

細胞活動が見える イオンイメージセンサ

研究代表者

澤田 和明

Kazuaki Sawada

豊橋技術科学大学大学院工学研究科 教授



はじめに

バイオ分野における化学反応は、3次元の世界での様々な反応であることは誰もが疑うことはない。ところが2次元の化学反応を計測するためには、蛍光標識やさまざまな感受性色素を利用して間接的に計測しているのが現状である。しかしながら、近年細胞の活動、DNAやタンパク質の検出をノンラベルで行いたいとの要求が高くなってきている。この要求に応えるべく我々はバイオ・化学情報をノンラベルで検出できるセンサの開発に取り組んでいる。ノンラベルで様々な化学反応が高感度に2次元リアルタイム計測できればこれまで不明であった様々な化学現象解明につながるかと期待する。

イメージセンサ技術の進化は著しく、最近では画素数が2000万画素に達し、画素サイズは2 μ m角以下に微細化が進んでいる。人間の細胞の大きさが約20 μ m ψ であることを考えるとLSI技術を用いてバイオセンシングデバイスを製作することが十分可能になってきている。本シンポジウムでバイオセンサ技術とイメージセンサ技術を融合することで実現できたイオンイメージセンサについて応用例を含めて紹介する。

電荷転送型イオンイメージセンサ

半導体を用いた代表的なイオンセンサとしてISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) が知られているが、溶液中のある点の水素イオン濃度を計測するものであった[1]。またその感度は59mV/pHと低く、S/N比はISFET内で発生する1/f雑音により制限されるため、センサのpHに対する分解能は低かった。我々の提案するイオンイメージセンサは、イオンの2次元分布の動画をリアルタイムに計測可能であると同時に、高感度なイオン計測が可能であるという2つの大きな特徴を持っている[2,3]。この二つの特徴はイメージセンサ技術を応用したことで得られたものである。イオンの2次元分布のリアルタイム

観察はCMOSイメージセンサ技術、高感度計測技術は、イメージセンサにおける電荷蓄積動作によるものである。

イメージセンサ技術で、特に特徴的なものに“蓄積動作”がある。平たく言えば、シャッタースピードを変えて、暗いところでは長くシャッターをあけて信号対雑音比を高める技術である。本電荷転送型イオンイメージセンサにおいても同様な蓄積動作を行うことができ、検出感度を飛躍的に向上させ、従来のセンサに比べて100倍の高感度を実現できている。

図1(a)に本プロジェクトで製作したイオンイメージセンサのチップ写真を示す。豊橋技術科学大学には各種センサを搭載したLSIを製造できる世界的にもユニークな教育研究施設がある。本イメージセンサの製作は、本学にてプロセス設計、マスク製造、プロセスまで一括して行なった。本センサの画素数は32 \times 32画素、フレームレートは5fpsとなっている。また、回路部は溶液から保護するためSiO₂とSi₃N₄で覆われている。図1(b)に出力信号例を示す。ピペットから水素イオン濃度が違う水溶液が放出される画像である。

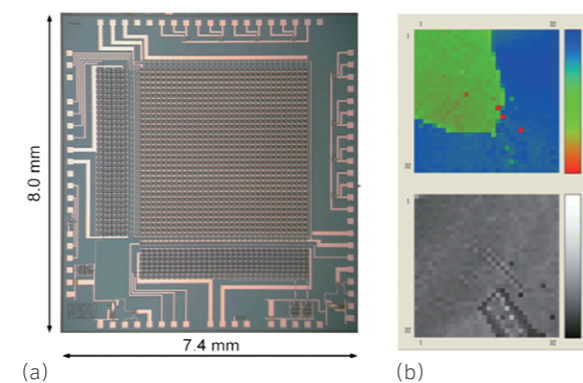


図1 イオンの動きが見えるイオンイメージセンサと撮像例

細胞活動観察応用

最近身近な病気になっているアルツハイマー病は、神経細胞からのアセチルコリンの分泌に深く関係している

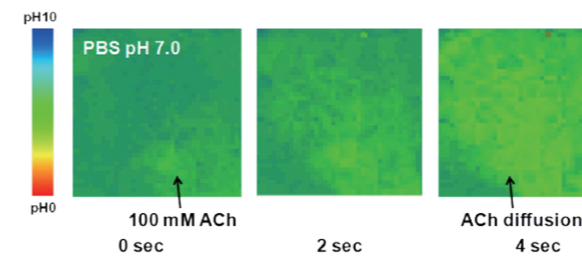


図2 アセチルコリンの拡散の様子

と言われており、様々な薬剤に対する神経細胞からのアセチルコリン分泌の様子をリアルタイムに観察できれば新薬の開発などに貢献できる可能性がある。脳には膨大な数の神経ネットワークがあり、神経細胞を介した情報伝達が行われている。神経細胞を伝わる電気信号はシナプス間隙で信号量に応じた神経伝達物質に変換されることで隣の神経への情報伝達が行われている。同様に様々な細胞も化学的な刺激によりイオンチャネルを開閉し細胞内外のNa⁺、K⁺、Ca²⁺が変化することが知られている。

本イオンイメージセンサ上に酵素膜(AChE)を修飾することで、ACh-AChEの酵素反応により発生した水素イオンを検出し、AChをラベルフリーでイメージングするセンサを開発した[4]。ラベルフリーでアセチルコリン拡散をイメージングできるだけでなく、本センサはアセチルコリンの定量分析も可能である。その画像例を図2に示す。100mM pH 7.0のACh溶液(50 μ l)をAChイメージセンサの右下から滴下した。時間とともにAChが広がっていく様子をリアルタイムでとらえることができる[4]。

イオンイメージセンサ上にイオノフォアを含むイオン感応膜を配することでNa⁺、K⁺、Ca²⁺イオンの動きを可視化することが可能である。イオノフォアは特定のイオンに対して特異的に結合し、結合したイオンは感応膜中に捕獲される。10⁻⁵M-10⁻²MのKClの濃度に対して直線性よく応答する。一方NaClに対しては10⁻²M以上になって応答が始まり、K⁺イオンに対して高い選択性を持つ。細胞のイオンチャネルの開閉によって数mMの濃度変化が見込まれる。この特性からもイオンチャネルの開閉によるイオン濃度の変化を十分に検出できるといえる。カリウムイオンイメージセンサを用いて溶液中におけるカリウムイオンの拡散現象をイメージングした画像を図3に示す。本実験では超純水中に0.1MのKCl水溶液を注入した時の拡散現象をイメージングした。本センサにより

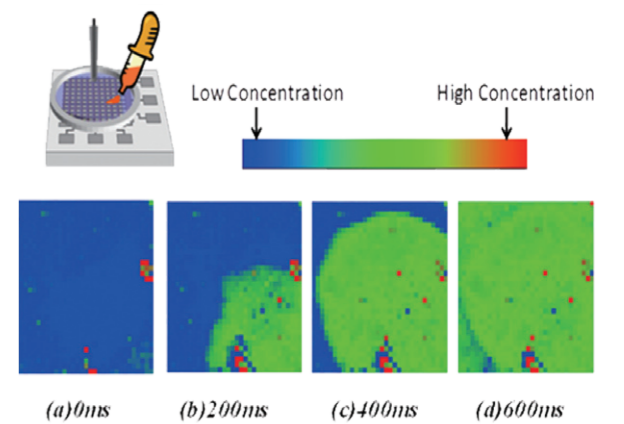


図3 カリウムの拡散の様子

カリウムイオンが時間経過とともに拡散していく様子をリアルタイムでイメージングできることがわかる[5]。

今後の展開

本センサはイオン分布のリアルタイム計測が可能なことから、細胞や神経ネットワークなどの振る舞いを非標識で観察可能である。最先端のLSI技術を用いることにより画素ピッチは1ミクロンを切ることも可能であり様々な応用が期待できる。本センサは化学センサ技術とLSI技術が出会ったことによりはじめて実現できた一例であり、今後、化学・バイオセンサ技術とLSI技術が融合することにより、新たな計測ツールとして展開していきたい。

参考文献

- [1] P.Bergveld, IEEE Trans. Biomed. Eng. BME-17, pp. 70-71 (1970).
- [2] K. Sawada, et al., IEEE Transactions on Electron Devices, Vol. 46, No. 9, pp. 1846-1849, 1999.
- [3] T. Hizawa, et al., Sensors and Actuators B, 117, 2, pp. 509-515 (2006)
- [4] S.Takenaga et al., Proc. 15th Int. Conf. on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers '09), Denver Colorado USA, June 21-25, pp. 975-978, 2009.
- [5] T.Hattori et al., Analytical Sciences, Vol. 26, 2010. 1039-1046.