

平成 29 年 09 月 21 日

電気・電子情報工学専攻	学籍番号	第 149201 号	指導教員	澤田 和明 若原 昭浩
氏名	Choi Yong Joon			

論文内容の要旨 (博士)

博士学位論文名	フィルタフリー蛍光検出センサの性能向上と応用
---------	------------------------

(要旨 1,200 字程度)

蛍光検出は、高感度で高い選択性を持っているため、化学、生化学、医療分野など広い分野で使用されている。しかし、蛍光観測は光学顕微鏡に蛍光フィルタなどが必要であり、大規模、高価な装置になる。したがって、その場診断などのために小型化された蛍光検出装置の実現が求められている。最近、蛍光顕微鏡で使用されている干渉フィルタと吸収フィルタを集積されたオンチップ蛍光センサなどが報告されている。しかし、製作工程が複雑で測定される蛍光の波長が固定されており、蛍光試薬の変更に伴う対応が難しい問題がある。そこで、本研究室では光学フィルタなどを必要としないフィルタフリー蛍光センサに関する研究を行ってきた。しかし、励起光：蛍光の強度比は一般に数千：1 以上であるため、蛍光検出にはその分離能力向上が必要となる。

そこで、波長分離能力の性能を向上するため、LPCVD の成膜温度を変更してフォトゲートの材料であるポリシリコンの表面を平坦化することで、表面の粗さの実効値(RMS)は、16.3 nm から 1.6 nm まで、10 分の 1 程度に改善することができた。その結果、励起光と蛍光の波長分離能力が 800 : 1 から 1250 : 1 まで増加して、従来の性能と比較して 1.5 倍の向上を確認した。この結果から、ポリシリコンの表面粗さを抑制することによって、シリコン内部での前方散乱を減少させることができ、波長分離能力が向上したと考えられる。波長分離能力が 1,250 : 1 まで性能向上したフィルタフリー蛍光センサを用いて、FITC と Texas Red の蛍光検出を行った。蛍光試薬を測定するため、吸収係数の影響を最小化した光電流ベースを用いて、パラメータ法を提案した。その結果、蛍光試薬についてサブミクロンモーラの濃度まで検出することが可能になった。また、FITC と Texas Red の混合試薬から放出する 3 波長の光を同時に検出する事が可能になった。その結果から、光学フィルターを使用せずに FRET 分析等に応用することが可能であると考えられる。ラベリングされた細胞を測定するため、フィルターレス蛍光センサーを用いた細胞分析システムを提案した。蛍光ラベリングされた細胞からの励起光(λ : 488 nm)と蛍光(λ : 536 nm)を分離し、提案されたパラメータを適用して、同時に光強度を検出する事が可能になった。ラベリングされた細胞からの蛍光強度は従来の蛍光顕微鏡の測定結果に比べ、4 %以内の範囲で、従来の蛍光顕微鏡で観察された蛍光強度とほぼ一致する結果が得られた。そして、小型化された蛍光検出システムをため、流体素子を作製し、フィルタフリー蛍光センサに適用して評価を行っており、FITC 試薬に対して以前(ディスプレイセル)より少量の試薬 3 μ L でほぼ一致する結果を得られた。そして、蛍光ビーズの分布による蛍光強度と混合されたビーズについて蛍光成分の分離が可能であることが示された。

以上の結果より、これらの結果を踏まえ、今後の研究ではフィルタフリー蛍光センサを用いて細胞等の生体観察に応用することが期待される。

Date of Submission (month day, year) : Sep 21, 2017

Department of Electrical and Electronic Information Engineering	Student ID Number	D149201	Supervisors	Kazuaki Sawada Akihiro Wakahara
Applicant's name	Choi Yong Joon			

Abstract (Doctor)

Title of Thesis	Performance improvement of a filter-free fluorescence sensor and its applications
-----------------	---

Approx. 800 words

Fluorescence analysis is widely used in biochemical analysis and medical diagnosis procedures because it is easy to use and can provide large amounts of data. Fluorescence microscopes are often used to detect fluorescence. However, they consist of an optical filter and other parts, and are generally expensive and bulky. At same time, on-chip measurements of fluorescence are required for field diagnosis and point of care testing systems, which requires the development of miniature fluorescence detection devices. Recently, on-chip fluorescence sensors have been developed that consist of optical filters integrated on photodiodes. In addition, a fluorescence sensor using buried triple p-n junction photodiodes has also been developed. Although these devices exhibit high sensitivity, the fabrication processes required to integrate the optical filters are complicated. In addition, it is difficult to deal with changes in the fluorescent solution because the detectable fluorescence wavelength is fixed.

A filter-free fluorescence sensor with a photo-gate structure has been developed that can measure a wide range of wavelengths without filters by considering the depth of the light absorption in the silicon. The separation ability of excitation light and fluorescence in this sensor was 800 : 1. However, fluorescence detection requires an intensity ratio of more than 1,000 : 1 between the excitation light and fluorescence. In order to enhance the separation ability for a filter-free fluorescence sensor, we improved the planarization of its polysilicon surface. For the surface planarization, deposition was performed by low pressure chemical vapor deposition (LPCVD) at a low temperature, which decreased the root mean square (RMS) roughness from 16.29 to 1.63 nm. The proposed polysilicon surface with the smaller RMS roughness reduced the scattering of the incident light in the silicon substrate. As a result, the separation ability of the filter-free fluorescence sensor was increased from 800 : 1 to 1,250 : 1 by planarization.

Then, we describe the detection of fluorescence from Fluorescein-4-isothiocyanate (FITC-I)

and sulforhodamine 101 acid chloride (Texas Red) using the filter-free fluorescence sensor in which the separation ability of the sensor is 1,250 : 1. To measure the fluorescence solution, we proposed a parameter to minimize the effect of the interference introduced by each layer. The fluorescence of submicron-molar concentrations of solutions could be detected. we also describe the simultaneous detection of three wavelengths using the sensor for the measurement of mixed fluorescent solutions. We determined it was possible to use FRET analysis with the filter-free fluorescence sensor to simultaneously measure the intensities of three wavelengths without using an optical filter.

In order to measure the labeled cells, proposed a cell analysis system and 2D fluorescence imaging system without optical filters using a 1-pixel filter-free fluorescence sensor and a 32×32 -pixel filter-free fluorescence image sensor which used wavelength dependent absorption depth in a silicon substrate. Excitation light and emission light from fluorescently labeled cells and Quantum dot were separated and their light intensities were detected at the same time by measuring the photo currents according the photogate voltage. The detected fluorescence of cells and light emission from quantum dot were good agreement with the light intensities observed by conventional fluorescence microscopy. Also, we propose a filter-free fluorescence analysis system using a filter-free fluorescence sensor applied to microfluidic for flowing fluorescent particles and fluorescent dyes. based on these results, future research will be expected to be applied to living body observation of cells by using a filter-free fluorescence analysis system.