

PVC 膜型非標識 Ca^{2+} イメージセンサの 出力応答改善に向けた Ca^{2+} 検出特性の検討

Study on the Ca^{2+} detection characteristics for improving the output response of PVC membrane based label-free Ca^{2+} image sensor

豊橋技科大, °土井 英生, 堀尾 智子, 崔 容俊, 高橋 一浩, 野田 俊彦, 澤田 和明

°Toyohashi Univ. of Tech., °H. Doi, T. Horio, Y.-J. Choi, K. Takahashi, T. Noda, K. Sawada

E-mail: doi.hideo.sy@tut.jp

神経活動や脳卒中, てんかん発作などの病態時に細胞外のカルシウム (Ca^{2+}) が低下することが報告されているが, その詳細は明らかにされていない. 細胞外 Ca^{2+} の高速・高精細イメージング技術の開発により, 細胞外 Ca^{2+} が脳の生理・病態生理機能に果たす役割の解明に貢献できると考えられる. 我々の研究グループでは, これまでに可塑化 PVC を応用した画素ピッチ $23.55\ \mu\text{m}$ の PVC 膜型非標識 Ca^{2+} イメージセンサを開発し, 脳神経組織における細胞外 Ca^{2+} 低下の可視化に成功している^[1,2]. 一方, 本イメージセンサの出力感度は $20\ \text{mV}$ 程度と出力応答改善の余地がある (理論感度: $29.6\ \text{mV/decade}$). また, Ca^{2+} は Ca^{2+} を選択的に検出するイオノフォアを含有した PVC 膜表面で捕獲されると膜電位の変化として検出できるが, 感応膜の膜厚と Ca^{2+} 検出特性の詳細は検討されていない. そこで本研究では, 感応膜溶液の塗布量を変化させることで膜厚の異なる Ca^{2+} 感応膜を形成したイメージセンサを製作し, Ca^{2+} 計測特性を検討した.

本研究では, 可塑化 PVC を用いた Ca^{2+} 感応膜溶液を $10\ \mu\text{l}$ 毎にドロップキャスト法でセンサ上に塗布し, 塗布量の異なる感応膜を形成した (塗布量: $10\ \mu\text{l}$ ~ $80\ \mu\text{l}$). Ca^{2+} 感応膜の膜厚は感応膜溶液の塗布量に依存し, 塗布量 $80\ \mu\text{l}$ で膜厚 $50\ \mu\text{m}$ 程度であった. 続いて, 各膜厚のセンサを用いて Ca^{2+} 濃度依存性を計測した. その結果, Ca^{2+} 濃度に対するセンサの出力応答は膜厚に依存して向上した (図 1). また, 出力応答の電位勾配を定量解析した結果, 感応膜の膜厚が $45\ \mu\text{m}$ 程度になると理論感度と同程度の出力感度で Ca^{2+} を検出できることを確認した (図 2). これは, 感応膜表面で捕獲された Ca^{2+} の電荷密度に起因する膜電位の変化が数十 μm 程度の膜厚分によって感応膜下部の窒化ケイ素膜に効率良く伝わるためだと考えられるが, 詳細は考察中である. 一方, 出力感度の面内バラツキは $30\ \mu\text{m}$ 程度の膜厚から徐々に増大した. これは, 面内膜厚の分布や膜内部のイオノフォアの分布などに起因すると考えられるが, 成膜条件をより詳細に検討することで膜質の面内均一性を改善できると考えられる. これらの結果から, Ca^{2+} 出力感度の向上により細胞外 Ca^{2+} の時空間変化をより明瞭に可視化できる可能性を示した.

謝辞: 本研究の一部は, JST CREST JPMJCR14G2, OPERA JPMJOP1834 及び JSPS 科研費 JP18H03778, 20J11860 の支援を受けて遂行された.

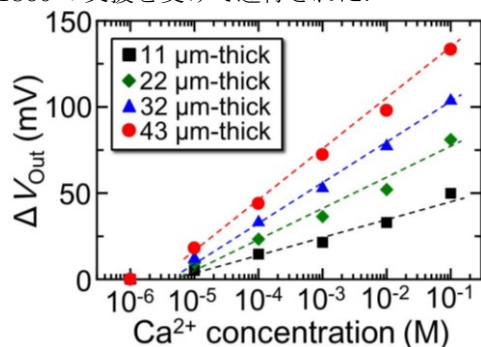


Fig.1 Output characteristics.

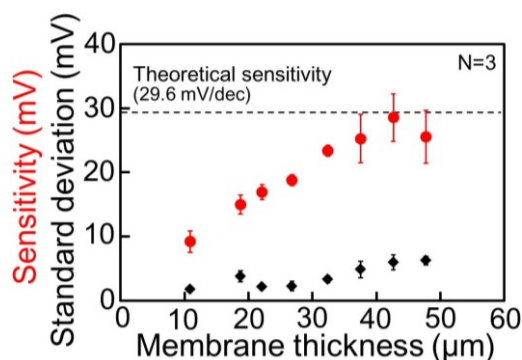


Fig.2 Relationship between the sensitivity and standard deviation and membrane thickness.

[1] H. Doi et al., IEEE sensors 2019, C3LA, 1289, 2019.

[2] 土井 他, 第 37 回「センサマイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 2020.