

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成27年度研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月23日現在

細胞機能解明のためのイオン・蛍光マルチモーダルイメージ
センサシステム創製

Invention of Ion-Fluorescence Multi-Modal Image
Sensor System For Elucidation of Cell Functions

課題番号：24226010

澤田 和明 (SAWADA KAZUAKI)

豊橋技術科学大学・大学院工学研究科・教授



研究の概要

生体関連物質・光・蛍光を検出することが可能なマルチモーダルセンサをアレイ化し、細胞に存在するイオンチャネルの動き、働きを弁別できるマルチモーダルバイオイメージセンサを製作する。従来の光学顕微鏡で不可能であったイオンチャネルを経由した細胞内外のイオン等の動きをリアルタイムで可視化するデバイス・システムを実現する。

研究分野：工学

キーワード：集積化バイオセンサ、イメージセンサ、フィルタレス蛍光

1. 研究開始当初の背景

異種機能集積(Heterogeneous Integration)により、これまで世の中に存在し得なかった新しい機能を持つ電子デバイスの実現が期待されている。生化学者との共同研究の過程で細胞内に存在するイオンと、細胞の個々のイオンチャネルから放出されるイオンを種別ごとに同時に、観察することができれば、これまで不明であった細胞機能を明らかにできると考え本研究を提案することになった。

2. 研究の目的

同一画素で、生体関連物質・光・蛍光を同時に検出することが可能なマルチモーダルセンサをサブミクロンピッチでアレイ化し、細胞に存在するイオンチャネルの動き、働きを弁別できるマルチモーダルバイオイメージセンサを製作し、従来の光学顕微鏡では不可能であったイオンチャネルを経由した細胞内外のイオンなどの動きをリアルタイムで可視化するデバイス・システムを実現することを目的とした。

3. 研究の方法

本新規な蛍光・イオンイメージセンサを実現するため3つの課題を解決しながら研究を行ってきた。具体的には ① 微細特殊イオンイメージセンサプロセス構築、② 画素縮小のための構成検討、③ サブミクロンセンサのイオン感度確保 を本学 LSI 製造設備と協力 LSI 製造企業を用いながら進めている。

一方、細胞活動を取得するための応用研究は、サブミクロンピッチのマルチモーダルイメージセンサが実現するまでは、開発をすでに行った23ミクロンピッチのセンサを利用して、神経伝達物質などの計測を行っていく。

4. これまでの成果

(1)イオンと蛍光を同時計測のための基本的なアレイデバイス作製と実証

イオンイメージセンサ技術ならびにフィルタレス蛍光センサ技術を一体化したフィルタレス蛍光・イオンイメージセンサの作製を行い、基本的な原理の確認を行うことができた。水素イオン濃度ならびに2種類の波長の光のイメージングが独立に測定できた結果を図1に示す。この研究の過程で、p-wellに流れる電流で p-well 電位が微妙に分布を持つことが原因でイメージのムラが生じ、その問題点を次の製作にフィードバックすることになった。

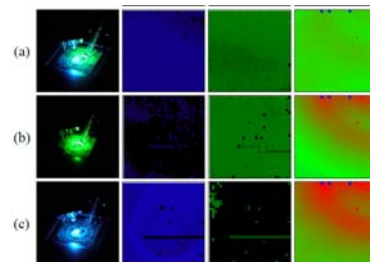


図1: 模擬励起光・蛍光・イオン同時撮像例

(2) 蛍光検出感度向上と微細化

37 ミクロンピッチの蛍光・イオンイメージセンサの試作を協力半導体ファブダリで行った。そのときのチップ写真を図2に示す。このセンサチップにより、検出精度向上の課題抽出をおこない、2次試作につなげた。

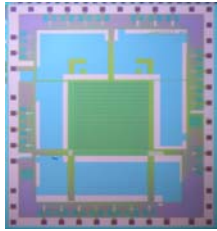


図2: ファブダリで試作した 37μm ピッチ 蛍光・イオンイメージセンサ

次に精度向上に向けた検出手法の検討をすすめた、精度良くその違いを検出するために、“電流差分計測技術”を導入し、デバイス構造を変更せずに 1000 対 1 まで検出できた（研究開始当初は 100 対 1）。さらに励起光および蛍光が入射される多結晶シリコン薄膜製作工程を改善することで、図3に示すようにデバイス構造を変更せずに 2000 対 1 まで検出できるようになった。

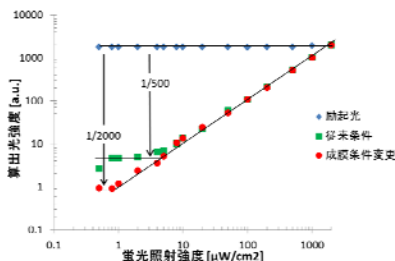


図3: 中心波長 468nm の LED 励起光に対して 2000 分の 1 の分別能力で中心波長 525nm の光を検出

(3) フィルタレス蛍光センサによりバイオ関連物質の検出

通常 2 種類の蛍光物質を同時に解析することは、光学フィルタを機械的に入れ替える必要があったが、本センサにより“電位の鞍”の位置を電子的に変更することで、2 種類の蛍光物質 (FITC と SYBR Green または 6-FAM) を $1\mu\text{M}$ の精度でリアルタイムに検出できることを実証した、本研究成果はイオン・蛍光イメージセンサの有用性を示した結果であると考えられる。その検出結果を図4に示す。

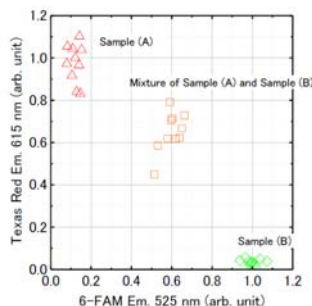


図4: フィルタレス蛍光センサで2種類の蛍光物質を同時の測定例。

5. 今後の計画

これまでの成果を元を実現するイオンイメージセンサは、これまで構築した協力 LSI ファブダリにおいて、フィルタレス蛍光・イオンイメージセンサプロセスを元を進める。センサ領域と CMOS 領域それぞれの p-well 濃度、深さを最適化したプロセスを用いる。また、画素構成は、光吸収深さを“電位の鞍”により明確に分離して検出できるよう改良した画素レイアウトで試作を進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 平成 25 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 2013 年 4 月 文部科学省 「イオンイメージセンサシステムの研究」
- Improvement of dynamic range of filter-less fluorescence sensor with body-biasing technique, Yu Moriwaki, Kazuhiro Takahashi, Ippei Akita, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, Japanese Journal of Applied Physics, Vol.54, SS14073(5pages), 2015
- Label free bio image sensor for real time monitoring of potassium ion released from hippocampal slices, Akiteru Kono, Takashi Sakurai, Toshiaki Hattori, Koichi Okumura, Makoto Ishida, Kazuaki Sawada, Sensors and Actuators B: Chemical, Vol.201 pp.439-443, 2014
- Fabrication of a 128×128 Pixels Charge Transfer Type Hydrogen Ion Image Sensor, Masato Futagawa, Daiki Suzuki, Ryota Otake, Fumihiro Dasai, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada, IEEE TRANSACTIONS ON ELECTRON DEVICES, Vol. 60, No. 8, pp.2634-2639, 2013
- Improvement of the detection accuracy and the detection limit of a filter-less fluorescence detector, Hirokazu Nakazawa, Keita Yamasaki, Takuya Toyofuku, Ippei Akita, Makoto Ishida, Kazuaki Sawada, Applied Physics Express, Vol.6 077001, 2013
- Multicolor fluorescence detection for single nucleotide polymorphism genotyping using a filter-less fluorescence detector, K. Yamasaki, H. Nakazawa, N. Misawa, M. Ishida, K. Sawada, Applied Physics Letters, Vol. 102, pp. 233701-04, 2013
- Multimodal bio-image sensor for real-time proton and fluorescence imaging, Hirokazu Nakazawa, Makoto Ishida, *Kazuaki Sawada, Sensors and Actuators B:Chemical, vol.180, pp.14-20, 2013

ホームページ等

<http://www.int.ee.tut.ac.jp/icg/>