

論文内容の要旨

博士論文題目

Miniaturized device for simultaneous imaging and electrophysiology signal

acquisition and fluorescence image processing in vivo and in vitro

(細胞外電位同時計測可能な小型イメージングデバイスと蛍光画像処理に関する研究)

氏名 TEIXEIRA SAIS BARBARA

(論文内容の要旨)

細胞研究は、生体の機能を理解するために不可欠であり、生物の維持と恒常性維持に貢献する基本的な単位と構造をよりよく理解するために有用である。細胞研究で頻繁に使用されるツールに、蛍光イメージングと電気生理がある。この2つの方法は、細胞活動や一般的な機能に関する重要な情報を提供してくれる。従って、両方の信号を同時に取得し、それらの間の関係を明らかにすることが望ましい。しかし、現在これらの信号を同時に取得可能な方法は著者の知る限りまだない。両測定を別々に行う場合、インキュベーターから試料を取り出す必要があり、細胞培養の最適条件に影響を及ぼす恐れがある。また、異なる装置で測定するために、試料の同一場所での測定が難しく、信号の相関関係が保証できない可能性がある。本研究では、FOP (Fiber Optic Plate)基板上に直径 30 μm の 25 個の電極を持つコンパクトな MEA (Micro Electrode Array)を設計・製作した。製作プロセスは、標準的なポジ型リソグラフィプロセスを採用し、電極にはアルミニウムと金の薄膜を使用した。FOP 基板は画像透過性がある。装置全体は、インキュベーター内に収まるよう、コンパクトな形状に設計をした。試作装置を用いて、高いノイズレベル下でも、電気生理計測において自発的スパイクを記録し識別することができた。また、イメージングモジュールも蛍光計測が可能であった。試作装置で、スパイク活動と蛍光信号の同時取得が可能であることを実証した。

蛍光イメージングは、脳の活動を理解するために広く使われているカルシウム画像である。カルシウムは細胞や細胞内のシグナル伝達において非常に重要なイオンである。このような信号を分析する際に生じる主な課題の一つは、関心領域 (ROI) の定義である。この領域が定義されると、カルシウム信号が検出され、相互作用している細胞を特定することができる。しかし、手作業で ROI を選択するのは非常に面倒である。そこで、このような作業を自動で行う方法を開発した。そのため、カルシウムイメージングデータから ROI を自動的に定義する方法を確立するため、ユーザーが定義した閾値を利用するアルゴリズムを作成した。このアルゴリズムでは、まず信号がモードを持って

いるかどうかを知るために、ヒストグラム分布と PSF (Point Spread Function)について調べる。そして、非モーダルな分布であることを確認した後、閾値を用いて注目画素のクラスターを設定し、画像の偏差と平均値を用いて最終的に ROI を設定した。本アルゴリズムは、偏差値ノイズの約 1σ で 50% 近くの ROI を検出することができた。また、本手法は False Positives の数が少ないことも示すことができた。

氏名	TEIXEIRA SAIS BARBARA
----	--------------------------

(論文審査結果の要旨)

細胞研究は、生体の機能を理解するために不可欠であり、生物の維持と恒常性維持に貢献する基本的な単位と構造をよりよく理解するために有用である。細胞研究で頻繁に使用されるツールに、蛍光イメージングと電気生理がある。この2つの方法は、細胞活動や一般的な機能に関する重要な情報を提供してくれる。従って、両方の信号を同時に取得し、それらの間の関係を明らかにすることが望ましい。しかし、現在これらの信号を同時に取得可能な方法は著者の知る限りまだない。両測定を別々に行う場合、インキュベーターから試料を取り出す必要があり、細胞培養の最適条件に影響を及ぼす恐れがある。また、異なる装置で測定するために、試料の同一場所での測定が難しく、信号の相関関係が保証できない可能性がある。本研究では、FOP (Fiber Optic Plate) 基板上に直径 30 μm の 25 個の電極を持つコンパクトな MEA (Micro Electrode Array) を設計・製作した。製作プロセスは、標準的なポジ型リソグラフィプロセスを採用し、電極にはアルミニウムと金の薄膜を使用した。FOP 基板は画像透過性がある。装置全体は、インキュベーター内に収まるよう、コンパクトな形状に設計をした。試作装置を用いて、高いノイズレベル下でも、電気生理計測において自発的スパイクを記録し識別することができた。また、イメージングモジュールも蛍光計測が可能であった。試作装置で、スパイク活動と蛍光信号の同時取得が可能であることを実証した。

蛍光イメージングは、脳の活動を理解するために広く使われているカルシウム画像である。カルシウムは細胞や細胞内のシグナル伝達において非常に重要なイオンである。このような信号を分析する際に生じる主な課題の一つは、関心領域 (ROI) の定義である。この領域が定義されると、カルシウム信号が検出され、相互作用している細胞を特定することができる。しかし、手作業で ROI を選択するのは非常に面倒である。そこで、このような作業を自動で行う方法を開発した。そのため、カルシウムイメージングデータから ROI を自動的に定義する方法を確立するため、ユーザーが定義した閾値を利用するアルゴリズムを作成した。このアルゴリズムでは、まず信号がモードを持っているかどうかを知るために、ヒストグラム分布と PSF (Point Spread Function) について調べる。そして、非モーダルな分布であることを確認した後、閾値を用いて注目画素のクラスターを設定し、画像の偏差と平均値を用いて最終的に ROI を設定した。本アルゴリズムは、偏差値ノイズの約 1σ で 50% 近くの ROI を検出することができた。また、本手法は False Positives の数が少ないことも示すことができた。今後本技術を発展させることで、様々な生体計測への展開が可能であり、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。