

電子・情報工学専攻	学籍番号	053328	指導 教員	石田 誠
申請者 氏名	武永祥子			澤田 和明

論文要旨 (博士)

論文題目	電荷転送型アセチルコリンイメージセンサに関する研究
------	---------------------------

(要旨 1,200字程度)

本研究室では CCD (Charge-Coupled Device) 技術を用いて光画像のフレームレート及び解像度を目指した水素イオンの動態をラベルフリーでイメージングできる半導体技術を用いた電荷転送型イオンイメージセンサを開発してきた。本論文ではこれまで水素イオンイメージングとして検討してきた電荷転送型イオンイメージセンサに機能膜を構築することにより、生体活動の機能を乱さずに本来の細胞活動の様子をラベルフリーで高感度に直接観察する新しいバイオイメーキングツールを提案した。

近年、生体物質のバイオイメーキングは蛍光ラベルを用いた方法が主流であるが、アセチルコリンなどの神経細胞からの神経伝達物質に関しては蛍光ラベルを用いても直接計測することは困難であった。本研究では基盤技術である電荷転送型イオンイメージセンサにポリイオン複合酵素膜を修飾して、ラベルフリーで直接アセチルコリンをイメージングできる新規アセチルコリンイメージセンサを開発することを目的とした。

まず、アセチルコリンイメージセンサに要求される高感度測定を実現する「電荷累積動作イメージング」を実証するために、 32×32 画素イオンイメージセンサの累積動作による高感度化、信号対雑音比 (SN 比) の向上を確認した。特に 32×32 画素間の感度、ノイズのバラつきを評価し、イメージセンサとしての累積動作の検討を行なった。信号を 5 回累積させた後、センサの SN 比は $\sqrt{5}$ 倍に向上、pH センサの分解能の指標となる pH 換算雑音は 0.09 pH から 0.06 pH まで下がった。その結果、累積動作をさせない今までのセンサではイメージングできなかった 0.1 pH の水素イオンの差をリアルタイムでイメージングすることに成功した。

次に基盤技術である電荷転送型イオンイメージセンサにアセチルコリンエステラーゼ酵素機能膜を修飾することで神経伝達物質の中で重要なアセチルコリンをラベルフリーイメージングする電荷転送型アセチルコリンイメージセンサを作製した。ポリイオン複合膜の作製方法を検討し、製作されたアセチルコリンイメージセンサの感度、検出限界の評価を行った。そして市販のアセチルコリン試薬を用いてリアルタイムアセチルコリンイメージングを行い 2 次元でアセチルコリンの動態を確認した。さらに繰り返し測定において酵素の失活なくアセチルコリンをイメージングできることを確認した。

最後に生化学分野への応用例として刺激によって神経細胞から放出されるアセチルコリンを、電荷転送型アセチルコリンイメージセンサを用いて測定した。その結果、細胞から放出されたアセチルコリンの濃度変化を確認することができた。また、神経細胞局所刺激による神経ネットワークイメージングを行ったところ、刺激していない領域においてもアセチルコリンの濃度変化が確認され、神経伝達による反応と思われる計測結果も得られた。

これらの結果から提案されたアセチルコリンイメージセンサが神経ネットワークにおけるアセチルコリンの動態をリアルタイムで観察できる可能性を十分に持った有用なツールであることを本研究は実証した。さらに修飾する機能膜を変更することでアセチルコリンに限らずあらゆる生体物質を計測できる可能性があるため、電荷転送型イオンイメージセンサは今後様々なバイオイメーキング分野への応用が期待できると考えられる。