

論文内容の要旨

博士論文題目

蛍光検出 CMOS イメージセンサを用いた
レンズレス小型デジタル ELISA システムの研究

氏名 竹原 浩成

(論文内容の要旨)

本研究は、小型デジタル ELISA に必要な各要素において、新規構造の提案や最適化を行い、実用的な検査時間で診断できる能力を備えたシステムを作り上げることを目的としたものである。

第 1 章では、本論文の目的と構成を述べている。

第 2 章では、まず、ELISA のプロトコルおよび反応について説明し、1 分子計測のできるデジタル ELISA の開発動向や特徴について解説している。さらに、これまで提案してきたレンズレス小型デジタル ELISA の概要を説明し、解決すべき課題を明確にしている。

第 3 章では、CMOS イメージセンサの基本的な性能の改善について 2 点を述べた。ひとつは、固定パターンノイズ (FPN) の低減について、もうひとつは、感度向上についてである。FPN 低減については、画像上で縦スジとして現れるカラム FPN は従来のセンサに対して約 1/16 に、また画素 FPN は、約 1/5 に低減することができた。また、高感度化については、従来使用していた 3T-APS 構成の CMOS イメージセンサに対して 5 倍以上、感度を向上することができた。

第 4 章では、励起光と蛍光を識別することに成功した、積層フォトダイオードを用いた CMOS イメージセンサについて設計内容と特性評価結果を報告した。積層フォトダイオード CMOS イメージセンサは、2 つの製造プロセスで作製している。飽和画素値の 50% 照度における微小変化量の検出能力は、従来使用していた 3T-APS 構成の CMOS イメージセンサに対して約 5 倍であった。

第 5 章では、レンズレス小型デジタル ELISA システムにおける蛍光検出について、代表的な蛍光物質であるフルオレセインを題材として、励起光と蛍光の強度の関係や、受光部への蛍光到達量について考察し、また、考案した新構造の励起光吸収フィルタの特性をシミュレーションによって予測し、更に光退色の観測への影響についても言及した。蛍光カップリング効率を向上するために、

励起光吸収フィルタを充填した金属製のライトパイプアレイ構造を考案し、その特性を単純化したモデルで、シミュレーションした。その結果、カップリング効率は 2.9%程度と算出された。

第 6 章では、第 5 章で提示した装置を作製するための全体プロセスフローを提示した後、要素工程毎に作製方法を解説した。提案したライトパイプ構造を実現するために、銅の電解めっき技術を使って作製するプロセスを検討し、積層フォトダイオード CMOS イメージセンサの画素ピッチと同じ 15 μm ピッチのライトパイプアレイの作製に成功した。また、ライトパイプ内への吸収フィルタ埋め込みプロセスも確立することができた。ここには、同じピッチで蛍光反応チャンバーアレイも形成される。今回のシステムでは、CMOS イメージセンサは別ユニットとなるため蛍光検出時には、蛍光反応チャンバーアレイユニットとの位置合わせが必要となる。このための機構を考案し、試作した。

最後に、第 7 章では、各章の総括を行い、残された課題について議論し、今後の展開について述べる。

以上のように、画素毎に光の波長を検出できる高感度 CMOS イメージセンサを開発し、また、高効率に蛍光を取り込むドロップレット反応チャンバー一体型のライトパイプ（ピラー吸収フィルタ）アレイ構造を考案し、各部の作製プロセスを確立し、短時間検査可能な小型デジタル ELISA 装置の実現を可能とした。本研究で得られた知見により、癌の早期発見、ウイルス感染や食品中のアレルギー等の検出用小型装置の実現が可能となるだけでなく、生命科学、医学の発展に貢献すると期待される。

氏名	竹原 浩成
----	-------

(論文審査結果の要旨)

ELISA(酵素結合免疫吸着法:Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)は、癌の早期発見、ウイルス感染、食品中のアレルゲンの発見等に広く利用されている生化学的手法を使った検査法である。近年、超高感度のデジタル ELISA が提案されている。しかしながら、通常の ELISA やデジタル ELISA では、蛍光検出のために高価な蛍光顕微鏡や専用のリーダーが使用されている。本研究は、デジタル ELISA における蛍光検出器を CMOS イメージセンサによるコンタクトイメージングに置き換えることにより、小型のデジタル ELISA 装置を実現しようとするものである。

小型デジタル ELISA 装置では、励起光に対して非常に弱い蛍光を検出しなければならない。このため吸収フィルタを通過する励起光は無視できない。センサ画素が光の波長を見分ける能力を備えることで誤検出を抑制することができる。本研究では、縦方向に2個のフォトダイオード(PD1, PD2)を積層した構造のセンサを開発した。励起光、蛍光を模擬した2波長(470, 525 nm)の LED を光源として感度を比較した。シリコン中への光の侵入長が波長依存性を持つため、感度比が入射波長によって大きく変化していることを確認し、励起光中の蛍光を判別することが可能であることを実証した。また、画素レイアウトの工夫で読み取りを4トランジスタアクティブピクセルセンサ(4T-APS)方式にすることで高感度化も実現している。

レンズを使用しないコンタクトイメージングでは、発光源から受光部までの距離が課題となる。光退色の影響を考慮して励起光強度は極力下げておく必要がある。本研究では、金属製ライトパイプ構造により等方的に放射される蛍光を高効率に集光し受光部に到達させる構造とした。この構造では、反応チャンバーの機械的強度を高めつつ、パイプ内に充填した吸収フィルタで励起光を除去することができる。作製にあたっては、厚膜フォトレジストパターン周辺に電解めっきにより銅を成膜する方法を開発した。

以上のように、画素毎に光の波長を検出できる高感度 CMOS イメージセンサを開発し、また、高効率に蛍光を取り込むドロップレット反応チャンバ一体型のライトパイプ(ピラー吸収フィルタ)アレイ構造を考案し、各部の作製プロセスを確立し、短時間検査可能な小型デジタル ELISA 装置の実現を可能とした。

本研究で得られた知見により、癌の早期発見、ウイルス感染や食品中のアレルゲン等の検出用小型装置の実現が可能となるだけでなく、生命科学、医学の発展に貢献すると期待される。その成果は、学術的に新しい知見を見出していると判断され、審査委員一同は、本論文が博士(工学)の学位論文として価値あるものと認めた。