

論文内容の要旨

博士論文題目 電子増倍 CCD を用いた蛍光相関分光イメージング法の開発

氏名 松本 将宣

(論文内容の要旨)

蛍光相関分光法 (FCS: Fluorescence Correlation Spectroscopy) は光学的に蛍光分子の濃度や拡散係数、分子間相互作用などを非侵襲的に計測する手法であり、生きた細胞における分子動態の測定に広く利用されている。しかし、一般には点検出器を蛍光の検出に用いるため、細胞全体の分子動態の分布を計測するのは困難であった。近年、電子増倍 CCD (Electron-multiplying CCD: EM-CCD) カメラを用いた FCS イメージング法が報告された。この手法では、細胞全体で分子動態の分布を得られ、また各点の蛍光強度データが厳密に同時刻であるため隣接点を比較することが可能である。そこで本研究では、EM-CCD を用いた FCS イメージング装置を開発し、その性能について検証実験を行った。本装置では 32x32 画素の画像を 3ms/frame の速度で取得し、FCS による解析が可能である。

顕微鏡実験への適用に際して、隣接画素間への移動に対する感度特性を検討したところ、通常のエバネッセント照明では侵入長 (50~200nm) が等価画素サイズ (1~2 μ m) より著しく小さいため計測が困難であることが判明した。そこで新たな照明法として「臨界角照明法」を開発し、その特性を調べた。臨界角照明法では入射光を基板側から臨界角よりやや小さい角度で入射する。試料側へ透過して屈折した光は境界面とほぼ並行に進みエバネッセント場と同様に表面近傍のみを照明する。実験および有限時間領域差分法 (FDTD 法) による解析から、臨界角照明法では、水-ガラス系 (臨界角 61.7°) で波長 488nm のレーザー光を用いた場合、境界面から 0.5~2 μ m の領域が照明されることが分かった。本照明では、横方向の移動に対する特性と奥行き方向の移動に対する特性が同程度になり、EM-CCD による FCS イメージングに適することが確認できた。また、 $\theta=59.5^\circ$ より大きい角度では光の強度は境界面からの距離に対して指数関数的に減衰することも分かり、検証実験により実証した。

氏名	松本 将宣
----	-------

(論文審査結果の要旨)

平成22年5月6日に開催した公聴会の結果を参考に、平成22年7月21日に本博士論文の審査を実施した。

以下に述べる通り、本博士論文は、本学位申請者が光学関連情報処理の分野で研究開発活動を続けていくために必要な素養を備えていることを示すものである。

松本将宣は、本博士論文において、分子動態の分布を同時計測することを目標に、1) 電子増倍 CCD (Electron-multiplying CCD: EM-CCD) カメラを用いた蛍光相関分光(FCS)イメージング法を提案し、2) 新たな照明法として「臨界角照明法」を開発して、3) 横方向の移動と奥行き方向の移動に対する特性が同程度の小領域に対する分子動態分布を得ることの出来る FCS イメージング装置を実現した。そして、水-ガラス系(臨界角 61.7°) で波長 488nm のレーザー光を臨界角より数度小さい角度で入射して、境界面から $0.5\sim 2\mu\text{m}$ の領域を照明し、 32×32 画素の画像を $3\text{ms}/\text{frame}$ の速度で取得することで、FCS による解析が可能であることを示した。

この研究成果は新規性が高く、今後の分子生物学領域における新しい研究ツールとしての利用が期待できる研究である。

本論文で提案された、臨界角照明法を用いた電子増倍 CCD による蛍光相関分光イメージング法は、情報工学と光応用生命機能計測学の境界領域の発展に貢献すると考える。よって、本論文は、博士(工学)の学位論文としての価値があるものと認める。