

平成22年4月20日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19350036
 研究課題名（和文）フラットベッド型化学イメージスキャナの開発と
 バイオイメージングへの応用
 研究課題名（英文）Development of a flat-bed-type chemical image scanner
 and its application to bioimaging
 研究代表者
 吉信 達夫（YOSHINOBU TATSUO）
 東北大学・大学院医工学研究科・教授
 研究者番号：30243265

研究成果の概要（和文）：

本研究では、測定対象試料を載せるだけで特定のイオン・分子の濃度分布をスキャンして画像化できる「フラットベッド型化学イメージスキャナ」の開発を行った。大面積のセンサを複数の光源で並列スキャンすることにより、従来型の化学イメージセンサと比べて測定時間が大幅に短縮された。また、光電流の位相からイオン濃度を求める新たな測定モードを提案し、光源強度の変動やセンサ基板中の欠陥の影響を受けにくいという利点を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In this study, a flat-bed-type chemical image scanner was developed, which was capable of visualizing the distribution of specific ions or molecules in the specimen placed on the sensing surface. In the developed system, a large-area sensor was scanned by a plurality of light sources in parallel, which resulted in great reduction of measurement time in comparison to the conventional chemical imaging sensor system. A new measurement mode was proposed, in which the ion concentration was determined by measuring the phase of the photocurrent, and its insensitivity to fluctuation of light intensity and defects in the sensor plate was demonstrated.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	8,800,000	2,640,000	11,440,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：化学センサー

1. 研究開始当初の背景

細胞や組織などの生体試料・標本中において特定物質を可視化することは、バイオ基礎研究においても臨床応用においてもきわめ

て重要である。多くの場合、ターゲット物質と結合する標識（蛍光分子など）を用いた染色法が用いられているが、染色は標本の性質を変えてしまうため本質的に破壊検査であ

る。生体試料に対しては毒性が問題となることもあり、たとえば長期間にわたって組織培養を継続しながら測定を行う場合には非標識測定法が必要である。

非標識測定法として、電界効果構造を用いた半導体化学センサがある。化学イメージセンサ [M. Nakao et al., Sensors and Actuators B, **20**, pp.119-123, 1994] もその一種であり、溶液やゲル状試料中における特定のイオンの濃度分布を可視化することができるという特長を持つ。

化学イメージセンサは light-addressable potentiometric sensor (LAPS) [D. G. Hafeman et al., Science, **240**, pp.1182-1185, 1988] と呼ばれる半導体化学センサの原理を応用したものである。LAPS は電解質溶液 (electrolyte) - 絶縁層 (insulator) - 半導体 (semiconductor) の 3 層構造 (EIS 構造) を持ち、センサ面である絶縁層表面が測定対象と接触する。EIS 構造に逆バイアスを加えると、電界効果によって半導体中に空乏層を生じるが、その厚さはセンサ面上のイオン濃度に依存して変化するため、変調された光で半導体層を照射して発生する光電流を計測することによって、イオン濃度の変化を検出することができる。

センサ面上の測定領域は光照射領域で定義されるため、集光された光ビームでセンサをスキャンしながら、各画素位置における光電流を記録することにより、イオン濃度分布画像を得ることができる。

しかし、従来の化学イメージセンサでは、単一のレーザ光源を用いてセンサ基板をスキャンしていたため、画像の取得に要する時間が長いという問題があった。1 画素あたりの測定時間が 10ms の場合、解像度 128×128 の画像を取得するには約 3 分が必要である。したがって、測定時間の短縮は、化学イメージセンサの応用範囲を広げる上できわめて重要な課題であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、試料を載せるだけで特定のイオン・分子の濃度分布をスキャンして画像化できる「フラットベッド型化学イメージスキャナ」を開発することである。

3. 研究の方法

本研究では、フラットベッド型化学イメージスキャナに必要な要素技術を開発し、それを用いた試作装置やアプリケーションの開発を行った。

具体的には、大面積センサ基板の開発、高速・高精度なセンサ信号読み取り方式の開発、装置の設計・試作、センシング面の機能化、アプリケーションに応じた測定手法の開発などを行った。また、得られた画像に含まれ

るアーティファクトを除去するための画像補正の方法について検討し、さらに、従来の LAPS の測定方法とは異なる新しい測定モードである「位相モード」を提案し、測定システムを開発した。

4. 研究成果

(1) フラットベッド型スキャナの開発

従来の化学イメージセンサで問題となっていた測定時間を短縮するため、新しいスキャン方式を考案した。すなわち、複数の光源を直線状に配列したスキャナをセンサ基板の直下に配置し、これを 1 次元的にスキャンすることで、イオン濃度の 2 次元分布を読み取る。スキャナ上の複数の光源はそれぞれ異なる周波数で変調されており、周波数多重化された光電流信号をフーリエ解析によって分離 [Q. Zhang et al., Sensors and Actuators B, **73**, pp.152-156, 2001] することにより、各光源の位置における局所的なイオン濃度を同時測定できるため、測定時間の大幅な短縮が可能である。

図 1 に開発したプロトタイプの外観を示す。16 個の LED を配置したスキャナで、直径 4 インチの大型センサをスキャンできる。

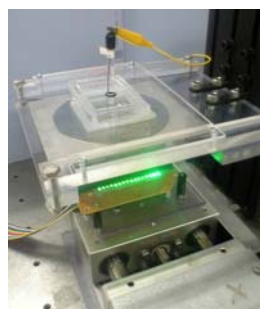


図 1 装置の外観

各 LED は 2000, 2100, ..., 3500 Hz と 100 Hz 刻みの異なる周波数で変調されており、16 点分の測定を同時に行うことができる。同時測定された電流-電圧曲線を図 2 に示す。周波数が高くなるほど信号電流は小さくなるので、これを補償するため、チャンネルごとの光強度を自動的に調整するイコライザ回路を組み込んだ。

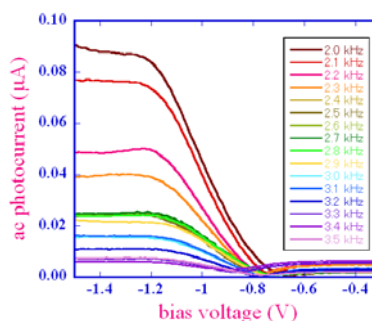


図 2 同時測定された電流-電圧特性

開発された装置を用いて pH4~10 の pH バッファを測定した例を図 3 に示す。1 ラインあたりの測定時間を 50 ms とした場合、128 ラインからなる 1 画像の測定に要する時間はわずか 6.4 秒であった。

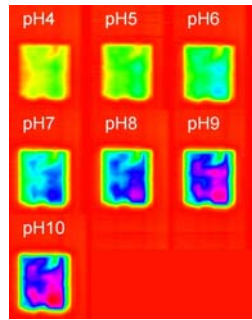


図 3 pH バッファのイメージング例

(2) 画像補正法の開発

図 4 に示す例のように、化学イメージセンサ/スキャナで得られた画像には、センサ基板自体の不均一性に起因する 2 種類のアーティファクトが含まれる。

第 1 のアーティファクト（電流分布）は、半導体基板中に含まれる結晶欠陥に起因するものである。欠陥の存在する領域では、光照射によって発生した光キャリアのうち再結合によって失われる割合が高くなるため、結果として得られる光電流が小さくなる[中尾基, 応用物理, 69, pp.1108-1109, 2000]。これは図 4 において縞状の模様として観察されている。第 2 のアーティファクト（電位分布）は、センサ面の使用履歴によるフラットバンド電位の変化であり、これは図 4 においてスポット状の暗い領域として観察されている。

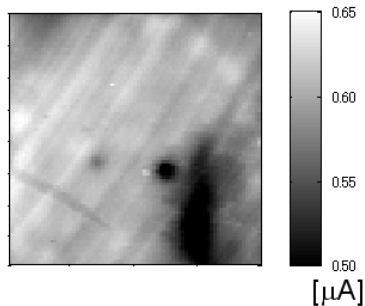


図 4 アーティファクトを含む画像

本研究では、起源が異なるこれら 2 種類のアーティファクトを同時に除去する方法を開発した。

まず、センサ基板ごとに以下の 2 種類の補正マップを作成する。第 1 のアーティファクトは電流-電圧曲線の高さの不均一であるから、十分な逆バイアス下で電流値の分布を測定したものを電流補正マップとする(図 5)。第 2 のアーティファクトは、電流-電圧曲線の電圧軸方向へのシフトによるものである

から、電流値の分布を異なるバイアス下で測定した何枚かの画像をもとに、電流-電圧曲線の遷移領域が電圧軸上のどの位置にあるかを求め、電位補正マップとする(図 6)。

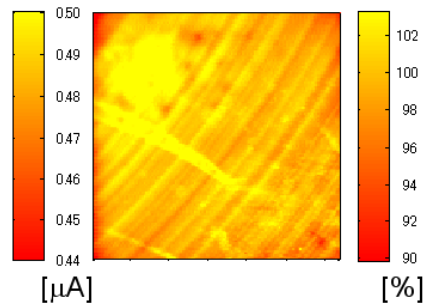


図 5 電流補正マップ

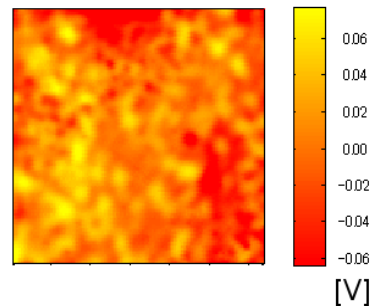


図 6 電位補正マップ

これらの補正マップを用いて、図 4 の画像を補正した結果を図 7 に示す。補正前、補正後の画像において画素値の標準偏差を計算したところ、pH 換算でそれぞれ 0.58, 0.09 となり、約 85% のアーティファクトを除去できたことがわかった。

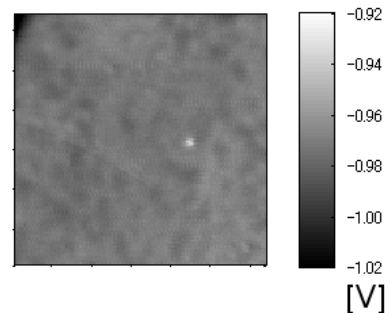


図 7 アーティファクトを除去した画像

(3) 位相モード LAPS の開発

従来の化学イメージセンサでは、空乏層容量によって光電流の振幅が変化することを利用してセンサ面上のイオン濃度分布を求めていた。しかし、光電流の振幅はキャリアの数に比例するため、前節で述べたとおり欠陥におけるキャリア再結合によって画像にアーティファクトを生じるほか、光源強度の変動の影響も受けやすいという欠点がある。

そこで本研究では、これらの問題点を解決するため、光電流の振幅ではなく位相を用いることによって、試料溶液中のイオン濃度を測定する「位相モード LAPS (phase-mode LAPS)」測定システムを新たに開発した。システムの構成を図 8 に示す。

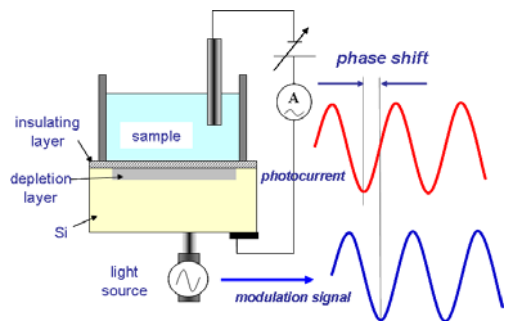


図 8 位相モード LAPS 測定システム

位相モード測定においては、光源変調波形と光電流波形を同時に記録し、その位相差を計算する。記録された波形の例と、計算された振幅および位相差のバイアス依存性を図 9 に示す。逆バイアスが大きくなるほど、光電流の振幅が大きくなると同時に位相差が小さくなるのがわかる。

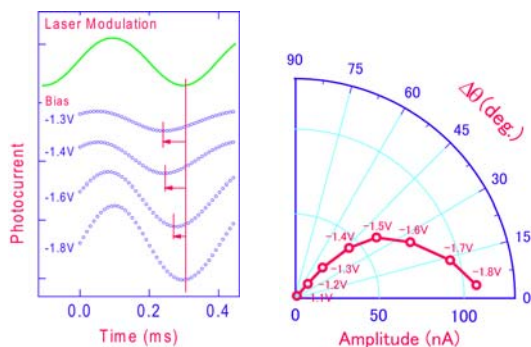


図 9 (左)光源変調波形と光電流波形、(右)振幅および位相のバイアス依存性

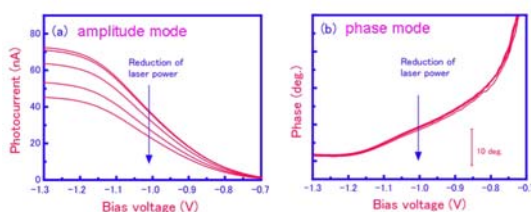


図 10 (上)電流-電圧曲線、(下)位相-電圧曲線に対する光源強度の影響

光源強度が変動した場合、従来の振幅モードでは電流値が大きく変動したが、位相モード測定は影響を受けないことが確認できた(図 10)。また、位相モードによるイメージングでは、画像補正を行わなくても、図 4 に見られた欠陥によるアーティファクトの無い画像を得ることができた。

(4) 流路測定システムの開発

化学イメージセンサのセンサ面上にマイクロ流路を形成すれば、流路内の任意の位置でイオン濃度をモニタリングできる。流路途中に反応チャンバを設け、その上流および下流で反応前後の差分測定ができるシステムを試作した。酵素を固定化したビーズを反応チャンバに装填することにより、化学イメージセンサをベースとしたフローチャンネル型のバイオセンサシステムを構築した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

1. T. Wagner, C. F. Werner, K. Miyamoto, M. J. Schöning and T. Yoshinobu, "A High-Density Multi-Point LAPS Set-Up Using a VCSEL Array and FPGA Control", Sensors and Actuators B, in press, 2010, 査読有。
2. T. Wagner, C. F. Werner, K. Miyamoto, H.-J. Ackermann, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "FPGA-Based LAPS Device for the Flexible Design of Sensing Sites on Functional Interfaces", Physica Status Solidi A, **207**, pp.844-849, 2010, 査読有。
3. K. Miyamoto, T. Wagner, S. Mimura, S. Kanoh, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "Constant-Phase-Mode Operation of the Light-Addressable Potentiometric Sensor", Sensors and Actuators B, in press, 2010, 査読有。
4. K. Miyamoto, T. Wagner, T. Yoshinobu, S. Kanoh and M. J. Schöning "Phase-Mode LAPS and its Application to Chemical Imaging", Sensors and Actuators B, in press, 2010, 査読有。
5. K. Miyamoto, Y. Sugawara, S. Kanoh, T. Yoshinobu, T. Wagner and M. J. Schöning "Image Correction Method for the Chemical Imaging Sensor", Sensors and Actuators B, **114**, pp.344-348, 2009, 査読有。
6. K. Miyamoto, Y. Kuwabara, S. Kanoh, T. Yoshinobu, T. Wagner and M. J. Schöning, "Chemical image scanner based on FDM-LAPS", Sensors and Actuators B, **137**, pp.533-538, 2009. 査読有。
7. T. Wagner, R. Molina, T. Yoshinobu, J. P. Klock, M. Biselli, M. Canzoneri, T. Schnitzler and M. J. Schöning, "Handheld Multi-Channel LAPS Device as a Transducer Platform for Possible Biological and Chemical Multi-Sensor Applications", Electrochimica Acta, **53**, pp.305-311, 2007, 査読有。

[学会発表] (計 31 件)

1. 金子一美, 松尾顕, 宮本浩一郎, Torsten Wagner, 加納慎一郎, 吉信達夫, アレイ状光源を用いた小型化学イメージセンサの開発, 第 49 回化学センサ研究発表会 (電気化学会第 77 回大会シンポジウム), 2010 年 3 月 30 日, 富山.
2. 幸坂直樹, 宮本浩一郎, Wagner Torsten, 加納慎一郎, 吉信達夫, アレイ状光源を利用した高速化学イメージセンサ, 第 57 回応用物理学関係連合講演会, 2010 年 3 月 17 日, 平塚.
3. T. Sakai, M. Yoshida, K. Miyamoto, T. Wagner, S. Kanoh and T. Yoshinobu, "Multi-Point Measurement in a Fluidic Channel for the Sensing of Urea Concentration", 5th International Symposium on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2010 年 2 月 24 日, 仙台.
4. K. Kaneko, A. Matsuo, K. Miyamoto, T. Wagner, S. Kanoh and T. Yoshinobu, "Miniaturized Chemical Imaging Sensor System Using a Display Panel as a Light Source", 5th International Symposium on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2010 年 2 月 24 日, 仙台.
5. T. Wagner, C. F. Werner, K. Miyamoto, M. J. Schöning and T. Yoshinobu, "A High-Density Multi-Point LAPS Set-Up Using a VCSEL Array and FPGA Control", Eurosensors XXIII, 2009 年 9 月 9 日, Lausanne, スイス.
6. K. Miyamoto, T. Wagner, S. Mimura, S. Kanoh, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "Constant-Phase-Mode Operation of the Light-Addressable Potentiometric Sensor", Eurosensors XXIII, 2009 年 9 月 9 日, Lausanne, スイス.
7. 宮本浩一郎, 鹿又幹裕, Torsten Wagner, 加納慎一郎, 吉信達夫, 半導体化学センサを用いた細胞アッセイシステムの提案, 日本動物細胞工学会 2009 年度大会 (JAACT2009), 2009 年 7 月 25 日, つくば.
8. K. Miyamoto, T. Wagner, T. Yoshinobu, S. Kanoh and M. J. Schöning "Phase-Mode LAPS and its Application to Chemical Imaging", 15th Int. Conf. on Solid-State Sensors, Actuators & Microsystems (Transducers2009), 2009 年 6 月 24 日, Denver, 米国.
9. T. Wagner, C. F. Werner, K. Miyamoto, H.-J. Ackerman, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "FPGA-Based LAPS Device for the Flexible Design of Sensing Sites on Functional Interfaces", Engineering of Functional Interfaces Workshop (EnFI 2009), 2009 年 6 月 19 日, Hasselt, ベルギー.
10. 吉田碧里, 宮本浩一郎, Torsten Wagner, 加納慎一郎, 吉信達夫, 半導体化学センサを用いた流路内 2 点同時計測による酵素反応測定, 第 47 回化学センサ研究発表会 (電気化学会第 76 回大会シンポジウム), 2009 年 3 月 31 日, 京都.
11. 宮本浩一郎, Torsten Wagner, 加納慎一郎, 吉信達夫, 位相モード LAPS の開発と化学イメージングへの応用, 第 56 回応用物理学関係連合講演会, 2009 年 3 月 30 日, つくば.
12. 宮本浩一郎, Torsten Wagner, 加納慎一郎, 吉信達夫, ディスプレイモジュールを利用した小型化学イメージセンサの開発, 第 56 回応用物理学関係連合講演会, 2009 年 3 月 30 日, つくば.
13. T. Wagner, C. F. Werner, K. Miyamoto, H.-J. Ackermann, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "New FPGA-Based LAPS Driver for Simultaneous Operation of a Large Number of Measurement Spots", 4th Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2009 年 3 月 5 日, 仙台.
14. Y. Sugawara, K. Miyamoto, S. Kanoh, T. Yoshinobu, T. Wagner and M. J. Schöning, "Image Calibration to Compensate for the Nonuniformity of a Chemical Image Sensor Plate", 4th Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2009 年 3 月 5 日, 仙台.
15. M. Yoshida, T. Wagner, K. Miyamoto, S. Kanoh, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "Multi-Point LAPS System for Differential Measurement of Enzyme Reaction", 4th Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2009 年 3 月 5 日, 仙台.
16. Y. Sugawara, K. Miyamoto, S. Kanoh, T. Yoshinobu, T. Wagner and M. J. Schöning "Image Correction Method for the Chemical Imaging Sensor", Eurosensors XXII, 2008 年 9 月 9 日, Dresden, ドイツ.
17. 菅原有理, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, 化学イメージセンサの基板面内不均一性に対する画像較正法, 平成 20 年度電気関連学会東北支部連合大会, 2008 年 8 月 22 日, 郡山.
18. 吉田碧里, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, LAPS-微小流路システムの酵素反応計測への応用, 平成 20 年度電気関連学会東北支部連合大会, 2008 年 8 月 22 日, 郡山.

19. Y. Kuwabara, K. Miyamoto, S. Kanoh, T. Yoshinobu, T. Wagner and M. J. Schöning, "Chemical Image Scanner Based on FDM-LAPS", 12th International Meeting on Chemical Sensors, 2008年7月14日, Columbus, 米国.
 20. 桑原洋平, 伊藤選, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, LEDリニアアレイを用いた化学イメージスキャナの開発, 第45回化学センサ研究発表会(電気化学会第75回大会シンポジウム), 2008年3月29日, 甲府.
 21. Y. Kuwabara, K. Miyamoto, S. Kanoh and T. Yoshinobu, "Fast Scan of Chemical Images Based on Multi-Light LAPS", 3rd Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2008年3月5日, 仙台.
 22. A. Matsuzaka, K. Miyamoto, S. Kanoh and T. Yoshinobu, "Multi-Point LAPS Measurement in Flow Channels", 3rd Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2008年3月5日, 仙台.
 23. K. Morihiro, K. Miyamoto, S. Kanoh and T. Yoshinobu, "Application of EIS Capacitive Sensor to Micro Channels", 3rd Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2008年3月5日, 仙台.
 24. T. Wagner, M. E. M. Baumann, S. Grobel, M. Biselli, T. Yoshinobu and M. J. Schöning, "Light-Addressable Potentiometric Sensor (LAPS) Platform for Biotechnological Processes", 3rd Int. Symp. on Medical, Bio- and Nano-Electronics, 2008年3月5日, 仙台.
 25. 松坂篤志, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, 半導体化学センサによる微小流路内多点同時計測に関する研究, 応用物理学会東北支部学術講演会, 2007年12月6日, 八戸.
 26. 桑原洋平, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, LEDリニアアレイによる化学イメージセンサシステムの検討, 応用物理学会東北支部学術講演会, 2007年12月6日, 八戸.
 27. 森広和利, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, EIS容量センサによる微小流路内のpH計測, 応用物理学会東北支部学術講演会, 2007年12月6日, 八戸.
 28. 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫「半導体化学イメージセンサを応用した細胞アッセイシステムの開発, 第68回応用物理学会学術講演会, 2007年9月5日, 札幌.
 29. 桑原洋平, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, リニアアレイ状光源を用いた化学イメージセンサシステムの検討, 平成19年度電気関係学会東北支部連合大会, 2007年8月24日, 弘前.
 30. 松坂篤志, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, 化学イメージセンサによる微小流路内多点同時計測に関する研究, 平成19年度電気関係学会東北支部連合大会, 2007年8月24日, 弘前.
 31. 森広和利, 宮本浩一郎, 加納慎一郎, 吉信達夫, EIS容量センサの微小流路計測への応用, 平成19年度電気関係学会東北支部連合大会, 2007年8月24日, 弘前.
- [図書] (計2件)
1. T. Yoshinobu (分担執筆), Ed. T. Yamaguchi, Imperial College Press, Nano-Biomedical Engineering, 2009, pp. 271-280.
 2. 吉信達夫 (分担執筆), 電気化学会化学センサ研究会編, 株式会社ティー・アイ・シー, 先進化学センサ ガス・バイオ・イオンセンシングの最新技術, 2008, pp. 233~239.
- [その他]
- ホームページ
<http://www.bme.ecei.tohoku.ac.jp>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
 吉信 達夫 (YOSHINOBU TATSUO)
 東北大学・大学院医工学研究科・教授
 研究者番号 : 30243265
- (2) 研究分担者
 加納 慎一郎 (KANOH SHIN'ICHIRO)
 東北大学・大学院工学研究科・助教
 研究者番号 : 00282103
 宮本 浩一郎 (MIYAMOTO KO-ICHIRO)
 東北大学・大学院工学研究科・助教
 研究者番号 : 70447142
- (3) 連携研究者
 ()
 研究者番号 :