

電子・情報工学専攻	学籍番号	063332	指導 教員	澤田 和明 教授
申請者 氏名	中澤 寛一			石田 誠 教授

論文要旨 (博士)

論文題目	多機能融合バイオイメージセンサに関する研究
------	-----------------------

(要旨 1,200字程度)

細胞や生体組織において、生理活性物質の分布や局在を直接観察することが可能なバイオイメージング技術の進展が期待されている。特に基礎生命科学の研究では、主なイメージング法の一つとして蛍光が用いられる。蛍光は高感度かつ高い分解能を持つが、その強度や寿命は pH (水素イオン濃度) や温度などに依存することが多い。また、細胞や組織は通常 pH6.8~7.2 が最適な pH であるため、培養中などはこのような pH 領域を保つことが理想とされている。しかし、計測中は常に pH を計測することができないため、pH 感受性の色素で染色している。本研究は、蛍光計測機能と pH 計測機能の両方を有する「多機能融合バイオイメージセンサ」を実現したものである。本研究の特色は、同じ画素で異なる物理量 (イオン濃度, 蛍光: 特定波長情報, 光量) を混載なしに取得できるイメージセンサ構造を提案している点である。

まず、出力の混在なく光計測と pH 計測が可能な多機能融合バイオイメージセンサの原理とセンサ構造を提案した。センサ構造は、Charge Coupled Device (CCD) 技術を応用した「電荷転送型 pH センサ」を基盤としている。光照射下における pH 計測では、実際の計測結果に光強度に比例した電圧が加算されてしまう。そのため、事前に光計測を行い光強度に対する出力電圧を取得して、その結果を pH の計測結果から減算することで pH 計測の信頼性を高めた。

次に、蛍光計測と pH 計測が可能な多機能融合バイオイメージセンサの原理を提案した。蛍光計測の原理は、シリコン基板において光の波長に対する吸収係数が異なるという原理を用いた「フィルタレス蛍光センサ」を基盤とした。シミュレーションによる原理検証の結果をもとに、イメージセンサの製作、検出システムの構築および疑似蛍光の検出を行った。Light Emitting Diode (LED) を用いた疑似蛍光の計測では、励起光強度と蛍光強度の比が 80:1 まで蛍光計測できることを確認した。また、同時に行った pH 計測では、16mV/pH の pH 感度を確認した。

最後に、光計測と pH 計測が同時に可能な多機能融合バイオイメージセンサの原理とセンサ構造を提案した。既述したイメージセンサは、同じ画素で交互に光計測と pH 計測を行っていた。これは、信号電荷として用いている電子に、同じ領域で光計測の結果と pH 計測の結果という 2 つの意味を持たせることができないためである。そこで光計測に正孔、pH 計測に電子をもちいることで、同じ画素における光と pH の同時計測を実現した。光計測では、入射した光の強度が 5~25mW/cm² の範囲においてほぼ線形応答を示すことを確認した。また、同時に行った pH 計測では、115mV/pH の pH 感度を確認した。

本イメージセンサの実現により、高い空間分感応と時間分解能で細胞や組織の挙動とその周辺環境、さらには細胞や組織からのイオン放出などを直接観察することができるようになる。

Department	Electronic and Information Engineering	ID	063332	Supervisor	Kazuaki Sawada Makoto Ishida
Name	Hirokazu Nakazawa				

A b s t r a c t

Title	Study of a Multi-function Fused Bio-image Sensor
-------	--

(800 words)

In studying cells and living tissues, the development of a bio-imaging technology for direct observation of the distribution and localization of physiologically active substances is desired. In the study of basic life sciences, the fluorescence observation method is particularly used. Although the fluorescence observation method has high sensitivity and high resolution, the fluorescence intensity and fluorescence lifetime are often dependent on pH (Hydrogen-ion concentration) or temperature. Furthermore, given that a pH of 6.8~7.2 is the optimal pH for cells or living tissues, the observation environment needs to be maintained at the optimal pH. However, during the fluorescence observation, it is difficult to monitor the pH of the culture solution. In this study, we propose a multi-function fused bio-image sensor that has the features of both fluorescence and pH measurements. The promising feature of a bio-image sensor is that one pixel is able to acquire a number of different physical values, such as ion concentration and fluorescence intensity, without mixed mounting of the sensors.

Initially, the principle and architecture of the bio-image sensor, which was able to measure the pH and light intensity, were proposed. The sensor architecture is based on the charge-transfer-type pH sensor by adapting the charge coupled device (CCD) technology. In measuring pH under light irradiation, the output voltage proportional to the light intensity is added to the result obtained from the actual measurements. However, the reliability of the pH measurement increased by measuring the light intensity before measuring the pH, acquiring the output voltage proportional to the light intensity, and subtracting the result from the value of pH obtained from the actual measurement.

The principle of the bio-image sensor, which is able to measure the pH and fluorescence intensity, was then proposed. The principle of measuring fluorescence was based on the filter-less fluorescence detector using the principle that in a silicon substrate, light of different wavelength has different absorption coefficients. On the basis of the simulation results, fabrication of the bio-image sensor, configuration of a detection system, and detection of quasi-fluorescence were performed. In measuring quasi-fluorescence using light-emitting diodes (LEDs), the ratio of the fluorescence intensity to the excitation light intensity was measured up to 1/80. Moreover, the pH sensitivity from the pH measurement was 16 mV/pH.

Finally, the principle and architecture of the sensor, which is able to measure the pH and light intensity simultaneously, were proposed. The bio-image sensors mentioned above were used for measuring the pH and light intensity or fluorescence intensity alternately using the same pixel. This is because in those sensors, only electrons are used as signal charge. It was then proposed to use both the electrons and the holes as signal charges. The measurement results show a linear increase in the output voltage with the irradiated light intensity. Moreover, the pH measurement showed a pH sensitivity of 115 mV/pH.

These image sensor technologies pave the way for direct observation of the actions of cells and tissues, and those in their peripheral environments under high spatial resolution and high time resolution.