

平成 21 年 3 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18360170

研究課題名（和文）

フィルタレススペクトルイメージセンサの開発とバイオチップ応用

研究課題名（英文）

Development of filterless spectral image sensors for bio-chip applications.

研究代表者

澤田 和明（Kazuaki Sawada）

豊橋技術科学大学・工学部・教授

研究者番号：40235461

研究成果の概要：

光学的フィルタを必要とせず、CMOS プロセスにより製作できるフィルタレススペクトルイメージセンサを製作し、バイオチップへの応用をおこなった。フィルタレススペクトルの分解能を向上させるためにデバイス構造の最適化を行った結果、バイオチップで広く用いられている FITC を 63nM まで検出でき、さらに DNA のハイブリダイゼーションを 16nM まで検出できることを確かめた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,700,000	0	7,700,000
2007年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	2,070,000	16,670,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

マイクロ化学分析チップに利用されている情報は、電気泳動、吸光度、ISFET が一般的である。スペクトル分析は有用であることは誰もが認めるところであるが、小型化が困難であった理由がありスペクトルイメージセンサをマイクロチップ化する試みはない。

2. 研究の目的

本研究では、特別な光学フィルタやグレーティングなどを用いず、1つのフォトダイオードのみで、入射される光の波長分布強度がわかる世界に類を見ない“フィルタレス

ペクトルフォトダイオード”の製作・検証を行い、その結果をもとにこれまで蛍光顕微鏡、蛍光スキャナなど高価で大型の装置が必要であった超小型なバイオチップシステムを供することに本研究の目的がある。

3. 研究の方法

豊橋技術科学大学が所有する LSI 製造設備を利用し、フィルタレススペクトルイメージセンサを製作する。高精度に分光ができるように、半導体内の様々な拡散層の濃度、厚さをシミュレーションにより最適化する。

(1)提案原理

フォトゲートの電圧を変化させることで、ポテンシャルの尾根の位置を自在に変化させることができ、尾根より手前の位置で吸収した光生成電子が信号として観察される。この光センサに2つの波長の光が入った場合を例に取り考える。

$$\begin{cases} I_1 = A1(1 - e^{-\alpha_1 W_1}) + A2(1 - e^{-\alpha_2 W_1}) & (1) \\ I_2 = A1(1 - e^{-\alpha_1 W_2}) + A2(1 - e^{-\alpha_2 W_2}) & (2) \end{cases}$$

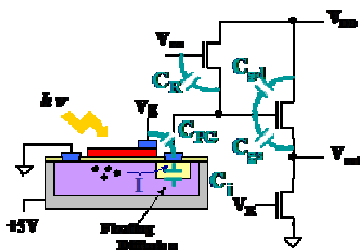
I_1, I_2 は尾根の位置を2度変化(W_1, W_2)させて計った電流値の実測値。 A_1, A_2 は未知数であるが同時に入射される2つの波長の光強度。 α_1, α_2 はそれぞれの波長のシリコン中での吸収係数である。鞍の位置を2度変化させて、2つの電流値(I_1, I_2)がわかれば、 A_1, A_2 以外はすべて既知であるため、上記(1)(2)の連立方程式からそれぞれの光強度がわかる。

(2)高精度分光のためのデバイス構造検討

生化学分野で遺伝子検出や抗原抗体反応を検出するためには60dB程度までダイナミックレンジを広げる必要がある。ダイナミックレンジを広げるには電位の鞍の急峻性を高めることで改善が可能であるとシミュレーションでわかってきているので、急峻に電位の鞍ができるように、作製プロセス条件をデバイスシミュレータをもちいて探索する。一般的にはフォトゲート直下のpn接合の位置を浅くすること、およびp拡散層の濃度を高くすることで急峻になると予想している。シミュレーションで最適濃度を検討した後、本学の固体デバイス機能設備で試作を行う。

(3)イメージセンサとしての蓄積読みだし

フォトゲート型スペクトルイメージセンサは通常のCMOS集積回路プロセス技術に2つの追加プロセスにより製作が可能である。そこで、CMOSイメージセンサで広く利用されている3トランジスタ構成の画素構成をもちいてアレイデバイスの設計を行う。3トランジスタ構成によるスペクトルイメージセンサの1画素構成の回路図を下図に示す。Floating Diffusion領域にある蓄積時間だけ蓄えられ、その電位変化をソースフォロアで読み出す。



(4)バイオチップとしての性能評価

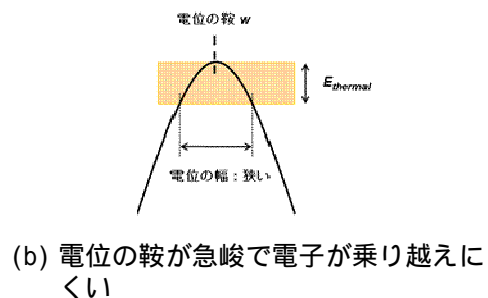
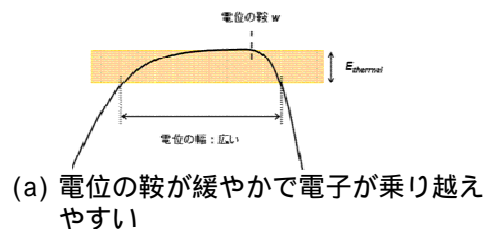
最後に、提案、製作を行ったフィルタレスベクトルセンサデバイスを利用して、様々なバイオ試薬がどの程度まで検出できるかを評価する。特にDNAのハイブリダイゼーションにインターカレートするSYBR Greenの検出、および典型的な蛍光ラベルであるFITCの検出を試みる。

さらに、フィルタレススペクトルイメージセンサとマイクロ流路の一体化が可能な製作プロセスについて検討を行う。

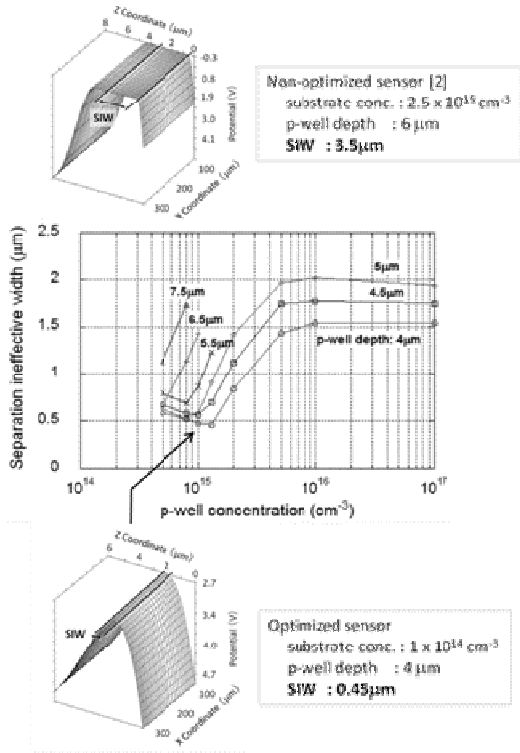
4. 研究成果

(1)高精度分光のためのデバイス構造検討

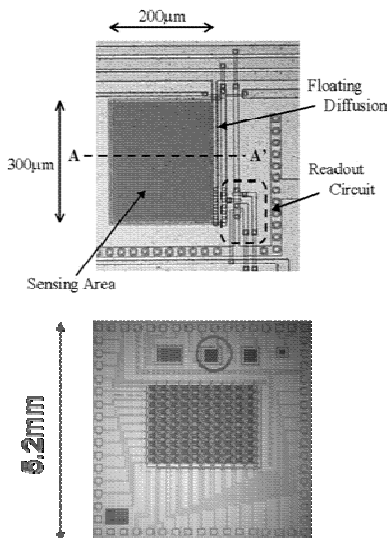
従来までに報告してきたフィルタレス蛍光検出センサの出力結果には、実際には蛍光が存在しない場合においても、数 μW ~数十 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の出力が蛍光強度として現れていた。これは電位の鞍より深い位置において励起光により発生した光電子が、電位の鞍 w を乗り越えて信号電荷に混入したことが原因であると考えられる。半導体中で発生した光は、電位の鞍の位置 w で分岐し、鞍より浅い位置で発生した光電子は信号として検出し、深い位置で発生した光電子は基板へ排出する。これがフィルタレス蛍光検出センサの基本原則である。このとき、電位の鞍の形状が平坦であった場合を考える。半導体中で発生した光電子は熱エネルギー(300Kで0.026eV)を得ることで、電位の鞍の位置を乗り越えることが可能となる。この場合、 w より深い位置で発生した光電子が信号電荷に混入すれば、光強度の計算を行う電流にオフセットが生じる。その状況を模式的に以下に示す。



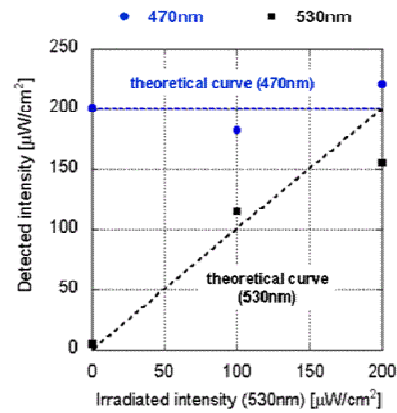
この急峻さに影響を与えるのは、基板濃度および p-well 濃度および深さである。この影響を詳細にシミュレーションしたところ p-well 深さ 4 μm 、濃度 10^{15}cm^{-3} のときもっとも急峻なポテンシャル構造が得られることがわかった。以下にそれらのパラメータを変えたときの急峻さと、ポテンシャルシミュレートした構造を示す。



(2) CMOS イメージセンサ構造を適用したフィルタレスイメージセンサの設計と製作
豊橋技術科学大学固体機能デバイス施設において 2-poly, 2-metal 5 μm プロセスによりデバイスを製作した。以下に 1 画素、およびアレイセンサの写真を示す。

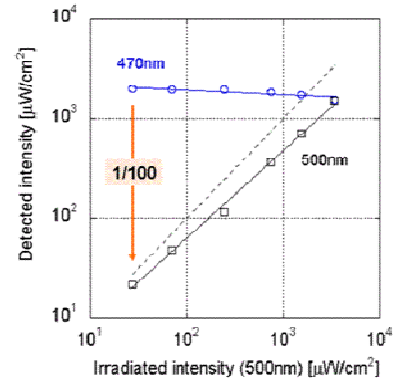


そこで、このデバイスを用いてフィルタレススペクトル特性を評価した。以下に典型的なセンサ出力(蓄積動作)と分光特性を示す。CMOS イメージセンサ動作を行っても、分光特性が得られることを確認した。



(3)高精度・高分解能フィルタレスセンサデバイス特性とバイオ応用

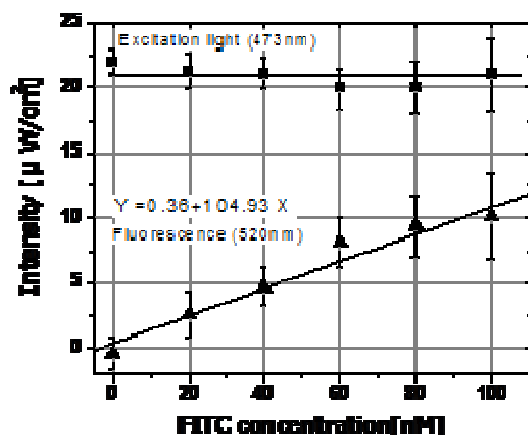
デバイス構造を最適化したセンサの分解能の評価を行った。まずは LED 等の疑似光スペクトルで評価を行ったところ、これまでその分解能が 1:10 程度までしか分解能がなかったが最適化を行ったところ 1:100 以上の分解能が出るということがわかった。そのときの分解能特性を以下に示す。



次に典型的な DNA 検出用の蛍光ラベルである SYBR Green による DNA のハイブリダイゼーション検出をおこなった。その結果、2 本鎖 DNA の含まれていない SSC Buffer の結果をオフセット ($54.8\mu\text{W}/\text{cm}^2$) とし、このときの標準偏差 ($2\sigma=1.4$) を雑音 N として検出限界を求めると、検出限界 ($S/N=3$) 16.7nM であった。

さらに、典型的なバイオ分野で用いられる蛍光ラベルである FITC の検出をおこなった。FITC は、DNA、抗原抗体反応、たんぱく質等の検出に広く用いられる蛍光プローブであり、励起波長は $\lambda_{\text{ex}}=495\text{nm}$ 、蛍光波長は $\lambda_{\text{em}}=520\text{nm}$ である。各測定点における測定回数は 30 回とした。低濃度側では線形応答

が観測され、蛍光検出が可能であることがわかった。



最適化していないときの最小検出限界が、 $5.8\mu\text{M}$ であったのに対して、最適化することで 68nM まで最小検出感度 (LOD) が向上した。数値的には 80 倍向上したことがわかる。

以上の結果の、当初目的としたフィルタレススペクトルイメージセンサを試作し、その検出能力を増加 (約 80 倍) させることに成功した。さらにこのデバイスを利用してバイオ分野で用いられている様々な蛍光色素をフィルタレスで高感度に検出できることを実証した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

全て査読有り

- 1) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "A Wide Dynamic Range Photogate-Type Active Pixel Sensor Using a Self-Regulation Principle", *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 47 No. 1 (2008), 173-178.
- 2) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Makoto Ishida, "Multiwavelength Photosensor for On-Chip Real-Time Monitoring of Fluorescence and Turbidity", *Jpn. J. Appl. Phys.*, in press.
- 3) Yuki Maruyama, Shinichi Terao and Kazuaki Sawada, "Label free CMOS DNA image sensor based on the charge transfer technique", *Biosens. Bioelectron.*, in press, DOI: 10.1016/j.bios.2009.03.031.

〔学会発表〕(計 15 件)

全て査読有り

- 1) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "A Wide Dynamic Range Photogate Type Image Sensor Based on Self Suppression Principle", *Proceedings of the Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology (APCOT)*, 95-MPS-A0288, Singapore, 2006.
- 2) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "Quantitative Evaluation of Concentration of Double Stranded DNA Using by Filter Less Fluorescence Detection Sensor", *Proceedings of the 210th Meeting of The Electrochemical Society*, pp.1252, Cancun, Mexico, Oct. 29 – Nov.3, 2006.
- 3) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "ON-CHIP MULTI WAVELENGTH DETECTION SENSOR FOR REAL TIME MONITORING OF FLUORESCENCE AND OPACITY", *Proceedings of TRANSDUCERS'07*, Vol.2, 3EH1.P1, pp.1971-1974, 2007
- 4) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "ON-CHIP MULTIWAVELENGTH DETECTION SENSOR FOR FLUORESCENCE AND TURBIDITY DETECTION", Korea-Japan Joint Workshop on Advanced Semiconductor Process and Equipments, Pusan, Korea, 2007.
- 5) Yuki Maruyama, Shinichi Terao, Hidekuni Takao, Makoto Ishida and Kazuaki Sawada, "32 x 32 CMOS DNA Sensor Array using Charge Transfer Technique", *Proceedings of the Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology (APCOT)*, 3D1-4, Taiwan, June 2008.
- 6) Ishii Hiroyasu, Yuki Maruyama, Hidekuni Takao, Makoto Ishida and Kazuaki Sawada, "Improvement in filter-less fluorescence sensor capability by optimization of potential distribution", *Proceedings of the Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology (APCOT)*, 2C1-3, Taiwan, June 2008.
- 7) Yuki Maruyama, Kazuaki Sawada, Hidekuni Takao, Makoto Ishida, "Quantitative evaluation of double stranded DNA concentration using by filter less fluorescence detection sensor",

The 23RD Sensor Symposium, C1-3, Takamatsu, Japan, 2006.

- 8) 丸山結城, 澤田和明, 高尾英邦, 石田誠, “フィルタレス蛍光検出センサによるリアルタイム蛍光測定”, 情報センシング研究会, 東京, 2006.
- 9) 丸山結城, 高尾英邦, 澤田和明, 石田誠, “フィルタレス蛍光検出センサを用いた二本鎖 DNA の定量分析およびリアルタイム蛍光検出”, 第 54 回応用物理学関係連合講演会, 28a-SA-2, 青山学院大, 2007.
- 10) 丸山結城, 高尾英邦, 澤田和明, 石田誠, “フィルタレス蛍光検出センサによる DNA 増幅過程のリアルタイムモニタリング”, 第 68 回応用物理学 学術講演会, 第 22 回応用物理学会 講演奨励賞 受賞記念講演, 6p-A-1, 北海道工大, 2007.
- 11) 丸山結城, 澤田和明, 石田誠, “集積回路上への細胞培養および疎水性材料を用いた細胞パターンニング”, 第 68 回応用物理学 学術講演会, 5p-P8-18, 北海道工大, 2007.
- 12) 石井広康, 丸山結城, 澤田和明, 高尾英邦, 石田誠, “ポテンシャル分布の改善によるフィルタレス蛍光検出センサの波長分別性能向上”, 2007 年映像情報メディア学会年次大会, 13-9, 工学院大学, 2007 年 8 月 31 日
- 13) 石井広康, 丸山結城, 高尾英邦, 澤田和明, 石田誠, “フィルタレス蛍光検出センサのポテンシャル分布最適化による波長分別性能の向上”, 第 68 回応用物理学 学術講演会, 北海道工業大学, 2007 年 9 月 6 日
- 14) 寺尾信一, 丸山結城, 高尾英邦, 石田誠, 澤田和明, “電荷転送技術を用いた CMOS DNA イメージセンサ”, 第 55 回応用物理学関係連合講演会, 27p-R-14, 日本大学理工学部, 2008 年 3 月 27 日.
- 15) 秋山正弘, 丸山結城, 澤田和明, “アパランシェフォトダイオードを用いた高感度波長スペクトル検出”, 第 55 回応用物理学関係連合講演会, 28a-ZQ-8, 日本大学理工学部, 2008 年 3 月 28 日

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 澤田和明
フィルタレス蛍光バイオイメージセンサ = CMOS イメージセンサ技術とバ

イオ科学の融合に向けて =
光アライアンス, 19(2), pp.21-25, (2008)

〔産業財産権〕

出願状況(計 4 件)

- 1) 「複合検出装置」, 澤田和明, 松尾純一, 中澤寛一, 豊橋技術科学大学, 特願 2007-329379, 2007.12.20
- 2) 「分光センサ、分光センサを利用した蛍光検出方法および蛍光検出装置」, 澤田和明, 丸山結城, 富士フイルム(株), 豊橋技術科学大学, 特願 2008-17112, 2008.1.29
- 3) 「蛍光検出方法および蛍光検出装置」, 澤田和明, 丸山結城, 富士フイルム(株), 豊橋技術科学大学, 特願 2008-17227, 2008.1.29
- 4) 「分光装置及びその駆動方法」, 澤田和明, 石井広泰, 丸山結城, 豊橋技術科学大学, 特願 2008-150614, 2008.6.9

取得状況(計 件)

なし

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤田和明(豊橋技術科学大学・教授)

(2) 研究分担者

石田誠(豊橋技術科学大学・教授)

高尾英邦(豊橋技術科学大学・教授)

(3) 連携研究者