

デジタル酵素結合免疫吸着法に向けた 積層フォトダイオードCMOS イメージセンサの開発

A CMOS image sensor with stacked photodiodes
for digital enzyme-linked Immunosorbent assay

奈良先端科学技術大学院大学¹ 東京大学² JST-CREST³

○竹原 浩成¹, 宮澤 和也¹, 笹川 清隆^{1,3}, 野田 俊彦^{1,3}, 徳田 崇^{1,3},
Soo Hyeon Kim^{2,3}, 飯野 亮太^{2,3}, 野地 博行^{2,3}, 太田 淳^{1,3}

Nara Institute of Science and Technology¹, The University of Tokyo², JST-CREST³,
○Hironari Takehara¹, Kazuya Miyazawa¹, Kiyotaka Sasagawa^{1,3}, Toshihiko Noda^{1,3},
Takashi Tokuda^{1,3}, Soo Hyeon Kim^{2,3}, Ryota Iino^{2,3}, Hiroyuki Noji^{2,3}, and Jun Ohta^{1,3}

E-mail: ohta@ms.naist.jp

【序論】

酵素結合免疫吸着法 (ELISA) は、抗原-抗体反応と発色や蛍光を生ずる酵素反応を組み合わせることで微量のターゲットタンパク質の存在を定量する方法であり、疾病や感染の診断などに応用されている。1 分子計測を実現したデジタル ELISA では、多数の微小チャンバー (直径 5 μm 、深さ 3 μm) で蛍光反応を行うことで、通常の ELISA の 100 万倍の感度を達成している[1]。我々の提案した図1のような装置[2]は、微小チャンバーアレイ、励起光除去フィルタおよび CMOS イメージセンサを集積してコンパクト化を実現している。今回、CMOS イメージセンサに異なる波長の光を識別する機能を付加したので報告する。

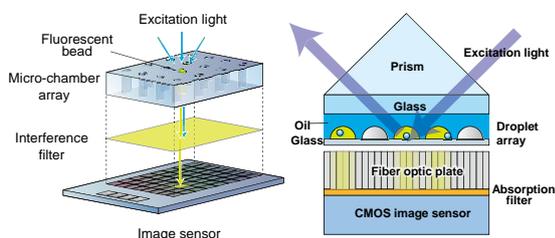


図 1. レンズレスデジタル ELISA 装置の構成例

【デジタル ELISA における蛍光観察】

微小チャンバー内では、ターゲットタンパク質に結合した酵素の働きにより蛍光反応が進行し、蛍光物質のフルオレセインを生成する。短時間で 1 分子のターゲットタンパク質を検知するためには、フルオレセイン濃度 c が 1 μM に達した時点で蛍光を見極める必要がある。励起光波長 470 nm でのモル吸光係数 $\varepsilon = 40000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 程度[3]、吸収層厚 (チャンバー深さ) $l = 3 \mu\text{m}$ とし、ランベルト・ベールの法則 [$\log_{10}(I/I_0) = -\varepsilon cl$] を適用し、量子効率 0.93 を考慮すると、励起光と蛍光の比は約 4 万倍と大きい。このため、図1の中間層のフィルタでの励起光完全除去が困難である。

【積層フォトダイオード】

CMOS イメージセンサ画素において、PD1 (上) と PD2 (下) の積層フォトダイオード型 (図2) を適用することにより、色の変化を感知できる。図3には 2 色の LED で励起光、蛍光を模擬した実験結果を示した。PD1 と PD2 の画素値の相関の変化から、強い励起光中の微小な蛍光が検出できることを示唆している。デジタル ELISA に適用した場合、励起光の揺らぎと微小な蛍光発生との区別ができるため誤検出リスクを低減することができる。

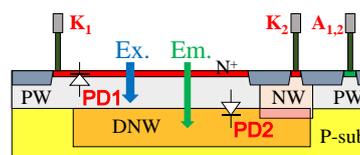


図 2. 画素断面図

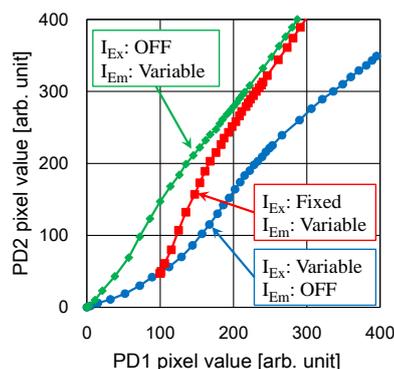


図 3. 光量変化に対応した画素値相関の変化
光源: 470(励起光), 520 nm(蛍光) LED

【謝辞】本研究の一部は戦略的創造研究推進事業(CREST)「生体分子1分子デジタル計数デバイスの開発」によって行われた。

【参考文献】

- [1] S.H. Kim et al., Lab Chip **12**, 4986 (2012).
- [2] K. Sasagawa et al., Jpn. J. Appl. Phys. **51**, 02BL01 (2012).
- [3] N. Klonis et al., J. Fluoresc. **6**, 147 (1996).