で先に議論した列お

よび画素設計に基づく、ＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００の例示的なＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。この実施形態の１つの態様において、アレイ１００は、対応する列バイアス／読出回路110_1～110_{512}（図９に示すように、各列につき１つ）と共に、５１２の列102_1～102_{512}を含み、ここに、各列は、各々がほぼ９マイクロメートル×９マイクロメートルのサイズを有する５１２の幾何学的に四角の画素105_1～105_{512}を含む（すなわち、アレイは５１２列×５１２行である）。もう１つの態様において、（関連する行および列選択回路および列バイアス／読出回路と共に画素を含めた）全アレイを、ほぼ７ミリメートル×７ミリメートルの寸法を有する適用特異的集積回路（ＡＳＩＣ）として半導体ダイ上に製造することができる。５１２×５１２画素のアレイは図１３の実施形態に示されるが、アレイは、図１９～２３との関係で以下にさらに議論するように、他の実施形態に従った、異なる数の行および列ならびに異なる画素サイズで実施することができるのは認められるべきである。

【０３４６】

また、先に議論したように、本発明の種々の実施形態に従ったアレイは、慣用的なＣＭＯＳ製造技術、（例えば、不動態化材料のさらなる蒸着、トラップされた電荷を緩和するためのプロセス工程等のような、本明細書中で議論されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの種々の機能的態様の実現を容易とするための）修飾されたＣＭＯＳ製造技術、およびＣＭＯＳ製造で慣用的に使用されるものを超えた他の半導体製造技術に従って製造することができるのは認められるべきである。加えて、種々のリソグラフィー技術を、アレイ製造プロセスの一部として使用することができる。例えば、１つの例示的な実施において、リソグラフィー技術を使用することができ、そこでは、工程および反復リソグラフィー暴露のエッジを、ほぼ０.２マイクロメートルだけ、ウエハー基板上に重ねることによって、適当に設計されたブロックが一緒に「スティッチされる」。単一の暴露において、最大ダイサイズは、典型的には、ほぼ２１ミリメートル×２１ミリメートルである。異なるブロック（側、頂部＆底部、コア等）を選択的に暴露することによって、非常に大きなチップを、（極端には、通常「ウェハースケール取込」というウェハー当たり１つのチップの最大まで）ウェハーに規定することができる。

【０３４７】

図１３に示されるアレイ１００の１つの態様において、第１および最後の２つの列102_1、102_2、102_{511}および102_{512}、ならびに列102_3～102_{510}の各々の最初の２つの画素105_1および105_2および最後の２つの画素105_{511}および105_{512}（例えば、アレイの周辺の周りの画素の２つの行および列）は、「参照」または「ダミー」画素１０３として構成することができる。図１１Ａを参照し、アレイのダミー画素では、（ＩＳＦＥＴ多結晶シリコンゲート１６４に最終的にはカップリングされた）各ダミー画素のＩＳＦＥＴの最も頂部の金属層３０４は、他のダミー画素の同一金属層に結び付けられており、今度は、参照電圧ＶＲＥＦにカップリングすることができるチップの末端として接近可能とされる。図９との関係で先に議論したように、参照電圧ＶＲＥＦもまた、アレイの各列のバイアス／読出回路に適用することができる。以下にさらに議論されるいくつかの例示的実施において、オフセット決定（例えば、画素間および列間変動）およびアレイキャリブレーションを容易とするために、予備的試験／評価データは、参照電圧ＶＲＥＦの適用、およびダミー画素の選択および読出、および／または（例えば、ＣＡＬシグナルを介する）各列緩衝液へのＶＲＥＦの直接的適用に基づく列の読出に基づいて、アレイから獲得することができる。

【０３４８】

図１３に示されたのと同様なアレイのなおもう１つの実施において、５１２の列の最初および最後の２つの列、および参照画素としての５１２の画素の各列の最初および最後の２つの画素を維持するよりはむしろ、アレイは、アレイの合計サイズが、現実の画素の点において、５１６×５１６画素であるように、活性画素の５１２×５１２領域の周辺を囲う参照画素のさらなる２つの行／列を含むように製造することができる。種々のサイズおよび構成のアレイが本開示によって考えられるので、これまでの概念は本明細書中で議論

された他のアレイ実施形態のいずれにも適用できるのは認められるべきである。図１３に示された例示的アレイ１００に関して以下で直ちに議論する目的で、５１２×５１２画素のアレイについての合計画素カウントを考慮する。

【０３４９】

図１３において、（図９との関係で先に議論したように）アレイ操作に必要な種々の電力供給およびバイアス電圧が、電気的結合（例えば、ピン、金属パッド）を介してアレイに供され、「供給およびバイアス結合」とブロック１９５において単純性のために標識される。図１３のアレイ１００は、行選択シフトレジスター１９２、２つの組の列選択シフトレジスター$194_{1,2}$および２つの出力ドライバー198_1および198_2をやはり含んで、センサー測定（すなわち、アレイの各ＩＳＦＥＴによって生じた個々の出力シグナルのコレクション）を表す２つの平行アレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２を供する。図１３に示される、種々の電源およびバイアス電圧、行および列シフトレジスターのための制御シグナル、および列バイアス／読出回路のための制御シグナルは、アレイ１００からアレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２（および他の任意の状態／診断シグナル）をやはり読む、図１７との関係で以下にさらに議論される、アレイコントローラによって供される。図１３に示されるアレイ実施形態のもう１つの態様において、アレイの多数の領域（例えば、多数の列）が多数の平行アレイ出力シグナル（例えば、Ｖｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２）を介して同時に読み出すことができるようにアレイを構成することは、図１７および１８との関係で以下にさらに議論するように、増大したデータ獲得速度を促進する。図１３は１度に２つの列から同時にデータを獲得するための２つの列選択レジスタおよび平行アレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２を有するアレイを説明するが、他の実施形態においては、本開示に従ったアレイは、ただ１つの測定シグナル出力、または２を超える測定シグナル出力を有するように構成することができ；特に、図１９～２３との関係で以下にさらに議論するように、他の発明的実施形態に従ったより密なアレイは、４以上の平行測定シグナル出力を有し、アレイの異なる領域を同時に可能として、４以上の出力を介してデータを供するように構成することができるのは認められるべきである。

【０３５０】

図１４は行選択シフトレジスタ１９２を示し、図１５は列選択シフトレジスタ194_2の１つを示し、および図１６は、１つの例示的実施に従った、図１３に示されるアレイ１００の出力ドライバー198_2の１つを示す。図１４および１５に示されるように、行および列選択シフトレジスタは、デジタル回路陽性供給電圧ＶＤＤＤおよびデジタル供給アースＶＳＳＤにカップリングされたＤ－タイプのフリップ－フロップのシリーズとして実施される。行および列シフトレジスタにおいて、データシグナルは各シリーズにおいて第１のフリップ－フロップのＤ－入力に適用され、クロックシグナルは、同時に、シリーズ中のフリップ－フロップの全てのクロック入力に適用される。各フリップ－フロップについては、「Ｑ」出力は、クロックシグナルの変換（例えば、フォーリングエッジ）に際してＤ－入力の状態を再度生じる。図１４を参照し、行選択シフトレジスタ１９２は５１２のＤ－タイプのフリップ－フロップを含み、ここに、第１のフリップ－フロップ１９３は垂直データシグナルＤＶを受領し、および全てのフリップ－フロップは垂直クロックシグナルＣＶを受領する。第１のフリップ－フロップ１９３の「Ｑ」出力は、第１の行選択シグナル$RowSel_1$を供し、シリーズ中の次のフリップ－フロップのＤ－入力にカップリングされる。連続的フリップ－フロップのＱ出力はシリーズ中の次のフリップ－フロップのＤ－入力にカップリングされ、図１８との関連で以下にさらに議論するように、垂直クロックシグナルＣＶの連続的フォーリングエッジ変換と共に、行選択シグナル$RowSel_2$～$RowSel_{512}$を供する。最後の行選択シグナル$RowSel_{512}$もまた、アレイの最後の列が選択されている（例えば、診断目的での）表示を供するシグナルＬＳＴＶ（最終段階垂直）として、アレイ１００の任意の出力として採ることができる。図１４には明示的に示されていないが、核行選択シグナル$RowSel_1$～$RowSel_{512}$は、その出力を用いて、（シグナル

【数３０】

$\overline{\mathrm{RowSel}_1}$

から

【数３１】

$\overline{\mathrm{RowSel}_n}$

によって図９で説明されるように）各列における所与の画素を可能とする、対応するインバーターに適用される。

【０３５１】

列選択シフトレジスタ１９４$_1$および１９４$_2$に関して、これらは行選択シフトレジスタのそれと同様な方法で実施され、各列選択シフトレジスターは２５６のシリーズ－結合フリップ－フロップを含み、アレイの奇数列またはアレイの偶数列のいずれかからの読出を可能とすることを担う。例えば、図１５は列選択シフトレジスタ１９４$_2$を説明し、これは、列選択シグナルＣｏｌＳｅｌ$_2$、ＣｏｌＳｅｌ$_4$、．．．．ＣｏｌＳｅｌ$_{512}$を介して連続的なアレイの偶数の番号の列の全てからの読出を可能とするように構成され、他方、もう１つの列選択シフトレジスタ１９４$_1$は、（列選択シグナルＣｏｌＳｅｌ$_1$、ＣｏｌＳｅｌ$_3$、．．．．ＣｏｌＳｅｌ$_{511}$を介して）連続的なアレイの奇数番号の列の全てからの読出を可能とするように構成される。双方の列選択シフトレジスタは、水平方向データシグナルＤＨおよび水平方向クロックシグナルＣＨによって同時に制御されて、図１８との関係で以下にさらに議論されるように、各列選択シグナルを供する。図１５に示されるように、最後の列選択シグナルＣｏｌＳｅｌ$_{512}$もまた、アレイの最後の列が選択されている（例えば、診断目的の）表示を供する、シグナルＬＳＴＨ（最終段階水平）としてアレイ１００の任意の出力として採ることができる。

【０３５２】

図７に対する態様について再度参照し、出願人らは、図１３～１５に関連して先に議論したように、シフトレジスタに基づくアレイ行および列選択についての実施は、図７に示されたＭｉｌｇｒｅｗ　ｅｔ　ａｌ．の設計を含めた、種々の先行技術ＩＳＦＥＴアレイ設計で使用される行および列デコーダアプローチに対する有意な改良であることは認識し、認めてきた。特に、図７に示される行デコーダ９２および列デコーダ９４に関しては、集積回路アレイ設計においてこれらの構成要素を実施する複雑性は、双方のデコーダに対する新たな入力が必要なので、アレイのサイズが増大するにつれて劇的に増大する。例えば、図１３との関連で先に議論した５１２の行および列を有するアレイがもしそのようなスキームが行および列選択で使用されるならば、行および列デコーダ当たり９つの入力を必要とし（$2^9=512$）；同様に、７４００の行および７４００の列を有するアレイは、他の実施形態の関連で以下に議論するように、行および列デコーダ当たり１３の入力を必要とするであろう（$2^{13}=8192$）。対照的に、図１４および１５で示された行および列選択シフトレジスタは、さらなる入力シグナルを必要としない。というのは、アレイサイズは増大するが、むしろさらなるＤ－タイプは急変するからである（これは、ＣＭＯＳプロセスにおいてルーチン的に実施されている）。かくして、図１４および１５に示されたシフトレジスタ実施は、アレイの行および列選択に対して容易に拡張可能な解決を供する。

【０３５３】

図１３の実施形態において、「奇数の」列選択シフトレジスタ１９４$_1$は「奇数の」出力ドライバ１９８$_1$に対して奇数の列選択シグナルを供し、偶数の列選択シフトレジスタ１９４$_2$は、「偶数の」出力ドライバ１９８$_2$に偶数の列選択シグナルを供する。双方の出力ドライバは同様に構成され、偶数の出力ドライバ１９８$_2$の例を図１６に示す。特に、図１６は、各偶数列出力シグナルＶ$_{COL2}$、Ｖ$_{COL4}$、．．．ＶＣＯＬ$_{512}$（一

般的な列シグナル出力V_{COL_j}については図９参照）が、列選択レジスタ194_2によって供される偶数の列選択シグナル$ColSel_2$、$ColSel_4$、．．．$ColSel_{512}$に応答して、対応するスイッチ191_2、191_4、．．．．191_{512}に適用されて、バス１７５を介して、偶数の列出力シグナルをバッファー増幅器１９９（ＢＵＦ）の入力に連続的にカップリングさせることを示す。図１６において、バッファー増幅器１９９は、出力バッファー陽性供給電圧ＶＤＤＯおよび出力バッファー供給アースＶＳＳＯからのパワーを受領し、出力バッファーバイアス電圧ＶＢＯＯに応答して、バッファー出力のための対応するバイアス電流を設定する。バッファー増幅器１９９の高インピーダンス入力を仮定すれば、バイアス電圧ＶＢ３に応答性の電流シンク１９７はバス１７５にカップリングされて、選択された列の列出力バッファー（図９のバッファー増幅器１１１ｊ参照）の出力のために、（例えば、ほぼ１００μＡのオーダーの）適当な駆動電流を供する。バッファー増幅器１９９は、アレイの選択された偶数列に基づいて出力シグナルＶｏｕｔ２供し；同時に、図１３を参照し、「奇数の」出力ドライバ198_1の対応するバッファー増幅器は、アレイの選択された奇数の列に基づいて出力シグナルＶｏｕｔ１を供する。

【０３５４】

１つの例示的な実施において、偶数および奇数の双方の出力ドライバ198_1および198_2のスイッチ（例えば、図１６に示されたスイッチ191_2、191_4、．．．．191_{512}）は、（ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびp－チャネルＭＯＳＦＥＴを含む;図４参照）ＣＭＯＳ-対伝達ゲートとして実施することができ、およびインバーターは、各列選択シグナルおよびその相補体が所与の伝達ゲートスイッチ１９１に適用され、スイッチングを可能とできるように使用することができる。各スイッチ１９１は、可能とされるか、あるいは「オン」されて、対応する列出力シグナルをバス１７５にカップリングした場合に、一連の抵抗を有し；同様に、各スイッチは、スイッチがオフとされた場合に、キャパシタンスをバス１７５に加える。より大きなスイッチは一連の抵抗を低下させ、バス１７５のためのより高い駆動電流を可能とし、これは、一般に、バス１７５がより迅速に定着するのを可能とし；他方、より大きなスイッチは、スイッチがオフとされると、バス１７５のキャパシタンスを増大させ、これは、今度は、バス１７５の定着時間を増加させる。よって、スイッチのサイズに関連して、スイッチシリーズの抵抗およびキャパシタンスの間にはトレードオフがある。

【０３５５】

連続的スイッチを可能とした後に迅速に定着するバス１７５の能力は、今度は、アレイからの迅速なデータ獲得を容易とする。この目的で、いくつかの実施形態において、出力ドライバ198^1および198_2のスイッチ１９１は、特に、バス１７５の定着時間を有意に低下させるように構成される。所与のスイッチのｎ－チャネルおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴの双方はバス１７５のキャパシタンスに加わり；しかしながら、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴは、一般に、それらのｐ－チャネルのカウンターパートよりも良好な周波数応答および電流駆動能力を有する。これまでを考慮し、出願人らは、ｎ－チャネルのＭＯＳＦＥＴの優れた特徴のいくつかを開発して、「非対称」スイッチを行うことによってバス１７５の定着時間を改良することができることを認識し、認めてきたが、ここに、所与のスイッチのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴの各サイズは異なっている。

【０３５６】

例えば、１つの実施形態において、図１６を参照し、電流シンク１９７は、全てのスイッチ191_2、191_4、．．．．191_{512}が開かれるか、またはオフとされた場合（導電性でない）、バス１７５が正常に「引き下げられる」ように構成することができる。ＩＳＦＥＴ測定に基づく列出力シグナルについての幾分限定された予測されたシグナル動的レンジを仮定すれば、所与のスイッチが可能とされ、またはオン（導電性）とされれば、多くの例において、導電のほとんどがスイッチを構成するＣＭＯＳ－対のｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴによってなされる。従って、この実施形態の１つの態様において、各スイ

ッチ１９１のｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴは異なったサイズである；すなわち、１つの例示的な実施において、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴはｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴよりも有意に大きなサイズとされる。より具体的には、等しいサイズのｎ－チャネルおよびｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴを参照の点として考え、１つの実施において、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴがｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴよりもほぼ２０倍大きくなるように、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴを約２～２．５倍大きくまで増加させることができ、およびｐ－チャネルを約８～１０倍小さくなるようにサイズを減少させることができる。ｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴのサイズの有意な減少およびｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴのサイズの比較的中程度の増加のため、オフ状態におけるスイッチの総じてのキャパシタンスは顕著に低下し、バス１７５についてのキャパシタンスの対応する顕著な低下があり；同時に、より大きなｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴのため、スイッチの電流駆動能力、周波数応答およびトランスコンダクタンスの有意な増加があり、これは、今度は、バス１７５の定着時間の有意な低下をもたらす。

【０３５７】

前記例は、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴがｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴよりも大きな出力ドライバ198_1および198_2についての非対称スイッチ１９１を記載するが、もう１つの実施形態において、逆を実施することができ、すなわち、ｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴがｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴよりも大きな非対称スイッチである。この実施形態の１つの態様において、図１６を再度参照し、電流シンク１９７を別法として電流のソースとして働かせて、選択された列の列出力バッファー（図９のバッファー増幅器１１１ｊ参照）の出力を適切に駆動させることができ、全てのスイッチ191_2、191_4、．．．．191_{512}が開いているか、またはオフ（導電しない）であれば、バス１７５が正常に「引き上げられる」ように構成することができる。この状況において、スイッチ導電のほとんどは、スイッチを構成するＣＭＯＳの対のｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴによって達成することができる、低下したスイッチキャパシタンス（および、よって、低下したバスキャパシタンス）の利点はこの実施形態で実現することができるが、バス１７５についての低下した定着時間の総じての有益な効果は、ｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴと比較してｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴのより低い周波数応答のため、従前に記載されたものよりも幾分低いであろう。それにもかかわらず、より大きなｐ－チャネルＭＯＳＦＥＴに基づく非対称スイッチは、依然として、バス定着時間の顕著な低下を容易とすることができ、また、回路実施も提供することができ、そこでは、列出力バッファー増幅器（図９の１１１ｊ）は、認識可能な増大した利得でもって、本体に結び付けられたソースフォロワであり得る。

【０３５８】

図１６に示されたバス１７５の迅速な定着の促進に向けられたなおもう１つの実施形態において、バス１７５にカップリングされたより少ないスイッチ１９１の結果、より小さなバスキャパシタンスがもたらされることが認められるべきである。これを念頭に置き、再度図１３を参照し、なおもう１つの実施形態において、２を超える出力ドライバ198_1および198_2は、各出力ドライバがアレイのより少数の列を取り扱うように、ＩＳＦＥＴアレイ１００で使用することができる。例えば、１つのドライバによって取り扱われる全ての偶数の列、およびもう１つのドライバによって取り扱われる全ての偶数列を有するよりはむしろ、アレイは、各出力ドライバーが列の１／２よりはむしろアレイの１／４の合計列を取り扱うように、４つの列選択レジスタ$194_{1,2,3,4}$および４つの対応する出力ドライバ$198_{1,2,3,4}$を含むことができる。そのような実施において、各出力ドライバは、従って、図１６に関連して先に議論された実施形態と比較して半分の数のスイッチ１９１を有し、各出力ドライバのバス１７５は対応するより低いキャパシタンスを有し、それにより、バス定着時間を改良する。４つの出力ドライバがこの実施例での説明目的で議論されたが、本開示はこの点において限定されず、２よりも大きな実質的に任意の数の出力ドライバを用いて、先に記載されたシナリオにおいてバス定着時間を改良することもできる。２を超える出力ドライバを使用して、アレイからの迅速なデータ獲得を容易とする他のアレイ実施形態を、（例えば、図１９～２３との関連で）以下に詳

細に議論する。

【０３５９】

説明の目的で、バス１７５は、直前で議論した実施形態（例えば対称スイッチ、非対称スイッチ、より大きな数の出力ドライバ等）のいずれかにおいてほぼ５ｐＦ～２０ｐＦの範囲のキャパシタンスを有することができる。もちろん、バス１７５のキャパシタンスはこれらの例示的な値に制限されず、他のキャパシタンス値が本開示に従ったアレイの異なる実施で可能であることは認められるべきである。

【０３６０】

図１３～１６との関連で先に議論したアレイ設計の１つの態様において、別々のアナログ供給電圧連結（ＶＤＤＡ、ＶＳＳＡのため）、デジタル供給電圧結合（ＶＤＤD、ＶＳＳＤのため）、および出力バッファー供給電圧結合（ＶＤＤＤ、ＶＳＳＯのため）がアレイ上に供給されて、ノイズ単離を促進し、種々のアレイ構成要素の中でシグナルクロス－トークを低下させ、それにより、出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２のシグナル－対－ノイズ比率（ＳＮＲ）を増加させる。１つの例示的な実施において、陽性供給電圧ＶＤＤＡ、ＶＤＤＤおよびＶＤＤＯは、各々、ほぼ３．３ボルトとすることができる。もう１つの態様において、これらの電圧は、各々、図１７との関連で以下にさらに議論するように、１以上のプログラム可能な電圧ソースによって「オフチップ」にて供することができる。

【０３６１】

図１７は、本開示の１つの発明的実施形態に従った、アレイコントローラ２５０にカップリングされた図１３のセンサーアレイ１００のブロックダイアグラムを示す。種々の例示的な実施において、アレイコントローラ２５０は「独立型」コントローラとして、あるいは図８の関連で先に議論したように、コンピュータ２６０の一部を形成する１以上のコンピューター適合性「カード」として製造することができる。１つの態様において、アレイコントローラ－２５０の機能は、図１７に示されたように、界面ブロック２５２（例えば、ＵＳＢポートまたはＰＣＩバスを介するシリーズ界面、Ｅｔｈｅｒｎｅｔ（登録商標）結合等）を通じてコンピュータ２６０によって制御することができる。１つの実施形態において、アレイコントローラ２５０の全てまたは一部は１以上のプリント基板として製造され、アレイ１００は、慣用的なＩＣチップと同様に、プリント基板の１つへのプラグに構成される（例えば、アレイ１００は、プリント基板のゼロ－挿入－力または「ＺＩＦ」ソケットのようなチップソケットに差し込まれるＡＳＩＣとして構成される）。そのような実施形態の１つの態様において、ＡＳＩＣとして構成されたアレイ１００は、アレイコントローラ２５０によってアクセスでき／読むことができ、および／またはコンピュータ２６０へ通過させることができる図１７においては「ＩＤ」として示された、同定暗号を供するのに専念する１以上のピン／端子結合を含むことができる。そのような同定暗号はアレイ１００の種々の属性（例えば、画素のサイズ、数、出力シグナルの数、供給および／またはバイアス電流などのような種々の操作パラメータ）を表すことができ、これを処理して、アレイコントローラ２５０によって供された対応する操作モード、パラメータおよびまたはシグナルを決定して、アレイ１００の多数の異なるタイプのいずれかでの適当な操作を確実とすることができる。１つの例示的な実施において、ＡＳＩＣとして構成されたアレイ１００に同定暗号に専念させた３つのピンを設けることができ、製造プロセスの間に、ＡＳＩＣを暗号化して、アレイコントローラ２５０によって読まれるべきこれらの３つのピンの各々においての３つの可能な電圧状態（すなわち、トリ－状態ピン暗号化スキーム）の１つを供し、それにより、２７のユニークなアレイ同定暗号を供することができる。この実施形態のもう１つの態様において、アレイコントローラ２５０の全てまたは一部を、以下でさらに詳細に記載する種々のアレイコントローラ機能を実施するように構成された場プログラム可能ゲートアレイ（ＦＰＧＡ）として実施することができる。

【０３６２】

一般に、アレイコントローラ２５０は種々の供給電圧およびバイアス電圧をアレイ１００に供し、ならびに、行および列選択、画素出力サンプリングおよびデータ獲得に関する

種々のシグナルを供する。特に、アレイコントローラ２５０は、アレイ１００からの多重化各画素電圧シグナルを含めた、１以上のアナログ出力シグナル（例えば、Ｖｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２）を読み、次いで、これらの各画素シグナルをデジタル化して、コンピュータ２６０へ測定データを供し、コンピュータは、今度は、データを貯蔵しおよび/または処理することができる。いくつかの実施において、アレイコントローラ２５０は、図１１Ａとの関連で先に議論したように、種々のアレイキャリブレーションおよび診断機能、および任意のアレイＵＶ照射治療を行い、またはそれを促進するように構成することができる。

【０３６３】

図１７に示されたように、アレイコントローラ２５０は、一般に、アレイ１００に、アナログ供給電圧およびアース（ＶＤＤＡ、ＶＳＳＡ）、デジタル供給電圧およびアース（ＶＤＤＤ、ＶＳＳＤ）、およびバッファー出力供給電圧およびアース（ＶＤＤＯ、ＶＳＳＯ）を供する。１つの例示的な実施において、供給電圧ＶＤＤＡ、ＶＤＤＤおよびＶＤＤＯの各々はほぼ３．３ボルトである。もう１つの実施において、供給電圧ＶＤＤA、ＶＤＤＤおよびＶＤＤＯはほぼ１．８ボルトのように低くてもよい。先に議論したように、１つの態様において、これらの電力供給電圧の各々は、別々の導電経路を介してアレイ１００に供されて、ノイズ単離を促進する。もう１つの態様において、これらの供給電圧は、各電力供給／レギュレータに由来することができ、あるいはこれらの供給電圧の１以上はアレイコントローラ２５０の電力供給２５８における共通の源に由来することができる。電力供給２５８は、アレイ操作に必要な種々のバイアス電圧（例えば、ＶＢ１、ＶＢ２、ＶＢ３、ＶＢ４、ＶＢＯＯ、V_{BODY}）およびアレイ診断およびキャリブレーションで用いる参照電圧ＶＲＥＦを供することもできる。

【０３６４】

もう１つの態様において、電力供給２５８は、コンピュータ２６０によって制御され、バイアス電圧、参照電圧および供給電圧いずれかまたは全てがソフトウエア制御（すなわち、プログラム可能なバイアス設定）下で変化されるのを可能とすることができる１以上のデジタル－対－アナログコンバーター（ＤＡＣ）を含む。例えば、（例えば、ソフトウエア実行を介して）コンピュータ制御に応答性の電力供給２５８は、供給電圧の１以上の調整（例えば、同定暗号によって表わされるチップタイプに依存する３．３ボルトおよび１．８ボルトの間のスイッチング）およびまたは画素ドレイン電流のためのバイアス電圧ＶＢ１およびＶＢ２、列バス駆動のためのＶＢ３、列増幅器バンド幅のためのＶＢ４、および列出力バッファー電流駆動のためのＶＢＯＯの１以上の調整を促進することができる。いくつかの態様において、１以上のバイアス電圧を調整して、可能とされた画素からのシグナルの定着時間を最適化することができる。加えて、アレイの全てのＩＳＦＥＴについての共通の本体電圧V_{BODY}は、所望の製造後ＵＶ照射処理の間にアースして、トラップされた電荷を低下させ、次に、診断分析、キャリブレーション、および測定／データ獲得のためのアレイの通常の操作の間により高い電圧（例えば、ＶＤＤＡ）にカップリングさせることができる。同様に、参照電圧ＶＲＥＦを変化させ、種々の診断およびキャリブレーション機能を促進させることができる。

【０３６５】

また図１７に示すように、典型的には、分析物溶液との関連で使用して、（図１との関連で先に議論したように）アレイ１００によって測定される参照電極７６を電力供給２５８にカップリングして、画素出力電圧のための参照ポテンシャルを供することができる。例えば、１つの実施において、参照電極７６を供給アース（例えば、アナログアースＶＳＳＡ）にカップリングして、前記の方程式（３）に基づいて画素出力電圧のための参照を供することができる。他の例示的な実施において、参照電極電圧は、既知のｐＨレベルを有する注目する溶液／試料をセンサーアレイ１００に近接して置き、次いでアレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２が、それから画素電圧の引き続いての変化が既知の参照ｐＨレベルに関してｐＨの局所的変化を反映する、所望の参照レベルにおける画素電圧を供するまで参照電極電圧を調整することによって設定することができる。一般に、参照

電極７６に関連する電圧は、（種々のアレイ診断およびキャリブレーション機能で使用することができる）先に議論した参照電圧ＶＲＥＦと必ずしも同一である必要はないが、いくつかの実施においては、電力供給２５８によって供される参照電圧ＶＲＥＦを用いて、参照電極７６の電圧を設定することができるのは認められるべきである。

【０３６６】

アレイ１００からのデータ獲得に関しては、１つの実施形態において、図１７のアレイコントローラ２５０は１以上のプレ増幅器２５３を含んで、センサーアレイからの１以上の出力シグナル（例えば、Ｖｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２）をさらに緩衝し、選択可能利得を供することができる。１つの態様において、アレイコントローラ２５０は、各出力シグナルのための１つのプレ増幅器（例えば、２つのアナログ出力シグナルのための２つのプレ増幅器）を含むことができる。他の態様において、プレ増幅器は、０．０～１．８ボルト、または０．０～３．３ボルトの入力電圧を許容するように構成することができ、プログラム可能な／コンピュータ選択可能利得（例えば、１、２、５、１０および２０）および低いノイズ出力（例えば、＜１０ｎＶ／ｓｑｒｔＨｚ）を有することができ、および低いパスフィルタリング（例えば、５ＭＨzおよび２５ＭＨｚのバンド幅）を供することができる。ノイズの低下およびノイズに関するシグナルの比率の増加に関しては、アレイ１００がアレイコントローラ－２５０の全てまたは一部を含有するプリント基板のチップソケットに入れられたＡＳＩＣとして構成される１つの実施において、フィルタリングキャパシタをチップソケットに近接して（例えば、ＺＩＦソケットの下面）使用して、ノイズの低下を促進することができる。なおもう１つの態様において、プレ増幅器は入力および／または出力電圧シグナルのためのプログラム可能／コンピュータ選択可能オフセットを有して、いずれかの所望の範囲までのための公称レベルを設定することができる。

【０３６７】

図１７のアレイコントローラ２５０は、コンピュータ２６０にデータを供するために、センサーアレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２をデジタル出力（例えば、１０－ビットまたは１２－ビット）に変換するための１以上のアナログ-対-デジタルコンバータ２５４（ＡＤＣ）も含む。１つの態様において、１つのＡＤＣをセンサーアレイの各アナログ出力のために使用することができ、および各ＡＤＣを（もしプレ増幅器が所与の実施で使用されるならば）対応するプレ増幅器の出力にカップリングすることができる。もう１つの態様において、ＡＤＣはコンピューター選択可能入力レンジ（例えば、５０ｍＶ、２００ｍＶ、５００ｍＶ、１Ｖ）を有して、アレイ出力シグナルの異なる範囲および／またはプレ増幅器パラメータとの適合性を促進することができる。なお他の態様においては、ＡＤＣのバンド幅は６０ＭＨｚよりも大きくすることができ、データ獲得／変換率は２５ＭＨｚよりも大きく（例えば１００ＭＨｚ以上と高く）することができる。

【０３６８】

図１７の実施形態において、ＡＤＣ獲得タイミングおよびアレイの行および列選択はタイミングジェネレータ２５６によって制御することができる。特に、図９との関連で先に議論したように、該タイミングジェネレータはデジタル垂直データおよびクロックシグナル（ＤＶ,ＣＶ）を供して、行選択を制御し、デジタル垂直データおよびクロックシグナル（ＤＨ,ＣＨ）を供して、列選択を制御し、列試料およびホールドシグナルＣＯＬ　ＳＨを供して、可能となる行についての画素電圧をサンプリングする。図１８との関連で以下にさらに議論するように、また、該タイミングジェネレータ２５６は、サンプリングクロックシグナルＣＳをＡＤＣ　２５４に供して、所与のアレイアナログ出力シグナル（例えば、Ｖｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２）のデータストリームにおいて連続的画素値を適当にサンプリングし、デジタル化する。いくつかの実施において、該タイミングジェネレータ２５６は、マイクロプロセッサ実施暗号によって実施することができ、およびマルチ－チャネルデジタルパターンジェネレータとして構成して、適切なタイミングの制御シグナルを供することができる。１つの例示的な実施において、該タイミングジェネレータ２５６は、場－プログラム可能ゲートアレイ（ＦＰＧＡ）として実施することができる。

【０３６９】

図１８は、センサーアレイ１００からの画素データを獲得するための、タイミングジェネレータ２５６によって供されるような、種々のアレイ制御シグナルのための例示的なタイミングダイアグラムを示す。以下の議論の目的で、「フレーム」は、アレイにおける各画素についての値（例えば、画素出力シグナルまたは電圧V_S）を含むデータ組と定義され、および「フレーム速度」は、連続的フレームがアレイから獲得できる速度と定義される。かくして、フレーム速度は、いずれかの所与の画素からのデータは該フレーム速度で得られるので、アレイの各画素についての「画素サンプリング速度」に実質的に対応する。

【０３７０】

図１８の例において、２０フレーム／秒の例示的フレーム速度は、アレイの操作（すなわち、行および列選択およびシグナル獲得）を説明するために選択され；しかしながら、本開示に従ったアレイおよびアレイコントローラはこの点で制限されず、これはより低いフレーム速度（例えば、１～１０フレーム／秒）またはより高いフレーム速度（例えば、２５、３０、４０、５０、６０、７０～１００フレーム／秒等）を含めた異なるフレーム速度が可能であるからであることは認識されるべきであり、アレイは同一またはより多くの画素を有する。いくつかの例示的な適用において、数秒を超える多くのフレームを含んで、所与の分析物または複数分析物についての実験を行うデータ組を獲得することができる。いくつかのそのような実験は、連続的に、いくつかの場合においては、間に休みを入れて行って、データ移動／処理および／またはセンサーアレイＡＳＩＣの洗浄、および引き続いての実験のための試薬の調製を可能とすることができる。

【０３７１】

例えば、ＩＳＦＥＴ上方の反応ウェルにおける核酸合成または配列決定反応の間にアレイの所与のＩＳＦＥＴ画素の出力シグナルにおいて、１以上のイオンパルスが発生する、図８、８Ａおよび８Ｂに関連して先に議論したヌクレオチド取込みを検出する方法に関して、適当なフレーム速度を選択して、ＩＳＦＥＴの出力シグナルを十分にサンプリングして、１以上のパルス存在、およびパルスの間の時間間隔を有効に検出することができる。いくつかの例示的な実施において、ヌクレオチド取込事象の数に依存して、ほぼ１秒～ほぼ２．５秒のオーダーの半－最大における全幅（ＦＷＨＭ）、およびほぼ１～２０秒のオーダーの（もし多数のパルスが生じれば）連続的パルスピークの間の時間間隔を有する１以上のイオンパルスを生じさせることができる。これらの例示的な値を仮定すれば、２０Ｈｚのフレーム速度（または画素サンプリング速度）は、所与の画素の出力シグナルにおいて１以上のパルスを信頼性よく分解するのに十分である。再度、この例において与えられたパルスの特徴およびフレーム速度は、主として、説明の目的で供するものであり、および異なるパルス特徴およびフレーム速度が他の実施に関与してもよい。

【０３７２】

１つの実施において、アレイコントローラ２５０はアレイ１００を制御して、一度に１つを、連続的に、行を可能とする。例えば、態様のために再度図９を参照し、画素の最初の行を、行選択シグナル

【数３２】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_i}$$

を介して可能とする。可能とされた画素をいくらかな時間の間定着させ、その後、ＣＯＬ　ＳＨシグナルを簡単に活性として、各列において試料／ホールドスイッチを閉じ、列における最初の画素によって、列の試料/ホールドキャパシタC_{sh}に電圧値出力を貯蔵する。次いで、この電圧は、２つの（奇数および偶数列）アレイ出力ドライバ198_1および198_2の内の１つに印加された列出力電圧$V_{COL\,j}$として利用可能である（例えば、図１６参照）。次いで、ＣＯＬ　ＳＨシグナルを活性でなくし、それにより各列において試料／ホールドスイッチを開き、列増幅器１０７Ａおよび１０７Ｂからの列出力バッファー１１１ｊを脱カップリングする。その後まもなく、画素の第２の行を、行選択シグナ

ル
【数３３】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_2}$$

を介して可能とする。画素の第二の行を定着させる時間の間において、列選択シグナルを一度に２つ発生させて（１つの奇数および１つの偶数；奇数列選択シグナルは、連続的に、奇数出力ドライバに適用され、偶数列選択シグナルは、連続的に、偶数出力ドライバに適用される）、第１の行に関連する列出力電圧を読む。かくして、アレイ中の所与の行が可能とされ、定着している間、従前の行は一度に２つの列だけ読み出されている。（例えば、異なる垂直および平行クロックシグナルおよび列試料／ホールドを介して）行選択およびサンプリング／読出をスタガーさせ、次いで、所与の行について一度に多数の列を読むことによって、データのフレームを、有意にストリームライン化された様式でアレイから獲得することができる。

【０３７３】

図１８は、２０フレーム／秒の例示的なフレーム速度についてのこれまでのプロセスのタイミング詳細を示す。アレイにおけるこのフレーム速度および５１２行を仮定すれば、図１８において垂直描写によって示されるように、各行はほぼ９８マイクロ秒以内に読み出されなければならない。従って、垂直クロックシグナルＣＶは９８マイクロ秒の期間を有し（すなわち、１０ｋＨｚを超えるクロック周波数）、新しい行はＣＶシグナルのトレイリングエッジ（陰性変換）に可能とされる。図１８の左側は新しいフレームサイクルの開始を反映し、その時点において、垂直データシグナルＤＶはＣＶシグナルの最初のトレイリングエッジ前で活性とされ、ＣＶシグナルの次のトレイリングエッジの前に脱活性される（連続的フレームからのデータ獲得のためには、垂直データシグナルが、再度、行５１２が可能とされる後にのみ再度活性とされる）。また、ＣＶシグナル（すなわち、可能とされる新しい行）の、各トレイリングエッジの直前に、ＣＯＬ　ＳＨシグナルは２マイクロ秒の間活性とされ、ＣＶシグナルのトレイリングエッジのほぼ５０ナノ秒前に去る。

【０３７４】

図１８において、ＣＯＬ　ＳＨシグナルの最初の出現は、アレイの行５１２の画素値を現実にサンプリングしている。かくして、ＣＶシグナルの最初のトレイリングエッジに際して、最初の行は可能とされ、ＣＯＬ　ＳＨシグナルの第２の出現まで（ほぼ９６マイクロ秒の間）定着される。最初の行についてのこの定着時間の間に、行５１２の画素値が列選択シグナルを介して読み出される。２つの列選択シグナルが同時に生じて、５１２の列を読むゆえに、水平クロックシグナルＣＨはこの期間内に２５６サイクルを生じさせなければならず、ＣＨシグナルの各トレイリングエッジは１つの奇数および１つの偶数列選択シグナルを生じさせる。図１８に示されたように、所与の行におけるＣＨシグナルの最初のトレイリングエッジは、（ＣＯＬ　ＳＨシグナルの脱活性化後に）行の選択から２マイクロ秒後に起こるようなタイミングとされ、試料／ホールドキャパシタC_{sh}に貯蔵され、かつ列出力バッファーによって供される電圧値を可能とする。しかしながら、（例えば、図１８Ａとの関連で以下に議論するように）他の実施において、ＣＨシグナルの最初のトレイリングエッジおよびＣＯＬ　ＳＨシグナルのトレイリングエッジ（すなわち、脱活性化）の間の期間は２マイクロ秒よりも有意に短くてもよく、いくつかの場合においては、ちょうど５０ナノ秒を超えるくらい小さくてもよいことが認められるべきである。また、各行については、ＣＨシグナルの最初のトレイリングエッジ前に垂直データシグナルＤＨは活性とされ、ＣＨシグナルの次のトレイリングエッジ前に脱活性される。最後の２つの列（例えば、５１１および５１２）は、先に議論したように、次の行が可能とされるほぼ２マイクロ秒前に起こるＣＯＬ　ＳＨシグナルの出現前に選択される。かくして、５１２列はほぼ９４マイクロ秒の時間内に一度に２つ読まれる（すなわち、行当たり９８マイクロ秒、それから各行の始まりおよび最後において２マイクロ秒は引かれる）。この結果、ほぼ２．７ＭＨｚのアレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２の各々についての

データ速度がもたらされる。

【０３７５】

図１８Ａは、図１８のタイミングダイアグラムからわずかに修飾されたアレイ１００からのデータ獲得プロセスのもう１つのタイミングダイアグラムを示す。図１３に関連して先に議論したように、いくつかの実施においては、図１３に示されたの同様なアレイは、参照画素（すなわち、アレイの最初および最後の２つの行および列）の周辺によって囲まれた５１２×５１２「活性」画素の領域を含むように構成することができ、その結果、５１６×５１６画素の合計画素カウントを有するアレイがもたらされる。従って、２０フレーム/秒の例示的なフレーム速度およびアレイにおける５１６行を仮定すれば、図１８Ａにおける垂直描写によって示されるように、各行はほぼ９７マイクロ秒以内に読み出されなければならない。従って、垂直クロックシグナルＣＶは、９７マイクロ秒のわずかにより短い期間を有する。２つの列選択シグナルが同時に生じて、５１６列を読むゆえに、水平クロックシグナルＣＨは、図１８との関係で参照した２５６サイクルとは対照的に、この期間内に２５８サイクルを生じさせなければならない。従って、図１８Ａに示された１つの態様において、所与の行におけるＣＨシグナルの最初のトレイリングエッジは、ＣＯＬ　ＳＨシグナルのトレイリングエッジ（例えば、非活性化）から丁度５０ナノ秒を超えて起こるようなタイミングとされ、さらなる水平クロックサイクルを、垂直クロックシグナルＣＶの僅かにより短い期間に「絞る」。図１８におけるように、水平データシグナルＤＨは、ＣＨシグナルの第１のトレイリングエッジ前に活性とされ、それ自体、図１８と比較して、図１８Ａのタイミングダイアグラムにおいてもわずかに早く起こる。最後の２つの列（すなわち、図１８Ａにおいては「Ｒｅｆ３、４と標識される列５１５および５１６）は、先に議論されたように、次の行が可能とされるほぼ2マイクロ秒前に起こるＣＯＬＳＨシグナル出現前に選択される。かくして、５１６列はほぼ９５マイクロ秒の期間内に１度に2つ読まれる（すなわち、行当たり９７マイクロ秒から、各行の端における2マイクロ秒を差し引く、および各行の最初におけるのは無視できる時間）。この結果、図１８のタイミングダイアグラム、すなわち、ほぼ２．７ＭＨｚによって供されたアレイ出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２各々について実質的に同一のデータ速度をもたらす。

【０３７６】

図１７との関連で先に議論したように、タイミングジェネレータ２５６もまた、ＡＤＣ　２５４へとサンプリングクロックシグナルＣＳを生じさせ、所与のアレイ出力シグナルのデータストリームにおける連続的画素値を適当にサンプリングし、デジタル化する。１つの態様において、サンプリングクロックシグナルＣＳは、少なくとも１回、データストリームにおける所与の画素値のサンプリングを供する。サンプリングクロックシグナルＣＳは図１８および１８Ａのタイミングダイアグラムにおいては示されてないが、例示的実施においては、シグナルＣＳは水平クロックシグナルＣＨのタイミングを実質的に追跡することができ；特に、サンプリングクロックシグナルＣＳは水平クロックシグナルＣＨと連携して、ＣＨによって可能とされるべきデータストリームにおける次の画素値に直ぐに先立ってＡＤＣが画素値をサンプリングするのを可能とし、それにより、所与の画素値をサンプリングするに先立ってできるだけ多くのシグナル定着時間を可能とすることは認めることができる。例えば、ＡＤＣはＣＳの陽性変換に際して入力画素値をサンプリングするように構成することができ、ＣＳの各陽性変換は、タイミングジェネレータ２５６によって、ＣＨの各陰性変換に直ぐに先立って、またはいくつかの場合においては、それと実質的に同時に起こるようなタイミングとされ、可能とされるべきデータストリームにおける次の画素に丁度先立って所与の画素をサンプリングすることができる。もう１つの例示的実施において、ＡＤＣ　２５４はサンプリングクロックシグナルＣＳを介してタイミングジェネレータ２５６によって制御されて、有意に高い速度にて出力シグナルＶｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２をサンプリングして、各画素測定について多数のデジタル化された試料を供することができ、これは、次いで、平均化することができる（例えば、ＡＤＣデータ獲得速度はほぼ１００ＭＨｚとすることができて、２．７ＭＨｚアレイ出力シグナルをサ

ンプリングし、それにより画素測定当たりほぼ３５～４０試料と多くを供することができる）。

【０３７７】

１つの実施形態において、一旦画素値がＡＤＣ　２５４によってサンプリングされ、デジタル化されたならば、コンピュータ２６０は、アレイ１００およびアレイコントローラ２５０から得られた画素データを処理するようにプログラムされて、ある場合においては、所与のアレイ出力シグナルにおいて表わされた画素電圧においての十分な定着時間を超えることができる高いデータ獲得速度を促進することができる。高い獲得速度で獲得されたアレイの処理および修正のためにコンピュータ２６０によって実施することができる本発明の１つの実施形態に従った例示的な方法を説明するフローチャートは図１８Ｂに示される。本実施形態の種々の説明において、コンピュータ２６０は、アレイに対する参照または「ドライ」入力を用い（例えば、分析物は存在しない）、所与のアレイ出力シグナルにおける画素電圧についての十分な定着時間、ならびに認識可能に高い操作周波数においてのアレイ応答を最初に特徴付けるようにプログラムされる。この特徴付けは、高い操作周波数において、かつ測定されるべき分析物の存在下で、アレイから得られたデータに引き続いて適用される修正因子を駆動するための基礎を形成する。

【０３７８】

画素定着時間に関しては、再度、図１６を参照し、先に議論したように、所与のアレイ出力シグナル（例えば、図１６におけるＶｏｕｔ２）は、列選択スイッチ１９１の順次の操作から由来する一連の画素電圧値を含んで、バス１７５を介して各列電圧V_{COLj}をバッファー増幅器１９９に適用する（各列電圧V_{COLj}は、今度は、ＩＳＦＥＴソース電圧V_{Sj}の緩衝化されたバージョンを表す）。いくつかの実施において、２つの連続する画素の読みの間のアレイ出力シグナルにおける電圧変化ΔV_{PIX}は、（ＰＰ）によって与えられた指数プロセスとして特徴付けられるのが観察され、

【数３４】

$$\Delta V_{PIX}(t) = A(1-e^{-t/k}), \qquad (PP)$$

ここに、Ａは２つの画素電圧値の間の差（$V_{COLj}-V_{COLj-1}$）であって、ｋはバス１７５のキャパシタンスに関連する時定数である。図１８Ｃおよび１８Ｄは、例示的サンプリングクロックシグナルＣＳに対してプロットされた時間の関数としての出力シグナルにおける画素間変換を示す、所与のアレイ出力シグナルＶｏｕｔ（例えば、Ｖｏｕｔ１およびＶｏｕｔ２のうちの１つ）における例示的な画素電圧を示す。図１８Ｃにおいて、サンプリングクロックシグナルＣＳは期間５２４、およびＣＳ試料によって制御されるＡＤＣ、ＣＳの陽性変換に際しての画素電圧を有する（先に議論したように、１つの実施形態においては、ＣＳおよびＣＨは実質的に同一の期間を有する）。図１８Ｃは、その間において、電圧の差Ａとの間の、$\Delta V_{PIX}(t)$に対応する指数的電圧変換５２２が容易に観察することができる、２つの試料５２５Ａおよび５２５Ｂを示す。

【０３７９】

本議論の目的では、画素「定着時間」t_{settle}は、$\Delta V_{PIX}(t)$が、アレイ出力シグナルのピークノイズレベルと等しい量だけ、その最終値とは異なる値を獲得する時間ｔと定義される。もしアレイ出力シグナルのピークノイズレベルがn_pと示されるならば、定着時間t_{settle}における電圧はΔV_{PIX}（$t_{settle}=A[1-(n_p/A)]$によって与えられる。方程式（ＰＰ）に代入し、t_{settle}について解き、（ＱＱ）が得られる。

【数３５】

$$t_{settle} = -k \ln\left(\frac{n_p}{A}\right). \qquad (QQ)$$

図１８Ｄは、全定着を可能とするために十分に長い期間を有するサンプリングクロックシグナルＣＳを用い、差Ａを有する２つの画素電圧の間における単一電圧変換５２２についての画素定着時間t_{settle}（参照番号５２６）を概念的に示す。説明の目的でいくつかの例示的なパラメータを供すると、１つの実施においては、画素電圧変換についての最大範囲を表すＡについての最大値（例えば、最小および最大値における連続画素）はほぼ２５０ｍＶのオーダーにある。加えて、アレイ出力シグナルのピークノイズレベルn_pはほぼ１００μＶとして取られ、および時定数ｋは５ナノ秒としてとられる。これらの値は、ほぼ４０ナノ秒の例示的な定着時間t_{settle}を提供する。もしアレイ出力シグナルの最大データ速度が定着時間t_{settle}の逆数としてとられるならば、４０ナノ秒の定着時間は２５ＭＨｚの最大データ速度に対応する。他の実施において、Ａは２０ｍＶのオーダーであってよく、および時定数ｋは１５ナノ秒のオーダーであってよく、その結果ほぼ８０ナノ秒の定着時間t_{settle}および１２．５ＭＨｚの最大データ速度がもたらされる。先に示したｋの値は、一般に、ほぼ５ｐＦ～２０ｐＦの範囲においてバス１７５についてのキャパシタンスに対応する。これまでの値は主として説明の目的で供されたものであり、本発明の種々の実施形態はこれらの例示的な値に制限されず；特に、本発明の種々の実施形態に従ったアレイは、異なる画素定着時間t_{settle}（例えば、いくつかの場合には、４０ナノ秒未満）を有しても良いのは認められるべきである。

【０３８０】

先に示したように、１つの実施形態においては、画素データは、画素定着時間によって指令されるものを超えたデータ速度にてアレイから獲得することができる。図１８Ｂは、本開示の１つの発明的実施形態に従ったそのような方法についてのフローチャートを示す。図１８Ｂの方法において、十分に遅いクロック周波数が、アレイ出力シグナル当たりの得られたデータ速度が画素定着時間t_{settle}の逆数に等しいか、またはそれよりも低いように、シグナルＣＶ、ＣＨおよびＣＳについて選択されて、所与の出力シグナルにおいて画素間の十分に定着された画素電圧値を可能とする。図１８Ｂのブロック５０２において示されるように、これらのクロック周波数に関し、次いで、定着された画素電圧値が、分析物の不存在において（または参照分析物の存在下にて）全アレイについて獲得されて、該アレイについての第一の「ドライ」または参照データイメージを供する。図１８Ｂのブロック５０４において、最初のデータイメージを構成する各画素電圧については、画素の最後の電圧および対応する出力シグナルデータストリームにおける直ぐに先行する画素の最終電圧の間の転移値（すなわち、電圧差Ａ）が収集され、貯蔵される。アレイの全ての画素についてのこれらの転移値のコレクションは、最初の転移値データ組を供する。

【０３８１】

引き続いて、図１８Ｂのブロック５０６においては、シグナルＣＶ、ＣＨおよびＣＳについてのクロック周波数は、アレイ出力シグナル当たりの得られたデータ速度が、画素電圧値が十分に定着される速度（すなわち、定着時間t_{settle}の逆数よりも高いデータ速度）を超えるように増大させる。本議論の目的では、シグナルＣＶ、ＣＨおよびＣＳについてのそのような増大したクロック周波数のコレクションから得られたアレイ出力シグナルでのデータ速度は「過剰スピードデータ速度」と言われる。過剰スピードデータ速度に対応するクロック周波数を用いて、画素電圧値が、再度、分析物の不存在下において（または同一参照分析物の存在下において）全アレイについて得られて、該アレイについても第二の「ドライ」または参照データイメージを供する。図１８Ｂのブロック５０８において、過剰スピードデータ速度で得られた第二のデータイメージに基づく第二の転移値

データ組が計算され、第一のデータイメージについて前記したように貯蔵される。

【０３８２】

図１８Ｂのブロック５１０において、アレイの各画素についての修正因子は、第一および第二の転移値データ組に貯蔵された値に基づいて計算される。例えば、各画素についての修正因子は、最初の転移値データからのその転移値、および第二の転移値データ組からのその対応する転移値の比率として計算されて、（例えば、第一のデータ組からの転移値を第二のデータ組からの転移値で割ることができ、またはその逆もできる）、修正因子データ組が供され、次いで、これが貯蔵され得る。図１８Ｂのブロック５１２および５１４に示されるように、次いで、この修正因子データ組を使用して、測定すべき現実の分析物の存在下で、過剰スピードデータ速度に対応するクロック周波数で操作されるアレイから得られた画素データを処理することができ；特に、分析物の存在下で過剰スピードデータ速度にてアレイから得られたデータを、修正因子データ組によって適切には乗じ、または割って（例えば、対応する修正因子によって乗じ、または割られた各画素）、測定すべき所望の分析物特性（例えば、イオン濃度）の修正されたデータ代表を得ることができる。一旦、修正因子データ組が計算され、貯蔵されると、それを反復して用いて、過剰スピードデータ速度においてアレイから獲得されたデータの多数のフレームを修正することができるのは認められるべきである。

【０３８３】

センサーアレイおよびＡＤＣを制御することに加えて、タイミングジェネレータ２５６は、種々のアレイキャリブレーションおよび診断機能、ならびに任意のＵＶ照射処理を容易とするように構成することができる。この目的で、タイミングジェネレータは、アレイの最後の行およびシグナルＬＳＴＨの選択を示すシグナルＬＳＴＶを利用して、アレイの最後の列の選択を示すことができる。タイミングジェネレータ２５６は、参照電圧ＶＲＥＦを列バッファー増幅器に適用するＣＡＬシグナルを生じさせ、およびＵＶ照射プロセスの間にアレイにおけるすべてのＩＳＦＥＴのドレインをアースするＵＶシグナルを生じさせることを担うこともできる（図９参照）。タイミングジェネレータは、種々のキャリブレーションおよび診断機能、またはＵＶ照射の間に電力供給２５８上にいくらかの制御機能を供して、供給またはバイアス電圧を適切に制御することもでき、例えばＵＶ照射の間に、タイミングジェネレータは電力供給を制御し、ＵＶシグナルが活性化されてＩＳＦＥＴドレインをアースしつつ、本体電圧V_{BODY}をアースにカップリングさせることができる。アレイキャリブレーションおよび診断、ならびにＵＶ照射に関しては、いくつかの実施において、タイミングジェネレータは、コンピュータ２６０からの特殊化されたプログラムを受領して、適当な制御シグナルを供することができる。１つの態様において、コンピュータ２６０は、アレイの参照および/またはダミー画素、ならびにＣＡＬシグナルおよび参照電圧ＶＲＥＦの適用に基づく列情報から得られた種々のデータを用いて、所与のアレイに関連する種々のキャリブレーションパラメータを決定しおよび／またはキャリブレーションおよび診断機能のための特殊化されたプログラムを生じさせることができる。

【０３８４】

アレイコントローラ２５０のコンピュータインターフェイス２５２に関して、１つの例示的な実施において、該インターフェイスは、コンピュータ２６０に対するほぼ２００ＭＢ／秒のデータ速度を容易とするように構成され、および４００ＭＢ以上までの局所的貯蔵を含むことができる。コンピュータ２６０は、２００ＭＢ／秒の速度でデータを受領し、データを処理して、（例えば、モニター上の偽－色にて表示され得る）画素のイメージを再構築するように構成される。例えば、コンピュータは、Ｃ＋＋またはビジュアルベーシック（Ｖｉｓｕａｌ　Ｂａｓｉｃ）で書かれたルーチンについての一般的なプログラムを実施して、データを操作するように構成することができ、ディスプレイは所望のようにする。

【０３８５】

本明細書中に記載されたシステムは、配列決定で用いる場合、典型的には、ｃｈｅｍＦ

ＥＴアレイ支持反応チャンバーを含み、該ｃｈｅｍＦＥＴは、該ｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを配列決定情報に変換するロジックを実施することができるインターフェイスにカップリングされている。

【０３８６】

いくつかの実施形態において、本発明は、ＰＰｉまたはｄＮＴＰまたは双方とのイオン相互作用に関連するイオンパルスを決定するためのロジックを含む、ポリマー配列決定のロジック（好ましくはコンピュータ実行可能ロジック）を含む。典型的には、ロジックは、イオンパルスの特徴をポリマー配列決定情報に変換する。

【０３８７】

いくつかの実施形態において、本発明は、イオンパルス間の時間、または単一イオンパルスの特徴に基づいて核酸鋳型の配列を決定するためのロジックを含むロジック（好ましくは、コンピュータ実行可能ロジック）を含む。該ロジックは、所望により、さらに、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイ上のイオンパルスの空間的位置を決定するためのロジックを含むことができる。

【０３８８】

いくつかの実施形態において、本発明は、配列決定反応で利用されるべき特定のｄＮＴＰでかかる時間の持続に基づき、核酸鋳型の配列を決定するためのロジックを含むロジック（好ましくは、コンピュータ実行可能ロジック）を含む。典型的には、該ロジックは１以上のｃｈｅｍＦＥＴからのシグナルを受け取る。好ましくは、該配列は実質的にリアルタイムで表示される。

【０３８９】

いくつかの実施形態において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイからのイオンパルスを処理して、注目するポリマーの配列を決定するためのロジック（好ましくは、コンピュータ実行可能ロジック）を含む。該ロジックは、所望により、さらに、ファイル管理、ファイル貯蔵、および可視化のためのロジックを含んでもよい。また、該ロジックは、所望により、さらに、イオンパルスをヌクレオチド配列に変換するためのロジックを含んでもよい。好ましくは、該配列は実質的にリアルタイムで表示される。好ましくは、該配列は実質的にリアルタイムで表示される。

【０３９０】

システムから得られた配列決定情報は、パーソナルデジタルアシスタントのようなコンパクトな計算デバイスに送達することができる。かくして、１つの実施形態において、本発明は、コンパクトな計算デバイス上で生物の完全なゲノムを表示するためのロジックを含む。また、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴアレイからのデータをコンパクトな計算デバイスに送るのに適合したロジックも含む。そのようなロジックのいずれもコンピュータで実施できる。

【０３９１】

本開示に従った例示的なＩＳＦＥＴアレイおよびアレイコントローラのいくつかの態様を議論してきたが、図１９～２３は、なお他の発明的実施形態に従った、より多数の画素を有するＩＳＦＥＴセンサーアレイの代替ＣＭＯＳ　ＩＣチップ実施のブロックダイアグラムを示す。１つの態様において、図１９～２３に関連して以下にさらに議論するＩＳＦＥＴアレイの各々は、図１７で示されたのと同様な、いくつかの場合には、より多数の画素を収容するために些細な修飾（例えば、さらなるプレ増幅器２５３およびアナログ－対－デジタルコンバータ２５４）を施した、アレイコントローラによって制御することができる。

【０３９２】

図１９は、１つの発明的実施形態に従った、図９～１２に関連して先に議論した列および画素の設計に基づくＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００Ａ、および０．３５マイクロメートルＣＭＯＳ製造プロセスのブロックダイアグラムを示す。アレイ１００Ａは２０４８の列102_1～102_{2048}を含み、ここに、各列は、各々がほぼ９マイクロメートル×９マイクロメートルのサイズを有する、２０４８の幾何学的に四角形の画素105_1～１

０５$_{2048}$を含む。かくして、アレイは、４００万画素以上（＞４メガ画素）を含み１つの例示的な実施においては、完全なアレイ（ＩＳＦＥＴ画素および関連回路）は、ほぼ２０．５ミリメートル×２０．５ミリメートルの寸法を有する集積回路チップとして製造することができる。

【０３９３】

図１９に示された実施形態の１つの態様において、アレイ１００Ａは、少なくとも部分的には各々制御できる画素の多数のグループとして構成することができる。例えば、画素の各列は頂部および底部半体に分割することができ、列の各頂部半体における画素のコレクションは行の第一のグループ４００$_1$（例えば、頂部グループ、行１～１０２４）を形成し、列の各底部半体における画素のコレクションは行の第二のグループ４００$_2$（例えば、底部グループ、行１０２５～２０４８）を形成する。今度は、行の第一および第二（例えば、頂部および底部）のグループの各々は、対応する行選択レジスタ、列バイアス／読出回路、列選択レジスタ、および出力ドライバに関連する。このようにして、行４００$_1$および４００$_2$の第一および第二のグループの各々からの画素選択およびデータ獲得は、図１３に示された全アレイ１００からの画素選択およびデータ獲得と実質的に同様であり；異なって述べれば、１つの態様において、図１９のアレイ１００Ａは、異なる画素グループの２つの同時に制御された「サブ－アレイ」を実質的に含んで、より多数の画素からの有意にストリームライン化されたデータ獲得を供する。

【０３９４】

特に、図１９は、行の第一のグループ４００$_1$の行選択が、第１の行選択レジスタ１９２$_1$によって制御することができ、および行の第二のグループ４００$_2$の行選択は、第二の行選択レジスタ１９２$_2$によって制御することができるのを示す。１つの態様において、行選択レジスタ１９２$_1$および１９２$_2$の各々は、図１４との関連で先に議論したように構成して、垂直クロック（ＣＶ）および垂直データ（ＤＶ）シグナルを受領し、応答において行選択シグナルを生じるように構成することができ；例えば、第一の行選択レジスタ１２９$_1$は、シグナル

【数３６】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_1}$$

から

【数３７】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_{1024}}$$

を生じさせることができ、および第二の行選択レジスタ１９２$_2$は、シグナル

【数３８】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_{1025}}$$

から

【数３９】

$$\overline{\mathrm{RowSel}_{2048}}$$

を生じさせることができる。もう１つの態様において、行選択レジスタ１９２$_1$および１９２$_2$の双方は、アレイの２つの行が所与の時間において、頂部グループから１つ、底部グループからもう１つ、可能とされるように、共通の垂直クロックおよびデータシグナルを同時に受領することができる。

【０３９５】

行の第一および第二のグループの各々について、図１９のアレイ１００Ａは、さらに、各列が図９に示されるバイアス/読出回路１１０ｊの２つの例を含むように、（第一の行

グループ４００$_1$のための）列バイアス/読出回路１１０$_{1T}$～１１０$_{2048T}$、および（第二の行グループ４００$_2$のための）１１０$_{1B}$～１１０$_{2048B}$を含む。アレイ１００Ａは、第二の行グループ４００$_2$のための２つの列選択レジスタ１９２$_{1,2}$（奇数および偶数）および２つの出力ドライバ１９８$_{1,2}$（奇数および偶数）、および第一の行グループ４００$_1$のための２つの列選択レジスタ１９２$_{3,4}$（奇数および偶数）および２つの出力ドライバー１９８$_{3,4}$（奇数および偶数）を含む（すなわち、４つの列選択レジスタおよび４つの出力ドライバの合計）。列選択レジスタは、水平クロックシグナル（各々、第一の行グループおよび第二の行グループについてのＣＨＴおよびＣＨＢ、および水平データシグナル（各々、第１の行グループおよび第２の行グループのためのＤＨＴおよびＤＨＢ）を受領して、奇数および偶数の列選択を制御する。１つの実施において、ＣＨＴおよびＣＨＢシグナルは共通のシグナルとして供することができ、およびＤＨＴおよびＤＨＢは共通のシグナルとして供することができて、アレイからの１度に４つの列を同時に読出ことができ（すなわち、各行グループからの１つの奇数および１つの偶数列）；特に、図１３～１８との関連で先に議論したように、２つの列を、各可能にされた行、および２つの出力シグナルとして供された対応する画素電圧について同時に読出すことができる。かくして、いずれかの所与の時間における２つの行の実施化、およびいずれかの所与の時間における行当たり２つの列の読みを介して、アレイ１００Ａは、４つの同時出力シグナルＶout1、Ｖｏｕｔ２、Ｖｏｕｔ３およびＶｏｕｔ４を供することができる、

【０３９６】

完全なデータフレーム（第一および第二の行グループ４００１および４００２双方からの全ての画素）が２０フレーム／秒のフレーム速度で獲得される、図１９のアレイ１００Ａの１つの例示的な実施において、行１０２４対は、各々、ほぼ４９マイクロ秒の期間にて連続的に可能とされる。各可能とされた行については、ほぼ45マイクロ秒の間に各列選択レジスタ/出力ドライバによって1024画素が読まれて、（図１８との関連で先に議論されたように、各行の始めおよび終わりにおいて２マイクロ秒を可能とする）。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶout1、Ｖｏｕｔ２、Ｖｏｕｔ３およびＶｏｕｔ４の各々は、ほぼ２３ＭＨｚのデータ速度を有する。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶout1、Ｖｏｕｔ２、Ｖｏｕｔ３およびＶｏｕｔ４の各々は、ほぼ２３ＭＨｚのデータ速度を有する。再度、他の実施においては、データは、２０フレーム／秒以外のフレーム速度（例えば、５０～１００フレーム／秒）にて図１９のアレイ１００Ａから獲得することができる。

【０３９７】

図１３のアレイ１００と同様に、なお他の態様において、図１９のアレイ１００Ａは、アレイの周辺の周りにダミーまたは参照画素１０３の多数の行および列を含んで、予備的な試験／評価データ、オフセット決定および/またはアレイキャリブレーションを促進することができる。加えて、（図９との関連で先に議論されたように）アレイ操作で必要な種々の電力供給およびバイアス電圧が、図１３との関連で先に議論したのと同様な方法で、ブロック１９５におけるアレイ１００Ａに対して供される。

【０３９８】

図２０は、なおもう１つの発明的実施形態に従った、０．３５マイクロメートルＣＭＯＳ製造プロセスに基づく、かつ図１９において先に議論したアレイ１００Ａと実質的に同様な構成を有するＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００Ｂのブロックダイアグラムを示す。アレイ１００Ｂもまた、図９～１２に関連して、先に議論された列および画素設計に一般的には基づき、アレイ１００Ｂにおける画素のサイズ／ピッチは図１０に示された画素のそれよりも小さい。特に、図１０および１１を再度参照し、図１０に示された寸法「e」は、ほぼ9マイクロメートルからほぼ5マイクロメートルに、画素の中心領域に配置された活性画素構成要素の一体性に影響することなく、図２０の実施形態において、実質的に低下しており；同様に、図１０に示された寸法「ｆ」は、ほぼ7マイクロメートルからほぼ４マイクロメートルに低下している。異なって述べれば、活性構成要素を囲う画素の周辺

エリアのいくつかは、図１０および１１に示された画素の活性構成要素の頂面図および断面レイアウトおよび設計を阻害することなく、図１０との関連で与えられた寸法に対して実質的に低下している。そのような画素１０５Ａの頂面図は図２０Ａに示され、そこでは、寸法「e」は５．１マイクロメートルであって、寸法「ｆ」は４．１マイクロメートルである。この画素設計の１つの態様において、サイズの低下を容易とするためには、画素の全周囲の周りに数個の本体結合Ｂを含む、図１０に示された画素と比較して、より少ない本体結合Ｂを画素１０５Ａに含める（例えば、画素の各コーナーにおいて１つ）。

【０３９９】

図２０に示されたように、アレイ１００Ｂは１３４８の列102_1～102_{1348}を含み、ここに、各列は１１５２の幾何学的に四角形の画素$105A_1$～$105A_{1152}$を含み、各々は、ほぼ5マイクロメートル×５マイクロメートルのサイズを有する。かくして、アレイは１５０万を超える画素（＞１．５メガ画素）を含み、１つの例示的な実施において、完全なアレイ（ＩＳＦＥＴ画素および関連回路）は、ほぼ9ミリメートル×９ミリメートルの寸法を有する集積回路チップとして製造することができる。図１９のアレイ１００Ａと同様に、１つの態様において、図２０のアレイ１００Ｂは、図１９との関連で先に議論したように、行400_1および400_2の２つのグループに分割される。１つの例示的な実施において、完全なデータフレーム（第一および第二の行グループ400_1および400_2双方からの全ての画素）は５０フレーム／秒のフレーム速度で獲得され、それにより、行の５７６対が、各々、ほぼ３５マイクロ秒の期間で連続的に可能とされることを要求する。各可能とされた行については、ほぼ３１マイクロ秒の間に各列選択レジスタ/出力ドライバによって６７４画素が読まれて、（図１８との関連で先に議論されたように、各行の始めおよび終わりにおいて２マイクロ秒を可能とする）。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶout1、Ｖｏｕｔ２、Ｖｏｕｔ３およびＶｏｕｔ４の各々は、ほぼ２３ＭＨｚのデータ速度を有する。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶout1、Ｖｏｕｔ２、Ｖｏｕｔ３およびＶｏｕｔ４の各々は、ほぼ２３ＭＨｚのデータ速度を有する。再度、他の実施においては、データは、５０フレーム／秒以外のフレーム速度にて図２０のアレイ１００Ｂから獲得できるのは認められるべきである。

【０４００】

図２１は、なおもう１つの実施形態に従った、０．３５マイクロメートルＣＭＯＳ製造プロセスに基づいた、かつ図２０および２０Ａとの関連で先に議論したより小さな画素サイズ（５．１マイクロメートルの四角形画素）を取り込むＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００Ｃのブロックダイアグラムを示す。図２１に示すように、アレイ１００Ｃは４０００の列102_1～102_{4000}を含み、ここに、各列は、各々がほぼ5マイクロメートル×５マイクロメートルのサイズを有する、３６００の幾何学的に四角形の画素$105A_1$～$105A_{3600}$を含む。かくして、アレイは１４００万を超える画素（＞１４メガ画素）を含み、１つの例示的な実施においては、完全なアレイ（ＩＳＦＥＴ画素および関連回路）は、ほぼ２２ミリメートル×２２ミリメートルの寸法を有する集積回路チップとして製造することができる。図１９および２０のアレイ１００Ａおよび１００Ｂと同様に、１つの態様において、図２１のアレイ１００Ｃは行400_1および400_2の２つのグループに分割される。しかしながら、アレイ１００Ａおよび１００Ｂとは異なり、各行グループでは、アレイ１００Ｃは、１６の列選択レジスタおよび１６の出力ドライバを含んで、３２の出力シグナルＶｏｕｔ１～Ｖｏｕｔ３２がアレイ１００Ｃから供され得るように、可能とされた行において１度に１６の画素を同時に読む。１つの例示的な実施において、完全なデータフレーム（第一および第二の行グループ400_1および400_2双方からの全ての画素）は５０フレーム／秒のフレーム速度で獲得することができ、それにより、行の１８００対が、各々、ほぼ１１マイクロ秒の期間に連続的に可能とされるのを要求する。各可能とされた行では、ほぼ7マイクロ秒の間に各列選択レジスタ／出力ドライバによって２５０の画素（４０００／１６）が読まれ、（各行の最初および最後において２マイクロ秒を可能とする）。かくして、この例においては、アレイ読出シグナルＶｏｕｔ１～

Ｖｏｕｔ３２の各々はほぼ３５ＭＨｚのデータ速度を有する。従前の実施形態に関しては、他の実施においては、データは５０フレーム/秒以外のフレーム速度にてアレイ１００Ｃから獲得することができるのは認められるべきである。

【０４０１】

図１３～２１との関連で先に議論された例示的アレイは０．３５マイクロメートルの慣用的ＣＭＯＳ製造プロセスに基づくが、０．３５マイクロメートル未満の特徴サイズを有するＣＭＯＳ製造プロセスを使用して（例えば、０．１８マイクロメートルＣＭＯＳ加工技術）そのようなアレイを製造できるので、本開示に従ったアレイはこの点において制限されないことが認められるべきである。従って、５マイクロメートルよりも有意に小さい画素サイズ／ピッチを持つＩＳＦＥＴセンサーアレイを製造することができ、有意に密なＩＳＦＥＴアレイを供する。例えば、図２２および２３は、２．６マイクロメートルの画素サイズが達成される、０．１８マイクロメートルＣＭＯＳ製造プロセスに基づくなお他の実施形態に従ったＩＳＦＥＴセンサーアレイ１００Ｄおよび１００Ｅの各ブロックダイアグラムを示す。画素の設計それ自体は、０．１８マイクロメートルＣＭＯＳプロセスによるより小さなスケールに拘わらず、図２０Ａに示された画素１０５Ａに実質的には基づく。

【０４０２】

図２２のアレイ１００Ｄは２８００の列102_1～102_{2800}を含み、ここに、各列は、各々がほぼ２．６マイクロメートル×２．６マイクロメートルのサイズを有する、２４００の幾何学的に四角形の画素を含む。かくして、アレイは６５０万を超える画素（＞６．５メガ画素）を含み、１つの例示的な実施において、完全なアレイ（ＩＳＦＥＴ画素および関連回路）は、ほぼ９ミリメートル×９ミリメートルの寸法を有する集積回路チップとして製造することができる。図１９～２１のアレイ１００Ａ、１００Ｂおよび１００Ｃと同様に、１つの態様において、図２２のアレイ１００Ｄは行400_1および400_2の２つのグループに分割される。しかしながら、アレイ１００Ａ、１００Ｂ、および１００Ｃとは異なり、各行グループでは、アレイ１００Ｄは８つの列選択レジスタおよび８つの出力ドライバを含んで、１６の出力シグナルＶｏｕｔ１～Ｖｏｕｔ１６がアレイ１００Ｄから供され得るように、可能とされた行において１度に８つの画素を同時に読む。１つの例示的な実施において、完全なデータフレーム（第一および第二の行グループ400_1および400_2双方からの全ての画素）は５０フレーム／秒のフレーム速度で獲得することができ、それにより行の１２００対が、各々、ほぼ１６～１７マイクロ秒の期間で連続的に可能とされることを要求する。各可能とされた行では、ほぼ１４マイクロ秒の間に各列選択レジスタ／出力ドライバによって３５０画素（２８００／８）が読み出され、（各行の初めおよび最後において１～２マイクロ秒を可能とする）。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶｏｕｔ１～Ｖｏｕｔ１６の各々はほぼ約２５ＭＨｚのデータ速度を有する。従前の実施形態に関しては、他の実施においては、データは、５０フレーム／秒以外のフレーム速度にてアレイ１００Ｄから獲得することができるのは認められるべきである。

【０４０３】

図２３のアレイ１００Ｅは７４００の列102_1～102_{7400}を含み、ここに、各列は、各々がほぼ２．６マイクロメートル×２．６マイクロメートルのサイズを有する、７４００の幾何学的に四角形の画素を含む。かくして、アレイは５４００万を超える画素（＞５４メガ画素）を含み、１つの例示的な実施において、完全なアレイ（ＩＳＦＥＴ画素および関連回路）は、ほぼ２１ミリメートル×２１ミリメートルの寸法を有する集積回路チップとして製造することができる。図１９～２２のアレイ１００Ａ～１００Ｄと同様に、１つの態様において、図２３のアレイ１００Ｅは行400_1および400_2の２つのグループに分割される。しかしながら、アレイ１００Ａ～１００Ｄとは異なり、各行グループでは、アレイ１００Ｅは３２の列選択レジスタおよび３２の出力ドライバを含んで、６４の出力シグナルＶｏｕｔ１～Ｖｏｕｔ６４がアレイ１００Ｅから供され得るように、可能とされた行において１度に３２の画素を同時に読む。１つの例示的な実施において、

完全なデータフレーム（第一および第二の行グループ４００$_1$および４００$_2$双方からの全ての画素）は１００フレーム／秒のフレーム速度で獲得することができ、それにより、行の３７００対が、各々、ほぼ3マイクロ秒の期間に連続的に可能とされるのを要求する。各可能とされた行では、ほぼ７００ナノ秒の間に各列選択レジスタ／出力ドライバによって２３０の画素（７４００/32）が読み出される。かくして、この例においては、アレイ出力シグナルＶｏｕｔ１～Ｖｏｕｔ６４の各々はほぼ３２８ＭＨｚのデータ速度を有する。従前の実施形態に関しては、他の実施においては、データは、１００フレーム／秒以外のフレーム速度にてアレイ１００Ｄから獲得することができるのは認められるべきである。従前の実施形態に関しては、他の実施においては、データは、100フレーム／秒以外のフレーム速度にてアレイ１００Ｄから獲得することができるのは認められるべきである。

【０４０４】

かくして、本明細書中に開示された発明的概念に基づくＩＳＦＥＴアレイの種々の例において、ほぼ9マイクロメートルのアレイピッチ（例えば、１０マイクロメートル×１０マイクロメートル未満のセンサー表面エリア）は、関連行および列選択およびバイアス／読出エレクトロニクスと共に、２５６，０００を超える画素を含めたＩＳＦＥＴアレイ（すなわち、５１２×５１２アレイ）が、7ミリメートル×7ミリメートル半導体ダイ上に製造され、および４００万を超える画素を含めた同様なセンサーアレイ（すなわち、２０４８×２０４８アレイ、４メガを超える画素）が、２１ミリメートル×２１ミリメートルダイ上に製造させることを可能とする。他の例において、ほぼ5マイクロメートルのアレイピッチは、ほぼ１．５５メガの画素を含めたＩＳＦＥＴアレイ（すなわち、１３４８×１１５２アレイ）および関連エレクトロニクスが、9マイクロメートル×9マイクロメートルのダイ上に製造され、および１４メガを超える画素を含めたＩＳＦＥＴセンサーアレイ、および関連エレクトロニクスが２２ミリメートル×２２ミリメートルのダイ上で製造されることを可能とする。なお他の実施において、０.３５マイクロメートル未満の特徴サイズの可能なＣＭＯＳ製造プロセス（例えば、０．１８マイクロメートルＣＭＯＳ加工技術）を用い、5マイクロメートルよりも有意に小さな画素サイズ／ピッチを持つＩＳＦＥＴセンサーアレイを製造することができ（例えば、２．６マイクロメートルのアレイピッチ、あるいは8または9マイクロメートル^{2}未満の画素／センサーエリア）、有意に密なＩＳＦＥＴアレイを供する。

【０４０５】

先に議論したＩＳＦＥＴアレイの実施形態において、図９との関連で先に議論したように、アレイ画素はｐ－チャネルＩＳＦＥＴを使用する。しかしながら、本開示に従ったＩＳＦＥＴアレイはこの点において制限されず、および他の実施形態においては、ＩＳＦＥＴアレイについての画素設計はｎ－チャネルＩＳＦＥＴに基づくことができるのは認められるべきである。特に、図１３および１９～２３との関連で先に議論したアレイのいずれも、ｎ－チャネルＩＳＦＥＴに基づく画素で実施することができる。

【０４０６】

例えば、図２４は、本開示のもう1つの発明的実施形態に従った、ｎ－チャネルＩＳＦＥＴおよび伴うｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴで実施される図９の画素設計を示す。より具体的には、図２４は、ＩＳＦＥＴ　１５０（Ｑ１）がｎ－チャネルＩＳＦＥＴである、列バイアス／読出回路１１０ｊと共に、アレイ列の1つの例示的画素１０５$_1$（すなわち、列の最初の画素）を示す。図９の画素設計と同様に、図２４の画素設計は3つの構成要素、すなわち、ｎの行選択シグナル（ＲｏｗＳｅｌ$_1$～ＲｏｗＳｅｌ$_n$、ロジック高活性の内の1つに応答する、ＩＳＦＥＴ　１５０および2つのｎ－チャネルＭＯＳＦＥＴスイッチＱ２およびＱ３を含む。図２４の画素においては伝達ゲートは必要とされず、および画素の全てのデバイスは「同一タイプ」、すなわち、ｎ－チャネルデバイスのものである。また、図９の画素設計と同様に、画素当たり４のみのシグナルライン、すなわち、ライン１１２$_1$、１１４$_1$、１１６$_1$および１１８$_1$が、図２４に示された画素１０５$_1$の3つの構成要素を操作するのに必要とされる。他の点においては、図９および図２４の画素設計

は、それらが共に、一定のドレイン電流I_{Dj}および一定のドレイン－対－ソース電圧V_{DSj}にて構成されて、可能とされた画素から出力シグナルV_{Sj}を得る点で同様である。

【０４０７】

図２４のｎ－チャネルＩＳＦＥＴ画素設計および図９のｐ－チャネルＩＳＦＥＴ設計の間の主な差の１つは、画素を通っての電流の流れの反対方向である。この目的で、図２４においては、エレメント１０６$_j$は、アナログ回路供給電圧アースＶＳＳＡにカップリングされた制御可能な電流シンクであって、バイアス／読出回路１１０ｊのエレメント１０８$_j$は、アナログ正供給電圧ＶＤＤＡにカップリングされた制御可能な電流ソースである。加えて、ＩＳＦＥＴ　１５０の本体結合はそのソースに対してではなく、今度は、図２４に示されるようにアナログアースＶＳＳＡにカップリングされた、アレイの他のＩＳＦＥＴの本体結合にむしろ結びついている。

【０４０８】

（一定のＩＳＦＥＴドレイン電流および一定のＩＳＦＥＴドレイン-ソース電圧に基づく）図９および２４に示された画素設計に加えて、図２５～２７に示された、本開示のなお他の発明的実施形態に従った、ｐ－チャネルＩＳＦＥＴおよびｎ－チャネルＩＳＦＥＴ双方に基づく、代替画素設計がＩＳＦＥＴアレイについて考えられる。以下に議論するように、いくつかの代替画素設計は、アレイコントローラ２５０からのさらなるおよび／または修飾されたシグナルがデータ獲得を容易とすることを必要とするであろう。特に、図２５～２７に示された画素設計の共通の特徴は、アレイの各列についての試料およびホールドキャパシタに加えて、各画素それ自体内に試料およびホールドキャパシタを含む。図２５～２７の代替画素設計は、一般に、図９および２４の画素設計よりも多数の構成要素を含むが、画素試料およびホールドキャパシタの特徴はアレイの「スナップショップ」のタイプを可能とし、ここに、アレイの全ての画素は同時に可能とされて、完全なフレームをサンプリングし、およびアレイの各ＩＳＦＥＴに近接する１以上の分析物の測定を代表するシグナルを獲得することができる。いくつかの適用において、これは、より大きなデータ獲得スピードおよび／または改良されたシグナル感度（例えば、より高いシグナル対ノイズ比）を供することができる、

【０４０９】

図２５は、単一画素１０５Ｃおよび関連列回路１１０ｊについての１つのそのような代替設計を示す。画素１０５Ｃはｎ－チャネルＩＳＦＥＴを使用し、一般に、フィードバック増幅器に基づくＩＳＦＥＴ　Ｑ１を横切る一定電圧を供するという前提に基づく（Ｑ４、Ｑ５およびＱ６）。特に、トランジスタＱ４はフィードバック増幅器負荷を構成し、および増幅器電流は、（アレイコントローラによって供される）バイアス電圧ＶＢ１によって設定される。トランジスタＱ５は共通のゲート増幅器であって、トランジスタＱ６は共通のソース増幅器である。再度、フィードバック増幅器の目的は、トランジスタＱ３によって供給される電流を調整することによって、ＩＳＦＥＴ　Ｑ１定数を横切って電圧を保つことである。トランジスタＱ２は、（例えば、画素の非常に大きなアレイを過熱することからのダメージを防止するために）、ＩＳＦＥＴ　Ｑ１が描くことができる最大電流を制限する。この最大電流は、（アレイコントローラによってやはり供される）バイアス電圧ＶＢ２によって設定される。図２５に示された画素設計の１つの態様においては、バイアス電圧ＶＢ２を０ボルトに、およびバイアス電圧ＶＢ１を３．３ボルトに設定することによって、画素１０５Ｃへの電力はスイッチが切られ得る。このようにして、そのような画素の大きなアレイに供給される電力は変調され（短時間の間スイッチが入れられ、次いで、アレイコントローラによってスイッチが切られて）、同時に、アレイの総じての電力消費を低下しつつ、イオン濃度測定を得ることができる。画素に対する電力の変調は、アレイの熱の消散、および分析物溶液の潜在的加熱も低下させ、それにより、また、試料加熱からのいずれの潜在的に有害な効果も低下させる。

【０４１０】

図２５においてフィートバック増幅器（トランジスタＱ３のゲート）の出力は、ＭＯＳ

スイッチＱ７によってサンプリングされ、画素試料、および画素それ自体内のホールドキャパシタＣｓｈに貯蔵される。スイッチＱ７は画素試料およびホールドシグナルｐＳＨ（アレイコントローラによってアレイチップに供される）によって制御され、これは、同時にアレイの全ての画素に適用されて、全ての画素の読みをそれらの各試料およびホールドキャパシタに同時に貯蔵する。このようにして、図２５の画素設計に基づくアレイは、アレイの連続的行をサンプリングするよりはむしろ、データの全フレームがいずれかの所与の時間にサンプリングされる点で「スナップショット」アレイと考えることもできる。各画素値が対応する画素試料およびホールドキャパシタＣｓｈの上に貯蔵された後、各画素１０５Ｃ（ＩＳＦＥＴおよびフィードバック増幅器）は、自由に、もう１つのｐＨの読みを獲得し、あるいはそれのスイッチを切って、電力を保存することができる。

【０４１１】

図２５において、画素試料およびホールドキャパシタＣｓｈの全てに貯蔵された画素値は、行選択シグナル（例えば、ＲｏｗＳｅｌ１）に応答してトランジスタＱ９を介して可能とされる、ソースフォロアＱ８を通じて、一度に１行、列回路１１０ｊに適用される。特に、行が選択され、定着された後に、次いで、今度は、画素試料およびホールドキャパシタに貯蔵された値は、列試料およびホールドシグナルＣＯＬ　ＳＨによって可能とされ、かつ列出力シグナルV_{COLj}として供されるように、列試料およびホールドキャパシタＣｓｈ２に貯蔵される。

【０４１２】

図２６は、本開示の１つの実施形態に従った単一画素１０５Ｄおよび関連列回路１１０ｊについてのもう１つの代替設計を示す。この実施形態において、ＩＳＦＥＴはｐ－チャネルデバイスとして示される。データ獲得サイクルの出発において、シグナルｐＳＨ（画素試料／ホールド）およびｐＲＳＴ（画素リセット）によって制御されたＣＭＯＳスイッチは閉じられる（これらのシグナルはアレイコントローラによって供給される）。これはＩＳＦＥＴ（Ｑ１）のソースを電圧ＶＲＳＴまで引く。引き続いて、シグナルｐＲＳＴによって制御されるスイッチが開かれ、ＩＳＦＥＴ　Ｑ１のソースは画素試料およびホールドキャパシタＣｓｈを、ｐＨによって設定されるレベル未満の閾値まで引く。次いで、シグナルｐＳＨによって制御されたスイッチは開かれ、行選択シグナル$RowSel_1$に対して応答性のスイッチの操作を介して、画素出力値は列回路１１０ｊにカップリングされて、列出力シグナルV_{COLj}を供する。図２５に示された実施形態における画素設計と同様に、画素１０５Ｄに基づくアレイは、アレイの全ての画素が同時に操作できる点で、「スナップショット」タイプのアレイである。１つの態様において、この設計は、全ての画素についての長い同時組込み時間、続いてのデータの全フレームの高速読出を可能とする。

【０４１３】

図２７は、本開示の１つの実施形態に従った、単一の画素１０５Ｅおよび関連列回路１１０ｊについてのなおもう１つの代替設計を示す。この実施形態において、再度、ＩＳＦＥＴはｐ－チャネルデバイスとして示される。データ獲得サイクルの出発において、制御シグナルｐ１およびｐＲＳＴによって操作されるスイッチは簡単に閉じられる。これは、サンプリングキャパシタＣｓｈに貯蔵された値を明らかとし、電荷がＩＳＦＥＴ（Ｑ１）に貯蔵されるのを可能とする。引き続いて、シグナルｐＳＨによって制御されたスイッチが閉じられ、ＩＳＦＥＴ　Ｑ１に貯蔵された電荷が、画素試料およびホールドキャパシタＣｓｈに貯蔵されることを可能とする。次いで、シグナルｐＳＨによって制御されたスイッチは開かれ、行選択シグナル$RowSel_1$に対して応答性のスイッチの操作を介して、画素出力値は列回路１１０ｊにカップリングされて、列出力シグナルV_{COLj}を供する。次いで、シグナルｐＳＨによって制御されたスイッチは開かれ、行選択シグナル$RowSel_1$に対して応答性のスイッチの操作を介して、画素出力値は列回路１１０ｊにカップリングされて、列出力シグナルV_{COLj}を供する。利得は、Ｃｓｈキャップに対するＩＳＦＥＴキャパシタンスの比率を介して、すなわち、利得＝C_{Q1}／C_{sh}、あるいは画素を多数回可能とし（すなわち、分析物測定の多数の試料を採取し）、次いで、キャ

パシタを再度設定することなく、ＩＳＦＥＴ出力を画素試料およびホールドキャパシタＣｓｈに蓄積することによって（すなわち、利得は蓄積の数の関数である）、画素１０５Ｅに供することができる。図２５および２６の実施形態と同様に、画素１０５Ｄに基づくアレイは、アレイの全ての画素を同時に操作することができる点で、「スナップショット」タイプのアレイである。

【０４１４】

センサーの議論から転じ、ここで、我々は、ＩＳＦＥＴアレイと、マイクロウェルアレイおよび付随する流体との組合せに取り組む。マイクロウェルアレイ構造の図面のほとんどは、断面のみで、あるいは単純化されたダイアグラム中のブロックのみとしてのアレイを示して表示されるので、図２８Ａおよび２８Ｂは、三次元で得られた装置を可視化するために最初に読み手を援助するために掲げる。図２８Ａはアレイに配置された丸い円筒形ウェル２８１０のグループを示し、他方、図２８Ｂは、アレイに配置された矩形円筒形ウェル２８３０のグループを示す。ウェルは、ウェル壁を形成する材料２８４０によって相互から分離され（隔てられ）ていることが見られるであろう。他の断面のウェルを製造するのは確かに可能であるが、いくつかの実施形態においては、そうするのは有利でないであろう。マイクルウェルのそのようなアレイは、ウェル当たり１以上のＩＳＦＥＴを伴って、先に議論したＩＳＦＥＴアレイの上に存在する。引き続いての図面においては、マイクロウェルアレイが同定されると、これらのアレイの１つを描くことができる。

【０４１５】

多くの使用では、先に説明した高密度エレクトロニクスアレイを用いて化学反応または化学剤を検知するための系を完成するために、検知用の化学または生化学成分を含有する流体を（「画素」と呼ばれる）アレイエレメントに送達するための技術および装置が必要とされる。このセクションにおいては、望ましい特徴を伴う、そのような目的に有用な例示的技術および方法を説明する。

【０４１６】

系の高スピードの操作が望まれるのであろうから、流体送達系は、可能な限り、全系の操作のスピードを制限しないのが好ましい。

【０４１７】

従って、イオン濃度または他の化学的属性、または化学的属性の変化に感受性であるＩＳＦＥＴまたは他のエレメントの高スピードの高密度アレイに対するのみならず、アレイエレメントに、評価すべき試料を、十分に小さな反応容量で供給して、検知すべき変数の検出のスピードおよび質を実質的に高めるための関連メカニズムおよび技術に対して要望が存在する。

【０４１８】

対象化学試料のアレイエレメント：（１）試薬および洗浄流体の供給、および適当なバルビングおよび補助的装置のマクロ流体系、（２）フローセルおよび（３）多くの適用においては、マイクロウェルアレイへの送達に関与する、２つの、時々は、３つの構成要素またはサブ系、および関連方法がある。これらのサブ系の各々は、逆の方向であるが、議論する。

【０４１９】

他の個所で議論するように、ＤＮＡ配列決定におけるような多くの使用では、半導体センサーのアレイ上に、各マイクロウェルが、アレイ中の下にある画素が対応する出力シグナルを供する関係で、好ましくは唯１つのＤＮＡ－負荷ビーズを受け取るのに十分小さい、マイクロウェルの対応するアレイを設けるのが望ましい。

【０４２０】

そのようなマイクロウェルアレイの使用は、その各々を別々に議論する、製造および調製の３つの段階を含む：（１）マイクロウェルアレイ層を含むコーティングを有するチップをもたらすマイクロウェルのアレイの創成；（２）流体界面への、およびＤＮＡ配列決定の場合におけるコーティングされたチップの設置、（３）ＤＮＡ－負荷ビーズまたは複数ビーズのウェルへの負荷。もちろん、他の適用においては、ビーズは必要ないか、また

は異なる特徴を有するビーズを使用することができることが理解されるだろう。

【０４２１】

本明細書中に記載された系は、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイを含む半導体と一体化されたミクロ流体反応チャンバーのアレイを含むことができる。いくつかの実施形態においては、本発明は、そのようなアレイを含む。反応チャンバーは、例えば、ガラス、誘電性の、感光性またはエッチング可能な材料に形成することができる。ガラス材料は二酸化ケイ素であってよい。

【０４２２】

好ましくは、アレイは少なくとも１００，０００チャンバーを含む。好ましくは、各反応チャンバーは、約１：１以下のアスペクト比を有する水平方向幅および垂直方向深さを有する。好ましくは、反応チャンバーの間のピッチは、約１０ミクロン以下である。

【０４２３】

前記したアレイは、配列決定のためのキットに設けることもできる。かくして、いくつかの実施形態において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴのアレイと一体化されたミクロ流体反応チャンバーのアレイ、および１以上の増幅試薬を含むキットを含む。

【０４２４】

いくつかの実施形態において、本発明は、ｃｈｅｍＦＥＴの上にある誘電体層を含む配列決定装置を含み、該誘電体層は、ｃｈｅｍＦＥＴの頂部を横方向の中心とする窪みを有する。好ましくは、該誘電体層は二酸化ケイ素で形成される。

【０４２５】

マイクロウェル製造は、多数の方法で達成することができる。製造の現実の詳細はいくつかの実験を必要とし、利用可能な加工能力と共に変化し得る。

【０４２６】

一般に、マイクロウェルの高密度アレイの製造は、フォトレジスト（有機または無機）、誘電体のような材料の層または複数層上に、エッチングプロセスを用いて、ウェルアレイ形状をフォトリソグラフィーによりパターニングすることを含む。パターニングは、センサーアレイ上で該材料でなすことができるか、またはそれは別々に行い、次いで、２つのいくつかの組合せの、センサーアレイチップ上に移動することができる。しかしながら、フォトリソグラフィー以外の技術は、もしそれらが許容できる結果を供するならば排除されるべきではない。

【０４２７】

ここで、マイクロウェルアレイを形成する方法の１つの例を、図２９を参照して出発し、議論する。その図面は、ＣＭＯＳダイ２９１４上の個々のＩＳＦＥＴセンサー２９１２のアレイ２９１０を示すチップのレイアウトの１つのコーナー（すなわち、下方左側コーナー）の頂面図を模式的に描く。シグナルライン２９１６および２９１８を、アレイにアドレスし、およびその出力を読むために用いる。ブロック２９２０は、先に議論したように、アレイのためのエレクトロニクスのいくつかを表し、層２９２２は、以下により十分に説明するように、ミクロ流体構造、フローセルの一部となる壁の部分を表し；該フローセルは、もしマイクロウェル構造がなければ、マイクロウェルアレイ上に、または直接的にセンサー表面上に流体の流動を供するその構造である。該ダイの表面には、図２９の底部左側におけるパターン２９２２のようなパターンが、半導体加工の間に形成されて、誘電体がダイの表面をカバーする場合に、センサー画素上にウェルを位置させるための整列マークとして用いられる、ＩＳＦＥＴおよび関連回路を形成することができる。

【０４２８】

示されるように、半導体構造が形成された後、マイクロウェル構造がダイに適用される。すなわち、マイクロウェル構造はダイ上の右側に形成することができるか、あるいはそれは別々に形成し、次いで、ダイの上に設けることができ、いずれかのアプローチが許容できる。ダイ上にマイクロウェル構造を形成するためには、種々のプロセスを用いることができる。例えば、全ダイは、例えば、ＭｉｃｒｏｃｈｅｍのＳＵ－８　２０１５のようなネガティブフォトレジスト、またはＨＤ　Ｍｉｃｒｏｓｙｓｔｅｍｓ　ＨＤ８８２０の

ようなポジティブレジスト／ポリイミドで、マイクロウェルの所望の高さまでスピンコーティングすることができる。フォトレジスト層中のウェルの所望の高さ（例えば、一般的事項として制限されるものではないが、ウェル当たり１画素の例においては約４～１２μｍ）は、１以上の層において、（文献および製造業者の仕様を参照して、または経験的に見出すことができる）所定の速度で適当なレジストをスピニングすることによって達成することができる。（ウェルの高さは、典型的には、センサー画素の横方向寸法との対応性にて、好ましくは公称１：１～１．５：１の縦横比、高さ：幅または直径について選択することができる。ノイズに対するシグナルの考慮に基づき、性能の所望のレベルを達成するための、寸法および必要なデータサンプリング速度の間に関係がある。かくして、所与の適応のための最適なパラメータの選択に行ける多数の因子がある。）別法として、異なるフォトレジストの多数の層を適用することができるか、あるいは誘電体材料のもう１つの形態を蒸着することができる。化学気相蒸着の種々のタイプを用いて、その中でのマイクロウェル形成に適した材料の層を形成することができる。

【０４２９】

一旦フォトレジスト層（単数形の「層」は、同様に、集合体における多数の層を含むように用いられる）が所定の場所にあると、（典型的には、ウェル当たり４つのＩＳＦＥＴセンサーのいずれか１つを有するようにマッピングされた）個々のウェルは、（例えば、クロムの）マスクをレジストがコーティングされたダイの上に置き、該レジストを架橋（典型的には、ＵＶ）放射線に暴露することによって生じさせることができる。放射線に暴露された全てのレジスト（すなわち、ここで、マスクは放射線をブロックしない）は架橋された状態となり、その結果、チップ（ダイ）の表面に結合された永久的プラスチック層を形成する。未反応のレジスト（すなわち、光がレジストに到達するのをブロックし、架橋を妨げるマスクのため、暴露されないエリアにおけるレジスト）は、ポリエチレングリコールメチルエチルアセテート（ＰＧＭＥＡ）または他の適当な溶媒のような適当な溶媒（すなわち、展開液）中でチップを洗浄することによって除去される。得られた構造は、マイクロウェルのアレイの壁を規定する。

【０４３０】

図３０は、図２９に示されたダイの一部に対応する、ウェル当たり１センサーの実施形態のためのクロムマスク３０１０の一部についてのレイアウトの例を示す。灰色のエリア３０１２、３０１４はＵＶ放射線をブロックするものである。灰色のエリア３０１２内の、図３０の底部左側４分の１の白色部分３０１６中の整列マークは、ウェルのレイアウトを、チップ表面のＩＳＦＥＴセンサーと整列させるために用いられる。マスクの上方右側４分の１における円形３０１４のアレイは、放射線がウェルエリアに到達するのをブロックして、溶解することができる未反応レジストをウェルの形成に残す。

【０４３１】

図３１は、ウェル当たり４センサーの実施形態のためのマスク３０２０についての対応するレイアウトを示す。整列パターン３０１６は依然として用いられ、およびアレイ２９１０中の個々のウェル－マスキング円形３０１４Ａは、今や、ウェル当たり１センサーの代わりにウェル当たり４センサーを収容するための、図３０中のウェル３０１４として２倍の直径を有することに留意されたい。

【０４３２】

ＵＶ放射線へのダイ／レジストの暴露の後に、レジストの第二の層をチップの表面にコーティングしてもよい。レジストのこの層は、典型的には、約４００～４５０μｍ厚みのように比較的厚くてもよい。クロムのものであってもよい第二のマスク３２１０（図３２）を用いて、図３３に示すように、基板３３１２上のセンサーの活性アレイを囲うレジストのカラーまたは壁（地質学的意味のその用語を用い、、盆地）３３１０を形成するために、アレイを囲うエリア３３２０をマスクする。記載される特別な例において、カラーは、ｘ方向にてアレイの各側でセンサーアレイよりも１５０μｍ広く、ｙ方向にて、センサーアレイよりも各側で９μｍ広い。（ほとんど示されない）マスク３２１０上の整列マークは、第一の層およびＣＭＯＳチップそれ自体上の整列マークとマッチする。

【０４３３】
他のフォトリソグラフィーアプローチが、もちろん、マイクロウェルアレイの形成で用いることができ、これまでのは１つの例に過ぎない。
【０４３４】
例えば、種々のエッチャントおよび展開液での種々の分解能の接触リソグラフィーを使用することができる。有機および無機の双方の材料を、マイクロウェルが形成される層で用いることができる。層は、不動態化層のようなセンサーアレイ中の画素構造上に誘電体層を有するチップ上にエッチングすることができるか、層は別々に形成し、次いで、センサーアレイ上に適用することができる。具体的な選択またはプロセスは、アレイサイズ、ウェルサイズ、利用可能な製造施設、許容されるコスト等のような因子に依存する。
【０４３５】
マイクロウェル層を形成するためにいくつかの実施形態に用いることができる種々の有機材料の中には、ネガティブ－作用性フォトレジストの前記したＳＵ－８タイプ、慣用的なポジティブ－作用性フォトレジスト、およびポジティブ－作用性感光性ポリイミドがある。各々は、フォトリソグラフィー分野に精通した者によく知られたその利点およびその欠点を有する。
【０４３６】
当然、生産環境において、改変が適切であろう。
【０４３７】
接触リソグラフィーはその制限を有し、それはウェルの最高密度を生じさせる選択された生産方法ではなく、すなわち、それは横方向の制限を所望の最小ピッチよりも高く課すことができる。深ＵＶ工程および反復プロセスのような他の技術はより高い分解能のリソグラフィーを供することができ、それを用いて、小さなピッチおよび恐らくはより小さなウェル直径を生じさせることができる。もちろん、異なる所望の仕様（例えば、センサーの数およびチップ当たりのウェル）では、異なる技術は最適であることが証明されよう。そして、製造業者に利用可能な製造プロセスのような実用的な因子は、特異的製造の方法の使用を動機付けることができる。新規な方法を議論するが、本発明の種々の態様はこれらの新規な方法の使用に制限される。
【０４３８】
好ましくは、ＩＳＦＥＴアレイを伴うＣＭＯＳウェハーは、最終金属化プロセス後に平面化される。窒化ケイ素不動態化に先立った化学機械的誘電性平面化が適当である。これは、引き続いてのリソグラフィー工程が、裏側端部ＣＭＯＳトポグラフィーが関連しない非常に平坦な表面で行われるのを可能とするであろう。
【０４３９】
深－ＵＶ工程および反復リソグラフィー系を利用することによって、優れた分解能、登録、および反復可能性にて小さな特徴を分解するのが可能である。しかしながら、これらの系の高い分解能および大きな開口数（ＮＡ）は、それらが大きな深さの焦点を有するのを排除する。それ自体、そのような製造系を用いる場合、より薄いフォト規定可能スピン－オン層（すなわち、接触リソグラフィーで用いるより厚い層よりはむしろ１～２μｍのオーダーのレジスト）を用いて、下にある層または複数層に対してマイクロウェルの特徴をパターン移動し、次いで、エッチングする必要があろう。次いで、高分解能リソグラフィーを用いて、マイクロウェルの特徴をパターニングし、慣用的SiO_2エッチ化学を用いることができ－選択的エッチストップを有する、ボンドパッドエリアおよび、次いで、マイクロウェルエリアについて各々１つ；次いで、エッチストップは、各々、アルミニウムボンドパットおよび窒化ケイ素不動態化（等）上とすることができる。別法として、他の適当な代替パターン移動およびエッチプロセスを使用して、無機材料のマイクロウェルを供することができる。
【０４４０】
もう１つのアプローチは、有機材料においてマイクロウェル構造を形成することである。例えばデュアル－レジスト「ソフト－マスク」プロセスを使用することができ、それに

より、薄い高－分解能の深－ＵＶレジストを、より厚い有機材料（例えば、硬化されたポリイミドまたは反対－作用性レジスト）の頂部で用いる。頂部レジスト層をパターニングする。酸素プラズマ反応性イオンエッチプロセスを用い、パターンを移動させることができる。このプロセスの配列は、時々、「ポータブル的合成マスク」（ＰＣＭ）技術と言われる。Ｂ．Ｊ．Ｌｉｎ ｅｔ ａｌ．，「Ｐｒａｃｔｉｃｉｎｇ ｔｈｅ Ｎｏｖｏｌａｃ ｄｅｅｐ－ＵＶ ｐｏｒｔａｂｌｅ ｃｏｎｆｏｒｍａｂｌｅ ｍａｓｋｉｎｇ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ」，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｖａｃｕｕｍ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １９，Ｎｏ．４，１３１３－１３１９（１９８１）；およびＡ．Ｃｏｏｐｅｒ ｅｔ ａｌ，「Ｏｐｔｉｍｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｐｈｏｔｏｓｅｎｓｉｔｉｖｅ ｓｐｉｎ－ｏｎ ｄｉｅｌｅｃｔｒｉｃ ｐｒｏｃｅｓｓ ｆｏｒ ｃｏｐｐｅｒ ｉｎｄｕｃｔｏｒ ｃｏｉｌ ａｎｄ ｉｎｔｅｒｃｏｎｎｅｃｔ ｐｒｏｔｅｃｔｉｏｎ ｉｎ ＲＦ ＳｏＣ ｄｅｖｉｃｅｓ」参照。

【０４４１】

別法として、「ドリル－フォーカシング」技術を使用することができ、それにより、数回の順次の工程－および－反復暴露を異なる焦点深さで行って、厚いレジスト層をパターニングする場合に、高－分解能ステッパーの焦点の制限された深さ（ＤＯＦ）を補償する。この技術は、ステッパーＮＡおよびＤＯＦならびにレジスト材料のコントラスト特性に依存する。

【０４４２】

Ｅｄｗａｒｄｓ ｅｔ ａｌ．による米国特許出願公開第２００６／００７３４２２号に示されたようなもう１つのＰＣＭ技術をこれらの目的に適合させることができる。これは３－層ＰＣＭプロセスであって、これを図３３Ａに示す。そこに示されるように、基本的には、マイクロウェルアレイを製造するのに６つの主な工程が必要とされ、結果は、接触リソグラフィーが生じるであろうものとかなり同様である。

【０４４３】

最初の工程３３２０において、タイプＳｈｉｐｌｅｙ ＩｎｔｅｒＶｉａ Ｐｈｏｔｏ ｄｉｅｌｅｃｔｒｉｃ Ｍａｔｅｒｉａｌ ８０２１ （ＩＶ８０２１） ３３２２のような高コントラストネガティブ－作用性フォトレジストの層を、我々が（センサーアレイが製造される）図３３の基板３３１２を供するウェハーであると推定する、ウェハーの表面にスピンされ、ソフトベイク操作を行う。次に、工程３３２４において、ブロッキング抗－反射コーティング（ＢＡＲＣ）層３３２６を適用し、ソフトベイキングを行う。この構造の頂部に、薄いレジスト層３３２８をスピンし、ソフトベイキングを行い、工程３３３０、レジストの薄い層は微細な特徴規定に適している。次いで、レジスト層３３２８をパターニングし、暴露し、展開し、レジスト３３２８によってもはや保護されない暴露された領域３３２９中のＢＡＲＣを除去する、工程３３３２。これは、領域３３２９を未硬化ＩＶ８０２１層へと下方に開く。ＢＡＲＣ層は、今や、コンフォーマル接触マスクのように作用することができる。フラッディング暴露ツールでのブランケット暴露、工程３３３４、暴露されたＩＶ８０２１を架橋し、今や、これは３３２２における未硬化ＩＶ８０２１から区別されて示される。次いで、１以上の展開液工程３３３８が行われて、領域３３３６中の架橋されたＩＶ８０２１を除いて全てのものを除去する。領域３３３６は、今や、マイクロウェルの壁を構成する。

【０４４４】

先に示されたように、ウェルはＩＳＦＥＴの頂部不動態化層上にボトムアウト（すなわち、終了）されるが、（すなわち、シグナル対ノイズ比のような）ＩＳＦＥＴセンサー性能の改良が、もし活性ビーズがＩＳＦＥＴ不動態化層からわずかに上昇して維持されるならば、得ることができる。それを行う１つの方法は、スペーサー「バンプ」を画素マイクロウェルの境界内に置くことである。これがどのようにして行われるかの例は、別々の層を蒸着し、リソグラフィーにより規定し、エッチングして「バンプ」を形成することによって、一旦マイクロウェルが完了すれば、バンプのための永久的フォト－規定可能材料を用いることによって、またはマイクロウェルを形成するのに先立ってバンプを形成するこ

とによって、マイクロウェル構造を形成するのに層－または－複数の層の一部をエッチングにより除去するのではない（すなわち、マイクロウェルを形成するための２つのリソグラフィー工程－１つの１部をエッチングするためのものであり、他方はバンプをパターニングし、該エッチを仕上げてボトムアウトするためのもの）。バンプ特徴は図３３Ｂ中に３３５０として示される。別法としての（またはさらなる）非－一体化アプローチは、ウェルに、ＤＮＡ－担持ビーズを負荷する前に層または非常に小さなパッキングビーズ２つを負荷するものである。

【０４４５】

マイクロウェル形成のためのSiO_2－様層としてのテトラ－メチルーオルト－シリケート（ＴＥＯＳ）の６μｍ（ミクロン）の厚みの層を用い、図３３Ｂ－１は、本明細書中に教示されるアレイアーキテクチャーの部分３３００Ａの断面の走査型電子顕微鏡（ＳＥＭ）像を示す。マイクロウェル３３０２Ａは、ＴＥＯＳ層３３０４Ａに形成される。ウェルは、約４ｕｍだけ６ｕｍ厚みの層内に延びる。典型的には、例えば、酸化物、有機材料、またはエッチ－ストッピング使用のための半導体加工で知られた他の適当な材料であってよいエッチ－ストップ材料の底に突き当たる。エッチストップ材料の薄い層は、ウェル底部、および延長されたゲート電極３００８Ａがアレイ中の各下にあるＩＳＦＥＴについて形成されるチップのＭｅｔａｌ４（Ｍ４）層の間に約２ｕｍのエッチストップ＋ポリイミドがあるように、ポリイミドのより厚い層または他の適当な誘電体の頂部に形成することができる。側面に標識されるように、より低いレベルの相互結合および構造を形成するＣＭＯＳ金属化層Ｍ３、Ｍ２およびＭ１が示され、ＩＳＦＥＴチャネルは矢印３３１０Ａによって示されるエリアに形成される。

【０４４６】

（頂部から下を見る）直交断面図において、ウェルは丸いまたは四角い形状いずれかで形成することができる。丸いウェルはビーズ捕獲を改良することができ、ウェルの底部または頂部においてビーズをパッキングする必要性を解消することができる。

【０４４７】

マイクロウェルの側面に対するテーパーを付した傾きを用いて、有利とすることもできる。図３３Ｂ－２を参照し、もしビーズ３３２０Ａがウェルを横切った底部スパンよりも大きな直径を有するが、ウェルのマウスに嵌合するのに十分小さいならば、ビーズは、幾何学的拘束のためウェルの底部から空間的に離されるであろう。例えば、図３３Ｂ－２は、３．８ｕｍ直径のビーズ３３２０Ａが負荷された側面４ｕｍにて、頂部から見た断面が四角形であるマイクロウェルの例を示す。実験的に、かついくらか計算すると、適当なビーズのサイズおよびウェル寸法の組合せを決定することができる。図３３Ｂ－３は、明らかに、相対的に小さく、かつウェルの底までずっと下る、２．８ｕｍ直径のビーズ３３２２Ａ；ウェルの側壁テーパーによって底部に到達することが停止された４．０ｕｍ直径のビーズ３３２４Ａ；およびビーズ３３２８Ａをパッキングすることによってウェル底部から間隔が設けられた３．６ｕｍ直径の中間サイズのビーズ３３２６Ａが負荷された１つの４ｕｍウェルの一部を示す。明らかに、ビーズのサイズは、マイクロウェルのエッチテーパーに注意深くマッチさせなければならない。

【０４４８】

かくして、マイクロウェルは、必要な厚み、（例えば、４～１０ｕｍ)を供することができるいずれかの高縦横比のフォト－規定可能なまたはエッチング可能な薄い－フィルムプロセスによって製造することができる。適当であると考えられる材料の中には、感光性ポリマー、蒸着された二酸化ケイ素、例えば、プラズマエッチングプロセスなどを用いてエッチングすることができる非－感光性ポリマーがある。二酸化ケイ素ファミリーにおいては、ＴＥＯＳおよびシラン一酸化窒素（ＳＩＬＯＸ）は適当なように見える。最終の構造は、標的生物学または化学を異なって反応させることができる表面組成が異なって存在する種々の材料を除いて同様である。

【０４４９】

マイクロウェル層が形成されると、エッチングプロセスが望むよりもさらに進まないよ

うに、エッチストップ層を設けることが必要であろう。例えば、低－Ｋ誘電体のような、維持されるべき下の層があってよい。エッチストップ材料は、適用に従って選択されるべきである。ＳｉＣおよびＳｉＮ材料は適当であってよいが、それは、代わりに、他の材料を使用することができないことを示すことは意味しない。これらのエッチ－ストップ材料は、ゼロ電荷の適当な点（ＰＺＣ）を有するようにエッチ-ストップ材料を選択することによりＩＳＦＥＴセンサー感受性を駆動する表面化学をまた強調する役目を果たす。種々の金属酸化物は、二酸化ケイ素および窒化ケイ素に加えて適当であろう。

【０４５０】

種々の金属酸化物のためのＰＺＣは、Ｊ．Ｆｉｅｒｒｏによる「Ｍｅｔａｌ　Ｏｘｉｄｅｓ－Ｃｈｅｍｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」のような種々のテキスト中で見出すことができる。我々がAl_2O_3のＰＺＣが用いられるｐＨ（すなわち、約８，８）において右であって、よって、ゼロ電荷の点において右であるゆえに、Ta_2O_5はAl_2O_3よりもエッチストップとして好ましいであろうことを学習した。加えて、Ta_2O_5は、センサー性能においてもう１つの重要な因子であるｐＨに対するより高い感度（すなわち、ｍＶ／ｐＨ）を有する。これらのパラメータの最適化は、不動態化表面材料の思慮深い選択を必要とするであろう。

【０４５１】

この目的での（すなわち、エッチストップ層としての）薄い金属酸化物の材料の使用は、それらがかなり薄く蒸着される（典型的には、２００～５００Ａ）という事実のため困難である。ポスト－マイクロウェル製造金属酸化物蒸着技術は、適当なＰＺＣ金属酸化物フィルムを、高い縦横比のマイクロウェルの底部に置くことを可能とし得る。

【０４５２】

（ａ）反応スパッタリングされた酸化タンタル、（ｂ）非－反応性化学量論的酸化タンタル、（ｃ）酸化タングステン、または（ｄ）酸化バナジウムの電子線蒸着は、蒸着プロセスの優れた方向性のため、優れた「ダウン－イン－ウェル」被覆を有することが判明するであろう。

【０４５３】

アレイは、典型的には、その各々が１以上のｃｈｅｍＦＥＴセンサーにカップリングされた少なくとも１００のミクロ流体ウェルを含む。好ましくは、ウェルは、ガラス（例えば、SiO_2）、ポリマー材料、感光性材料または反応性イオンエッチング可能の薄いフィルム材料の少なくとも１つに形成される。好ましくは、ウェルは、１：１未満の高さに対する幅の比率を有する。好ましくは、センサーは電界効果トランジスタ、より好ましくはｃｈｅｍＦＥＴである。ｃｈｅｍＦＥＴは、所望により、ＰＰi受容体にカップリングしていてもよい。好ましくは、ｃｈｅｍＦＥＴの各々は、10^2ミクロン以下のアレイのエリアを占める。

【０４５４】

いくつかの実施形態において、本発明は、そこで反応チャンバーが形成される、ガラス（例えば、SiO_2）、高分子の感光性または反応性イオンエッチング可能材料のような誘電体層にカップリングされた半導体ウエハーデバイスを含む配列決定デバイスを含む。典型的には、該ガラス、誘電体、高分子の感光性または反応性のイオンエッチング可能材料は、半導体ウェハー層と一体化される。いくつかの例において、該ガラス、高分子の感光性または反応性エッチング可能層は非－結晶性である。いくつかの場合において、ガラスはSiO_2であってよい。デバイスは、所望により、さらに、ポリマー材料、好ましくは、射出成形材料のような適当な材料の流体送達モジュールを含むことができる。より好ましくは、ポリマー層は、ポリカーボネートである。

【０４５５】

いくつかの実施形態において、本発明は：フォトリソグラフィーを用い、トランジスタのアレイの頂部にガラス、誘電体、感光性または反応性イオンエッチング可能材料中にウェルを生成させることを含む、配列決定デバイスを製造する方法を含む。

【０４５６】

試料中のＤＮＡを配列決定するためのマイクロウェルのアレイと組合せたチップ上のセンサーのアレイのアセンブリを用いるプロセスを、「実験」という。実験の実行は、ウェルにＤＮＡ－結合ビーズを負荷すること、およびウェルを横切ってのいくつかの異なる流体溶液（すなわち、試薬および洗浄液）の流動を必要とする。流体界面とカップリグされた流体送達系（例えば、バルブ、導管、圧力源など）が必要であり、これは、供用可能に小さなデッドボリューム、および順次の溶液の間の小さな交差汚染を伴う、制御された均一な流れ中のウェルを横切って種々の溶液を流す。理想的には、（時々、「フローセル」といわれる）チップへの流体界面は、流体を同時に全てのマイクロウェルに到達させるであろう。アレイスピードを最大化するためには、アレイ出力は可能な限り同一時間近くに利用可能であることが必要である。理想は明らかに可能でないが、種々のウェルにおいて導入された流体の到着回数の差またはスキューを最小化して、アレイからの全てのシグナルの総じての獲得スピードを最大化するのが望ましい。

【０４５７】

多くの構成のフローセル設計が可能であり；かくして、本明細書中で提供する系および方法は、特異的フローセル構成の使用に依存しない。しかしながら、適当なフローセルが目的の以下の組に実質的に適合するのが望ましい：例えば、適当なサイズのチューブを介して、流体送達系と相互結合するのに適した結合を有すること；ウェル上方に適当なヘッドスペースを有すること；流体が遭遇するデッドボリュームを最小化すること；流体と接触しているが、フローセルを通っての洗浄流体の流動によって迅速には奇麗に掃除されない小さな空間を最小化して（交差汚染を最小化すること）；アレイ上の流動の均一な通過時間を達成されるように構成されていること；ウェル上の流動中に最小の泡を発生させまたは増やすこと；流動チャンバーの内側、またはそれにできるだけ近い除去可能な参照電極の設置に適合すること；ビーズの容易な負荷を促進すること；許容できるコストで製造可能なこと；および容易に組み立てられ、チップパッケージに付着されること。

これらの基準の満足は、可能な限り、積極的に系の性能に貢献するであろう。例えば、泡の最小化は、アレイからのシグナルが、誤ったノイズであるよりもむしろウェル中の反応を真に示すように重要である。

【０４５８】

いくつかの例の設計の各々を議論し、これらの基準を異なった方法かつ程度で満足させる。各場合においては、典型的には、２つの方法：フローセルをフレームに付着させ、フレームをチップに接着させる（またはそうでなければそれを付着させる）ことによって、あるいはフレームをフローセルの構造に一体化させ、この統合されたアセンブリをチップに付着させることによって；の内の１つで設計を選択して実施することができる。さらに、設計は、参照電極を配置に一体化させることによって、カテゴリー化することができる。設計に依存して、参照電極はフローセルに一体化させ（例えば、流動チャンバーの天井の一部を形成し）、または（典型的には、センサーアレイ後に、出口に、または流路の下流側へ）流路中に入れることができる。

【０４５９】

そのような流体界面を一体化させる適当な実験装置３４１０の最初の例は、図３４～３７に示され、その製造および構築は以下により詳細に議論されるであろう。

【０４６０】

装置は、ウェルおよびセンサーのアレイが形成される（隠れているが、一般的には示される）半導体チップ３４１２およびチップの頂部の、読むために試料をチップに送達する流体アセンブリ３４１４を含む。流体アセンブリは試料を含有する流体を導入するための部分３４１６、流体がパイプを通って外に出ることを可能とするための部分３４１８、および流体が入口から出口へ、ウェル中の材料と相互作用する道に沿って流動させるための流動チャンバー部分３４２０を含む。それらの３つの部分は、ガラススライド３４２２を含むインターフェイスによって統合されている（例えば、Ｅｒｉｅ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｍｐａｎｙ，　Ｐｏｒｔｓｍｏｕｔｈ，　ＮＨからのＥｒｉｅマイクロアレイカタログ番号Ｃ２２－５１２８－Ｍ２０，３分の１に切断、各々はサイズが約２５ｍｍ×２

５ｍｍ）。
【０４６１】
ガラススライドの頂部面には、Ｏａｋ　Ｈａｒｂｏｒ，ＷＡのＵｐｃｈｕｒｃｈ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃからのナノポートフィッティング部品番号Ｎ－３３３のような２つのフィッティング３４２４および３４２６が設置されている。１つのポート（例えば、３４２４）は、以下に記載されるがここでは示されていないポンピング／バルビング系からの液体を送達する入口として働く。第２のポート（例えば、３４２６）は、液体をパイプで送って廃棄する出口である。各ポートは、適当な内径のフレキシブルなチューブのような導管３４２８、３４３２に連結される。ナノポートは、チューブがガラススライド中の対応する穴を貫くことができるように設置される。チューブ開口はスライドの底部表面と同一平面とすべきである。
【０４６２】
ガラススライドの底部上では、流動チャンバー３４２０は、マイクロウェルアレイを横切っての層流を実質的に促進するための種々の構造を含むことができる。例えば、入口パイプから流動チャンバーのエッジにかけて広がる一連のミクロ流体チャネルは、Ｎｅｗｔｏｎ，ＭＡのＭｉｃｒｏＣｈｅｍ　Ｃｏｒｐ．からのＳＵ－８フォトレジストのようなポジティブフォトレジストを用いる接触リソグラフィーによってパターニングすることができる。他の構造は以下に議論する。
【０４６３】
チップ３４１２は、今度は、パッキング、およびコネクターピン３４３２への結合のために、キャリア３４３０に対して設置される。
【０４６４】
記載の容易性のために、図３８で出発する製造を議論するために、今や、我々は、それが図３４～３７中に有する向きに対してひっくり返されるべきガラススライド３４２２を考慮する。
【０４６５】
フォトレジスト３８１０の層はスライドの「頂部」に適応され（それは、スライドおよびそのさらなる層が回転され、ＩＳＦＥＴアレイとその上のマイクロウェルアレイとのセンサーアセンブリに対して設置される場合に、「底部」側となる）。層３８１０は、この例においては約１５０μｍの厚みとすることができ、それは、ナノポート中のチューブの端部から、センサーアレイチップのエッジまで層を運ぶ主な流体を形成するであろう。層３８１０は、図３９のマスク３９１０のようなマスクを用いてパターニングされる（「パターン化された」は、放射線源を用いて、マスクを通じてレジストを露出させ、次いで、非－可塑化レジストを除去することを意味する）。マスク３９１０は、白色として示される放射線－透明領域、および放射線－ブロッキング領域３９２０を有し、それらは陰影をつけて示される。放射線－ブロッキング領域は３９２２～３９２８におけるものである。領域３９２６は、センサーアセンブリの周りにチャネルを形成し；それはマスク３９２０の外側境界から約０．５ｍｍ内側に形成されて、典型的なエッジビーズを回避する。領域３９２２および３９２４は、レジストの対応する部分が示されたような形状のボイドを形成するために除去されるように、放射線をブロックするであろう。領域３９２２、３９２４の各々は、対応するナノポート３４２４、３４２６を通過するチューブ３４２８、３４３２の対応する１つの端部を受け取るような寸法の丸い端部を有する。丸い端部から、領域３９２２、３９２４は、センサーアレイの方向に広がって、アレイを横切っての流動が実質的に層流となるように、液体を広がらせることができる。領域３９２８は単純に整列パターンであって、いずれかの適当な整列パターンであってもよく、あるいは適当な代替整列メカニズムによって置き換えられていてもよい。図３８のダッシュ線は、マスク領域３９２２および３９２４下でのボイド３８２２および３８２４の形成を示すために設けられている。
【０４６６】
フォトレジストの第二の層が、レジスト３８１０またはスライド３４２２の上ではなく

、かなり別々に形成される。好ましくは、それは（図示しない）平坦なフレキシブルな表面に形成されて、剥離式のパターニングされたプラスチック層を作り出す。図４０に示されるように、フォトレジストのこの第二の層はマスク４０１０のようなマスクを用いて形成することができ、これは、パターニング後に、フレキシブルな基板の上に、その使用は以下に議論される、領域４０１２下の境界、領域４０１４、４０１６下の２つのスリット、およびパターニングされた領域４０１８および４０２２によって生じた整列マークを残す。次いで、例を挙げるならば、これらの層の整列のために、パターン４０１８によって生じた、１つの整列マークまたは整列マークの組を用い、フォトレジストの第二の層がフォトレジストの第一の層に適用される。次いで、第二の層がそのフレキシブルな基板から剥離され、後者は除去される。

【０４６７】

パターン４０２２によって生じた他の整列マークまたはマークの組は、議論すべき引き続いての層との整列のために用いられる。

【０４６８】

第二の層は好ましくは約１５０μｍの深さであって、スリット－形成領域４０１４および４０１６下の、センサーアレイチップの各エッジにおけるスリット約１５０μｍ長を例外として、それは流体を運ぶチャネルをカバーする。

【０４６９】

一旦、フォトレジストの第二の層が第一の層の上に設けられれば、フォトレジストの第三のパターニングされた層は、図４１に示されるマスク４１１０のようなマスクを用いて第二の層の上に形成される。第３の層は、センサーチップアレイ上のカラー３３１０と同程度の幅である（図３３参照）が、約３００μｍより狭い領域４１１２下にバッフル部材を供して、第一の層の流体を運ぶチャネルとの重複を可能とする。第三の層は約１５０μｍの厚さとすることができ、それは、１５０μｍだけ、それにより形成された盆地のフロアに向けてチップカラー３３１０を貫通するであろう。この構成は、センサーアレイチップ上のウェルの上方に約３００μｍのヘッドスペースを残すであろう。流体は、４０１４、４０１６下の１５０μｍスリットを通るセンサーアレイの全幅に沿ってウェルを横切って流動する。

【０４７０】

図３６は、流体流路をより見えるようにするために拡大された、図３４および３５においての描かれた、ミクロ流体およびセンサーアセンブリの前記例の実施形態の、斜視図における、部分的断面図を示す。（流路の半分のさらなる拡大模式図を図３７に示す）。ここに、流体は入口パイプ３４２８を介して入口ポート３４２４に進入するのが分かるであろう。パイプ３４２８の底部において、流体は、マスクエリア３９２２によって形成された流動拡大チャンバー３６１０を通って流動し、流体はカラー３３１０上を流れ、次いで、盆地の底部３３２０に向けて下方に、およびそのマイクロウェルアレイと共にダイ３４１２を横切って流れる。アレイ上を通過した後、次いで、流体はカラー３３１０の遠い壁において垂直に回転し、マスクエリア３９２４によって形成された流動濃度チャンバー３６１２への、およびそれを横切って、カラーの頂部上を流れ、出口ポート３４２６中の出口パイプ３４３２を介して出る。アレイの中央から出口にかけての、この流動の一部は、図３７の拡大模式図においても見ることができ、ここに、矢印は流体の流れを示す。

【０４７１】

流体アセンブリは、整列において、接着剤を、それらの２つのアセンブリの表面に接合する部品に適応し、次いで、それを一緒にプレスすることによって、センサーアレイチップアセンブリに固定することができる。

【０４７２】

図３４～３６に示されていないが、参照電極は、流動チャンバーの天井において、図３７に示されるように、金属化３７１０であると理解することができる。

【０４７３】

参照電極を導入するもう１つの方法は図４２に示される。そこでは、穴４２１０は流動

チャンバーの天井に設けられ、（例えば、シリコーンの）グロメット４２１２がその穴に嵌合され、それを通って参照電極４２２０を挿入することができる中央通路または穴を供する。（図４２には示されていないが、図４２Ａとの関連で後に議論される）バッフルまたは他のミクロ特徴は流動チャネルにパターニングされて、マイクロウェルアレイ上での層流を促進することができる。

【０４７４】

均一な流頭を達成すること、および、問題のある流路エリアを排除することは、多数の理由から望ましい。１つの理由は、システムのフローセル内の流体界面の非常に速い移行が、多くの適用、特に遺伝子配列決定において望まれることである。換言すれば、入ってくる流体は、短時間で、以前の流体を完全に置き換えなければならない。フローセル内の不均一な流体速度および拡散ならびに問題のある流路は、この要求と相反する可能性がある。長方形断面の導管を通る単純な流動は、流動容積の中心近くの領域から側壁に隣接する領域までの流体速度に相当の不均衡を呈しかねず、１つの側壁は、マイクロウェル層およびウェル中の流体の上面である。そのような不均衡は、２つの移動する流体の間で、空間的かつ時間的に大きな濃度勾配をもたらす。さらに、泡は、フローセル内部の鋭いコーナーのような、停滞エリアで捕獲されるか、またはそこで生じるようである。（表面エネルギー（親水性ｖｓ．疎水性）は、泡の滞留に有意に影響し得る。成形された表面が余りに疎水性である場合、より親水性の表面を作り出すために、加工中の表面汚染を回避すること、および、表面処理を使用することが考えられる。）もちろん、流動チャンバーの物理的配置は、恐らくは、流頭のために達成可能な均一性の程度に最も影響する因子である。

【０４７５】

１つのアプローチは、アレイを横切る通過時間が均一となるように、フローチャンバーの流動断面を、アレイ幅に渡って異なる流動速度を達成するように構成することである。例えば、ディフューザー（すなわち流動拡大チャンバー）セクション３４１６、３６１０の断面は、４２０２Ａにおけるように単純に長方形である代わりに、図４２Ａ中の４２０４Ａに示されるように作製することができる。すなわち、それは、湾曲した（例えば凹部）壁を有することができる。ディフューザーの非平坦な壁４２０６Ａは上部または底部とすることができる。別のアプローチは、アレイ上の入口から出口までの全経路長が実質的に同一となるように、有効な経路長をアレイ中に構成することである。これは、例えば、流動方向に対して垂直向きのシリンダーまたは他の構造のような流動破壊機能を流動経路に配置することによって達成することができる。流動チャンバーがマイクロウェルアレイの上部を床部として有し、対向する壁を天井部として有する場合、これら流動破壊構造を、マイクロウェル層の上部に、または天井壁上（または中）のいずれかに設けることができる。構造は、所望の効果を有するように、流れに十分に突出していなければならないが、小さな流れの乱れさえかなりのインパクトを有し得る。図４２Ｂ～４２Ｆに転じ、そのような構造の模式的ないくつかの例が示される。図４２Ｂにおいて、マイクロウェル層４２１０Ｂの表面に、流動チャンバー天井壁４２１２Ｂに向かって垂直に延び、および矢印Ａの方向に移動する流体についての層流を乱すように働く一連の円筒形流動ディスラプタ４２１４Ｂが形成される。図４２Ｃは、流動ディスラプタ４２１６Ｃが円い上部を有し、バンプ、恐らくは、半球または球形上部を持つ円筒により似て見えることを除いて、同様な配置を描く。対照的に、図４２Ｄにおいては、流動ディスラプタ４２１８Ｄは、流動チャンバーの天井壁４２１２Ｂから突出しているか、または垂れ下がっている。流動ディスラプタのただ１つの列が示されるが、複数のより多い、またはより少ない平行列が典型的には要求されるのは認められるであろう。例えば、図４２Ｅは、（天井壁４２１２Ｂから外方に突き出しているそのような流動ディスラプタのいくつかの列４２０２Ｅを示す（が、向きは図４２Ｂ～４２Ｄに対して上下逆である）。ディスラプタとそれらの高さとの間の間隔は、通過時間が均衡になるように、流動プロフィールがそれにわたって放物線状になる距離に影響するように選択されてもよい。

【０４７６】

図４２Ｆおよび４２Ｆ１に示されるもう１つの構成は、ディスラプタとしての固体のビーム一様突出またはバッフル４２２０Ｆの使用を含む。この概念を用いて、流動チャンバーのための天井部材を形成することができる。そのような配置はより均一な流体流動を刺激し、ディスラプタ構造が無い単純な矩形断面として比較して、流動置換回数を有意に低下させる。さらに、１つのエッジに沿って起こるアレイへの流体の進入の代わりに、流体を小さなポートを通って１つのコーナー４２４２Ｆにおいて導入してもよく、およびそのコーナーエリアと流体連通したポートを介して、反対コーナー４２４４Ｆから出てもよい。該一連の平行バッフル４２２０Ｆは、一連のチャネルへの入口および出口コーナーの間で流動容量を分離する。最低の流体抵抗路は、バッフルに対して垂直な、チップのエッジに沿っている。入ってくる流体がこのチャネルを満たすにつれ、次いで、流体はバッフルの間でチップの反対側に向けられる。各バッフル対の間のチャネル深さは、好ましくは、流動が最も遠いチャネルを通って出口ポートに向けて移動するように刺激され、それにより、バッフルの間の流動先頭を均一とするように、チップを横切って段階的とされる。バッフルはほとんどチップ（すなわち、マイクロウェル層）表面まで下方に延びるが、それらはかなり薄いゆえに、流体はそれらの下で迅速に拡散し、アレイアセンブリの関連エリアを露出させることができる。

【０４７７】

図４２Ｆ２－４２Ｆ８は、バッフル４２２０Ｆ、流動チャンバーに対する天井、流体入口および出口ポートおよび参照電極さえを設けるのに用いることができる（好ましくは、ポリカーボネートの）単一ピースの射出成形されたフローセル部材４２Ｆ２００の例を示す。図４２Ｆ７は、部材４２Ｆ２００の底部のバッフルの拡大図を示し、バッフルは図４２Ｆ６中の部材４２Ｆ２００の下面の一部として示される。射出成形によって小さな寸法で矩形特徴を形成するのは困難であるので、４２２０Ｆ’として示されたこれらのバッフルの特別な例は断面で示した三角形である。

【０４７８】

図４２Ｆ２においては、それらの間に形成されたシール４２Ｆ２０２、およびセンサーアレイチップのパッケージから垂れ下がった接触ピン４２Ｆ２０４と共に、センサーアレイパッケージ４２Ｆ３００上に設置された部材４２Ｆ２００の頂面等尺図がある。図４２Ｆ３および４２Ｆ４は、各々、図４２Ｆ５のセクション線Ｈ－ＨおよびＩ－Ｉを通るセクションを示し、それは、関係において、センサーアレイチップ４２Ｆ２５０、バッフル４２２０Ｆ’および入口４２Ｆ２６０および出口４２Ｆ２７０ポートを介する流体流路を見ることができる。

【０４７９】

金属化を部材４２Ｆ２００の底部４２Ｆ２８０に適用することによって、参照電極を形成することができる。

【０４８０】

種々の他の位置およびアプローチを、流体流動を流動チャンバーに導入するために、同様に用いることができる。例えば、図５７～５８に示されるように、流体をチップアセンブリ４２Ｆ１のエッジの幅を横切って導入することができる実施形態に加えて、あるいは流体を、図４２Ｆ１におけると同様に、チップアセンブリの１つのコーナーにおいて導入することができる。例えば、流体を、４２５４Ｇにおけるように、入口導管４２５２Ｇを通って流動させて、隣接して、かつチップの中央に向けて排出させ、導入点から径方向外側に流動される図４２Ｇおよび４２Ｈにおけるように、流体を導入することもできる。

【０４８１】

図４２Ｉおよび４２Ｊは、図４２Ｇおよび４２Ｈとの関連で、そのような構造およびその操作の例を断面にて描く。より以前の例とは対照的に、この実施形態はさらなるエレメント、ダイヤフラムバルブ４２６０Ｉを含有する。最初に、図４２Ｈに示すように、該バルブ４２６０Ｉが開き、（図示しない）廃棄レソルボアへの導管４２６２Ｉを介する通路を供する。開いた弁は、廃棄レソルボアまたは出口への低いインピーダンス流動を供する。次いで、図４２Ｊにおけるように、空気圧力をダイヤフラムバルブに適用し、低インピ

ーダンス通路を閉じ、流体流動を、流動チャンバーの天井を形成する部材４２６６Ｊ中の中央穴４２６４Ｊを通って下方に、かつチップ（センサー）アセンブリを横切って継続させる。該流動は前記したようにセンサーのエッジにてチャネルによって収集され、導管４２６８Ｊを介して廃棄出口に向けて出る。

【０４８２】

このアイディアについてのバリエーションは図４２Ｋ～４２Ｍに描かれており、これはチップアセンブリの中央ではなく、その代わり、１つのコーナー４２７２Ｋにおいて導入される流体を示す。それはライン４２７４Ｋによって記号的に示されるように、チップ３４１２を横切って流動し、対角線方向に対向するコーナー４２７６Ｋにおいて除去される。この概念の利点は、全てではないが、それはいずれの淀み点も排除するものである。それは、流動が底部において導入され、頂部において除去されて、泡の一掃を助けるように、センサーアレイは垂直に位置させることができるという利点も有する。このタイプの実施形態は、ところで、アレイの中心に導入された流動についての実施形態の４分の１として考えることができる。閉じた、かつ流動を廃棄出口またはレソルボアに押しやるバルブ４２７８Ｌでの実施の例を図４２Ｌに示す。図４２Ｉおよび４２Ｊの実施形態に関する主な差は、流体流動がその中心におけるよりはむしろアレイのコーナーにおいて導入されることである。

【０４８３】

全ての場合において、試薬サイクルの間に、マイクロウェルに沿って、全流動チャンバーの徹底的な洗浄を確保するのに注意を向けるべきである。流動の乱れは、流動チャンバーを十分に洗浄する挑戦を悪化しかねない。

【０４８４】

また、流動の乱れは流体中の泡を誘導し、または増加させかねない。泡は流体がマイクロウェルに到達するのを妨げ、あるいはマイクロウェルへのその導入を遅延させかねず、マイクロウェルの読みに誤差を導入し、またはそのマイクロウェルからの出力を、アレイからの出力の処理において無益なものとする。かくして、これらの潜在的有害因子を管理するために、流動ディスラプタについての構成および寸法を選択するにおいて注意を払うべきである。例えば、ディスラプタエレメントの高さ、および望まれる速度プロフィール変化の間でトレードオフをなすことができる。

【０４８５】

図４３～４４は、もう１つの別法フローセルの設計４３１０を示す。この設計は、フローセルを完成させるための、チップに付着させるべき単一のプラスチックピースまたは部材４３２０の成形に依拠する。流体系への結合は、４３３０および４３４０におけるプラスチックピース中の適当な穴に軽く打ちこまれた螺合結合を介してなされる。あるいは、もし部材４３２０がポリジメチルシロキサン（ＰＤＭＳ）のような材料で作成されているならば、結合は、単に、部材４３２０中の適当なサイズの穴にチューブを挿入することによってなすことができる。この設計の垂直断面を図４３～４４に示す。この設計は、（示された固体壁、または下方に延びるフェンス－様壁を形成する一連の吊り下がっている間隔を設けられた脚であってよい）張り出したプラスチックカラー４３５０を用いて、チップパッケージを包み、プラスチックピースをチップパッケージまたは他の適当な構造と整列させ、それにより、チップフレームをフローセル形成部材４３２０と整列させることができる。液体は、開口４３３０、４３４０のうちの１つを介してフローセルに、よって、流動チャンバーに向けて下方に向けられる。

【０４８６】

示された実施形態において、参照電極は、部材４３２０中の穴４３２５を介して流動チャンバーの頂部に導入される。除去可能な参照電極の設置は、シリコーンスリーブ４３６０およびエポキシストップリング４３７０によって促進される（図４４の拡大参照）。該シリコーンスリーブは密なシールを提供し、エポキシストップリングは電極がフローセルへ余りにも遠く挿入されるのを妨げる。もちろん、他のメカニズムを同一目的で使用することができ、電極を停止させるための構造を使用する必要はないであろう。そして、もし

ＰＤＭＳのような材料を部材４３２０のために用いるならば、該部材それ自体は、電極が挿入されると、水密シールを形成し、シリコーンスリーブの必要性を解消する。

【０４８７】

図４５および４６は、部材４５１０が参照電極を受け取るための穴を欠如する以外は同様な配置を示す。その代わり、参照電極４５１５が中央部分４５２０の底部に形成されるか、またはそれに付着され、流動チャンバーの天井の少なくとも一部を形成する。例えば、部材４５１０をチップパッケージに設置した後に、金属化層を、中央部分４５２０の底部に適用することができる。

【０４８８】

図４７～４８は図４３～４４に示された実施形態の変形であるもう１つの例を示すが、ここに、フレームはフローセルの一部として製造され、むしろ、チップ表面に従前に付着されたフレームに流動ポート構造を付着させる。このタイプの設計においては、アセンブリは幾分よりデリケートである。というのは、チップに対するワイヤボンドはチップをカプセル化するエポキシによって保護されていないからである。この設計の成功は、正確な設置、および一体化された「フレーム」のチップの表面への確実な接着に依存する。流動チャンバーの天井にある参照電極４９１０を備え、およびフローセルの一部として製造されたフレームを備えた、図４５～４６のそれに対するカウンターパート実施形態は図４９～５０に示される。

【０４８９】

図５１～５２に示される流体アセンブリに対するなおもう１つの別法は、チップパッケージ５１３０の頂部からスタンドーオフ５１２０上に約５．５ｍｍだけ隆起した流体部材５１１０を有する。これは、オペレータが、プラスチックピース５１４０およびチップ表面の間の結合の質を目で精査し、もし必要であれば、結合を外から補強するのを可能とする。

【０４９０】

これまでの別法実施形態のいくつかは、ハイブリッドプラスチック／ＰＤＭＳ構成において実施することもできる。例えば、図５３～５４に示されるように、プラスチック部分５３１０は、ＰＤＭＳ「ベース」部分５３２０に存在する、フレームおよび流動チャンバーを作成することができる。プラスチック部分５３１０は、入口ポートからの流体の流動の拡大のためのアレイに対する領域５３３０を供することもでき；従って、ＰＤＭＳ部分は、それを通って、液体がＰＤＭＳ部分から、以下の流動チャンバーへ、および流動チャンバーから通過する連通スリット５４１０、５４１２を含むことができる。

【０４９１】

流体構造は、フォトー規定可能（ＰＤ）ガラスのような、先に議論したガラスから作成することもできる。そのようなガラスは、一旦ＵＶ光に選択的に暴露されると、フッ化水素酸中での高められたエッチング速度を有することができ、特徴は、それにより、頂部側および裏面側にマイクロマシーン処理することができ、これは、一緒に接着されると、三次元の低縦横比流体セルを形成することができる。

【０４９２】

例は図５５に示される。第１のガラス層またはシート５５１０は、頂部側にナノポート流体穴５５２２および５５２４を、および裏側に流体拡大チャネル５５２６および５５２８を作り出すようにパターニングされ、エッチングされている。第二のガラス層またはシート５５３０は、約３００μｍの高さ（層の厚み）の、下向き流体入力／出力チャネル５５３２および５５３４を供するようにパターニングされ、エッチングされている。層５５３０の底部表面は、チャネル５５３２および５５３４の外側に向けて薄くされていて、層５５３０がチップフレーム上に存在し、および突出エリア５５４２が適当な高さとなって、流動チャネルの頂部を形成するのを可能とする。２つのガラス層、またはウェハーおよび４つのリソグラフィー工程が必要とされる。双方のウェハーは、下向き流体入力／出力ポートが、流体拡大チャネルと適切に整列するように、整列され、（例えば、図示されない適切な接着剤で）結合されているべきである。整列標的はガラスにエッチングされて、

整列プロセスを促進することができる。

【０４９３】

ナノポートはナノポート流体穴上に固定されて、入力および出力チューブの結合を容易とすることができる。

【０４９４】

中央穴５５５０は、参照電極５５６０を受け取るためのガラス層を通ってエッチングすることができる。電極を固定し、シリコーンカラー５５７０または同様な構造で所定の場所にシールすることができ；あるいは電極は同一目的を行うための適当なワッシャを一体的に備えることができる。

【０４９５】

２－層流体セルのためにガラス材料を用いることによって、参照電極は、導電性層であるか、または（図示しない）第二のガラス層の底部表面に蒸着されたパターンであってもよい。あるいは、図５６に示したように、突出領域をエッチングして、その頂部が銀（または他の材料）の薄い－フィルム５６２０をコーティングして、一体化された参照電極を形成する該頂部に、浸透性ガラス膜５６１０を形成することができる。穴５６３０を、電極を評価するために上層にエッチングすることができ、もしその穴が十分大きければ、それは塩化銀溶液のためのレソルボアとして働くこともできる。薄い－フィルムの銀電極への電気的結合は、チップ－オンプッシュピンコネクタを用いることによるような、いずれかの適当な方法で作成することができ、あるいは別法として、セラミックＩＳＦＥＴパッケージにワイヤー結合してもよい。

【０４９６】

もう１つの代替法は、流動チャンバーの天井の－すなわち、流体セルの天井を形成する部材の下面の金属化表面を用いることによって、参照電極を配列決定チップ／流動セルに一体化させることである。金属化表面への電気的結合は、限定されるものではないが、今度は、セラミック基板中の通路を通って、チップパッケージの底部にあるスペアピンに電気的に結合することができるセラミックパッケージシールリングに導電性エポキシを適用することによるのを含めた、種々の方法のいずれかで作成することができる。これを行うと、チップソケットマウントを通ったチップの制御エレクトロニクスへの入力によって、流体セルにおける参照ポテンシャルの系－レベル制御を可能とするであろう。

【０４９７】

対照的に、外部から挿入された電極は、入口ポートへの過剰な流体管を必要とし、これは、サイクルの間のさらなる流体流動を必要とする。

【０４９８】

セラミックピングリッドアレイ（ＰＧＡ）パッキングをＩＳＦＥＴアレイで用いることができ、これは、裏面のピンとで、先端面の種々の表面の間の特別あつらえの電気的結合を可能とする。

【０４９９】

フローセルは、ＩＳＦＥＴチップおよびそのＰＧＡに対する「蓋」と考えられることができる。フローセルは、他の個所で述べたように、多くの異なる材料で製造することができる。射出成形されたポリカーボネートはかなり適切であるように見える。導電性金属（例えば、金）は、接着層（例えば、クロム）を用いてグローセル屋根の下面（流動チャンバーの天井）に蒸着することができる。適当な低温薄－フィルム蒸着技術は、好ましくは、材料（例えば、ポリカーボネート）による金属参照電極の蒸着、および流体セルの底部－側（すなわち、ＩＳＦＥＴアレイのフレーム囲い）における大きな段階被覆トポグラフィーで使用される。１つの可能なアプローチは、遊星系において電子線蒸発を用いるであろう。

【０５００】

活性電極エリアは、ＩＳＦＥＴアレイのフレーム囲い内側の中心流動チャンバーに封じ込まれている。というのは、それは、配列決定の間にイオン性流体と接触するであろう唯一の金属化表面だからである。

【０５０１】
一旦、アセンブリが完了したならば－導電性エポキシ（例えば、Ｅｐｏ－Ｔｅｋ　Ｈ２ＯＥまたは同様なもの）を、フローセルを整列させてシールリング上に分注し、設置し、プレスし、次いで硬化させることができ－ＩＳＦＥＴフローセルは、パッケージの割り当てられたピンに適用される参照ポテンシャルでの操作で直ぐに使える。
【０５０２】
かくして、ＩＳＦＥＴデバイスへの得られた流体系の結合は、短縮された入力および出力の流体ラインを組み込み、これは望ましい。
【０５０３】
流体アセンブリのためのなおもう１つの例実施形態は図５７～５８に示される。この設計は、フレームを組み込み、直接的にチップ表面に付着されたプラスチックピース５７１０、および流体系からの管を結合させるのに用いられる第二のピース５７２０および、同様に、先に議論したＰＤＭＳピースに制限され、液体を小さな穴管から広い平面スリットに分配する。２つのピースを一緒に接着させ、多数の（例えば、３つの）整列マーカー（図示せず）を用いて、接着プロセスの間に２つのピースを正確に整列させることができる。穴を底部プレートに設けることができ、該穴は、（例えば）エポキシでキャビティを満たして、チップへのワイヤボンドを保護し、フレーム／チップ接触においていずれの潜在的ギャップも満たすように用いられる。示された例において、参照電極は、フローセルに対して外側である（出口ポートを通る排気ストリームにおいて下流－以下を参照）が、参照電極の他の構成をもちろん用いることができる。
【０５０４】
フローセル構造のなお更なる例は図５９～６０に示される。図５９Ａは、フローセル流体界面についての、射出成形された底部層、またはプレート５９１０の８つの図（Ａ～Ｈ）を含み、他方、図５９Ｂは、接合性射出成形頂部プレート、または層５９５０の７つの図（Ａ～Ｇ）を含む。プレート５９１０の底部は、センサーチップを包むように構成され配置された下方に吊りり下がったリム５９１２、およびその外側エッジに沿って頂部プレート５６１０と接合させるための上方に延びるリム５９１４を有する。２つの流体チャンバー（入口チャンバーおよび出口チャンバー）をそれらの間に形成するため。頂部プレート５９５０の段付の下方に吊り下がった部分５９６０は、入力チャンバーを出力チャンバーから分離する。入口管５９７０および出口管５９８０は、頂部プレート５９５０の残りと一体的に成形されている。プレート５９１０の頂部における窪み５９２０によって形成された入口チャンバーの小さな端部が空である入口管５９７０から、入口チャンバーの出口エッジは、扇形に広がって、全アレイを横切って流体を方向付ける。
【０５０５】
ガラスまたはプラスチックまたは他の材料を用いてフローセルを形成するかを問わず、特に、より大きなアレイでは、丁度徐々に拡大する（扇形に広がる）空間ではなく、適切に層流であるアレイを横切っての流動を容易とする何らかの構造を、アレイの入口導管および先端エッジの間の、フローセルの入口チャンバーに含めるのが望ましいであろう。例として射出成形されたフローセルの底部層５９９０を用い、図５９Ｃに示された、この目的のための構造の１つの例であるタイプは、フローセルの入口位置からマイクロウェルアレイまたはセンサーアレイの先端エッジへのチャネルのツリー構造５９９２であり、これは、５９９４において該構造の出口側下にあると理解されるべきである。
【０５０６】
配列決定のための前記した系は、典型的には、層流流体流動系を利用して、生物学的ポリマーを配列決定する。部分的には、流体流動系は、好ましくは、センサーチップおよび単一のピースによって形成された流動チャンバー、入口および出口ポートを含み、かつ流動チャンバーを確立するためのチップ上に設置可能な射出成形部材を含む。該チャンバー内部のそのような部材の表面が好ましくは形成されて、本明細書中に記載される、所望の便宜な流体流動を促進する。
【０５０７】

いくつかの実施形態において、本発明は、層流流体流動系を含むイオンパルスの検出のための装置を含む。好ましくは、該装置は、複数の核酸鋳型を配列決定するために用いられ、ここに、該核酸鋳型は、所望により、アレイ上に蒸着される。

【０５０８】

該装置は、典型的には、流体が同時にまたは実質的に同時にミクロ流体反応チャンバーの全てに到達するように、流体を少なくとも１００Ｋ、５００Ｋ、または１Ｍミクロ流体反応チャンバーのアレイに流動するよう非－機械的に方向付けるための１以上の開口を含む部材を含む流体アセンブリを含む。典型的には、流体の流動はセンサー表面に対して平行である。典型的には、アセンブリは１０００、５００、２００、１００、５０、２０、または１０未満のレイノルズ数を有する。好ましくは、該部材は、さらに、センサーアレイに向けて流体を方向付けるための第一の開口、およびセンサーアレイからの離れるように流体を方向付けるための第二の開口を含む。

【０５０９】

いくつかの実施形態において、本発明は、流体ソースをセンサーアレイに流体的にカップリングさせる開口を含む流体アセンブリを供し；次いで、センサーアレイに流体を非－機械的に方向付けることを含む、流体をセンサーアレイに方向付ける方法を含む。「非－機械的に」とは、流体が、圧力下で、機械的ポンプとは反対に、ガス状圧力ソースから移動することを意味する。

【０５１０】

いくつかの実施形態において、本発明は、その各々が、入口ポートおよび出口ポートを有する蓋への、および該入口および出口ポートから非－機械的に流体を送達し、除去するための流体送達系にカップリングされたウェルのアレイを含む。

【０５１１】

いくつかの実施形態において、本発明は：モノマーを含む流体を反応チャンバーのアレイに方向付けることを含む、前記した装置を利用して生物学的ポリマーを配列決定する方法を含み、ここに、該流体はせいぜい２０００、１０００、２００、１００、５０、または２０の流体流動レイノルズ数を有する。該方法は、所望により、さらに、各該反応チャンバーからイオンパルスを検出することを含んでもよい。イオンパルスは、典型的には、センサー表面へのイオン拡散によって検出される。マイクロウェルおよびセンサーアレイアセンブリを横切って適当な流体流動を送達するための流体アセンブリを提供する種々の他の方法があり、これまでの例は、かくして、包括的な事を意図しない。

【０５１２】

塩化銀プロトン－浸透性電極のような商業的なフロータイプの流体電極は、直列に流体ラインに挿入することができ、種々の電気化学的目的で、流体ラインに沿った安定な電気ポテンシャルを供するように一般的には設計される。しかしながら、前記した系においては、そのようなポテンシャルは、マイクロウェルＩＳＦＥＴチップと接触した流体容量において維持されなければならない。慣用的な塩化銀電極では、（フローセル中の小さなチャネルを通った）チップ表面および電極の間の電気的に長い流体通路のため、安定なポテンシャルを達成するのは困難であることが判明している。これは、チップのエレクトロニクスにおけるノイズの受領に導いた。加えて、電極の流動キャビティ内の大きな容量は、流体への電気的結合を劣化させた気泡をトラップし、蓄積する傾向があった。図６０を参照し、この問題に対する解決は、直接的に、シールドされたケーブル６０３０を通って、チップのフローセル出口ポート６０２０に結合し、かつ（図示されていない）電圧ソースに結合された、ステンレス鋼毛細管電極６０１０の使用において見出されている。金属毛細管６０１０は、認識可能な程度までガスをトラップしない（例えば、０．０１”のオーダーの）小さな内径を有し、他のミクロ流体チューブのように流体およびガスを有効に輸送する。また、毛細管はフローセルのポート６０２０に直接的に挿入することができる故に、それがチップ表面に近く、流体を通っての可能な電気的な喪失を低下させる。毛細管（典型的には、約２”長）の大きな内部表面積もまたその高い性能に貢献することができる。ステンレス層の構成は高度に化学的抵抗性であって、系における非常に低い電流の使

用（＜１μＡ）のため、電気化学的効果に従うべきではない。流体フィッティング６０４０は、流体送達および除去サブ系に対する管への結合のため、フローセルポート中にはない毛細端部に付着されている。

【０５１３】

センサーアレイを用いるための完全な系は、適用に依存して、適当な流体ソース、バルビング、およびマイクロアレイまたはセンサーアレイ上の試薬および洗浄を減らすようにバルビングを操作するためのコントローラを含むであろう。これらのエレメントはオフ－ザ－シェルフ構成要素から容易に組み立てられ、コントローラは所望の実験を行うために容易にプログラムすることができる。

【０５１４】

ｃｈｅｍＦＥＴにおける読出は電流または電圧（またはその変化）とすることができ、およびいずれかの読出に対するいずれかの特定の参照は単純性を意図したものであり、他の読出を排除するものではないことが理解されるべきである。従って、ｃｈｅｍＦＥＴにおける電流または電圧いずれかの検出への以下の明細書中でのいずれの参照も考えられ、同様に、他の読出に等しく適用されるのは理解されるべきである。重要な実施形態において、読出は、分析物の濃度の迅速な一過性変化を反映する。１を超える分析物の濃度は種々の時点において検出することができる。そのような測定は、定常状態の濃度測定に焦点を当てる先行技術の方法と対照すべきである。

【０５１５】

既に議論したように、本発明の装置および系を用いて種々の物質の間の相互作用を検出し、および／またはモニターすることができる。これらの相互作用は生物学的および化学的反応を含み、限定されるものではないが、結合事象のような、酵素的反応および／または非－酵素的相互作用を含むことができる。例として、本発明では、基板および／または試薬が消費される酵素反応をモニターすることが考えられ、および／または反応中間体、副産物および／または産物が生成する。本発明に従ってモニターできる反応の例は、核酸配列に関する情報を提供するもののような核酸合成方法である。この反応は本明細書中においてかなり詳細に議論する。

【０５１６】

配列決定反応に関して、本明細書中で提供された装置および系は、ｃｈｅｍＦＥＴ電流および／または電圧の変化に基づいてヌクレオチド取込みを検出することができ、というのは、それらの後者のパラメータは相互に関係するからである。電流の変化は、その単一またはいくつかの組合せでの以下の事象の１以上の結果であろう：ＰＰｉの生成、（例えば、ピロホスファターゼの存在下における）Ｐｉの生成、水素の生成（および、例えば、低強度緩衝液の存在下におけるｐＨの同時変化）、ｃｈｅｍＦＥＴ表面における取り込まれていないｄＮＰＴの低下した濃度、ｃｈｅｍＦＥＴの表面における取り込まれていないｄＮＴＰの遅延された到着など。本明細書中に記載された方法は、ｃｈｅｍＦＥＴ表面における分析物濃度の変化を検出することができ、そのような変化は、前記事象の１以上に由来することができる。本発明では、たとえ読出がｐＨより独立している（またはｐＨに非感受性である）としても、本明細書中に記載された配列決定方法におけるＩＳＦＥＴのようなｃｈｅｍＦＥＴの使用が考えられる。換言すれば、本発明ではＰＰｉおよび取り込まれていないヌクレオチドのような分析物の検出のためのＩＳＦＥＴの使用が考えられる。配列決定に関しては、本発明は、Ｐｏｕｒｍａｎｄ ｅｔ ａｌ．ＰＮＡＳ ２００６ １０３（１７）：６４６６－６４７０を含めた文献中のものと対照することができる。本明細書中で議論したように、本発明では、核酸のヌクレオチド配列（すなわち、「配列」）を決定する方法が考えられる。そのような方法は、鋳型核酸の配列に基づいて、（当業者によって認識されるように、予め存在する核酸が起点となった）新しい核酸の合成を含む。すなわち、新しく合成された核酸の配列は、鋳型核酸に対して相補的であって、従って、新しく合成された核酸の配列の知識は、鋳型核酸の配列についての情報を生じる。新しく合成された核酸の配列の知識は、既知のヌクレオチドが新しく合成された核酸に取り込まれているか否かを決定することによって導かれ、もしそうであれば、どれくらい多

くのそのような既知のヌクレオチドが取り込まれたかを決定することによって導かれる。ヌクレオチド取込みは、ＰＰｉ、Ｐiおよび／またはH^{+}のような産物の生産を含めた、多数の方法でモニターすることができる。

【０５１７】

図６１は、新しく合成された核酸ストランドにおけるヌクレオチドの取込みから得られたＰＰｉの生成／発生を示す。核酸ストランドにおけるヌクレオチドの取込みの反応副産物として発生したＰＰｉは、（図１１Ｂ１～３に提供されたもののような）ＰＰｉ受容体の不存在下において、および（例えば、本明細書中において定義された強力な緩衝液の存在下において起こり得るように）検出可能なｐＨ変化の不存在下において、直接的に検出することができる。ＰＰｉの単純な存在は、いくつかの例において、ｃｈｅｍＦＥＴ表面において電気的変化を引き起こし、それにより、電流の変化がもたらされるのに十分である。電流の変化は、単独、あるいは先に記載したもののような他の事象と組合せたＰＰｉ発生に由来し得る。

【０５１８】

図８Ａは、ヌクレオチドの取込み反応の基質および生成物の計算された濃度を示す。それらの計算は、複数の核酸が、本明細書中に記載されたように、ウェル中に位置するビーズに結合した複数の同一鋳型核酸から同調して合成されるモデルに基づく。該モデルは、ウェルが、ヌクレオチドを除いて、プライマー核酸、ポリメラーゼ、ヌクレオチド取込みに必要な補因子にハイブリダイズドされた鋳型核酸を含有すると仮定している。取込み反応は、既知の同一のヌクレオチド三リン酸の集団を（流動を通じて）ウェルに導入することによって開始される。該モデルは、ｃｈｅｍＦＥＴ表面によって検出される第一の分析物が新しく発生したＰＰｉであって、いくつかの時点において、その後、取り込まれていないヌクレオチド三リン酸が発生することを示す。これらの分析物集団の各々は、ｃｈｅｍＦＥＴにおける電流読出を生起させる。図８Ｂは、ＰＰｉおよび取り込まれていないヌクレオチドの濃度の変化に対応する（本明細書中においては相互交換可能に言及される）電圧パルスおよび／またはピークを示す。第一の観察可能なパルスの時間を本明細書中においてはt_0といい、第二の観察可能なパルスの時間を本明細書中においてはt_1という。種々の重複した痕跡は、所与の反応における０の、１またはそれを超える同一のヌクレオチドの取込みを反映する。図８Ｂにおいて理解できるように、t_1およびt_0の間の時間の差（すなわち、t_1-t_0）は、ヌクレオチド取込みの増加に従って増加する。その結果、ＰＰｉパスルおよび取り込まれていないヌクレオチド三リン酸パルスの間の時間差は、どれくらい多くのヌクレオチド三リン酸がいずれかの所与の工程において取り込まれたかの尺度として用いることができる。これは、典型的には、どれくらい多くのｄＮＴＰの既知の単一タイプが取り込まれたかを決定するのに用いられる。しかしながら、それを用いて、本発明の他の態様に従って、ｄＮＴＰの同一性に拘わらず取り込まれたｄＮＴＰの数を決定することもできる。

【０５１９】

かくして、いくつかの実施形態において、本発明では、鋳型核酸上で配列決定されるべき次の位置に対して相補的なヌクレオチドの導入に際して、そのようなヌクレオチドは効果的に消費されて、ＰＰｉが生じ、これは、次いで、ｃｈｅｍＦＥＴにおいて検出されることが考慮される。一旦、合成反応が完了すれば（すなわち、ヌクレオチドの適当な数が、全て、新しく合成された核酸に取り込まれると）、取り込まれていないヌクレオチドの集団はｃｈｅｍＦＥＴ表面まで拡散し、該表面によって検出することができる。取り込まれていないヌクレオチドの検出における遅延は、どれくらい多くのそのようなヌクレオチドが取り込まれたかを示す。これらの遅延は図８Ｂにおいてモデル化される。もしウェルに導入されたヌクレオチドが、鋳型核酸上で配列決定されるべき次の位置に対して相補的でないならば、取込みは起こらない。従って、ｃｈｅｍＦＥＴの表面において検出された最初の分析物は、ＰＰｉは生じないであろうから、取り込まれていないヌクレオチドの集団であろう。かくして、（単一の電圧パルスに翻訳される）ｃｈｅｍＦＥＴによる単一イオンパルスの検出は、ヌクレオチドの取込みが起こっていないことを示し、（２つの電圧

パルスに翻訳される）２つの時間的に分離されたイオンパルスの検出はヌクレオチド取込みが起こったことを示し、および後者の２つのパルスの間の時間の差は、取り込まれたヌクレオチドの数を示す。

【０５２０】

ｄＮＴＰの核酸ストランドへの取込みはＰＰｉを放出させ、これは、次いで、２つのオルトホスフェート（Ｐｉ）および２つの水素イオンまで加水分解できる。従って、水素イオンの発生は、ヌクレオチド取込みのインジケータとして検出することができる。別法として、Ｐｉは直接的または間接的に検出することができる。これらの事象のいずれかおよび全て（および本明細書中に記載されるそれ以上）はｃｈｅｍＦＥＴにおいて検出することができ、それにより、ヌクレオチド取込みに相関する電流変化を引き起こす。

【０５２１】

このデュアルパルス検出の限界は、２つのパルスを時間内に分解することができない（すなわち、２つのピークが１つに合され得る、ここに、t_0およびt_1ピークは区別できない）場合に起こる。この限界は、$N_{poly}=0$ ｖｓ $N_{poly}=1$の場合に、以下によって与えられる：幅＝W_0および標準偏差σ_{W0}を有する第一のピーク$N_{poly}=0$、および幅＝W_1および標準偏差$\sigma_{W1..}$を有する第二のピーク$N_{poly}=1$を考慮する。.１％のP_eでは［ここに、P_e ＝ ｅｒｆｃ（ＳＮＲ／２＊（ｓｑｒ（２））］、シグナル対ノイズ比（ＳＮＲ）＝５．１５。従って、検出の限界はピーク幅の差ΔＷであり、$\Delta W=(W_1-W_0)>5.15*\sigma_{W0.}$によって与えられる。同様な計算を他のＳＮＲでなすことができる。

【０５２２】

ある実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴ（またはＩＳＦＥＴ）読出はＰｉおよび／またはH^+の濃度の変化から独立している（または該変化に非感受性である）。これらの実施形態において、H^+の同時放出を伴うＰｉへのＰＰｉ加水分解の速度は、時々は有意に低下する、。ＰＰｉおよびＰｉ変換は、ピロホスファターゼのような酵素によって、および／またはある種のイオンによって触媒され得る。酵素および特定のイオンの双方（いくつかの場合には、いずれか）の不存在下において変換の速度は無視できるほど十分に遅い。（例えば、酵素、および約10^3秒$^{-1}$のオーダーとすべきMg^{2+}の存在下での速度を報告するＢｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００２，４１：１２０２５と比較した、酵素、または約3^{-1}年$^{-1}$のオーダーとすべきイオンの不存在下における変換についての速度定数を報告するＪ．Ｃｈｅｍ，Ｓｏｃ．Ｆａｒａｄｙ Ｔｒａｎｓ．２００７，９３：４２９５参照）。ｐＨ感受性環境は、水素の放出から得られたｐＨのいずれの変化を観察するのに十分に緩衝化されているものであってもよい。反応は、たとえあったとしてもごく僅かの水素イオンが反応の結果として放出された結果として、ｐＨ非感受性または非依存性であってよい。

【０５２３】

配列決定される核酸は、本明細書中においては、標的核酸という。標的核酸は、限定されるものではないが、ゲノムＤＮＡ、ミトコンドリアＤＮＡ，ｃＤＮＡ等のようなＤＮＡ、および限定されるものではないが、ｍＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ等のようなＲＮＡを含むが、それらに限定されない。核酸は、天然に生じる源または合成源を含めたいずれの源からのものであってもよい。核酸は、ＰＣＲ産物、コスミド、プラスミド、天然に生じるまたは合成のライブラリーなどであってよい。本発明は、この点に関して制限されることを意図しない。本明細書中で提供される方法を用いて、いずれの長さの核酸も配列決定することができる。明瞭にするために、実施例は、既知の配列の４つの鋳型の配列決定の原理を示す証拠を提供する。この人工的モデルは、本明細書中に記載された装置および系の実施形態が、鋳型の既知の配列に相関するヌクレオチド取込みを読み出すことができるのを示す意図である。これは、場における方法または系の典型的な使用を表す意図ではない。以下に示すのは、これらの方法の簡単な記載である。

【０５２４】

標的核酸は当該分野で公知のいずれの方法を用いても調製される。例として、ゲノムＤ

ＮＡは当該分野で公知の技術に従って試料から収穫することことができる（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．「Ｍａｎｉａｔｉｓ」参照）。収穫の後、ＤＮＡを断片化して、より小さな長さの核酸を得ることができる。得られた断片は、長さは、数百、数千、数万ヌクレオチドのオーダーであってもよい。いくつかの実施形態において、断片はサイズが２００～１０００塩基対、またはサイズが３００～８００塩基対、約２００、約３００、約４００、約５００、約６００、約７００、約８００、約９００、または約１０００塩基対であるが、それらはそのように限定されるものではない。核酸は、限定されるものではないが、機械的、酵素的または化学的手段を含めたいずれかの手段によっても断片化することができる。例は剪断、音波処理、噴霧化、エンドヌクレアーゼ（例えば、ＤＮａｓｅ　Ｉ）消化、ＰＣＲ増幅のような増幅、あるいは好ましくは所望の長さの核酸断片を生じさせるための当該分野で知られたいずれかの他の技術を含む。本明細書中で用いるように、断片化は、標的核酸のより小さなサイズの断片の集団を生じさせるための増幅の使用も含む。すなわち、標的核酸を融解させ、次いで、２（好ましくは、それよりも大）の増幅プライマーにアニールし、次いで、例えば、（Ｔａｑのような）熱安定性ポリメラーゼを用いて増幅することができる。例は、絶対的な平行ＰＣＲ-ベースの増幅である。断片化に続いて、特定の長さまたはサイズの断片を豊富化し、または単離するためのサイズ選択技術を行うことができる。そのような技術は当該分野でやはり知られており、限定されるものではないが、ゲル電気泳動またはＳＰＲＩを含む。

【０５２５】

別法として、既に十分小さなサイズ（または長さ）である標的核酸を用いることができる。そのような標的核酸は、エクソン豊富化プロセスに由来するものを含む。かくして、より長い標的核酸を（ランダムにまたは非-ランダムに）断片化するよりもむしろ、標的は、天然に存在するか、または（前記したような）ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、エクソン、ＰＣＲ産物等のようなより短い使用可能な長さに単離することができる核酸であってよい。配列決定に先立ってエクソンのような配列を単離し、および／または豊富化する方法については、Ａｌｂｅｒｔ　ｅｔ　ａｌ　Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２００７　４（１１）：９０３－９０５（エクソンおよび遺伝子座－特異的領域のマイクロアレイハイブリダイゼーション）、Ｐｏｒｒｅｃａ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２００７　４（１１）：９３１－９３６、およびＯｋｏｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２００７　４（１１）：９０７－９０９参照。

【０５２６】

いくつかの実施形態において、サイズが選択された標的核酸を、５および３鋳末端の双方のアダプター配列に連結する。これらのアダプター配列は標的核酸を増幅するのに用いられる、増幅プライマー配列に相補的な配列を含む。１つのアダプター配列は、配列決定プライマーに対して相補的な配列も含むことができる。反対アダプター配列は、限定されるものではないが、ビーズのような固体支持体への核酸の結合を容易とする部位を含むことができる。そのような部位の例はビオチン分子（またはＤｉｅｈｌ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｔｈｏｄｓ，　２００６，３（７）：５５１－５５９によって記載された二重ビオチン部位）であり、そのような標識された核酸は、従って、アビジンまたはストレプトアビジン基を有する固体支持体に結合させることができる。用いることができるもう１つの部位は、ＮＨＳ－エステルおよびアミン親和性対である。本発明は、この点に関して限定されず、当業者であればこれらの親和性対を他の結合対で置き換えることができることが理解されるべきである。得られた核酸は、本明細書中においては、鋳型核酸という。鋳型核酸は少なくとも標的核酸を含み、通常、５’および３’両末端の標的に加えて、ヌクレオチド配列を含む。

【０５２７】

いくつかの実施形態において、鋳型核酸は自己アニールが可能であり、それにより、ヌクレオチド三リン酸を取り込むべき３’末端を作り出す。そのような場合、鋳型は鋳型およびプライマー双方として作用するので、別々の配列決定プライマーに対する必要性は無い。ピロ配列決定反応における自己－アニーリング鋳型の使用の議論については、Ｅｒｉ

ｋｓｓｏｎ ｅｔ ａｌ．Ｅｌｅｃｔｒｏｐｈｏｒｅｓｉｓ ２００４ ２５：２０－２７参照。

【０５２８】

なお他の実施形態において、鋳型は、それから（ビーズ結合鋳型の遊離末端において）好ましくはアダプター配列内でニックされる、二本鎖（または部分的に二本鎖）で用いられる。二本鎖鋳型における開きは、ＤＮＡポリメラーゼのようなポリメラーゼがニックされた部位で進入し、ヌクレオチド取込みを始めるのを可能とする。これらの開きは、制御された様式で鋳型に導入することができる。特に、ＤＮＡニッカーゼ（すなわち、この場合にはニッキング酵素）が作用する配列は既知である（すなわち、５’ＧＡＧＴＣ３’）からである。これらのコンセンサスニッキング標的配列の議論については、Ｚｙｒｉｎａ ｅｔ ａｌ．参照。

【０５２９】

いくつかの例においては、スペーサーを用いて、ビーズのような固体支持体から鋳型核酸（特に、その中に含まれる標的核酸配列）を遠ざける。これは、例えば、ビーズに最も近い標的の末端の配列決定を容易とする。適当なリンカーの例は当該分野で知られており（Ｄｉｅｈｌ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｔｈｏｄｓ，２００６，３（７）：５５１－５５９参照）、限定されるものではないが、ｉＳｐ１８のような炭素－炭素リンカーを含むが、それに限定されない。

【０５３０】

鋳型核酸が結合される固体支持体は、本明細書中においては、「捕獲固体支持体」という。もし固体支持体がビーズであれば、そのようなビーズは本明細書中については「捕獲ビーズ」という。ビーズは、限定されるものではないが、セルロース、セルロース誘導体、ゼラチン、アクリル樹脂、ガラス、シリカゲル、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）、ビニルおよびアクリルアミドのコポリマー、ポリスチレン、ジビニルベンゼン等で架橋されたポリスチレン（Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １９６４，３，１３８５－１３９０参照）、ポリアクリルアミド、ラテックスゲル、デキストラン、架橋されたデキストラン（例えば、ＳｅｐｈａｄｅｘＴＭ）、ゴム、シリコン、プラスチック、ニトロセルロース、天然スポンジ、金属、アガロースゲル（ＳｅｐｈａｒｏｓｅＴＭ）を含めたいずれかの材料で作成することができる。１つの実施形態において、ビーズはストレプトアビジンでコーティングされたビーズである。ビーズの直径は、より小さなビーズを必要とするより大きなアレイ（および、かくして、より小さなサイズのウェル）と共に用いられるｃｈｅｍＦＥＴおよびマイクロウェルアレイの密度に依存するであろう。一般に、ビーズのサイズは約１～１０μＭ、より好ましくは２～６μＭである。いくつかの実施形態において、ビーズは約５．９１μＭであり、他方、他の実施形態において、ビーズは約２．８μＭである。なお他の実施形態において、ビーズは直径が約１．５μｍ、または約１μｍである。ビーズは形状が完全な球形であってもなくてもよいのは理解されるべきである。また、他のビーズを用いることができ、核酸をビーズに付着させるための他のメカニズムを用いることができるのも理解されるべきである。いくつかの例において、捕獲ビーズ（すなわち、配列決定反応がその上で起こるビーズ）は、増幅ビーズを含めた鋳型調製ビーズと同一である。

【０５３１】

本発明の重要な態様では、複数の異なる鋳型核酸を同時に配列決定することが考えられる。これは、本明細書中で記載されたセンサーアレイを用いて達成することができる。１つの実施形態において、センサーアレイはマイクロウェルのアレイ（またはそれらの用語は本明細書中においては相互交換可能に用いられるので、反応チャンバーまたはウェル）に重ねられ、(および／またはそれと一体化され)、但し、マイクロウェル当たり少なくとも１つのセンサーがあるものとする。複数のマイクロウェルには、鋳型核酸の同一コピーの集団が存在する。いずれかの２つのマイクロウェルが同一の鋳型核酸を運ぶ要件はないが、いくつかの例においては、そのような鋳型は重複配列を共有することができる。かくして、各マイクロウェルは鋳型核酸の複数の同一コピーを含み、マイクロウェル間の鋳型

が異なっていてもよい。

【０５３２】

マイクロウェルは、アレイの間でサイズが変化してもよい。マイクロウェルのサイズは断面で記載してもよい。断面はウェルの深さ（または高さ）に平行な「スライス」をいうことができる、あるいはそれはウェルの深さ（または高さ）に垂直なスライスであってよい。

【０５３３】

これらのマイクロウェルのサイズは、高さに対する幅（または直径）の比率の換算で記載してもよい。いくつかの実施形態においては、この比率は１：１～１：１．５である。ウェルサイズに対するビーズ（例えば、ウェルの幅、直径または高さに対するビーズの直径）は０．６～０．８の範囲にあるのが好ましい。

【０５３４】

マイクロウェルは断面が四角形でもよいが、それはそのように限定されるものではない。（ウェルの深さに垂直な断面における）マイクロウェルの底部における寸法は１．５μｍ×１．５μｍであってよく、あるいはそれは１．５μｍ×２μｍであってよい。種々の直径が実施例によって示されており、限定されるものではないが、１００μｍ、９５μｍ、９０μｍ、８５μｍ、８０μｍ、７５μｍ、７０μｍ、６５μｍ、６０μｍ、５５μｍ、５０μｍ、４５μｍ、４０μｍ、３５μｍ、３０μｍ、２５μｍ、２０μｍ、１５μｍ、１０μｍ、９μｍ、８μｍ、７μｍ、６μｍ、５μｍ、４μｍ、３μｍ、２μｍ、１μｍまたはそれ未満、またはおよそ、それらの直径を含む。いくつかの特別な実施形態において、直径は４４μｍ、３２μｍ、8μｍ、4μｍまたは１，５μｍまたはおよそ、それらであってよい。種々の高さが実施例に示されており、限定されるものではないが、１００μｍ、９５μｍ、９０μｍ、８５μｍ、８０μｍ、７５μｍ、７０μｍ、６５μｍ、６０μｍ、５５μｍ、５０μｍ、４５μｍ、４０μｍ、３５μｍ、３０μｍ、２５μｍ、２０μｍ、１５μｍ、１０μｍ、９μｍ、８μｍ、７μｍ、６μｍ、５μｍ、４μｍ、３μｍ、２μｍ、１μｍまたはそれ未満、またはおよそそれらの高さを含む。いくつかの特別な実施形態において、高さは５５μｍ、４８μｍ、３２μｍ、１２μｍ、８μｍ　６μｍ、４μｍ、２．２５μｍ、１．５μｍ、またはそれ未満、またはおよそそれらであってよい。本発明の種々の実施形態では、これらの直径のいずれかとこれらの高さのいずれかとの組合せが考えられる。なお他の実施形態において、反応ウェルの寸法は（μｍで表わした直径×μｍで表わした高さが）４４×５５、３２×３２、３２×４８、８×８、８×１２、４×４、４×６、１．５×１．５または１．５×２．２５であってよい。

【０５３５】

反応ウェルの容量は、ウェル寸法に基づいて（アレイの間の、好ましくは、単一のアレイ内ではない）範囲とすることができる。この容量は１００ピコリットル（ｐＬ）、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、２０、１０またはそれ未満のｐＬ、またはおよそそれらであってよい。重要な実施形態において、ウェルの容量は、０．５ｐＬと等しいか、またはそれ未満、０．１ｐＬと等しいかまたはそれ未満、０．０５ｐＬと等しいか、またはそれ未満、０．０１ｐＬと等しいか、またはそれ未満、０．００５ｐＬと等しいか、またはそれ未満、または０．００１ｐＬと等しいか、またはそれ未満を含めた、１ｐＬ未満である。容量は０．００１～０．９ｐＬ、０．００１～０．５ｐＬ、０．００１～０．１ｐＬ、０．００１～０．０５ｐＬ、または０．００５～０．０５ｐＬであってよい。特定の実施形態において、ウェルの容量は７５ｐＬ、３４ｐＬ、２３ｐＬ、０．５４ｐＬ、０．３６ｐＬ、０．０７ｐＬ、０．０４５ｐＬ、０，００２４ｐＬ、または０．００４ｐＬである。各マイクロウェル中の複数の鋳型は（例えば、核酸が負荷されたビーズを介して）マイクロウェルに導入してもよく、あるいはそれはマイクロウェルそれ自体中で生じさせてもよい。複数とは、本明細書中においては、少なくとも２つと定義され、マイクロウェル中の、または核酸負荷ビーズ上の鋳型核酸の関係では、数十、数百、数千、数万、数十万、数百万、またはそれを超える鋳型核酸のコピーを含む。コピーの数についての制限は、（例えば、ビーズ上の、またはマイクロウェルの壁上の）鋳型核酸についての結

合部位の数、ビーズのサイズ、鋳型核酸の長さ、該複数を生じさせるのに用いられる増幅反応の程度等に依存するであろう。一般に、シグナル対ノイズ比をできる限り多く増大させるためには、ウェル当たりの所与の鋳型の多くのコピーを有するのが好ましい。増幅、およびビーズのような固体支持体への核酸のコンジュゲーションは、限定されるものではないが、Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ ａｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ２００５ ４３７（１５）：３７６－３８０および付随する補足的資料によって記載されたエマルジョンＰＣＲ(すなわち、油中水型エマルジョン増幅)を含めた多数の方法で達成することができる。いくつかの実施形態において、該増幅は代表的増幅である。代表的な増幅は、いずれの核酸種の相対的表示も変更しない増幅である。ウェルは、一般には、合成反応に必要な、配列決定プライマー、ポリメラーゼおよび他の基質または触媒を含む。

【０５３６】

配列決定すべき鋳型核酸でのいずれかの捕獲（すなわち、配列決定）ビーズの飽和の程度は１００％でなくてもよい。いくつかの実施形態において、１０％～１００％の飽和レベルが存在する。本明細書中で用いるように、鋳型での捕獲ビーズの飽和の程度とは、鋳型にコンジュゲートしたビーズ上の部位の割合をいう。いくつかの例において、これは少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、であってよく、あるいはそれは１００％であってもよい。

【０５３７】

配列決定プライマーおよびポリメラーゼの量は飽和レベルを超えた飽和性であってよく、あるいはいくつかの例においては、飽和レベル未満であってよいのは理解されるであろう。本明細書中で用いるように、配列決定プライマーまたはポリメラーゼの飽和レベルは、各々、あらゆる鋳型核酸が配列決定プライマーにハイブリダイズするか、あるいはポリメラーゼによって結合されるレベルである。かくして、飽和量は、単一ビーズ上の鋳型の数に等しいポリメラーゼまたはプライマーの数である。いくつかの実施形態において、該レベルは、鋳型核酸のレベルの少なくとも２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍またはそれよりも大を含めたこれを超えるレベルである。他の実施形態において、ポリメラーゼおよび／またはプライマーの数は、単一ウェル中の単一ビーズ上の鋳型の数の１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または１００％までであってよい。

【０５３８】

かくして、例えば、ウェル中にある前、またはウェル中にある間、鋳型核酸を、（増幅プライマー配列中の、または標的核酸の30末端に連結されたもう１つのアダプター配列における）鋳型核酸の30末端に位置するその相補的配列に結合する配列決定プライマーと共に、およびその相補的配列へのプライマーのハイブリダイゼーションを促進するおよび鋳型核酸へのポリメラーゼの結合を促進する時間および条件下でのポリメラーゼと共にインキュベートされる。プライマーは実質的にいずれの配列のものとすることもでき、但し、それはユニークであるのに十分長いものとする。ハイブリダイゼーション条件は、プライマーが、鋳型の３’末端のその真の相補体のみにハイブリダイズするようなものである。適当な条件はＭａｒｇｕｌｉｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ２００５ ４３７（１５）：３７６－３８０および付随する補足的資料に開示されている。

【０５３９】

本明細書中に記載されるように、鋳型核酸は、異なる鋳型が同一の５末端および同一の３鋳末端を有するように作成することができる。しかしながら、いくつかの実施形態においては、本発明では複数の鋳型集団の使用が考えられ、ここに、所与の複数の各部材は同一の３’末端を共に有するが、異なる鋳型集団はそれらの３’末端配列に基づいて相互に異なる。例として、本発明では、いくつかの例において、１を超える対象または源からの核酸の配列決定が考えられる。第一の源からの核酸は第一の３’配列を有することができ、第二の源からの核酸は第二の３’配列を有することができ、等であり、但し、第一および第二の３’配列は異なるものとする。この点に関し、典型的にはユニークな配列である

３’末端をバーコードまたは識別子として用いて、所与のウェル中の特定の核酸の源を標識（または同定）することができる。バーコードでの核酸の標識、続いての配列決定の議論については、Ｍｅｙｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００７ ３５（１５）：ｅ９７を参照することができる。いくつかの例において、（もし用いるならば）配列決定プライマーを、ビーズをウェルに負荷（または導入する）に先立って、または負荷の後に、鋳型にハイブリダイズすることができる（またはアニールすることができる；というのは該用語が本明細書中のおいては相互交換可能に用いられるべきである）。

【０５４０】

しかしながら、あらゆる個々の鋳型上の５０および３０末端は、好ましくは、配列が異なる。特に、鋳型は同一のプライマー結合配列を共に有する。これは、マイクロウェルを横切っての同一のプライマーの使用を促進し、また、同様な（または同一）程度のプライマーハイブリダイゼーションがマイクロウェルを横切って起こるのを確実とする。一旦、配列決定プライマーのような相補的なプライマーにアニールすれば、鋳型は、複合体においては、本明細書中では、鋳型／プライマーハイブリッドという。このハイブリッドにおいては、鋳型の１つの領域は二本鎖であり（すなわち、そこでは、それはその相補的プライマーに結合しており）、および１つの領域は一本鎖である。ヌクレオチドの、プライマーの末端への取込みのための鋳型として作用するのはこの一本鎖領域であり、かくして、本発明に従って最終的に配列決定されるのはやはりこの一本鎖領域である。

【０５４１】

適当なポリメラーゼは、限定されるものではないが、ＤＮＡポリメラーゼ、ＲＮＡポリメラーゼ、またはそのサブユニットを含み、但し、それは、鋳型に基づき、ハイブリダイズしたプライマーから出発して、新しい核酸ストランドを合成できるものとする。適当なポリメラーゼサブユニットの一例は、３’～５’エキソヌクレアーゼ活性を欠如するＥ．ｃｏｌｉ ＤＮＡポリメラーゼＩのクレノウ断片のエキソバージョンである。他のポリメラーゼは、Ｔ４ ｅｘｏ－、Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ、およびＢｓｔポリメラーゼを含む。ポリメラーゼは溶液中で遊離していてもよく（および洗浄およびｄＮＴＰ溶液中に存在してもよく）、あるいはそれは、例えば、ビーズ（または対応する固体支持体）に、またはｃｈｅｍＦＥＴの壁に結合していてもよいが、好ましくは、ＩＳＦＥＴ表面それ自体には結合していない。もう１つの態様において、本発明は、複数の鋳型核酸を複数の反応チャンバー中に配置することを含む、核酸を配列決定する方法を提供し、各反応チャンバーはｃｈｅｍＦＥＴと接触している。配列決定は、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸を、順次、配列決定プライマーの３’末端に取り込み、次いで、１以上の既知のヌクレオチド三リン酸の取込みを検出することによって、新しい核酸ストランドを合成することを含む。取込みは、ＤＮＡポリメラーゼによって行われる。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは鋳型に対して高い親和性を有し、１００ｂｐ、２５０ｂｐ、５００ｂｐ、７５０ｂｐまたは１０００ｂｐさえの加工性を有する。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは高ｐＨ条件において高い活性および高い触媒速度を有する。いくつかの実施形態において、反応混合物のｐＨは約７～１０、好ましくは約９である。いくつかの実施形態において、酵素はｄＮＴＰの低い濃度において、高い活性および高い触媒速度を有する。いくつかの実施形態において、ｄＮＴＰの濃度は５０μＭ、４０μＭ、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ、好ましくは２０μＭ以下である。いくつかの実施形態において、酵素は、反応混合物が低いイオン強度のものである場合、高い活性、触媒速度を有する。いくつかの実施形態において、$MgCl_2$または$MnCl_2$の濃度は１００μＭ以下である。いくつかの実施形態において、Ｔｒｉｓの濃度は０．５ｍＭ以下である。

【０５４２】

本発明の種々の態様は、低イオン強度溶液または環境の存在下で、（例えば、配列決定プライマーのような）予め存在する核酸へのヌクレオチドの取込みに関する。本明細書中で用いる場合、低イオン強度溶液は、３ｍＭに等しいか、またはそれ未満の合計イオン濃度であるイオン濃度を有する溶液である。低イオン強度溶液の一例は、１００μＭ未満の

$MgCl_2$を有する０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ溶液である。$MgCl_2$濃度は９０μＭと等しいか、またはそれ未満、８０μＭと等しいか、またはそれ未満、７０μＭと等しいか、またはそれ未満、６０μＭと等しいか、またはそれ未満、５０μＭと等しいか、またはそれ未満、４０μＭと等しいか、またはそれ未満、３０μＭと等しいか、またはそれ未満、２０μＭと等しいか、またはそれ未満、１０μＭと等しいか、またはそれ未満であってよい。従って、いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは低いイオン強度において機能できなければならない。実施例において記載されたように、ポリメラーゼは好ましくは、低いイオン強度条件において、プライマー／鋳型ハイブリッドを認識し、それに結合し、例えば、ポリメラーゼの増大した加工性をもたらすハイブリッドに対する十分な親和性を有し、プライマーを延長できる。実施例２はＴ４　ｅｘｏ－、Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ、Ｂｓｔ、およびクレノウｅｘｏ－ポリメラーゼに対するこれらの種々の特性を示す。該実施例は、さらに、これらのポリメラーゼは、ｃｈｅｍＦＥＴと接触したシリコンウェルとの関係で、ヌクレオチドをプライマーに取り込み、それにより、プライマーを延長できる。

【０５４３】

いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは、ｄＮＴＰの低い濃度において、ヌクレオチドを取り込むこともできなければならない。いくつかの実施形態において、ｄＮＴＰの低い濃度は、２０μＭ未満の合計ｄＮＴＰである濃度である。ｄＮＴＰの反応ウェルへの同時導入よりはむしろ順次の導入が考えられる実施形態において、この濃度は、反応ウェルに加えられた各ｄＮＴＰの濃度に関することは当業者によって理解されるであろう。他の実施形態において、（ｄＮＴＰ当たり、あるいはいくつかの例においては、反応の間のいずれかの時間に反応ウェルに存在する合計ｄＮＴＰ当たりのいずれかの）ｄＮＴＰ濃度は１９μＭと等しいか、またはそれ未満、１８μＭと等しいか、またはそれ未満、１７μＭと等しいか、またはそれ未満、１６μＭと等しいか、またはそれ未満、１５μＭと等しいか、またはそれ未満、１４μＭと等しいか、またはそれ未満、１３μＭと等しいか、またはそれ未満、１２μＭと等しいか、またはそれ未満、１１μＭと等しいか、またはそれ未満、１０μＭと等しいか、またはそれ未満、９μＭと等しいか、またはそれ未満、８μＭと等しいか、またはそれ未満、７μＭと等しいか、またはそれ未満、６μＭと等しいか、またはそれ未満、５μＭと等しいか、またはそれ未満、４μＭと等しいか、またはそれ未満、３μＭと等しいか、またはそれ未満、２μＭと等しいか、またはそれ未満、１μＭと等しいか、またはそれ未満である。いくつかの実施形態において、ｄＮＴＰ濃度は０～２０μＭの間、１～１９μＭの間、または５～１５μＭの間である。

【０５４４】

本発明のいくつかの実施形態は、ポリメラーゼが十分な加工性を有することを必要とする。本明細書中で用いる場合、加工性は、単一のプライマー／鋳型ハイブリッドに結合したままであるポリメラーゼの能力である。本明細書中で用いる場合、それは、プライマー／鋳型ハイブリッドからのポリメラーゼの解離に先立って、ポリメラーゼが（配列決定プライマーのような）核酸に取り込まれるヌクレオチドの数によって測定される。いくつかの実施形態において、ポリメラーゼは少なくとも１００ヌクレオチドの加工性を有するが、他の実施形態においては、それは少なくとも２００ヌクレオチド、少なくとも３００ヌクレオチド、少なくとも４００ヌクレオチド、または少なくとも５００ヌクレオチドの加工性を有する。ポリメラーゼの加工性がより高くなれば、解離に先立って取り込むことができるヌクレオチドは多くなり、従って、配列決定することができる核酸はより長くなるのは当業者によって理解されるであろう。換言すれば、低い加工性を有するポリメラーゼ（例えば、５つの取込み後にハイブリッドから解離するポリメラーゼ）は、本発明のいくつかの態様によると、長さが５ヌクレオチドの配列を供するに過ぎないであろう。

【０５４５】

本発明のなお他の態様および実施形態では、高いｐＨ（すなわち、７を超えるｐＨ）においてヌクレオチド取込みを行うことが考えられる。かくして、いくつかの反応は、７．５と等しいかまたはそれよりも大きな、８と等しいかまたはそれよりも大きな、８．５と

等しいかまたはそれよりも大きな、９と等しいかまたはそれよりも大きな、９．５と等しいかまたはそれよりも大きな、１０と等しいかまたはそれよりも大きな、１１と等しいかまたはそれよりも大きなｐＨで行われる。ポリメラーゼは、７～１１、７．５～１０．５、８～１０、８．５～９．５、または９のｐＨにおいて、（配列決定プライマーのような）核酸にヌクレオチドを取り込むものであってよい。

【０５４６】

本明細書中における教示に基づき、本発明のいくつかの態様および実施形態は、低いイオン強度の溶液、および／または低いｄＮＴＰ濃度、および／または高いｐＨにおいて高い活性を示すポリメラーゼを使用するであろうことは理解されるであろう。取込みの適当な速度は実施形態に依存して変化するであろう。いくつかの実施形態においては、ヌクレオチド取込みは、反応チャンバー内の試薬の拡散よりも速い速度で起こる。例えば、１つの実施形態において、ヌクレオチド取込みは、反応ウェル中のｄＮＴＰの、好ましくは、底部または反応ウェルに向けての（すなわち、センサーへの）ｄＮＴＰの拡散の速度を超える速度で起こる。これらの例において、新しく導入されたｄＮＴＰは、取込み反応が完了するまで、センサーに向けて拡散しない。その時点において、残存するｄＮＴＰ（すなわち、取り込まれていないｄＮＴＰ）はハイブリッド（当てはまる場合にはビーズ）を通過し、センサー底部に向けて拡散する。これらの例において、取込み反応が完了するまで、ビーズおよびウェル底部の方向に拡散するｄＮＴＰは、ウェル底部に到達さえする前まで用いられる。

【０５４７】

一般には、取込みのより早い速度が好ましいが、ポリメラーゼがヌクレオチドを取り込む速度は特定の適用に依存して変化するであろう。（配列決定プライマーのような）単一の核酸への単一のポリメラーゼの取込み速度は、いくつかの例においては、ウェルにおける取り込まれていないヌクレオチド三リン酸の拡散、特に、ウェルの底部に向けてのそれらの拡散の速度よりも速い。「配列決定」の速度は、チップ上のアレイの数、ウェルのサイズ、反応が行われる温度および条件等に依存するであろう。本明細書中において他の個所で議論されるように、拡散速度は、取り込まれていないヌクレオチド三リン酸の移動を効果的に妨げることによって操作することもできる。これは、例えば、反応チャンバー中の粘度を増大させることによって成すことができる。これは、反応チャンバーに、限定されるものではないが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはＰＥＡのような増粘剤を加えることによって達成することができる。また、核酸は、反応ウェル中でのパッキングビーズの使用によって遅延させることもできる。本発明のいくつかの実施形態において、４ヌクレオチドサイクルための時間は５０～１００秒、６０～９０秒、または約７０秒であってよい。他の実施形態において、このサイクル時間は、６０秒と等しい、またはそれ未満、５０秒と等しい、またはそれ未満、４０秒と等しい、またはそれ未満、または３０秒と等しい、またはそれ未満、を含めた７０秒と等しい、またはそれ未満とすることができる。約４００塩基の読みの長さは、３０分、６０分、１．５時間、２時間、２．５時間、３時間、３．５時間、４時間、４．５時間、またはいくつかの例においては、５時間以上のオーダーを取ることができる。これらの時間は数メガ塩基、より好ましくは数ギガ塩基の配列の配列決定に十分であり、より大きな量の配列はより密なアレイ（すなわち、より大きな数の反応ウェルおよびＦＥＴを持つアレイ）の使用、および／または多数のアレイの同時使用を介して達成することができる。

【０５４８】

表２は、本明細書中で考えられる種々のアレイ、チップおよび系の構成に基づいて配列決定する速度についての見積もりを提供する。本発明では、表２に示されたものよりも密なアレイさえ考えられるのは理解されるべきである。これらのより密なアレイは、０．７μｍビーズで用いることができる１．４μｍのピッチおよび１μｍのウェルサイズを持つ９０ｎｍ　ＣＭＯＳ、または０．３μｍビーズで用いることができる１μｍのピッチおよび０．５μｍのウェルサイズを持つ６５ｎｍ　ＣＭＯＳ、または０．２μｍビーズで用いることができる０．７μｍのピッチおよび０．３μｍのウェルサイズを持つ４５μｍ　Ｃ

ＭＯＳとして特徴付けることができる。

【表３】

表２　反応パラメーターおよび読み速度

チップタイプ	A	B	C	D	E
画素／ＣＭＯＳ	2.8um / 0.18um	5.1um / 0.35um	5.1um / 0.35um	9um / 3.5um	9um / 0.35um
チップサイズ	17.5 x 17.5	17.5 x 17.5	12 x 12	17.5 x 17.5	12 x 12
# 可能な読み	27,800,000	7,220,000	2,950,000	2,320,000	1,060,000
読み長（推定）	400	400	400	400	400
#チップ／ボード	4	4	4	4	4
ビーズ負荷有効性	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
# 実行当たりの生じたＧｂｐ＊	35.6	9.2	3.8	3.0	1.4
#倍数ＨＧ＊＊（３Ｇｂｐ／ＨＧ）	11.86	3.08	1.26	0.99	0.45

＊Ｇｂｐはギガ塩基である。
＊＊ＨＧはヒトゲノムである。

【０５４９】
鋳型核酸は、限定されるものではないが、緩衝液、洗剤、ジチオスレイトール（ＤＴＴ，Ｃｌｅｌａｎｄの試薬）のような還元剤、一本鎖結合蛋白質等を含めた他の試薬および／または補因子と、ウェルの前でおよび／またはウェル中でやはり接触している。１つの実施形態において、ポリメラーゼは１以上の一本鎖結合蛋白質を含む（例えば、ポリメラーゼは、１以上の一本鎖結合蛋白質を含むように作成されたものであってよい）。１つの実施形態において、鋳型核酸は、流動チャンバーおよびそのウェルへのその導入に先立ってプライマーおよびポリメラーゼと接触される。

【０５５０】
１つの実施形態において、核酸負荷ビーズは流動チャンバーおよび、最終的には、ｃｈｅｍＦＥＴアレイ上方に位置したウェルに導入される。該方法は、流動チャンバー中の各ウェルが唯一の核酸負荷ビーズを含有することを必要とし、これは、ウェル当たり２つのビーズの存在が、２つの異なる鋳型核酸に由来する使用不可能な配列決定情報を生じさせるからである。実施例は、磁性ビーズとの関係で例示的ビーズ負荷プロトコルの簡単な記載を供する。同様なアプローチを用いて、他のビーズタイプを負荷することができようことは理解されるべきである。該プロトコルは流動チャンバーのウェル中でのトラップされた空気の尤度および発生率を低下させ、流動チャンバーの全ウェル中に核酸負荷ビーズを均一に分配し、および流動チャンバー中での過剰のビーズの存在および／または蓄積を回避することが示されている。いくつかの実施形態において、マイクロウェルアレイは、マイクロウェルへのビーズの負荷の程度を決定し、いくつかの例においては、ビーズを有するマイクロウェルおよびビーズを欠如するマイクロウェルを同定するように分析できる。いずれのマイクロウェルがビーズを欠如するかを知る能力は、配列決定反応のためのもう１つの内部対照を供する。ウェル中のビーズの存在または不存在は、標準的な顕微鏡観察によって、あるいはセンサーそれ自体によって決定することができる。図６１ＡおよびＢは、マイクロウェルアレイの光学顕微鏡観察（Ａ）から、およびマイクロウェルアレイの下にあるセンサーアレイ（Ｂ）から捕獲されたイメージである。双方のイメージ中の白色スポットは、各々、ウェル中のビーズを表す。そのようなマイクロウェルの観察は、通常、実行当たり１回なされるに過ぎない。というのは、特に、一旦マイクロウェル中に配置されたビーズはもう１つのウェルまで移動することは考えにくいからである。

【０５５１】
ウェルアレイ中の専有されたウェルのパーセンテージは、実行されるべき方法に依存して変化し得る。もし該方法が可能な最短時間で最大配列データを抽出することを狙っているならば、より高い専有が望ましい。もしスピードおよびスループット（ｔｈｒｏｕｇｈｏｕｔ）が臨界的でないならば、より低い専有が許容できる。従って、実施形態に依存して、適当な専有パーセンテージは、ウェルの少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％であってよい。本明細書中で用いる場合、専有とは、ウェル中での１つの核酸が負荷されたビーズの存在をいい、パーセンテージ専有とは、単一のビーズによって占有されたアレイ中の合計ウェルの割合をいう。１を超えるビーズによって専有されたウェルは、本発明で考えられる分析で用いることができない。

【０５５２】
最終的には、鋳型核酸の均一な集団を複数のウェルの各々に入れ、各ウェルは少なくとも１つのセンサー上に位置し、かくして、少なくとも１つのセンサーに対応している。先に議論したように、好ましくは、ウェルは、同一の鋳型核酸の少なくとも１０、少なくとも１００、少なくとも１０００、少なくとも10^4、少なくとも10^5、少なくとも10^6、またはそれを超えるコピーを含有する。同一の鋳型核酸は、鋳型が、配列の点で同一であることを意味する。最も好ましくは、ウェル内の全ての鋳型核酸はプライマーに均一

にハイブリダイズさせる。鋳型核酸のプライマーへの均一なハイブリダイゼーションは、ウェル中のあらゆる他の鋳型／プライマーハイブリッドと同じ位置における鋳型にプライマーがハイブリダイズすることを意味する（すなわち、プライマーに相補的な鋳型に沿った配列）。あらゆる鋳型上へのプライマーの均一な位置付けは、ウェル内での全ての新しい核酸ストランドの協調された合成を可能とし、それにより、より大きなシグナル対ノイズ比がもたらされる。

【０５５３】

いくつかの実施形態において、次いで、順次の順番にて、流動で、またはいずれかの他の適当な方法によって流動チャンバーおよび、かくして、ウェルに加える。ヌクレオチドはいずれの順序でも加えることができ、但し、それが既知のものであって、実行の全体を通じて一定に保たれた単純性のためのものであるとする。

【０５５４】

本明細書中で言及されたように、いくつかの実施形態においては、該方法はＰＰｉおよび取り込まれていないヌクレオチドの検出に依拠する。他の実施形態において、取り込まれていないヌクレオチドは検出されない。これは、例えば、ウェルに流入するｄＮＴＰがウェルからのＡＴＰを置き換えるように、ＡＴＰを洗浄緩衝液に加えることによって達成することができる。ＡＴＰは、ウェルに入るｄＮＴＰのイオン強度にマッチし、それは、ｄＮＴＰと同様な拡散プロフィールも有する。このようにして、配列決定反応の間におけるｄＮＴＰの流入および流出はｃｈｅｍＦＥＴにおいて測定に干渉しない。用いるＡＴＰの濃度は、用いるｄＮＴＰの濃度のオーダーである。

【０５５５】

いくつかの実施形態、特に、低いイオン強度の環境を用いる実施形態においては、ｄＮＴＰおよび／またはポリメラーゼは、限定されるものではないが、（例えば、$MgCl_2$の形態の）Mg^{2+}または（例えば、$MnCl_2$の形態の）Mn^{2+}のような二価カチオンと予めインキュベートされるであろう。限定されるものではないが、Ca^{2+}、Co^{2+}を含めた他の二価カチオンを用いることができる。このプレインキュベーション（および、かくして、ｄＮＴＰおよび／またはポリメラーゼの「プレ負荷」）は、もしそれが低いイオン強度の環境に存在さえすれば、ポリメラーゼは、適当なかつ必要な機能のために十分な量の二価カチオンに暴露されることを確実とすることができる。プレインキュベーションは、実施形態に依存して、１～６０分、５～４５分、または１０～３０分の間起こり得るが、本発明はこれらの時間範囲に限定されない。

【０５５６】

従って、配列決定サイクルは、以下のように進行する；（所望により、ＡＴＰを含有してもよい）洗浄緩衝液での流動チャンバー（およびウェル）の洗浄、流動チャンバー（およびウェル）への第一のｄＮＴＰ種（例えば、ｄＡＴＰ）の取込み、ＰＰｉおよび、次いで、（もし取込みが起こったならば）取り込まれていないヌクレオチドの放出および検出、または（本明細書中に記載されたメカニズムのいずれかによる）（もし取込みが起こらなかったら）取り込まれていないヌクレオチドのみの検出、洗浄緩衝液での流動チャンバー（およびウェル）の洗浄、（次のｄＮＴＰのフロースルーに先立ってできる限り多くの取り込まれていないヌクレオチドを除去するための）アピラーゼを含有する洗浄緩衝液での流動チャンバー（およびウェル）の洗浄、洗浄緩衝液での流動チャンバー（およびウェル）の洗浄、および第二のｄＮＴＰ種の導入。このプロセスは、全ての４つのｄＮＴＰ（すなわち、ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰおよびｄＴＴＰ）がチャンバーを通って流動し、新しく合成されたストランドに取り込まれるまで継続する。この４－ヌクレオチドサイクルは、限定されるものではないが、１０、２５、５０、１００、２００またはそれを超える回数を含めたいずれかの数の回数だけ反復することができる。サイクルの数は、配列決定されるべき鋳型の長さ、および反応試薬、特に、ｄＮＴＰストックおよび洗浄緩衝液を補充する必要性によって支配されるであろう。

【０５５７】

配列決定反応の一部として、ｄＮＴＰは、もしその相補的なヌクレオチドが、鋳型核酸

上のその同一位置に存在するならば、新しく合成されたストランドの３’（または第一の取り込まれたｄＮＴＰの場合における配列決定プライマー３’末端）に連結される（または本明細書中で用いられるように「取り込まれる」）。従って、導入されたｄＮＴＰの取込み（およびＰＰｉの同時放出）は、鋳型核酸における対応するヌクレオチドの同一性を示す。もしｄＮＴＰが取り込まれなかったならば、ｃｈｅｍＦＥＴの表面における取り込まれていないヌクレオチドに対応して、単一のイオンパルスのみが検出される。従って、相補的なヌクレオチドはその位置において鋳型に存在しなかったと結論することができる。もし導入されたｄＮＴＰが新しく合成されたストランドに取り込まれているならば、ｃｈｅｍＦＥＴは、ＰＰｉに対応する第一のイオンパルス、および取り込まれていないヌクレオチドに対応する第二のパルスを検出するであろう。さらに、例えば、第一の（ＰＰｉ）イオンパルス（すなわち、t_0）および第二の（取り込まれていないヌクレオチド）イオンパルス（すなわち、t_1）についての時間の間の時間差を測定することにより、取り込まれたｄＮＴＰの数を定量することが可能である。時間差がより大きくなれば、取り込まれたヌクレオチドの数はより大きくなる。結果は、鋳型中のホモポリマーストレッチ（例えば、ポリＡ、ポリＴ、ポリＣ、またはポリＧ）の配列決定を通じて配列情報は失われないことになる。

【０５５８】

アピラーゼは、残存する取り込まれていないヌクレオチドを分解し、それを一リン酸に変換し、無機ホスフェートをプロセス中に放出する酵素である。取り込まれていない、および／または過剰に存在するｄＮＴＰを分解するのにそれは有用である。過剰のおよび／または取り込まれていないｄＮＴＰは、測定が完了した後に、かつ引き続いてのｄＮＴＰの導入前に全てのウェルから洗浄除去されるのが重要である。従って、異なるｄＮＴＰの導入の間におけるアピラーゼの添加は、そうでなければ配列決定データを曖昧にするであろう取り込まれていないｄＮＴＰを除去するのに有用である。

【０５５９】

前記したもののようなさらなる配列決定反応試薬は反応を通じて導入することができるが、いくつかの場合には、これは必要ないであろう。例えば、さらなるポリメラーゼ、ＤＴＴ、ＳＢＢ等はもし必要であれば加えてもよい。

【０５６０】

従って、本発明では、複数の異なる配列決定反応を同時に行うことが考えられる。複数の同一配列決定反応は、各専有されたウェルにおいて同時に起こっている。シグナル対ノイズ比を増大させるのは、各ウェル内でのｄＮＴＰのこの同時かつ同一取込みである。複数のウェル中で配列決定反応を同時に行うことによって、複数の異なる核酸は同時に配列決定される。

【０５６１】

該方法は、いずれかの所与のｄＮＴＰに対する全てのマイクロウェルを横切っての完全な取込みを最大化し、シグナル検出が完了した後に、ウェルに残る取り込まれていないｄＮＴＰの数を低下または減少させ、およびできる限り高いシグナル対ノイズ比を達成することを狙っている。

【０５６２】

配列決定反応は、ある範囲の温度で実行することができる。典型的には、反応は３０～６０℃、３５～５５℃、または４０～４５℃の範囲で実行される。核酸における二次構造の形成を妨げる温度で反応を実行するのが好ましい。しかしながら、これは、プライマー（および新しく合成されたストランド）の、より高温における、鋳型核酸への結合、およびアピラーゼの低下した半減期とバランスしていなければならない。適当な温度は約４１℃である。洗浄緩衝液およびｄＮＴＰ溶液を含めた溶液は、一般に、ウェル中の温度を変化させないために、これらの温度まで温められる。しかしながら、アピラーゼを含有する洗浄緩衝液は、好ましくは、酵素の半減期を延長するために、より低温に維持される、。典型的には、この溶液は約４～１５℃、より好ましくは４～１０℃に維持される。低いイオン濃度での配列決定は配列決定プライマーのＴｍを、恐らくは、ポリメラーゼに対して

最適なそれ未満まで降下させることができると認められるであろう。従って、本発明では、配列決定プライマーは修飾された塩基、連結された核酸（ＬＮＡ）モノマー、ペプチド核酸（ＰＮＡ）モノマーのようなヌクレオチド修飾を含んでもよく、あるいは別法として、プライマーのＴｍを適当な範囲まで上昇させるのに副溝バインダーを用いることができようと考えられる。ヌクレオチド取込み反応は、非常に迅速に起こり得る。その結果、いくつかの例においては、反応の間における最大データ捕獲を確保するために、反応を遅らせ、あるいはウェル中での分析物の拡散を遅らせるのが望ましいであろう。試薬および／または副産物の拡散は、限定されるものではないが、パッキングビーズのウェル中への添加、および／またはウェル中でのポリエチレングリコール（例えば、捕獲ビーズおよび／またはパッキングビーズへ付着したＰＥＧ）のようなポリマーの使用を含めた多数の方法で遅くすることができる。また、パッキングビーズは、ｃｈｅｍＦＥＴ表面における試薬および／または副産物の濃度を増大させ、それにより、シグナルについてのポテンシャルを増加させる傾向がある。パッキングビーズの存在は、一般に、試料に対してより大きな倍数（例えば、２倍または４倍）を可能とする。

【０５６３】

データ捕獲速度は変化することができ、例えば、秒当たり１０～１００のフレームのいずれかの所とすることができ、用いるべきいずれかの速度の選択は、少なくとも部分的には、ウェルのサイズ、およびパッキングビーズの存在、または他の拡散制限技術によって指令されるであろう。より小さなウェルのサイズは、一般に、より早いデータ捕獲速度を必要とする。

【０５６４】

流動ベースの、かつウェルの頂部面が開いており、かつチップの全体にわたって流体と連通している本発明のいくつかの態様において、ウェルから外へのその拡散に先立って、放出されたＰＰｉまたは他の副産物（例えば、H^+）を検出するのが重要である。ウェルから外への反応副産物の拡散は（副産物はそのウェルにおいて検出されないゆえに）偽陰性、および（副産物を検出することができる）隣接または下流ウェルにおける潜在的偽陽性に導き、かくして、回避すべきである。ＰＥＧのようなパッキングビーズおよび／またはポリマーは、ウェル間の拡散および／またはクロス－トークの程度を低下させるのを助けることもできる。

【０５６５】

かくして、いくつかの実施形態において、核酸負荷ビーズに加えて、パッキングビーズを用いる。パッキングビーズは（超常磁性を含めて）磁性であってよいが、それらはそれに限定されるものではない。いくつかの実施形態において、パッキングビーズおよび捕獲ビーズは同一の材料で作成され（例えば、双方が磁性であり、双方がポリスチレン等）、他方、他の実施形態において、それらは異なる材料で作成される（例えば、パッキングビーズはポリスチレンであって、捕獲ビーズは磁性である）。パッキングビーズは、一般に、捕獲ビーズよりも小さい。サイズの差は変化することができ、５倍、１０倍、１５倍、２０倍以上であってよい。一例として、０．３５μｍ直径のパッキングビーズを、５．９１μｍの捕獲ビーズと共に用いることができる。そのようなパッキングビーズはＢａｎｇＬａｂｓのような源から商業的に入手可能である。捕獲ビーズに対するパッキングビーズの設置は変化し得る。例えば、パッキングビーズは捕獲ビーズを囲むことができ、それにより、捕獲ビーズがｃｈｅｍＦＥＴ表面と接触するのを妨げることができる。もう１つの例として、パッキングビーズを捕獲ビーズに続いてウェルに負荷することができ、その場合、捕獲ビーズはｃｈｅｍＦＥＴ表面に接触している。捕獲ビーズおよびｃｈｅｍＦＥＴ表面の間のパッキングビーズの存在は、ＰＰｉのような配列決定副産物の拡散を遅らせ、それにより、データ捕獲を容易とする。

【０５６６】

本発明では、さらに、ｃｈｅｍＦＥＴ表面の、捕獲ビーズに結合した鋳型核酸との接触、かくして、干渉を妨げるための、パッキングビーズ、または（本明細書中に記載された）ｃｈｅｍＦＥＴ表面への修飾の使用が考えられる。深さまたは高さが０．１～０．５μ

ｍであるパッキングビーズの層はこの相互作用を排除するであろう。

【０５６７】

配列決定反応には、アレイの分析を先行させて、ビーズの位置を決定することができる。流動の非存在下においては、バックグラウンドシグナル（すなわち、ノイズ）は約０．２５ｍＶ未満であるか、またはそれと等しいが、ＤＮＡ負荷捕獲ビーズの存在下では、そのシグナルは約１．０ｍＶ＝／－０．５ｍＶまで増加することが判明した。この増加は、ウェルをビーズで決定するのを可能とするのに十分である。

【０５６８】

本発明では、さらに、本明細書中に記載された方法に従って、配列決定反応を実行するのに必要な種々の試薬および使用指示書を含むキットが考えられる。

【０５６９】

１つの好ましいキットは洗浄緩衝液を収容する１以上の容器、各々が以下の試薬：ｄＡＴＰ緩衝液、ｄＣＴＰ緩衝液、ｄＧＴＰ緩衝液またはｄＴＴＰ緩衝液、ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰおよびｄＴＴＰストック、アピラーゼ、ＳＳＢ、ポリメラーゼ、パッキングビーズおよび、所望により、ピロホスファターゼのうちの１つを含有する１以上の容器を含む。重要なことには、キットは天然に生じるｄＮＴＰのみを含むことができる。キットは、実施例に記載された成分を含む１以上の洗浄緩衝液も含むが、それに限定されない。キットは、本発明の方法を示す図解を含めた、使用のための指示書も含むことができる。

【０５７０】

受容体およびリガンドの間の、あるいは結合対の２つの部材の間のまたは分子複合体の構成要素の間の相互作用はｃｈｅｍＦＥＴアレイを用いて検出することもできることが理解されるべきである。そのような相互作用の例は、核酸の相互に対するハイブリダイゼーション、蛋白質-核酸結合、蛋白質-蛋白質結合、酵素－基板結合、酵素－阻害剤結合、抗原－抗体結合などを含む。ＦＥＴインターフェースにおいて半導体電荷密度の変化を引き起こし、かくして、本明細書中に記載されたセンサーのソースからドレインへ流れる電流を変化させるいずれの結合またはハイブリダイゼーション事象も、本発明に従って検出することができる。

【０５７１】

これらの実施形態において、不動態化層（または恐らくは不動態化層上にコーティングされた中間層）は核酸（例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、ｃＤＮＡ等）、（いずれの性質のものでもあり得る）抗原、蛋白質（例えば、酵素、補因子、抗体、抗体断片等）等で機能性化されている。これらの物質の不動態化層へのコンジュゲーションは、（例えば、不動態化層の反応性基および結合すべき物質双方に結合する二感応性リンカーを用いて）直接的または間接的であり得る。

【０５７２】

例として、アミンまたはチオール基のような反応基を合成の間にいずれかのヌクレオチドにおいて核酸に加えて、二感応性リンカーのための付着点を供することができる。もう１つの例として、核酸は、Ｕｎｉ－Ｌｉｎｋ　ＡｍｉｎｏＭｏｄｉｆｉｅｒ、３－ＤＭＴ－Ｃ６－Ａｍｉｎｅ－ＯＮ_ＣＰＧ、ＡｍｉｎｏＭｏｄｉｆｉｅｒ　ＩＩ、Ｎ－ＴＦＡ－Ｃ６－ＡｍｉｎｏＭｏｄｉｆｉｅｒ、Ｃ６－ＴｈｉｏｌＭｏｄｉｆｉｅｒ、Ｃ６－ＤｉｓｕｌｆｉｄｅＰｈｏｓｐｈｏｒａｍｉｄｉｔｅａｎｄ　Ｃ６－Ｄｉｓｕｌｆｉｄｅ　ＣＰＧ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ,ＰａｌｏＡｌｔｏ，ＣＡ）のようなコンジュゲーション－成分試薬を取り込むことによって合成することができる。核酸を付着させるための他の方法は以下に議論する。

【０５７３】

本発明の１つの態様において、ｃｈｅｍＦＥＴアレイは、核酸アレイと組合せて提供される。短い核酸（例えば、オリゴヌクレオチド）またはより長い核酸（例えば、全長ｃＤＮＡ）の形態の核酸を本明細書中で記載されたアレイのｃｈｅｍＦＥＴ表面に供することができる。核酸アレイは一般に、その各々が、その１以上、好ましくはそれを超える核酸にコンジュゲートされている平面上の表面上の複数の物理的に規定された領域（例えば、

「スポット」）を含む。核酸は、通常、一本鎖である。所与のスポットにコンジュゲートされた核酸は通常は同一である。オリゴヌクレオチドアレイとの関係では、これらの核酸は、（長さが約１０、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０または１００ヌクレオチドを含めた）長さが１００ヌクレオチド未満のオーダーであってよい。もしアレイを用いて、（そのような遺伝子における突然変異またはそのような遺伝子の発現レベルを含めた）ある種の遺伝子を検出すれば、アレイは、その各々が、遺伝子を規定され、かつ潜在的に異なる配列にわたるオリゴヌクレオチドを含有する多数のスポットを含むことができる。次いで、これらのスポットを平面上の表面を横切って位置させて、アレイのハイブリダイゼーションおよび読出手段における位置関連効果を排除する。

【０５７４】

アレイはテストされるべき試料と接触させる。試料は、細胞、組織または塊（例えば、腫瘍）、アレイ、潜在的には下にあるセンサーアレイ等に対応する２次元アレイ上で成長させる細胞の集団からのゲノムＤＮＡ試料、ｃＤＮＡ試料であってよい。従って、そのようなアレイは、特定の遺伝子の、またはその発現の存在および／またはレベルを決定し、（限定されるものではないが、単一ヌクレオチド多形を含めた欠失、負荷、置換のような）特定の遺伝子内の突然変異を検出する等に有用である。

【０５７５】

試料核酸および固定化核酸の結合またはハイブリダイゼーションは、一般に、その用語は当該分野で理解されているように、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で行われる（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ｅｌ．「Ｍａｎｉａｔｉｓ」参照）。関連条件の例は（増大するストリンジェンシーの順番で）：２５℃、３７℃、５０℃および６８℃のインキュベーション温度；他の緩衝液系を用いる１０×　ＳＳＣ、６×　ＳＳＣ、４×　ＳＳＣ、１×　ＳＳＣ、０．１Ｘ　ＳＳＣ（ここに、ＳＳＣは０．１５Ｍ　ＮａＣｌおよび１５ｍＭクエン酸塩緩衝液）およびそれらの同等体の緩衝液濃度；０％、２５％、５０％、および７５％のホルムアミド濃度；５分～２４時間のインキュベーション時間；１、２、またはそれを超える洗浄工程；１、２、または１５分の洗浄インキュベーション時間；６×　ＳＳＣ、１×　ＳＳＣ、０．１×　ＳＳＣまたは脱イオン水の洗浄溶液を含む。例として、ハイブリダイゼーションは５０％ホルムアミドおよび４×　ＳＳＣで行い、続いて、５０℃にておよび１×　ＳＳＣと共に２×　ＳＳＣ／ホルムアミドの洗浄を行うことができる。

【０５７６】

核酸アレイは、ｃＤＮＡのような既に形成された核酸を特異的位置にてアレイ上に蒸着する（または、「スポットする」）ものを含む。核酸は、圧電沈着、限定されるものではないが、ポリ－Ｌ－リシンまたはポリピロールのようなポリマー層への核酸のＵＶ架橋、公開された米国特許出願第２００３／０１８６２６２号に記載されたシリコン被覆SiO_2への直接的コンジュゲーション、シラン化ｃｈｅｍＦＥＴ表面への直接的コンジュゲーションによって表面にスポットすることができる（例えば、Ｕｓｌｕ　ｅｔ　ａｌ．によって記載された３－アミノプロピルトリエトキシシラン（ＡＰＴＥＳ）で処理された表面）。

【０５７７】

核酸アレイは、（既知の配列のオリゴヌクレオチドのような）核酸がアレイ上に直接的に合成されたものも含む。核酸は、限定されるものではないが、微細なとがったピンでのガラススライドへの印刷、予め作成されたマスクを用いるフォトリソグラフィー、（ＤＬＰミラーのような）動的マイクロミラーデバイスを用いるフォトリソグラフィー、インクージェット印刷、またはミクロ電極アレイ上の電気化学のような当該分野で認められた技術を用いてアレイ上に合成することができる。また、Ｎｕｗａｙｓｉｒ　ｅｔ　ａｌ．２００２「Ｇｅｎｅ　ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ａｎａｌｙｓｉｓ　ｕｓｉｎｇ　ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ　ａｒｒａｙｓ　ｐｒｏｄｕｃｅｄ　ｂｙ　ｍａｓｋｌｅｓｓ　ｐｈｏｔｏｌｉｔｈｏｇｒａｐｈｙ」Ｇｅｎｏｍｅ　Ｒｅｓ１２：１７４９－１７５５を参照することもできる。1749-1755.アレイのこの後者のタイプの商業的源はＡｇｉｌｅｎｔ

,ＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘおよびＮｉｍｂｌｅＧｅｎを含む。

【０５７８】

かくして、ｃｈｅｍＦＥＴ不動態化層はそれに対して核酸が結合し、および／またはそれからそれらが合成される反応性分子（および、従って、反応性基）の中間体層でコーティングすることができる。

【０５７９】

本発明では、そのような核酸アレイをｃｈｅｍＦＥＴアレイと、特に、本明細書中に記載された「大規模な」ｃｈｅｍＦＥＴアレイと組み合わせることが考えられる。ｃｈｅｍＦＥＴ/核酸アレイは種々の適用で用いることができ、そのうちいくつかはウェル（またはマイクロウェルまたは反応チャンバー；と言うのは、それらは本明細書中において相互交換可能に言うからである）を必要としない。分析は「閉じた」系（すなわち、ここに、試薬および洗浄溶液の流動などが自動化されている）を含めた流動に依然として運ばれているだろうから前記位置の、アレイと接触した１以上の流動チャンバーがあろう。多数の流動チャンバーの使用は多数の試料（または核酸ライブラリー）が同時に分析されるのを可能とする。２、３、４、５、６、７、８、９、１０またはそれを超える流動チャンバーがあり得る。この構成は、蛋白質アレイ、抗体アレイ、酵素アレイ、化学アレイ等のような、本明細書中で議論されたものを含めた他の生物学的アレイに等しく適用される。

【０５８０】

結合パートナーの間の、または複合体の成分の間の結合事象は下に存在するＦＥＴを介してエレクトロニクス的に検出されるので、そのようなアレイは、アッセイすべき試料を操作する（例えば、外因的に標識する）必要性無くして行うことができる。そのような操作は、試料の喪失を普変的にもたらし、一般的には、増大した時間および仕事を必要とするので、これは有利である。加えて、本発明の方法は、結合相互作用がリアルタイムで研究されるのを可能とする。

【０５８１】

本発明のｃｈｅｍＦＥＴアレイと組合せて用いられる蛋白質アレイも考えられる。蛋白質アレイは、組織化されたかつ所定の様式にて、平面上表面に結合した生物学的部位を含む蛋白質またはペプチドまたは他のアミノ酸を含む。そのような蛋白質は、限定されるものではないが、酵素、抗体および抗体断片または抗体ミミック（例えば、単一鎖抗体）を含む。

【０５８２】

１つの実施形態において、蛋白質アレイは、複数の異なる蛋白質（または生物学的部位を含有する他のアミノ酸）を含むことができる。各蛋白質、好ましくは複数の蛋白質はアレイの所定の領域または「セル」に存在する。領域（またはセル）は、各領域（またはセル）に対して１つのセンサーとなるように、センサーアレイ中のセンサーと整列している。単一の領域（（またはセル）中の複数の蛋白質は、蛋白質のサイズまたは領域（またはセル）のサイズに依存して変化することができ、限定されるものではないが、少なくとも１０、５０、１００、５００、10^3、10^4またはそれよりも大であってよい。アレイそれ自体は、限定されるものではないが、少なくとも、１０、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、10^7、またはそれよりも大を含めたいずれの数のセルも有することができる。１つの適用において、アレイは、蛋白質に結合する分析物を含有することが知られた、または含有することが疑われる試料に暴露される。もし蛋白質が酵素であれば、分析物は基質または阻害剤であってよい。分析物はもう１つの蛋白質を含めた蛋白質、核酸、（合成または天然を問わず）化学的種等に結合するいずれの分子であってもよい。

【０５８３】

本明細書中で考えられる核酸アレイと同様に、蛋白質アレイからの読出はｃｈｅｍＦＥＴを通じての電流の変化であり、かくして、標識および／または標識検出のさらなる工程はこれらのアレイでは必要でないことが理解されるべきである。

【０５８４】

もう１つの実施形態において、蛋白質アレイは、複数の同一の蛋白質（または生物的部

位を含有する他のアミノ酸）を含むことができる。同一の蛋白質を平面上の表面に均一に分布させることができるか、あるいはそれらはその表面の区別される領域（またはセル）に組織化させることができる。これらの後者の実施形態においては、領域（またはセル）は、各領域（またはセル）に対して１つのセンサーになるように、センサーアレイ中のセンサーと整列している。

【０５８５】

蛋白質はオフチップ合成し、次いで、精製し、アレイに付着させることができる。別法として、それらは、先に議論した核酸と同様に、オンチップ合成することができる。無細胞ＤＮＡ発現または化学的合成を用いる蛋白質の合成は、オンーチップ合成に使用可能である。無細胞ＤＮＡ発現を用い、一旦合成されると、蛋白質は固体支持体に付着される。別法として、蛋白質は、固相ペプチド合成を用いて固体支持体上に化学的に合成することができる。選択的脱保護は、リソグラフィー方法を介して、またはＳＰＯＴ－合成によって行われる。少なくとも、ＭａｃＢｅａｔｈ ａｎｄ Ｓｃｈｒｅｉｂｅｒ, Ｓｃｉｅｎｃｅ, ２０００, ２８９：１７６０－１７６３, またはＪｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ. Ｎａｔｕｒｅ, ２００６, ４３９：１６８－１７４を参照することができる。また、Ｆｏｄｏｒ ｅｔ ａｌ. に対する米国特許第６９１９２１１号を参照することもできる。

【０５８６】

ｃｈｅｍＦＥＴアレイと組合せた化学的化合物マイクロアレイも考えられる。化学的化合物マイクロアレイは、多様な連結技術（文献中では、「小分子マイクロアレイ」ともいうことができる）で化合物（例えば、有機化合物）を固体表面に共有結合により固定化し、化合物（例えば、有機化合物）を固定化無しで固体表面にスポットし、乾燥することによって（文献においては、「ミクロアレイ化化合物スクリーニング（μＡＲＣＳ）」ということができる）、あるいは固定化および（Ｒｅａｃｔｉｏｎ Ｂｉｏｌｏｇｙ ＣｏｒｐｏｒａｔｉｏｎによってＤｉｓｃｏｖｅｒｙＤｏｔＴＭ技術として商業化された）乾燥効果無しに均一溶液中に有機化合物をスポットすることによって、作成することができる。

【０５８７】

ｃｈｅｍＦＥＴアレイと組合せた組織マイクロアレイが、さらに、本発明では考えられる。組織マイクロアレイは、Ｂａｔｔｉｆｏｒａ Ｌａｂ Ｉｎｖｅｓｔ １９８６, ５５：２４４－２４８；Ｂａｔｔｉｆｏｒａ ａｎｄ Ｍｅｈｔａ Ｌａｂ Ｉｎｖｅｓｔ １９９０, ６３：７２２－７２４；およびＫｏｎｏｎｅｎ ｅｔ ａｌ. Ｎａｔ Ｍｅｄ １９９８, ４：８４４－８４７においてより詳細に議論されている。

【０５８８】

ｃｈｅｍＦＥＴアレイおよび生物学的または化学的アレイの構成は、各場合において、同様であり、一つの組合せアレイの議論は本明細書中に記載されまたはそうでなければ、当該分野で知られた他のものに適用されるであろう。

【０５８９】

なおもう１つの態様において、本発明では、細胞培養（例えば、二次元細胞培養）（例えば、Ｂａｕｍａｎｎ ｅｔ ａｌ. Ｓｅｎｓｏｒｓ ａｎｄ Ａｃｔｕａｔｏｒｓ Ｂ ５５ １９９９ ７７：８９参照）、およびｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触して入れられた組織セクションの分析が考えられる。例として、脳セクションを本発明のｃｈｅｍＦＥＴアレイと接触させて入れることができ、セクションの変化は、限定されるものではないが、ニューロトキシン等のような刺激の存在下または不存在下のいずれかで検出することができる。神経プロセスの伝達および／または刺激はそれにより分析される。これらの実施形態において、ｃｈｅｍＦＥＴは、不動態化層それ自体を介して、または不動態化層にコーティングされたこれらのイオンに対する受容体を介して、カルシウムおよび／またはカリウムフラックスを検出することによって働くことができる。

【０５９０】

なおもう１つの態様において、本発明では、イン・ビボで用いるための、本明細書中で記載されたように、またはもう１つの様式で機能性化されたｃｈｅｍＦＥＴアレイの使用

が考えられる。そのようなアレイを（例えば、脳、またはイオンフラックスに従う他の領域において）対象に導入し、次いで、対象の状態に基づいて変化について分析することができる。

【０５９１】

特にアレイとの関連で核酸、蛋白質、分子等を固体支持体に付着させるための方法は当該分野で記載されている。例えば、Ｌｉｐｓｈｕｔｚ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ.Ｇｅｎｅｔ.（ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ）１９９９ ２１：２０－２４；Ｌｉ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ.Ａｃａｄ.Ｓｃｉ.，２００１，９８：３１－３６；Ｌｏｃｋｈａｒｔ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ.Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ.１９９６１４：－６７５－１６８０；Ｗｏｄｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ.Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ.１９９７１５：１３５９－１３６７：Ｃｈｅｎｅｔ ａｌ．Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｏｐｔｉｃｓ １９９７ ２：３６４；Ｄｕｇｇａｎ ｅｔ ａｌ．ＮａｔＧｅｎｅｔ １９９１２１（１ Ｓｕｐｐｌ）：１０－４；Ｍａｒｔｏｎｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｍｅｄ.１９９８４（１１）：１２９３－３０１；Ｋｏｎｏｎｅｎ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｍｅｄ １９９８ ４（７）：８４４－８４７；ＭａｃＢｅａｔｈｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２０００２８９（５４８５）:１７６０－１７６３;Ｈａａｂ ｅｔ ａｌ．ＧｅｎｏｍｅＢｉｏｌｏｇｙ ２００１ ２（２）；Ｐｏｌｌａｃｋ ｅｔ ａｌ．ＮａｔＧｅｎｅｔ１９９９２３（１）:４１－６;ＷａｎｇＤＧｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ１９９８２８０（５３６６）:１０７７－８２；Ｆｏｄｏｒｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ１９９１２５１:７６７-７７３;Ｆｏｄｏｒｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ１９９３３６４:５５５-５５６;Ｐｅａｓｅｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．ＮａｔｌＡｃａｄ.Ｓｃｉ.ＵＳＡ１９９４９１:５０２２-５０２６;ＦｏｄｏｒＳｃｉｅｎｃｅ１９９７２７７:３９３-３９５;Ｓｏｕｔｈｅｒｎｅｔ ａｌ．Ｇｅｎｏｍｉｃｓ１９９２１３:１００８-１０１７;Ｓｃｈｅｎａｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ１９９５２７０（５２３５）:４６７－７０;Ｓｈａｌｏｎｅｔ ａｌ．ＧｅｎｏｍｅＲｅｓ１９９６６（７）:６３９－４５;ＪｏｎｇｓｍａＰｒｏｔｅｏｍｉｃｓ２００６,６:２６５０－２６５５;Ｓａｋａｔａ,ＢｉｏｓｅｎｓｏｒｓａｎｄＢｉｏｅｌｅｃｔｒｏｎｉｃｓ２００７,２２：１３１１－１３１６参照。1311-1316.

【０５９２】

本明細書中に記載された系は、光学的検出なくして、未標識生物学的ポリマーを配列決定するために用いることができる。

【０５９３】

いくつかの実施形態において、本発明では、光学的検出無くして、未標識生物学的ポリマーを配列決定するのに適合し、かつ少なくとも１００の反応チャンバーのアレイを含む配列決定装置を含む。

【０５９４】

典型的には、各反応チャンバーはｃｈｅｍＦＥＴに容量的にカップリングされている。

【０５９５】

好ましくは、各反応チャンバーは容量が約．３９ｐＬ以下、約４９μｍ^{2}の表面開口であり、より好ましくは、約１６μｍ^{2}以下の開口および約．０６４ｐＬ以下の容量を有する。好ましくは、アレイは少なくとも１．０００、１０．０００、１００．０００、または１．０００．０００の反応チャンバーを有する。

【０５９６】

典型的には、反応チャンバーはミクロ流体ウェルを含む。

【０５９７】

好ましくは、装置は時間当たり少なくとも１０^{6}塩基対、より好ましくは時間当たり少なくとも１０^{7}塩基対、最も好ましくは時間当たり少なくとも１０^{8}塩基対を配列決定するのに適合している。

【０５９８】

もう１つの実施形態において、本発明は、個々のモノマーの伸長ポリマーへの取込みの時間を測定することを含む、生物学的ポリマーを前記装置で配列決定する方法を含む。

【０５９９】
典型的には、生物学的ポリマーは核酸鋳型であって、モノマーはヌクレオチドである。好ましくは、核酸鋳型は２００～７００塩基対を有する。好ましくは、核酸鋳型は配列を決定するに先立って増幅される。
【０６００】
典型的には、測定は拡散制限条件下で行われる。測定は、電気的変化を検出し、イオンパルスを検出するか、あるいは無機ピロホスフェート（「ＰＰｉ」）の放出を検出することを含むことができる。好ましくは、取込みは４００μＭ以下のイオン強度にて起こり、ここに、Mg^{2+}またはMn^{2+}または他の二価カチオンの濃度は１００μＭ以下である。好ましくは、前記した方法を用い、少なくとも10^{6}の塩基対を時間当たりに配列決定し、より好ましくは少なくとも10^{7}塩基対を時間当たりに配列決定し、最も好ましくは少なくとも10^{8}塩基対を時間当たりに配列決定する。好ましくは、検出は、前記したｃｈｅｍＦＥＴのアレイによって達成される。
【０６０１】
いくつかの実施形態において、本発明では：少なくとも１００の配列決定反応を同時に行い；次いで、標識の使用無くして、および光学的検出の使用無くして配列を決定することを含む、核酸配列を決定する方法を含む。
【０６０２】
本発明のこのおよび他の方法で用いる核酸鋳型は、全て、当業者に知られた、種々の方法によって種々の源に由来することができる。鋳型は、限定されるものではないが、変化する複雑性の全ゲノムｃＤＮＡ、ｍＲＮＡまたはｓｉＲＮＡ試料に由来することができるか、あるいは種々の環境およびメタビオメ配列決定プロジェクトにおけるように、全集団を表してもよい。鋳型核酸は、限定されるものではないが、ＰＣＲ産物、注目する特異的エクソン領域、または１６Ｓまたは他の診断剤または同定性ゲノム領域を含めた、核酸集団の特異的サブ組から生じさせることもできる。
【０６０３】
典型的には、配列決定に必要な出発材料は３μｇ未満の核酸である。好ましくは、配列決定に先立って、鋳型核酸を増幅する。鋳型核酸は、所望により、配列決定に先立って１以上のビーズに結合させることができる。
【０６０４】
典型的には、決定工程は、１以上の第一のモノマーが伸長する配列に取り込まれるのに必要な時間の量を測定することを含む。典型的には、モノマーの取込みは拡散制限条件下で測定される。測定は、電気的変化を検出し、イオンパルスを検出するか、あるいは無機ピロホスフェート（「ＰＰｉ」）の放出を検出することを含むことができる。
【０６０５】
好ましくは、前記した方法を用い、少なくとも10^{6}の塩基対を時間当たりに配列決定し、より好ましくは少なくとも10^{7}塩基対を時間当たりに配列決定し、最も好ましくは少なくとも10^{8}塩基対を時間当たりに配列決定する。かくして、該方法を用いて、約２４時間以内に、より好ましくは約２０時間以内に、なおより好ましくは約１５時間以内に、なおより好ましくは約１０時間以内に、なおより好ましくは約５時間以内に、最も好ましくは、約１時間以内に全ヒトゲノムを配列決定することができる。これらの速度は本明細書中に示された多数のＩＳＦＥＴアレイを用い、かつそれらの出力を並行して処理して達成することができる。
【０６０６】
以下の実施例は説明の目的に含め、本発明の範囲を制限する意図はない。
実施例
【０６０７】
実施例１ビーズの調製
一本鎖オリゴヌクレオチドのストレプトアビジンをコーティングした磁性ビーズへの結合。（ＨＰＬＣ精製した）５’Ｄｕａｌ　Ｂｉｏｔｉｎ（デュアルビオチン）タグを備えた

一本鎖ＤＮＡオリゴヌクレオチド鋳型、および２０塩基ユニバーサルプライマーをＩＤＴ（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｃｏｒａｌｖｉｌｌｅ，ＩＮ）から注文した。鋳型は長さが６０塩基であって、２０塩基プライマーに相補的な３’末端に２０塩基を含むように設計した（表３，イタリック体）。凍結乾燥されビオチニル化された鋳型およびプライマーを、各々、４０μＭストック溶液として、および４００μＭストック溶液としてＴＥ緩衝液（１０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ，１ｍＭ ＥＤＴＡ，ｐＨ８）に再度懸濁させ、使用するまで－２０℃で貯蔵した。

【０６０８】

各鋳型については、４℃の、水性緩衝化懸濁液（８．５７×１０^{4}ビーズ／μＬ）として貯蔵された、６０μｌの磁性５．９１μｍ（Ｂａｎｇｓ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ． Ｆｉｓｈｅｒｓ，ＩＮ）のストレプトアビジンでコーティングされたビーズを、１２０μｌビーズ洗浄緩衝液で３回洗浄し、次いで、各々、５’末端にビオチンを備えた鋳型１、２、３および４（Ｔ１，Ｔ２，Ｔ３，Ｔ４：表３）と共にインキュベートすることによって調製した。

【０６０９】

ビオチンに対するストレプトアビジンの強い共有結合親和性（Ｋｄ約１０～１５）のため、これらの磁性ビーズを用いて、後に記載するように、鋳型を固体支持体に固定化する。遊離ビオチンのためのこれらのビーズの報告された結合能力は、０．６５０ピコモル／μＬのビーズストック溶液である。小さな（＜１００塩基）ビオチニル化ｓｓＤＮＡ鋳型では、９．１×１０^{5}鋳型がビーズ当たり結合することができると保存的に計算される。ビーズは、Ｄｙｎａｌ Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｐａｒｔｉｃｌｅ ＣｏｎｃｅｎｔｒａｔｏｒまたはＭＰＣ－ｓ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）に関するように、単純な磁石を用いて容易に濃縮される。ＭＰＣ－ｓを記載された実験で用いた。

【０６１０】

ＭＰＣ－ｓを用いて、各洗浄の間に１分間ビーズを濃縮し、次いで、緩衝液を加え、ビーズを再懸濁させた。第三の洗浄に続いて、ビーズを、１２０μＬのビーズ洗浄緩衝液＋１μｌの各鋳型（４０μＭ）に再懸濁させた。ビーズを回転させつつ３０分間インキュベートした（Ｌａｂｑｕａｋｅ Ｔｕｂｅ Ｒｏｔａｔｏｒ，Ｂａｒｎｓｔｅａｄ，Ｄｕｂｕｑｕｅ，ＩＡ）。インキュベーションに続き、次いで、ビーズを１２０μＬのアニーリング緩衝液（２０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、５ｍＭ酢酸マグネシウム、ｐＨ７．５）中で３回洗浄し、６０μＬの同一緩衝液中に再度懸濁させた。

【表４】

表3　鋳型１、２、３および４についての配列

T1: 5’/52Bio/GCA AGT GCC CTT AGG CTT CAG TTC AAA AGT CCT AAC TGG G*CA AGG CAC ACA GGG GAT AGG-3’* (配列番号 :1)

T2: 5’/52Bio/CCA TGT CCC CTT AAG CCC CCC CCA TTC CCC CCT GAA CCC *CCA AGG CAC ACA GGG GAT AGG-3’* (配列番号 :2)

T3: 5’/ 52Bio/AAG CTC AAA AAC GGT AAA AAA AAG CCA AAA AAC TGG AAA A*CA AGG CAC ACA GGG GAT AGG-3’* (配列番号 :3)

T4: 5’/ 52Bio/TTC GAG TTT TTG CCA TTT TTT TTC GGT TTT TTG ACC TTT T*CA AGG CAC ACA GGG GAT AGG-3’* (配列番号 :4)

【０６１１】

配列決定プライマーのアニーリング次いで、５．９１μｍの磁性ビーズに対して５’末端において結合した固定化鋳型を、該鋳型の３’末端に対して相補的な２０塩基プライマ

ーにアニーリングする（表３）。次いで、固定化された鋳型に対して２０倍過剰なプライマーを表す、４００μＭのプライマーストック溶液の１．０μＬのアリコットを加え、次いで、ビーズと鋳型とをプライマーと共に９５℃にて１５分間インキュベートし、次いで、温度をゆっくりと室温まで降下させた。次いで、ＭＰＣ－ｓを用いて前記したように、ビーズを１２０μＬの２５ｍＭトリシン緩衝液（２５ｍＭトリシン、０．４ｍｇ／ｍｌ　ＰＶＰ、０．１％　Ｔｗｅｅｎ　２０、８．８ｍＭ酢酸マグネシウム；ｐＨ７．８）中で３回洗浄した。ビーズを２５ｍＭトリシン緩衝液中に再懸濁させた。

【０６１２】

ＤＮＡポリメラーゼと、ハイブリダイズされた鋳型／プライマーとのインキュベーション。鋳型およびプライマーハイブリッドを、Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ　ｅｔ　ａｌ．によって実質的に記載されているようにポリメラーゼと共にインキュベートする。

【０６１３】

調製された試験試料のＩＳＦＥＴセンサーアレイ上への負荷。ＩＳＦＥＴアレイ、およびその上に位置させたミクロ流体の寸法および密度は適用に依存して変化し得ることができる。非限定的例は５１２×５１２アレイである。（そのうち２６２１４４がある）そのようなアレイの各グリッドは単一のＩＳＦＥＴを有する。各グリッドはその上に位置したウェル（あるいは、それらは本明細書中においては相互交換的に「マイクロウェル」と言うことができる）をやはり有する。ウェル（またはマイクロウェル）は、柱状、円錐状、四角形、三角形等を含めたいずれの形状を有してもよい。１つの例示的な形状において、ウェルは７×７×１０μｍの寸法を有する四角形ウェルである。ウェルの間の中心間距離は、本明細書中においては、「ピッチ」と言う。ピッチはいずれの距離であってもよいが、可能な限り大きなアレイを収容するためにはより短いピッチを有するのが好ましい。ピッチは５０μｍ未満、４０μｍ未満、３０μｍ未満、２０μｍ未満、または１０μｍ未満であってよい。１つの実施形態において、ピッチは約９μｍである。（その中にウェルが位置する）アレイ上方の全チャンバーは、約３０μＬと等しいか、またはそれ未満、約２０μＬと等しいか、またはそれ未満、約１５μＬと等しいか、またはそれ未満、約１０μＬと等しいか、またはそれ未満の容量を有することができる。従って、これらの容量は、同様に、チャンバー内の溶液の容量に対応する。

【０６１４】

「開いた」系へのビーズの負荷。鋳型１～４を備えたビーズをチップ上に負荷した（１０μＬの各鋳型）。簡単に述べれば、各鋳型のアリコットを、エッペンドルフピペットを用いてチップ上に加えた。次いで、磁石を用いて、ビーズをウェルの方に引いた。

【０６１５】

「閉じた」系へのビーズの負荷。捕獲ビーズおよびパッキングビーズの双方は流動を用いて負荷する。ビーズ溶液の容量のマイクロリットル精度、ならびに流体結合を通じてのビーズ溶液のポジショニングは、主たるレゼルボア（容量がほぼ１ｍＬ）、従たるレゼルボア（容量がほぼ１０μＬ）、および小さな容量のビーズ溶液を取り扱うためのミクロ流体チャネルを含む、ビーズ負荷フィッティングを用いて図６２～７０に示されたように達成される。この方法もまた、精度ピペットによって可能とされた流体適用のマイクロリットル精度を活用する。

【０６１６】

ＩＳＦＥＴアレイおよびフローセルを含むチップは、負荷備品のＺＩＦ（ゼロ挿入力）ソケットに存在し、次いで、ステンレス鋼毛細管をフローセルの一方のポート、および他方のポート上の可撓性ナイロンチューブに付着させる。「双方の材料はミクロ流体－タイプの流路である（例えば、＜０．０１’’内径のオーダー）」。主たるおよび従たるレゼルボアよりなるビーズ負荷フィッティングは、それを、毛細管の端部に付着させた。共通のプラスチックシリンジを緩衝液溶液で満たし、次いで、ナイロンチューブの遊離末端に結合する。チップの底部から突出する電気的リードを、（図示しない）備品ユニットの頂部のソケットに挿入する。

【０６１７】

ＩＳＦＥＴアレイおよびフローセルを含むチップは、負荷備品のＺＩＦ（ゼロ挿入力）ソケットのようなソケットに存在し、次いで、ステンレス鋼毛細管をフローセルの一方のポート、および他方のポートの可撓性ナイロンチューブに付着させることができる。「双方の材料はミクロ流体－タイプの流路である（例えば、＜０．０１’’内径のオーダー）」。主たるおよび従たるレゼルボアよりなるビーズ負荷フィッティングは、それを、毛細管の端部に付着させた。共通のプラスチックシリンジを緩衝液溶液で満たし、次いで、ナイロンチューブの遊離末端に結合する。チップの底部から突出する電気的リードを、（図示しない）備品ユニットの頂部のソケットに挿入する。

【０６１８】

遠心力および重力を含めた、ビーズを流動チャンバーのウェルに吸い込む他の方法があるのは認められるであろう。本発明はこの点に関して制限されない。

【０６１９】

開いた系におけるＩＳＦＥＴセンサーアレイを用いるＤＮＡ配列決定。説明的配列決定反応は「開いた」系で行うことができる（すなわち、ＩＳＦＥＴチップをＩＳＦＥＴ装置のプラットフォーム上に置き、次いで、各ヌクレオチド（各々６．５μＭにて得られた５μＬ）は、所与のヌクレオチドをチップの表面に既にある液体にピペットで与え、次いで、２．５ｍＨｚの速度でチップからデータを収集することによって、以下の順序：ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、ｄＧＴＰおよびｄＴＴ（１００ｍＭストック溶液，Ｐｉｅｒｃｅ，Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ，ＷＩ）で手動により加える。これは、ほぼ１８フレーム／秒にて７．５秒間にわたってデータの収集をもたらすことができる。データは、次いで、ＬａｂＶｉｅｗを用いて分析することができる。

【０６２０】

鋳型の配列が与えられれば、ｄＡＴＰの付加の結果、鋳型４について４塩基延長がもたらされるであろう。ｄＣＴＰの付加の結果、鋳型１において４塩基延長がもたらされるであろう。ｄＧＴＰの付加は鋳型１、２および４を表４に示されたように延長させ、ｄＴＴＰの付加の結果、ランオフ（示されたような全ての鋳型の延長）がもたらされるであろう。

【０６２１】

好ましくは、該方法が非自動で（すなわち、自動化された流動および試薬導入の不存在下で）行われると、各ウェルはアピラーゼを含有して、取り込まれていないｄＮＴＰを分解させ、あるいは別法として、各ｄＮＴＰ（例えば、ｄＡＴＰ）の付加および取込みに続いて、かつもう１つのｄＮＴＰ（例えば、ｄＴＴＰ）の付加に先立って、アピラーゼが各ウェルに加えられる。アピラーゼは、この実施形態において、または本明細書中で議論されたいずれかの他の実施形態においては、ｄＮＴＰを分解することができるもう１つの化合物（または酵素）で置き換えることができるのは理解されるべきである。

【０６２２】

【表５】

表４　実験およびヌクレオチド付加の順序の設定

	dATP	dCTP	dGTP	dTTP
T1	0	(3:C; 1:A)4	1	ランオフ (25)
T2	0	0	4	ランオフ (26)
T3	0	0	0	ランオフ (30)
T4	4	0	2	ランオフ (24)

【０６２３】

センサーチップ上のミクロ流体を用いるＤＮＡ配列決定。流動様式における配列決定は、ＤＮＡへの取込み用のヌクレオチド試薬の開いた適用の延長である。試薬をＩＳＦＥＴチップ上のバルク溶液に加えるよりはむしろ、試薬は、チップ表面を横切って順次に流動

させ、一度に単一ＤＮＡ塩基を延長させる。ｄＮＴＰは順次に流動させ、ｄＴＴＰ、次いで、ｄＡＴＰ、ｄＣＴＰ、およびｄＧＴＰで開始する。チップにわたる流体運動の層流性質のため、マイクロウェルへの、および最終的には核酸負荷ビーズの周りへのヌクレオチドの拡散は、送達のための主なメカニズムである。流動様式は、ほとんど大部分のヌクレオチド溶液が適用の間に洗浄除去されるのも確実とする。これは、あらゆるヌクレオチド流動に続いて、チップを緩衝液溶液およびアピラーゼ溶液ですすぐことを含む。ヌクレオチドおよび洗浄溶液は系中の化学瓶中に貯蔵され、流体管および自動バルブの系を用いてチップ上を流動される。ＩＳＦＥＴチップは、ヌクレオチド流動の間にＤＮＡ延長の化学的産物を検知するために活性化される。

【０６２４】

実施例２ポリメラーゼ活性に対する低イオン強度の効果

【０６２５】

実験を行って、特に、低イオン強度ヌクレオチド取込み反応を含めた、本明細書中に議論された配列決定の態様および実施形態に関連したある種の機能について種々のポリメラーゼを試験した。これらの機能は、低イオン強度において配列決定プライマーを延長するためのポリメラーゼの能力、低イオン強度におけるプライマー／鋳型核酸ハイブリッドに対するポリメラーゼの親和性、プライマー延長の速度、およびｃｈｅｍＦＥＴセンサー上方に位置したウェルとの関係でプライマーを延長するポリメラーゼの能力を含む。これらの機能の各々を以下に議論する。

【０６２６】

低イオン強度におけるポリメラーゼの活性。ポリメラーゼ活性は、ポリメラーゼが鋳型に沿って延長される程度を決定することによって測定することができる。蛍光レポーターアッセイを工夫して、ポリメラーゼ活性を測定した（図７２Ａ）。簡単に述べれば、（本実施例との関係では鋳型と言われる）蛍光標識したＤＮＡオリゴヌクレオチドを、ストレプトアビジン－ビオチン相互作用を介して超常磁性ビーズに付着させる。鋳型の５’末端をビオチンで標識し、３’末端を、例えば、６－ＦＡＭで標識する。ビーズをストレプトアビジンで標識する。鋳型の３’末端に対して相補的なＤＮＡオリゴヌクレオチドプライマーを鋳型にアニールし、ビーズを、緩衝液、塩およびｄＮＴＰを含有する延長溶液中のポリメラーゼで、鋳型配列に基づくプライマーの延長のために十分な時間の間インキュベートする。インキュベーションの後、ポリメラーゼおよび他の反応成分を、ビーズの連続洗浄によって除去する。もしプライマーが所定の制限酵素認識部位を通って延長すれば、蛍光標識二本鎖ＤＮＡは、適切なエンドヌクレアーゼ（例えば、ＨｉｎｄＩＩＩ）と共にインキュベートすると放出されるであろう。制限消化からの上清を、次いで、蛍光定量に付す。放出された蛍光の大きさは、ポリメラーゼ活性に比例する、ビーズ上に存在する二本鎖ＤＮＡの量に比例する、制限エンドヌクレアーゼ活性によって放出されたＤＮＡの量に比例する。

【０６２７】

特に、図７２Ｂおよび７２Ｃに示されるデータは、ポリメラーゼを、ｄＮＴＰの不存在下においてビーズ固定されたプライマー／鋳型ハイブリッドに結合させることによって生じさせた。未結合ポリメラーゼおよび結合性溶液成分を洗浄除去した後、ｄＮＴＰで補足された示された延長ミックス（例えば、標準または低イオン強度）をビーズに加え、４０℃において１０分間インキュベートした。活性アッセイを前記したように引き続いて完了して、示されたポリメラーゼの活性を測定し、バックグラウンドを差し引いた蛍光をプロットする。図７２Ｃにおいて、「Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ（＋）」は延長溶液中へのｄＮＴＰの添加を示し、および「Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ（－）」は、延長溶液中でのｄＮＴＰの不存在、すなわち、各々、陽性および陰性対照を示す。

【０６２８】

このアッセイを用い、ポリメラーゼ活性が標準および低イオン強度反応条件双方において測定されている。多数のポリメラーゼは、標準条件と比較した場合、低イオン強度条件において比較的活性である（図７２Ｂおよび７２Ｃ）。

【０６２９】
低イオン強度におけるポリメラーゼ親和性鋳型／プライマーハイブリッドに対するポリメラーゼの親和性は、我々の標準アッセイで間接的に測定することができる（図７２Ａ）。３つの異なるＤＮＡポリメラーゼ（Ｔ４ｅｘｏ－、Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ、クレノウｅｘｏ－）を、ｄＮＴＰを含まない標準延長溶液中で、室温にて１５分間、プライマー活性化されたビーズ固定化鋳型に結合させた（図７２Ａ、工程１）。次いで、ビーズを洗浄して、未結合ポリメラーゼおよび他の成分を除去し、次いで、４０℃にて、低イオン強度溶液（例えば、２５℃の０．５ｍＭ Ｔｒｉｓ、１００μＭ $MgCl_2$、ｐＨ９．０）中に再懸濁し、そこでインキュベートした。図７３に示した時間の後、ビーズを、２０μＭの各ｄＮＴＰを補足した低イオン強度溶液（例えば、Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒおよびクレノウｅｘｏ－のためには２５℃の０．５ｍＭ Ｔｒｉｓ、１００μＭ $MgCl_2$、ｐＨ９．０、あるいはＴ４ ｅｘｏ－のためには２５℃の０．５ｍＭ Ｔｒｉｓ、８０μＭ $MgCl_2$、ｐＨ９．０）中で洗浄し、そこに再懸濁させた。もしポリメラーゼが鋳型／プライマーハイブリッドに対して低い親和性を有するならば、それは離れ落ち、洗浄除去されると予測され、その結果、プライマーの延長は無いであろう。しかしながら、もしポリメラーゼが鋳型／プライマーハイブリッドに対して高い親和性を有するならば、それは結合したままであり、ｄＮＴＰと共にインキュベートした場合に鋳型を延長できよう。延長したプライマーの量は我々の標準アッセイを用いて測定され（図７２Ａ）、図７３にプロットする。プライマー延長は全ての時点において同等であり、全ての３つのポリメラーゼは、４０℃にてインキュベートすると、４０分間で、プライマー活性化鋳型にしっかりと結合することを示唆する。（「（＋）ｄＮＴＰ」として示された）陽性対照として、プライマー活性化鋳型にポリメラーゼを予備結合させることなく、プライマー延長を測定し、もしｄＮＴＰを延長溶液に加えなければ、（「（－）ｄＮＴＰ」として示された）陰性対照として、蛍光を測定した。Ｔ４ ｅｘｏ－ポリメラーゼ（３’～５’エキソヌクレアーゼ欠乏）、Ｔｈｅｒｍｉｎａｔｏｒ、およびクレノウｅｘｏ－は、低イオン強度溶液中で４０分間のインキュベーションの後にプライマーを延長させ、これは、全ての３つのポリメラーゼが低イオン強度において鋳型／プライマーハイブリッドに対する高い親和性を有することを示唆する（図７３）。

【０６３０】
ポリメラーゼの速度。鋳型に沿ってポリメラーゼがプライマーを延長することができる速度は、単位時間当たりに延長された鋳型の分率を測定することによって標準アッセイで測定することができる。Ｔ４ ｅｘｏ－ポリメラーゼ（３’～５’エキソヌクレアーゼ欠乏）は、異なる速度を除いては、双方の標準反応条件（ＳＴＤ；２５℃の１０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、５０ｍＭ ＮａＣｌ、１０ｍＭ $MgCl_2$、１ｍＭジチオスレイトール、２０μＭの各ｄＮＴＰ、ｐＨ７．９）において、および低イオン強度条件（ＬＳ；２５℃の０．５ｍＭ Ｔｒｉｓ、８０μＭ $MgCl_2$、２０μＭの各ｄＮＴＰ、ｐＨ９．０）においてプライマーを延長する。Ｔ４の従前の研究は、Ｔ４が、標準反応溶液中で（すなわち、標準イオン強度で）秒当たり４ヌクレオチドの最大定常状態速度にて鋳型に沿ってプライマーを延長させることができるのを示す。この速度にて、標準反応溶液中の延長は８．７５秒以内に完了すると予測され、事実、延長は実験的には約１０秒で完了する（図７４Ａ、Ｔ４－ＳＴＤ）。低イオン強度反応溶液中では、Ｔ４は２０秒以内に延長を完了させ、これは２倍の減少を示唆する。さらに、該反応溶液が０．５ｍＭ Ｔｒｉｓ、２０μＭ $MgCl_2$および５μＭの各ｄＮＴＰである場合、Ｔ４の速度は８０μＭ $MgCl_2$および各ｄＮＴＰについての２０μＭに対して約２倍だけ（すなわち、図７４Ａの低イオン強度溶液、図７４Ｂ参照）、１０ｍＭ $MgCl_2$および各ｄＮＴＰについての２０μＭに対して４倍だけ（すなわち、図７４Ａの標準溶液、データは示さず）減少する。Ｔ４は、重合（または取込み）の最初のバースト、続いてのより遅い重合速度を含めた二相キネティックスで重合すると報告されている。重合のこの最初のバーストは、低イオン濃度で観察されるわずかに低下した速度を補償することができる。（Ｃａｐｓｏｎ ｅｔ ａｌ． Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １９９２ ３１：１０９８４－１０９９４．）

【０６３１】
ＴｈｅｒｍｉｎａｔｏｒおよびＢｓｔポリメラーゼは、双方の標準反応条件（ＳＴＤ；２５℃の２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１０ｍＭ（ＮＨ２）$_2$ＳＯ$_4$、１０ｍＭ　ＫＣｌ、２ｍＭ　ＭｇＳＯ$_4$、０．１％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、ｐＨ８．８）において、および低イオン強度条件（ＬＳ；２５℃の０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ、１００μＭ　ＭｇＣｌ$_2$、２０μＭの各ｄＮＴＰ、ｐＨ９．０）において、プライマーを延長することができる。低イオン強度条件における定常状態速度は、標準イオン強度条件におけるこれらのポリメラーゼによる延長よりも遅く、それは、低イオン強度延長溶液におけるＴ４プライマー延長の定常状態速度よりも遅い。
【０６３２】
センサーのウェルにおけるプライマー延長標準活性アッセイと同様なアッセイを用い（図７２Ａ）、プライマー延長をｃｈｅｍＦＥＴセンサーのシリコンウェルで試験して、センサーウェルの壁材料がポリメラーゼを阻害するか否かを決定した。このアッセイは、鋳型を６－ＦＡＭで標識しなかった点のみで、前記したものとは異なる。ポリメラーゼ結合プライマー活性化鋳型を備えたビーズを（図７５Ａに示すように）シリコン色素上にピペットで入れ、４０℃にて１分間インキュベートし、続いて、低塩緩衝液中でｄＮＴＰを加えた。インキュベーションの後、ビーズをチップから回収し、標準制限消化に付す。プライマー延長は、ＢｉｏＡｎａｌｙｚｅｒを用いてＤＮＡ断片分離によって測定した。ｄＮＴＰの添加の結果、断片が得られ、他方、ｄＮＴＰ無しの反応はそうでなく、これは、センサーウェルの壁材料がプライマーのポリメラーゼ延長を阻害しないことを示唆する（図７５Ｂ）。
【０６３３】
実施例３増大するスピードおよびスループット
【０６３４】
ＩＳＦＥＴ／ｃｈｅｍＦＥＴチップで用いたアレイアーキテクチャの１つの利点は、全てのマイクロウェルが並行して化学材料を受け取り、それを処理し、ＦＥＴの出力を並行して分析することである。単一のチップはNのウェルに限定され、および数Ｎは半導体プロセスがデバイスをより小さく収縮させるにつれ経時的に増大するが、どれくらい多くのFETおよび（反応チャンバーとしても知られた）ウェルが単一のチップの上にあったとしても、系は、並行に操作される、同一マシーン中の２以上のチップで容易に形成され得；あるいは多数のマシーンは並行に操作でき、それらのＦＥＴが出力を供するにつれ、それらの出力は並行して処理されて、ゲノムを配列決定し、またはもう１つの分析を行うのに必要な時間を低下させる。並行した計算は良く知られており、コンピューター科学者が、数個のチップの出力の処理を構成して、所望の出力の計算を便宜にする多数の知られた方法がある。よって、各々が、２５６ｋ以上のマイクロウェルを有する多数のチップでは、１時間、または僅か数時間のスパンにおいて試料からヒトゲノムを抽出するのは容易に達成できる。チップのスピードが増大し、デバイスのサイズが収縮するにつれ、これらの時間が単一のチップで達成することができる。
【０６３５】
前記したイオンパルス検出アプローチの理論および目的を説明してきたが、幾人かにとっては、いくつかの環境において、ＤＮＡ配列決定反応の検出を達成するために、シミュレーションに基づいて、有用であると思われる条件の基本的例を供するのは有用であろう。
【０６３６】
溶液中のイオンイオン強度は、イオンパルス応答を決定するのに関与する因子である。反応緩衝液中のイオンを制限するのは有用であろう。０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ、および電荷をバランスさせるためのＣｌ$^-$の使用を仮定すると、以下のように決定することができる：

【表６】

種	濃度（ｍＭ）
Tris	0.452
$Tris\text{-}H^+$	0.048
Cl^-	0.048

Ｔｒｉｓの他の濃度（例えば、５～２０ｍＭ）は前記濃度を倍率変更させることによって与えられるので、０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓの場合を考える。ｐＨは８．８において一定であると仮定する。溶液中の他の種は反応体および生成物を含む：

【表７】

種	濃度ダイナミックス（μＭ）
$dNTP^{----}$	$0 \rightarrow 6.5$
H^+	$10^{-2.8} \rightarrow$ 過性 $\rightarrow 10^{-2.8}$
PPi^{----}	$0 \rightarrow$ 過性 $\rightarrow 0$
Pi^{---}	0（もしＰＰｉがなければ→Ｐｉ酵素は存在する）

これは、０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌに倍率変更した、反応緩衝液についての状況である。全てのＭｇ＋＋は予め浸漬することによって酵素に複合体化されると仮定する。反応の溶液および配列決定反応に対する拡散方程式から、イオン強度は計算され、

【数４０】

$$I = \tfrac{1}{2} \Sigma_s \, q_s^2 \, C_s,$$

、センサーダイナミックスは先に設定された関係によって与えられる。

濃度変化は小さいので、濃度変化のイオン強度の拡大を行うのが可能である：

Ｉ＝｛１１９．２２７＋６．６７［ＰＰｉ］＋２．７８［Ｐｉ］＋０．７９［放出されたＨ＋］－９．５２（６．５μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０－６　（５）

ｐＨは８．８０である

イオンおよび硫酸を含有する、０．５ｍＭ　ＴｒｉｓにおけるＢＳＴ反応緩衝液については：

Ｉ＝｛１４５２．４６＋６．５［ＰＰｉ］＋２．８７［Ｐｉ］＋０．９８［放出されたＨ＋］－９．９８（６．５μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０－６　（５’）

５ｍＭ　Ｔｒｉｓ緩衝液については、イオン強度は以下によって与えられる。

Ｉ＝｛５５５．８０３＋７．４３［ＰＰｉ］＋２．９２［Ｐｉ］＋０．９８［放出されたＨ＋］－９．９０（６．５μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０－６　（５’’）

ｐＨは９．０３である

０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ＋１ｍＭ　$MgCl_2$については、イオン強度は以下によって与えられる。

Ｉ＝｛３１１９．８６＋６．９４［ＰＰｉ］＋２．７８［Ｐｉ］＋０．９１［放出されたＨ＋］－９．４９（６．５μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０－６　（５’’’）

ｐＨは8.81．０３である

５ｍＭ　Ｔｒｉｓ＋１ｍＭ　$MgCl_2$については、イオン強度は以下によって与えら

れる。
Ｉ＝｛３５５６．６７＋７．７１［ＰＰｉ］＋２．９３［Ｐｉ］＋０．９８［放出されたＨ＋］－９．８９（６．５μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０$^{-6}$　（５’’’’）
　ｐＨは9.04．０３である
　０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓについては、イオン強度は、Ｉ＝｛２５０．６９９＋６．４４［ＰＰｉ］＋２．８３［Ｐｉ］＋０．９６［放出されたＨ＋］－９．６７（２０μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０$^{-6}$によって与えられる。
　ｐＨは、ｄＮＴＰが存在すれば８．５３、存在しなければ８．９７である。
　０．５ｍＭ　Ｔｒｉｓ＋５０μＭ　ＭｇＣｌ$_{2}$については、イオン強度は以下によって与えられる。
　Ｉ＝｛４００．７５９＋６．46［ＰＰｉ］＋２．８４［Ｐｉ］＋０．９６［放出されたＨ＋］－９．６６（２０μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０$^{-6}$　（５’’’’’’’）
　ｐＨは、ｄＮＴＰが存在すれば８．５３、存在しなければ８．９７である。
　最後に、ｄＮＴＰの不存在下における、ｐＨ＝９およびイオン強度＝３００ｍＭでのカノニカル緩衝液を考える。方程式は以下のようになろう。
　Ｉ＝｛493.20＋６．46［ＰＰｉ］＋２．８４［Ｐｉ］＋０．９６［放出されたＨ＋］－９．６６（２０μＭ－［ｄＮＴＰ］）｝ｘ１０$^{-6}$　（５’’’’’’’）
シグナルはＩ－１／２に比例し、従って、反応緩衝溶液のイオン強度はできるだけ低く保つのが望ましいことを注記する。（Ｉ$_{0}$＋ｄＩ）$^{-1/2}$＝Ｉ$_{0}$$^{-1/2}$－１／２（ｄＩ／Ｉ$_{0}$）Ｉ０$^{-1/2}$であることを注記する。かくして、シグナルに対する相対的変化は－１／２(ｄＩ／Ｉ$_{0}$)である。方程式５－５’’’’’’’を比較することによって、ｄＩは緩衝液イオン強度からおおよそ独立していることが分かる。かくして、もし初期のイオン強度であるＩ$_{0}$がより低いならば、相対的シグナル変化はより大きい。
反応／拡散計算
　起こる反応は以下のものである。
ｄ［ＤＮＡ］／ｄｔ＝－ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］
ｄ［ＰＰｉ］／ｄｔ＝ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］
ｄ［ｄＮＴＰ］／ｄｔ＝ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］
　反応ＰＰｉ＋Ｈ$_{2}$Ｏ→２Ｐｉの酵素が存在すれば、この反応は瞬時に起こると推定される。これらの種の全ては、ＤＮＡを除いて、個々の拡散係数に従って拡散する。しかしながら、ＤＮＡのもう１つの塩基を加えることによって放出されたＨ$^{+}$は拡散する。
　有限要素法を用いて、これらの種の反応および拡散を計算することができる.該方法は、好ましくは、円筒座標にコードされる。反応速度に対するＭｇ$^{++}$の効果について以下に注意して、各要素における反応は前記スキームに従う。加えてＭｇ$^{++}$の拡散も追跡される。しかしながら、電流の計算についてはＭｇ$^{++}$は一定であると仮定するのを想起されたい。
　数字コードは、直径Ｄおよび深さＨの円筒への拡散に対する分析的解に対するチェックであった：
【数４１】

$$C(r,z,t) = c0 - c0\,(2/\pi)\sum_{n=0}^{\infty}\left[e^{-D\,(n+1/2)^2\,\pi^2\,t\,/\,H^2}\,/\,(n+1/2)\right]\ \sin[(n+1/2)\,\pi\,z\,/\,H]$$

　もしｒ方向において（Ｄ／２）／１００の点、およびｚ方向のＨ／１００の点のグリッドを用いるならば、結果は０．１％の精度に合致した。
　パラメータｋ$_{bst}$を決定するには、Ｒｏｔｈｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌのＮａｔｕｒｅの論文からの結果を用いた。その論文は関連拡散の単純化された質量移動計算を表し（ｒｅｓｅｎｔｅｄ）、それから関連反応は以下のようになる。
ｄ［ＤＮＡ］／ｄｔ＝－ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］
ｄ［ＰＰｉ］／ｄｔ＝ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］－ｋ$_{c}$（［ＰＰｉ］）
ｄ［ｄＮＴＰ］／ｄｔ＝ｋ$_{bst}$［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］＋ｋ$_{c}$（［ｄＮＴＰ］$_{0}$－［ｄ

ＮＴＰ］）
最後の２つの反応を合わせると、以下が見出される。
ｄ（［ＰＰｉ］＋［ｄＮＴＰ］）／ｄｔ＝－k_{bst}［ｄＮＴＰ］［ＤＮＡ］－k_c（［ｄＮＴＰ］$_0$－［ＰＰｉ］－［ｄＮＴＰ］）
これらの方程式を数値的に解いて、k_{bst}およびk_cの値を決定することができ、３０℃におけるk_{bst}＝２．３８（μＭｓ）$^{-1}$およびk_c＝０．２　ｓ$^{-1}$を得る。

ＰＰｉ→Ｐｉ酵素
反応ＰＰｉ＋H_2O→２Ｐｉは有限の速度で起こる。酵素およびＭｇ$^{++}$の存在下における速度定数は約１０^{3}ｓ$^{-1}$である（Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　４１（２００２）１２０２５）。従って、この反応は１ｍｓ以内に終了する。かくして、この変換は瞬時であるということができる。しかしながら、いずれかの酵素またはイオン触媒の不存在下においては、速度定数は約３$^{-1}$年$^{-1}$である（Ｊ．　Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．　Ｆａｒａｄａｙ　Ｔｒａｎｓ，９３（１００７）４２９５）。この場合、反応は全く進行し～かしながら、多くのイオンはこの反応をある程度触媒する。かくして、もしこの反応が進行しないのが望まれるならば、反応を触媒するイオンが存在しないように溶液を選択するよう注意しなければならない。

拡散係数
配列決定反応からのｐＨ変化によるシグナルは、関連種の拡散係数に依存する。文献（Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｊ　７８（２０００）１６５７）は、Ｐｉ、ＰＰｉ、およびｄＮＴＰについての値を与える：
【表８】

種	３７℃において１０６　Ｄ（ｃｍ２／ｓ）
Pi	9.5
PPi	7.48
ATP	5.3

文献（ＢＢＡ　１２９１（１９９６）１１５）は、温度範囲にわたってのＡＴＰに対しての値を与える。３７℃において、該値は４．５×１０$^{-6}$ｃｍ^2／ｓであり、これを本明細書中において用いる。ＰｉおよびＰＰｉについての値は、因子D_{ATP}（Ｔ）／D_{ATP}（３７℃）だけ前記値を倍率変更させることによって温度Ｔにおいて計算される。２５℃におけるイオンの拡散係数（Ｊ．　Ｃｈｅｍ．　Ｐｈｙｓ．　１１９（２００３）１１３４２）は、以下の通りである。Ｍｇ＋＋　１．２５（Ｊ．　Ａｍｅｒ．　Ｃｈｅｍ．　Ｓｏｃ．　７７（１９５５）２６５）、Ｎａ＋　１．３３（Ｊ．　Ｃｈｅｍ．　Ｐｈｙｓ．　１１９（２００３）１１３４２）である。
【表９】

種	２５℃において１０５　Ｄ（ｃｍ２／ｓ）
Mg++	1.25 (J. Amer. Chem. Soc. 77 (1955) 265)
Na+	1.33 (J. Chem. Phys. 119 (2003) 11342.)

Ｈ$^+$の拡散係数はＮａ$^+$のそれと同等であると推定され、なぜならば、電荷中性によって、Ｈ$^+$は対としての負のイオンでの拡散でなければならず、あるいはＨ$^+$はもう１つの正のイオンと交換しなければならず、そのうちＮ$^+$は最も迅速に拡散するからである。

１つの好ましい実施は、全ての種の拡散係数を減少させるための小さな球（例えば、０．１μｍ）の使用を含む。これは、おおよそ拡散係数が低下する比率だけ、ｐＨ曲線をより大きな時間にシフトさせる。拡散係数の低下についてのテキストブックの式は、$D_{eff}/D_0 = 2(1-\phi)/(2+\phi)$であり、ここに、φは該球によって専有される容積の分率である。

小さな球の半径はこの表現に直接的には入らない。球無しについては、φ＝０である。ランダムにパッキングした球では、φ　０．６であり、密なパッキングをした球では、φ＝０．７４である。

もう１つのアプローチが、H^+、Ｐｉ、ＰＰｉ、およびｄＮＴＰの拡散係数を低下させるために他の方法を用いることである。例えば、溶液の粘度は増大させることができる。

配列決定反応

次に、Mg^{++}の拡散して入る効果を考える。どのように酵素反応速度が［Mg^{++}］に依存するかは正確に知られてい～かしながら、二価金属イオンが酵素活性に必要である。該速度は、１ｍＭのＭｇ＋＋における最大速度まで直線状に比例すると推定される。かくして、反応速度定数はk_{bst}　ｍｉｎ（１，［Mg^{++}］／１ｍＭ）と等しいと推定される。

Mg^{++}についての$1.25\times10^{-5}$$cm^2$／２の拡散係数を用いることができる。モデル２については、ｔ＝０では、濃度$[Mg^{++}]_0$＝１ｍＭにおいて、ｚ＝０においてのみMg^{++}が存在する。ｔ＞０では、それは拡散して入り、方程式（８）によると反応速度に影響する(8).モデル１では、Mg^{++}の濃度はウェルにおいて全ての時間に１ｍＭである。別法として、溶液中の遊離Mg^{++}濃度がゼロとなるように、酵素はMg^{++}と共に予め浸漬されると仮定することができる。

７～９のｐＨの範囲においては、反応は、おおよそ以下のように、H^+を放出する。

DNA_n	n
DNA_{n+1}	n＋１
ｄＮＴＰ	4
ＰＰｉ	3
２Ｐｉ	4

これは、溶液のｐＨよりも低いｐＫａ値を持つ全てのH^+が良好な近似にて生じるからである。もし溶液がｐＨ７～９であれば、これらの種の全てはｐＨを低下させる。従って、反応ｄＮＴＰ＋DNA_n→ＰＰｉ＋DNA_{n+1}の正味の効果は、ｐＨを変化させないことである。

反応ＰＰｉ＋H_2O→２Ｐｉの正味の効果は、１つの正味のH^+の放出によってｐＨを変化させることである。

ビーズ表面のＤＮＡによって放出されたH^+はＤＮＡを越えて外まで拡散し、ｐＨはＤＮＡのｐＫａよりもかなり高いので、これらのH^+イオンは、平衡時間ｔ＜０の間にウェルから外へ拡散するであろう。（全てのこれらのH^+は拡散して離れる）。すなわち、もしビーズ上のＤＮＡが、ｄＮＴＰが加えられる前に平衡とされると、溶液は、丁度、（ビーズ近くに少し過剰のNa^+が存在して、デバイ長さ内で、ＤＮＡ上の負の電荷をバランスさせた）通常の緩衝溶液のはずである。ＤＮＡの過剰の塩基が加えられると、H^+のパルスが生じ－－－拡散係数はＮａ＋のようなものである。

ウェルのサイズ

シミュレーション実行は小さなウェルについて行った：

【表１０】

D(μm)	H(μm)	2 R_{bead} (μm)	V_{well} (pl)	$[DNA]_{well}$ (μM)
1.5	2.25	1.05	0.005063	4.62
4	6	2.8	0.096	1.73
6	8	5.91	0.29	2.55

Ｄ＝１．５μｍでは、ｈ＝０．２μｍ（ビーズの１層）である。Ｄ＝４μｍについては、ｈ＝１．１μｍである。そうでなければｈ＝１．５μｍである。加えて、１つの実行は、半径３．６μｍのより大きなビーズにて４μｍ×６μｍウェルについて行った。

デバイス流動におけるｄＮＴＰ先端厚み

ｄＮＴＰは、計算において、ｔ＝０においてウェル上方で０から６．５μＭへ瞬時に変化すると推定される。もしｄＮＴＰがウェルを通って十分迅速に流動するならば、この条件はほぼ真実である。定義

Ｖ＝ウェル上方の流体の流動の速度
Ｌ＝デバイスの長さ
Ｄ＝ｄＮＴＰの拡散性＝３．９１×１０$^{-6}$ｃｍ^{2}／ｓ
ｄ＝ウェルのサイズ
ｔ＝デバイスを通っての流動を一掃するための時間
t_0＝「瞬時の変化」のためのカットオフ時間
W_d＝デバイスの端部における拡散による先端の幅＝（２Ｄｔ）$^{1/2}$
W_m＝混合による先端の幅　フラッシュ容量領域の長さ
Ｕ＝フラッシュ容量＝１５μｌ（現在５２μｌ）
Ｕ＝流速＝５０μｌ／ｓ

フローセルの幾何学は、３１３および３１４と命名された２つのモデルについて以下の通りである：

【表１１】

フローセル	軸（mm）	幅（mm）	高さ（mm）	容量（μｌ）	セル容量／ｓ
314	7.249	7.249	0.336	17.657	2.775
313	4.999	4.999	0.293	7.321	6.693

Ｌ＝５ｍｍ、ｄ＝４μｍを取り、ｔ＝１／６．６９ｓを仮定する。Ｑ＝５０μｌ／ｓ。従って、W_d＝１０．８μｍである。また、Ｖ＝Ｌ／ｔ＝３．３ｃｍ／ｓである。φ＝０．６では、$D_{eff}=D_0$　２（１－φ）／（２＋φ）＝１．２０ｘ１０$^{-6}$ｃｍ^{2}／ｓである。t_0の値はウェルのサイズに依存する。それは、ｄＮＴＰがN_{poly}＝０につきウェルの底部まで拡散する時間よりもかなり短い（すなわち、このイオンパルス応答が起こる時間よりもかなり短い）はずであり、いってみれば、その値の１０％である。４×６μｍウェルについては、拡散に対する障害無しを仮定して、ｄＮＴＰがウェルの底部まで拡散する時間は、Ｈ^{2}／（２Ｄ）であり、従って、t_0＝１０％×Ｈ^{2}/（２Ｄ）＝０．０１５ｓである。シミュレーションは、その上のＤＮＡを備えた球が拡散を遅延させ、従って、恐らくはt０＝１０％＊０．２ｓ＝０．０２ｓであることを明らかにする。Ｄ＝ｍａｘ（W_d，W_m）と定義する。先端の前方端がデバイスを横切る時間はｄ／Ｖである。全先端（前方＋後方端）がウェルを横切るのに要する時間は（Ｗ＋ｄ）／Ｖである。ｄ

ＮＴＰ濃度の「瞬時の」上昇の条件は（Ｗ＋ｄ）／Ｖ＜＜ｔ$_0$である。（Ｗ＋ｄ）／Ｖ　Ｕ／ｕ。Ｕ／ｕ＝０．３ｓであって、ｔ$_0$＝０．０２ｓであるので、この条件は前記仮定によって満足されない。１０のファクターだけ、Ｕはより小さくされなければならないか、またはｕはより大きくされなければならないか、あるいはその双方であるか、のいずれかである。Ｗ$_m$がフラッシュ領域の長さによって与えられる条件は少し余りにも厳格であろう：混合領域の幅は、全フラッシュ領域の長さよりも実質的により小さくてもよい。これは保存的条件である。しかしながら、Ｗ$_d$／Ｖ＜＜ｔ$_0$であり、従って、先端の拡散的広がりは無視できる。

次に、異なる計算である。チャネルの壁におけるｄＮＴＰの濃度は、ｔ$_0$未満において、０から６．５μｍまで上昇するのが望ましい。ｔ＝０における濃度Ｃ（ｘ，ｙ，ｚ）は、ｔ＝０においてｃ$_0$＝６．５μｍであると仮定することができる。０＜ｘ＜Ｌ、－Ｂ＜ｙ＜Ｂ、０＜ｚ＜Ｗを取る。０＜ｘ＜Ｌのいずれかの値については、ｙ＝Ｂにおける濃度を知るのが望まれる。厳格に述べれば、壁における濃度は０にとどまり、というのは、拡散を考慮しない限り、そこでの速度は０だからである。従ってｘ方向の対流およびｚ方向の拡散を考慮する必要がある。対流［６］の計算。

$$v=[(p_0-p_L)B^2/(2\mu L)][1-(y/B)^2] \quad (10)$$

流速はＱ＝（２／３）（ｐ$_0$－ｐ$_L$）　Ｂ^3　Ｗ／（μ　Ｌ）である。デバイスの末端における平均流動が０．９５　ｃ$_0$となるのに必要な時間を計算する。まず、拡散がなければ、濃度は以下によって与えられることに注意されたい。

$$c(x,y,z)\ \begin{cases} 0, & t<t* \\ c_0, & t>t* \end{cases}$$

$$t*=x/v(y) \quad (11)$$

流動はｔ’＝Ｌ／ｖ（０．９５Ｂ）の最大濃度の９５％となる。１つの容量をクリアするための時間はｔ’’＝容量／Ｑであり、ここに、容量＝２Ｂ　ＷＬである。ｔ’＝２／３／０．０９７５ｔ’’＝６．８７ｔ’’であることが判明し得る。かくして、平均濃度を最終値（３ではない）の９５％に持ってゆくのに７デバイス容量を要する。関心事の中には、デバイス壁の濃度の値がある。濃度は、対流によって支配されるｙ方向の拡散を無視し、方程式

$$\partial c/\partial t+v(y)\ \partial c/\partial x=D\ \partial^2 c/\partial y^2 \quad (12)$$

$$c(x,y,0)=0$$
$$c(0,y,t)=c_0$$
$$\partial c(x,\pm B,t)/\partial y=0$$

に従う。次に、濃度は、より小さなｘ－δｘおよびｙ＝ｙ－δｙにおいて存在した濃度プロフィールからの拡散を除いて、時間δｔにおける拡散によって壁に到達するというのは、対流はこの時間δｔの間に起こるからである。（δｙ）^{2}＝２Ｄｔに注意されたい。前記より、濃度は、時間ｔ’’＝１／６．６９ｓの間の拡散によってδｙ＝１０μｍのオーダーで拡散することができることが分かる。それは時間ｔ$_0$＝０．０２ｓの間に拡散するのが望まれ、それは、３．９５μｍの拡散距離を意味する。従って、保存的計算として、方程式（１１）ｔ＊＝Ｌ／ｖ（Ｂ－３．９５μｍ）から計算することができよう。時間ｔ＊＋ｔ$_0$までに、壁における濃度は、拡散および対流の組合せを通じてほぼｃ$_0$であろう。かくして、ｖ＝（３／４）（１／Ｂ　Ｗ）Ｑ［１－（ｙ／Ｂ）＾２］である。

これを用い、ｔ＊＝Ｌ／ｖ（Ｂ－３．９５　μｍ）＝１．８４ｓである。後の値ｔ$_0$に

おいて、壁における濃度はほぼ最大まで上昇する。残念なことに、この計算は、１．８４ｓの間に、ｙの小さな値からの速度プロフィールからの材料もまた壁まで拡散するチャンスを有したことを無視する。また、それは、ｘのより小さな値について開始する拡散は、ｙがより大きくなるにつれ、より低い速度にて右側に進行することを無視している。

かくして、境界層をわたっての拡散は対流よりも速いのはいつであるかと尋ねることができる。拡散によってはδ／ｔ＝２Ｄ／δである。対流によってはδ／ｔ＝ｖ（Ｂ－δ）である。これらの２つはδ＝．００１ｍｍ＝１．０μｍについて等しい。従って、先端がδ＝Ｌ／ｖ（Ｂ－δ）＝６．７８ｓのこの値に到達すると、壁への材料の進行は拡散によって完全に支配されている。そして、濃度は、時間δ^2／（２Ｄ）＝０．０１ｓの間にほぼc_0まで上昇するであろう。従って、δ＜１．０μｍについては、対流はｘ方向の拡散よりも重要である。

方程式（１２）の数値的解は、前記近似的計算をチェックするために必要である。有限要素法を用いて。数値的に方程式（１２）を解くことができる。我々は、前記デバイスについては、壁における濃度はｘ＝０．５ｍｍにおいては約０．１５ｓ内に、およびｘ＝５．０ｍｍにおいては約０．５ｓ内に上昇することを見出す。これは余りにも遅い。レイノルズ数はＲｅ＝１ｇ／ｃｍ３＊０．５ｃｍ／（１／６．６９ｓ）＊０．０２９３ｃｍ／０．０１ｃｐ＝９．８である。もし高さが０．１ｍｍであると設定すれば、壁における濃度はｘ＝０．５ｍｍにおいては約０．０４ｓ内に、およびｘ５．０ｍｍにおいては約０．１５ｓ内に上昇することが見出される。これはおそらくは余りにも遅い。Ｒｅ＝９．８。もし別法としてＱ＝２４０μｌ／ｓと設定すれば、壁における濃度はｘ＝０．５ｍｍにおいては約０．０５ｓ内に、およびｘ＝５．０ｍｍにおいては約０．２ｓ内に上昇する。これは恐らくは余りにも遅い。Ｒｅ＝４７。高さが０．１ｍｍおよびＱ＝２４０μｌ／ｓの双方を設定すれば、壁における濃度はｘ＝０．５ｍｍにおいて約０．０１３ｓ内に、およびｘ＝５．０ｍｍにおいて約０．０７ｓ内に上昇する。これは恐らくは十分速い。Ｒｅ＝４７。全ての場合における流動は層流とすべきである。

前記したことは、最大のシグナルがｄＮＴＰのブレークスルーから来るものであり、およびこのブレークスルーはかなりシャープである点で少し余りにも厳格であろう。ウェルの頂部におけるｄＮＴＰ上昇は０．０２ｓ内に完了する必要はない可能性がある。恐らく、該上昇は、ウェルの底部におけるｄＮＴＰブレークスルーのかなり前に完了しさえすればよい。そして、これは数秒のオーダーである。従って、ウェルの頂部において上昇しているｄＮＴＰ濃度に関して反応／拡散方程式を解く必要がある。それを０およびｔの間で０から６．５μＭまで直線状に上昇させ、ここに、ｔは、デバイスの末端における上昇時間についての従前のパラグラフで特定された値である。

これらの数値的シミュレーションから、ウェルの表面におけるｄＮＴＰの有限上昇時間は、イオンパルスデバイスの効率をわずかに低下させるに過ぎないことが判明するであろう。６μｍ×８μｍデバイスでは、０．２ｓの有限上昇時間は、観察されたセンサー応答曲線にわずかに影響するに過ぎない。０．５ｓの有限上昇時間は最初のピークをより長い時間にシフトさせ、ならびにN_{poly}の全ての値のピークの高さを低下させることによって観察されたセンサー応答曲線に影響する。より遅い応答時間を持つ表面は、この有限なｄＮＴＰ上昇時間によって余り影響されない。４μｍ×６μｍについてはわずかにより劇的であれば、効果は同様である。というのは、このデバイスについての特徴的な拡散時間はより小さく、従って、有限上昇時間は、ウェルの表面における瞬時のｄＮＴＰ上昇の理想化された場合に対するより大きな相対的摂動だからである。

結果のパラメータ感度

実験的変数に対するイオンパルス応答の感度を決定するために、４μｍ×６μｍ系を参照として採用した。この検出方法は拡散に依拠しているので、ウェルの幾何学はプロットされるいずれのN_{poly}曲線の分解能に対しても有意なインパクトを有する。

ｄＮＴＰ濃度は半分とされて３．２５μＭとなり、２倍とされて１３μＭとなった。ビーズ表面のＤＮＡを３のファクターだけ増大させた。実行は、より大きな３．６μｍビー

ズで行った。ビーズ表面のＤＮＡおよびｄＮＴＰの双方は３のファクターだけ増加させた。酵素の反応速度ｋは半分とし、および２倍とした。５μＭ　Ｔｒｉｓ、遊離Mg^{++}無しについてのセンサー応答曲線を、前記の全てについて作成した。

酵素の反応速度定数の２倍は、ピークを非常にわずかにより高くする。

１つの可能性は、ビーズ上のＤＮＡ濃度が余りにも高くて反応は有効に拡散制限され、従って、酵素速度定数は濃度曲線に影響する主な因子ではないということである。同様に、１／２だけ酵素反応速度を低下させるのは、センサー曲線に対してほとんど効果を有しない。それは、それらを時間内に非常にわずかに広げるにすぎない。

大きなビーズは非常によく働く。ビーズ上のＤＮＡのより多くの塊があるので、それを消費するのはより長い時間がかかる。加えて、ビーズは容量がより大きな空間を取り、従ってウェル底部までの拡散は少し長い時間を要する。ピークはより大きな時間まで広がる。

ビーズ上のＤＮＡのより大きな濃度は時間内にピークを広げる。これは、ＤＮＡのより大きな濃度は、ビーズ上のＤＮＡのより大きな塊を意味するからである。ＤＮＡのこのより大きな塊は、反応までにより長い時間を要する。かくして、ｄＮＴＰの最終ブレークスルーはより長い時間を用する。

溶液ｄＮＴＰ濃度を３．２５μＭまで降下させるのは、ピークを時間内に広げるが、また、ピークの高さを低下させる。２つの効果が、恐らくは、異なるN_{poly}曲線を区別することに関してほぼ相殺される。逆に、ｄＮＴＰ濃度の１３μＭまでの増大は、ピークをより小さな時間へシフトさせる。ピークはより高いが、それらは、また、時間が実質的により近い。該曲線はそのようにより短い時間におけるものであるので、それらはセンサーの応答時間へ移動している。１３μＭ曲線は６．５μＭの場合よりも余り区別ができないであろう。

ビーズ上のＤＮＡの濃度を３倍増加させ、および溶液中のｄＮＴＰ濃度を１３μＭまで増加させるのは、ピークを約３倍高くするが、それらを時間内に広げない。タイムスケールは比較的変化しない。なぜならば、ビーズ上のＤＮＡの量はより大きいが、反応速度もまた、より高いｄＮＴＰ濃度のためより大きいからである。同一時間に放出されるより大きな塊があるゆえに、ピークはより高い。

パッキングビーズ－φ（ファイ）

（全ての種の拡散を遅らせるための）パッキングビーズに対する所望性は、同様なウェル寸法の間で、および４×６ミクロン（幅×高さ）および６×８ミクロンウェルの間で、イオンパルス応答を比較することによって見られる。N_{poly}曲線は、ウェルの増大した深さおよびパッキングビーズで分解される（φ＝０．６）。

φの効果を見るための式は、効果的な拡散係数である。

$$D_{eff} = D_0 * 2(1-\phi)/(2+\phi)$$

φ＝０．６についてはD_0/D_{eff}＝３．２５、例えば、ビーズのため３．２５×減速である。

φ＝０．９についてはD_0/D_{eff}＝１４．５、例えば、このため１４．５×減速である。

必要な他の式はウェルにおける特徴的時間である。

$$H^2 = 2 \quad D_{eff} \quad t$$

従って、φ＝０．６における６ｕｍウェルについては、$t = 6^2/(2/3.25*D_0) = 58.5/D_0$である。

φ＝０．９における２．２５ウェルは、$t = 2.25^2/(2/14.5*D_0) = 3$

６．７／D_0を生じる。
従って、φ＝０．９における２．２５ｕｍウェルは、全ての時間に、φ＝０．６における６ｕｍウェルよりも小さな約３６．７／５８．５＝０．６３を有するであろう。より小さなウェルは、依然として、僅かにより速いであろう。φ＝０．９３６を有すれば（ウェルの直径およびＤＮＡビーズがウェル高さと同様に倍率変更されることを仮定し）、より小さなウェルは丁度より大きなウェルとしてほぼ正確に作動するであろう。

シグナル対ノイズ
シグナル対ノイズ比は、N_{poly}およびN_{poly+1}シグナルの間のｍＶで表わした差に、また、ｍＶ曲線が異なる間の時間の長さの平方根に比例する。σをセンサーのノイズと定義し、ｆを秒当たりのフレームの数と定義する。０＜ｔ＜t_{max}の間におけるシグナル１およびシグナル２の間の絶対値の平均的差をΔと定義し、すなわち、$\Delta = \int_0^{t_{max}} |v_1 - v_2| / t_{max}$である。
曲線の間の差は双方の兆候を有することができる故に、絶対値を取る。かくして、条件はΔ＞σ［２／（ｆt_{max}）］$^{1/2}$である。
一例として、Ｄ＝４μＭ、Ｈ＝６μＭウェル、φ＝０、ｄＮＴＰ＝２０μＭ、１０×ＤＮＡの場合について考える。ｆ＝２０Ｈｚ、およびt_{max}＝２ｓを取る。Δの値は０．６８６１である。かくして、ｖ＝（３／４）（１／Ｂ　Ｗ）Ｑ［１－（ｙ／Ｂ）＾２］である。

０．６８６１＞０．２２σ

従って、σ＝０．２５ｍＶの値を用い、このデバイスは作動するであろう（１－Ｐ＝１０$^{-35}$）。もう１つの例として、Ｄ＝４μＭ、Ｈ＝６μＭウェル、φ＝０、ｄＮＴＰ＝６．５μＭ、１０×ＤＮＡの場合について考える。ｆ＝２０Ｈｚ、およびt_{max}＝4ｓを取る。Δの値は０．１８６２である。かくして、ｖ＝（３／４）（１／Ｂ　Ｗ）Ｑ［１－（ｙ／Ｂ）＾２］である。

０．１８６２＞０．１５８１σ

従って、σ＝０．２５ｍＶの値を用い、このデバイスは恐らくは作動するであろう（１－Ｐ＝２．４×１０$^{-6}$）。
t_{max}の最適な値：余りにも小さな値があり、十分なシグナル；余りにも大きな値を有するものではなく、かなりのノイズを見ていることに注意されたい。t_{max}の値はここではおおまかなものに過ぎない。
【０６３７】
同等物
いくつかの発明的実施形態を記載し、ここに説明してきたが、当業者であれば、機能を実施し、および／または結果および／または本明細書中で記載された利点の１以上を得るために、種々の他の手段および／または構造を容易に考え付き、そのような変形および／または修飾の各々は、本明細書中で記載された発明的実施形態の範囲内にあるとみなされる。より一般的には、当業者であれば、本明細書中で記載された全てのパラメータ、寸法、材料、および構成は、例示的であることを意図し、および現実のパラメータ、寸法、材料、および／または構成は、具体的な適用、または発明の教示が用いられる適用に依存するであろうことは容易に認識するであろう。当業者であれば、ルーチン的実験を超えないものを用いて、本明細書中で記載された具体的な発明的実施形態に対する多くの同等物を認識し、またはそれを確認することができよう。従って、これまでの実施形態は例のみによって提示され、添付の特許請求の範囲およびその同等物内で、発明的実施形態は、具体的に記載され、および特許請求されるものとは異なるように実施することができると理解されるべきである。本開示の発明的実施形態は、本明細書中で記載された各個々の特徴、

系、製品、材料、キットおよび／または方法に向けられる。加えて、２以上のそのような特徴、系、製品、材料、キット、および／または方法のいずれの組合せも、もしそのような特徴、系、製品、材料、キット、および／または方法が相互に矛盾しないならば、本開示の発明的範囲内に含まれる。

【０６３８】

全ての定義は、本明細書中で定義されかつ用いられるように、辞書的定義、引用により援用された書類中の定義、および／または定義された用語の通常の意味を支配すると理解されるべきである。

【０６３９】

本明細書中で開示された全ての文献、特許および特許出願は、各々が引用され、いくつかの場合には書類の全体を含むことができる、主題に関連して、引用して援用する。

【０６４０】

不定冠詞「ａ」および「ａｎ」は、明細書および特許請求の範囲において、ここに用いられるように、明瞭に反対のことが示されるのでなければ、「少なくとも１つ」を意味すると理解されるべきである。

【０６４１】

フレーズ「および／または」、明細書および特許請求の範囲において、ここに用いるように、そのように連結されたエレメント、すなわち、いくつかの場合には同時に存在し、および他の場合には同時でなく存在するエレメントの「いずれかまたは双方」を意味すると理解されるべきである。「および／または」でリストされた多数のエレメントは同じように、すなわち、そのように連結されたエレメントの「１以上」と解釈されるべきである。他のエレメントは、所望により、具体的に特定されたそれらのエレメントに関連するか関連しないかを問わず「および／または」節によって具体的に同定されたエレメント以外で存在してもよい。かくして、非限定的例として、「Ａおよび／またはＢ」の言及は、「含む」のようなオープン－エンデット言語と組合わせて用いた場合、１つの実施形態においては、（所望により、Ｂ以外のエレメントを含めた）Ａのみをいうことができ；もう１つの実施形態においては、（所望により、Ａ以外のエレメントを含めた）Ｂのみをいうことができ；なおもう１つの実施形態においては（所望においては、他のエレメントを含めた）ＡおよびＢ双方をいうことができ；等々である。

【０６４２】

明細書および特許請求の範囲において、ここに用いるように「または」は先に定義された「および／または」と同一の意味を有すると理解されるべきである。例えば、リスト中で項目を分離する場合、「または」または「および／または」は、包括的である、すなわち、エレメントの数またはリストおよび、所望により、さらなるリストされていない項目の、少なくとも１、また１を超えたものを含めると解釈されるべきである。「の１つのみ」、「の正確に１つ」または特許請求の範囲で用いる場合には「よりなる」のような、明瞭に反対のことが記された用語のみがエレメントの数またはリストの正確に１つのエレメントを含めるという。一般に、用語「または」は、本明細書中で用いるように、「いずれか」、「の１つ」、「の１つのみ」または「の正確に１つ」のような排他性の用語が先行する場合、排他的代替物（すなわち、「１つ、またはもう一方、しかし双方ではない」）を示すように単に解釈されるべきである。「より実質的になる」は、特許請求の範囲で用いられた場合には、特許法の分野で用いられるその通常の意味を有する。

【０６４３】

明細書および特許請求の範囲においてここに用いられるように、フレーズ「少なくとも１つ」は１以上のエレメントのリストへの参照において、エレメントのリスト中のいずれかの１以上のエレメントから選択される少なくとも１つを意味すると理解されるべきであるが、エレメントのリスト内に具体的にリストされた各およびあらゆるエレメントの少なくとも１つを必ずしも含まず、かつエレメントのリスト中のエレメントのいずれかの組合せを排除しない。この定義は、具体的に確認されたエレメントに関連するかまたは関連しないかを問わず、フレーズ「少なくとも１つ」が言及するエレメントのリスト内で具体的

に確認されるエレメント以外で、エレメントが所望により存在してもよいことを許容する。かくして、非限定的例として、「ＡおよびＢの内少なくとも１つ」（または、同等に、「ＡまたはＢの少なくとも１つ」、または同等に、「Ａおよび／またはＢの少なくとも１つ」）は、１つの実施形態において、所望により１を超えるを含めた少なくとも１つのＡをいい、Ｂは存在せず（所望により、Ｂ以外のエレメントを含んでもよい）；もう１つの実施形態において、所望により１を超えるを含めた少なくとも１つのＢをいい、Ａは存在せず（所望により、Ａ以外のエレメントを含んでもよい）；なおもう１つの実施形態において、所望により１を超えてもよい少なくとも１つのＡ、および所望により１を超えてもよいを含めた少なくとも１つのＢをいう（所望により、他のエレメントを含んでもよい）；等々。

【０６４４】

また、明瞭に反対のことが示されているのでなければ、１を超える工程または行為を含む本明細書中において特許請求されたいずれの方法においても、該方法の工程または行為の順番は、該方法の工程または行為が引用される順番に必ずしも限定されないのも理解されるべきである。

【０６４５】

特許請求の範囲、ならびに前記明細書中において「含む」、「含めた」、「運ぶ」、「有する」、「含有する」、「関係する」、「維持する」、「から構成された」等のような全ての移行フレーズは、オープン－エンデッドである、すなわち、限定されるものではないが含めることを意味すると理解されるべきである。移行フレーズ「よりなる」および「実質的によりなる」のみが、各々、米国特許庁の特許審査手順のマニュアル、第２１１１．０３条に記載されているように、閉じているか、または半分とじた移行フレーズである。

【図１】

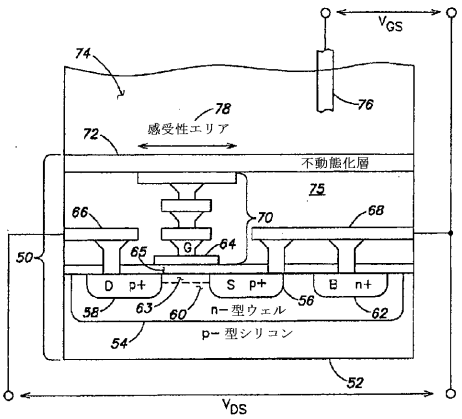


図 1

【図２】

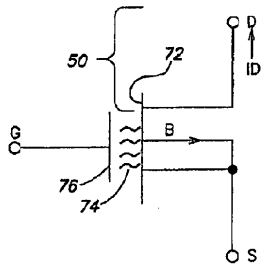


図 2

【図２Ａ】

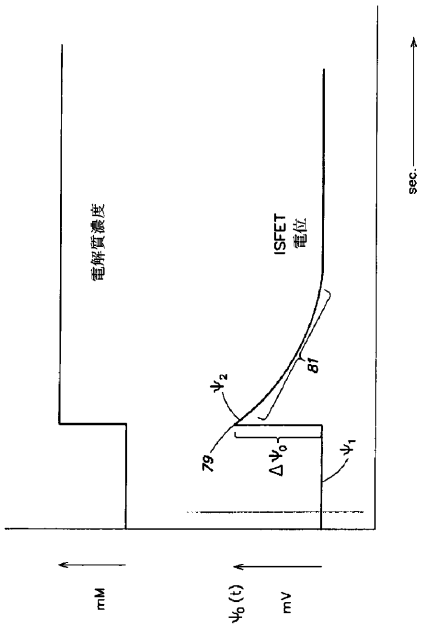


図 2A

【図３】

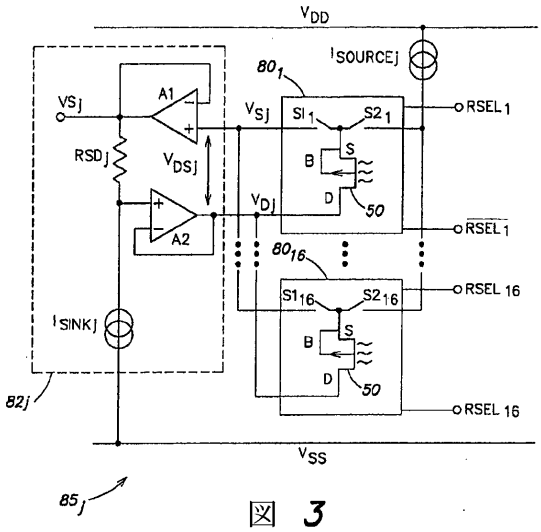


図 3

【図４】

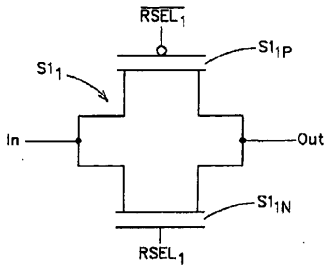


図 4

【図５】

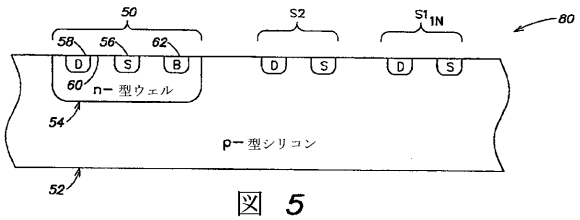


図 5

【図６】

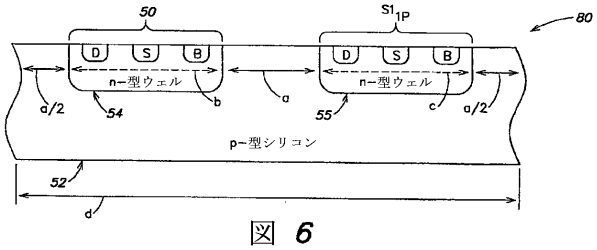


図 6

【図７】

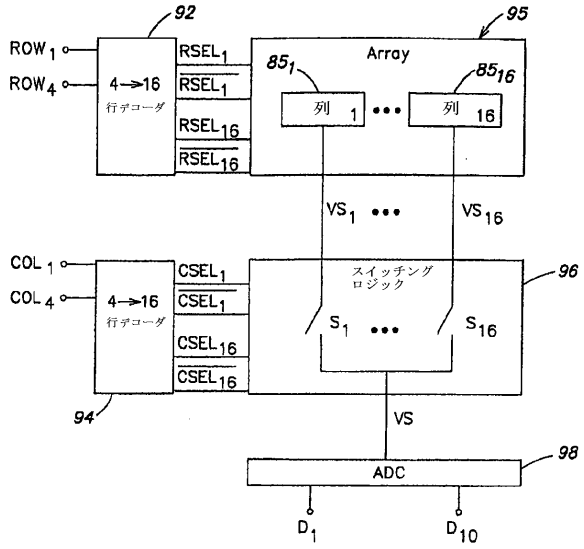


図 7

【図８】

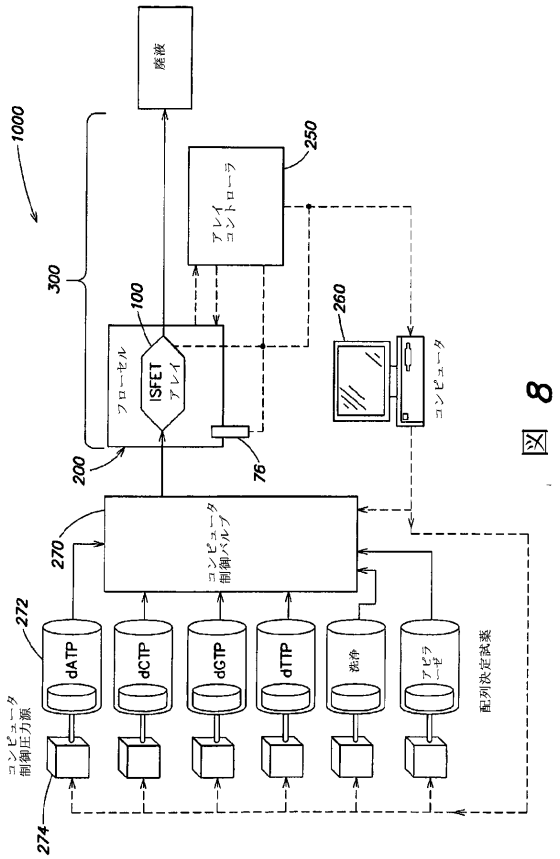


図 8

【図８Ａ】

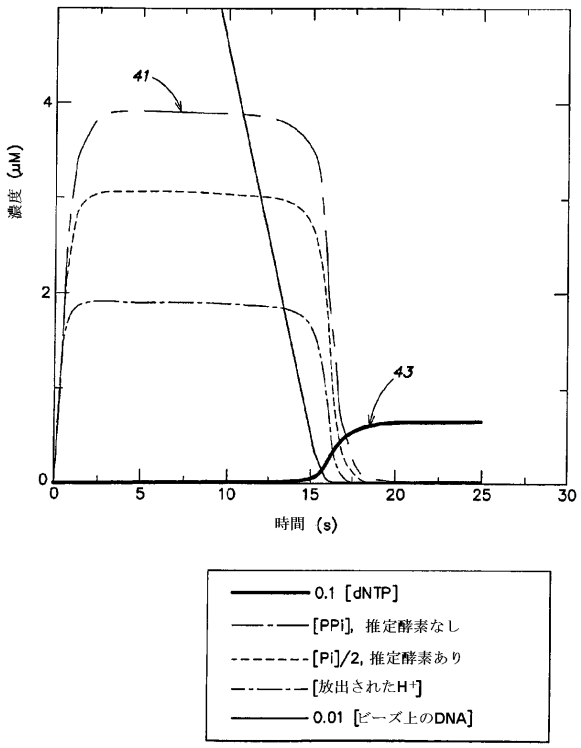


図 8A

【図８Ｂ】

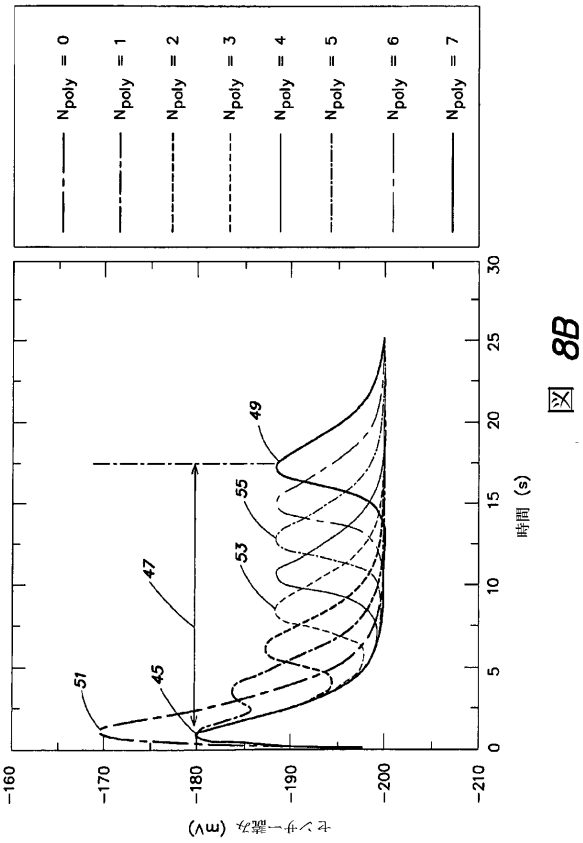


図 8B

【図９】

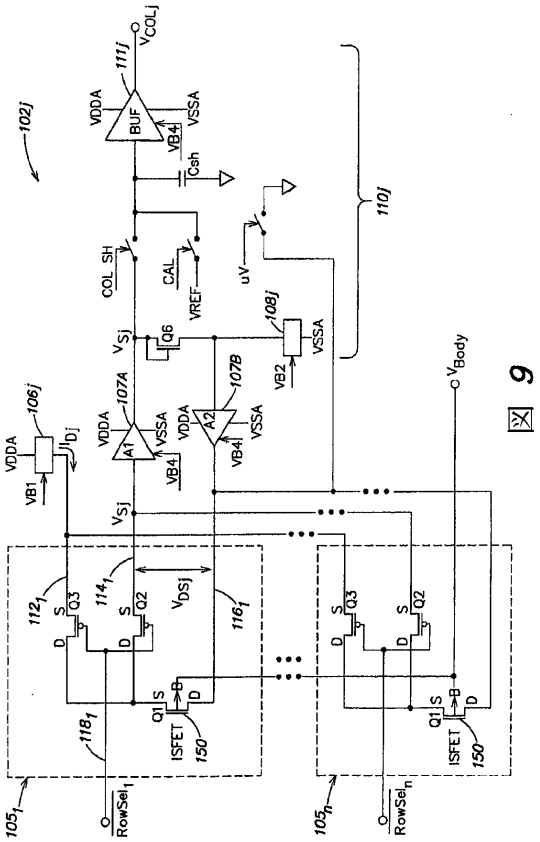


図 9

【図９Ａ】

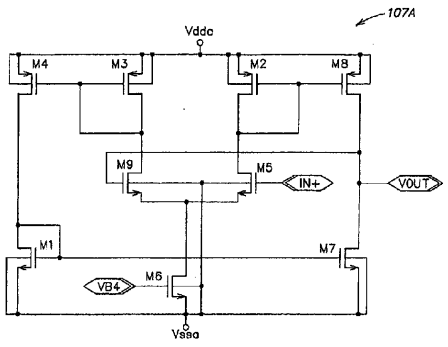


図 9A

【図９Ｂ】

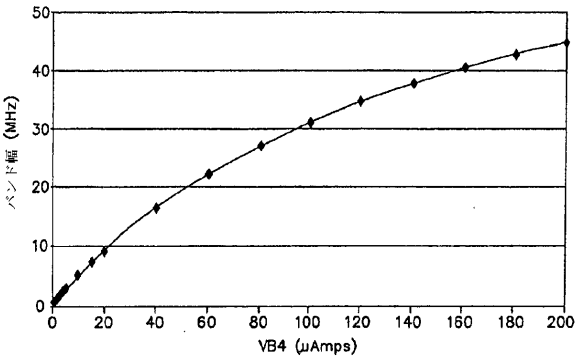


図 9B

【図１０】

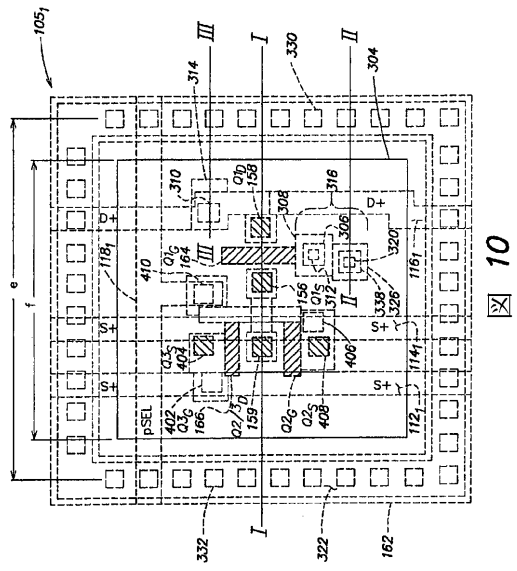


図 10

【図１０－１】

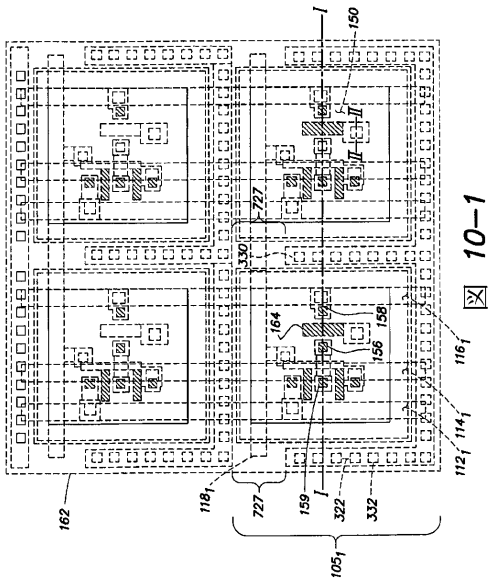


図 10-1

【図１１Ａ】

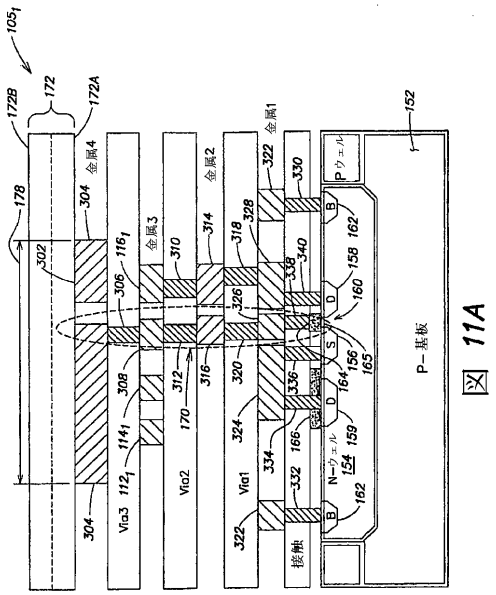


図 11A

【図１１Ａ－１】

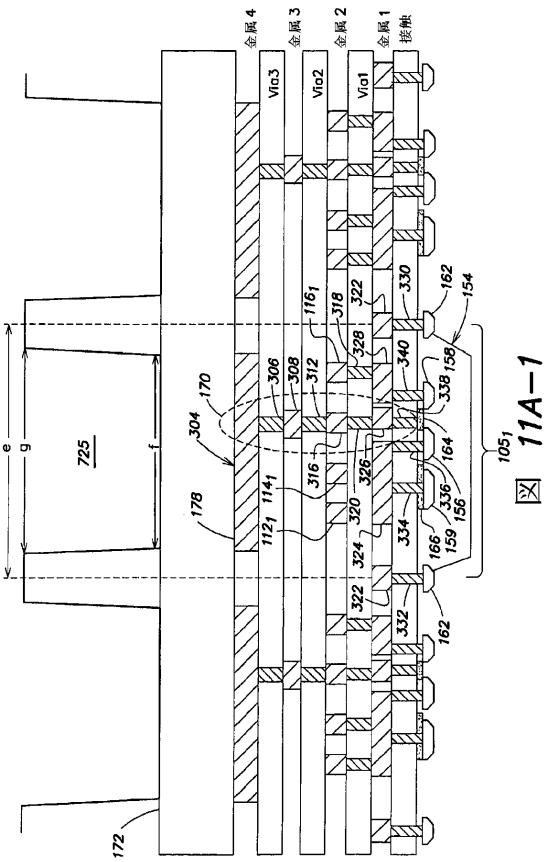


図 11A-1

【図１１Ｂ－１】

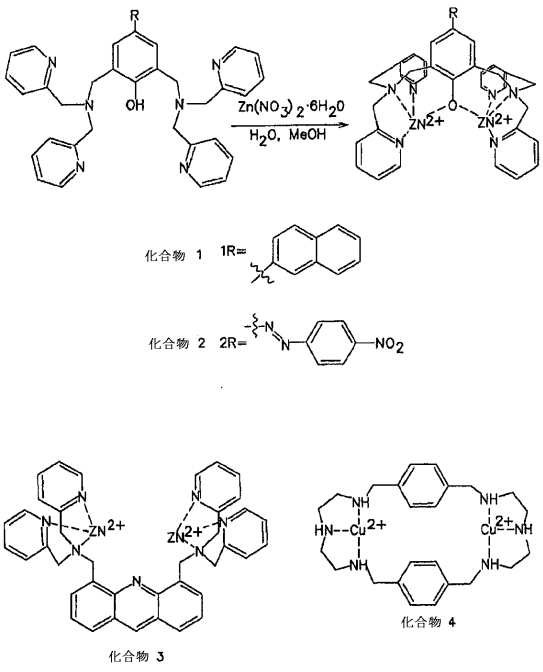


図 11B(1)

【図１１Ｂ－２】

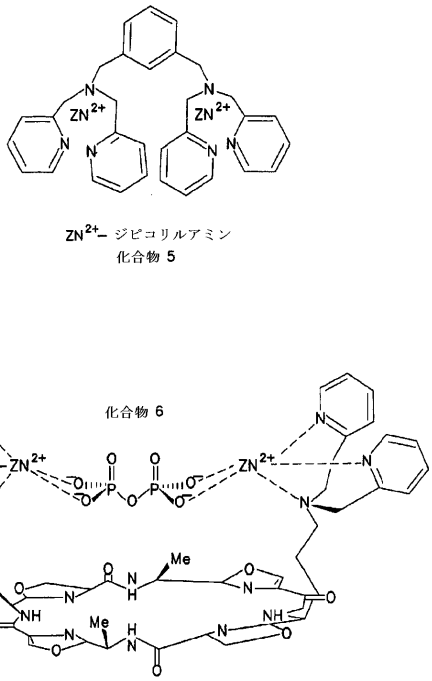


図 11B(2)

【図１１Ｂ－３】

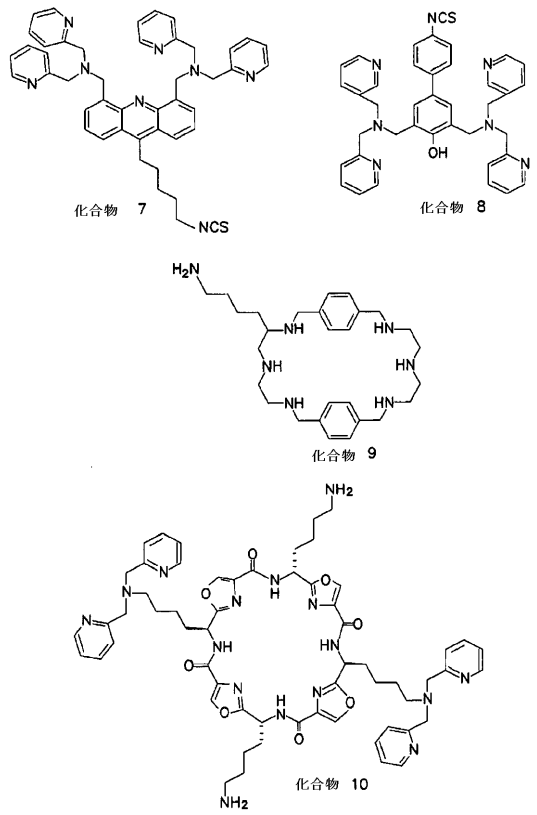


図 11B(3)

【図１１Ｃ－１－１】

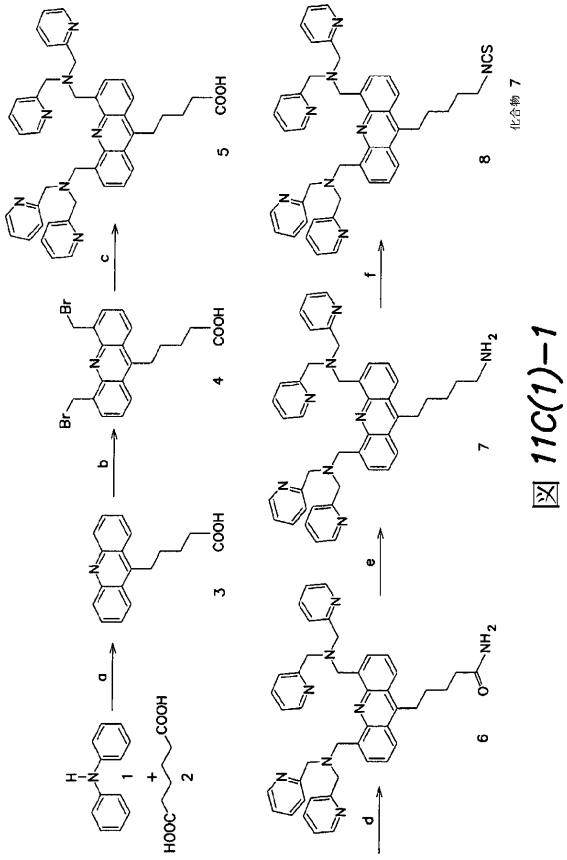
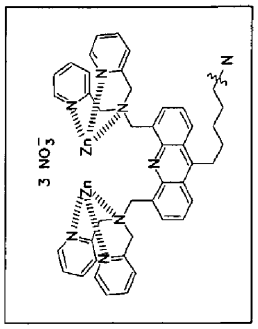


図 11C(1)-1

【図１１Ｃ－１－２】

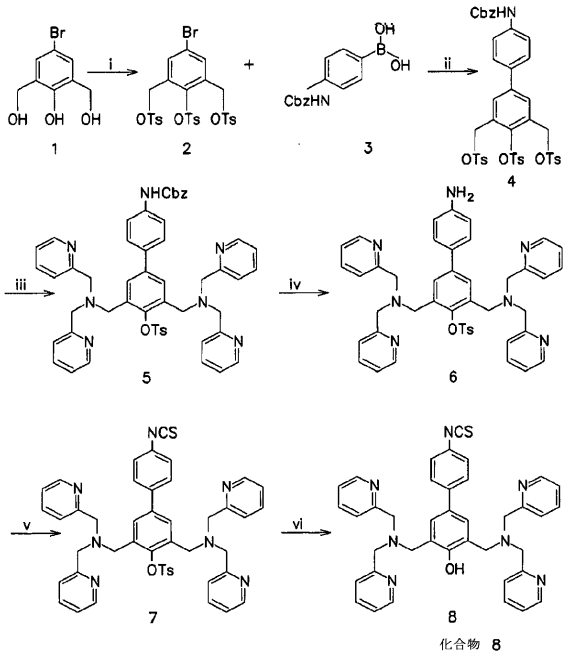


a. $ZnCl_2$; 20% H_2SO_4
b. $BrCH_2OCH_3$, H_2SO_4, 50°C, 18%
c. ジピコリルアミン, K_2CO_3, CH_2Cl_2, 66%
d. NH_2CONH_2, 加熱
e. $LiAlH_4$, Et_2O or BH_3
ジ－２－ピリジルチオカーボネート, CH_2Cl_2, 46%

注意：Ｚｎイオンは、表面～の共有結合後に加えられる。

図 11C(1)-2

【図１１Ｃ－２】



i. TsCl, TEA, 4-DMAP, THF
ii. $Pd(PPh_3)_4$, aq Na_2CO_3, EtOH/ベンゼン
iii. ジピコリルアミン, K_2CO_3, KI, MeCN
iv. H_2, Pd/C, MeOH
v. DPT, MeCN, r.t.
vi. NaOH, MeOH, THF

図 11C(2)

【図１１Ｃ－３】

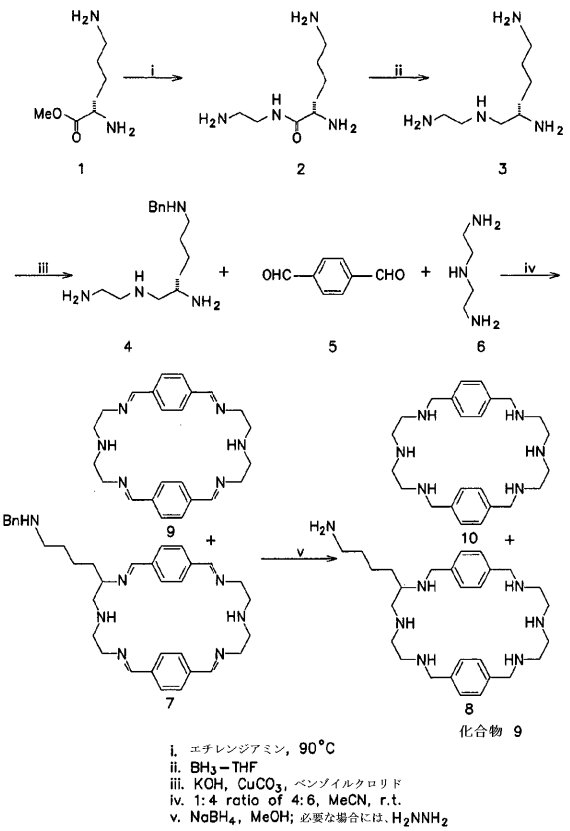


図 11C(3)

【図１１Ｄ－１】

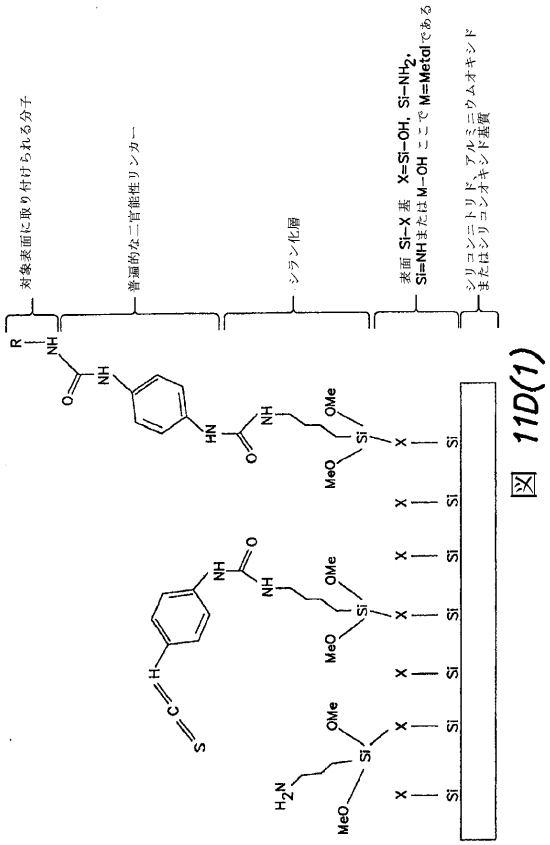


図 11D(1)

【図１１Ｄ－２】

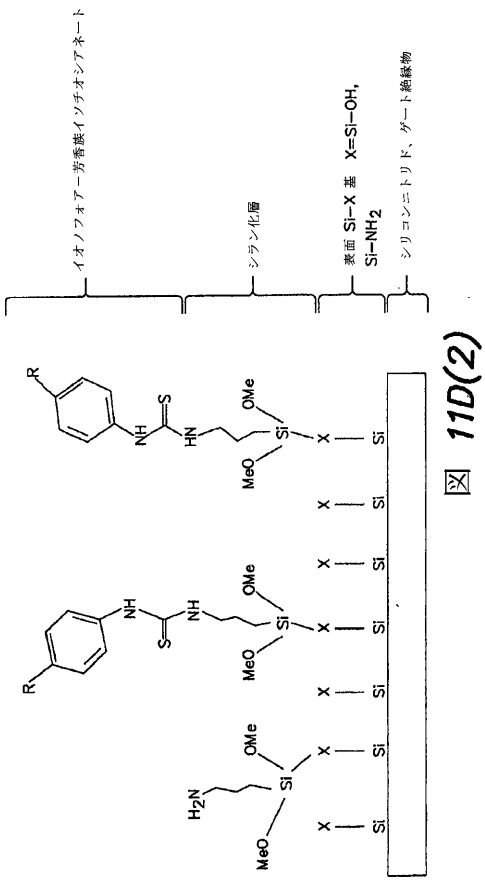


図 11D(2)

【図１１Ｅ】

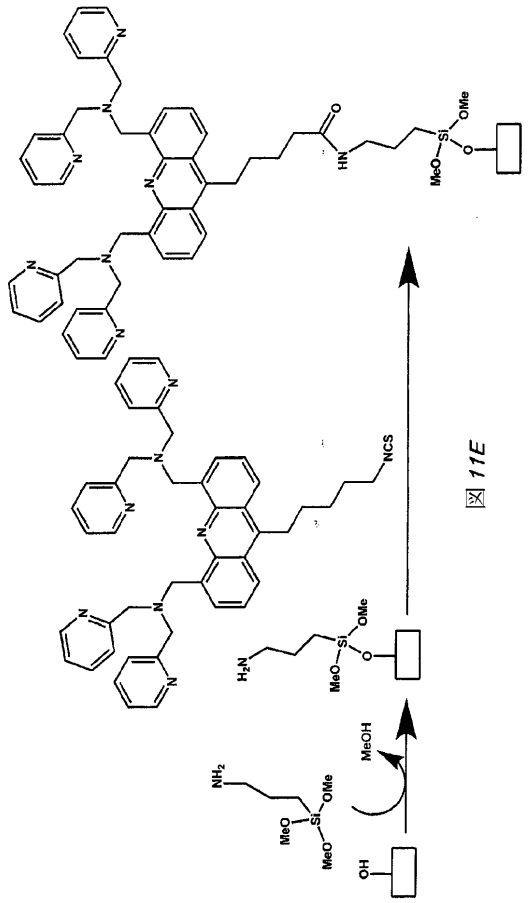


図 11E

【図１２】

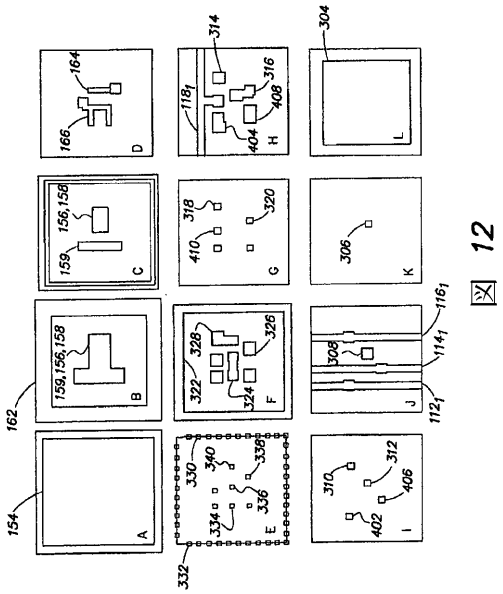


図 12

【図１２－１】

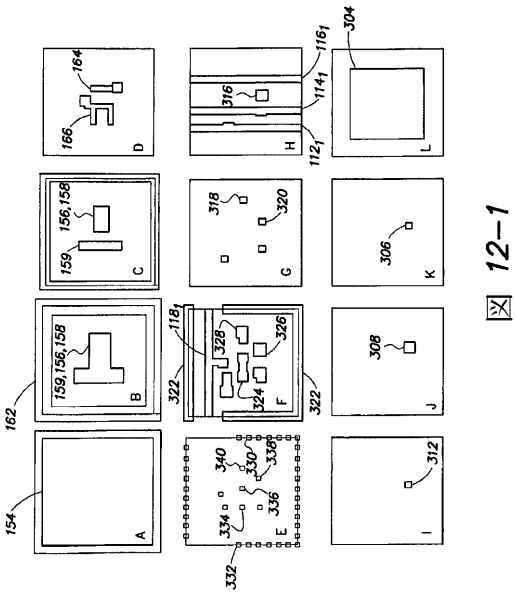


図 12-1

【図１３】

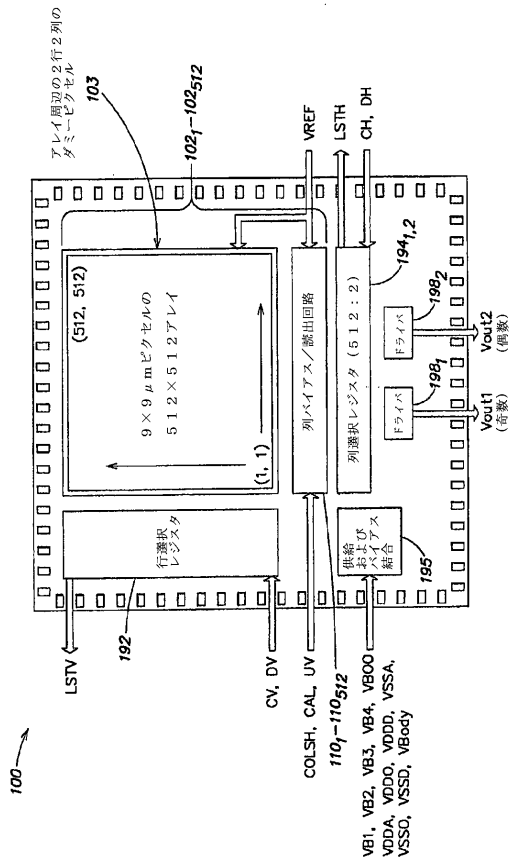


図 13

【図１４】

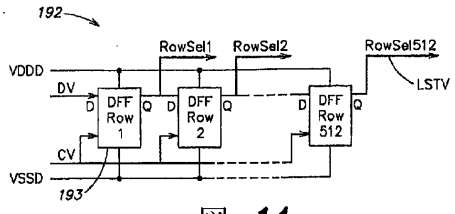


図 14

【図１５】

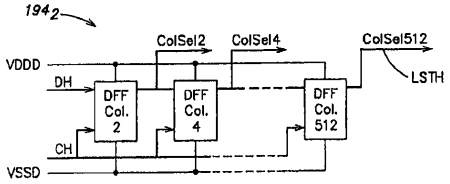


図 15

【図１６】

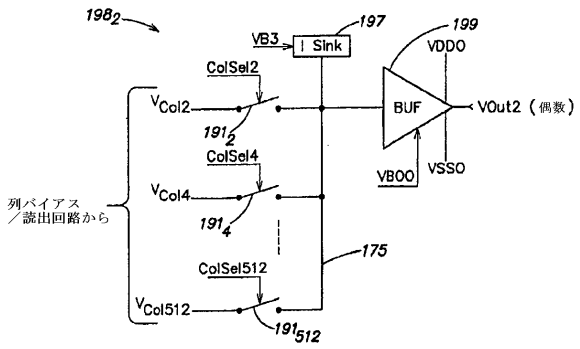


図 16

【図１７】

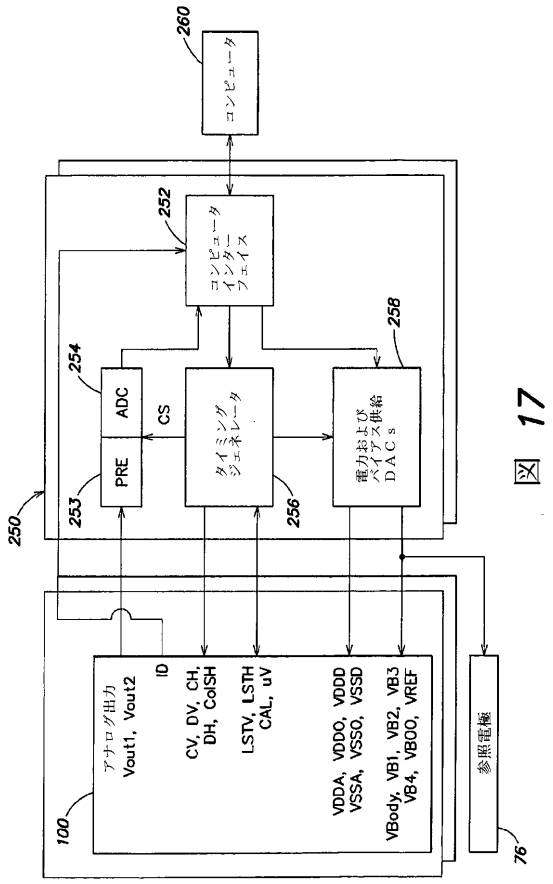


図 17

【図１８】

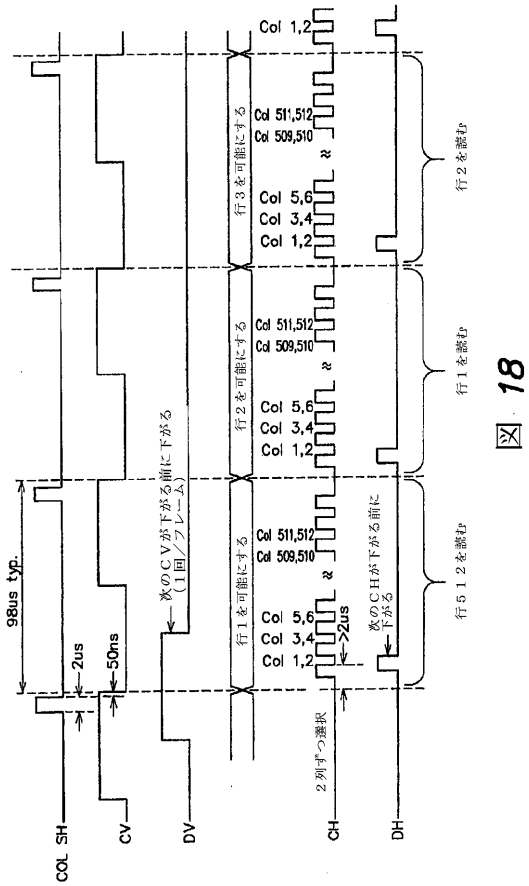


図 18

【図１８Ａ】

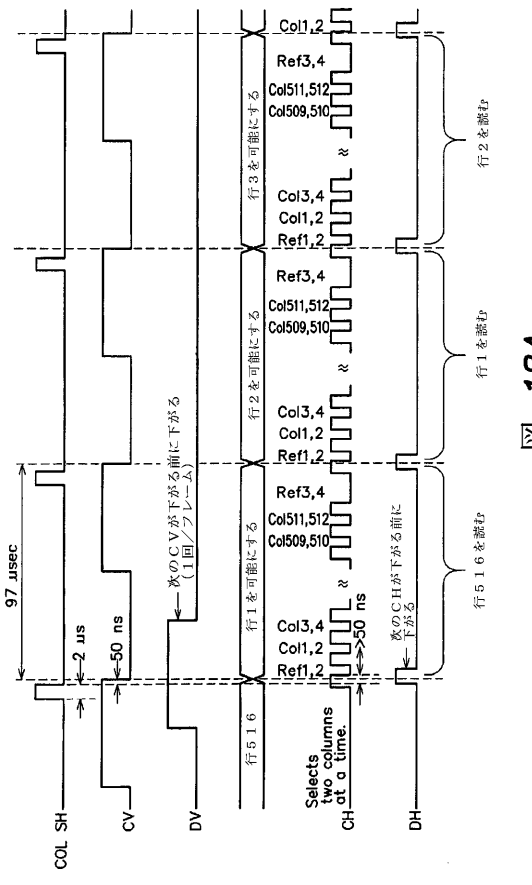


図 18A

【図１８Ｂ】

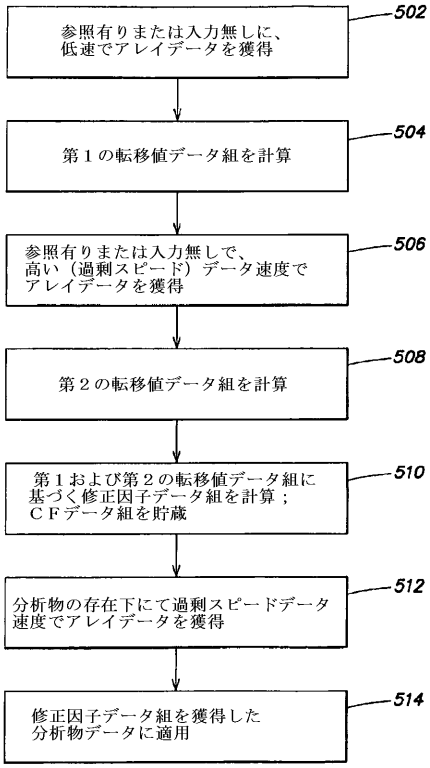


図 18B

【図１８Ｃ】

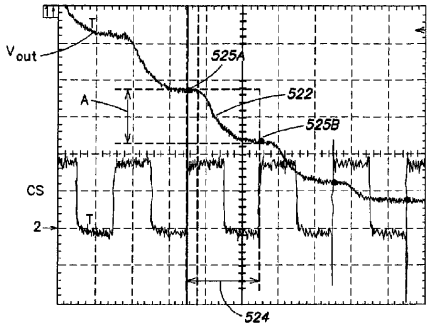


図 18C

【図１８Ｄ】

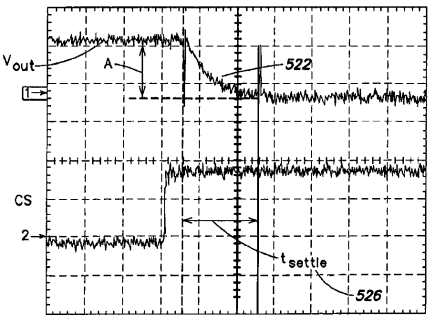


図 18D

【図１９】

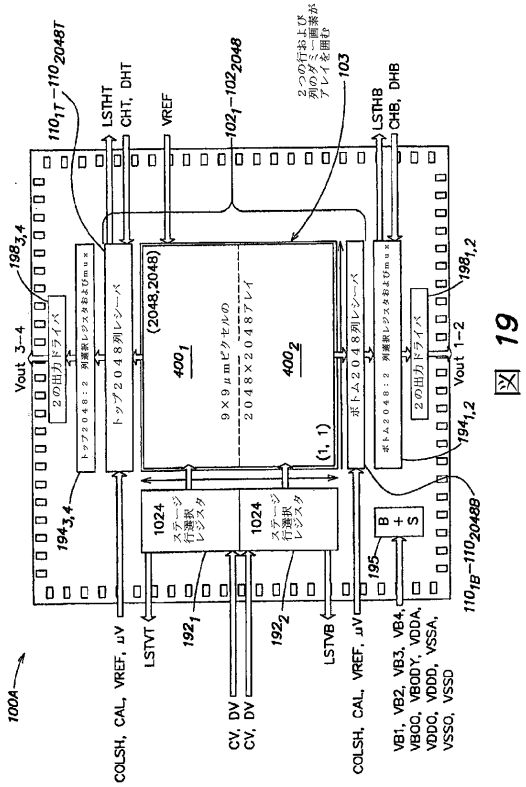


図 19

【図２０】

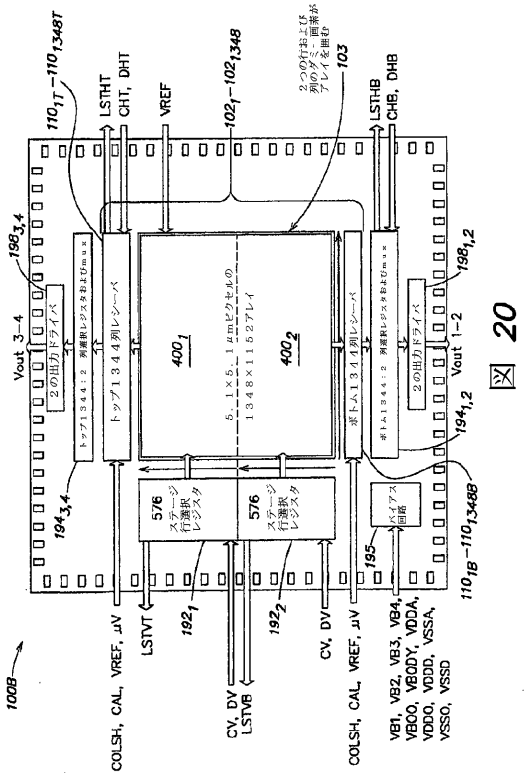


図 20

【図２０Ａ】

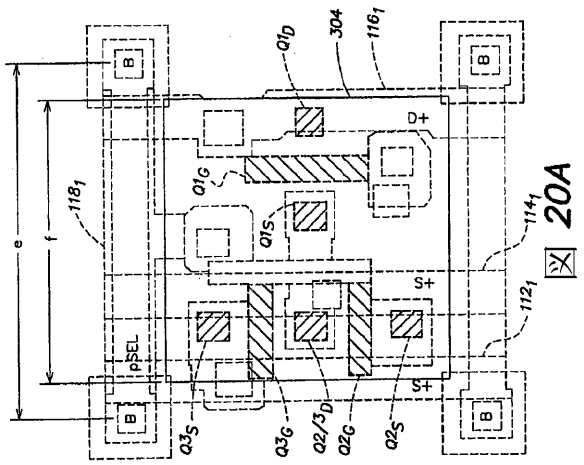


図 20A

【図２１】

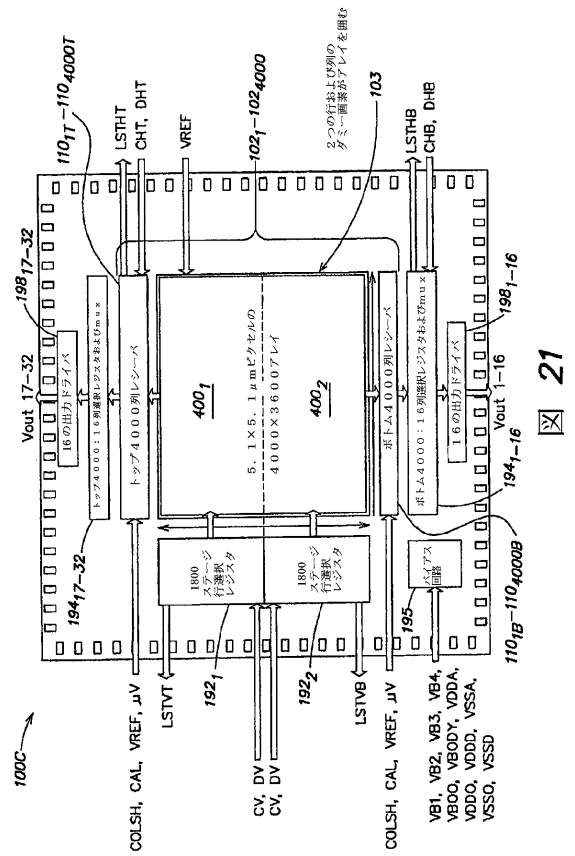


図 21

【図２２】

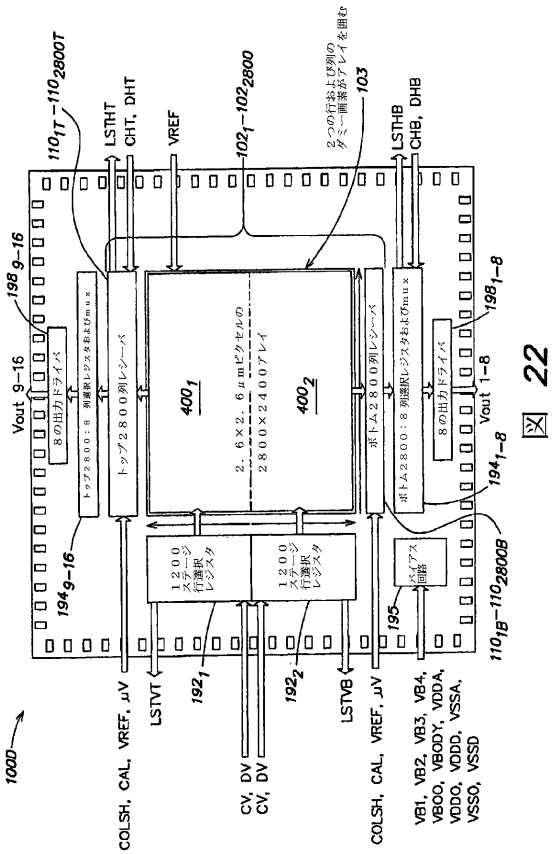


図 22

【図２３】

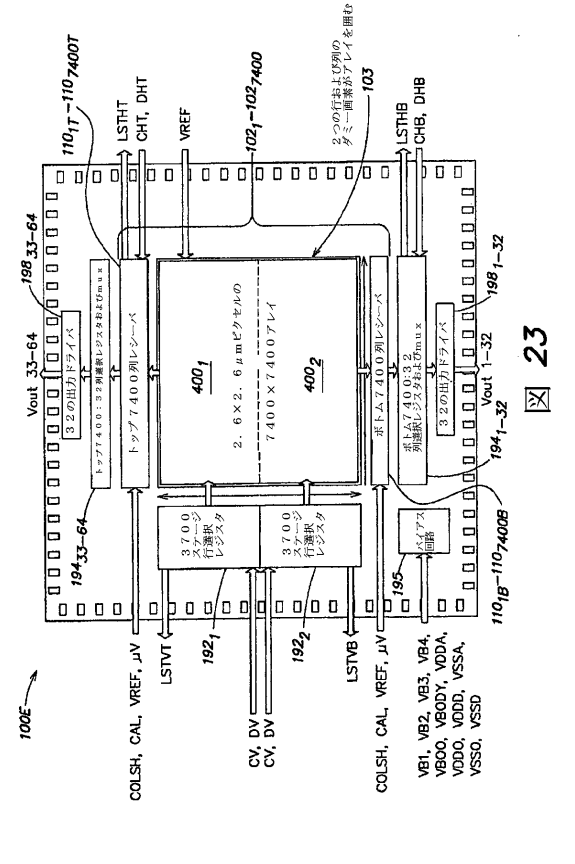


図 23

【図２４】

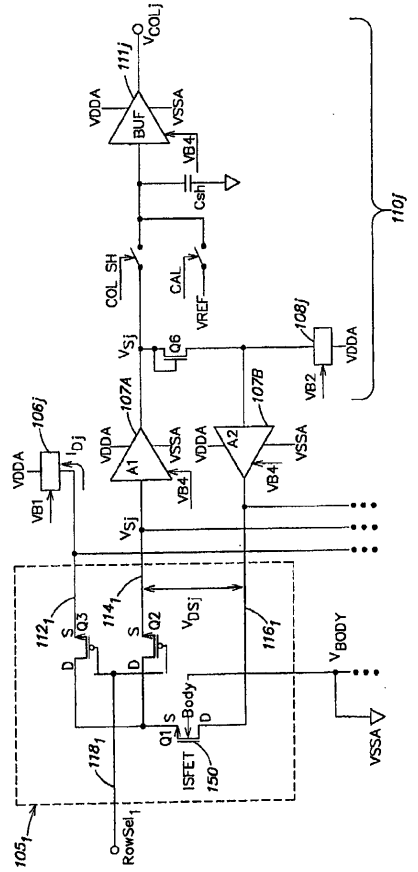


図 24

【図２５】

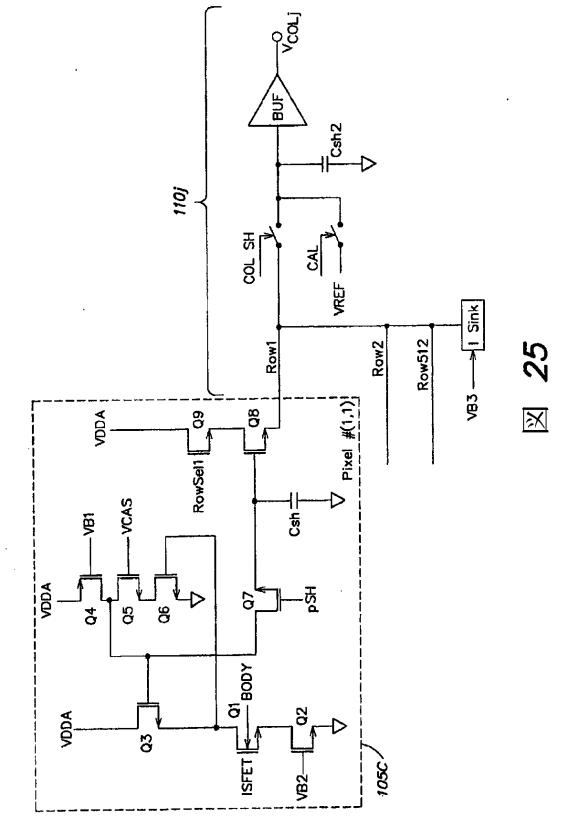


図 25

【図２６】

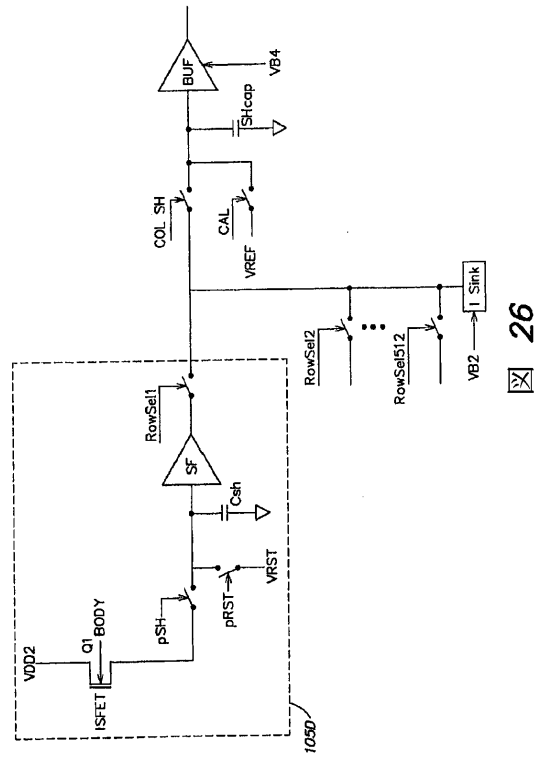


図 26

【図２７】

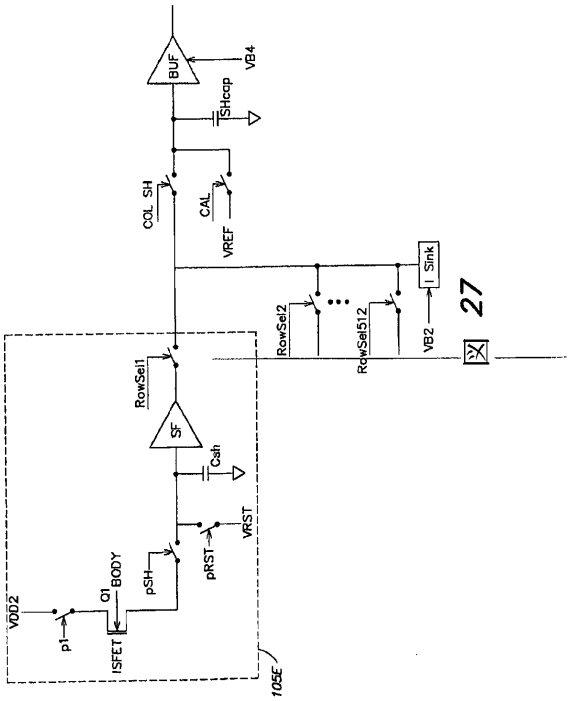


図 27

【図２８Ａ】

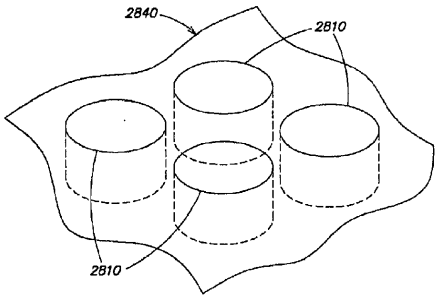


図 28A

【図２８Ｂ】

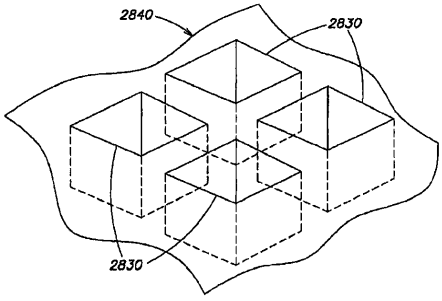


図 28B

【図２９】

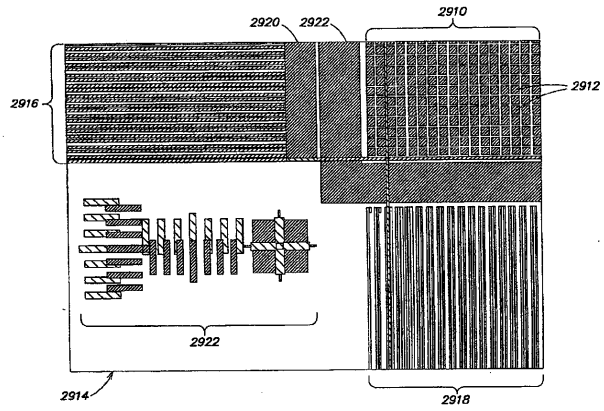


図 29

【図３０】

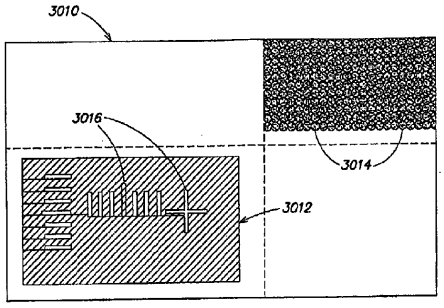


図 30

【図３１】

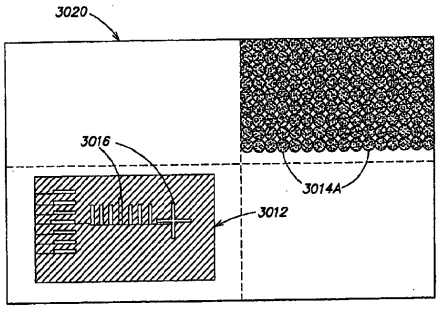


図 31

【図３２】

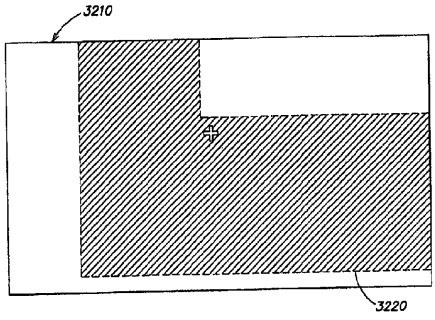


図 32

【図３３】

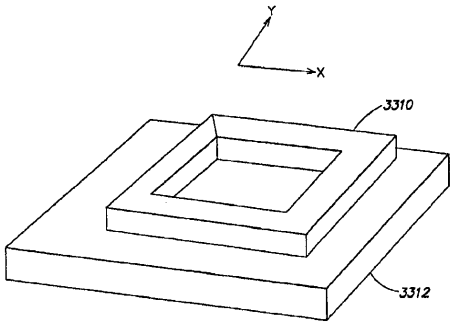


図 33

【図３３Ａ】

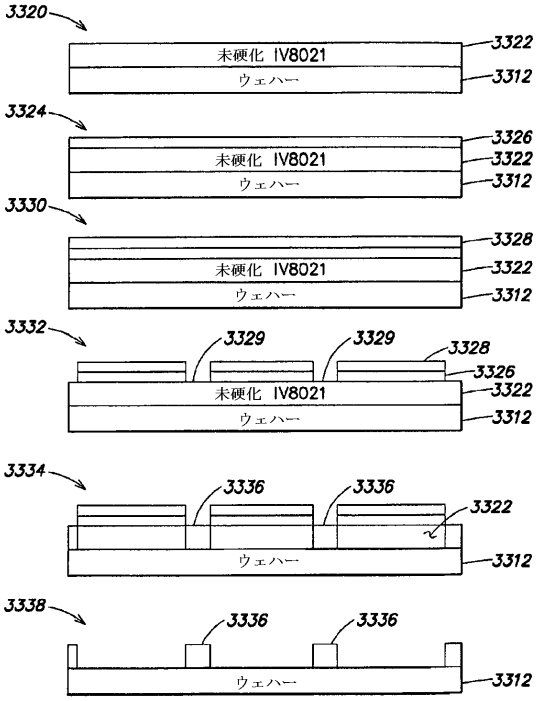


図 33A

【図３３Ｂ】

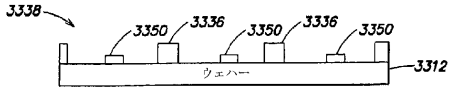


図 33B

【図３３Ｂ－１】

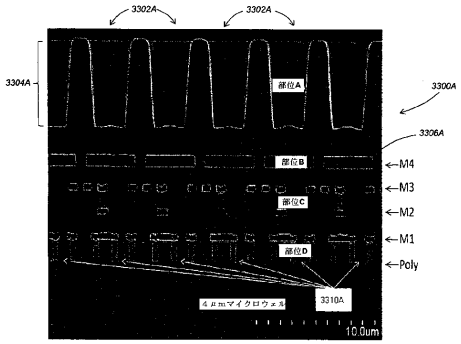


図 33B-1

【図３３Ｂ－２】

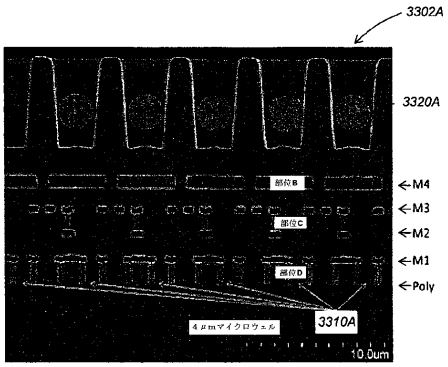


図 33B-2

【図３３Ｂ－３】

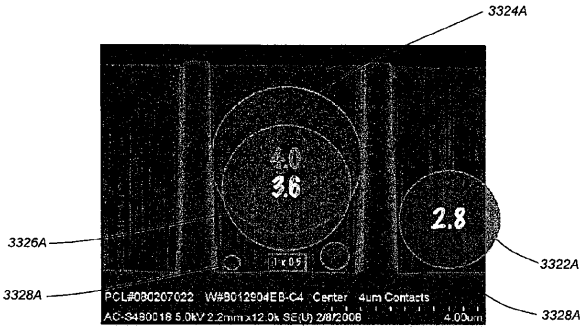


図 33B-3

【図３４】

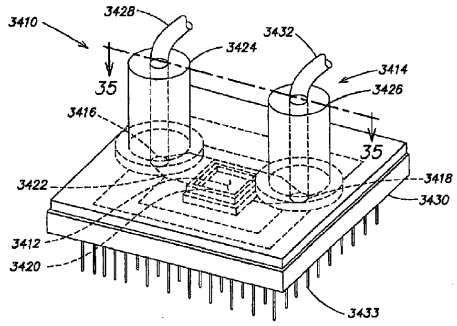


図 34

【図３５】

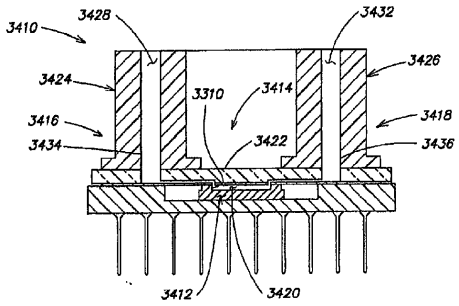


図 35

【図３６】

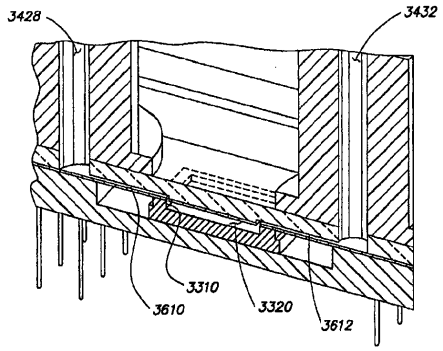


図 36

【図３７】

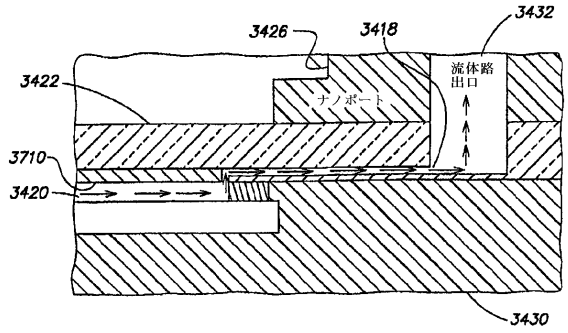


図 37

【図３８】

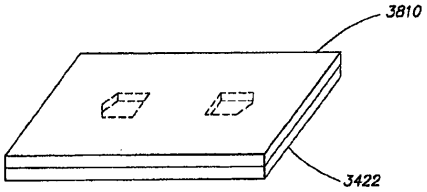


図 38

【図３９】

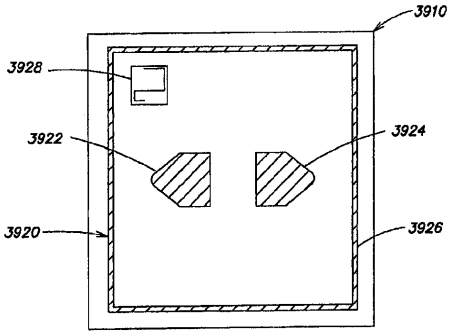


図 39

【図４０】

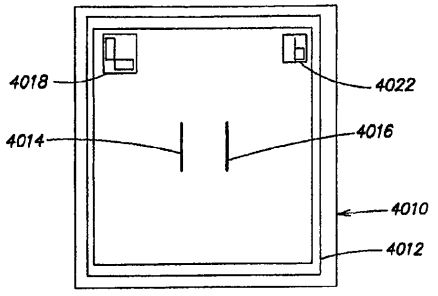


図 40

【図４１】

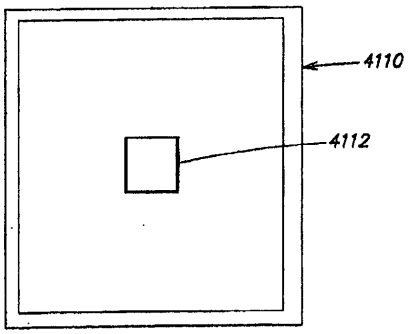


図 41

【図４２】

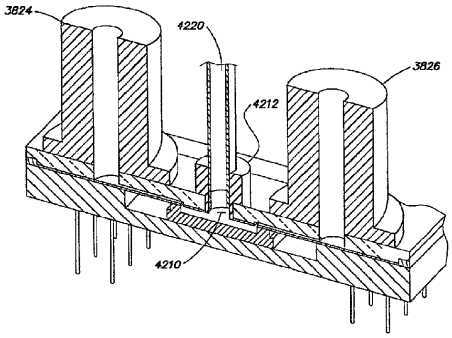


図 42

【図４２Ｄ】

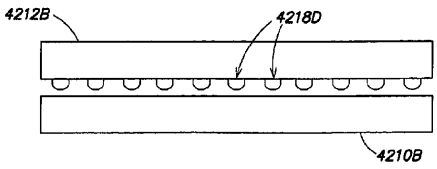


図 42D

【図４２Ａ】

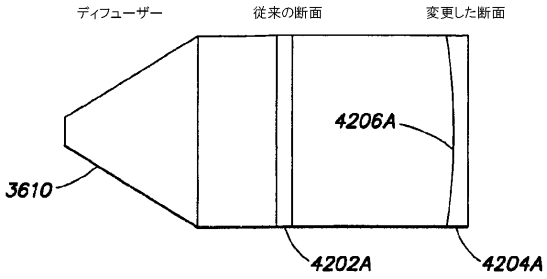


図 42A

【図４２Ｂ】

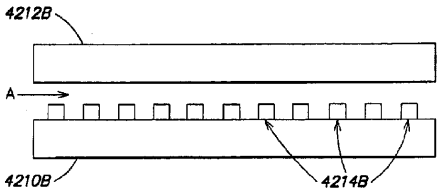


図 42B

【図４２Ｃ】

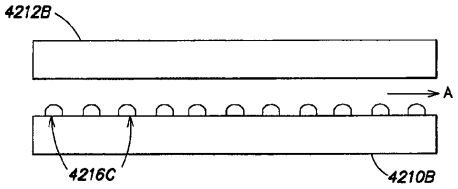


図 42C

【図４２Ｅ】

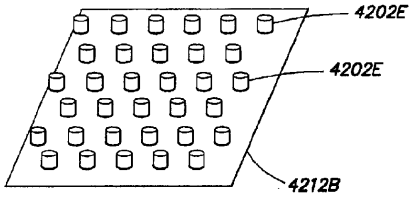


図 42E

【図４２Ｆ】

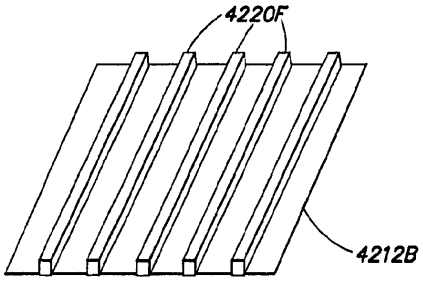


図 42F

【図４２Ｆ－１】

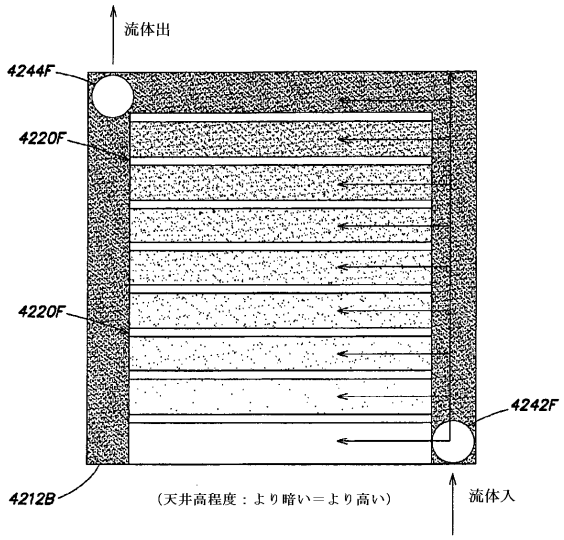


図 42F1

【図４２Ｆ－２】

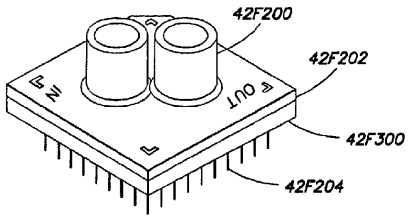


図 42F2

【図４２Ｆ－３】

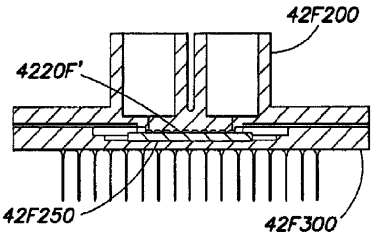


図 42F3

【図４２Ｆ－４】

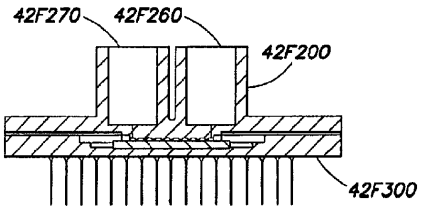


図 42F4

【図４２Ｆ－５】

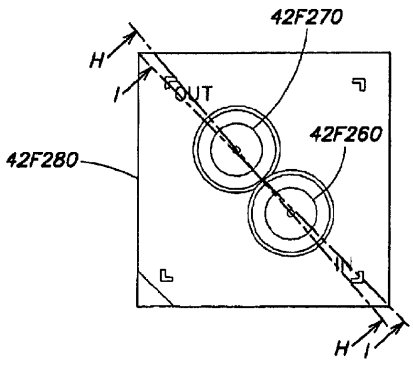


図 42F5

【図４２Ｆ－６】

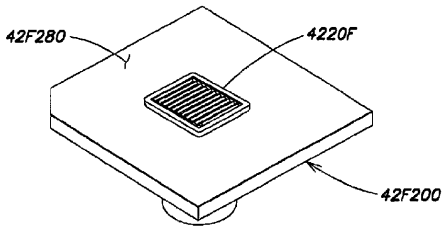


図 42F6

【図４２Ｆ－７】

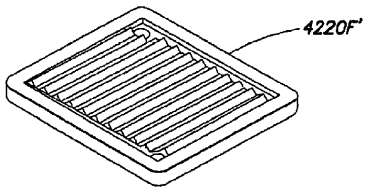


図 42F7

【図４２Ｆ－８】

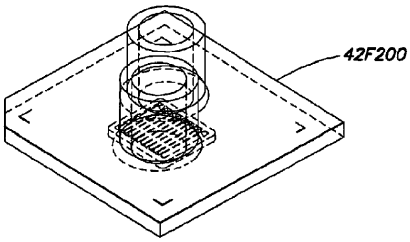


図 42F8

【図４２Ｇ】

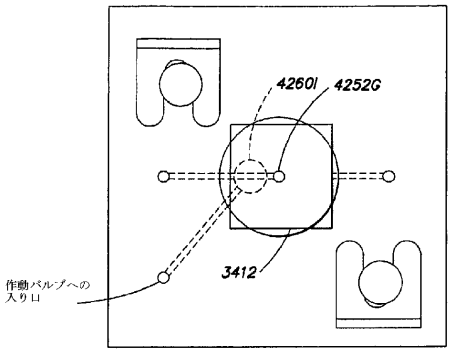


図 42G

【図４２Ｈ】

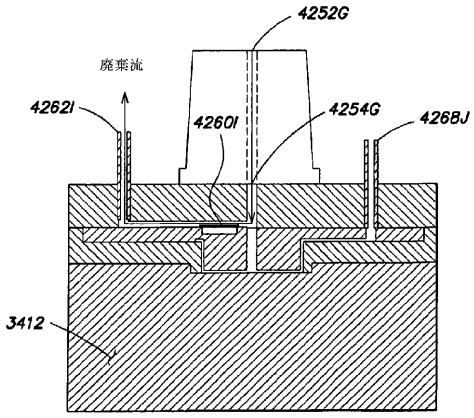


図 42H

【図４２Ｉ】

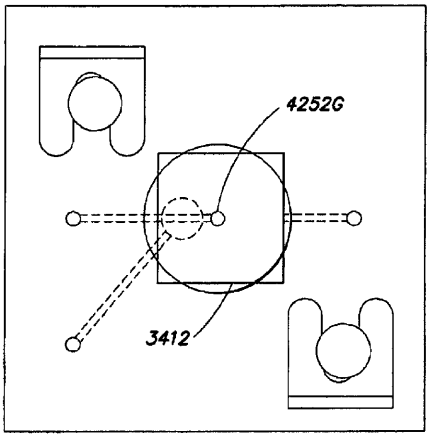


図 42I

【図４２Ｊ】

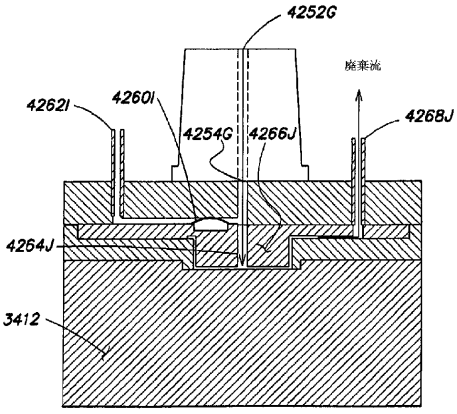


図 42J

【図４２Ｋ】

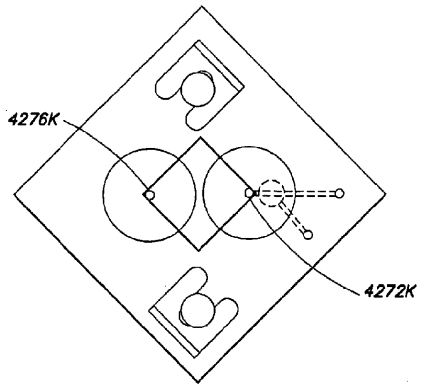


図 42K

【図４２Ｌ】

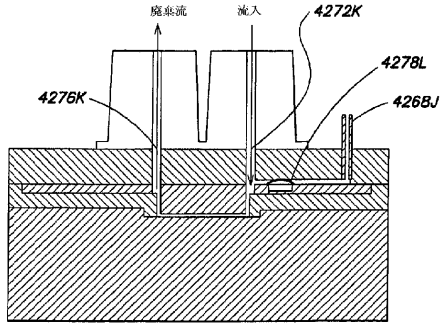


図 42L

【図４２Ｍ】

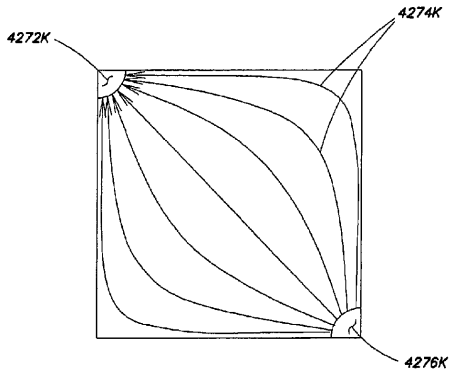


図 42M

【図４３】

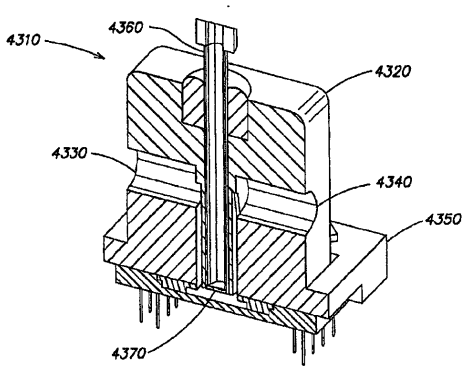


図 43

【図４４】

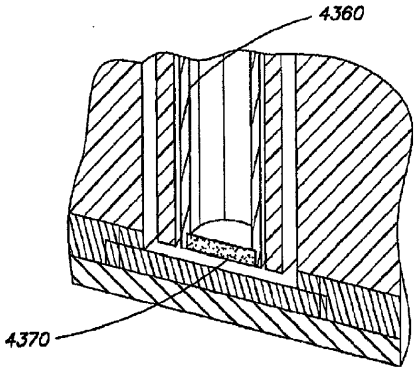


図 44

【図４５】

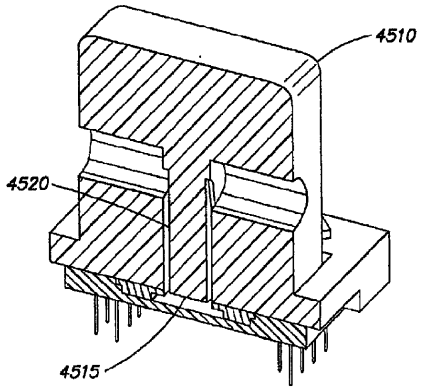


図 45

【図４６】

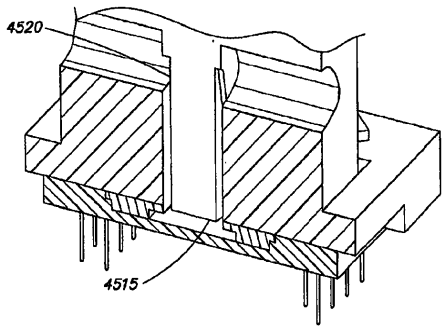


図 46

【図４７】

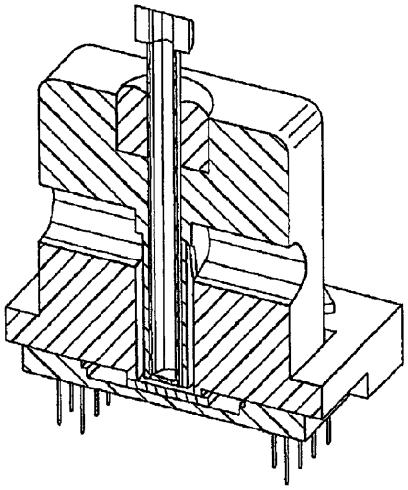


図 47

【図４８】

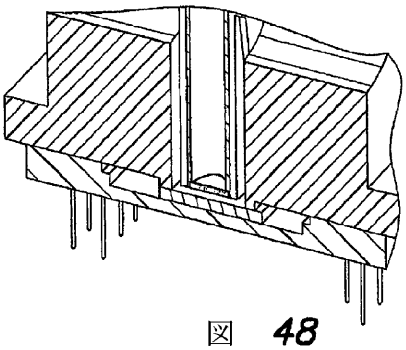


図 48

【図４９】

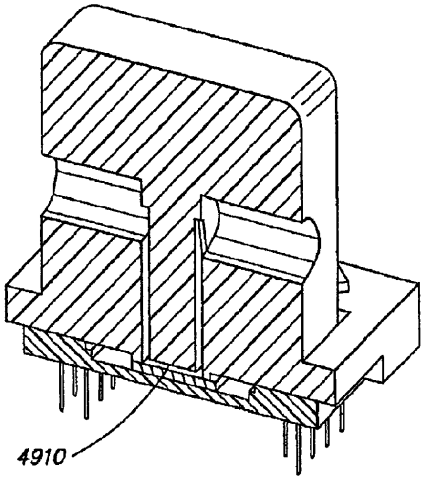


図 49

【図５０】

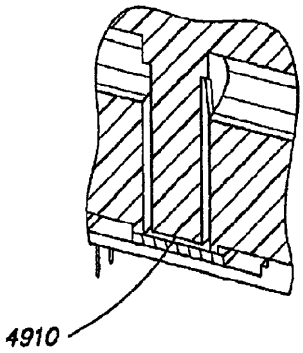


図 50

【図５１】

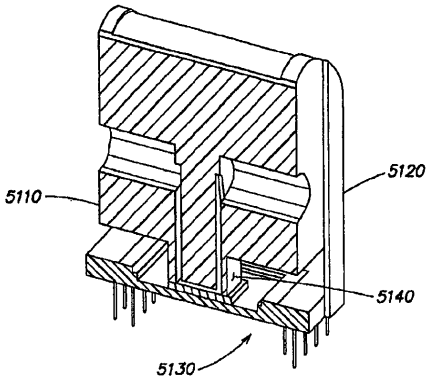


図 51

【図５２】

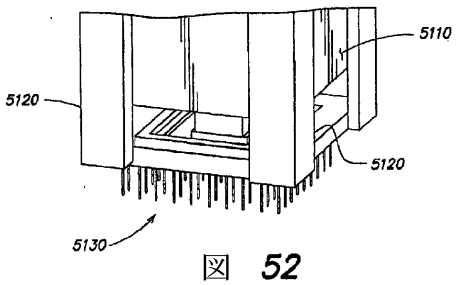


図 52

【図５３】

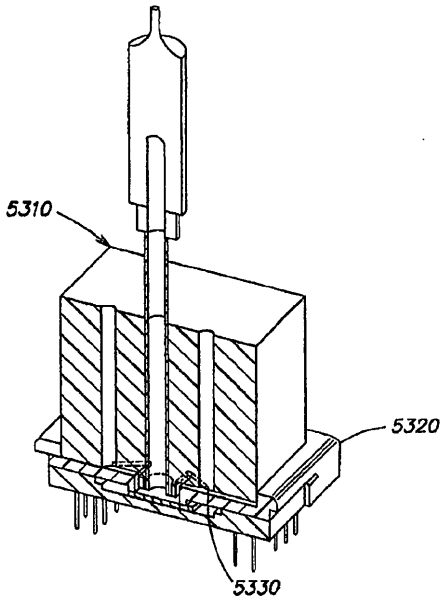


図 53

【図５４】

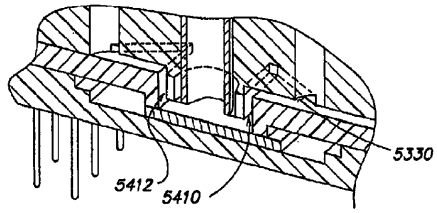


図 54

【図５５】

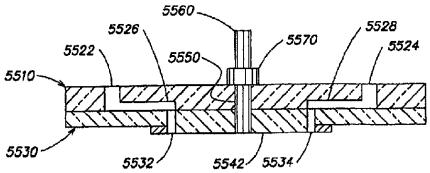


図 55

【図５６】

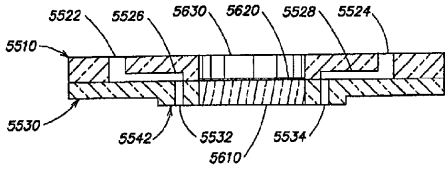


図 56

【図５７】

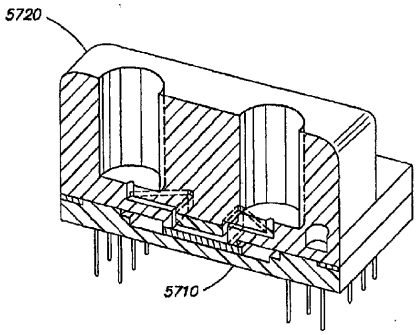


図 57

【図５８】

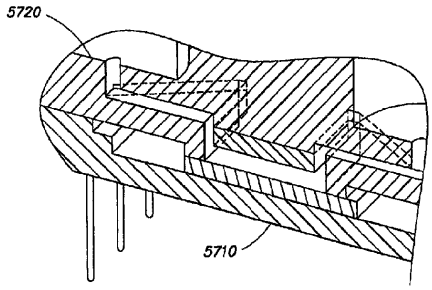


図 58

【図５９Ａ】

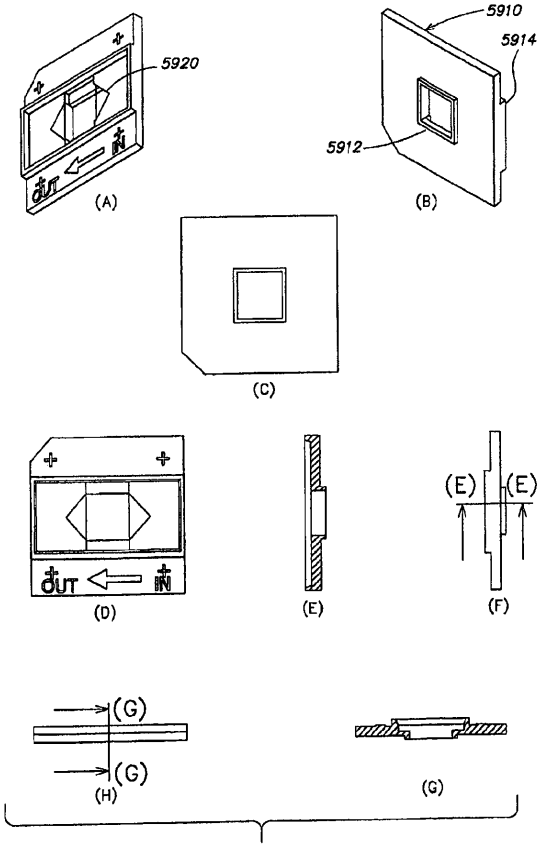


図 59A

【図５９Ｂ】

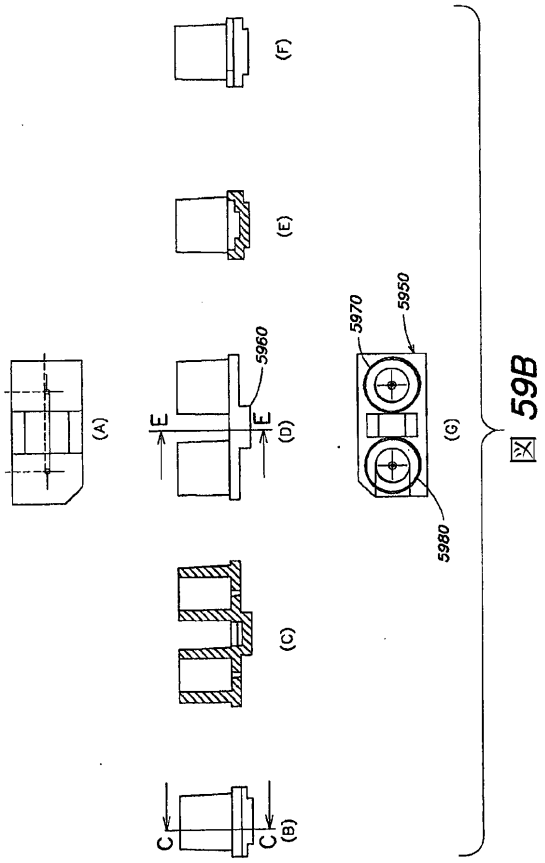


図 59B

【図５９Ｃ】

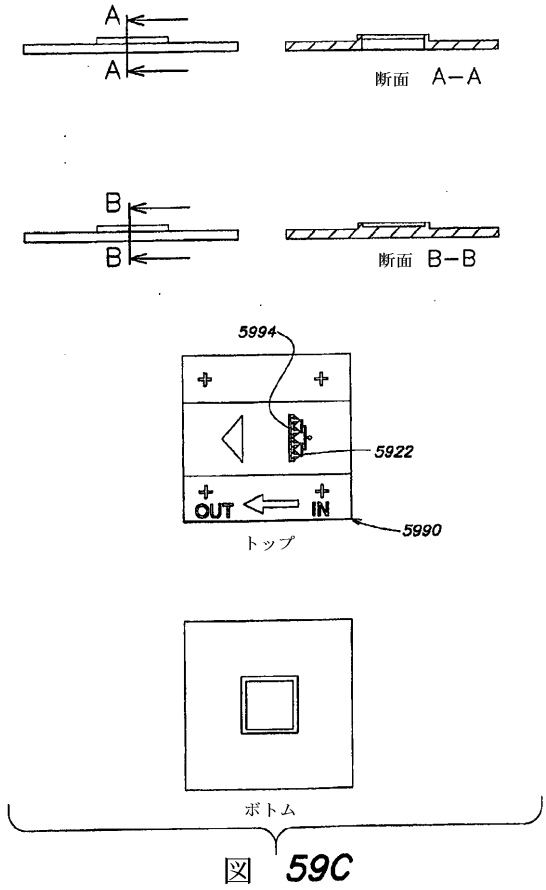


図 59C

【図６０】

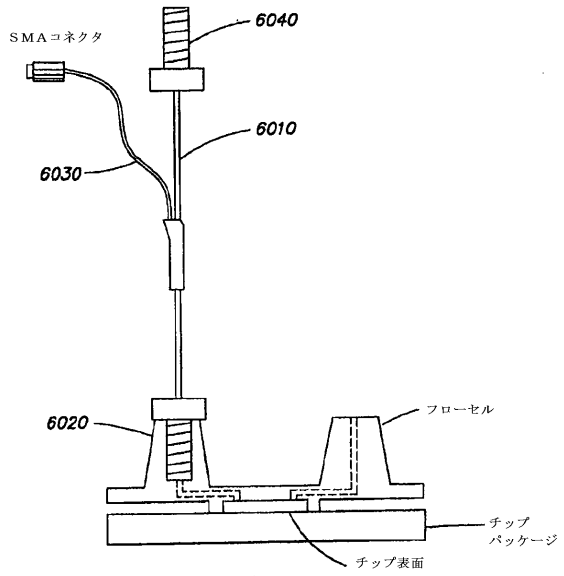


図 60

【図６１】

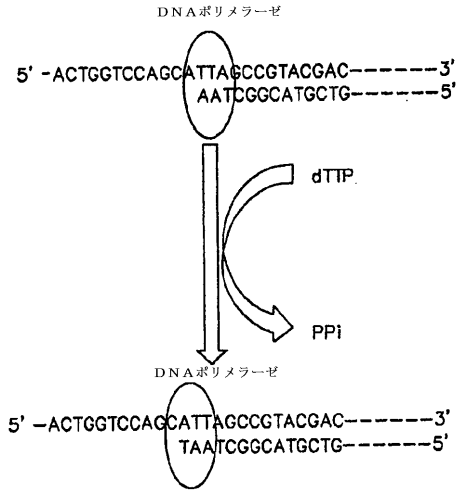


図 61

【図６１Ａ】

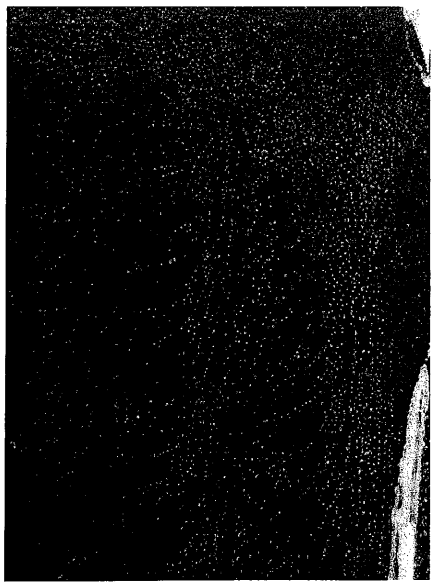


図 61A

【図６１Ｂ】

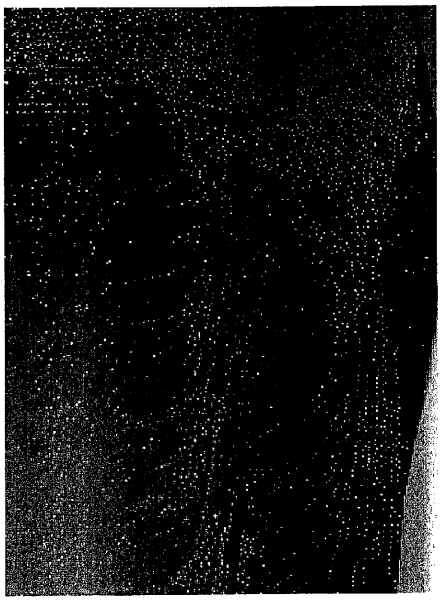


図 61B

【図６２】

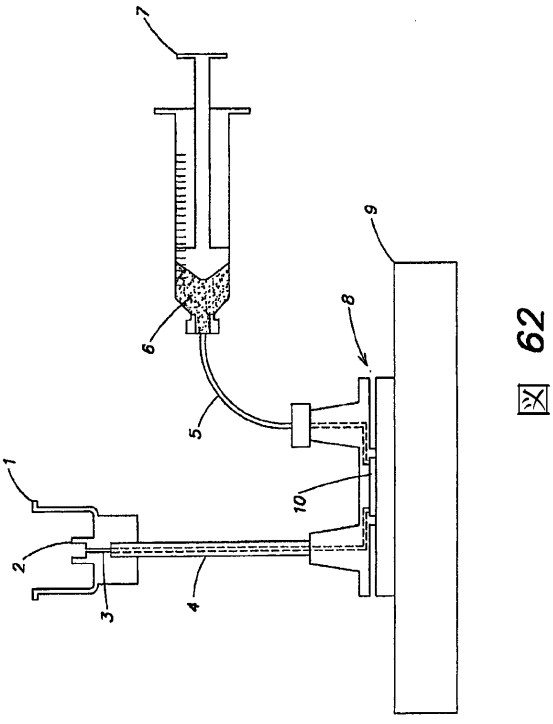


図 62

【図６３】

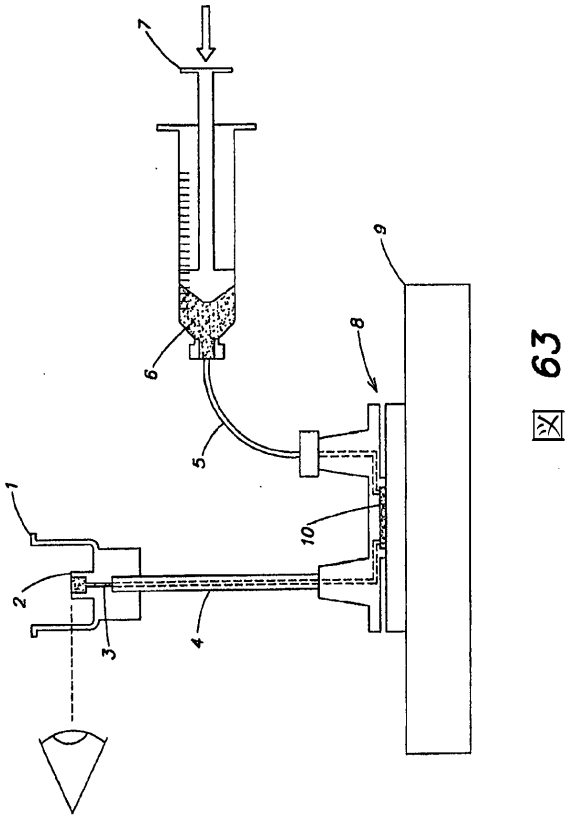


図 63

【図６４】

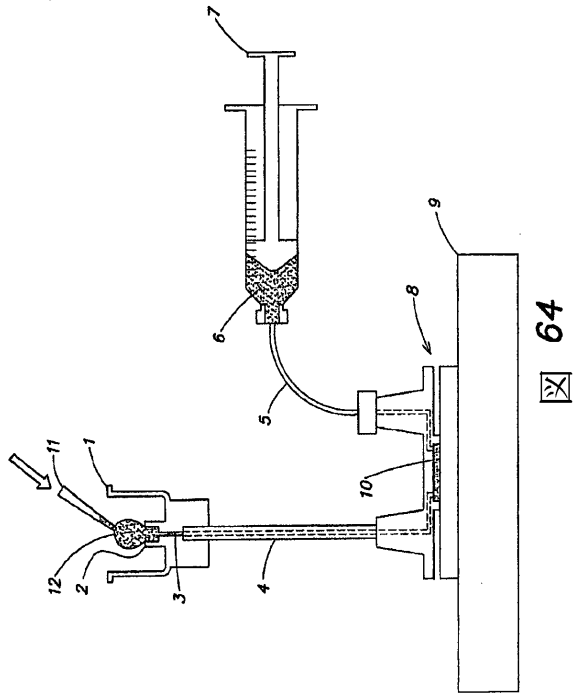


図 64

【図６５】

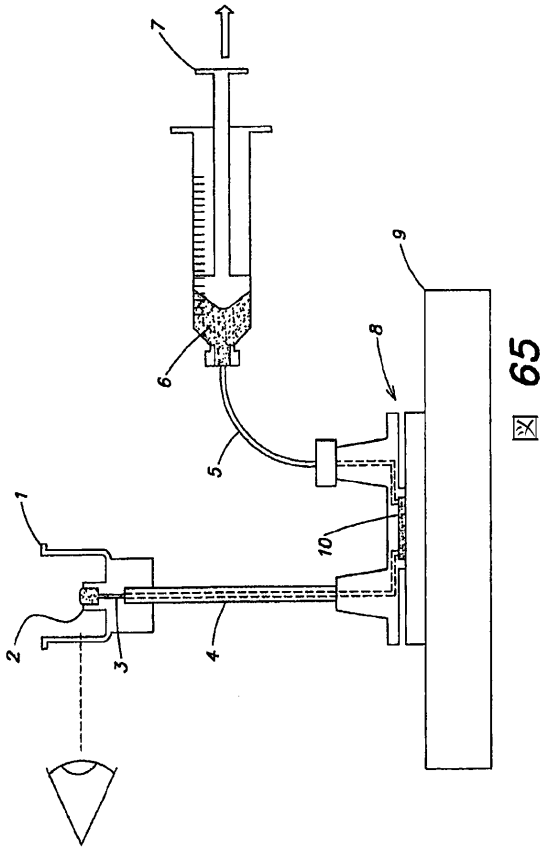


図 65

【図６６】

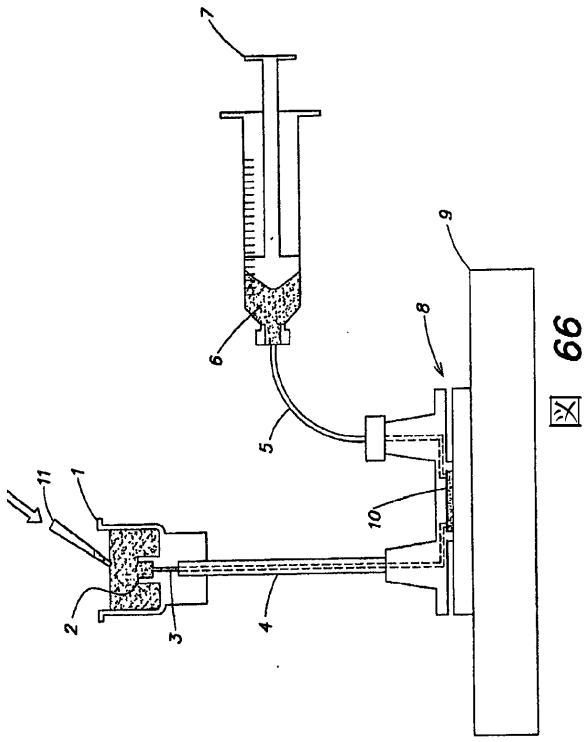


図 66

【図６７】

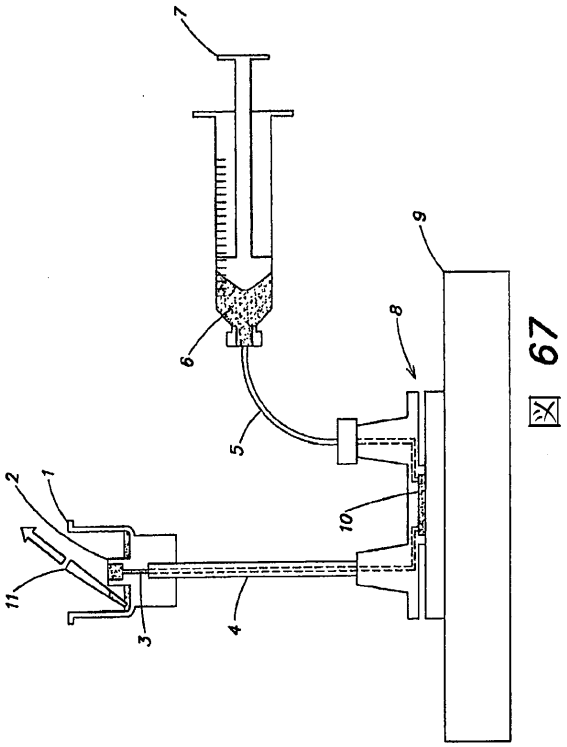


図 67

【図６８】

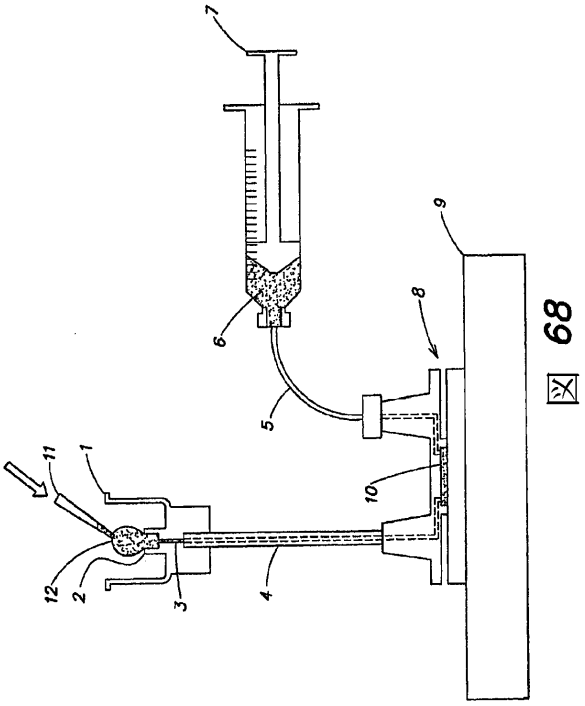


図 68

【図６９】

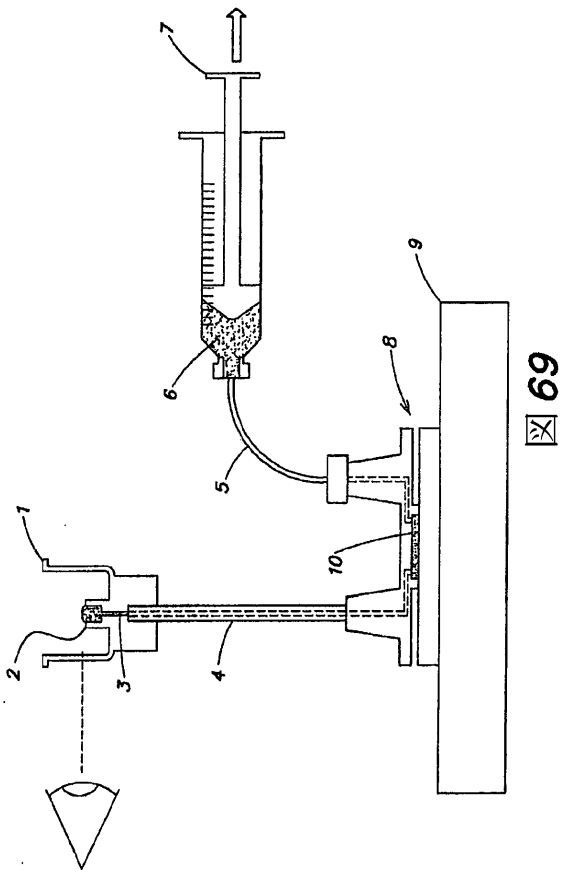


図 69

【図７０】

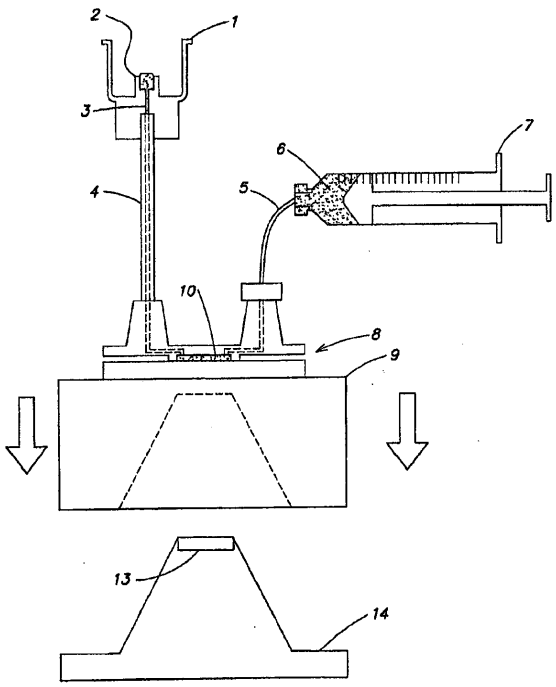


図 70

【図７１】

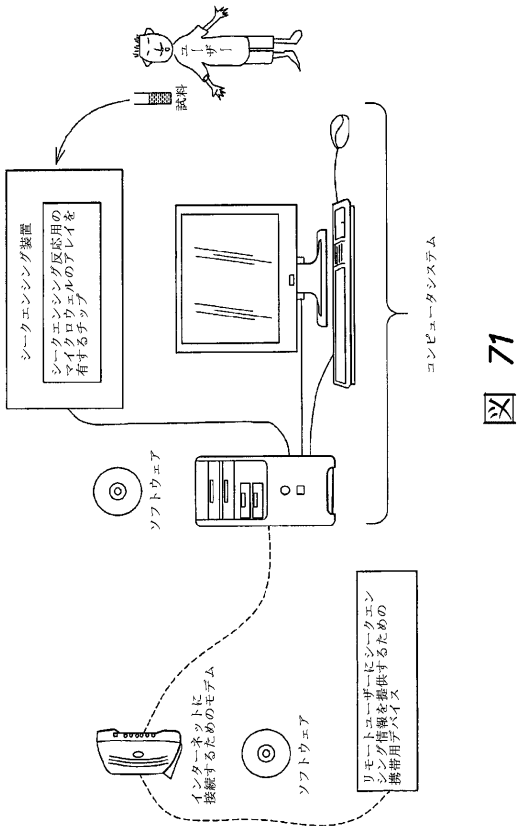


図 71

【図７２Ａ】

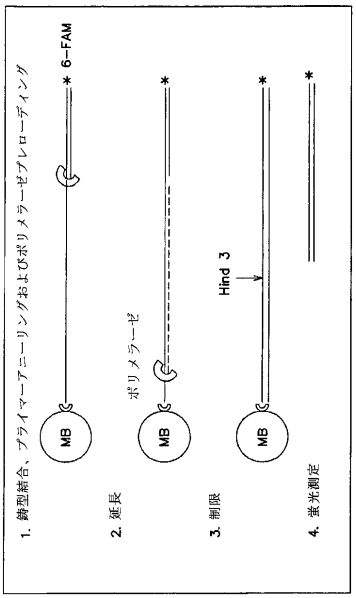


図 72A

【図７２Ｂ】

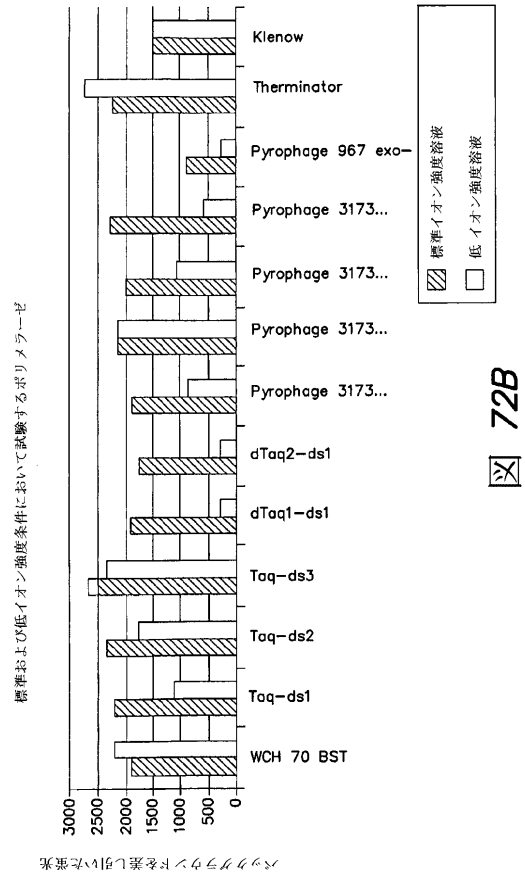


図 72B

【図７２Ｃ】

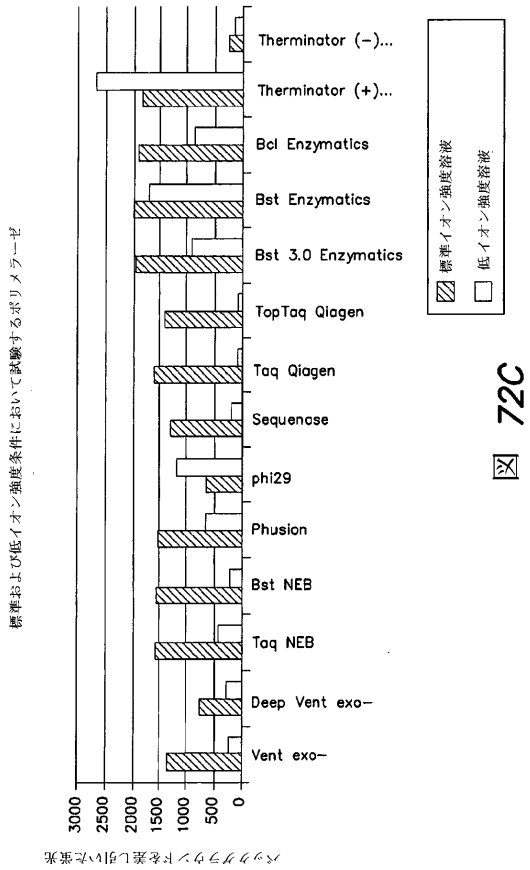


図 72C

【図７３】

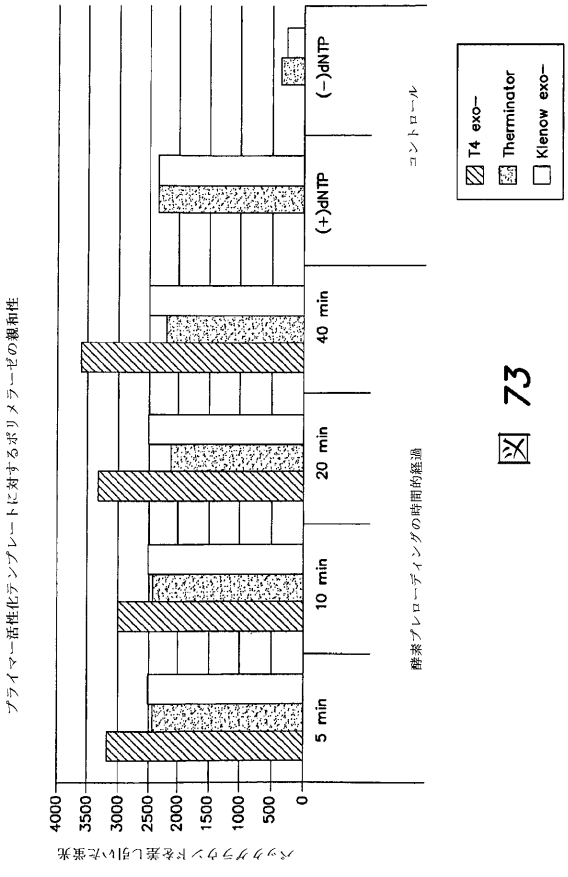


図 73

【図７４Ａ】

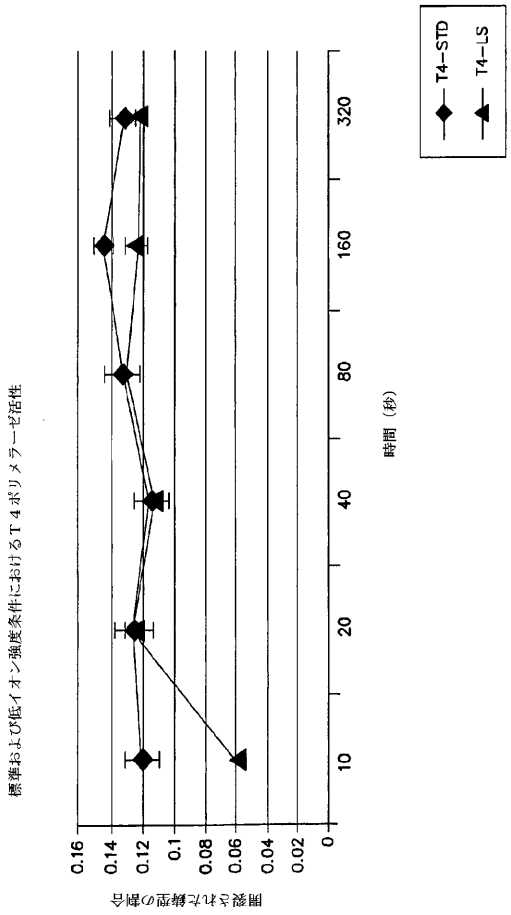


図 74A

【図７４Ｂ】

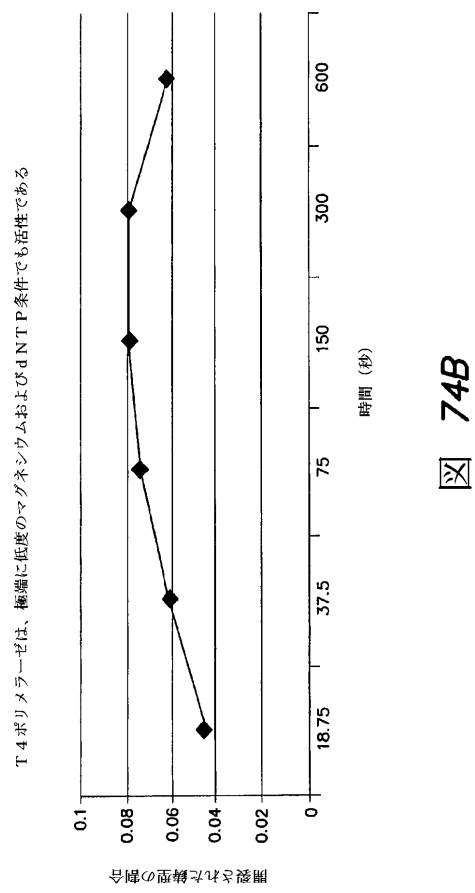


図 74B

【図７４Ｃ】

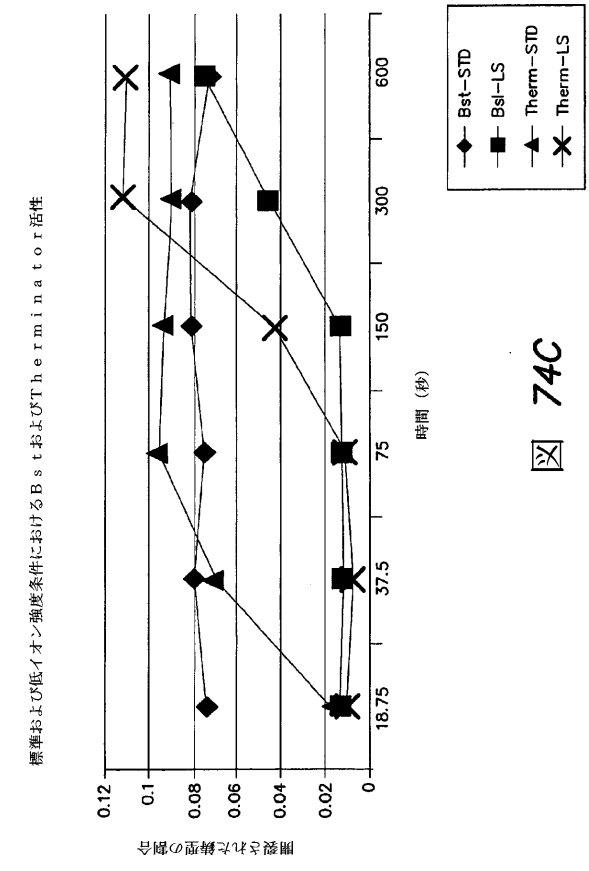


図 74C

【図７５Ａ】

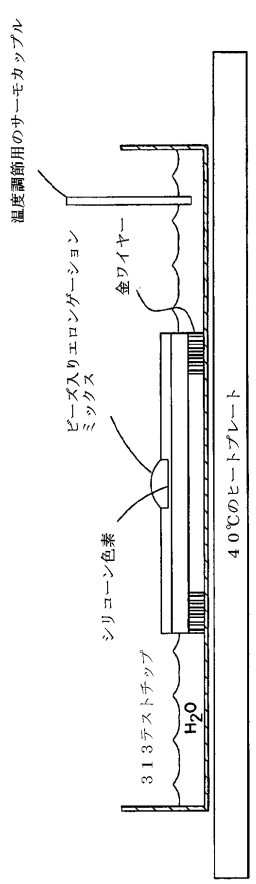


図 75A

【図７５Ｂ】

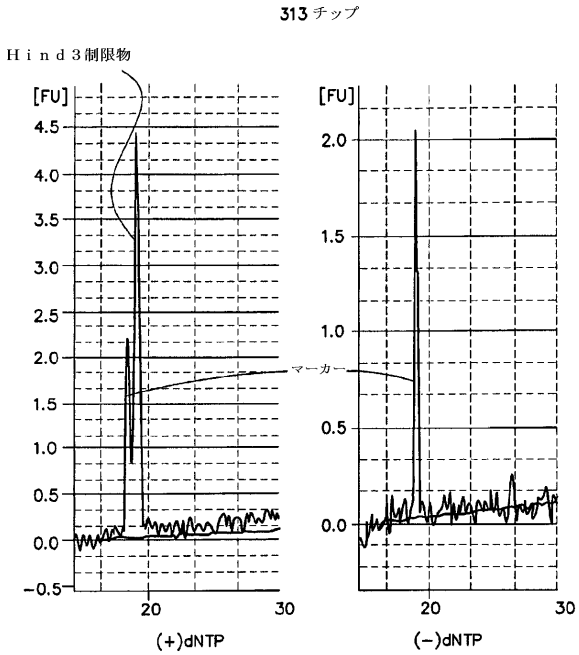


図 75B

【手続補正書】
【提出日】平成29年2月28日(2017.2.28)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
半導体基板に形成された、化学的に感受性の電界効果トランジスタ（ｃｈｅｍＦＥＴ）アレイ（ここで、ｃｈｅｍＦＥＴアレイが、反応チャンバーの重ねられたアレイを有し；各反応チャンバーが、少なくとも１つのｃｈｅｍＦＥＴと接触しているか、または容量的にそれにカップリングされており；ｃｈｅｍＦＥＴが各々、ゼロまたは実質的にゼロのトラップされた電荷を持つフローティングゲートを有するため、アレイのｃｈｅｍＦＥＴが、アレイ全体で認識可能な変動を引き起こさない出力レベルを有する）と、
試薬の流体を受け取り、反応チャンバーのアレイをそれに曝露するように構成および配置されたフローセル部材（ここで、かかる試薬が、反応チャンバーのアレイ全体に均一な移動時間で、各反応チャンバーの開いた部分上を横方向に送達されるように、フローセル部材が構成されており；フローセル部材が、フローセルの対角コーナーに位置した入口および出口を有する）と
を含む、装置。
【請求項２】
フローセルが、試薬の層流を供するように構成される、請求項１に記載の装置。
【請求項３】
各反応チャンバーが、開いた表面エリアにおいて３０μｍ^{2}以下である、請求項２に記

載の装置。
【請求項４】
ｃｈｅｍＦＥＴアレイが、ＣＭＯＳ製造されたセンサーのアレイであり、各センサーが、ｃｈｅｍＦＥＴを含む、請求項１に記載の装置。
【請求項５】
ｃｈｅｍＦＥＴアレイが、ＣＭＯＳ製造されたセンサーの少なくとも５１２の行および少なくとも５１２の列の２次元アレイを含む、請求項４に記載の装置。
【請求項６】
ＣＭＯＳ製造されたセンサーの各々が、ｃｈｅｍＦＥＴを含めた３つの電界効果トランジスタからなり、かかる各センサーが、３つのＦＥＴに電気的に結合した複数の導電体を含む、請求項５に記載の装置。
【請求項７】
ｃｈｅｍＦＥＴアレイにカップリングされ、かつ少なくとも１つのアレイ出力シグナルを生じさせて、秒当たり少なくとも２０フレームのフレーム速度にてアレイからのデータの多数のフレームを供するように構成された、制御回路をさらに含む、請求項１に記載の装置。
【請求項８】
前記反応チャンバーの各々が、１ｐＬ未満の容量を有する、請求項１に記載の装置。
【請求項９】
反応チャンバーアレイが、少なくとも１００の反応チャンバーを含む、請求項１に記載の装置。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】追加
【補正の内容】
【配列表】
2017136063000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 ヒンズ，ウルフギャング
アメリカ合衆国 コネティカット州 ０６５１１、ニュー ヘブン、アパートメント ５、オレンジ ストリート ６２５
(72)発明者 ジョンソン，キム，エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９２０１１、カールズバッド、ロータス コート １８４７
(72)発明者 バスティロ，ジェームス，エム.
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ９５６４６、カストロ バレー、マギー ウェイ １８３９６
(72)発明者 リーモン，ジョン，エイチ.
アメリカ合衆国 コネティカット州 ０６４３７、ギルフォード、ノートンタウン ロード ２５１
(72)発明者 シュルツ，ジョナサン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０１５４０、オクスフォード、ジャスミン ロード ７

Ｆターム(参考) 4B029 AA07 BB20 CC03 FA15 GA08
4B063 QA13 QQ42 QR08 QR32 QR42 QR62 QS39 QX04

【外国語明細書】
2017136063000001.pdf

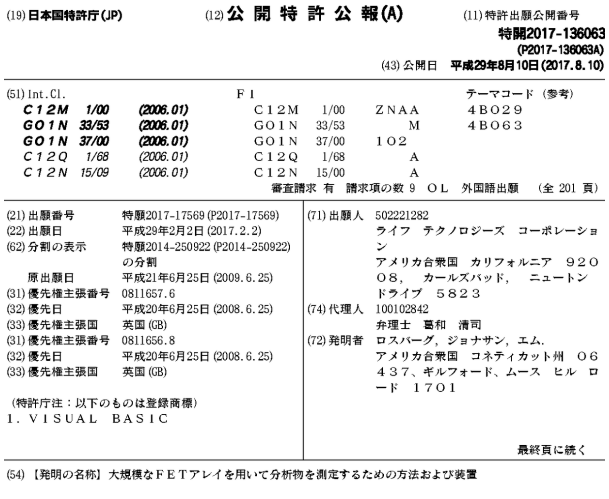
专利名称(译)	大规模FET阵列测量分析物的方法和设备

公开(公告)号	JP2017136063A	公开(公告)日	2017-08-10
申请号	JP2017017569	申请日	2017-02-02

[标]申请(专利权)人(译)	生命技术公司
申请(专利权)人(译)	Life Technologies公司
[标]发明人	ロスバーグジョナサンエム ヒンズウルフギャング ジョンソンキムエル バスティロジェームスエム リーモンジョンエイチ シュルツジョナサン
发明人	ロスバーグ,ジョナサン,エム. ヒンズ,ウルフギャング ジョンソン,キム,エル. バスティロ,ジェームス,エム. リーモン,ジョン,エイチ. シュルツ,ジョナサン
IPC分类号	C12M1/00 G01N33/53 G01N37/00 C12Q1/68 C12N15/09
CPC分类号	C12Q1/6874 B01L3/502761 B01L2300/046 B01L2300/0663 B01L2300/0851 B01L2400/086 C12Q1/6869 G01N27/4145 G01N27/4148 C12Q2565/607 C12Q2565/301 C12Q2565/629
FI分类号	C12M1/00.ZNA.A G01N33/53.M G01N37/00.102 C12Q1/68.A C12N15/00.A C12M1/00.AZN.A C12N15/09.Z C12N15/09.200 C12Q1/6874.Z
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA15 4B029/GA08 4B063/QA13 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR62 4B063/QS39 4B063/QX04
优先权	2008011657 2008-06-25 GB 2008011656 2008-06-25 GB
其他公开文献	JP6370938B2
外部链接	Espacenet

摘要(译)

要解决的问题：提供与用于分析物测量的超大FET阵列相关的器件。 一种chemFET阵列（chemFET）阵列，形成在半导体衬底上，其中chemFET阵列具有堆叠的反应室阵列;每个反应室与至少一个chemFET接触或电容耦合至少一个chemFET;阵列的chemFET具有不会在阵列上引起可识别的波动的输出电平，因为每个chemFET具有零或基本上零捕获电荷的浮动栅极）并且流动池构件被构造和布置成暴露一系列反应室。



(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号 特開2017-136063 (P2017-136063A)

(43)公開日　平成29年8月10日(2017.8.10)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12M 1/00	(2006.01)	C12M	1/00	ZNAA	4B029
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	M	4B063
G01N 37/00	(2006.01)	G01N	37/00	102	
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	

審査請求 有　請求項の数 9　OL　外国語出願　（全 201 頁）

(21)出願番号　特願2017-17569 (P2017-17569)
(22)出願日　平成29年2月2日 (2017.2.2)
(62)分割の表示　特願2014-250922 (P2014-250922)の分割
原出願日　平成21年6月25日 (2009.6.25)
(31)優先権主張番号　0811657.6
(32)優先日　平成20年6月25日 (2008.6.25)
(33)優先権主張国　英国 (GB)
(31)優先権主張番号　0811656.8
(32)優先日　平成20年6月25日 (2008.6.25)
(33)優先権主張国　英国 (GB)

(特許庁注：以下のものは登録商標)
1. ＶＩＳＵＡＬ　ＢＡＳＩＣ

(71)出願人　502221282
ライフ　テクノロジーズ　コーポレーション
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９２００８，　カールズバッド，　ニュートン　ドライブ　５８２３
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司
(72)発明者　ロスバーグ，ジョナサン，エム.
アメリカ合衆国　コネティカット州　０６４３７、ギルフォード、ムース　ヒル　ロード　１７０１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】大規模なＦＥＴアレイを用いて分析物を測定するための方法および装置